

Hrvatsko biološko društvo
Societas biologorum croatica

BioZnalac

časopis učeničkih istraživanja iz biologije



2023.



Pokrovitelj:



SVEUČILIŠTE U ZAGREBU
PRIRODOSLOVNO-MATEMATIČKI FAKULTET
Biološki odsjek

ISSN 1849-837X

BIOZNALAC



časopis učeničkih istraživanja iz biologije

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 Bioznanalac

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

Dragana Mamić, Dorotea Vrbanović Lisac, Andreja Lucić, Miroslav Samardžić,

Vlatka Mičetić Stanković, Ivna Štolfa Čamagajevac, Mirela Sertić Perić

Web urednik

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

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

Članak	Autori	Naslov rada	Razred	Mentor	Naziv škole	Stranice
1	Jure Margeta Unna Aurora Inić	Utjecaj načina držanja i hranidbe kokoši na kvalitetu jaja i proizvoda od jaja	7.	Monika Pavić	OŠ Vladimir Nazor Čepin	1 - 7
2	Petra Bogičević	Glazba i kratkoročno pamćenje	8.	Ivana Prus	OŠ Svete Ane u Osijeku Osijek	8 - 16
3	Kala Glavaš Valentina Kletečki	Raznolikost faune slatkodvodnih puževa i školjkaša našeg kraja	8.	Nataša Kletečki	OŠ Bogumila Tonija Samobor	17 - 27
4	Leonarda Lanča Sabina Oplanić	Moć glazbe	8.	Maja Curić	OŠ Vladimira Nazora Pazin	28 - 38
5	Ariela Marinović	Utječe li otopina lista oraha na rast biljaka?	8.	Ivana Prus	OŠ Svete Ane u Osijeku Osijek	39 - 46
6	Franka Atlija Paula Šimunović	Lihenoflora na sakralnim objektima otoka Visa	1.	Josipa Poduje	SŠ Antun Matijašević Karamaneo Vis	47 - 60
7	Sara Polašek	Može li se asimetrija krila osa koristiti kao pokazatelj nepovoljnih učinaka okoliša?	1.	Klara Peter	Prirodoslovna škola Vladimira Preloga Zagreb	61 - 71
8	Tončica Grubišić i Vita Medić	Ispitivanje toksičnosti troske iz dugog rata pomoću <i>Allium cepa</i> testa	2.	Ines Alujević	III. gimnazija Split	72 - 83
9	Mirna Šarić	Rasprostranjenost i karakteristike naselja endemske vrste <i>Fucus virsoides</i> J. Agardh u Novigradskom moru	3.	Nela Mandić	Gimnazija Franje Petrića Zadar	84 - 97
10	Katarina Lončarević Uma Fazlić	Utjecaj temeljitosti pranja zuba i vrste hrane na pH-vrijednost sline nakon konzumiranja hrane kod učenika 3. razreda srednje škole	3.	Romana Halapir Franković	V. gimnazija Zagreb	98 - 108
11	Klara Huzak	Ovisnost brzine vizualnih i slušnih reakcija o korištenju dominantne i nedominantne ruke te o spolu kod srednjoškolskih učenika	3.	Mihaela Marceljak Ilić	XV. gimnazija Zagreb	109 - 121
12	Jan Vlahinić	Usporedba utjecaja ekstrakata sjemenki grejpa, čajevca, propolisa te sintetskog antibiotika ampicilina na razmnožavanje bakterija i gljivica	3.	Tvrtko Buger	Gimnazija Andrije Mohorovičića Rijeka	122 - 132
13	Kate Kukuljica	Usporedba genotoksičnog utjecaja prirodnog i umjetnih gnojiva pri različitim koncentracijama putem <i>Allium</i> testa	3.	Nela Mandić	Gimnazija Franje Petrića Zadar	133 - 146
14	Sebastian Čato	Raznolikost orhideja (Orchidaceae) na području Vodica	4.	Marijana Nikolić	Srednja strukovna škola Šibenik	147 - 160
15	Tia Gebauer Mia Bacalja Andrea Brzica Jakov Lušo	Utjecaj plastike na zagrijavanje pješčane podloge	4. 3. 3. 1.	Mihaela Marceljak Ilić	XV. gimnazija Zagreb	161 - 168
16	Karla Lea Čerkuć	Utjecaj mediteranskih dagnji (<i>Mytilus galloprovincialis</i> , LMK.) na količinu mikroplastike u moru	3.	Mihaela Marceljak Ilić	XV. gimnazija Zagreb	169 - 176

Utjecaj načina držanja i hranidbe kokoši na kvalitetu jaja i proizvoda od jaja

Jure Margeta, 7. razred
Unna Aurora Inić, 7. razred

OŠ Vladimir Nazor, Čepin
Mentor: Monika Pavić

SAŽETAK

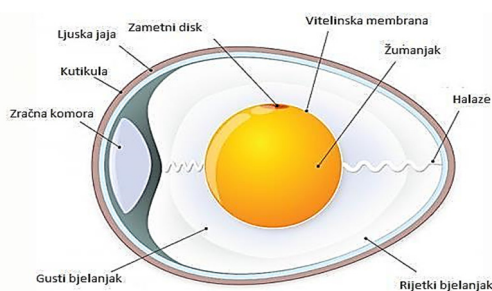
Cilj ovog istraživanja bio je utvrditi u kojoj mjeri način držanja i hranidbe kokoši utječe na kvalitetu jaja i proizvoda od jaja. Istraživanje je provedeno na 40 svježih jaja (20 jaja od kokoši iz slobodnog uzgoja i 20 konzumnih jaja iz kaveznog uzgoja). Laboratorijskim metodama utvrđena su svojstva kvalitete jaja, uključujući svojstva oblika i ljuske jaja, svojstva žumanjka i bjelanjka te svojstva boje žumanjka i proizvoda od jaja. Nisu utvrđene statistički značajne razlike između svojstava kvalitete jaja, osim za svojstvo čvrstoće ljuske, koja je bila značajno čvršća kod jaja iz kaveznog uzgoja te Haugh-ovih jedinica (HJ) čija vrijednost je bila značajno viša kod jaja iz slobodnog uzgoja. Kod svojstava boje svježeg žumanjka također nisu utvrđene statistički značajne razlike između ispitivanih skupina, no kod proizvoda nakon termičke obrade (kuhana jaja, omlet, palačinke i pečeni biskvit) utvrđene su statistički značajne razlike u intenzitetu boje. Ovo ukazuje na bolju nutritivnu vrijednost jaja iz slobodnog uzgoja jer se u proizvodima dobivenim od njih nakon termičke obrade zadržavaju nutritivno vrijedne tvari (karotenoidi). Osim nutritivnih prednosti kod jaja, uzgoj na otvorenome ima i pozitivan učinak na dobrobit i zdravlje kokošiju te na očuvanje okoliša.

Ključne riječi: kokoši nesilice; slobodni uzgoj; kavezni uzgoj; kvaliteta jaja; boja

UVOD

Razvoj i opstanak čovjeka uvijek je bio povezan s načinom njegove prehrane. Osim na rast i razvoj organizma, hrana utječe i na čovjekovo zdravlje. Grčki liječnik Hipokrat, kojega još nazivaju i ocem medicine, rekao je davno „Neka hrana bude tvoj lijek, a lijek tvoja hrana“ (Grčević, 2015). Time je naglasio značaj koji hrana ima na zdravlje čovjeka i koliko je za čovjeka bitna kvalitetna prehrana. Intenzivan razvoj ljudskog društva pratio je i razvoj poljoprivrede i proizvodnje hrane, a sve veći porast broja stanovnika na zemlji doveo je do potrebe da se hrana proizvodi na brži i jeftiniji način, što često ima negativan učinak na njenu kvalitetu. Došli smo u situaciju da nam hrana služi isključivo kao način da utažimo osjet gladi, a da, pri tome, ne vodimo računa koliko takva hrana doista utječe na naše zdravlje. Ne čudi, stoga, što se danas mnoge bolesti tzv. suvremenog čovjeka povezuju upravo s načinom prehrane, a često su neke od najtežih bolesti današnjice povezane upravo, između ostalog, s vrstom hrane koju jedemo i načinom na koji je ona proizvedena i pripremljena, pri čemu se to najviše odnosi na hranu koja se dobiva od domaćih životinja (Alibabić i Mujić, 2016).

Razvijaju se tzv. alternativni sustavi držanja domaćih životinja (ekološki uzgoj, uzgoj na otvorenome - „free range“), u kojima se hrana proizvodi prema gore navedenim kriterijima i za koju je zainteresirano sve više potrošača. Upravo je proizvodnja kokošjih jaja doživjela posljednjih godina značajne promjene što se tiče načina držanja i hranidbe kokoši (Kralik i sur., 2009). Jaje je oduvijek bilo jedna od najvažnijih namirnica u prehrani ljudi (Senčić, 1994). Izgled i sastav jaja prikazan je na slici 1.



Slika 1. Izgled i sastav jaja

Izvor: www.yalla2shtry.com/kemijski-sastav-jaja-k.html



Ovo je namirnica vrlo visoke biološke vrijednosti jer sadrži u sebi vrlo veliku količinu visokovrijednih bjelančevina, masti, minerala i aminokiselina (Lovreković, 2017; Janječić, 2020). Upravo zbog ovih svojstava, jaje je omiljena namirnica za sve uzraste ljudi, a posebno je značajna za prehranu djece i mladih (Alibabić i Mujić, 2016).

Proizvodnja i potrošnja kokošnjih jaja u svijetu neprestano raste (Global egg production, 2022), no danas se ova proizvodnja često dovodi u vezu s tzv. „nehumanim“ proizvodnim uvjetima, jer se kokoši nesilice drže u kavezima u kojima imaju jako malo životnog prostora (750 cm² površine kaveza po jednoj kokoši) te ih se pomoću posebnog režima osvjetljenja i hranidbe potiče da intenzivno nesu 250 - 300 jaja godišnje (Kralik i sur., 2009). Ovakva proizvodnja iscrpljuje organizam kokoši te se one najčešće nakon godinu dana izbacuju iz proizvodnje i zamjenjuju drugim kokošima. Sve potrebe za hranjivim tvarima kokoši moraju dobiti u potpunom obroku u obliku smjese. S druge strane, kokoši držane na otvorenome imaju znatno više prostora za kretanje (10 m²) i dostupna im je pašna (trava) u neograničenoj količini (Ivanković i sur., 2018), tako da se hrane samo osnovnim obrokom koji se najčešće sastoji od kukuruza, a sve ostale hranjive tvari dobivaju kroz pašu i iz tla koji čepkaju (mikro i makro elementi). Na taj način kokoši kroz pašu i hranidbu kukuruzom unose u organizam i karotenoide. Karotenoidi su pigmenti u biljkama, algama i fotosintetskim bakterijama. Ovi pigmenti proizvode svijetlo žutu, crvenu i narančastu boju u biljkama, povrću i voću. Karotenoidi djeluju kao vrsta antioksidansa za ljude, a ujedno su i prekursori vitamina A. Ovi kemijski spojevi u najvećoj mjeri određuju boju žumanjka (Grčević, 2015).

Boja žumanjka je jedan od glavnih kriterija pri odabiru jaja od strane potrošača (Kralik i sur., 2009). Potrošači preferiraju jaja s tamnijom bojom žumanjka, smatrajući da je takvo jaje i nutritivno kvalitetnije. Boja žumanjka nije pasminsko obilježje, već je isključivo vezano uz način i vrstu hranidbe (Gunjević i sur., 2023). Stoga se u hranu kokoši nesilica dodaju spojevi visokog sadržaja karotenoida koji pospješuju intenzitet boje žumanjka. Danas su na tržištu dostupni različiti spojevi na bazi karotenoida koji se koriste kao dodaci u prehrani kokoši nesilica s ciljem poboljšanja boje žumanjka (Keri i Kralik, 2019). No, valja naglasiti da su ti spojevi nestabilni prilikom termičke obrade tako da se na proizvodima od jaja nakon kuhanja ili pečenja gubi intenzivna boja žumanjka nastala kao posljedica dodavanja umjetnih karotenoida. S druge strane, karotenoidi koje kokoši konzumiraju preko kukuruza i biljaka tijekom pašne značajno su stabilniji, što rezultira intenzivnijom bojom nakon kuhanja i pečenja, a samim time i većim sadržajem karotenoida (Grčević, 2015). Osim kvalitete žumanjka, i kvaliteta bjelanjka ima značajan utjecaj na kvalitetu samih jaja. Bjelanjci su odličan izvor bjelančevina, riboflavina i selen, a u samo jednom jajetu srednje veličine bjelanjak sadrži čak 54 mg kalija i 55 mg natrija (Kralik i sur., 2009). Ljuska jaja je također značajan pokazatelj kvalitete jaja. Ona utječe na veličinu ekonomskih gubitaka, ali i na sigurnost upotrebe za ljudsku prehranu. Kada je jaka, ona sprječava prodiranje bakterija i onemogućava lako lomljenje tijekom manipulacije, transporta i čuvanja. Tanka ljuska je znak nedostatka vitamina i minerala. Dobrim dijelom kvaliteta ljuske kokošnjih jaja ovisi i o pasmini ili hibridu kokoši, tako da se danas u proizvodnji konzumnih jaja koriste hibridne nesilice selekcionirane na čvršću ljusku jajeta, kako se ona ne bi razbila tijekom nosenja u kavezima (Kralik i sur., 2009). Veliki utjecaj ima sadržaj i veza između kalcija, fosfora i vitamina D, kao i povezanost s ednokrinim sustavom i metabolizmom (Senčić, 1994).

Cilj ovog istraživanja je utvrditi kvalitativna svojstva jaja od kokoši iz dva različita načina uzgoja (kavezni i slobodni) te utvrditi intenzitet boje u proizvodima od jaja nakon termičke obrade (pečenje i kuhanje). Razlog provedbe ovog istraživanja je osobna radoznalost koju je pobudila razlika u boji proizvoda

(kuhana jaja, palačinke, omlet, kolači) koje smo jeli kod kuće od domaćih jaja u odnosu na iste te proizvode koje smo jeli u restoranu, slastičarni ili u školskoj kuhinji. Na upit postavljen roditeljima, zašto je tolika razlika u boji, dobili smo odgovore koji su nas potaknuli da provedemo ovo istraživanje. Hipoteza ovog istraživanja je da će usporedba jaja iz dva načina uzgoja kokoši nesilica i dva načina hranidbe rezultirati intenzivnijom bojom proizvoda dobivenih od jaja kokoši iz slobodnog uzgoja. Zbog načina hranidbe, jaja iz slobodnog uzgoja imati će veći sadržaj karotenoida, što će dovesti do toga da će nakon termičke obrade (kuhanje i pečenje) proizvodi od tih jaja imati intenzivniju boju u odnosu na proizvode od jaja kokoši iz kaveznog uzgoja. Veći sadržaj karotenoida ujedno rezultira i boljom kvalitetom jaja.

METODE

Istraživanje je provedeno na 40 svježih jaja M kategorije (težine 53 - 63 grama). 20 jaja kupljeno je u trgovini, a proizvedena su je od kokoši nesilica iz kaveznog uzgoja (hibridne nesilice ISA Brown), s farme u okolici mjesta stanovanja autora ovog rada, a 20 jaja skupljeno je od kokoši nesilica iz slobodnog uzgoja (pasmına New Hampshire), s gospodarstva su autora ovoga rada. Način držanja kokoši nesilica u kavezu (ISA Brown hibrid) i kokoši iz slobodnog uzgoja prikazan je na slici 2.

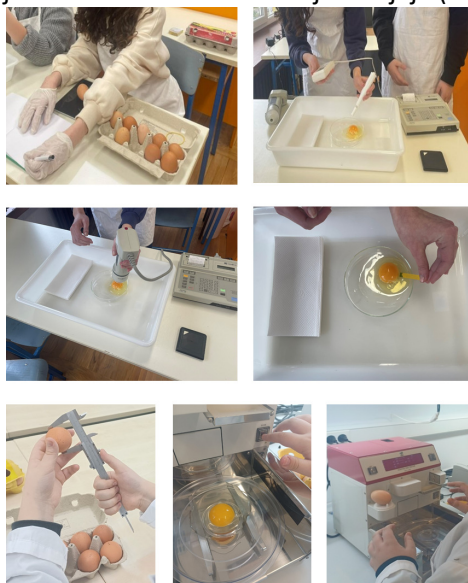


Slika 2. Kokoši nesilica ISA Brown u kaveznom uzgoju (lijevo) i New Hampshire u slobodnom uzgoju (desno)

Izvor: <https://plavakamenica.hr/2021/03/18/nestle-trazi-da-se-u-eu-zabrani-drzanje-kokosi-nesilica-u-kavezima/>
<https://domesticanimalbreeds.com/new-hampshire-chicken-breed-everything-you-need-to-know/>

Kokoši nesilice u kaveznom uzgoju za obrok su dobile standardnu potpunu krmnu smjesu za kokoši nesilice, a kokoši u slobodnom uzgoju hranjene su obrokom od mljevenog kukuruza uz ispašu po volji (trava).

U učionici biologije provedena je analiza kvalitativnih svojstava jaja (slika 3).



Slika 3. Mjerenje kvalitativnih svojstava svježih jaja

Izvor: Margeta, J., Inić U. A.



Parametri koji su mjereni na svježim jajima su indeks oblika, masa jaja i osnovnih dijelova, debljina ljuske, pH-vrijednost bjelanjka i žumanjka i boja žumanjka. Masa jaja i osnovnih dijelova jaja (ljuska, žumanjak i bjelanjak) izmjerena je vaganjem na digitalnoj vagi (KERN PCB 1000-2), a indeks oblika (IO) dobiven je na temelju dužine i širine jaja izmjerene pomičnim mjernim uređajem, prema formuli (Kralik i sur., 2009).:

$$IO(\%) = \text{širina jaja(mm)}/\text{dužina jaja(mm)} \times 100$$

pH vrijednost žumanjka i bjelanjka izmjerena je digitalnim pH-metrom (Foodcare Meat pH meter, Hanna Instruments Ltd.).

Debljina ljuske izmjerena je digitalnom pomičnom mjerkom (Eisco). Boja žumanjka jaja kao i proizvoda nakon termičke obrade kuhanjem i pečenjem - kuhana jaja, omlet, palačinke i biskvit (kolač), izmjerena je kolorimetrom - uređajem za mjerenje boje u sirovinama i proizvodima (CONICA MINOLTA CR-400). Boja žumanjka i proizvoda iskazana je pomoću tri pokazatelja: CIE L*, CIE a* i CIE b* (Commission Internationale de l'Eclairage, 1976.). CIE L* vrijednost označava stupanj svjetloće, a predstavlja tamno do svijetlo područje (0-100). Vrijednost CIE a* (crvenilo) označava stupanj crveno-zelene boje, pri čemu viša pozitivna vrijednost predstavlja crveniju boju. Vrijednost CIE b* (žutilo) označava stupanj žuto-plave boje, pri čemu viša pozitivna vrijednost predstavlja žuću boju. U Laboratoriju za analizu animalnih proizvoda izmjereni su čvrstoća ljuske, visina bjelanjka, visina i promjer žumanjka te index žumanjka kao i Haughove jedinice (Hogove jedinice - HJ) na uređaju za digitalno mjerenje kvalitete jaja (DIGITAL EGG TESTER, Det-6500). HJ jedan su od pokazatelja kvalitete bjelanjka, a izračunavaju se na temelju mase jajeta i visine bjelanjka i određenih konstanti. Starenjem jaja opadaju HJ (Grčević, 2015). Svježa jaja prilikom mjerenja imaju vrijednosti HJ preko 70.

$$HJ = 100 \log (H + 7,77 - 1,7 \times W \times 0,37)$$

H = visina gustoga bjelanjka u milimetrima

W = masa jajeta u gramima

Statistička obrada dobivenih rezultata provedena je u programu Microsoft Excell for Windows (Microsoft Office 2019). Od parametara su izračunati i prikazani srednja vrijednost (\bar{x}) standardna devijacija (SD), a značajnost razlika između skupina utvrđena je t-testom.

REZULTATI

Između jaja dobivenih iz slobodnog uzgoja i jaja kupljenih u trgovini podrijetlom s farme nije bilo značajnih statističkih razlika u težini, dužini, širini i indeksu oblika jaja, kao niti u masi i debljini ljuske jaja (tablica 1). T-testom utvrđena je statistički značajna razlika u čvrstoći ljuske jajeta, jaja iz kaveznog uzgoja imaju čvršću ljusku od jaja iz slobodnog uzgoja ($p < 0,01$).

Tablica 1. Svojstva oblika i ljuske jaja

Svojstvo	Jaja iz slobodnog uzgoja (n=20)		Kupovna jaja (n=20)		Statistička značajnost (t-test)
	\bar{x}	SD	\bar{x}	SD	
Težina jaja (g)	60,42	3,35	60,05	2,14	n.s.
Dužina jaja (mm)	52,00	2,35	49,10	1,52	n.s.
Širina jaja (mm)	37,44	1,51	38,30	0,95	n.s.
Indeks oblika (%)	72,17	4,95	74,07	3,19	n.s.
Masa ljuske (g)	8,69	2,68	8,08	0,61	n.s.
Debljina ljuske (mm)	0,42	0,03	0,46	0,03	n.s.
Čvrstoća ljuske (kg/cm ³)	38,26	15,14	48,79	16,00	**

** $p < 0,01$, n.s. - nije značajno

Vezano uz svojstva žumanjka i bjelanjka (tablica 2), kao i kod svojstava oblika i ljuske jaja, kod gotovo svih izmjerenih svojstava (težine, visine, promjera i indeksa žumanjka, kao i težine i visine bjelanjka) nisu utvrđene statistički značajne razlike. Statistički značajna razlika utvrđena je samo za HJ, gdje su za jaja iz slobodnog uzgoja utvrđene više vrijednosti nego za kupovna jaja. pH vrijednosti žumanjka i

bjelanjka bile su u granicama koje su svojstvene svježim jajima, ali između ovih vrijednosti također nisu utvrđene statistički značajne razlike.

Tablica 2. Svojstva žumanjaka i bjelanjaka

Svojstvo	Jaja iz slobodnog uzgoja (n=20)		Kupovna jaja (n=20)		Statistička značajnost (t-test)
	\bar{x}	SD	\bar{x}	SD	
Težina žumanjka (g)	17,41	2,83	17,00	1,81	n.s.
Visina žumanjka (mm)	17,22	0,66	16,59	0,72	n.s.
Promjer žumanjka (mm)	42,68	3,00	41,86	2,08	n.s.
Indeks žumanjka	0,41	0,03	0,40	0,03	n.s.
Težina bjelanjka (g)	31,36	2,46	32,61	2,71	n.s.
Visina bjelanjka (mm)	6,57	1,96	5,46	0,72	n.s.
HJ	79,2	13,24	72,23	6,30	*
pH žumanjka	6,15	0,10	6,05	0,03	n.s.
pH bjelanjka	8,90	0,23	9,13	0,03	n.s.

* $p < 0,05$, n.s. - nije značajno

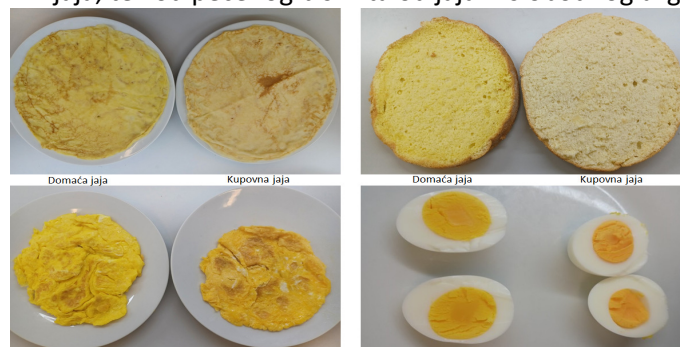
Najveće razlike između ispitivanih jaja utvrđene su, sukladno postavljenoj hipotezi, za vrijednosti boje (tablica 3). Iz dobivenih rezultata vidljivo je da, iako su vrijednosti boje (CIE L* i CIE a*) bile nešto više kod kupovnih jaja, između ispitivanih jaja nije bilo statistički značajnih razlika u pogledu boje kod svježih žumanjaka, osim kod vrijednosti CIE b* (žutila), gdje je utvrđen veći intenzitet žute boje žumanjka kod kupovnih jaja ($p < 0,05$) (tablica 3).

Tablica 3. Vrijednosti boje u svježem žumanjku i u proizvodima

	Jaja iz slobodnog uzgoja (n=20)			Kupovna jaja (n=20)		
	CIE L*	CIE a*	CIE b*	CIE L*	CIE a*	CIE b*
Svježi žumanjak	57,39	6,41	49,20	60,48	6,71	55,88*
Kuhano jaje	82,47*	5,01	81,47**	78,86	15,19**	64,71
Omlet	82,24*	2,32	70,94	74,98	6,97**	58,24
Palačinka	76,41	0,85	41,65**	74,41	0,1	33,43
Pečeni biskvit	84,15*	4,68**	47,07**	79,21	1,14	26,56

* $p < 0,05$, ** $p < 0,01$

Kod proizvoda (kuhana jaja, omlet, palačinke i pečeni biskvit) dobivenih od ispitivanih jaja (slika 4), vrijednosti boje bile su statistički značajno do statistički visoko značajno različite i to u korist proizvoda od jaja iz slobodnog uzgoja. Vrijednosti CIE L* kod kuhanih jaja, omleta i pečenog biskvita bile su statistički značajno više u odnosu na iste vrijednosti izmjerene kod proizvoda od kupovnih jaja. Ista vrijednost kod palačinki od jaja iz slobodnog uzgoja je bila viša nego kod palačinki od kupovnih jaja, ali razlike nisu bile statistički značajne. Kuhana jaja, palačinke i biskvit od jaja iz slobodnog uzgoja imale su statistički visoko značajno više vrijednosti žutoće (CIE b*) u odnosu na iste proizvode od kupovnih jaja. Što se tiče stupnja crvenila (CIE a), statistički visoko značajno više vrijednosti su utvrđene kod kuhanih jaja i omleta od kupovnih jaja, te kod pečenog biskvita od jaja iz slobodnog uzgoja.



Slika 4. Boja u proizvodima - Razlika u boji proizvoda (palačinke, biskvit, omlet i kuhana jaja) dobivenih od domaćih jaja iz slobodnog uzgoja (lijevi dijelovi segmenta slike) i kupovnih jaja iz kaveznog uzgoja (desni segmenti slike)

Izvor: Margeta, J., Inić U. A.



RASPRAVA

Rezultati istraživanja ukazuju na razlike u pojedinim svojstvima jaja i proizvoda izrađenih od jaja dobivenih od dviju ispitivanih skupina kokoši (kavezni vs. slobodni uzgoj). Kod svojstava ljuske jajeta utvrđeno je da jaja od kokoši iz kaveznog uzgoja imaju čvršću ljusku u odnosu na jaja dobivena iz slobodnog uzgoja. Ovo je u skladu s navodima Senčić (1994), Nemanič i Berić (1995) te Kralik i sur. (2009) koji govore o selekciji hibridnih kokoši nesilica na temelju čvršće ljuske jajeta zbog načina proizvodnje i činjenice da jaja nakon nesenja u kaveznom uzgoju padaju na pokretnu traku neposredno ispod kaveza te ih čvrsta ljuska štiti od eventualnog pucanja ili oštećenja. U slobodnom uzgoju kokoši nesu jaja u gnijezda sa slamom, tako da opasnost od oštećenja ili pucanja nije toliko velika. Međutim, jedan od razloga slabije čvrstoće ljuske kod jaja iz slobodnog uzgoja može biti i nedostatak kalcija u hrani (Mihaljević, 2017; Janječić, 2021) zbog načina hranjenja kokoši.

Kod utvrđenih svojstava žumanjka i bjelanjka, između ispitivanih skupina utvrđene su razlike jedino u Hogovim jedinicama (HJ), čije vrijednosti su bile značajno više kod jaja iz slobodnog uzgoja. Kako su HJ indikator svježine jaja (Grčević, 2015), moguće je da su kupovna jaja bila nešto starija nego što je datum na ambalaži proizvoda pokazivao (jaja prikupljena iz slobodnog uzgoja i kupovna jaja, prema datumu na deklaraciji su bila stara 2 dana). Nemogućnost utvrđivanja točne starosti jaja potencijalno može biti nedostatak istraživanja, no primijenjena metodologija i dobiveni rezultati predstavljaju objektivnu simulaciju konzumiranja domaćih i kupovnih jaja u realnom vremenu.

Najzanimljiviji rezultati utvrđeni su za svojstva boje, kako kod svježeg žumanjka, tako i u proizvodima. Mjerenja na svježim žumanjcima ukazuju na intenzivniju boju žumanjka kod kupovnih jaja u odnosu na jaja iz slobodnog uzgoja. Kako je boja žumanjka jedan od najznačajnijih kriterija prilikom odabira jaja od strane potrošača, proizvođači konzumnih jaja u hranu kokoši nesilica dodaju tvari koje utječu na intenzivniju boju žumanjka kao što su karotenoidi, boje, i aditivi (Ivanković i sur., 2018). Međutim, tijekom termičke obrade (kuhanje, pečenje) dolazi do raspadanja ovih spojeva i u proizvodima se gubi intenzitet boje. Za razliku od kokoši koje karotenoide dobivaju izravno iz hrane (bez dodataka), kao što su kukuruz ili paša trave (Janječić, 2021), karotenoidi su puno stabilniji i tijekom termičke obrade ne dolazi do njihovog raspadanja u tolikoj mjeri, stoga su proizvodi od jaja iz slobodnog uzgoja intenzivnije boje. Može se reći da se u proizvodima od jaja iz slobodnog uzgoja nalazi više karotenoida, što jaja iz slobodnog uzgoja, sa zdravstvenog i nutritivnog stajališta, čini povoljnijom namirnicom. Da bi se ovo potvrdilo, potrebno je nastaviti istraživanja koja će u obzir uzeti i kemijske analize jaja te njihove nutritivne vrijednosti. Naime, jaja kao jedna od biološki najvrijednijih namirnica, sadrži čitav niz esencijalnih hranjivih sastojaka. Intenzivnija boja proizvoda od jaja kokoši držanih na otvorenom i hranjenih kukuruzom i travom ukazuje na veći sadržaj i bolju postojanost prirodnih karotenoida, u odnosu na jaja kokoši držanih u kaveznom uzgoju. Ali, da bismo utvrdili potpunu hranidbenu i biološku vrijednost, neophodno je utvrditi i sadržaj bjelančevina, aminokiselina, masnih kiselina i drugih nutrijenata u jajetu. Ovo istraživanje nije moglo obuhvatiti ove analize, ali svakako treba razmišljati o tome u budućnosti.

ZAKLJUČCI

Na osnovu provedenog istraživanja može se zaključiti:

- ☞ Između jaja dobivenih iz slobodnog uzgoja i jaja dobivenih iz kaveznog uzgoja kokoši nema značajnih razlika u težini, dužini, širini i indeksu oblika jaja, kao niti u masi i debljini ljuske jaja.
- ☞ Jaja iz kaveznog uzgoja imaju značajno čvršću ljusku od jaja iz slobodnog uzgoja.
- ☞ Žumanjci jaja iz slobodnog uzgoja imaju manje intenzivnu žutu boju u odnosu na žumanjke jaja iz kaveznog uzgoja.
- ☞ Intenzitet žute boje u proizvodima dobivenima od ispitivanih jaja je značajno jači u proizvodima dobivenima od jaja iz slobodnog uzgoja.
- ☞ Na temelju rezultata može se pretpostaviti da su proizvodi dobiveni od jaja kokoši držanih u slobodnom uzgoju nutritivno vrijedniji jer intenzivnija boja ukazuje na veći sadržaj



karotenoida, a s obzirom da su karotenoidi ujedno i prirodni antioksidansi, možemo pretpostaviti da su jaja dobivena od kokoši iz slobodnog uzgoja, kao i proizvodi od istih, ujedno i zdravija od onih dobivenih od kokoši držanih u kaveznom uzgoju.

ZAHVALA

Autori se zahvaljuju djelatnicima Laboratorija za analizu animalnih proizvoda na pomoći prilikom izrade ovog rada.

LITERATURA

- Alibabić, V., Mujić, I. 2016. Pravilna prehrana i zdravlje. Veleučilište u Rijeci, Rijeka.
- Commission Internationale de l'Eclairage 1976. www.cie.co.at/Publications/Standards
- Galić, A., Filipović, D., Kovačev, I., Janječić, Z., Bedeković, D. 2016. Fizikalna i mehanička svojstva jaja slobodno držanih kokoši hrvatica i njihova usporedba s jajima iz kaveznog uzgoja. Krmiva : Časopis o hranidbi životinja, proizvodnji i tehnologiji krme, Vol. 58 No. 1.
- Global egg production from 1990 to 2021. 2022. www.statista.com
- Grčević, M., Gajčević-Kralik, Z., Kralik, G., Ivanković, S. 2011. Kokošje jaje kao funkcionalna namirnica. Krmiva, Zagreb, 53:93-99.
- Grčević, M. 2015. Obogaćivanje konzumnih jaja luteinom - Doktorski rad. Fakultet agrobiotehničkih znanosti, Osijek.
- Gunjević, V., Zurak, D., Svečnjak, Z., Duvnjak, M., Kiš, G., Bedeković, D., Janječić, Z., Pirgozliev, V., Grbeša, D., Kljak, K. 2023. Učinkovitost taloženja karotenoida u žumanjcima jajeta kokoši nesilice hranjene hranom koja se razlikuje po hibridu kukuruza. 58. hrvatski i 18. međunarodni simpozij agronoma, Dubrovnik, Zbornik sažetaka.
- Ivanković, M., Mikuš, T., Cvrtila, Ž. 2018. Kvaliteta jaja podrijetlom od nesilica iz slobodnog i kaveznog uzgoja. Meso, 5:419-425.
- Janječić, Z. 2020. Jaja kao funkcionalna hrana. Meso. 22:92-94.
- Janječić, Z. 2021. Čime hraniti kokoši nesilice? Gospodarski list, Zagreb, 15/2021.
- Jurman, L. 2019. Alternativni sustavi u proizvodnji konzumnih jaja - Diplomski rad. Fakultet agrobiotehničkih znanosti, Osijek.
- Keri, A.M., Kralik, Z. 2019. Kvaliteta kokošnjih jaja iz konvencionalnog i alternativnih sustava proizvodnje. Meso, 21:94.
- Kralik, G., Has-Schön, E., Kralik, D., Šperanda, M. 2009. Peradarstvo - Biološki i zootehnički principi. Poljoprivredni fakultet u Osijeku, Osijek.
- Kušić Promet, 2023. www.kusic-promet.hr
- Lovreković, M. 2017. Kokošje jaje kao funkcionalna hrana - Diplomski rad. Fakultet agrobiotehničkih znanosti, Osijek.
- Mihaljević, A. 2017. Ekološka proizvodnja jaja - Diplomski rad. Fakultet agrobiotehničkih znanosti, Osijek.
- Nemanić, J., Berić, Ž. 1995. Peradarstvo. Globus, Zagreb.
- Senčić, Đ. 1994. Peradarstvo. Gospodarski list d.d., Zagreb.

Izvori slika:

- Slika 1. Izgled i sastav jaja. www.yalla2shtry.com/kemijski-sastav-jaja-k.html
- Slika 2. Kokoši nesilica ISA Brown (lijevo) <https://plavakamenica.hr/2021/03/18/nestle-trazi-da-se-u-eu-zabrani-drzanje-kokosi-nesilica-u-kavezima/>
- Slika 2: New Hampshire (desno): <https://domesticanimalbreeds.com/new-hampshire-chicken-breed-everything-you-need-to-know/>
- Slika 3. Mjerenje kvalitativnih svojstava svježih jaja (izvor: autori ovog rada)
- Slika 4. Boja u proizvodima (izvor: autori ovog rada)

Glazba i kratkoročno pamćenje

Petra Bogičević, 8. razred

Osnovna škola Svete Ane u Osijeku, Osijek

Mentor: *Ivana Prus*

SAŽETAK

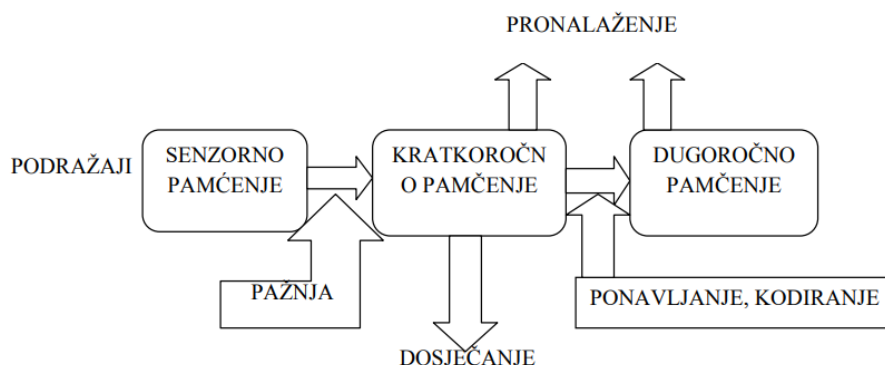
Pamćenje omogućuje zadržavanje podataka koje primamo iz okoline te njihovo korištenje u određenim trenucima. Tri vrste pamćenja su senzorno, kratkoročno i dugoročno. Cilj ovog istraživanja bio je ispitati utjecaj glazbe na kratkoročno pamćenje kroz različite vrste glazbe i tipove zadataka. U istraživanju korištene su klasična glazba, metal glazba i pop glazba dok se je kontrola provodila bez glazbe. Istraživanje je provedeno kroz četiri ciklusa testiranja s razmakom od dva tjedna između svakog testiranja, a sudjelovalo je 27 učenika osmih razreda. Testiranje je uključivalo tri zadatka od kojih je prvi provjeravao razumijevanje pročitane teksta, drugi pamćenje pojmova i treći pamćenje niza od 9 brojeva. Prvo testiranje provedeno je bez glazbe, drugo uz metal glazbu, treće uz klasičnu glazbu i četvrto uz pop glazbu. Srednja vrijednost dobivenih rezultata pokazala je kako je razumijevanje pročitane postiglo najbolje rezultate u uvjetima bez glazbe, pamćenje pojmova bilo je najuspješnije uz klasičnu glazbu dok je pamćenje brojeva bilo najbolje u uvjetima bez glazbe.

Ključne riječi: pamćenje; koncentracija; klasična glazba; metal glazba; pop glazba

UVOD

Pamćenje se definira kao postupak usvajanja, zadržavanja i korištenja podataka (Zarevski, 2007) te mogućnost pronalazanja pohranjenih informacija radi njihove uporabe u danom trenutku (Sternberg, 2004). U tom smislu, pamćenje funkcionira u tri faze: obrada, pohrana i pronalazak informacija (Krklec, 2017). Prema duljini trajanja zadržavanja informacija pamćenje se dijeli na: senzorno, kratkoročno i dugoročno (slika 1). Kod senzornog pamćenja informacije se zadržavaju vrlo kratko, od pola sekunde za vid do 2 sekunde za sluh (Zarevski, 2007), kod kratkoročnog od nekoliko sekundi do nekoliko minuta, dok se kod dugoročnog pamćenja informacije pamte u više dana i tjedana, mjesecima, godinama, a neke i trajno.

Informacije pohranjene u kratkoročno pamćenje najčešće prestaju biti iskoristive nakon njihove uporabe, ali se njihovim učestalim korištenjem, odnosno ponavljanjem može postići dugoročno pamćenje. Dugoročno pamćenje dijeli se na deklarativno (znanje činjenica) i proceduralno (kako što činiti) (Anderson, 1976).



Slika 1 Tok kretanja informacija kroz različite faze pamćenja (Zarevski, 2007)

Određena vrsta glazbe može imati utjecaj na izvršavanje pojedinih aktivnosti kao što su ples, vježbanje, trčanje i dr. Prema Degmečić i sur. (2005) glazba ima značajan utjecaj pri liječenju psihosocijalnih,



kognitivnih i komunikacijskih problema. Prema Schellenberg (2001) istraživanja su pokazala pozitivan utjecaj glazbe na sposobnosti kako što je jezik, matematika, motoričke vještine i emocije. S obzirom na različite tipove zadataka, istraživanje Miller i Schyb (1989) dovelo je do zaključka da postoji različit utjecaj glazbe s obzirom na različite zadatke.

Istraživanje glazbe na rješavanje testova inteligencije pokazalo je da su bolje rezultate postigli ispitanici u uvjetima s glazbom (Cockerton i sur., 1997), dok je ometajući učinak na pamćenje utvrdilo istraživanje u kojem se ispitivao utjecaj vokalne glazbe na prisjećanje slijeda 9 brojeva pri čemu je uočeno kako je vokalna glazba imala lošiji učinak u odnosu na instrumentalnu glazbu, ali je uvjet tišine imao bolji rezultat od instrumentalne glazbe (iako nije bio značajno bolji) (Salame i Baddeley, 1989). Također, Nekić (2014) u istraživanju dobiva bolje rezultate pamćenja brojeva uz instrumentalnu glazbu i tišinu nego uz vokalnu glazbu.

Kod dijela populacije učeničkog uzrasta postoji navika slušanja glazbe tijekom učenja ili ponavljanja nastavnog gradiva. U današnje vrijeme u kojemu su zbog brojnih obaveza i različitih aktivnosti učenici često suočeni s nedostatkom slobodnog vremena potrebno je vrijeme za učenje iskoristiti optimalno i na pravi način kako bi se ostvarili željeni rezultati. Može li glazba pri tome pomoći ili odmoći i utječe li glazba jednako na učenje različitih nastavnih predmeta i rješavanje različitih tipova zadataka te ovisi li pamćenje o vrsti glazbe neka su od pitanja koja si svaki učenik treba postaviti prije nego se odluči učiti uz glazbu ili u tišini. Navedena pitanja bila su poticaj za postavljanje cilja istraživanja kako bi se utvrdilo postoji li utjecaj glazbe na kratkoročno pamćenje učenika osmih razreda te koja vrsta glazbe bolje utječe pri rješavanju određenih tipova zadataka.

Jedno od istraživanja utjecaja glazbe na rješavanje zadataka ispitivalo je utjecaj Mozartove sonate te su sudionici koji su bili izloženi glazbi postizali bolje rezultate od sudionika koji su iste rješavali u tišini (Cervellin i Lippi, 2011). Ovo istraživanje prikazuje „Mozartov efekt“ koji označava kratkotrajno postizanje boljih rezultata neposredno nakon slušanja Mozartovih dijela. Prema Campbell (1997) klasična glazba pokazala je dobar utjecaj na procese pamćenja, koncentraciju i osjećaj opuštenosti stoga je kao jedna od vrsta glazbe odabrana klasična glazba, dok su sukladno afinitetima ispitanika za istraživanje dodatno odabrane pop i metal glazba.

Imajući u vidu ranija istraživanjima pretpostavka je da će se najbolji rezultati ostvariti u uvjetima s klasičnom glazbom i u tišini, dok se slabiji rezultati očekuju s pop i metal glazbom budući da je ona bliža ispitanicima te može potaknuti na aktivno slušanje ili pjevušenje i time ometati proces pamćenja.

METODE

Istraživanje je provedeno u osmim razredima osnovne škole tijekom četiri sata razrednika koji se održava zadnji nastavni sat u danu. Ispitanici su podijeljeni u dvije skupine, odnosno dva razreda. Zbog izostanaka učenika u danima testiranja, svaki krug istraživanja nije imao jednak broj ispitanika (u prvom testiranju sudjelovalo je 31, drugom testiranju 32, a trećem i četvrtom testiranju 27 ispitanika). Kako nisu svi ispitanici (učenici) bili u mogućnosti pristupiti svim fazama istraživanja u obzir su uzeti rezultati onih ispitanika koji su sudjelovali u svim istraživanjima stoga je ukupan broj ispitanika bio 27.

Istraživanje uključuje tri dijela: pripremu zadataka, provođenje testiranja i analizu podataka. Prvi zadatak odnosi se na čitanje s razumijevanjem odlomka iz odabrane knjige (Tolkien J.R.R. 2013: Hobit) i odgovaranjem na deset točnih/netočnih tvrdnji (prilog 1). Vrijeme za čitanje teksta iznosilo je 4



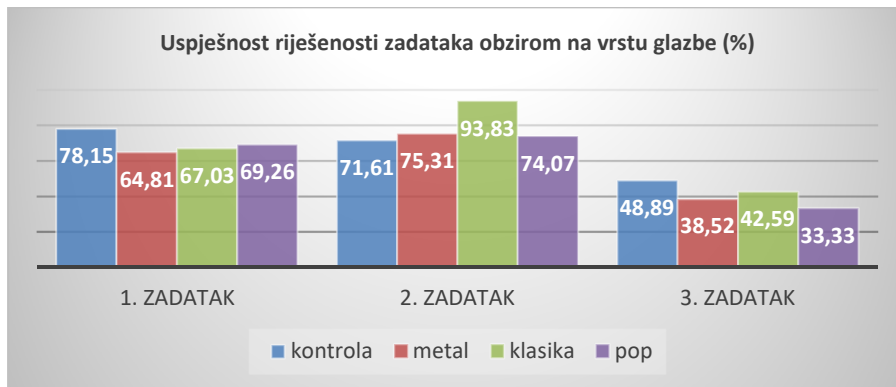
minute, nakon čega su ispitanici okretali list papira na drugu stranu kako više ne bi mogli vidjeti pročitani tekst te su potom prelazili na rješavanje drugog zadatka. Prije testiranja utvrđeno je kako učenici nisu prethodno čitali knjigu *Hobit*. Drugi zadatak čini čitanje niza od devet riječi i odgovaranje je li niz sadržavao tri potom navedene riječi (prilog 2). U drugom zadatku ispitanicima je putem PowerPoint prezentacije u trajanju od 10 sekundi prikazan niz riječi koje su potom nestale sa slajda, a ispitanici su odgovarali jesu li naknadno prikazane riječi bile navedene u prethodno prikazanom nizu. Treći zadatak predstavlja reprodukciju upamćenih ranije pročitanih nizova brojeva sastavljenih od 9 znamenki (prilog 2). Zadatak se provodio čitanjem niza brojeva, i to u trajanju od 10 sekundi za svaki niz, nakon kojih bi prikazani niz nestao sa slajda, a ispitanici su potom imali zadaću u narednih 10 sekundi zapisati pročitani niz. Nakon rješavanja trećeg zadatka, učenici su nastavili s rješavanjem prvoga zadatka tako da su trebali odrediti jesu li tvrdnje točne ili netočne u odnosu na prvotno pročitani tekst koji im više nije bio dostupan.

Testiranja su se održavala u razmacima od dva tjedna u prijepodnevnoj smjeni. Prije početka testiranja ispitanicima je objašnjen cilj i način provođenja istraživanja te su podijeljene suglasnosti za pristanak roditelja na provedbu ispitivanja kako bi se podatci mogli koristiti u istraživanju. Prvo testiranje provedeno je bez glazbe i ono je poslužilo kao kontrolni test. Drugo testiranje provedeno je uz slušanje metal glazbe (pjesme benda *Metallica: Master of puppets* i *Enter Sandman*), treće uz klasičnu glazbu (Wolfgang Amadeus Mozart – *Serenada za gudače br. 13 u G-duru, KV 525 Eine kleine Nachtmusik*, 1. stavak: *Allegro*) i četvrto uz pop glazbu (*Gala - Freed from desire*, *The Weeknd - Save your tears*, *George Ezra - Green green grass*). Uvjeti tijekom tri testiranja uz glazbu bili su isti, odnosno korišten je isti zvučnik te je glasnoća zvuka bila jednaka.

Treća faza istraživanja podrazumijeva obradu dobivenih podataka nakon testiranja. U prvom zadatku vrednovala se ispravnost zaokruženih tvrdnji (*točno/netočno*) s tim da je svaki točan odgovor nosio 1 bod te je bilo moguće ostvariti 10 bodova. U drugom zadatku svaki točan odgovor nosio je po 1 bod te je bilo moguće ostvariti 3 boda. U trećem zadatku cijeli točno napisani niz brojeva bodovan je s 2 boda, dok se za niz od točno napisanih prvih pet brojeva dodijelio po 1 bod te je maksimalan broj bodova bio 10. Rezultati su prikazani u obliku srednje vrijednosti točno riješenih zadataka što je prikazano pomoću dijagrama. Dobiveni rezultati provjereni su t-testom.

REZULTATI

Najbolji rezultat za prvi zadatak koji je ispitivao razumijevanje pročitanoog teksta postignut je bez glazbe (78,15%), dok su uvjeti uz glazbu pokazali približno jednake rezultate i to pop glazba (69,26%), klasična glazba (67,03%) te metal glazba (64,81%). Dobiveni rezultati za drugi zadatak pokazuju kako je najbolja uspješnosti u sjećanju niza riječi postignuta uz klasičnu glazbu (93,83%). Približni rezultati ostvareni su uz metal glazbu (75,31%), pop glazbu (74,07%) te kontrolu (71,61%). Najbolji rezultat za treći zadatak koji je ispitivao pamćenje brojeva u kratkom vremenu postignut je u kontroli (48,89%), odnosno bez glazbe. Drugi po redu rezultat postignut je uz klasičnu glazbu (42,59%), a nešto niži rezultati postignuti su uz metal glazbu (38,52%) i pop glazbu (33,33%) (slika 2).



Slika 2 Rezultati riješenosti zadataka s obzirom na vrstu glazbe

Statistička obrada napravljena je pomoću t-testa. p-vrijednost dobivena t-testom smatrala se statistički značajnom ako je manja od 0,05.

U prvom zadatku dobivene su sljedeće p-vrijednosti: kontrola u odnosu na metal glazbu 0,086547, kontrola u odnosu na klasičnu glazbu 0,130544 i kontrola u odnosu na pop glazbu 0,185742. Prema dobivenim vrijednostima razlika nije statistički značajna. U drugom zadatku dobivene su sljedeće p-vrijednosti: klasična glazba u odnosu na kontrolu 0,0000036, klasična glazba u odnosu na metal glazbu 0,00065 i klasična glazba u odnosu na pop glazbu 0,00092. Statistički značajna razlika utvrđena je u odnosu klasične glazbe i kontrole, klasične glazbe i metal glazbe te klasične glazbe i pop glazbe. U trećem zadatku dobivene su sljedeće p-vrijednosti: kontrola u odnosu na metal glazbu 0,0986, kontrola u odnosu na klasičnu glazbu 0,2646 i kontrola u odnosu na pop glazbu 0,009026. Statistički značajna razlika utvrđena je u odnosu kontrole i pop glazbe.

RASPRAVA

S obzirom na dobivene rezultate istraživanja, postavljena hipoteza da će na uspješnost ostvarenih rezultata najbolje utjecati klasična glazba pokazala se kao djelomično potvrđena ovisno o vrsti zadatka. Naime, pokazalo se kako tišina bolje utječe na kratkoročno pamćenje brojeva i razumijevanja pročitano teksta, dok je klasična glazba bolje utjecala na pamćenje pojmova.

Rezultati prvog zadatka koji pokazuju najbolji uspjeh pri uvjetima tišine mogu se usporediti s istraživanjem Musliu i sur. (2017) u kojem su također najbolji rezultati potvrđeni u uvjetima bez glazbe.

Dobiveni rezultati za drugi zadatak pokazuju da se niz pojmova može zapamtiti bolje uz klasičnu glazbu, dok se vrlo dobro pamte i uz ostale ispitivane vrste glazbe, dok se tišina kao kontrolna skupina pokazuje kao najlošiji uvjet za ovaj tip zadatka. Ovaj rezultat mogao bi se usporediti s istraživanjem u kojem su dobiveni bolji rezultati na testu inteligencije uz glazbu, nego uz tišinu (Cockerton i sur., 1997). Također, postoji mogućnost kako su ispitanici nakon prvog testiranja bili upoznati s formom pitanja što je moglo rezultirati boljim rezultatima u drugom, trećem i četvrtom testiranju.

Rezultati trećeg zadatka u kojem je niz brojeva bolje upamćen u tišini slaže se s istraživanjem Salame i Baddeley (1989) u kojem je uočeno kako vokalna glazba više ometa pri dosjećanju niza od 9 brojki nego što je to bez glazbe (u tišini). Slične rezultate dobio je Nittono (1997), ali i Nekić (2014) gdje je utvrđeno kako je vokalna glazba smanjila kapacitet pamćenja dok su nizovi brojeva bolje upamćeni uz instrumentalnu glazbu i tišinu.



Istraživanje bi se moglo proširiti uzimajući u obzir spolnu strukturu ispitanika, veći uzorak ispitanika te usporediti posebno vokalnu i instrumentalnu glazbu u odnosu na kontrolu.

ZAKLJUČCI

Tijekom istraživanja utvrđeni su sljedeći zaključci te se može reći kako je hipoteza djelomično potvrđena:

- ☞ glazba ima utjecaj na kratkoročno pamćenje, ali uspješnost pamćenja ovisi o vrsti glazbe i tipu zadatka,
- ☞ razumijevanje pročitane teksta bolje rezultate postiže u kontroli, odnosno u tišini, dok su rezultati uz klasičnu glazbu, metal glazbu i pop glazbu nešto niži,
- ☞ većina ispitanika pri prisjećanju pojmova ostvarila je najbolje rezultate uz klasičnu glazbu, što se slaže s pretpostavkom istraživanja, dok su najlošiji rezultati postignuti u kontroli,
- ☞ kontrola je pokazala najbolje rezultate pri pamćenju brojeva, dok je najlošiji rezultat postignut u uvjetima s pop glazbom što odgovara postavljenoj hipotezi.

LITERATURA

- Anderson J. R. 1976. Language, memory and thought. Psychology Press <https://www.perlego.com/book/1678649/language-memory-and-thought-pdf>, pristupljeno 15.1.2023.
- Campbell D., 1997. The Mozart effect. New York: Avon Books.
- Cervellin G., Lippi G. 2011. From music-beat to heart-beat: a journey in the complex interactions between music, brain and heart. *European journal of internal medicine* 22, 371-374.
- Cockerton T., Moore S., Norman D. 1997. Cognitive test performance and background music. *Perceptual and Motor Skills*, 85, 1435-1438.
- Degmečić D., Požgain I., Filaković P. 2005. Glazba kao terapija. *International review of the aesthetics and sociology of music*, 36 (2), 287-300. <https://hrcak.srce.hr/43621>, pristupljeno 19.2.2023.
- Krklec H. 2017. Pamćenje, završni rad <https://repositorij.ufzg.unizg.hr/islandora/object/ufzg%3A1229/datastream/PDF/view>, pristupljeno 10.1.2023.
- Miller L. K., Schyb M. 1989. Facilitation and interference by background music. *Journal of Music Therapy*, 26, 42-54.
- Musliu A., Berisha B. Musaj, A. Latifi D., Peci D. 2017. The impact of music in memory. *European Journal of Social Sciences Education and Research*, 10 (2), 1-8. https://revistia.com/files/articles/ejser_v4_i4_17/Arian.pdf pristupljeno 14.1.2023.
- Nekić M. 2014. Utjecaj glazbe na kapacitet radnog pamćenja, završni rad, Odjel za Psihologiju <http://www.unizd.hr/Portals/12/Zavrsni%20radovi/2014/Zavrsni%20rad%20-%20Marta%20Neki%C4%87.pdf>, pristupljeno 15.1.2023.
- Nittono H. 1997. Background instrumental music and serial recall. *Perceptual and Motor Skills*, 84, 1307-1313.
- Salame P., Baddeley A. 1989. Effects of background music on phonological shortterm memory. *Quarterly Journal of Experimental Psychology*, 41, 107-122.
- Schellenberg EG. 2001. Music and nonmusical abilities. *Annals of the New York Academy of Sciences* 930, 355-371.
- Sternberg R. J. 2004. Kognitivna psihologija. Zagreb: Naklada Slap
- Zarevski P. 2007. Psihologija pamćenja i učenja. Zagreb: Naklada Slap
- Tolkien J.R.R. 2013. *Hobit - J* | PDF (scribd.com) pristupljeno 10.11.2022.

PRILOZI

Prilog 1 Zadaci i upitnici uz testiranje

1. TESTIRANJE

1. ZADATAK Ulomak iz knjige *Hobit* ([Hobit - J | PDF \(scribd.com\)](http://www.scribd.com)) (9. i 10. str.)

U rupi u zemlji živio je hobit. Nije to bila gadna, prljava, mokra rupa ispunjena ostacima crva izdahom vlage, niti suha, gola, pješčana rupa u kojoj se nema na što sjesti, niti se ima što jesti: bijaše to hobitska rupa, a to znači vrlo udobna. Na njoj su bila sasvim okrugla vrata nalik na brodski prozorčić, obojena zelenom bojom, a točno na njihovoj sredini jarko žuta mjedena kvaka. Vrata su vodila u cjevasti hodnik nalik na tunel: vrlo ugodan tunel bez dima, sa zidovima obloženim drvenim pločama, s popločanim podom pokrivenim sagom, s ulaštenim stolicama, s mnogo, mnogo klinčanica za kape i kapute – taj je hobit volio goste. Tunel se protezao i protezao zadirući prilično ravno ali ne sasvim ravno u obronak brijega – podno Brijega, kako su ga svi kilometrima naokolo zvali – a u njemu je bilo mnogo malih okruglih vrata, najprije na jednoj pa na drugoj strani. Hobit se nigdje nije morao penjati: spavaće sobe, kupaonice, podrumi, smočnice (mnogo smočnica), plakari (imao je čitave sobe za pohranjivanje odjeće), kuhinje, blagovaonice, sve je to bilo u prizemlju, zapravo se u sve prostorije ulazilo iz istog hodnika. Najbolje su sobe bile na lijevoj strani od ulaza, jer su jedino one imale prozore, duboko uvučene okrugle prozorčice koji su



gledali na vrt, a iza njih na livade što su se spuštale do rijeke. Majka ovoga našeg hobita... ali što je to uopće hobit? Mislim da hobite ipak treba dan-danas malo opisati, jer su postali vrlo rijetki i zadiru od »velikih ljudi«, kako nas zovu. Oni su (ili su bili) mali ljudi, otprilike upola naše visine, manji su i od bradatih patuljaka. Hobiti nemaju brade. U vezi s njima gotovo da i nema čarolije, osim one obične svakidašnje čarolije koja im pomaže da tiho i brzo iščeznu kad velik priglup svat kao što smo vi ili ja nespretno bane, poput slona, dižući buku koju oni čuju na kilometre. Skloni su debljanju u predjelu trbuha; odijevaju se u kričave boje (uglavnom zelenu i žutu); ne nose cipele jer im na tabanima izrastu prirodni potplati i gusta topla smeđa dlaka kakva im raste i na glavi (kovrčava); imaju duge spretne smeđe prste, dobroćudna lica i smiju se dubokim, sočnim smijehom (pogotovo poslije ručka, a ručaju dva puta dnevno kad god imaju priliku). E, sad znate toliko da možemo nastaviti.

Točno/netočno

Hobitska rupa je jako udobna i nije slična niti jednoj drugoj rupi.	T	N
Na njoj su okrugla žuta vrata sa zlatnom kvakom.	T	N
U hobitskoj rupi je hodnik nalik na tunel.	T	N
Hobitska rupa ima 2 kata.	T	N
Najbolje sobe su na desnoj strani ulaza.	T	N
Hobiti su upola čovjekove visine.	T	N
Hobitima može narasti brada.	T	N
Nisu skloni debljanju.	T	N
Nose kričave i zabavne boje.	T	N
Oni se smiju visokim, pištavim smijehom.	T	N

2. TESTIRANJE**1. ZADATAK** Ulomak iz knjige Hobit ([Hobit - J | PDF \(scribd.com\)](#)) (23. i 24. str.)

Bilbo skoči na noge, obuče svoj kućni kaput i pođe u blagovaonicu. Tu nije nikog zatekao, ali su posvuda ležali ostaci obilatog doručka smazanog na brzinu. U sobi je vladao strašan nered, a u kuhinji su stajale hrpe neoprano posuđa. Činilo se da su upotrijebljeni svi lonci i tave koje je imao. Pranje posuđa bijaše tako žalosna činjenica da je Bilbo morao, htio-ne htio, povjerovati da noćasnje društvo nije bio samo ružan san, kao što se bio ponadao. Zapravo mu je na kraju odlanulo kad je shvatio da su svi oni otišli bez njega i da se nisu potrudili da ga probude (»ali nisu mi rekli ni hvala«, pomisli), a opet nije mogao da ne bude i malčice razočaran. Taj ga osjećaj iznenadi. »Ne budi lud, Bilbo Baggins!« reče sam sebi. »Kako možeš u tvojim godinama misliti na zmajeve i sve te grozomorne besmislice!« Stoga opaše pregaču, naloži vatru, zagrije vodu i opere posuđe. Zatim je lijepo doručkovao u kuhinji prije nego što se prihvatio pospremanja blagovaonice. Dotle je već sunce bilo zasjalo; ulazna je vrata ostavio otvorena da mu u rupu uđe topao proljetni povjetarac. Glasno je za fućkao i počeo zaboravljati na proteklu noć. Zapravo je baš sjeo za još jedan slasni doručak u blagovaonici uz otvoren prozor kad u sobu uđe Gandalf. – Dragi moj dečko – reče mu on – kad ćete vi već jednom krenuti? Što je bilo od onog vašeg ranog ustajanja? A sad ste sjeli da doručkujete, ili kako već taj obrok zovete, u pola jedanaest! Patuljci vaš nisu mogli čekati pa su vam ostavili poruku. – Kakvu poruku? – propeta gospodin Baggins, potpuno smeten. – Tako mi slona! – uzvikne Gandalf. – Ja vas jutros uopće ne prepoznajem... zar niste još prašinu obrisali s kamina? – Pa kakve to ima veze? Dosta mi je bilo što sam morao oprati suđe za vama četrnaestoricom! – Da ste obrisali prašinu s kamina, našli biste bili ovo ispod sata – reče Gandalf i pruži Bilbu pisamce (napisano, naravno, na njegovu papiru).

Točno/netočno

Četiri osobe razgovaraju u tekstu.	T	N
Društvo koje je otišlo iz kuće probudilo je Bilba pri odlasku.	T	N
Bilbo je prvo doručkovao te se onda prihvatio posla.	T	N
Ulazna vrata Bilbo je ostavio otvorena.	T	N
Pismo je bilo na kaminu.	T	N
Bilbo rado pere posuđe.	T	N
Gandalf ulazi u sobu tijekom Bilbovog drugog doručka.	T	N
Dvanaestorica gosta su ostavila nered u kući.	T	N
Patuljci su ostavili pismo.	T	N
Bilbo nije mislio na zmajeve.	T	N

3. TESTIRANJE**1. ZADATAK** Ulomak iz knjige Hobit ([Hobit - J | PDF \(scribd.com\)](#)) (30. i 31. str.)

Tada dođe do strahovitog rusvaja. Bilbo je ostao upravo toliko priseban, kad ga je Bert spustio na zemlju, da se iskobelja izvan domašaja njihovih nogu jer su se počeli tući kao psi i nazivati jedan drugoga svakojakim posve istinitim i prikladnim imenima na sav glas. Uskoro su se uhvatili ukoštac i umalo da se nisu otkotrljali u vatru ritajući se i bubetajući jedan drugoga dok ih je



Tom obojicu mlatio granom ne bi li ih dozvao pameti – što je njih, naravno, samo još više izbezumljivalo. Tada je bio pravi trenutak da Bilbo klisne, ali mu je Bert bio gotovo zgnječio svojom šapetinom sitna jadra stopala, ostao je bio bez daha i vrtjelo mu se u glavi, pa je ležao neko vrijeme na rubu kruga obasjanog vatrom. Usred tog okršaja pojavi se Balin. Patuljci su bili izdaleka čuli buku i, pošto su neko vrijeme čekali da se Bilbo vrati, ili da bar hukne kao sova, počeli su se jedan za drugim prikradati svjetlu što su tiše mogli. Čim je Tom spazio Balina pri odsjaju vatre, proderao se iz petnih žila. Trolov jednostavno ne mogu vidjeti patuljke (žive). Bert i Bili su se umah prestali tući pa su doviknuli Tomu: – Tome, daj brže vreću! – Prije nego što je Balin, koji se pitao kamo je u toj gunguli nestao Bilbo, shvatio što se zbiva, netko mu je namaknuo vreću na glavu i oborio ga na zemlju. Sve bi reko da imaš pravo – priklopi Bert – najbolje će biti da se maknemo sa svjetla. Rečeno, učinjeno. Uzevši u ruke vreće koje su im služile za nošenje ovaca i ostale lovine, sklone se u mrak. Kako bi koji patuljak naišao i začuđeno se zagledao u vatru i prolivene vrčeve i oglodanu ovčetinu, hop! – poklopila bi ga gadna, smrdljiva vreća i srušila na zemlju. Ubrzo je Dvalin ležao do Balina, i Fili i Kili jedan do drugog, i Dori i Nori i Ori svi na hrpi, i Oin i Gloin i Bifur i Bofur i Bombur, svi neudobno naslagani uz vatru. – To će ih vala naučiti pameti – reče Tom, jer su mu Bifur i Bombur bili zadali grdne muke i otimali se svom snagom, kao što se patuljci uvijek bore kad se nađu u škripcu. Thorin je stigao posljednji – ali on nije uletio u klopku. Naslutio je neko zlo i nije morao vidjeti noge svojih prijatelja kako vire iz vreća da bi shvatio da nije sve u najboljem redu. Ostao je stajati malo dalje u sjeni i upitao se: – Kakva je ovo gužva ovdje? Tko je to moje ljude poobarao na zemlju? – Trolovi! – odgovori mu Bilbo iza stabla. Na njega su bili zaboravili. – Sakrili su se u grmlje s vrećama – nadoda. – Oho! Ma nemoj? – reče Thorin i jurne do vatre prije nego što su trolovi stigli da ga zaskoče. Dohvati veliku granu koja je gorjela na drugom kraju, pa zarije taj kraj Bertu u oko prije nego što je ovaj stigao odskočiti u stranu. Tako ga je na kraće vrijeme izbacio iz borbe. Bilbo je učinio koliko je mogao. Zgrabio je Toma za nogu.

Točno/netočno

Bilbo i Bert razgovaraju.	T	N
Bert ima velike šape.	T	N
Trolovi vole patuljke.	T	N
Balina su stavili vreću na glavu.	T	N
Patuljci nisu bili poredani jedni do drugih uz vatru.	T	N
Thorin nije uletio u klopku.	T	N
Bilbo se sakrio iza stabla.	T	N
Thorin granom koja je gorjela svladava Berta.	T	N
Bilbo je zgrabio Toma za noge.	T	N
U priči se spominju Fili i Kili.	T	N

4. TESTIRANJE

1. ZADATAK Ulomak iz knjige Hobit ([Hobit - J J PDF \(scribd.com\)](https://www.scribd.com/document/111111111/Hobit-J-J-PDF)) (44. i 45. str.)

Išli su jedan za drugim. Početak staze nalikovao je na svod što vodi u mračan tunel, svod koji su tvorila dva velika stabla nagnuta jedno prema drugome, prestara i zagušena bršljanom i obrasla lišajima tako da su očuvala svega dva-tri pocrnjela lista. Sama staza bila je uska i vijugala je među deblima. Uskoro je svjetlo na ulazu postalo nešto kao mala svijetla rupa što je ostala daleko za njima, a tišina je bila toliko duboka te se činilo da im koraci tupo odjekuju dok se sve drveće prigiba prema njima osluškujući. Kad su im se oči navikle na tamu, vidjeli su ponešto s obje strane puta u nekoj vrsti prigušenog zelenog odsjaja. Pokatkad bi se tanka sunčana zraka, koja se nekom srećom bila probila kroz neki otvor visoko gore u krošnji, i s još više sreće izbjegla zamkama isprepletenoga granja i zamršenog šiblja nešto niže, zabola vitka i sjajna u zemlju ispred njih. Ali to je rijetko bivalo i uskoro je sasvim prestalo. U šumi je bilo crnih vjeverica. Kad su se Bilbove oštre i radoznale oči navikle da razaznaju predmete oko sebe, opažao ih je ovdje-ondje kako bježe sitnim koracima sa staze i sklanjaju se brže-bolje za stabla. Do patuljaka su dopirali i čudni zvukovi, roktanje, komešanje i dahtanje iz grmlja i iz lišća što je ležalo mjestimice u beskrajno debelim slojevima na šumskom tlu, ali nikako nije mogao razabrati izvor tih zvukova. Najodvratnije od svega što su vidjeli bijaše paučina: tamna, gusta paučina od neobično debelih niti, počesto razapeta između dva drveta ili zapletena na nižem granju s obje strane staze. Nije, međutim, bila razapeta preko same staze, iako nisu bili načisto je li to posljedica neke čarolije ili kojeg drugog razloga. Nije im dugo trebalo da im šuma omrzne isto onako kao što su im bili omrznući rovovi goblina, a činilo se da ovdje ima još manje nade da će joj ikad ugledati kraj. Ali morali su ići sve dalje i dalje, dugo pošto su se bili zaželjeli sunca i neba i počeli čeznuti za dodiranjem vjetra na obrazima. Ispod krova šume zrak se uopće nije kretao, vječito bijaše miran, mračan i zagušljiv. Osjećali su to čak i patuljci koji su bili navikli na kopanje rovova i na duge boravke pod zemljom, bez danjeg svjetla; a hobit, koji je volio napraviti kuću u rupi ali ne i u njoj provoditi ljetne dane, osjećao je kako se malo-pomalo guši. Najgore je bilo noću. Tada je bio mrak kao u rogu – ne ono što se obično naziva mrakom u rogu nego zaista takav mrak da se nije vidjelo



ni prsta pred nosom. Bilbo je pokušao mahati rukom pred nosom, ali stvarno nije ništa pod milim bogom vidio. Dobro, možda ipak nije ispravno kazati da nisu baš ništa vidjeli: vidjeli su nečije oči.

Točno/Netočno

Svod su tvorila tri stabla nagnuta jedno prema drugome.	T	N
Staza je bila uska i vijugava kroz stabla.	T	N
Nije bilo tiho dok su prolazili stazom.	T	N
Vidjeli su nekakvu vrstu zelenog odsjaja.	T	N
Sunčane zrake nisu niti jednom probile kroz krošnjju.	T	N
Čuli su čudne zvukove ali nisu znali odakle dolaze.	T	N
Nije bilo paučine.	T	N
Zrak je bio jako zagušljiv i nisu dobro disali.	T	N
Kada je pao mrak, Bilbo nije ni ruku ispred očiju vidio.	T	N
U mraku su samo vidjeli nečije oči.	T	N

PRILOG 2 Zadaci uz testiranje**1. TESTIRANJE: 2. ZADATAK**

Pogledajte ove tri riječi i za svaku odredite je li bila na popisu prikazanih riječi.

Riječi na PowerPoint prezentaciji: (naslov, pisac, roman, slovo, stranica, rječnik, knjižara, korice, ilustracija)

Knjiga	BILA JE / NIJE BILA
Naslov	BILA JE / NIJE BILA
Lisac	BILA JE / NIJE BILA

3. ZADATAK

Brojevi na PowerPoint prezentaciji:

4 6 9 8 5 7 9 5 4

6 5 8 1 7 4 5 3 0

5 9 7 2 3 6 8 2 6

8 6 9 1 4 2 3 5 8

7 5 2 6 9 8 4 3 1

Zapiši brojeve kojih se sjećaš:

Prvi niz: _____

Drugi niz: _____

Treći niz: _____

Četvrti niz: _____

Peti niz: _____

2. TESTIRANJE: 2. ZADATAK

Pogledajte ove tri riječi i za svaku odredite je li bila na popisu prikazanih riječi.

Riječi na PowerPoint prezentaciji: (ploča, stol, stolica, prozor, svjetlo, pano, knjiga, pernica, olovka, bilježnica)

Klupa	BILA JE / NIJE BILA
Kreda	BILA JE / NIJE BILA
Plakat	BILA JE / NIJE BILA

3. ZADATAK

Brojevi na PowerPoint prezentaciji:

4 6 8 5 2 3 7 8 5

6 8 9 5 2 1 3 6 9

7 9 4 5 1 3 4 2 7

9 6 2 7 5 6 3 7 5

6 8 9 4 3 2 1 5 4

Zapiši brojeve kojih se sjećaš:

Prvi niz: _____

Drugi niz: _____

Treći niz: _____

Četvrti niz: _____

Peti niz: _____

**3. TESTIRANJE: 2. ZADATAK**

Pogledajte ove tri riječi i za svaku odredite je li bila na popisu prikazanih riječi.

Riječi na PowerPoint prezentaciji: (kuglica, jela, smreka, blagdani, slama, advent, lampice, zvijezda, jaslice, praznici)

BOR BILA JE / NIJE BILA

BOŽIĆ BILA JE / NIJE BILA

PRAZNICI BILA JE / NIJE BILA

3. ZADATAK

Brojevi na PowerPoint prezentaciji:

4 8 9 7 5 6 3 5 4

6 5 8 2 7 4 5 3 0

5 9 7 3 1 3 9 2 6

8 7 9 1 4 6 3 5 8

7 5 1 6 8 8 4 3 5

Zapiši brojeve kojih se sjećaš:

Prvi niz: _____

Drugi niz: _____

Treći niz: _____

Četvrti niz: _____

Peti niz: _____

4. TESTIRANJE: 2. ZADATAK

Pogledajte ove tri riječi i za svaku odredite je li bila na popisu prikazanih riječi.

Riječi na PowerPoint prezentaciji: (laptop, miš, naočale, snijeg, maska, kemijska, knjiga, potpis, kalkulator)

KNJIGA BILA JE / NIJE BILA

OLOVKA BILA JE / NIJE BILA

TIPKOVNICA BILA JE / NIJE BILA

3. ZADATAK

Brojevi na PowerPoint prezentaciji:

2 8 3 0 9 1 6 3 2

9 5 4 1 9 5 4 8 3

5 7 8 6 3 1 9 2 8

7 7 8 2 3 8 9 4 2

4 8 2 5 6 2 5 2 6

Zapiši brojeve kojih se sjećaš:

Prvi niz: _____

Drugi niz: _____

Treći niz: _____

Četvrti niz: _____

Peti niz: _____

Raznolikost faune slatkovodnih puževa i školjkaša našeg kraja

Kala Glavaš, 8. razred

Valentina Kletečki, 8. razred

OŠ Bogumila Tonija, Samobor

Mentor: Nataša Kletečki

SAŽETAK

Fauna slatkovodnih puževa i školjkaša istraživana je od studenog 2021. do veljače 2023. g. na šest lokaliteta (četiri stajačice, dvije tekućice) smještenih na području grada Zagreba i dijela Zagrebačke županije. Prikupljeno je devet svojiti puževa i četiri svojite školjkaša. U odnosu na prethodna istraživanja, tijekom istraživanja 2021./2023.g. utvrđeno je osam novih vrsta mekušaca. Najveći je broj svojiti puževa zabilježen tijekom razdoblja 2021./2023.g. na lokalitetima jezero Jarun i jezero Orešje. Najveća je sličnost u fauni puževa uočena između jezera Orešje i jezera Jarun, iznosi 67%. Oba su staništa/lokaliteta slična po podlozi i okolnoj vegetaciji. Slatkovodni školjkaši (*Anodonta cygnea*, *Unio pictorum*, *Sinanodonta woodiana*, *Dreissena polymorpha*) zabilježeni su na tri lokaliteta - jezero Jarun, jezero Orešje i jezero Strmec. Školjkaši su prisutni samo u vodama stajaćicama, a brojnošću se u istraživanju 2021./2023. ističe vrsta *Unio pictorum*. Tijekom istraživanja 2010.g. školjkaši su zabilježeni i na lokalitetu jezero Kipišće, ali zbog „uređenja“ jezera u rekreacijske svrhe (prekopavanje bagerima i nanošenje velikih količina šljunka) oni su nestali. Na istraživanim lokalitetima prisutne su dvije invazivne vrste školjkaša (*Sinanodonta woodiana*, *Dreissena polymorpha*) i jedna invazivna vrsta puževa (*Planorbella duryi*).

Ključne riječi: slatkovodna malakofauna; stajačice; tekućice; brojnost vrsta; sličnost staništa

UVOD

Faunu puževa i školjkaša istraživali su učenici naše škole u nekoliko navrata (1999./2000., 2010.) pa škola posjeduje bogatu zbirku puževa i školjkaša. U navedenom razdoblju prikupljeno je 12 vrsta kopnenih puževa, pet vrsta slatkovodnih puževa i dvije vrste slatkovodnih školjkaša. Najbrojnije zabilježene vrste kopnenih puževa su vrste roda *Aegopis*, *Helix* i *Perforatella*, slatkovodne vrste roda *Amphimelania* (sada *Holandriana*), a školjkaša roda *Anodonta* i *Dreissena*. Slatkovodne puževe i školjkaše prikupljali su na izvoru Gradne, ušću Gradne u Savu, jezeru Kipišće i jezeru Jarun.

Od prvih istraživanja do danas došlo je i do niza intervencija u prostoru zbog intenzivne urbanizacije. Prema literaturnim podacima najznačajniji uzroci ugrožavanja staništa su hidromorfološke promjene na samom toku rijeka (izgradnja brana, kanaliziranje rijeka) čime se dobiva jednoličan tok rijeka, a stanište gubi na svojoj heterogenosti (Kileen i sur., 2004). Prijetnja za slatkovodne mekušce je i pretjerano iskorištavanje vode (vodoopskrba, potrebe industrije). Najosjetljivije vrste su slabo pokretne, usko su vezane uz točno određeni tip staništa, imaju ograničen areal, dugo vrijeme spolnog sazrijevanja, nisku plodnost i dugovječnost koje im onemogućavaju prilagodbu na promjene u okolišu (Jandrić, 2019). Povećanje učestalosti i intenziteta suše je problem za slatkovodne mekušce, naročito slatkovodne puževe.

Kako bi uočili utjecaj promjena u okolišu na živi svijet izabrali smo baš mekušce jer smo primijetili promjene na staništima koja oni naseljavaju (uređenje jezera Kipišće, betoniranje dijela obale rijeke Gradne, uređenje obale rijeke Save). Osim toga, već smo imali podatke ranijih istraživanja naših učenika, a literaturne podatke za istraživanja faune drugih vodenih beskralješnjaka za područje Samobora i njegove okolice nismo našli u literaturi.

U istraživanju provedenom u razdoblju 2021./2023. povećali smo broj staništa jer smo već u prvom istraživanju uočili razlike u broju vrsta i njihovoj zastupljenosti prema tipu staništa (stajačica, tekućica).



Na početku istraživanja upoznali smo biologiju puževa i školjkaša i njihovu morfološku građu koja nam je bila važna za određivanje svojti.

Koljeno mekušci (Mollusca) predstavlja vrlo raznoliku skupinu životinja. Prema Bouchet (2007) do danas je opisano 81 000 vrsta, od kojih je 6000 slatkovodnih, no pretpostavlja se da je njihov ukupan broj znatno veći. Razdijeljeni su u 7 razreda: bezljuskaši (Aplacophora), mnogoljuštaši (Polyplacophora), jednoljušturaši (Monoplachophora), koponošci (Scaphopoda), puževi (Gastropoda), školjkaši (Bivalvia), i glavonošci (Cephalopoda) (Habdija i sur., 2011).

Razred puževi (Gastropoda) predstavlja najbrojniju skupinu mekušaca. Za puževe je karakteristična asimetrična građa tijela. Plašt obavlja cijelo tijelo puža, osim stopala i glave te luči vapnenačku ljušturu, odnosno kućicu puževa. Osnovni dijelovi kućice su vrh (apeks), zavoji i otvor (ušće, apertura). Ovisno o položaju ušća, kućica može biti dešnjakinja ili ljevakinja. Kod slatkovodnih vrsta, koje se ukopavaju u podlogu, na ušću kućice nalazi se produžetak (sifonalna cijev) kroz koju izlazi cjevasti produžetak plašta (sifo ili tulajica), a on omogućava stalan doticaj sa svježom vodom iznad podloge (Matoničkin i sur., 1998).

Tijelo školjkaša bilateralno je simetrično, bočno spljošteno i često produljeno. Smješteno je unutar dvije vapnenačke ljušture koje izlučuju vanjski nabor plašta. Dvije ljušture, lijeva i desna, na leđnoj su strani spojene ligamentom i tako tvore školjku (Habdija i sur., 2011).

Ciljevi istraživanja su:

- ☞ odrediti koje svojte puževa i školjkaša naseljavaju izabrane lokalitete/staništa,
- ☞ usporediti prikupljene svojte sa svojama koje su naši učenici prikupili u razdoblju 2008. – 2010.,
- ☞ odrediti pripadaju li neki školjkaši pronađeni na istraživanim lokalitetima invazivnim vrstama,
- ☞ odrediti brojnost svojti na lokalitetima/staništima,
- ☞ analizirati Sørensenovim koeficijentom sličnosti (Štamol, 1985) sličnost svojti između različitih lokaliteta/staništa.

Iz ciljeva istraživanja proizlaze pretpostavke:

- ☞ svojte vodenih puževa i školjkaša te njihova brojnost na različitim staništima/lokalitetima razlikuju se ovisno o tipu staništa,
- ☞ na istraživanim lokalitetima/staništima moguće je pronaći neke nove, tijekom dosadašnjih istraživanja nezabilježene svojte,
- ☞ na istraživanim staništima moguće je naći sve ili neke od svojti koje su na tim staništima već zabilježene (učenička zbirka, Konjuh, 2016; Jandrić, 2019),
- ☞ na dijelu staništa očekujemo nalaz invazivnih svojti (učenička zbirka, Konjuh, 2016; Jandrić, 2019).

METODE RADA

Istraživanje je provedeno na šest lokaliteta smještenih na području grada Zagreba i dijela Zagrebačke županije. Istraživano područje u cijelosti pripada vodnom slivu rijeke Save i njezinih brojnih pritoka. U dijelu toka kroz Zagrebačku županiju, Sava je nizinska rijeka izrazito varijabilnog vodostaja: niski vodostaj tijekom ljeta, visoki vodostaj i sezonske bujice u proljeće, jesen i zimu. Njene najznačajnije pritoke, s ušćima na području Zagrebačke županije su: Sutla, Krapina i Lonja s njene lijeve strane te Bregana, Gradna i Rakovica s njene desne strane. Na području grada Zagreba i Zagrebačke županije



postoji nekoliko većih jezera (Jarunsko jezero, jezero Rakitje, Kipišće, Orešje, Strmec). Klima na istraživanom području, prema Köepenovoj klasifikaciji, pripada umjereno toploj, kišnoj klimi, bez sušnih razdoblja, s oborinama jednoliko raspodijeljenim tijekom godine (Zagrebačka županija, 2003).

Rad na terenu

Uzorci su prikupljeni na području jezera Kipišće, Orešje, Strmec, Jarun, potoku Gradni i rijeci Savi, od studenog 2021. do veljače 2023. godine, na svakom lokalitetu (točna lokacija određena GPS uređajem GARMIN) dva puta. Navedeni lokaliteti odabrani su zbog želje da se uzorci prikupe u različitim tipovima voda na kopnu. Tijekom svakog izlaska na teren uzorci su odlagani u staklene bočice ili plastične vrećice. Uočeni živi puževi i školjkaši ili njihove kućice i ljuštore prikupljeni su rukom, a ujedno su lopaticom prikupljeni 500 gramski uzorci podloge (pijesak, tlo) radi moguće prisutnosti vrsta koje nisu uočene (Štamol, 1985).

Rad u laboratoriju

- 1) Uzorci doneseni s terena stavljeni su u aluminijske kadice, prekrivani gazom i sušeni oko dva tjedna. Osušeni uzorci prosijani su kroz tri različita sita promjera oka 3 x 3 mm, 2 x 2 mm i 0,5 x 0,5 mm. Materijal koji se zadržao na svakom pojedinom situ detaljno je pregledan, kućice puževa i ljuštore školjkaša izdvojene (Štamol, 1985), odložene u epruvete ili papirnate vrećice.
- 2) Vrste su determinirane do roda ili vrste uz pomoć sljedeće literature: Matoničkin i sur. (1998), Bole (1969), Welter-Schultes (2012), Cameron (2003), Glöer (2002).

3) Analiza rezultata:

- određivana je zastupljenost svojti puževa i školjkaša prema lokalitetu/staništu,
- određivana je pripadnost školjkaša invazivnim svojutama/vrstama prema popisu invazivnih školjkaša u slatkovodnim ekosistemima Hrvatske (Lajtner, 2014)
- određivana je brojnost svojti na lokalitetima/staništima

Dobiveni broj primjeraka, prema staništima, svrstavan je u jednu od 6 kategorija i to po sljedećoj shemi (Štamol, 1985):

- 1) 1 primjerak..... +
- 2) 2-5 primjeraka..... 1
- 3) 6-10 primjeraka..... 2
- 4) 11-20 primjeraka..... 3
- 5) 21-50 primjeraka..... 4
- 6) > 50 primjeraka.....5

- analizirana je sličnost između lokaliteta/staništa pomoću Sørensenovog koeficijenta sličnosti (Štamol, 1985):

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

c – broj zajedničkih vrsta na dva staništa

a – ukupni broj vrsta na prvom staništu

b – ukupni broj vrsta na drugom staništu

REZULTATI

Sistematski pregled pronađenih vrsta slatkovodnih puževa i školjkaša

Na širem području Zagreba i dijela Zagrebačke županije pronađeno je šest svojti puževa i dvije svojte školjkaša. Popis svojti puževa i školjkaša izrađen je prema njihovoj sistematskoj pripadnosti (Mollusca Base eds. 2023). Nazivi su navedeni latinskim ili hrvatskim jezikom (ako postoji naziv).

Koljeno: MOLLUSCA - mekušci

Razred: BIVALVIA Linnaeus, 1758. - školjkaši



Podrazred: Autobranchia

Red: Myida

Porodica: Dreissenidae

Rod: *Dreissena* Van Beneden, 1835

Dreissena polymorpha (Pallas, 1771) – raznolika trokutnjača; Alohtona invazivna vrsta koja je autohtona na području Kaspijskog jezera i uz Crno more (Rimay, 2015.)

Podrazred: Autobranchia

Red: Unionida

Porodica: Unionidae

Rod: *Anodonta* Lamarck, 1799

Anodonta cygnea (Linnaeus, 1758) – bezupka

Podrazred: Autobranchia

Red: Unionida

Porodica: Unionidae

Rod: *Sinanodonta* Modell, 1945

Sinanodonta woodiana - (Lea, 1834) - istočnoazijska bezupka; Alohtona invazivna vrsta iz istočne i jugoistočne Azije (Lajtner i Crnčan, 2014)

Podrazred: Autobranchia

Red: Unionida

Porodica: Unionidae

Rod: *Unio* Philipsson, 1788

Unio pictorum - (Linnaeus, 1758) – slikarska lisanka

Razred: GASTROPODA Cuvier, 1795, puževi

Podrazred: Caenogastropoda

Red: Architaenioglossa

Porodica: Viviparidae

Rod: *Viviparus* Montfort, 1810

Viviparus acerosus Bourguignat, 1862 – živородni ogrc

Podrazred: Caenogastropoda

Red: Caenogastropoda (? – neprovjereno)

Porodica: Amphimelaniidae

Rod: *Holandriana* Bourguignat, 1884

Holandriana holandrii (C. Pfeiffer, 1828) – nema hrv. ime

Podrazred: Caenogastropoda

Red: Littorinimorpha

Nadporodica: Truncatelloidea

Porodica: Bithyniidae

Rod: *Bithynia* Leach, 1818

Bithynia tentaculata (Linnaeus, 1758) – nema hrv. ime

Podrazred: Heterobranchia

Nadred: Eupulmonata

Red: Stylomatophora

Porodica: Succineidae

Rod: *Succinea* Draparnaud, 1801

Succinea putris (Linnaeus, 1758) – obični jantarnjak; kopneni puž koji živi uz i u vodi

Podrazred: Heterobranchia

Nadred: Hygrophila

Porodica: Lymnaeidae

Rod: *Peregriana* Servain, 1882

Peregriana labiata (Rossmässler, 1835) – nema hrv. ime

Podrazred: Heterobranchia

Nadred: Hygrophila

Nadporodica: Lymnaeoidea

Porodica: Physidae

Rod: *Physella* Haldeman, 1842



Physella acuta (Draparnaud, 1805.) – nema hrv. ime

Podrazred: Heterobranchia

Nadred: Hygrophila

Nadporodica: Lymnaeioidea

Porodica: Planorbidae

Rod: *Planorbella* Haldeman, 1843

Planorbella duryi (Wetherby, 1879) – nema hrv. ime; Alohtona invazivna vrsta iz Sjeverne Amerike (Štamol et al, 2015)

Podrazred: Heterobranchia

Porodica: Valvatidae

Rod: *Valvata* O. F. Müller, 1773

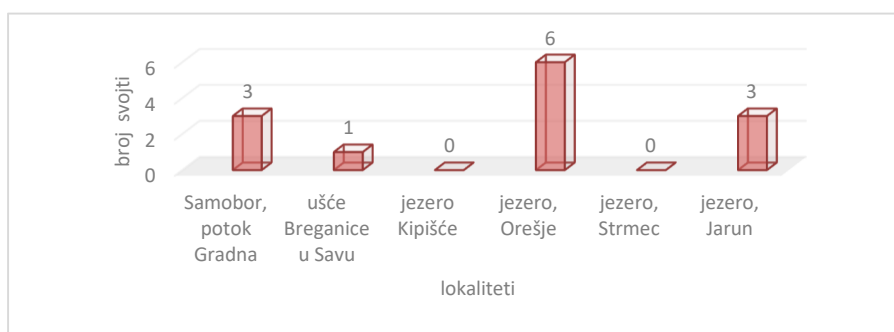
Valvata piscinalis (O. F. Müller, 1774) – nema hrv. ime

Zastupljenost svojti puževa i školjkaša prema lokalitetu/staništu

Analizom zastupljenosti puževa prema staništima/lokalitetima i usporedbom prikupljenih svojta sa svojtima prikupljenim našim prethodnim istraživanjima, utvrđen je manji broj zabilježenih svojti na lokalitetu Gradna (tablica 1). Tijekom razdoblja 2021./2023. niti jedna svojta puževa nije zabilježena na lokalitetu jezero Kipišće. Najveći je broj svojti zabilježen na lokalitetima Orešje (slika 1).

Tablica 1 Zastupljenost svojti puževa prema staništima/lokalitetima¹

ZABILJEŽENE VRSTE	LOKALITETI						
	Samobor potok Gradna		ušće Breganice u Savu	jezero Jarun	jezero Kipišće	jezero Orešje	jezero Strmec
	GODINA PRIKUPLJANJA						
	2000.	2022./2023.	2021./2023.	2021./2023.	2021./2023.	2021./2023.	2021./2023.
<i>Holandriana holandrii</i>	+	+	-	+	-	-	-
<i>Bythinella</i> sp.	+	-	-	-	-	+	-
Porodica Hydrobidae	+	-	-	-	-	-	-
<i>Valvata piscinalis</i>	-	-	-	-	-	+	-
<i>Physella acuta</i>	-	-	-	+	-	+	-
<i>Peregriana labiata</i>	-	-	-	+	-	+	-
<i>Viviparus acerosus</i>	-	-	-	-	-	+	-
<i>Planorbella duryi</i>	-	-	+	+	-	-	-
<i>Succinea putris</i>	-	-	-	-	-	+	-



Slika 1 Broj prikupljenih svojti puževa prema staništima/lokalitetima u razdoblju 2021./2023.

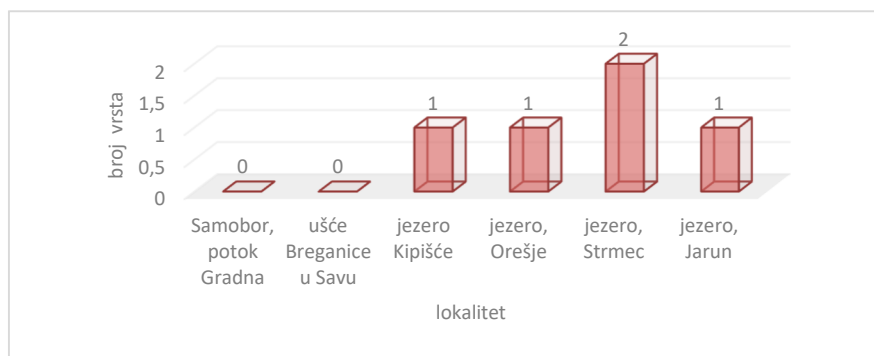
Analizom zastupljenosti školjkaša prema staništima/lokalitetima i usporedbom prikupljenih svojte sa svojtima prikupljenim tijekom naših prethodnim istraživanjima utvrđeno je da su školjkaši prisutni samo u stajačicama (Tablica 2). Za razliku od 2010. g., u istraživanju 2021./2023. školjkaši nisu

¹ U tablicama su uz staništa navedene i godine u kojima su u razdoblju 1999./2000. do 2010. provedena istraživanja. Ako je u tablici navedeno samo razdoblje 2021./23. istraživanje u ranijem razdoblju nije provedeno.

zabilježeni na lokalitetu jezero Kipišće (slika 4), dok su dvije vrste školjkaša zabilježene na lokalitetu jezero Strmec.

Tablica 2. Zastupljenost svojti školjkaša prema staništima/lokalitetima

ZABILJEŽENE VRSTE	LOKALITETI								
	Samobor potok Gradna		ušće Breganice u Savu	jezero Jarun		jezero Kipišće		jezero Orešje	jezero, Strmec
	GODINA PRIKUPLJANJA								
	2000.	2022./2023.	2021./2023.	2010.	2021./2023.	2000.	2021./2023.	2021./2023.	2021./2023.
<i>Dreissena polymorpha</i>	-	-	-	+	+	-	-	-	-
<i>Anodonta cygnea</i>	-	-	-	-	-	+	-	+	-
<i>Unio pictorum</i>	-	-	-	-	-	-	-	-	+
<i>Sinanodonta woodiana</i>	-	-	-	-	-	-	-	-	+



Slika 4 Broj prikupljenih svojti školjkaša prema staništima 2021/23.

Određivana je i pripadnost puževa i školjkaša invazivnim svojtima/vrstama prema popisu invazivnih školjkaša u slatkovodnim ekosustavima. Na istraživanim lokalitetima zabilježene su dvije invazivne vrste školjkaša i to na lokalitetima Jarun i Strmec. To su vrste *Dreissena polymorpha* (Pallas, 1771) (Slika 5) koja je zabilježena na lokalitetu Jarun (na istom lokalitetu zabilježena je i 2010. g.) i *Sinanodonta woodiana* (Lea, 1834) koja je zabilježena na lokalitetu Strmec.

Slika 3 Invazivna vrsta školjkaša *Dreissena polymorpha* (Pallas, 1771)

Izvor: Pedersen, 2021.

Brojnost svojti puževa i školjkaša na lokalitetima/staništima

Analizom brojnosti svojti puževa prema staništima/lokalitetima i usporedbom prikupljenih svojti sa svojtima prikupljenim našim prethodnim istraživanjima utvrdili smo kako je najbrojnija svojta puževa *Viviparus* sp. Zabilježena je na lokalitetu jezero Orešje. Brojnost zabilježenih svojti na lokalitetu Gradna u istraživanju 2021./2023. manja je u odnosu na naše prethodno istraživanje (tablica 3).

Tablica 3 Brojnost svojiti puževa prema staništima/lokalitetima²

ZABILJEŽENE VRSTE	LOKALITETI						
	Samobor potok Gradna	ušće Breganice u Savu	jezero Jarun	jezero Kipišće	jezero Orešje	jezero, Strmec	
	GODINA PRIKUPLJANJA						
	2000.	2022./2023.	2021./2023.	2021./2023.	2021./2023.	2021./2023.	2021./2023.
<i>Holandriana holandrii</i>	3	2	-	+	-	-	-
<i>Bythinella sp.</i>	+	-	-	-	-	+	-
Porodica Hydrobiidae	2	-	-	-	-	-	-
<i>Valvata piscinalis</i>	-	-	-	-	-	+	-
<i>Physella acuta</i>	-	-	-	+	-	+	-
<i>Peregriana labiata</i>	-	-	-	+	-	+	-
<i>Viviparus acerosus</i>	-	-	-	-	-	2	-
<i>Planorbella duryi</i>	-	-	+	+	-	-	-
<i>Succinea putris</i>	-	-	-	-	-	+	-

Među vrstama školjkaša brojnošću se ističe *Unio pictorum* zabilježena u razdoblju 2021./2023. na lokalitetu jezero Strmec, *Dreissena polymorpha* na lokalitetu jezero Jarun u oba istraživanja te *Anodonta cygnea* 2010.g. na lokalitetu jezero Kipišće (tablica 4).

Tablica 4 Brojnost svojiti školjkaša prema staništima/lokalitetima

ZABILJEŽENE VRSTE	LOKALITETI								
	Samobor potok Gradna	ušće Breganice u Savu	jezero Jarun	jezero Kipišće	jezero Orešje	jezero, Strmec			
	GODINA PRIKUPLJANJA								
	2000.	2022./2023.	2021./2023.	2010.	2021./2023.	2000.	2021./2023.	2021./2023.	2021./2023.
<i>Dreissena polymorpha</i>	-	-	-	3	3	-	-	-	-
<i>Anodonta cygnea</i>	-	-	-	-	-	2	-	2	-
<i>Unio pictorum</i>	-	-	-	-	-	-	-	-	2
<i>Sinanodonta woodiana</i>	-	-	-	-	-	-	-	-	+

Tijekom istraživanja 2010. godine školjkaši su zabilježeni i na lokalitetu jezero Kipišće, ali zbog „uređenja“ jezera u rekreacijske svrhe (prekopavanje bagerima i nanošenje velikih količina šljunka) oni su nestali (slike 4 i 5).



(Izvor: Zagrebancija, 2012.)

Slika 4 Jezero Kipišće 2012.g. prije preuređenja



(Izvor: TZ Sveta Nedjelja, 2012.)

Slika 5 Jezero Kipišće nakon 2012.g. poslije preuređenja

Drugu intervenciju čovjeka na staništu uočili smo u proljeće 2023.g. na lokalitetu jezero Strmec, gdje je uređivana obala jezera. Na mjestima gdje je otklonjen površinski sloj tla našli smo veli broj ljuštura školjkaša (Slike 6 i 7).

² legenda: 1 primjerak.....+; 2-5 primjeraka.....1; 6-10 primjeraka.....2; 11-20 primjeraka.....3



Autor: K. Glavaš

Slika 6 Jezero Strmec 2012.g, prije preuređenja



Autor: V. Kletečki

Slika 7 Jezero Strmec nakon 2012.g. poslije preuređenja

Sličnost između lokaliteta/staništa pomoću Sørensenovog koeficijenta sličnosti

Najveća sličnost svojti puževa uočena je između jezera Jarun i jezera Orešje i iznosi 40%, ista je sličnost uočena i između ušća Breganice u Savu (Tablica 5).

Tablica 5 Sličnost svojti puževa prema staništima/lokalitetima

	Samobor potok Gradna	ušće Breganice u Savu	jezero Jarun	jezero Kipišće	jezero Orešje	jezero, Strmec
Samobor potok Gradna		0	28,6%	0	22,22%	0
ušće Breganice u Savu			40%	0	22,22%	0
Jezero Jarun				0	40%	0
Jezero Kipišće					0	0
Jezero Orešje						0
Jezero Strmec						

Najveća sličnost svojti školjkaša uočena je između jezera Orešje i Kipišće, iznosi 100%. Važno je napomenuti da u istraživanju provedenom 2021./2023. mekušci nisu zabilježeni na lokalitetu jezero Kipišće.

Tablica 6 Sličnost svojti školjkaša prema staništima/lokalitetima

	Samobor potok Gradna	ušće Breganice u Savu	jezero Jarun	jezero Kipišće	jezero Orešje	jezero Strmec
Samobor potok Gradna		0	0	0	0	0
ušće Breganice u Savu			0	0	0	0
Jezero Jarun				0	0	0
Jezero Kipišće					100%	0
Jezero Orešje						
Jezero Strmec						

RASPRAVA

Istraživanjem faune slatkovodnih puževa i školjkaša Zagreba i Zagrebačke županije utvrđeno je devet svojti puževa i četiri svojte školjkaša. Vidljiv je veći broj svojti puževa u odnosu na prethodna istraživanja. Najveći je broj svojti puževa zabilježen tijekom razdoblja 2021./2023. na lokalitetima jezero Jarun i jezero Orešje, šest svojti. U istom razdoblju niti jedna svojta nije zabilježena na lokalitetu



jezero Kipišće. Brojem svojiti bogatije su stajačice. Na lokalitetu Gradna, tijekom istraživanja 2000. zabilježene su čak tri svojite puževa, dok je u razdoblju 2021./2023. zabilježena samo jedna svojita. Brojnošću jedinki vrste *Viviparus acerosus* u razdoblju 2021./2023. ističe se lokalitet jezero Strmec. U ranijim se istraživanjima isticao lokalitet Gradna, svojtom *Amphimelania sp.* (sada *Holandriana*) čija je brojnost nešto manja u razdoblju 2021./2023. Najveća je sličnost u fauni puževa uočena između jezera Orešje i jezera Jarun, iznosi 40%. Oba su staništa/lokaliteta slična po podlozi i okolnoj vegetaciji (Hrvatske vode, 2021). Ista je sličnost i između ušća Breganice u Savu i jezera Jarun jer je na ušću Breganice u Savu zabilježena samo jedna vrsta.

Slatkovodni školjkaši (*Anodonta cygnea*, *Unio pictorum*, *Sinanodonta woodiana*, *Dreissena polymorpha*) zabilježeni su na tri lokaliteta, jezero Jarun, jezero Orešje i jezero Strmec. Školjkaši su prisutni samo u vodama stajačicama, a brojnošću se u istraživanju 2021./2023. ističe vrsta *Unio pictorum*. Tijekom istraživanja 2010. godine školjkaši su zabilježeni i na lokalitetu jezero Kipišće, ali zbog „uređenja“ jezera u rekreacijske svrhe oni su nestali. Na istraživanim lokalitetima prisutne su dvije invazivne vrste školjkaša (*Sinanodonta woodiana*, *Dreissena polymorpha*) i jedna invazivna vrsta puževa (*Planorbella duryi*). Na lokalitetu jezero Strmec našli smo veliki broj ljuštura školjkaša na mjestima gdje je otklonjen površinski sloj tla u proljeće 2023. godine.

Istraživanja su pokazala (Jandrić, 2019) kako na smanjenje brojnosti slatkovodnih mekušaca može utjecati učestalost i intenzitet sušnih razdoblja. Duga sušna razdoblja dovode do presušivanja izvora, ali i manjih rijeka, uzrokujući izumiranje populacija. S druge strane, slatkovodni mekušci su također osjetljivi i na promjene u kvaliteti vode do kojih dolazi uslijed poplava i bujičnih voda jer se mijenjanja razine sedimenta (Jandrić, 2019). Najsitnije vrste na taj način mogu biti potpuno zakopane u sediment. Glavna prijetnja vrstama puževa i školjkaša vodenih staništa je i urbanizacija. Opasnost predstavlja i širenje poljoprivrede te prekomjerno iskorištavanje slatkovodnih resursa. Intenziviranje poljoprivredne proizvodnje dovelo je do povećanog korištenja mineralnih gnojiva i pesticida što za posljedicu ima povećanje razine fosfata i nitrata u površinskim i podzemnim vodama. Čak i u regijama koje su rijetko naseljene, utjecaj se može vidjeti u nestanku izvorskih vrsta puževa koji su osjetljivi na promjene u kvaliteti vode. Ova je pojava posebno izražena u nizinama gdje su urbanizacija i poljoprivredno iskorištavanje najveći (Lajtner, 2013).

Utjecaj na autohtonu faunu mekušaca ima i širenje invazivnih vrsta. Na istraživanim staništima zabilježena je invazivna vrsta raznolika trokutnjača, *Dreissena polymorpha*, koja na ovom području obitava već dulje vrijeme (u zbirci imamo primjerke prikupljene 2010). Na lokalitetu Jarun u toplom dijelu godine vidljiva je na plutajućim listovima vodenog bilja. Razlog zašto je ne nalazimo na drugim staništima može biti nedostatak čvrstih podloga na koje bi se *Dreissena* mogla prihvatiti. Druga invazivna vrsta školjkaša je *Anodonta woodiana*. Navedena je vrsta u nas najvjerojatnije slučajno unesena ribama iz istočne Azije prvi put zabilježena na ribnjacina u istočnoj Slavoniji (Crnčan, 2009).

Analizom sastava malakofaune okolice Zagreba i Zagrebačke županije uočeno je da su istraživanjem zabilježeni tipični predstavnici malakofaune ovog dijela Hrvatske (Jandrić, 2019). Nedostatak iskustva pri prikupljanju, odvajanju vrsta iz uzorka i determinaciji može biti razlog relativno malog broja sakupljenih vrsta.

ZAKLJUČCI

Na osnovu dobivenih rezultata zaključeno je:



- ☞ na istraživanim staništima nađene su svojite koje su na takvim staništima već zabilježene,
- ☞ na lokalitetu Jarun zabilježena je invazivna vrsta školjka, raznolika trokutnjača *Dreissena polymorpha*, što odgovara nalazu iz 2010.,
- ☞ od invazivnih svojiti zabilježene su i *Planorbella duryi* te *Sinanodonta woodiana*, koje tijekom prethodnih istraživanja nisu nađene,
- ☞ veća je brojnost svojiti slatkovodnih puževa i školjkaša zabilježena u stajaćicama,
- ☞ zabilježene su nove vrste slatkovodnih puževa i školjkaša koje prethodnim istraživanjima nisu zabilježene,
- ☞ uređenjem jezera Kipišće - Strmec, kao prostora za rekreaciju, nestaju vrste slatkovodnih školjkaša koje su prije preuređenja u njemu zabilježene,
- ☞ veća je sličnost vrsta među, prema ekološkim uvjetima, sličnijim staništima (tip vode na kopnu, podloga, okolna vegetacija).

ZAHVALA

Iskrenu zahvalnost za provođenje ovog istraživanja zahvaljujemo: dr. sc. Vesni Štamol, na pomoći pri prikupljanju literature; Petru Crnčanu, mag. biol. exp., kustosu Hrvatskog prirodoslovnog muzeja za pomoć kod determinacije vrsta; Mirjani Dimnjaković, prof. ravnateljici Dječje knjižnice Samobor i knjižničarkama Željki Vrbanić i Silviji Turk, za pomoći pri predstavljanju projekta.

LITERATURA

- Bole J. 1969. Ključni za določavanje živali - IV. Mehkužci (Mollusca), Društvo biologov Slovenije, Inštitut za biologijo Univerze v Ljubljani, Ljubljana.
- Bouchet P. 2007. Inventorying the molluscan fauna of the world: How far to go? U: Jordaens, K., van Houtte, N., van Goethem, J., Backljav, T. (ur.) Abstracts of the World Congress of Malacology, Antwerp, Belgiu.
- Cameron, R. 2003. Land Snail sin the British Isles; FSC Publications; Shrewsbury,
- Crnčan P. 2009. Slatkovodna malakofauna naselja Viljevo i okolice. Diplomski rad. PMF, Zagreb
- Delić A. 1991. Kvalitativni i kvantitativni sastav makrozoobentosa rijeke Ilove. Ribar. Jugoslav, 46: 10-13.
- Glöer, P. 2002. Die Süßwasser gastropoden Nord- und Mitteleuropas – Bestimmungsschlüssel, Lebensweise, Verbreitung; Conch Books; Hackenheim
- Habdija I., Primc Habdija B., Radanović I., Špoljar M., Matoničkin Kepčija R., Vujčić Karlo S., Miliša M., Ostojić A., Sertić Perić M. 2011. Protista - Protozoa. Metazoa – Invertebrata. Strukture i funkcije. Alfa, Zagreb, str. 125
- Hrvatske vode, 2021.
https://eko.zagreb.hr/UserDocImages/Dokumenti/Okoli%C5%A1/Procjena%20utjecaja%20na%20okoli%C5%A1/POSTUPCI%20OCJENE%20O%20POTREBI%20PUO/Elaborat_Jarun-Jadranski_most.pdf pristupljeno, 24.4.2022.
- Jadrić M. 2019. Slatkovodna malakofauna rijeke Bednje. Diplomski rad. PMF, Zagreb
- Konjuh P. 2016. Raznolikost malakofaune gornjeg toka rijeke Save. Diplomski rad. PMF, Zagreb
- Lajtner J. 2014. Invazivne vrste školjkaša u slatkovodnim ekosistemima Hrvatske. <http://www.husek.hr/wp-content/uploads/2014/10/Lajtner.pdf>, pristupljeno, 24.1.2022.
- Lajtner J. 2013. Crveni popis slatkovodnih i kopnenih puževa Hrvatske.
https://www.haop.hr/sites/default/files/uploads/dokumenti/03_prirodne/crvene_knjige_popisi/Crveni_popis_kopnenih_i_islatkovodnih_puzeva_web.pdf, pristupljeno, 24.2.2023.
- Matoničkin I., Habdija I., Primc-Habdija B. 1998. Beskralješnjaci, Biologija nižih avertebrata, III. prerađeno i dopunjeno izdanje. Školska knjiga, Zagreb, str. 485-646
- MolluscaBase eds. 2023. MolluscaBase. <https://www.molluscabase.org> on 2023-03-25. doi:10.14284/448 pristupljeno 25.3.2023.
- Pedersen M. 2021. Amazonas—freshwater aquariums and tropical discovery. Zebra mussel problem growing in scope. <https://www.amazonasmagazine.com/2021/03/05/pijac-update-zebra-mussel-problem-growing-in-scope/> pristupljeno, 24.1.2022.
- Štamol V. 1985. Cenološka istraživanja puževa (*Gastropoda*) u šumskim fitocenozama Medvednice. Magistarski rad. PMF, Zagreb: 15-17
- Štamol, V., Slapnik, R., Vuković, M. & Kletečki, E. 2015. Records of two non-marine snails new for Croatia (Mollusca: Gastropoda). Nat. Croat., Vol. 24, No. 2., 337–344, Zagreb,
- Turistička zajednica Sveta Nedjelja. 2022. <https://www.svetanedelja.hr/jezero-i-park-kipisce-po85>, pristupljeno 23.12.2022.
- Zagrebančija, 2012. <https://www.zagrebančija.com/ureduje-se-jezero-kipisce-i-okolis-oko-njega/> pristupljeno, 24.1.2022.



Welter-Schultes, F. 2012. European non-marine molluscs, a guide for species identification; Planet Poster Editions; Göttingen

PRILOG

Prilog 1 Slike a) i b) Prezentacija rezultata istraživanja, *Gradska knjižnica Samobor, odjel za djecu i mladež*



a) Autor: V. Kletečki



b) Autor: V. Kletečki



Evaluacija rezultata istraživanja

MOĆ GLAZBE

Leonarda Lanča, 8. razred

Sabina Oplanić, 8. razred

Osnovna škola Vladimira Nazora, Pazin

Mentor: Maja Curić

SAŽETAK

Glazba je svakodnevni dio ljudskog života koji utječe na raspoloženje te izaziva razne emocije. Ljudi glazbu koriste radi iscjeljenja duha i tijela te je tako nastala muzikoterapija. Brojna istraživanja dokazala su kako slušanje klasične glazbe djeluje opuštajuće i potiče pamćenje. Slušanje glazbe prema vlastitom izboru smanjuje broj otkucaja srca i pridonosi osjećaju opuštenosti dok *heavy metal* ubrzava rad srca. Razlog odabira ove teme jest činjenica kako nas glazba pokreće te ne možemo zamisliti život bez nje. Zbog činjenice kako smo cijelog života okružene glazbom, htjele smo dokazati kako glazba može pridonijeti fizičkom i emocionalnom stanju organizma te poboljšati pamćenje. Naša hipoteza je kako će klasična glazba (sporiji ritam) i glazba prema vlastitom izboru (emocionalna povezanost) usporiti otkucaje srca i sniziti krvni tlak dok će *heavy metal* i *pop* glazba (brži ritam) ubrzati broj otkucaja srca te povisiti krvni tlak. Glazba prema vlastitom izboru potaknut će bolje pamćenje i veću opuštenost. Istraživanje je provedeno u učionici biologije na uzorku od 40 ispitanika podijeljenih u 4 skupine po 10 ispitanika. Najprije je provedena anketa te zatim praktični dio istraživanja. Nakon mirovanja u tišini u vremenu od 15 minuta, ispitanici su procijenili razinu opuštenosti na ljestvici 1-6, tlakomjerom im je izmjeren krvni tlak i broj otkucaja srca (puls), nakon čega je slijedio test pamćenja. Pomoću prezentacije, prikazano je i pročitano 10 pojmova koje su trebali zapamtiti. Nakon mirovanja od 30 sekundi u vremenu od 1 minute zapisali su zapamćene pojmove (nije bitan redoslijed zapisanih pojmova, već samo broj). Postupak je ponovljen tijekom slušanja svih ostalih vrsta glazbe. Slušanje glazbe prema vlastitom izboru najviše opušta, klasična glazba pridonosi boljem pamćenju, a sve vrste glazbe snižavaju broj otkucaja srca dok su srednje vrijednosti tlaka ostale približno jednake. Naša hipoteza djelomično je potvrđena, zbog iznenađujućih rezultata dobivenih nakon slušanja *heavy metal* glazbe potrebna su dodatna istraživanja.

Glavne riječi: utjecaj glazbe, otkucaji srca, osjećaj opuštenosti, krvni tlak, pamćenje

UVOD

Ljudi su oduvijek cijenili glazbu. Svakodnevni je dio ljudskog života koji uvelike utječe na raspoloženje te u nama izaziva razne emocije. Glazba utječe na apsolutno sve i svakoga; djecu, mlade, odrasle, životinje, biljke (Crnković i sur., 2020). Razna istraživanja dokazala su kako glazba uvelike utječe na ljudski um tako što izaziva mnogobrojne fizikalne i kemijske promjene u ljudskom organizmu među kojima su broj otkucaja srca (puls), razina krvnog tlaka te aktivacija više područja u kori mozga (Schulkin, 2013). Aktivacija više centara u kori velikog mozga uz pozitivne emocije može pridonijeti lakšem i bržem pamćenju (Vrandečić i Didović, 2010). Glazba se općenito doživljava u prednjem (slušnom) i sljepoočnom dijelu kore velikog mozga te potiče promjene u lučenju hormona (koje luče žlijezde s unutarnjim izlučivanjem), što uzrokuje promjene aktivnosti u hipotalamusu (moždana struktura koja optimizira otkucaje srca i krvni tlak) i hipofizi (najvažnija žlijezda koja utječe na rast tijela i krvni tlak). Osim toga, djeluje na nadbubrežne žlijezde (parne žlijezde koje su smještene iznad bubrega) koje izlučuju adrenalin i noradrenalin (hormone koji potiču rad srca, stezanje krvnih žila i povišenje krvnog tlaka). Isto tako dolazi do promjene u koncentraciji različitih tvari poput endorfina koji blokiraju osjećaj boli i povećavaju osjećaj ugone (Crnković i sur., 2020). Još davnih vremena ljudi su glazbu koristili u svrhu iscjeljenja duha i tijela, pa je tako nastala muzikoterapija, način liječenja kod kojeg se glazba koristi kako bi se postiglo bolje duhovno, fizičko, društveno i emocionalno stanje u tijelu čovjeka. Glazba na terapijski način djeluje tako što smanjuje bol, tjeskobu, povećava koncentraciju, vrlo snažno djeluje na emocije, mijenja naše raspoloženje i ponašanje (Crnković i sur.,



2020). Do sličnih rezultata došao je i Hess (2012), koji navodi da draga pjesma budi osjećaj ugone te otpušta hormone koji pojačavaju osjećaj sreće te smanjuju osjećaj bola i tjeskobe.

Razlog odabira ove teme je činjenica da nas glazba pokreće i ne možemo zamisliti svoj život bez nje. Ona nas prati od najranije dobi, usrećuje nas te čini naš život potpunim. Uljepšava naše uspomene te nam pomaže prebroditi teške trenutke. Primjećujemo i same kako se prilikom slušanja glazbe koju volimo uzbudimo te nam se učini kako nam se broj otkucaja srca ubrza, dok se prilikom slušanja glazbe sporijeg ritma kao što je klasična, naše tijelo umiri te se osjećamo opuštenije i koncentriranije. Labbe i sur. (2007) proveli su istraživanje u kojem su ispitivali učinak različite vrste glazbe na broj otkucaja srca i osjećaj opuštenosti, uspoređujući broj otkucaja srca i razinu osjećaja opuštenosti tijekom boravka u tišini u vremenu od 20 minuta. Prema tom istraživanju utvrđeno je da je broj otkucaja tijekom slušanja klasične glazbe ostao približno isti, prilikom slušanja glazbe po vlastitom odabiru (s kojom su emocionalno povezani) broj otkucaja se smanjio dok je slušanje *heavy metal* glazbe ubrzalo broj otkucaja srca. Osjećaj opuštenosti ispitali su na način da su ispitanici na ljestvici od 1 do 7 procijenili trenutni osjećaj opuštenosti (pri čemu je 1 značilo nimalo opušteno, a 7 maksimalno opušteno). Dokazali su da klasična glazba i glazba prema vlastitom izboru djeluju opuštajuće.

Dosadašnjim istraživanjima dokazano je da glazba utječe na broj otkucaja srca i krvni tlak. Prema Kujundžić (2022) broj otkucaja srca u fazi mirovanja varira od osobe do osobe, a normalan broj otkucaja srca za djecu u dobi od 7 do 15 godina kreće se u rasponu od 70 do 100 otkucaja u minuti (aktivne osobe imaju niži broj otkucaja srca jer njihov srčani mišić lakše održava stabilnost otkucaja). Broj otkucaja srca ovisi o dobi i veličini tijela, a povećava se povećanjem tjelesne aktivnosti (jer je tada veća potreba za energijom) te pod utjecajem emocija (strah i uzbuđenje mogu ubrzati broj otkucaja srca u minuti). Broj otkucaja srca može se izmjeriti mjerenjem pulsa koji se mjeri brojem širenja i stezanja arterija uvjetovanog stezanjem srčanog mišića. Krvni tlak je mjera sile (pritiska) krvi na stjenku arterija, a normalna vrijednost iznosi 120/80 mm Hg. U većini slučajeva povećanje krvnog tlaka prati i povećanje broj otkucaja. Nizak broj otkucaja srca u kombinaciji s vrtoglavicom može signalizirati zdravstveni problem srca dok visok broj otkucaja srca može predstavljati veliki stres za srce i druge organe (Kujundžić, 2022). Visoki krvni tlak također može predstavljati ozbiljan zdravstveni problem, stoga je sama zamisao da glazbom možemo kontrolirati broj otkucaja srca i krvni tlak izvrsna.

Cilj ovog istraživanja je utvrditi utjecaj različitih vrsta glazbe na fizičko i emocionalno stanje organizma te njihov utjecaj na pamćenje. Naša hipoteza je kako će klasična glazba (glazba sporijeg ritma) i glazba prema vlastitom izboru (baš zbog emocionalne povezanosti) usporiti otkucaje srca i sniziti krvni tlak dok će *heavy metal* glazba i *pop* glazba (bržeg ritma) ubrzati broj otkucaja srca uz povišenje krvnog tlaka. Glazba za koju su ispitanici emotivno vezani tj. koja im se sviđa i koju slušaju na dnevnoj bazi potaknut će bolje pamćenje i osjećaj opuštenosti u odnosu na slušanje druge vrste glazbe. Svakodnevno slušanje takve glazbe potiče rad više različitih centara u kori velikog mozga, lučit će se veća količina hormona koji će opustiti tijelo, pojačati osjećaj sreće i ugone. U takvim uvjetima ispitanici će biti opušteniji, a pozitivne emocije će pridonijeti lakšem pamćenju zadanih pojmova.



Glazba bržeg ritma ubrzat će otkucaje srca i povisiti krvni tlak. Razlog tome je taj što će pri bržem ritmu tijelo dobivati veću količinu kisika i hranjivih tvari što će dovesti do oslobađanja više energije putem staničnog disanja u mitohondrijima naših stanica. Time će se istodobno poboljšati stanje organizma.

METODE RADA

Istraživanje je provedeno od prosinca 2022. do veljače 2023. na uzorku od 40 ispitanika (9 dječaka, 31 djevojčica) u učionici biologije. Ispitanici su bili učenici viših razreda naše škole te su bili podijeljeni u 4 skupine po 10 ispitanika (zbog lakše provedbe istraživanja i bolje kontroliranih uvjeta).

Najprije je bila provedena anketa (tablica 1) kojom su ispitanici vole li glazbu, koju vrstu te koliko ju prosječno slušaju, opušta li ih te su naveli svoje tri najdraže pjesme. Rezultati dobiveni anketom su neophodni zbog saznanja koju vrstu glazbe ispitanici najčešće slušaju, koja im je najdraža pjesma (da se zadana pjesma ne podudara s glazbom prema vlastitom odabiru). Dobiveni rezultati uspoređeni su s rezultatima dobivenim u praktičnom radu.

Tablica 1 Anketa o navikama i odabiru glazbe naših ispitanika u svakodnevnom životu

ANKETA				
Volite li glazbu?	Koliko prosječno dnevno slušate glazbu?	Koju vrstu glazbe najčešće slušate?	Navedi tri trenutne najdraže pjesme?	Opušta li vas glazba?
a) DA b) NE	a) pola sata b) 1-2 sata c) 5 ili više d) ne slušam glazbu	a) <i>Heavy metal</i> b) <i>Pop</i> c) Klasična glazba d) <i>Rock</i> e) ostalo: (ovdje su naveli svoje primjere)	a) _____ b) _____ c) _____	a) DA b) NE

U odabiru zadanih pjesama pomogla nam je Nataša Maruškić-Popadić, učiteljica Glazbene kulture. Razlozi odabira ovih pjesama su slijedeći:

Ludwig van Beethoven „Mjesečeva sonata“, 1. stavak *Adagio sostenuto*

- glavna tema jednostavna, ali ustrajno ponavljanje petog tona daje joj izuzetan emocionalni intenzitet
- cijeli stavak kao neka misao koja te istovremeno progona i opušta
- bas glas ritam se gotovo poklapa s melodijskom linijom, čime je pojačava, daje joj značaj
- osjećaji: tuga, ali i odlučnost, malodušnost, utapanje
- pisan u c-molu, mol donosi melankoliju
- trodjelna mjera, tempo laganog hoda, ponavljajući tonovi
- dinamika piano, *pianissimo*.

John Scatman „Scatman“

- mješavina *scat* pjevanja, *dance* i *house*, elementi *hip hopa*
- plesni ritam, podiže raspoloženje
- *scat* pjevanje kao onomatopeja, puno ponavljanja, ali bez smisla, omogućuje improvizaciju i opuštanje
- pisan u F-duru, jednim od najpopularnijih akorda za zabavne pjesme.

Black Sabbath „The Mob Rules“

- *heavy metal*
- kreće kao krik produžen u vrlo energičnu pjesmu
- dubok, težak, uznemirujući zvuk
- žestoki ritam bubnja, električne gitare
- hrapavo, glasno pjevanje, mala melodijska linija



Nakon mirovanja u tišini u vremenu od 15 minuta, ispitanici su procijenili razinu opuštenosti na ljestvici 1 – 6, tlakomjerom im je izmjeren krvni tlak (gornji – sistolički i donji – dijastolički) i broj otkucaja srca (puls), nakon čega je slijedio test pamćenja. Pomoću prezentacije, prikazano im je i pročitano 10 pojmova koje su trebali zapamtiti. Nakon mirovanja od 30 sekundi u vremenu od 1 minute zapisali su zapamćene pojmove (pritom nije bio bitan redoslijed zapisanih pojmova, već samo njihov broj). Postupak je ponovljen tijekom slušanja klasične, *pop*, *heavy metal* glazbe i glazbe prema vlastitom izboru (tablica 2).

Tablica 2 Tijek rada

	Pjesma	Vrijeme (min)	Procjena razine opuštenosti (1-6)	Mjerenje krvnog tlaka (mm/Hg) i broja otkucaja srca (pulsa) tlakomjerom	Test pamćenja (broj zapamćenih pojmova __/10)
mirovanje u tišini (kontrola)	—	15 minuta	razina opuštenosti (kontrola)	vrijednost krvnog tlaka (kontrola) i vrijednost broja otkucaja srca (kontrola)	ukupni broj zapamćenih pojmova (kontrola)
Klasična	L. van Beethoven „Mjesečeva sonata“), 1. stavak <i>Adagio sostenuto</i>	15 minuta	1. razina opuštenosti	1. vrijednost krvnog tlaka i 1. vrijednost broja otkucaja srca	1. ukupni broj zapamćenih pojmova
pauza od 10 minuta					
Pop	John Scatman „Scatman“	15 minuta	2. razina opuštenosti	2. vrijednost krvnog tlaka i 2. vrijednost broja otkucaja srca	2. ukupni broj zapamćenih pojmova
pauza od 10 minuta					
Heavy metal	Black Sabbath „The Mob Rules“	15 minuta	3. razina opuštenosti	3. vrijednost krvnog tlaka i 3. vrijednost broja otkucaja srca	3. ukupni broj zapamćenih pojmova
pauza od 10 minuta					
Vlastiti izbor	pjesma prema vlastitom izboru ispitanika	15 minuta	4. razina opuštenosti	4. vrijednost krvnog tlaka i 4. vrijednost broja otkucaja srca	4. ukupni broj zapamćenih pojmova

Prilikom odabira glazbe prema vlastitom izboru ispitanika, vodilo se računa da se zadana glazba i glazba prema vlastitom izboru (ispitanicima draga glazba) ne poklapaju. Razlog odabira ovih pjesama bila je i činjenica kako su te pjesme nešto ranijeg datuma izdavanja te su zato popularne među starijim, a uglavnom nepoznate mlađim generacijama čime je izbjegnuto poklapanje zadanih pjesama s vlastitim izborom. Samo 4 ispitanika (polaznici glazbene škole) navelo je kako vole klasičnu glazbu, no to im nije bio prvi izbor pri slušanju glazbe prema vlastitom izboru.

Utjecaj glazbe na osjećaj opuštenosti

Skupina ispitanika (10 ispitanika) je nakon mirovanja od 15 minuta u potpunoj tišini samoprocjenom odredila stupanj osjećaja opuštenosti na skali od 1-6, pri čemu 1 - označava potpunu neopuštenost (odnosno stupanj opuštenosti: 0%), 2 - minimalna opuštenost (odnosno stupanj opuštenosti: 20%), 3 – djelomična opuštenost (odnosno stupanj opuštenosti: 40%), 4 - srednja opuštenost (odnosno stupanj opuštenosti: 60%), 5 – vrlo opušteno (odnosno stupanj opuštenosti: 80%), 6 – potpuna opuštenost (odnosno stupanj opuštenosti: 100%). Isti postupak ponovljen je tijekom 15-minutnog slušanja klasične glazbe, zatim *heavy metal* glazbe, *pop* glazbe i glazbe prema vlastitom odabiru. Ova metoda je prilagođena prema metodi koju su proveli Labbe i suradnici (2007). Izračunate su srednje vrijednosti razine opuštenosti (samoprocjena) na način da su zbrojene sve iskazane vrijednosti za

razinu opuštenosti tijekom mirovanja u tišini (kontrola) kod svakog pojedinog ispitanika te podijeljene s ukupnim brojem ispitanika (40). Isti postupak ponovljen je i s vrijednostima dobivenim nakon slušanja svih vrsta glazbe te su izračunate srednje vrijednosti razine opuštenosti nakon slušanja svih vrsta glazbe.

Svakom ispitaniku uspoređen je podatak o samoprocjeni stupnja opuštenosti tijekom mirovanja od 15 minuta u potpunoj tišini (kontrolna vrijednost) s podatkom samoprocjene nakon slušanja svih vrsta glazbe. Time je utvrđeno je li došlo do povećanja, sniženja ili je rezultat ostao isti u odnosu na kontrolnu vrijednost. Isti postupak ponovljen je za sve ispitivane vrijednosti (broj otkucaja srca, krvni tlak i broj zapamćenih pojmova).

Utjecaj glazbe na broj otkucaja srca i krvni tlak

Skupini ispitanika (10 ispitanika) najprije su izmjereni otkucaji srca i krvni tlak nakon mirovanja od 15 minuta u potpunoj tišini pomoću tlakomjera (Veroval, Slika 1. i Slika 2.) prema uputama na tlakomjeru. Nakon toga ista je skupina boravila u prostoriji u kojoj se 15 minuta puštala klasična glazba (L. van Beethoven „Mjesečeva sonata“), nakon čega se ponovilo mjerenje broja otkucaja srca i krvnog tlaka. Isti postupak ponovljen je s *heavy metal* glazbom (Black Sabbath „The Mob Rules“), *pop* glazbom (John Scatman „Scatman“) i glazbom po njihovom odabiru. U svim se skupinama puštala ista gore navedena glazba.



Slika 1 Tlakomjer Veroval



Slika 2 Mjerenje tlaka pomoću tlakomjera Veroval

Utjecaj glazbe na pamćenje

Skupini ispitanika (10 ispitanika) tijekom mirovanja od 15 minuta u potpunoj tišini bilo je prezentirano deset pojmova. Za ovaj dio istraživanja napravljena je prezentacija koja sadržava 10 podjednako teških pojmova iz svakodnevnog života koji su se automatski izmjenjivali svakih 5 sekundi. Osim prikaza, svi su pojmovi bili pročitani naglas. Isti postupak bio je ponovljen tijekom 15 minutnog slušanja klasične glazbe, zatim *heavy metal* glazbe, *pop* glazbe i glazbe prema vlastitom odabiru.

Prezentacija je za svaku skupinu sadržavala 10 pojmova koji su imenovali dane u tjednu, brojeve od 1 do 100, slike vremenskih uvjeta, boje, predmete u školi, hranu, žanr glazbe, slatkiše, robne marke, voće i životinje (tablica 3). Nakon svršetka prezentacije ispitanici su vrijeme od 30 sekundi proveli u tišini te tek nakon isteka tog vremena počeli zapisivati zapamćene pojmove (u vremenu od 1 minute). Izračunate su srednje vrijednosti postotka zapamćenih pojmova nakon mirovanja u tišini te nakon slušanja svih vrsta glazbe. Uspoređivao se i broj zapamćenih pojmova tijekom mirovanja u potpunoj tišini (kontrolna vrijednost) s brojem zapamćenih pojmova nakon slušanja pojedinih vrsta glazbe za svakog pojedinog ispitanika. Time je utvrđeno je li došlo do povećanja, sniženja ili je rezultat ostao

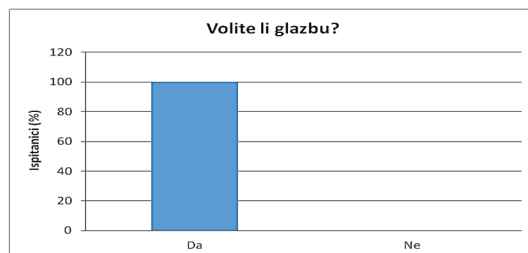
isti u odnosu na kontrolnu vrijednost, odnosno je li slušanje pojedine vrste glazbe pridonijelo ili ne boljem pamćenju pojmova.

Tablica 3 Pojmovi iz prezentacije za kontrolu (tišina) i sve vrste glazbe

KONTROLA									
ponedjeljak	73	tuča	plava	Matematika	Haribo medvjedići	country	adidas	tjestenina	zmija
KLASIČNA									
utorak	96	kiša	ljubičasta	Hrvatski jezik	Marshmallows	rock	nike	pizza	slon
POP									
nedjelja	28	sunce	zelena	Likovna kultura	Orbit žvakaća guma	heavy metal	gucci	pileća juha	ptica
HEAVY METAL									
petak	46	snijeg	žuta	Biologija	Kiki bomboni	pop	puma	domaći njoki	konj
VLASTITI IZBOR									
srijeda	57	vjetar	crvena	Kemija	čips	klasična	reebok	hamburger	mačka

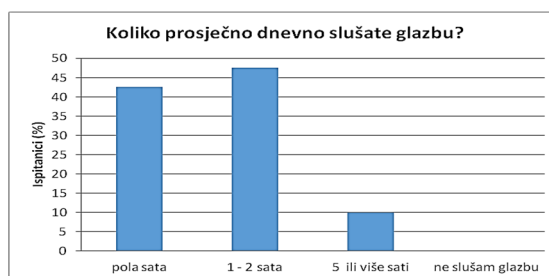
REZULTATI

Rezultati su statistički obrađeni te su grafički prikazani pomoću Excel programa. Svi ispitanici izjasnili su se da vole glazbu (slika 3).



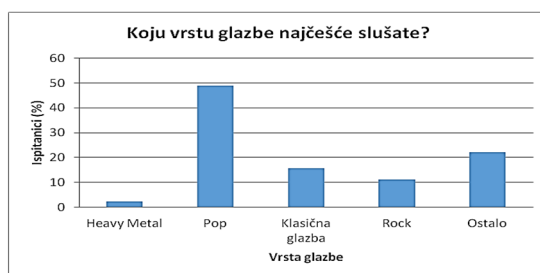
Slika 3 Grafički prikaz rezultata ankete, 1. pitanje - Volite li glazbu?

Iz grafičkog prikaza (slika 4) vidljivo je da 47,5% ispitanika prosječno sluša glazbu 1-2 sata dnevno, 42,5% sluša glazbu pola sata dnevno dok ostatak ispitanika sluša čak pet ili više sati dnevno.



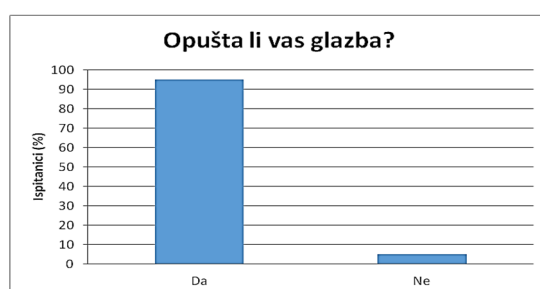
Slika 4 Grafički prikaz rezultata ankete, 2. pitanje - Koliko prosječno slušate glazbu?

Najviše ispitanika sluša *pop* glazbu, a najmanje *heavy metal* (Slika 5). Klasičnu glazbu sluša 15,6% ispitanika, *rock* glazbu 11,11% ispitanika dok ostatak sluša ostalo (vrsta glazbe koja nije već navedena). Pod opciju ostalo ispitanici su imali mogućnost navođenja vlastitog izbora glazbe, a to su najčešće bile domaće pjesme i narodna glazba.



Slika 5 Grafički prikaz rezultata ankete, 3. pitanje - Koju vrstu glazbe najčešće slušate?

Iz grafičkog prikaza (slika 6) vidljivo je da samo 5% ispitanika procjenjuje kako ih ne opušta slušanje glazbe dok ostalih 95% navodi suprotno.



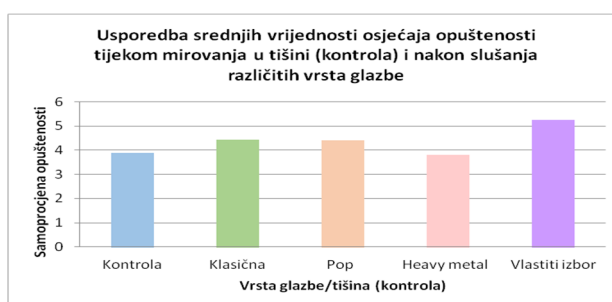
Slika 6 Grafički prikaz rezultata ankete, 4. pitanje - Opušta li vas glazba?

Većina ispitanika navela je pjesme navedene u tablici 4 kao svoje trenutne najdraže pjesme.

Tablica 4 Pjesme koje najviše slušaju naši ispitanici

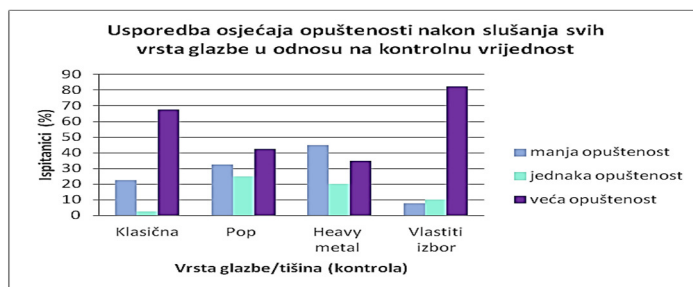
Navedite 3 trenutne najdraže pjesme?	Vrsta glazbe
1. Voyage „La La La“	rap
2. Voyage x Nucci „Bella Hadid“	trap
3. Severina „Brad Pitt“	vrsta techna

Većina ispitanika procjenjuje kako im glazba po vlastitom izboru izaziva najveću razinu opuštenosti, dok *heavy metal*, čak i u odnosu na kontrolnu vrijednost, izaziva manju razinu opuštenosti (slika 7).



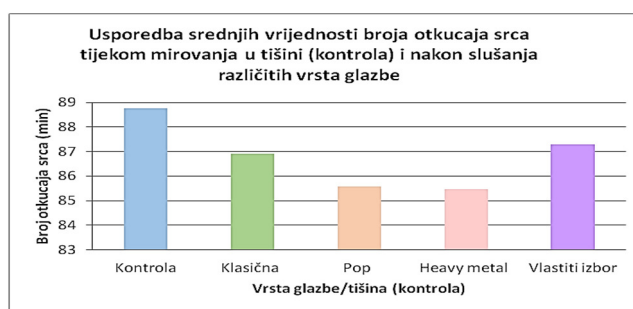
Slika 7 Usporedba srednjih vrijednosti osjećaja opuštenosti tijekom mirovanja u tišini (kontrola) i nakon slušanja različitih vrsta glazbe prema samoprocjeni ispitanika

Više od 80% ispitanika procijenilo je kako ih je najviše opustilo slušanje glazbe po vlastitom izboru, nešto manje prilikom slušanja klasične glazbe (slika 8). Slušanje *heavy metal* glazbe u najvećem je postotku smanjilo osjećaj opuštenosti.



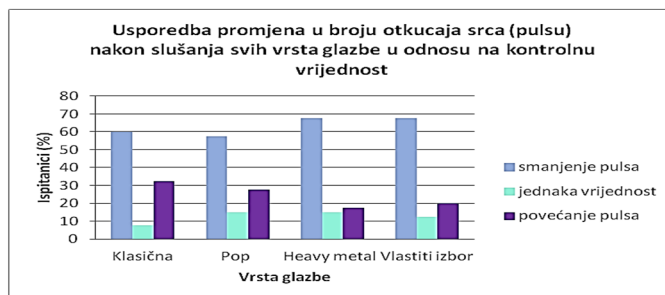
Slika 8 Usporedba osjećaja opuštenosti nakon slušanja svih vrsta glazbe (samoprocjena) u odnosu na kontrolnu vrijednost (mirovanje)

Srednje vrijednosti broja otkucaja srca (pulsa) smanjile su se tijekom slušanja svih vrsta glazbe u odnosu na kontrolu (tišinu) (Slika 9). Pri tome se broj otkucaja srca najviše smanjio tijekom slušanja *heavy metal* glazbe, a najmanje tijekom slušanja glazbe po vlastitom izboru.



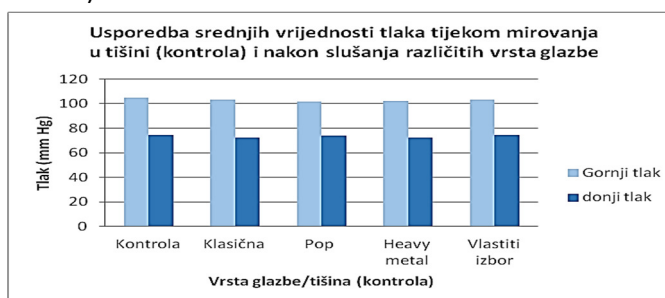
Slika 9 Usporedba srednjih vrijednosti broja otkucaja srca tijekom mirovanja u tišini (kontrola) i nakon slušanja različitih vrsta glazbe

Slušanje svih vrsta glazbe smanjilo je broj otkucaja srca u odnosu na kontrolnu vrijednost pri čemu je najveći postotak smanjenja pulsa izazvalo slušanje *heavy metal* glazbe te glazbe po vlastitom izboru (slika 10).



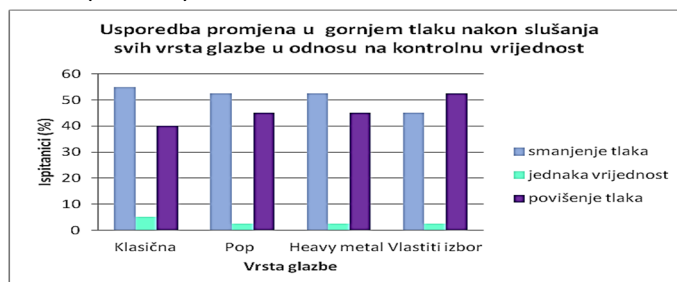
Slika 10 Usporedba promjene broja otkucaja srca nakon slušanja svih vrsta glazbe u odnosu na kontrolnu vrijednost (mirovanje)

Srednje vrijednosti krvnog tlaka gotovo se ne mijenjaju tijekom slušanja svih vrsta glazbe u odnosu na kontrolnu vrijednost (slika 11).



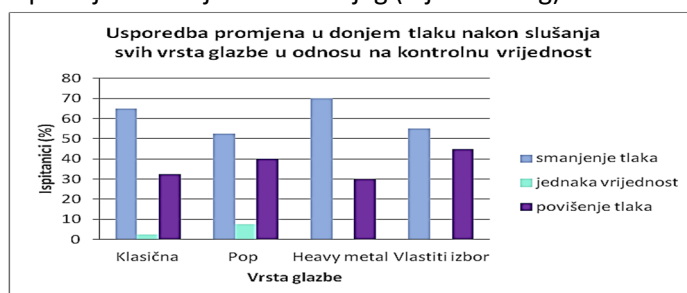
Slika 11 Usporedba srednjih vrijednosti krvnog tlaka tijekom mirovanja u tišini (kontrola) i nakon slušanja različitih vrsta glazbe

Klasična glazba najviše je pridonijela sniženju gornjeg tlaka dok se tijekom slušanja glazbe po vlastitom izboru tlak povisio (slika 12).



Slika 12 Usporedba promjena u gornjem (sistolikom) krvnom tlaku nakon slušanja svih vrsta glazbe u odnosu na kontrolnu vrijednost (mirovanje)

Čak kod 70% ispitanika došlo je do sniženja donjeg (dijastoličkog) krvnog tlaka nakon slušanja *heavy metala*, a kod 65% nakon slušanja klasične glazbe (slika 13). Nakon slušanja *pop* glazbe kod 8% ispitanika nije došlo do promjene u vrijednosti donjeg (dijastoličkog) tlaka.

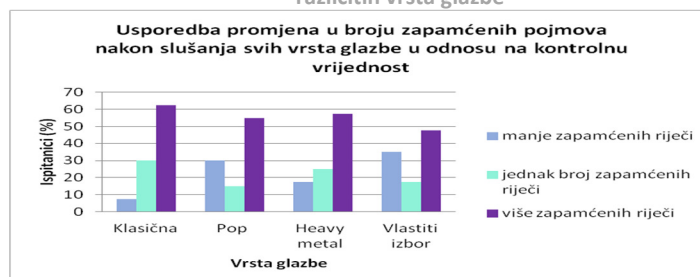


Slika 13 Usporedba promjena u donjem (dijastoličkom) krvnom tlaku nakon slušanja svih vrsta glazbe u odnosu na kontrolnu vrijednost (mirovanje)

Slušanje klasične glazbe je većini ispitanika najviše pomoglo pri pamćenju većeg broja riječi u odnosu na broj zapamćenih riječi tijekom mirovanja u tišini (kontrola) dok se broj zapamćenih riječi tijekom slušanja glazbe po vlastitom izboru nije promijenio u odnosu na kontrolnu vrijednost (slika 14). Bolje pamćenje u odnosu na kontrolu zabilježeno je tijekom slušanja klasične glazbe, *heavy metala* te *pop* glazbe (slika 15).



Slika 14 Usporedba srednjih vrijednosti broja zapamćenih pojmova tijekom mirovanja u tišini (kontrola) i nakon slušanja različitih vrsta glazbe



Slika 15 Usporedba promjena u broju zapamćenih pojmova nakon slušanja svih vrsta glazbe u odnosu na kontrolnu vrijednost (mirovanje)



RASPRAVA

Brojna istraživanja potvrđuju pozitivan učinak slušanja glazbe na osjećaj opuštenosti, broj otkucaja srca i krvni tlak, te bolje pamćenje. Upravo se zbog toga glazba često koristi za opuštanje i snižavanje stresa te regulaciju krvnog tlaka. Nakon slušanja klasične glazbe ispitanici su se osjećali opuštenije, snizio im se broj otkucaja srca, dok su srednje vrijednosti razine krvnog tlaka ostale približno jednake uz iznimku prilikom slušanja glazbe prema vlastitom izboru, gdje je kod 52% ispitanika došlo do povišenja razine krvnog tlaka. Dobiveni rezultati u skladu su s našom hipotezom i dosadašnjim istraživanjima. Prema istraživanju koje su proveli Labbe i suradnici (2007), slušanje klasične glazbe izaziva pozitivne emocije te doprinosi osjećaju opuštenosti. Razlika je samo u tome što je kod gore navedenog istraživanja (Labbe i suradnici, 2007) broj otkucaja srca nakon slušanja klasične glazbe ostao približno isti, dok se našim ispitanicima broj otkucaja srca smanjio. Do sličnih rezultata došli su i Crnković i suradnici (2020) koji navode da slušanje klasične glazbe i glazbe prema vlastitom izboru najviše pridonosi osjećaju opuštenosti te snizuje puls i krvni tlak. Nakon slušanja *pop* glazbe ispitanici su odredili veću razinu osjećaja opuštenosti, snizio im se broj otkucaja srca i razina krvnog tlaka, što je u suprotnosti s našom hipotezom i dosadašnjim istraživanjima. To se može objasniti činjenicom da većina naših ispitanika svakodnevno najviše sluša *pop* glazbu te je to utjecalo na njih zbog emocionalne povezanosti. Do sličnih rezultata došao je i Hess (2012) koji dokazuje kako draga pjesma potiče veći osjećaj ugone u nama i otpuštanje hormona, koji pojačavaju osjećaj sreće, smanjuju osjećaj boli i tjeskobe. Najviše su nas iznenadili rezultati dobiveni nakon slušanja *heavy metal* glazbe koji su u potpunoj suprotnosti s našom hipotezom. Nakon slušanja *heavy metal* glazbe ispitanici su osjećali manju razinu opuštenosti (što je u skladu s dosadašnjim istraživanjima), ali im se smanjio broj otkucaja srca i razina krvnog tlaka, što je ponovno u suprotnosti s mnogim dosadašnjim istraživanjima (Labbe i suradnici, 2007). Ovaj rezultat još više začuđuje jer znamo da svega 2,22% ispitanika sluša *heavy metal* glazbu pa ovaj rezultat ne možemo objasniti emocionalnom povezanošću ispitanika. Potrebna su dodatna istraživanja kako bi se objasnio ovakav rezultat. Na ovaj rezultat nije mogla utjecati odsutnost ispitanika jer je cijelo vrijeme vođeno računa o tome jesu li ispitanici koncentrirani na ono što slušaju. Cijelo su vrijeme bili promatrani ne bi li izgubili koncentraciju. Isto tako, za ove rezultate postoji mogućnost kako su ispitanici tijekom slušanja ostalih vrsta glazbe, slušajući i shvaćajući tekst drukčije doživjeli pjesmu. U slučaju s *heavy metal* glazbom zbog drukčijeg načina pjevanja, ispitanici nisu bili u stanju prepoznati tekst te su glazbu shvatili na drukčiji način. U raznim se istraživanjima namjerno ispitanicima pušta glazba na njima nepoznatom jeziku kako bi se postigli zanimljivi rezultati. Glazbu prema vlastitom izboru ispitanici su slušali pomoću slušalica, kako se međusobno ne bi ometali, no nisu svi pritom slušali glazbu na jednakoj razini glasnoće što je isto tako moglo utjecati na dobiveni rezultat. Ispitanike je slušanje glazbe prema vlastitom izboru najviše opustilo što je u skladu s našom hipotezom i dosadašnjim istraživanjima (Labbe i suradnici, 2007). Dodatni razlog veće razine opuštenosti prema našem mišljenju može biti i činjenica kako su prilikom slušanja glazbe prema vlastitom izboru ispitanici imali veći osjećaj kontrole što ujedno ima i pozitivan utjecaj na njihovo emocionalno stanje. Prema našim očekivanjima, nakon slušanja glazbe prema vlastitom izboru došlo je do sniženja broja otkucaja srca i blagog sniženja srednje vrijednosti krvnog tlaka, no ipak pri uspoređivanju razine krvnog tlaka za svakog pojedinog ispitanika nakon slušanja glazbe prema vlastitom izboru u odnosu na kontrolnu vrijednost, gornji (sistolčki) se tlak polovici ispitanika minimalno povisio.



Slušanje svih vrsta glazbe, osim glazbe prema vlastitom izboru, poboljšalo je pamćenje, što je djelomično u skladu s našom hipotezom. Naša je pretpostavka bila kako će slušanje glazbe prema vlastitom izboru povećati razinu osjećaja opuštenosti i poboljšati pamćenje, no smatramo kako je do manjeg broja zapamćenih riječi došlo zbog emocionalne povezanosti ispitanika s tom glazbom, time su se uživali u glazbu, smanjila se doza koncentracije te je to utjecalo manji broj zapamćenih riječi. Provedeno istraživanje ima i nekoliko ograničenja. Za početak, uzorak je bio poprilično mali te su ga činili ispitanici viših razreda naše škole. Smatramo kako smo mogli imati veći broj ispitanika, proširiti istraživanje na ispitanike različite životne dobi, produljiti vrijeme provedeno u slušanju glazbe i u tišini radi boljih rezultata. Isto tako, zanimljivo bi bilo usporediti rezultate onih koji pohađaju glazbenu školu ili plešu (bliski odnos s glazbom) i ostalih budućih kako su oni u manjem svakodnevnom kontaktu s glazbom. U vremenu od 15 minuta mogli smo stavljati različite pjesme iste melodije, ritma i žanra, jer postoji mogućnost kako ih je slušanje jedno te iste pjesme u trajanju od 15 minuta donekle uznemirilo.

Iznenadili su nas dobiveni rezultati nakon slušanja *heavy metal* glazbe, zato je potrebno dodatno istraživanje.

ZAKLJUČCI

Na kraju provedenog istraživanja zaključujemo kako slušanje glazbe prema vlastitom izboru najviše opušta, dok slušanje klasične glazbe potiče bolje pamćenje, ali isto tako u nešto manjoj mjeri *pop* i *heavy metal* glazba. Tijekom slušanja svih vrsta glazbe broj otkucaja srca se smanjuje, najviše tijekom slušanja *heavy metal* i *pop* glazbe, a u najmanjoj mjeri prilikom slušanja glazbe prema vlastitom izboru. Srednje vrijednosti krvnog tlaka svugdje su ostale približno jednake ili je smanjenje bilo minimalno. Za opuštanje preporučujemo slušanje klasične glazbe ili glazbe prema vlastitom izboru slušatelja koju ne preporučamo u situacijama kada je potrebna veća doza koncentracije kao na primjer tijekom učenja. Smatramo kako su zbog iznenađujućih rezultata utjecaja *heavy metal* glazbe i glazbe prema vlastitom izboru na razinu krvnog tlaka i broj otkucaja srca potrebna dodatna istraživanja.

ZAHVALA

Zahvaljujemo svim ispitanicima bez čije suradnje i pomoći ovaj projekt ne bi mogao biti realiziran. Također zahvaljujemo učiteljici glazbene kulture Nataši Maruškić Popadić na pomoći pri odabiru pjesama te našim obiteljima, učiteljima i prijateljima na potpori i razumijevanju.

LITERATURA

- Crnković D., Gelo J., Hendija P. i Poljak A. 2020. Muzikoterapija: umjetnost glazbe kroz umijeće liječenja. Naklada Slap. Zagreb
- Hess P., 2012. Zvučne zdjele za zdravlje i unutarnju harmoniju – Zvučna masaža po metodi Petera Hessa – Prema Vama d.o.o., Hrvatska
- Kujundžić K., 2022. Otkucaji srca: Normalne varijacije i odstupanja. <https://www.vasezdravlje.com/otkucaji-srca-normalne-varijacije-i-odstupanja>. stupljeno: 20.1.2023.
- Labbe E., Schmidt N., Babin J., Pharr M., 2007. Coping with Stress: The Effectiveness of Different Types of Music, Appl Psychophysiol Biofeedback 32: 163-168
- Schulkin J., 2013. Reflections on the Musical Mind, an Evolutionary Perspective. Princeton i Oxford: Princeton University Press.
- Vrandečić T., Didović A., 2010. Glas i glazbeni instrument u odgoju i obrazovanju. Učiteljski fakultet Sveučilišta u Zagrebu. Zagreb

Utječe li otopina lista oraha na rast biljaka?

Ariela Marinović, 8. razred

Osnovna škola Svete Ane u Osijeku, Osijek

Mentor: *Ivana Prus*

SAŽETAK

Orah pripada listopadnom drveću koje je zbog svojih prirodnih osobina i iskoristivost (za drvnu i prehrambenu industriju) znatno zastupljeno u području Nizinske Hrvatske. Najpoznatiji kemijski spoj koji se povezuje s orahom je juglon koji može imati negativan utjecaj na rast pojedinih biljaka (primjerice: paprike, rajčice, patlidžana, kupusa). Cilj istraživanja bio je utvrditi kako različite otopine obogaćene ekstraktom lista oraha utječu na rast odabranih biljnih vrsta. U istraživanju korištene su 0,6 %, 1 % i 2 % otopina orahova lista kojima su zalijevani uzorci biljaka paprike 'Soroksari', rajčice 'Red Cherry' i rajčice 'Saint-Pierre' dok je kontrolna skupina biljaka zalijevana vodom. Istraživanje je trajalo 4 tjedna i provedeno je u kontroliranim uvjetima tako da su sve biljke bile posađene u zemlji uzetoj iz istoga uzorka te su bile izložene jednakoj temperaturi i količini svjetlosti. Rezultati su bilježeni u jednakim vremenskim razmacima od 7 dana te su izraženi kroz 4 mjerenja. Najveći utjecaj na sporiji rast stabljike rajčice 'Saint-Pierre' i paprike 'Soroksari' imala je 2% otopina orahova lista. Na rast stabljike rajčice 'Red Cherry' različite otopine nisu pokazale značajan učinak. Zaključno otopine s većom količinom orahova lista mogu negativno djelovati na rast biljaka.

Ključne riječi: orah; juglon; rajčica; paprika; inhibicija

UVOD

Orah je (*Juglans regia* L.) drvenasta, višegodišnja, listopadna vrsta. Sadrži esencijalna ulja, tanine i kemijski spoj juglon koji se nalazi u svim biljnim dijelovima (Terzi, 2008). Juglon nije topiv u vodi, ali dolazi u tlo ispiranjem iz lišća, veže za čestice tla te u biljke ulazi kroz korijen. Osjetljive biljke u blizini stabla oraha venu, žute i ne napreduju u rastu te je stoga potrebno izbjegavati sadnju istih ispod ili u blizini oraha te pravilno zbrinuti lišće koje opada s drveta (Celing Celić, 2019).

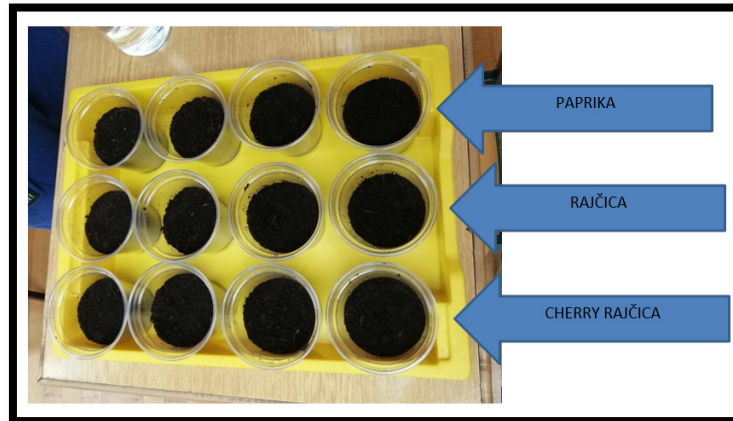
Potaknuta opisanim utjecajem oraha na rast biljaka i promatrajući dio bakinog vrta ispod oraha (uzgoj rajčice), cilj istraživanja bio je ispitati utjecaj različitih koncentracija otopine orahova lista u vodi na rast biljaka.

Prema Martinović (2018), pšenica i djetelina koje su tretirane ekstraktom orahova lista imale su manju klijavost u odnosu na pšenicu i djetelinu tretiranu destiliranom vodom. Prema Pavićević (2013) sjeme pšenice i gorušice pokazuje slabiju klijavost s povećanjem koncentracije juglona u vodi. U istraživanju utjecaja otopine juglona na klijanje lucerne i suncokreta zaključeno je kako s povećanjem koncentracije juglona dolazi do slabijeg klijanja Marinčić (2018). Imajući u vidu navedena istraživanja, pretpostavka je kako će biljke koje budu tretirane otopinama obogaćenih većim koncentracijama ekstrakta orahova lista pokazati manju uspješnost u rastu, dok se najbolji rast očekuje u kontrolnoj skupini koja će biti zalijevana običnom vodom. S obzirom kako se u radu ispituje rast stabljike kroz mjesec dana, a kako citirani radovi ispituju utjecaj na klijavost sjemena odabrane su otopine obogaćene nižim koncentracijama ekstrakta orahova lista zbog dužeg promatranja rasta.

METODE

Kako su prema literaturi (Celing Celić, 2019) rajčica i paprika vrste koje su vrlo osjetljive na juglon, iste su odabrane za istraživanje i to paprika sorte 'Soroksari', rajčica sorte 'Saint-Pierre' i rajčica sorte 'Red Cherry' istog proizvođača - Marcon. Pripremljeno je 12 plastičnih čaša u koje je stavljena jednaka

količina supstrata - Florafin. Čaše su podijeljene u tri skupine i označene brojevima od 1 do 4. U prve četiri čaše posijana je paprika tako da je u svaku čašu stavljeno šest sjemenki paprike 'Soroksari'. U drugu skupinu od četiri čaše posijana je rajčica 'Saint-Pierre' tako da je u svaku čašu stavljeno šest sjemenki rajčice. Sjemenke rajčice 'Red Cherry' posijane su u posljednje četiri čaše tako da je u svaku čašu stavljeno šest sjemenki. Na svaku čašu napisan je naziv ispitivane biljke (slika 1).



Slika 1 Postavljanje uzoraka

Orahovo lišće prikupljeno je tijekom listopada. Osušeno na sobnoj temperaturi kako ne bi došlo do razvoja plijesni na vlažnom lišću (slika 2). Nakon sušenja listovi su usitnjeni i vagani za pripremu otopina, odnosno ekstrakta orahova lišća (slika 3).



Slika 2 Osušeni listovi oraha



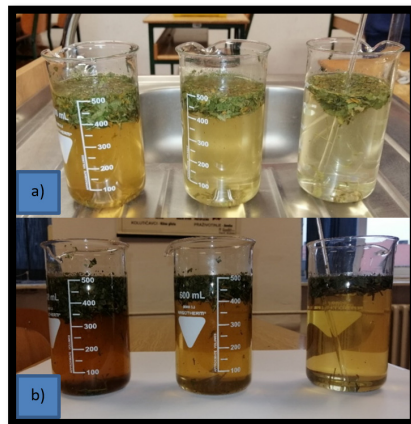
Slika 3 Usitnjeni listovi oraha

Pripremljene su tri otopine ekstrakta orahova lista za zalijevanje uzoraka:

- ☞ Prva otopina: 3 g suhog orahova lista i 500 mL vode (0,6% koncentracija)
- ☞ Druga otopina: 5 g suhog orahova lista i 500 mL vode (1% koncentracija)
- ☞ Treća otopina: 10 g suhog orahova lista i 500 mL vode (2% koncentracija)

Navedene koncentracije odabrane su zbog rada s osjetljivim biljkama na otopine lista oraha jer se je pratio rast stabljike za razliku od ranije navedenih radova u kojima je cilj bio pratiti klijanje sjemena.

Usitnjeni listovi oraha stajali su u vodi jedan sat uz povremeno miješanje (slika 4) nakon čega su otopine filtrirane kako bi se odvojile krupne čestice (slika 5).



Slika 4 Priprema otopina ekstrakta orahova lista a) početak pripreme otopina b) nakon jednog sata



Slika 5 Dobivene otopine ekstrakta orahova lista nakon filtracije

Čaša označena brojem 1 kod svih ispitivanih uzoraka je kontrola i zalijevala se vodom (skupina 1). Druga čaša označena brojem 2 kod svih uzoraka zalijevala se 0,6% otopinom ekstrakta orahova lista (skupina 2), treća čaša označena brojem 3 zalijevala se 1% otopinom ekstrakta orahova lista (skupina 3) i četvrta čaša označena brojem 4 zalijevala se 2% otopinom ekstrakta orahova lista (skupina 4) (slika 6). Pomoću drvenih štapića označavale su se biljke brojevima od 1 do 6 tako da je štapić zabijen u tlo kraj biljke nakon što je biljka krenula s rastom te je na štapić napisan određeni broj biljke. Označavanje biljaka bilo je potrebno zbog mjerenja napretka rasta stabljike tijekom četiri tjedna.



Slika 6 Označavanje ispitivanih uzoraka

Nakon što je postavljeno istraživanje uzorci su zaliveni s 50 ml vode, odnosno odgovarajuće otopine. Uzorci su tijekom istraživanja bili izloženi istim okolišnim uvjetima (temperatura i svjetlost) te su bili postavljeni na unutarnju prozorsku klupčicu učionice kako bi dobivali dnevnu svjetlost. Zalijevanje je provedeno svaki drugi dan s 20 ml vode, odnosno odgovarajuće otopine ekstrakta orahova lista kako tlo ne bi bilo previše vlažno te kako ne bi došlo do truljenja korijena. Nakon što je došlo do klijanja

sjemenki pojedinih biljnih vrsta započelo se je s mjerenjem visina stabljike. Mjerenje se je obavljalo jednom tjedno i rezultati u centimetrima bilježeni su u tablicu. Stabljika se mjerila tako da se uzimala mjera od tla do dijela na kojem iz stabljike rastu gornji listovi (slika 7). Dobiveni podatci o visini stabljika koristili su se za računanje srednjih vrijednosti koje su se uspoređivale kroz četiri tjedna.



Slika 7 Postupak mjerenja visine biljaka

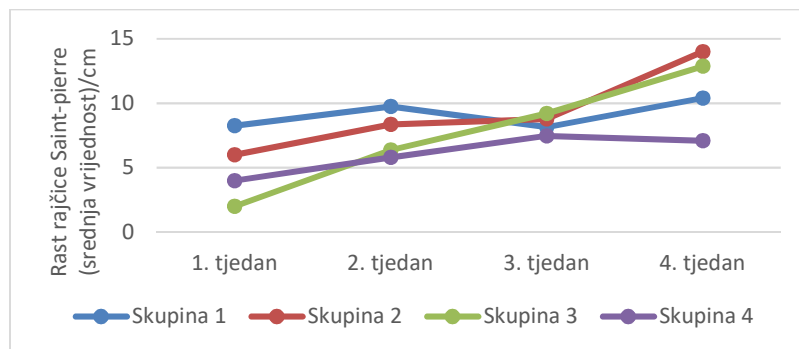
REZULTATI

Rezultati dobiveni za rajčicu 'Saint-Pierre' prikazani u tablici 1 pokazuju kako su biljke prva dva tjedna brže rasle u prvoj skupini (kontrola) i drugoj skupini koja je zalijevana s 0,6% otopinom ekstrakta orahova lista. U trećem tjednu zamijećeno je kako su biljke u skupini 3 koja je zalijevana s 1% otopinom ekstrakta orahova lista također dobro napredovale u rastu. U četvrtom tjednu najviši rast imale su biljke u drugoj skupini, zatim u trećoj te u prvoj skupini. Četvrta skupina tijekom sva četiri tjedna imala je najniži rezultat mjerenja visine stabljike (slika 8).

Tablica 1 Rast stabljike (cm) rajčice 'Saint-Pierre' kroz četiri tjedna

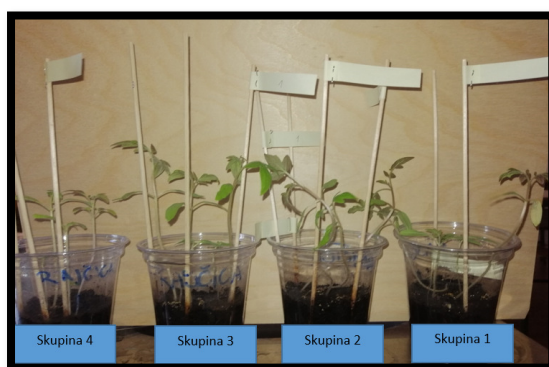
Prvi tjedan- visina stabljike u cm							
Broj biljke	1	2	3	4	5	6	Srednja vrijednost
Skupina 1 (kontrola – voda)	7,5	9					8,25
Skupina 2 (0,6% otopina ekstrakta orahova lista)	9	6	8,5	0,5			6
Skupina 3 (1% otopina ekstrakta orahova lista)	2						2
Skupina 4 (2% otopina ekstrakta orahova lista)	4						4
Drugi tjedan – visina stabljike u cm							
Broj biljke	1	2	3	4	5	6	Srednja vrijednost
Skupina 1 (kontrola – voda)	9,5	10					9,75
Skupina 2 (0,6% otopina ekstrakta orahova lista)	11	9	10	3,4			8,35
Skupina 3 (1% otopina ekstrakta orahova lista)	6,8	4,8	7,5				6,37
Skupina 4 (2% otopina ekstrakta orahova lista)	7,5	4,4	5,5				5,8
Treći tjedan - visina stabljike u cm							
Broj biljke	1	2	3	4	5	6	Srednja vrijednost
Skupina 1 (kontrola – voda)	12	12,6	3,5	4,5			8,15
Skupina 2 (0,6% otopina ekstrakta orahova lista)	12,7	10,8	11,6	0*			8,78
Skupina 3 (1% otopina ekstrakta orahova lista)	10,2	7,8	9,6				9,2
Skupina 4 (2% otopina ekstrakta orahova lista)	8,3	6,3	7,8				7,47
Četvrti tjedan - visina stabljike u cm							
Broj biljke	1	2	3	4	5	6	Srednja vrijednost
Skupina 1 (kontrola – voda)	14,5	15	7	9,5	6		10,4
Skupina 2 (0,6% otopina ekstrakta orahova lista)	15	13	15	0*			14,33
Skupina 3 (1% otopina ekstrakta orahova lista)	15	8,6	15				12,87
Skupina 4 (2% otopina ekstrakta orahova lista)	11	8	10,5	4	2		7,1

* biljka je uvenula



Slika 8 Usporedba visine stabljike rajčice 'Saint-Pierre' kroz četiri tjedna

Slika 9 prikazuje biljke rajčice 'Saint-Pierre' nakon završetka ispitivanja utjecaja otopine ekstrakta orahova lista na rast biljaka.



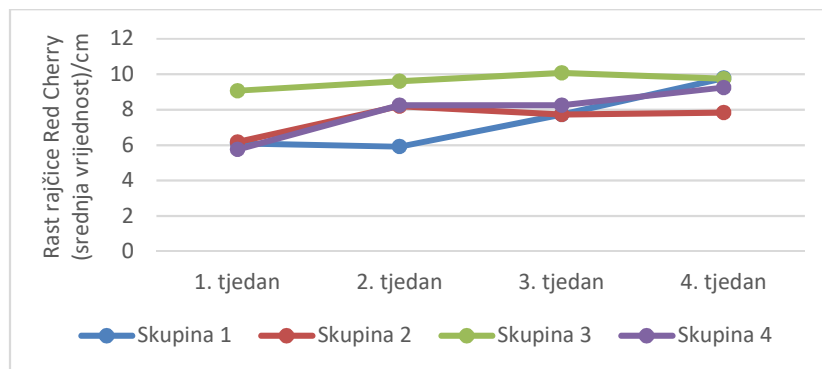
Slika 9 Biljke rajčice 'Saint-Pierre' nakon četiri tjedna

Rezultati dobiveni za rajčicu 'Red Cherry' pokazuju kako različite koncentracije otopine ekstrakta orahova lista nisu značajno utjecale na visinu rasta stabljike (tablica 2, slika 10), ali iz tablice 2 također je vidljivo kako je klijavost u skupini 3 i skupini 4 manja u odnosu na skupinu 1.

Tablica 2 Rast stabljike (cm) rajčice 'Red Cherry' kroz četiri tjedna

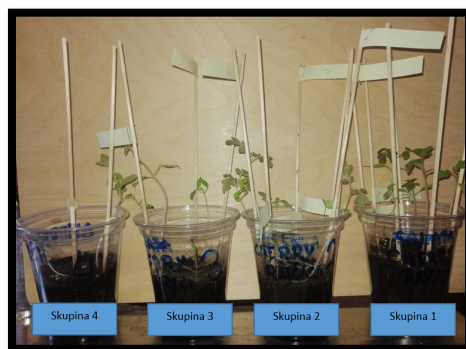
Prvi tjedan - visina stabljike u cm							
Broj biljke	1	2	3	4	5	6	Srednja vrijednost
Skupina 1 (kontrola – voda)	8	5,6	6,8	4			6,1
Skupina 2 (0,6% otopina ekstrakta orahova lista)	6	7,5	8	7	7,5	1	6,17
Skupina 3 (1% otopina ekstrakta orahova lista)	10,7	8,5	8				9,07
Skupina 4 (2% otopina ekstrakta orahova lista)	6,5	5					5,75
Drugi tjedan - visina stabljike u cm							
Broj biljke	1	2	3	4	5	6	Srednja vrijednost
Skupina 1 (kontrola – voda)	8,5	6,3	8,2	5	4,5	3	5,92
Skupina 2 (0,6% otopina ekstrakta orahova lista)	8	8,5	9,2	8,5	8	7	8,2
Skupina 3 (1% otopina ekstrakta orahova lista)	11	8,8	9				9,6
Skupina 4 (2% otopina ekstrakta orahova lista)	8,5	8					8,25
Treći tjedan - visina stabljike u cm							
Broj biljke	1	2	3	4	5	6	Srednja vrijednost
Skupina 1 (kontrola – voda)	9	7,2	9,5	6,2	8	6,5	7,73
Skupina 2 (0,6% otopina ekstrakta orahova lista)	9,2	9,5	9,7	9,5	0*	8,5	7,73
Skupina 3 (1% otopina ekstrakta orahova lista)	11,2	10	9				10,07
Skupina 4 (2% otopina ekstrakta orahova lista)	8,5	8					8,25
Četvrti tjedan - visina stabljike u cm							
Broj biljke	1	2	3	4	5	6	Srednja vrijednost
Skupina 1 (kontrola – voda)	10	9	12	8	10,5	9	9,75
Skupina 2 (0,6% otopina ekstrakta orahova lista)	11	12	13	11	0*	0**	7,83
Skupina 3 (1% otopina ekstrakta orahova lista)	14	13	9	3			9,75
Skupina 4 (2% otopina ekstrakta orahova lista)	9,5	9					9,25

* biljka je uvenula; ** biljka je uvenula



Slika 10 Usporedba visine stabljike rajčice 'Red Cherry' kroz četiri tjedna

Slika 11 prikazuje biljke rajčice 'Red Cherry' nakon završetka ispitivanja utjecaja otopine ekstrakta orahova lista na rast biljaka.

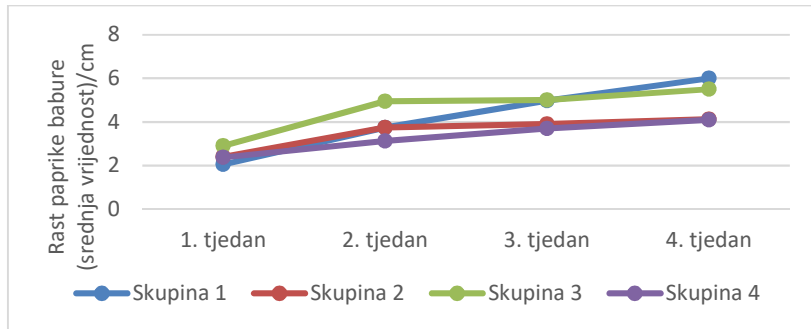


Slika 11 Biljke rajčice sorte 'Red Cherry' nakon četiri tjedna

Rezultati dobiveni za papriku 'Soroksari' pokazuju kako je kroz četiri tjedna skupina 4 koja je zalijevana s 2% otopinom ekstrakta orahova lista imala najnižu stabljiku u usporedbi sa skupinom 1 (kontrola). Skupina 1 imala je najvišu stabljiku nakon četiri tjedna ispitivanja (tablica 3, slika 12).

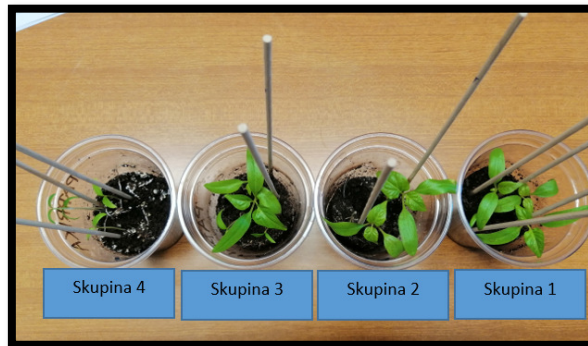
Tablica 3 Rast stabljike (cm) paprike 'Soroksari' kroz četiri tjedna

Prvi tjedan - visina stabljike u cm							
Broj biljke	1	2	3	4	5	6	Srednja vrijednost
Skupina 1 (kontrola - voda)	2,2	3	2	1	5	6	2,05
Skupina 2 (0,6% otopina ekstrakta orahova lista)	2	2,8					2,4
Skupina 3 (1% otopina ekstrakta orahova lista)	3	2,8					2,9
Skupina 4 (2% otopina ekstrakta orahova lista)	2	2,1	3				2,37
Drugi tjedan - visina stabljike u cm							
Broj biljke	1	2	3	4	5	6	Srednja vrijednost
Skupina 1 (kontrola - voda)	4,5	4	3,5	3			3,75
Skupina 2 (0,6% otopina ekstrakta orahova lista)	3,2	4,3					3,75
Skupina 3 (1% otopina ekstrakta orahova lista)	4,5	5,4					4,95
Skupina 4 (2% otopina ekstrakta orahova lista)	3	3	3,4				3,13
Treći tjedan - visina stabljike u cm							
Broj biljke	1	2	3	4	5	6	Srednja vrijednost
Skupina 1 (kontrola - voda)	5,5	5,3	4,3	4,8			4,98
Skupina 2 (0,6% otopina ekstrakta orahova lista)	3,3	4,5					3,9
Skupina 3 (1% otopina ekstrakta orahova lista)	4,5	5,5					5
Skupina 4 (2% otopina ekstrakta orahova lista)	3,6	3,5	4				3,7
Četvrti tjedan - visina stabljike u cm							
Broj biljke	1	2	3	4	5	6	Srednja vrijednost
Skupina 1 (kontrola - voda)	6,3	6	5,7	6			6
Skupina 2 (0,6% otopina ekstrakta orahova lista)	4,2	5,7	2,5				4,13
Skupina 3 (1% otopina ekstrakta orahova lista)	5	6					5,5
Skupina 4 (2% otopina ekstrakta orahova lista)	4,1	4	4,2				4,1



Slika 12 Usporedba visine stabljike paprike 'Soroksari' kroz četiri tjedna

Slika 13 prikazuje biljke paprike 'Soroksari' nakon završetka istraživanja. Na slici je vidljivo kako su listovi paprike iz skupine 4 manji u odnosu na listove paprike iz ostalih skupina.



Slika 13 Biljke paprike 'Soroksari' nakon četiri tjedna

RASPRAVA

Dobiveni rezultati ispitivanih uzoraka rajčice 'Saint-Pierre' i paprike 'Soroksari' slažu se s hipotezom kako će otopine dobivene natapanjem veće količine orahova lista imati utjecaj na niži rast biljaka. Rajčica sorte 'Red Cherry' nije pokazala veliku razliku s obzirom na rast stabljike biljaka.

Dobiveni rezultati mogu se usporediti s istraživanjem Martinović (2018) u kojem se istraživao utjecaj različitih otopina čivitnjače i otopine juglona na klijanje sjemenki pšenice i djeteline te je uočena slabija klijavost pri korištenju otopina veće koncentracije. Također, Marinčić (2018) u istraživanju utjecaja otopine čivitnjače na klijanje sjemena lucerne i suncokreta zaključuje kako su otopine veće koncentracije lista čivitnjače usporile klijanje. Pavićević (2013) u istraživanju utjecaja ekstrakta orahova lista na klijanje pšenice i gorušice zaključuje kako je razlika između klijavosti u kontrolnoj skupini (voda) i skupini tretiranoj 1% otopinom ekstrakta orahova lista zanemariva te smanjenje klijavosti bilježi tek u skupinama tretiranim s 3% i 5% otopinama ekstrakta orahova lista.

U spomenutim radovima za istraživanje upotrijebljene su otopine 1%, 3% i 5% ekstrakta te je zabilježeno kako su 3% i 5% otopine značajnije usporile klijanje nego 1% otopina. Navedeno odgovara dobivenim rezultatima ovog rada jer su 0,6% otopina i 1% otopina ekstrakta orahova lista imale približne rezultate (u nekim slučajevima i više rezultate) visine stabljike s obzirom na kontrolu. S obzirom na navedeno može se reći kako vrlo male koncentracije otopine ekstrakta orahova lista nemaju značajan učinak na usporavanje rasta biljaka te bi se u sličnim istraživanjima trebale upotrijebiti veće koncentracije.



Slična istraživanja mogla bi se provesti na korovnim vrstama kako bi se promatrao utjecaj različitih koncentracija otopina ekstrakta orahova lista na njihov rast, a sve u cilju pronalaska prirodnih sredstava za suzbijanje korova. Pri tome je važno voditi računa da koncentracija koja bi inhibirala rast korova ne inhibira i rast same biljke koja se želi uzgojiti.

ZAKLJUČCI

Provedenim istraživanjem hipoteza je potvrđena za dvije biljke i doneseni su sljedeći zaključci:

- ☛ otopina ekstrakta orahova lista djelovala je inhibirajuće na rast rajčice 'Saint-Pierre' u koncentraciji od 2%, dok niže koncentracije nisu pokazale veliku razliku u odnosu na kontrolu,
- ☛ sve otopine ekstrakta orahova lista na rast stabljike rajčice 'Red Cherry' nisu bitno utjecale u odnosu na kontrolu,
- ☛ promatrajući rast paprike 'Soroksari', 2% otopina ekstrakta orahova lista utjecala je na smanjenje rasta u odnosu na kontrolu, dok su otopine nižih koncentracija imale manje inhibirajuće učinak.

LITERATURA

- Celing Celić M., 2019. Otrovnost oraha i njegovog lišća – što uzgajati u blizini, Agrokлуб <https://www.agroklub.com/vocarstvo/otrovnost-oraha-i-njegovog-lisca-sto-uzgajati-u-blizini/54117/>, pristupljeno 10.10.2022.
- Marinčić D., 2018. Djelovanje čivitnjače na klijavost i razvoj lucerne i suncokreta, Odjel za biologiju Osijek, završni rad <https://zir.nsk.hr/islandora/object/bioos:278/preview>, pristupljeno 20.12.2022.
- Martinović A., 2018. Djelovanje čivitnjače na razvoj i klijavost pšenice i djeteline, Odjel za biologiju Osijek, završni rad <https://repositorij.biologija.unios.hr/islandora/object/bioos%3A279/datastream/PDF/view>, pristupljeno 15.12.2022.
- Pavićević M., 2013. Alelopatsko djelovanje ekstrakta listova običnog oraha i nekih invazivnih biljnih vrsta na klijanje pšenice (*Triticum aestivum* L.) i gorušice (*Sinapis alba* L.), diplomski rad, Prirodoslovno matematički fakultet, Sveučilište u Zagrebu. <https://repositorij.pmf.unizg.hr/islandora/object/pmf%3A4433/datastream/PDF/view>, pristupljeno 15.12.2022.
- Terzi I., 2008. Allelopathic effects of Juglone and decomposed walnut leaf juice on muskmelon and cucumber seed germination and seedling growth. *African Journal of Biotechnology* 7 (12): 1870-1874.

Lihenoflora na sakralnim objektima otoka visa

Franka Atlija, Paula Šimunović, 1. razred

Srednja škola Antun Matijašević Karamaneo, Vis

Mentor: Josipa Poduje

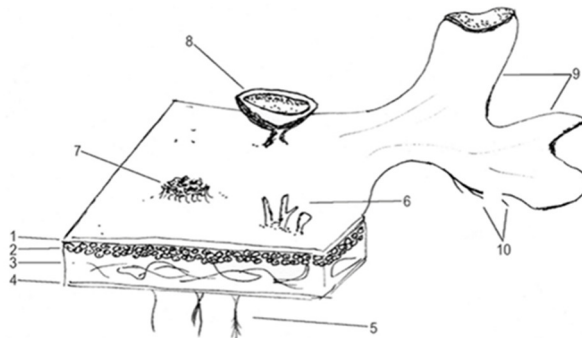
SAŽETAK

Cilj ovog istraživanja bio je odrediti sastav i ugroženost lihenoflore na sakralnim objektima otoka Visa. Na 12 lokaliteta sakupljeni su i fotografirani lišajevi. Korišteni su odgovarajući ključevi za determinaciju i fotografije u dostupnoj literaturi. Mjerena je pH vrijednost podloge, određena ekspozicija, smjer vjetra, procijenjena količina svjetlosti te zabilježena udaljenost od mora. Prikupljeni uzorci lišajeva obrađeni su kvalitativno i kvantitativno. Determiniranim lišajevima određen je životni oblik, ekološke indikatorske vrijednosti i stupanj ugroženosti. Određena je brojnost, gustoća i pokrovnost populacija lišajeva, a Sörensensovim koeficijentom sličnosti analizirana je sličnost svojiti između različitih lokaliteta. Na istraživanim lokalitetima zabilježeno je 11 vrsta lišajeva, a prevladavaju lišajevi sa korastom steljkom (81 %). Lišaj *Aspicilia calcarea* (L.) Mudd prisutan je na najvećem broju lokaliteta. Vrste određene na sakralnim objektima nisu na popisu ugroženih i zaštićenih vrsta lišajeva u Republici Hrvatskoj. Prisutnost lišajeva u korelaciji je s građevnim materijalom od kojih su crkve sagrađene. Kvaliteta zraka na otoku ne pokazuje naznake onečišćenja, jer je pronađena vrsta lišaja *Acrocordia conoidea* (Fr) Korb. Najveća sličnost je između lokaliteta crkve svete Marije i Margarite i crkve sv. Mihovila što potvrđuje pretpostavku o učinku abiotičkih čimbenika na sastav, brojnost, učestalost te pokrovnost lišajskih zajednica na otoku. Blizina mora i izloženost soli nošene vjetrom te restauracija sakralnih objekata pjeskarenjem vanjskih površina ima negativan utjecaj na sastav i brojnost lišajeva.

Ključne riječi: lišajevi, crkve, Vis

UVOD

Lišajevi su simbiotski fenotip prehrambeno specijaliziranih gljiva koje žive kao ekološki obligatni biotrofi u simbiozi s algama i/ili cijanobakterijama (Honegger, 1991). Mogu se naći na različitim staništima i predstavljaju jednu od najuspješnijih simbiotskih skupina. Lišajsku simbiozu čine dva različita organizma: mikobiont i fotobiont. Mikobiont je u 98 % slučajeva gljiva iz koljena Ascomycota, dok ostatak čine gljive iz koljena Basidiomycota ili anamorfne vrste (Honegger, 1991). Danas se procjenjuje da na globalnoj razini ima 18 500 vrsta lišajeva (Boustie i sur., 2011). Gljive imaju ulogu parazita na živim lišajevima ili saprofita na mrtvim lišajskim talusima. Parazitski odnos većinom se temelji na iskorištavanju resursa koje stvaraju lišajevski fotobionti. Tijelo lišaja naziva se steljka ili talus (slika 1).



Shematski prikaz lišajne steljke: 1 – gornja kora, 2 – sloj s algama, 3 – srž, 4 – donja kora, 5 – rizine, 6 – izidiji, 7 – soraliji sa soredijama, 8 – plodište, 9 – režnjevi, 10 – cilije (dlačice) (Crtež: A. Partl)

Slika 1 Shematski prikaz lišajne steljke (izvor: A. Partl, Lišajevi – priručnik za inventarizaciju i praćenje stanja, DZZP, Zagreb 2009.)



Prema morfologiji postoji nekoliko osnovnih tipova talusa lišaja: korasti (krustozni), listasti (foliozni) i grmasti (frutikozni) (Partl, 2009). Lišajevi su kozmopoliti, a ovisno o podlozi na kojoj rastu, razlikuju se: kortikolni (na kori), lignikolni (na drvu, lignumu), folikolni (na listovima), lihenikolni (na talusu drugih lišajeva), saksikolni (na kamenju), endolitski (u kamenju), akvatični (djelomično pod vodom) i terikolni (na tlu) (Partl, 2009). Lišajevi prirodno rastu na svim podlogama, uključujući i one vrlo siromašne hranjivim tvarima. Za rast im je pogodnija vlažna klima, no rastu i u umjerenoj, arktičkoj, tropskoj pa i pustinjskoj klimi. Mogu preživjeti temperature u rasponu od -200 do 100 °C. Jedino što im smeta jest onečišćenje. Sve češće se koriste u medicini i svakodnevnom životu. Ukupan broj lišajeva Hrvatske iznosi 1315 taksona (Mehmedović, 2019). Lihenološki najistraženiji lokaliteti su na području Dubrovnika, Raba i Zagreba. Od ukupne površine Republike Hrvatske lišajevi su neistraženi na 45,14 % teritorija. Pojedina zaštićena područja dodatno dobivaju na važnosti, jer je utvrđeno da su jedina nalazišta nekih ugroženih vrsta lišajeva (Mehmedović, 2019).

Otok Vis je najudaljeniji veći otok u grupi srednjodalmatinskih otoka. Od kopna je udaljen 45 km, od Hvara 18 km, a od talijanske obale 147 km. Ima površinu od 89,72 km², dug je 17 km, a širok 8 km. Najviši vrh je Hum s 587 m nadmorske visine (Bonacci i sur., 2021). Prema podacima Državnog zavoda za statistiku na Visu živi 4388 stanovnika (<https://dzs.gov.hr/vijesti/objavljeni-konacni-rezultati-popisa-2021/1270>, 2022). Na otoku postoje dva grada: Komiža na zapadnoj i Vis na sjeveroistočnoj strani te niz manjih sela i zaseoka. Otok je bogat kulturno-povijesnim spomenicima koji su nasljeđe prošlosti. Na njemu se nalaze 24 crkve od kojih su neke zaštićene kao kulturno dobro. Raspoređene su po Visu i Komiži, selima i poljima, uz obalu i unutar otoka. Otok Vis je pretežno građen od sitno zrnatog vapnenca, vapnenca s rudistima (fosili školjkaša) i dolomita, dok je na području oko Komiže prisutan trijaski eruptivni kamen (Božanić i sur., 2019). Upravo od tih materijala izgrađena je većina sakralnih objekata na otoku Visu. S obzirom na to da su crkve u većem dijelu svijeta (Sjeverna i Južna Amerika, Afrika, Azija i Australija) obojene, na njima ne rastu lišajevi (Sparrius i sur., 2007). Lišajevi na puferiranim kamenitim podlogama, kao što su vapnenac, beton, mort i opeka, nisu jako osjetljivi na promjene u onečišćenju zraka kao što su epifiti i lišajevi na kiselim stijenama (Sparrius i sur., 2007). Rasprostranjenost vrste ovisi o njezinoj mogućnosti za uspješan rast i razvoj pri prisutnim ekološkim čimbenicima. Ekološki čimbenici su fizikalne, kemijske ili biološke varijable koje mogu pozitivno ili negativno djelovati na rast i razvoj organizma. Dije se na biotičke i abiotičke čimbenike (Mehmedović, 2019). Širi dio kopna, koji more i u njegovom najudaljenijem dijelu bar kroz izvjesno vrijeme prska i pod utjecajem je snažnih sjeveroistočnih i južnih vjetrova, nije povoljan teren za razvoj lišajevskih organizama pa su lišajevske vrste u tome pojasu vrlo siromašne (Kušan, 1935). Suvremene mikroskopske i kemijske tehnike potvrdile su da mnoge vrste lišajeva doprinose propadanju širokog raspona materijala, osobito stijena i kamena, kao rezultat fizikalnih i/ili kemijskih procesa koji se u njima odvijaju (Seaward, 2003). Proces kolonizacije lišajeva na sakralnim objektima uvjetovan je poroznosti kamena korištenog u izgradnji pri čemu lišajevi zauzimaju šupljine u vapnencu (Rios i sur., 2009). Prema istraživanju degradacijskih oblika propadanja parkovnih elemenata izgrađenih od arhitektonskog kamena (Arbanas, 2021), na njima je utvrđeno prisustvo lihenoflore. U istraživanju lihenoflore na temelju anatomije, morfoloških obilježja i stanične strukture te skupljanja obraštaja lišajeva s površine kamenih stećaka bilo je evidentirano 18 vrsta lišajeva na stećcima s lokaliteta Crljivica pokraj Ciste Velike (Marinković, 2016). Uvidom u dostupnu literaturu uočeno je da na otoku Visu nije bilo sustavnih istraživanja lihenoflore na sakralnim objektima te smo stoga odlučile provesti ovo istraživanje.



Cilj istraživanja bio je odrediti sastav i ugroženost lihenoflore na sakralnim objektima otoka Visa te utvrditi njegovu povezanost s građevnim materijalom od kojih su ti objekti građeni. Specifični ciljevi su prikupljenim nalazima lišajeva odrediti: životni oblik, ekološke indikatorske vrijednosti i stupanj ugroženosti. Nadalje, bit će procijenjen antropogeni utjecaj i utjecaj abiotičkih čimbenika na brojnost, gustoću i pokrovnost populacija lišajeva, a Sørensenovim koeficijentom sličnosti analizirat će se sličnost svojti između različitih lokaliteta.

Pretpostavljamo da će lihenofloru na sakralnim objektima otoka Visa činiti 10-ak vrsta čija prisutnost će biti u korelaciji s građevnim materijalom od kojih su crkve sagrađene i abiotičkim čimbenicima na staništu. Vjerojatno će crkve građene od vapnenca imati veći broj svojti i veću obraštenost lišajevima. Mišljenja smo da će blizina mora i izloženost soli nošene vjetrom te restauracija pojedinih sakralnih objekata pjeskarenjem vanjskih površina imati negativan utjecaj na sastav i brojnost lišajeva. Rezultati istraživačkog projekta bit će prezentirani učenicima škole i lokalnoj zajednici.

METODE

Istraživanje je provedeno od rujna 2022. do ožujka 2023. godine. Provedeno je u sljedećim fazama: izbor područja istraživanja, terenski rad, rad u školskom laboratoriju i analiza podataka.

Područje istraživanja

Područje istraživanja je otok Vis. Zbog njegova geografskog položaja, klimatske značajke otoka Visa pod snažnim su utjecajem mora. Prema Köppenovoj klasifikaciji klime, područje otoka Visa te višeg arhipelaga obilježava „Csa“ tip klime. To je osnovni tip klime sredozemnih obala koju karakteriziraju suha vruća ljeta i blage i kišovite zime, a zovu je još i „klima masline“ (Krklec i sur., 2012). Istraživanje je provedeno na 12 lokaliteta na različitim dijelovima otoka Visa gdje su smješteni sakralni objekti izloženi različitim uvjetima koji mogu utjecati na sastav lihenoflore (tablica 1). Tijekom obilaska područja istraživanja zabilježen je položaj svake lokacije sakralnih objekata pomoću GPS prijemnika, a položaj točaka je provjeren na Google Earthu (slika 2).

Tablica 1 Karakteristike istraživanih lokaliteta na otoku Visu

Naziv lokaliteta	Oznaka	Geografski položaj	Opis lokaliteta	Blizina mora/m	Ekspozicija	Smjer vjetra	Izloženost vjetru
crkva sv. Jurja	L1	43°04'04.3"N 16°12'19.7"E	smještena na poluotoku na ulazu u višku luku, XIV. stoljeće, vapnenac	10	N	N	umjerena
crkva sv. Ciprijana i Justine	L2	43°03'32.0"N 16°11'56.7"E	na predjelu Kut, istočni dio viške luke, okružena kućama, 1742., vapnenac	50	NW	NW	slaba
crkva Gospa od Spilica	L3	43°03'30.1"N 16°11'27.6"E	u sredini viške luke, XIV. stoljeće, zaštitni zid uz more, vapnenac	5	N	N	jaka
kapela sv. Magdalene	L4	43°03'10.7"N 16°11'29.7"E	na padinama Lučkog brda, XVIII. stoljeće, vapnenac	1500	N	N	jaka
crkva sv. Jerolima	L5	43°03'45.0"N 16°11'18.9"E	na poluotoku Prirovo, XVI. stoljeće, vapnenac i mramor (pročelje)	5	NE	NE	jaka
crkva Gospe od Velog Sela	L6	43°02'39.9"N 16°11'35.1"E	na ulazu u selo Podselje, 1920., vapnenac	3000	SE	SE	jaka
crkva svete Marije i Margarite	L7	43°04'12.0"N 16°07'01.0"E	crkva svete Marije i Margarite, XIV. stoljeće, vapnenac	3000	SE	SE	jaka
crkva Gospa od Planice	L8	43°03'00.8"N 16°07'10.4"E	uz cestu Vis -Komiža, kružni oblik, XI. stoljeće, vapnenac	2600	SW	SW	jaka
crkva sv. Mihovila	L9	43°02'53.2"N 16°06'49.4"E	uz cestu Vis -Komiža, XII. stoljeće, vapnenac	2100	SW	SW	jaka

Naziv lokaliteta	Oznaka	Geografski položaj	Opis lokaliteta	Blizina mora/m	Ekspozicija	Smjer vjetra	Izloženost vjetru
crkva sv. Nikole	L10	43°02'27.6"N 16°05'44.7"E	na ulazu u grad Komižu, 1645. godina, vapnenac	550	SW	SW	jaka
crkva Gospe od sedam žalosti	L11	43°02'37.9"N 16°05'19.8"E	u središtu grada Komiže, okružena kućama, 1759. godine, vapnenac	10	S	S	slaba
crkva sv. Marija „Gusarica“	L12	43°02'50.9"N 16°05'09.0"E	na plaži u gradu Komiži, XVI. stoljeće, vapnenac	20	S	S	jaka



Slika 2 Karta otoka Visa s označenim lokalitetima na kojima je istražena lihenoflora

Terenski rad

Na sakralnim objektima fotografirani su i skupljani lišajevi. Lišajevi koji su se mogli skupiti, a da se pritom ne ošteti podloga, i sam uzorak skupljani su sa zidova sakralnih objekata pomoću oštrog noža ili geološkog čekića od dna zida do visine 1,5 m. Uzorci su pohranjeni u papirnate vrećice na koje su upisani lokalitet, koordinate ili broj točke na GPS-u (slika 3).

Slika 3 Površina zida crkve Gospa od Spilice i lišaj *Caloplaca aurantia* (Pers.)Hellb skupljen na tom lokalitetu

Većina lišajeva nije skupljana jer bi bili oštećeni, stoga su na terenu fotografirani mobilnim uređajem Samsung SM-A725F/DS i promatrani pomoću lupe SPIEGEL MY FIELD II 3,5x te su podaci zabilježeni u terenski dnevnik. Za determinaciju lišajeva na terenu korišten je Priručnik za inventarizaciju i praćenje stanja lišajeva (Partl, 2009). Vođen je terenski dnevnik u kojemu su za svaki lokalitet izmjerene i zabilježene koordinate pomoću GPS uređaja, mjerenje pH podloge, količina svjetlosti, ekspozicija,



blizina mora, izloženost vjetru, vrste lišaja, učestalost pojedine vrste, procjena brojnosti, gustoće i pokrovnosti.

Mjerenje abiotičkih čimbenika

Kako su sakralni objekti na otoku dio kulturne baštine i neki od njih zaštićeni kao kulturno dobro, uzorke podloge nije bilo moguće uzimati. U razgovoru s mr. sc. humanističkih znanosti iz znanstvenog polja arheologija, Borisom Čargom, muzejskim savjetnikom Priručne zbirke i lokaliteta Issa, utvrđeno je da su sakralni objekti na otoku Visu izgrađeni od kamena vapnenca koji se vadio u kamenolomu na otoku. Uzet je uzorak kamena iz kamenoloma na otoku, uzorku je dodano 0,5 L destilirane vode te je ostavljeno 12 h da odstoji, potom je izmjerena pH vrijednost pomoću pHmetra DiST 3 H198303 Hanna instruments. Očitane vrijednosti raspoređene su u 5 kategorija (Nimis, 2016). Svakom lokalitetu određena je ekspozicija (Lozić i sur., 2013). Vizualnom procjenom na svakoj lokaciji je određena relativna količina svjetlosti na način da je procijenjeno osvjetljenje i raspoređeno na 5 kategorija (Nimis, 2016). Prema GLOBE protokolu (<http://globe.hr/upute-za-provedbu/>, 2013) određen je smjer vjetra te procijenjena izloženost vjetru. Zabilježena je udaljenost od mora.

Rad u školskom laboratoriju

Oblik i vanjska obilježja lišajskih steljki promatrani su u školskom laboratoriju pomoću lupe SPIEGEL MY FIELD II 3,5x i mikroskopa Bresser LCD Micro 5MP. Lišajevi su prije promatranja poprskani destiliranom vodom. U laboratoriju su korišteni testovi obojenih reakcija talusa („spot“-reakcije) nanošenjem kapljice test-reagensa na korteks ili medulu, apotecije i sorale lišaja. Pojava specifičnog obojenja označava pozitivnu reakciju, a izostanak obojenja označava negativnu reakciju. Korišteni su sljedeći test-reagensi: kalijev hidroksid (KOH, 10 %-tna otopina – daje reakciju žute boje, žutu koja prelazi u crvenu, crvenu ili smeđu boju); kalcijev hipoklorit (Ca(OCl)_2 , zasićena otopina – daje reakciju crvene, ružičaste, narančaste ili zelene boje). Za determinaciju lišajeva u laboratoriju korišten je Priručnik za inventarizaciju i praćenje stanja lišajeva (Partl, 2009), koji je korišten i na terenu. Prema istom priručniku (Partl, 2009), temeljem morfoloških karakteristika, određeni su i osnovni tipovi lišajne steljke: korasti (krustozni), listasti (foliozni) i grmasti (frutikozni).

Ekološke indikatorske vrijednosti opisuju realizirane optimume abiotičkih čimbenika za pojedinu vrstu, a uključuju: reakciju podloge (R), vlažnost staništa (X), svjetlost (L) i toleranciju eutrofikacije (E) (Nimis, 2016). R vrijednosti sežu od 1 (vrlo kiseli supstrat) do 5 (lužnati supstrat). Tako R1 označava vrste koje rastu na vrlo kiselim supstratima, R2 vrste koje rastu na kiselim supstratima, R3 vrste koje rastu na blago kiselim do neutralnim supstratima, R4 vrste koje rastu na blago bazičnim supstratima, R5 vrste koje rastu na bazičnim supstratima poput vapnenca (Nimis, 2016). X vrijednosti sežu od 1 (higrofitne vrste) do 5 (aridne vrste). X1 označava higrofitne vrste, X2 blago higrofitne vrste, X3 mezofitne vrste, X4 kserofitne vrste, X5 aridne vrste (Nimis, 2016). L vrijednosti sežu od 1 (vrste koje rastu u sjeni ili do 30 % ukupne dostupne svjetlosti) do 5 (vrste koje rastu na svjetlu ili iznad 50 % ukupne dostupne svjetlosti). L1 označuje vrste koje rastu na vrlo sjenovitim staništima, L2 vrste na sjenovitim staništima, L3 vrste s mjesta bogatih difuznim svjetlom, L4 s osunčanih staništa, L5 sa staništa s puno direktne svjetlosti (Nimis, 2016). E vrijednosti sežu od 1 (slaba tolerancija eutrofikacije) do 5 (visoka tolerancija eutrofikacije). E1 označuje vrste koje preferiraju staništa bez naznaka eutrofikacije, E2 vrlo slabu eutrofikaciju, E3 slabu eutrofikaciju, E4 visoku eutrofikaciju, E5 vrlo visoku eutrofikaciju (Nimis, 2016).



Prema Crvenom popisu lišajeva Republike Hrvatske (Partl, 2009) i Pravilniku o strogo zaštićenim vrstama („Narodne novine“, 144/2013, 73/2016) procijenjen je stupanj ugroženosti lišajske flore i određeni sljedeći stupnjevi ugroženosti i zaštićenosti: CR – kritično ugrožene vrste, EN – ugrožene, VU – osjetljive, NT – gotovo osjetljive, LC – najmanje zabrinjavajuće vrste, SZ – strogo zaštićene vrste.

Analiza podataka

Prikupljeni uzorci lišajeva obrađeni su kvalitativno i kvantitativno. Učestalost populacije te procjena gustoće, brojnosti i pokrovnosti pojedine svojte lišaja određeni su prema Priručniku za inventarizaciju i praćenje stanja (Nikolić, 2006). Za mjerenje učestalosti (U) lišaja na površini zida sakralnog objekta, od dna zida do visine 1,5 m, određene su plohe veličine 0,25 m². Uzeto je 25 ploha i određeno je li na svakoj od njih prisutna pojedina vrsta. Učestalost je izražena u postotcima. Broj i veličina ploha određena je prema Priručniku za inventarizaciju i praćenje stanja (Nikolić, 2006). Procjena gustoće populacije (G) temeljena je na uporabi standardiziranih ljestvica za procjenu gustoće jedinka neke svojte. Korištena je ljestvica Braun-Blanquetu s pet stupnjeva (Nikolić, 2006). Pokrovnost (P) je mjera koja određuje površinu tla koju pokrivaju nadzemni dijelovi neke svojte kad ih se promatra odozgo (tlocrtno). Procjena se temelji na uporabi standardiziranih ljestvica za procjenu pokrovnosti neke svojte. Korištena mjera pokrovnosti je Braun-Blanquetova ljestvica s pet stupnjeva (Nikolić, 2006). Sørensenov indeks sličnosti korišten je da bismo utvrdili sličnost među zajednicama lišajeva različitih lokaliteta. Izračunat je prema formuli:

$$S = \frac{2 \times Z}{A + B} \times 100 (\%)$$

S - indeks sličnosti ili identičnosti dviju zajednica, A - broj vrsta jedne zajednice, B - broj vrsta druge zajednice koja se uspoređuje s prvom, Z - broj vrsta koje se pojavljuju na obje zajednice, broj zajedničkih vrsta (Durbešić, 1988).

REZULTATI

Na terenu su mjereni abiotički čimbenici, određen je geografski položaj te opisan pojedini lokalitet, svi podaci su uneseni u Tablicu 1. Iz tablice je vidljivo da su sakralni objekti izgrađeni od vapnenca, udaljeni su od mora od 5 do 3000 m, zauzimaju N (sjevernu), NE (sjeveroistočnu), NW (sjeverozapadnu), S (južnu), SE (jugoistočnu) i SW (jugozapadnu) ekspoziciju, većina je lokaliteta izložena jakim utjecajima vjetra. Ako promatramo utjecaj vjetra, bitno je naglasiti da je učestalost vjetrova raznolika. Čisti zapadnjak rijetko puše (osim ako se radi o obalnom strujanju vjetra – „zmorcu“ ili „smorcu“), ali garbin (smjer jugozapad - SW) zna biti vrlo jak i neugodan.

Na sakralnim objektima otoka Visa zabilježeno je 11 vrsta lišajeva svrstano u 9 rodova, 8 porodica i 7 redova, a porodica Teloschistaceae najbrojnija je vrstama, zastupljena je s 4 vrste:

Carstvo: FUNGI

Odjeljak: Ascomycota

Red: Caliciales

Porodica: Caliciaceae

Diplotomma venustum (Körb.) Körb.

Red: Lecideales

Porodica: Lecideaceae

Lecidea grisella Flörke

Red: Monoblastiales

Porodica: Monoblastiaceae



Acrocordia conoidea (Fr) Korb

Red: Peltigerales

Porodica: Collemataceae

Collema fuscovirens (With.) J. R. Laundon

Porodica: Placynthiaceae

Placynthium nigrum (Huds.) Gray

Red: Pertusariales

Porodica: Megasporaceae

Aspicilia calcarea (L.) Mudd

Red: Teloschistales

Porodica: Teloschistaceae

Xanthoria parietina (L.) Th.Fr

Caloplaca flavescens (Huds.) J.R. Laundon

Caloplaca saxicola (Hoffm.) Nordin

Caloplaca aurantia (Pers.) Hellb

Red: Verrucariales

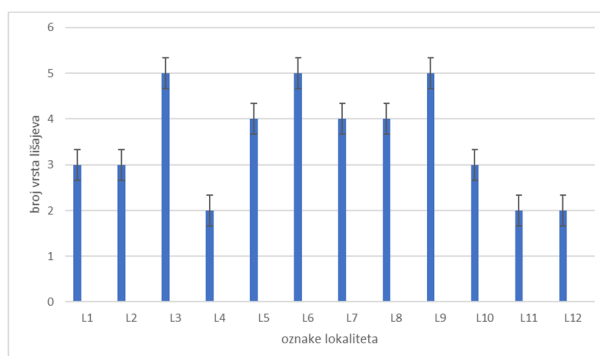
Porodica: Verrucariaceae

Verrucaria nigrescens Pers.

U tablici 2 i na slici 4 je vidljivo da je na lokalitetima L3 (crkva Gospa od Spilica), L6 (crkva Gospe od Velog Sela) i L9 (crkva sv. Mihovila) određeno najviše vrsta. Ukupno je 5 vrsta na svakom od lokaliteta. Najsiromašniji lokaliteti po broju determiniranih vrsta su L4 (kapela sv. Magdalene), L11 (crkva Gospa od sedam žalosti) i L12 (crkva sv. Marija "Gusarica"), gdje su nađene samo dvije vrste lišaja. Vrsta *Aspicilia calcarea* (L.) Mudd prisutna je na najvećem broju lokaliteta, ukupno 9 od 12 istraživanih lokaliteta (slika 5). Vrsta lišaja *Caloplaca flavescens* (Huds.) J.R. Laundon zabilježen je jedino na lokalitetu L12.

Tablica 2 Prisutnost pojedinih vrsta lišaja na sakralnim objektima otoka Visa (L1 crkva sv. Jurja, L2 crkva sv. Ciprijana i Justine, L3 crkva Gospa od Spilica, L4 kapela sv. Magdalene, L5 crkva sv. Jerolima, L6 crkva Gospe od Velog Sela, L7 crkva svete Marije i Margarite, L8 crkva Gospa od Planice, L9 crkva sv. Mihovila, L10 crkva sv. Nikole, L11 crkva Gospe od sedam žalosti, L12 crkva sv. Marija „Gusarica“)

Vrste lišajeva	Istraživani lokaliteti											
	L1	L2	L3	L4	L5	L6	L7	L8	L9	L10	L11	L12
<i>Acrocordia conoidea</i> (Fr) Korb	+	-	-	-	-	-	+	-	+	-	-	-
<i>Aspicilia calcarea</i> (L.) Mudd	+	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-
<i>Caloplaca aurantia</i> (Pers.)Hellb	-	-	+	-	+	+	-	+	-	+	-	-
<i>Caloplaca flavescens</i> (Huds.) J.R. Laundon	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+
<i>Caloplaca saxicola</i> (Hoffm.) Nordin	-	+	+	-	+	+	-	+	+	-	-	-
<i>Collema fuscovirens</i> (With.) J. R. Laundon	-	-	-	+	-	-	-	-	-	+	-	-
<i>Diplotomma venustum</i> (Körb.) Körb.	-	+	-	-	-	-	-	+	-	-	-	-
<i>Lecidea grisella</i> Flörke	-	+	+	-	+	-	-	-	-	-	-	-
<i>Placynthium nigrum</i> (Huds.) Gray	-	-	+	-	-	+	+	-	+	-	-	+
<i>Xanthoria parietina</i> (L.) Th.Fr	-	-	-	-	-	+	+	-	+	-	-	-
<i>Verrucaria nigrescens</i> Pers.	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	-



Slika 4. Prosječan broj (\pm standardna devijacija) vrsta lišajeva na pojedinom lokalitetu (L1 crkva sv. Jurja, L2 crkva sv. Ciprijana i Justine, L3 crkva Gospa od Spilica, L4 kapela sv. Magdalene, L5 crkva sv. Jerolima, L6 crkva Gospe od Velog Sela, L7 crkva svete Marije i Margarite, L8 crkva Gospa od Planice, L9 crkva sv. Mihovila, L10 crkva sv. Nikole, L11 crkva Gospe od sedam žalosti, L12 crkva sv. Marija „Gusarica“)



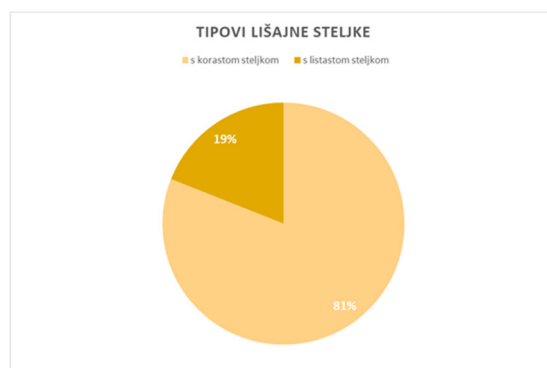
Slika 5 Vrsta lišaja *Aspicilia calcarea* (L.) Mudd najčešća je na sakralnim objektima otoka Visa

Na sakralnim objektima na otoku Visu samo vrste *Xanthoria parietina* (L.) Th.Fr i *Collema fuscovirens* (With.) J. R. Laundon imaju listasti talus (tablica 3).

Tablica 3 Životni oblici lišajeva na sakralnim objektima otoka Visa

ŽIVOTNI OBLIK	VRSTE LIŠAJEVA
Lišajevi s korastim talusom	<i>Caloplaca aurantia</i> (Pers.) Hellb <i>Aspicilia calcarea</i> (L.) Mudd <i>Diplotomma venustum</i> (Körb.) Körb. <i>Caloplaca saxicola</i> (Hoffm.) Nordin <i>Placynthium nigrum</i> (Huds.) Gray <i>Acrocordia conoidea</i> (Fr) Korb <i>Verrucaria nigrescens</i> <i>Caloplaca flavescens</i> (Huds.) J.R. Laundon <i>Lecidea grisella</i>
Lišajevi s listastim talusom	<i>Xanthoria parietina</i> (L.) Th.Fr <i>Collema fuscovirens</i> (With.) J. R. Laundon

Na slici 6 vidljivo je da 81% lišajeva ima korastu steljku.



Slika 6 Spektar tipova lišajne steljke lišajeva nađenih na sakralnim objektima otoka Visa

U tablici 4 navedene su indikatorske vrijednosti i podaci o ugroženosti i zaštićenosti istraženih lišaja na sakralnim objektima. Većina lišajeva preferira osunčana staništa i staništa s puno direktne svjetlosti, izuzev vrste *Acrocordia conoidea* (Fr) Korb koja nastanjuje sjenovita staništa i blago je higrofitna vrsta. Istraživani lišajevi prema vlažnosti uglavnom su mezofitne vrste do aridnih vrsta. Podloga na kojoj se nalaze lišajevi je bazična. *Acrocordia conoidea* (Fr) Korb nastanjuje staništa bez naznaka eutrofikacije (slika 7). *Collema fuscovirens* (With.) J. R. Laundon podnosi veoma slabu eutrofikaciju. Vrste određene na sakralnim objektima nisu na popisu ugroženih i zaštićenih vrsta lišajeva u Republici Hrvatskoj.

Tablica 4 Indikatorske vrijednosti, ugroženost i zaštićenost lišajeva nađenih na sakralnim objektima otoka Visa

Vrsta	Svjetlost (L)	Vlažnost (X)	Reakcija podloge (R)	Tolerancija eutrofikacije (E)	Ugroženost i zaštićenost vrsta
<i>Caloplaca aurantia</i> (Pers.)Hellb	4 - 5	4 - 5	4 - 5	3 - 4	NE
<i>Aspicilia calcarea</i> (L.) Mudd	4	3 - 4	3 - 4	2 - 3	NE
<i>Diplotomma venustum</i> (Körb.) Körb.	4 - 5	4	4 - 5	3 - 4	NE
<i>Caloplaca saxicola</i> (Hoffm.) Nordin	4 - 5	4	4 - 5	3 - 4	NE
<i>Placynthium nigrum</i> (Hunds.) Gray	3	2 - 3	3 - 5	2 - 3	NE
<i>Acrocordia conoidea</i> (Fr) Korb	1 - 2	1 - 2	4 - 5	1	NE
<i>Verrucaria nigrescens</i> Pers.	3 - 5	2 - 5	3 - 5	2 - 5	NE
<i>Caloplaca flavescens</i> (Huds.) J.R. Laundon	3 - 5	3 - 4	4 - 5	3 - 4	NE
<i>Lecidea grisella</i> Flörke	4 - 5	3 - 5	2 - 3	3 - 4	NE
<i>Xanthoria parietina</i> (L.) Th.Fr	3 - 5	3 - 4	2 - 4	3 - 4	NE
<i>Collema fuscovirens</i> (With.) J. R. Laundon	3 - 4	3	4 - 5	1 - 2	NE

Slika 7 Vrsta Lišaja *Acrocordia conoidea* (Fr) Korb indikator je dobre kvalitete zraka

Na lokalitetu crkva Gospe od Planice najgušću populaciju i najveću učestalost ima vrsta *Caloplaca aurantia* (Pers.)Hellb (slika 8). Vrlo rijetko nazočna i s najmanjim stupnjem pokrovnosti te učestalosti od svega 8 % je *Diplotomma venustum* (Körb.) Körb (tablica 5).

Tablica 5 Rezultati procjene gustoće, učestalosti i pokrovnosti populacije lišaja na lokalitetu crkva Gospe od Planice

crkva Gospe od Planice			
Vrsta lišaja	Procjena gustoće (G)	Učestalost (U)	Pokrovnost (P)
<i>Caloplaca aurantia</i> (Pers.)Hellb	Brojno nazočna	68 %	4. stupanj
<i>Caloplaca saxicola</i> (Hoffm.) Nordin	Brojno nazočna	60 %	4. stupanj
<i>Diplotomma venustum</i> (Körb.) Körb	Vrlo rijetko nazočna	8 %	1. stupanj
<i>Aspicilia calcarea</i> (L.) Mudd	Brojno nazočna	64 %	4. stupanj

Slika 8 Vrsta *Caloplaca aurantia* (Pers.) Hellb

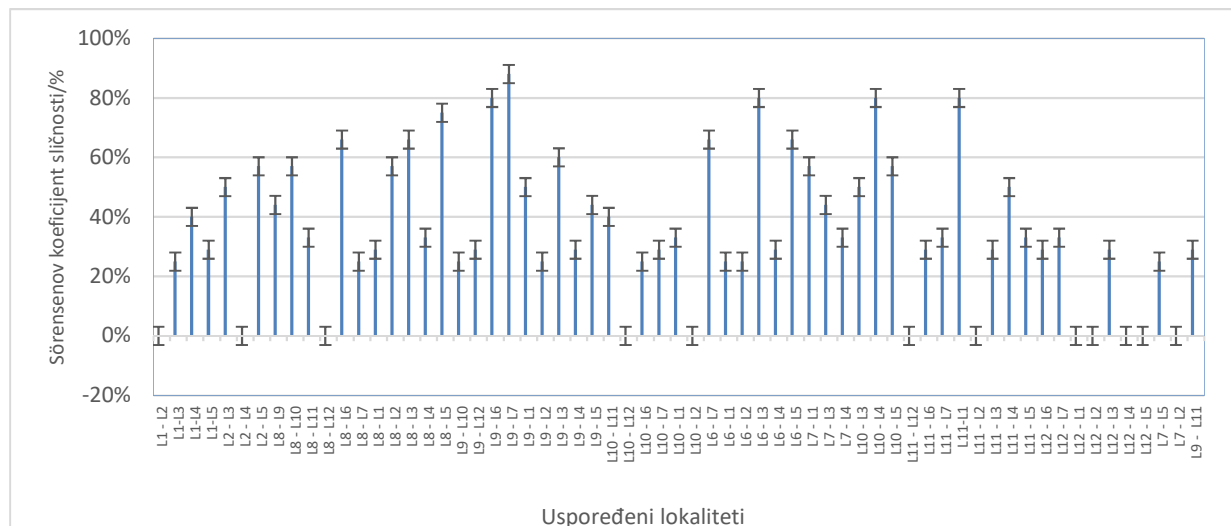
U tablici 6 je vidljivo da je najbrojnija vrsta *Aspicilia calcarea* (L.) Mudd, dok su *Acrocordia conoidea* (Fr) Korb i *Placynthium nigrum* (Hunds.) Gray (slika 10) vrlo rijetko prisutne na sakralnim objektima i imaju 1. stupanj pokrovnosti. Vrsta lišaja *Xantoria parietina* (L.) Th.Fr sa listastim talusom rijetko je nazočna (slika 9).

Tablica 6 Rezultati procjene gustoće, učestalosti i pokrovnosti populacije lišaja na lokalitetu crkva sv. Mihovila

crkva sv. Mihovila			
Vrsta lišaja	Procjena gustoće (G)	Učestalost (U)	Pokrovnost (P)
<i>Placynthium nigrum</i> (Hunds.) Gray	Vrlo rijetko nazočna	8 %	1. stupanj
<i>Xantoria parietina</i> (L.) Th.Fr	Rijetko nazočna	16 %	2. stupanj
<i>Caloplaca saxicola</i> (Hoffm.) Nordin	Brojno nazočna	52 %	4. stupanj
<i>Acrocordia conoidea</i> (Fr) Korb	Vrlo rijetko nazočna	8 %	1. stupanj
<i>Aspicilia calcarea</i> (L.) Mudd	Brojno nazočna	56 %	4. stupanj

Slika 9 Vrsta lišaja *Xantoria parietina* (L.) Th.FrSlika 10 Vrsta lišaja *Placynthium nigrum* (Hunds.) Gray

Na slici 11 navedeni su rezultati Sørensenovog koeficijenta sličnosti izraženog u postocima. Najveća sličnost je između lokaliteta L7 i L9 (crkva svete Marije i Margarite te crkva sv. Mihovila). Visok Sørensenov koeficijent sličnosti u vrijednosti od 80 % izračunat je i kod L10 i L4, L11 i L1, L6 i L3 te L9 i L6. U 11 usporedbi sličnosti, Sørensenov koeficijent sličnosti bio je 0 %.



Slika 11 Sørensenov koeficijent sličnosti lokaliteta (L1 crkva sv. Jurja, L2 crkva sv. Ciprijana i Justine, L3 crkva Gospa od Spilica, L4 kapela sv. Magdalene, L5 crkva sv. Jerolima, L6 crkva Gospe od Velog Sela, L7 crkva svete Marije i Margarite, L8 crkva Gospa od Planice, L9 crkva sv. Mihovila, L10 crkva sv. Nikole, L11 crkva Gospe od sedam žalosti, L12 crkva sv. Marija „Gusarica“)

RASPRAVA

U ovom istraživanju je utvrđeno prisustvo 11 vrsta lišajeva na sakralnim objektima otoka Visa: *Diplotomma venustum* (Körb.) Körb., *Lecidea grisella* Flörke, *Acrocordia conoidea* (Fr) Korb, *Collema*



fuscovirens (With.) J. R. Laundon, *Placynthium nigrum* (Huds.) Gray, *Aspicilia calcarea* (L.) Mudd, *Xanthoria parietina* (L.) Th. Fr., *Caloplaca flavescens* (Huds.) J. R. Laundon, *Caloplaca saxicola* (Hoffm.) Nordin, *Caloplaca aurantia* (Pers.) Hellb i *Verrucaria nigrescens* Pers.

Za izgradnju sakralnih objekata na otoku Visu korišten je vapnenac iz kamenoloma na otoku, a proces kolonizacije lišajeva na sakralnim objektima uvjetovan je poroznosti kamena korištenog u izgradnji, pri čemu lišajevi zauzimaju šupljine u vapnencu (Rios i sur., 2009). Sastav lihenoflore sakralnih objekata je sličan rezultatima istraživanja lihenoflore sa površine kamenih stećaka s lokaliteta Crljivica pokraj Ciste Velike (Marinković, 2016). Vrsta *Aspicilia calcarea* (L.) Mudd prisutna je na najvećem broju lokaliteta, ukupno 9 od 12 istraživanih lokaliteta, što je u skladu s pregledom lišajske vegetacije na vapnencima u srednjoj Dalmaciji gdje je navedeno da je po svome rasprostranjenju, količini primjeraka i bujnosti svoga razvoja na prvome mjestu *Lecanora calcarea*, sinonim za vrstu *Aspicilia calcarea* (L.) Mudd (Kušan, 1935).

Iz rezultata je vidljivo da je na lokalitetima crkva sv. Mihovila, crkva Gospe od Velog Sela i crkva Gospe od Spilica zabilježeno najviše vrsta lišajeva, ukupno 5 vrsta na svakom od lokaliteta. Naša pretpostavka je bila da će crkve građene od vapnenca imati veći broj svojiti i veću obraštenost lišajevima što se pokazalo djelomično točnim, naime sve crkve u Visu su građene od vapnenca, a naše istraživanje je pokazalo da se brojnost, učestalost i pokrovnost vrsta razlikuju između lokaliteta. Najsiromašniji lokaliteti po broju determiniranih vrsta, ali i po učestalosti i pokrovnosti pojedinih vrsta su kapela sv. Magdalene, crkva Gospe od sedam žalosti i crkva sv. Marija "Gusarica", tamo su određene samo dvije vrste lišaja. Crkva Gospa od sedam žalosti je u bliskoj prošlosti potpuno restaurirana. Crkva sv. Marija "Gusarica" nalazi se u neposrednoj blizini mora i izložena je jakim vjetrovima, stoga je utjecaj soli izrazit, a to nije povoljan teren za razvoj lišajskih organizama pa su lišajske vrste u tome pojasu vrlo siromašne, što su pokazala i druga istraživanja (Kušan, 1935). Kapela sv. Magdalene je na području gdje je 2013. bio požar, uništena je bila cijela vegetacija pa je to možda razlog siromašne lihenoflore.

Naša pretpostavka je bila da će blizina mora i izloženost soli nošene vjetrom te restauracija pojedinih sakralnih objekata pjeskarenjem vanjskih površina imati negativan utjecaj na sastav i brojnost lišajeva i rezultatima istraživanja našu smo pretpostavku potvrdili. Iz rezultata je vidljivo da 81 % lišajeva ima korastu steljku, što je očekivano s obzirom na to da su korasti (krustozni) lišaji čitavom površinom prirasli uz podlogu ili urali u nju tako da iz nje vire samo generativna tijela, što je slučaj s lišajevima na zidovima koji preferiraju osunčane vapnenačke stijene (Mehmedović, 2019).

U rezultatima su navedene indikatorske vrijednosti i podaci o ugroženosti i zaštićenosti istraženih lišaja na sakralnim objektima. Većina lišajeva preferira osunčana staništa i staništa s puno direktne svjetlosti, prema vlažnosti uglavnom su mezofitne vrste do aridnih vrsta što je u skladu s drugim istraživanjima (Mehmedović, 2019). Iz drugih istraživanja je utvrđeno da lišajevi na puferiranim kamenitim podlogama, kao što su vapnenac, beton, mort i opeka, nisu jako osjetljivi na promjene u onečišćenju zraka kao što su epifiti i lišajevi na kiselim stijenama (Sparrius i sur., 2007). Naše istraživanje je pokazalo da većina nađenih lišajeva preferira slabu do visoku eutrofikaciju, a lišajevi vrste *Acrocordia conoidea* (Fr) Korb nastanjuju staništa bez naznaka eutrofikacije, dok vrsta *Collema fuscovirens* (With.) J. R. Laundon podnosi veoma slabu eutrofikaciju. Istraživanjem je utvrđeno da vrste određene na sakralnim objektima nisu na popisu ugroženih i zaštićenih vrsta lišajeva u Republici Hrvatskoj. Rezultati su



pokazali da je najveća učestalost i pokrovnost vrsta utvrđena na lokaciji crkva Gospe od Planice čemu je vjerojatno razlog njen geografski položaj, zaštićenost od utjecaja morske soli, koja nije nošena jakim vjetrom te izloženost direktnoj svjetlosti koja odgovara lišajevima koji naseljavaju takvo stanište (Kušan, 1935). Rezultat našeg istraživanja je pokazao da je najveća sličnost određena Sørensenovim koeficijentom sličnosti između lokaliteta L7 i L9 (crkva svete Marije i Margarite, crkva sv. Mihovila), a razlog tome su slični abiotički čimbenici, naime oba lokaliteta su pod utjecajem jakog vjetra, južne su ekspozicije te velike udaljenosti od mora, stoga je mali utjecaj morske soli. Lokalitet L12 crkva sv. Marija „Gusarica“ pokazuje najmanju sličnost s ostalim lokalitetima - čak sa 7 lokaliteta ima sličnost 0 % čemu su razlog abiotički čimbenici koji se razlikuju od ostalih lokaliteta što potvrđuje našu pretpostavku da će lihenoflora na sakralnim objektima otoka Visa biti u korelaciji s biotičkim čimbenicima na staništu. S obzirom da su sve crkve bile izgrađene od vapnenca, korelaciju s građevnim materijalom nismo mogli utvrditi jer nismo imali s čime usporediti. Kako na Visu nisu provedena opsežnija istraživanja lihenoflore planiramo nastaviti naše istraživanje te odrediti vrste koje smo uočili, ali ih nismo uspjeli determinirati. U budućim istraživanjima bilo bi zanimljivo istražiti i utjecaj lišajeva na kamene blokove od kojih su sagrađeni arheološki spomenici i sakralni objekti te utvrditi utječu li lišajevi na poroznost kamena.

ZAKLJUČCI

Na osnovu rezultata istraživanja mogu se donijeti sljedeći zaključci:

- ☞ na istraživanim lokalitetima pouzdano je utvrđeno 11 vrsta lišajeva: *Diplotomma venustum* (Körb.) Körb., *Lecidea grisella* Flörke, *Acrocordia conoidea* (Fr) Korb, *Collema fuscovirens* (With.) J. R. Laundon, *Placynthium nigrum* (Hunds.) Gray, *Aspicilia calcarea* (L.) Mudd, *Xanthoria parietina* (L.) Th.Fr., *Caloplaca flavescens* (Huds.) J.R. Laundon, *Caloplaca saxicola* (Hoffm.) Nordin, *Caloplaca aurantia* (Pers.) Hellb i *Verrucaria nigrescens* Pers.
- ☞ prevladavaju lišajevi s korastom steljkom (81 %)
- ☞ lišaj *Aspicilia calcarea* (L.) Mudd prisutan je na najvećem broju lokaliteta
- ☞ vrste zabilježene na sakralnim objektima nisu na popisu ugroženih i zaštićenih vrsta lišajeva u R Hrvatskoj
- ☞ najveća sličnost lihenoflore je između lokaliteta crkve svete Marije i Margarite i crkve sv. Mihovila što potvrđuje pretpostavku o učinku abiotičkih čimbenika na sastav, brojnost, učestalost te pokrovnost lišajskih zajednica na otoku
- ☞ blizina mora i izloženost soli nošene vjetrom te restauracija sakralnih objekata pjeskarenjem vanjskih površina ima negativan utjecaj na sastav i brojnost lišajeva

LITERATURA

- Arbanas D. 2021. Deterioracija parkovnih elemenata izgrađenih od arhitektonskog kamena u parkovima grada Zagreba (Diplomski rad). <https://urn.nsk.hr/urn:nbn:hr:204:829858>, pristupljeno 17.02.2023.
- Bonacci O., Bonacci D., Patekar M. 2021. Analiza odnosa temperatura zraka, temperature površine mora i oborina na otoku Visu, Hrvatske vode 29: 275-289, <https://hrcak.srce.hr/file/397509>, pristupljeno 17.02.2023.
- Boustie J., Tomasi S., Grube M. 2011. Bioactive lichen metabolites: Alpine habitats as an untapped source. *Phytochem Rev.* 10: 287-307, https://www.researchgate.net/publication/225622152_Bioactive_lichen_metabolites_Alpine_habitats_as_an_untapped_source, pristupljeno 18.02.2023.
- Božanić J., Korbar T., Belamarić J., Božanić J. 2019. Unesco geopark viški arhipelag, Rudarsko geološki glasnik 73-91, file:///C:/Users/38591/Downloads/1090395.ZBORNIK_2019_16X24_za_web.pdf, pristupljeno 15.04.2023.
- Durbešić P. 1988. Upoznavanje i istraživanje kopnenih člankonožaca. Hrvatsko ekološko društvo, Zagreb.
- Honegger, R. 1991. Functional aspects of the lichen symbiosis. *Annual Review of Plant Physiology and Plant Molecular Biology*, <https://doi.org/10.1146/annurev.pp.42.060191.003005>, pristupljeno 5. 10. 2022.



- Krklec K., Lozić S., Perica D. 2012. Neke značajke klime otoka Visa. Naše more, <https://hrcak.srce.hr/file/132932>, pristupljeno 15.12.2022.
- Kušan F. 1935. Pregled lišajske vegetacije na vapnencima u srednjoj Dalmaciji. Hrčak, <https://hrcak.srce.hr/file/224293>, pristupljeno 25.09.2022.
- Lozić S., Šiljeg A., Krklec K. 2013. Morfometrijske značajke otoka Visa. NAŠE MORE. 60 (5-6): 110-117, <https://hrcak.srce.hr/112627>, pristupljeno 18.02.2023.
- Marinković V. 2016. Konzervatorsko-restauratorska istraživanja na stećcima s lokaliteta Crljivica pokraj Ciste Velike. Portal 7: 35-48, <https://doi.org/10.17018/portal.2016.3>, pristupljeno 17.02.2023.
- Mehmedović A. 2019. Inventarizacija raznolikosti lišajeva Hrvatske (Diplomski rad). <https://urn.nsk.hr/urn:nbn:hr:217:770640>, pristupljeno 25.9.2022.
- Nikolić T. 2006. Flora. Priručnik za inventarizaciju i praćenje stanja. Državni zavod za zaštitu prirode, Zagreb.
- Nimis, P. L. 2016. The lichens of Italy. A second annotated catalogue. EUT. <https://www.openstarts.units.it/handle/10077/21022>, pristupljeno 5.10.2022.
- Partl, A. 2009. Priručnik za inventarizaciju i praćenje stanja. Državni zavod za zaštitu prirode, Zagreb.
- Program GLOBE Hrvatska. 2003. Meteorološka mjerenja II dio. Program GLOBE - Priručnik za mjerenja. <http://globe.hr/upute-za-provedbu/>, pristupljeno 12.11.2022.
- Ríos A., Cámara B., Cura M. A. G., Rico V. J., Galván V., Ascaso C. 2009. Deteriorating effects of lichen and microbial colonization of carbonate building rocks in the Romanesque churches of Segovia (Spain), Pub.Med.gov., <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/18976800/>, pristupljeno 12.11.2022.
- Seaward M. 2003. Lichens, agents of monumental destruction, ResearchGate. https://www.researchgate.net/publication/313188362_Lichens_agents_of_monumental_destruction, pristupljeno 12.11.2022.
- Sparrius L. B., Aptroot A., Herk V. K. 2007. Diversity and ecology of lichens on churches in the Netherlands. ResearchGate, https://www.researchgate.net/publication/233699876_Diversity_and_ecology_of_lichens_on_churches_in_the_Netherlands, pristupljeno 12.11.2022.

PRILOZI

Prilog 1 Rezultati procjene gustoće, učestalosti i pokrovnosti populacije lišaja na lokalitetu crkva sv. Jurja

crkva sv. Jurja			
Vrsta lišaja	Procjena gustoće (G)	Učestalost (U)	Pokrovnost (P)
<i>Verrucaria nigrescens</i> Pers.	Vrlo rijetko nazočna	8 %	1. stupanj
<i>Acrocordia conoidea</i> (Fr) Korb	Rijetko nazočna	20 %	2. stupanj
<i>Aspicilia calcarea</i> (L.) Mudd	Slabo nazočna	48 %	3. stupanj

Prilog 2 Rezultati procjene gustoće, učestalosti i pokrovnosti populacije lišaja na lokalitetu crkva sv. Ciprijana i Justine

crkva sv. Ciprijana i Justine			
Vrsta lišaja	Procjena gustoće (G)	Učestalost (U)	Pokrovnost (P)
<i>Caloplaca saxicola</i> (Hoffm.) Nordin	Vrlo rijetko nazočna	4 %	1. stupanj
<i>Lecidea grisella</i> Flörke	Vrlo rijetko nazočna	8 %	1. stupanj
<i>Diplotomma venustum</i> (Körb.) Körb.	Vrlo rijetko nazočna	4 %	1. stupanj

Prilog 3 Rezultati procjene gustoće, učestalosti i pokrovnosti populacije lišaja na lokalitetu crkva Gospe od Spilica

crkva Gospe od Spilica			
Vrsta lišaja	Procjena gustoće (G)	Učestalost (U)	Pokrovnost (P)
<i>Caloplaca saxicola</i> (Hoffm.) Nordin	Slabo nazočna	40 %	3. stupanj
<i>Lecidea grisella</i> Flörke	Vrlo rijetko nazočna	8 %	1. stupanj
<i>Caloplaca aurantia</i> (Pers.) Hellb	Slabo nazočna	48 %	3. stupanj
<i>Aspicilia calcarea</i> (L.) Mudd	Slabo nazočna	44 %	3. stupanj
<i>Placynthium nigrum</i> (Hunds.) Gray	Rijetko nazočna	24 %	2. stupanj

Prilog 4 Rezultati procjene gustoće, učestalosti i pokrovnosti populacije lišaja na lokalitetu kapela sv. Magdalene

kapela sv. Magdalene			
Vrsta lišaja	Procjena gustoće (G)	Učestalost (U)	Pokrovnost (P)
<i>Aspicilia calcarea</i> (L.) Mudd	Vrlo rijetko nazočna	4 %	1. stupanj
<i>Collema fuscovirens</i> (With.) J. R. Laundon	Vrlo rijetko nazočna	4 %	1. stupanj



Prilog 5 Rezultati procjene gustoće, učestalosti i pokrovnosti populacije lišaja na lokalitetu Crkva Sv. Jerolim

Crkva Sv. Jerolim			
Vrsta lišaja	Procjena gustoće (G)	Učestalost (U)	Pokrovnost (P)
<i>Caloplaca saxicola</i> (Hoffm.) Nordin	Vrlo rijetko nazočna	4 %	1. stupanj
<i>Lecidea grisella</i> Flörke	Vrlo rijetko nazočna	4 %	1. stupanj
<i>Aspicilia calcarea</i> (L.) Mudd	Vrlo rijetko nazočna	8 %	1. stupanj
<i>Caloplaca aurantia</i> (Pers.) Hellb	Vrlo rijetko nazočna	4 %	1. stupanj

Prilog 6 Rezultati procjene gustoće, učestalosti i pokrovnosti populacije lišaja na lokalitetu crkva sv. Marije i Margarite

crkva sv. Marije i Margarite			
Vrsta lišaja	Procjena gustoće (G)	Učestalost (U)	Pokrovnost (P)
<i>Xantoria parietina</i> (L.) Th.Fr	Slabo nazočna	32 %	3. stupanj
<i>Acrocordia conoidea</i> (Fr) Korb	Rijetko nazočna	20 %	2. stupanj
<i>Aspicilia calcarea</i> (L.) Mudd	Rijetko nazočna	24 %	2. stupanj
<i>Placynthium nigrum</i> (Huds.) Gray	Vrlo rijetko nazočna	4 %	1. stupanj

Prilog 7 Rezultati procjene gustoće, učestalosti i pokrovnosti populacije lišaja na lokalitetu crkva sv. Nikole

crkva sv. Nikole			
Vrsta lišaja	Procjena gustoće (G)	Učestalost (U)	Pokrovnost (P)
<i>Aspicilia calcarea</i> (L.) Mudd	Rijetko nazočna	20 %	2. stupanj
<i>Collema fuscovirens</i> (With.) J. R. Laundon	Slabo nazočna	32 %	3. stupanj
<i>Caloplaca aurantia</i> (Pers.) Hellb	Vrlo rijetko nazočna	4 %	1. stupanj

Prilog 8 Rezultati procjene gustoće, učestalosti i pokrovnosti populacije lišaja na lokalitetu crkva Gospa od sedam žalosti

crkva Gospa od sedam žalosti			
Vrsta lišaja	Procjena gustoće (G)	Učestalost (U)	Pokrovnost (P)
<i>Aspicilia calcarea</i> (L.) Mudd	Vrlo rijetko nazočna	4 %	1. stupanj
<i>Verrucaria nigrescens</i> Pers.	Vrlo rijetko nazočna	4 %	1. stupanj

Prilog 9 Rezultati procjene gustoće, učestalosti i pokrovnosti populacije lišaja na lokalitetu crkva sv. Marija "Gusarica"

crkva sv. Marija "Gusarica"			
Vrsta lišaja	Procjena gustoće (G)	Učestalost (U)	Pokrovnost (P)
<i>Caloplaca flavescens</i> (Huds.) J.R. Laundon	Vrlo rijetko nazočna	4 %	1. stupanj
<i>Placynthium nigrum</i> (Huds.) Gray	Vrlo rijetko nazočna	8 %	1. stupanj

Prilog 10 Rezultati procjene gustoće, učestalosti i pokrovnosti populacije lišaja na lokalitetu crkva Gospe od Velog Sela

crkva Gospe od Velog Sela			
Vrsta lišaja	Procjena gustoće (G)	Učestalost (U)	Pokrovnost (P)
<i>Xantoria parietina</i> (L.) Th.Fr	Brojno nazočna	56 %	4. stupanj
<i>Caloplaca aurantia</i> (Pers.) Hellb	Slabo nazočna	48 %	3. stupanj
<i>Aspicilia calcarea</i> (L.) Mudd	Rijetko nazočna	24 %	2. stupanj
<i>Caloplaca saxicola</i> (Hoffm.) Nordin	Slabo nazočna	44 %	3. stupanj
<i>Placynthium nigrum</i> (Huds.) Gray	Vrlo rijetko nazočna	8 %	1. stupanj

Može li se asimetrija krila osa koristiti kao pokazatelj nepovoljnih učinaka okoliša?

Sara Polašek, 1. razred

Prirodoslovna škola Vladimira Preloga, Zagreb

Mentor: Klara Peter

SAŽETAK

Cilj ovog istraživanja bio je istražiti pojavnost asimetrije krila kod zadržanih i solitarnih osa i odrediti koja skupina ima izraženiju asimetriju krila. Također, cilj je bio istražiti postoji li poveznica između pojavnosti asimetrije krila i okoliša u kojem osa živi. Smatra se da su ose manje prilagođene urbanom okolišu, koji je u ovom istraživanju smatran više onečišćenim i time nepovoljnijim u usporedbi s ruralnim, koji je smatran povoljnijim okolišem za život osa. Kod zadržanih osa očekivan je manji opseg asimetrije krila u odnosu na solitarne ose zbog zadržanog načina života koji će smanjiti opseg nepovoljnih učinaka okoliša. Prikupljeno je ukupno 124 primjerka osa sa šest lokacija Hrvatske. U analizi su korištene morfometrijske metode koje se temelje na analizi oblika i veličine prednjeg krila. Rezultati istraživanja ukazuju na minimalnu razliku u opsegu asimetrije krila kod zadržanih osa na svim promatranim staništima, uz jednu iznimku, i to kod vrste *Polistes nimpha*. Solitarne ose imale su puno veću mjeru asimetrije krila u usporedbi sa zadržanim osama, a bila je najizraženija u urbanim sredinama. Konačno, najveći opseg asimetrije krila zabilježen je kod zadržanih osa koje su bile zaražene endoparazitom *Xenos vesparum* L. Temeljem navedenog, može se zaključiti kako se asimetrija krila solitarnih i nekih vrsta zadržanih osa može koristiti kao pokazatelj nepovoljnih učinaka okoliša te da su ose odličan organizam za provedbu daljnjih ekoloških istraživanja.

Ključne riječi: zadržane ose, solitarne ose, endoparazit Xenos vesparum L., simetrija

UVOD

Simetrija se kod složenih organizama opisuje kao podudarnost dijelova tijela u veličini, položaju i izgledu u odnosu na razdjelnu ravninu. U prirodi prepoznajemo četiri vrste simetrije – bilateralnu, radijalnu, biradijalnu i sferičnu simetriju (Holló, 2015). Radijalna simetrija pojavljuje se kod organizama koji imaju više od dvije zrcalno jednake strane tijela i najčešće se radi o morskim životinjama s pet ili više podudarnih dijelova tijela raspoređenih oko središnje osi tijela. Biradijalna simetrija označava kombinaciju radijalne i bilateralne simetrije, dok se sferična simetrija opisuje kao kuglasti oblik tijela kojeg možemo bilo kojom razdjelnom ravninom podijeliti na zrcalno jednake dijelove. Najčešći oblik simetrije kod životinja, zastupljen u gotovo 99 % svih poznatih vrsta je bilateralna simetrija. U ovom obliku simetrije lijeva i desna polovica tijela približno su jednake, odnosno organizam može razdjelnom ravninom biti podijeljen na dvije simetrične polovice. Obje polovice tijela se razvijaju iz iste embrionalne osnove, ali je njihov daljnji rast i razvoj neovisan jedan o drugom (Holló, 2015).

Glavna prednost bilateralne simetrije nad svim drugim oblicima je mogućnost stvaranja tijela koje omogućuje smještanje i grupiranje osjetila te zbog aktivnog kretanja u jednom smjeru pruža uvjete za razvoj glave i središnjeg živčanog sustava (Corballis, 2020). U bilateralno simetričnih životinja neki unutarnji organi prate vanjski plan građe, a neki imaju asimetričan položaj i oblik, poput crijeva, srca ili nekih dišnih organa (Corballis, 2020).

Manja odstupanja od uobičajene bilateralne simetrije tijela mogu biti uzrokovana na nekoliko različitih načina (Holló, 2015). Jedan od njih je učinak nepovoljnog okoliša, koji može dovesti do pojave asimetrije, odnosno razlike između dvije polovice tijela (Palmer, 1996). Svaki organizam ima određenu i ograničenu sposobnost prevladavanja štetnih učinaka. Izloženost štetnom okolišnom učinku koji je snažniji od kapaciteta prevladavanja može dovesti do pojave asimetrije tijekom embrionalnog razvoja i time dovesti do asimetrije koju je moguće izmjeriti na odraslom organizmu (Palmer, 1996).



Istraživanje asimetrije najbolje je provesti na organima koji imaju mehaničku funkciju, poput krila kod kukaca, jer se i male razlike lijevog i desnog krila brzo odražavaju na kvalitetu leta. Za ovakva svojstva se smatra da su izravni pokazatelji funkcionalne sposobnosti, odnosno da su od presudne važnosti za preživljavanje. Dosadašnja istraživanja su pokazala da je asimetrija krila kod kukaca u prirodi česta (Hoffmann i sur., 2005), no mogući je i pokazatelj okolišnog štetnog učinka na organizam i populaciju. Tako je analiza krila leptira stričkovca, *Vanessa cardui* (L.), namjerno izloženih nepovoljnim okolišnim učincima (ograničena prehrana i povišena temperatura s optimalnih 25 °C na 32 °C) pokazala kako okolišni učinak ne mora uvijek dovesti do pojave asimetrije krila (Symanski i Redak, 2021). Svi leptiri u ovom pokusu su imali simetrična krila bez obzira na opseg štetnih okolišnih učinaka, no u skupini koja je bila izložena nepovoljnijim okolišnim uvjetima zabilježen je veći udio leptira koji nisu preživjeli. Među mogućim objašnjenjima za nepostojanje asimetrije krila autori su naveli metodološke probleme, poput pogreške u mjerenju asimetrije, nemogućnosti predviđanja organa koje će asimetrija zahvatiti ili raznih međudjelovanja više štetnih čimbenika (Symanski i Redak, 2021).

Asimetrija krila papirne ose *Polistes nimpha* (Christ, 1791) nedavno je predložena kao pokazatelj za biološki nadzor opsega okolišnog onečišćenja (biomonitoring). Asimetrija krila bila je mjerena i uspoređena s koncentracijama teških metala, poput cinka, olova i kadmija (Mielczarek i sur., 2021). Glavna metodološka prednost korištenja papirnih osa u ovakvoj analizi je da su one česte u prirodi i da su nespecifični predatori raznih vrsta kukaca, zbog čega predstavljaju skupinu u kojoj se kroz hranidbeni lanac mogu koncentrirati štetne tvari iz okoliša. Rezultati tog istraživanja pokazali su da je asimetrija krila bila izravno povezana s koncentracijom teških metala u tijelu, no da različiti opseg ili vrsta onečišćenja dovodi do različitog opsega asimetrije krila (Mielczarek i sur., 2021). Istovremeno, asimetrija krila bila je najizraženija u blizini izvora onečišćenja s najvišom koncentracijom teških metala, zbog čega su autori istraživanja utvrdili kako mjerenje simetrije krila papirnih osa može biti dobar pokazatelj onečišćenja okoliša (Mielczarek i sur., 2021). Slično istraživanje jedne druge vrste papirne ose, *Polistes dominula* (Christ, 1791) iz 2018. godine nije pokazalo značajnu razliku u učestalosti asimetrije krila osa iz urbanog i ruralnog okoliša na području južne Španjolske (Polidori i sur., 2018). No ose koje su živjele u urbanim područjima imale su znatno više razine tkivnog oštećenja uzrokovanog olovom u odnosu na ose koje su živjele u ruralnim područjima (Polidori i sur., 2018).

Još jedan primjer nepovoljnog učinka na ose je parazitizam. *Xenos vesparum* L. primjer je endoparazita kod kojeg ženke žive u tijelu zadružnih osa, dok su mužjaci leteći kukci. Ženke nikada ne napreduju u potpunu metamorfozu, nego cijeli život ostaju u stadiju ličinke, u tijelu odrasle ose. Ose se inficiraju ovim parazitom u gnijezdu, još u stadiju ličinke, tako da parazit izravno utječe na proces metamorfoze ose (Manfredini i sur., 2007).

Razlog zbog kojeg je ponekad zahtjevno uočiti i izmjeriti asimetriju krila papirnih osa mogao bi biti njihov način života. Zadružne ose iz porodice Vespidae (potporodice Vespinae i Polistinae) grade kolonije u kojima postoji podjela na tri kaste: kraljica, koja osniva koloniju, radilice te mužjaci. Glavne prednosti zadružnog života su sigurnost te bolja dostupnost hrane i vode, čime se u znatnoj mjeri smanjuje štetni učinak okoliša, a time se postiže bolje preživljavanje vrsta koje imaju zadružno ponašanje (Meunier, 2015). S druge strane, solitarne ose iz iste porodice, ali iz potporodice Eumeninae, ne žive u zadrugama, već gnijezdo od blata gradi samo jedna ženka. To znači da jedna ženka ne brine samo o sebi, već i o izgradnji gnijezda i prikupljanju plijena za rast ličinki, što navodi na hipotezu da će kod njih okolišni stres biti izraženiji nego kod zadružnih osa.

Motivacija za provođenje ovog istraživanja zasniva se na interesu za razumijevanje učinka okoliša na organizme u prirodi. U skladu s trenutnim nastavnim planom, odabran je modelni organizam i provedeno je istraživanje. Ciljevi ovog istraživanja su odrediti pojavnost i obilježja asimetrije krila zadružnih osa iz roda *Polistes*, usporediti simetriju između zadružnih i solitarnih osa i odrediti koja skupina ima više izraženu asimetriju krila te istražiti postoji li povezanost između asimetrije krila i okoliša u kojem su ose uhvaćene. Usporedba asimetrije krila zadružnih i solitarnih osa do sada nije opisana niti u jednom objavljenom znanstvenom radu te predstavlja originalan doprinos ovog istraživanja. U skladu s postavljenim ciljevima istraživanja, pretpostavka je da pojavnost asimetrije krila ovisi o okolišu u kojem osa živi. Pretpostavlja se da su ose manje prilagođene urbanom okolišu, koji je u ovom istraživanju smatran više onečišćen i time nepovoljniji u usporedbi s ruralnim, koji je smatran povoljnim okolišem za život osa. Nadalje, kod zadružnih osa očekuje se manji opseg asimetrije krila u odnosu na solitarne ose, zbog zadružnog načina života, koji će smanjiti opseg nepovoljnih učinaka okoliša. Na ovaj način istraživanje će dati sveobuhvatan prikaz mogućnosti korištenja asimetrije krila raznih vrsta osa kao pokazatelja nepovoljnih učinaka okoliša.

METODE

Ovo istraživanje temelji se na prikupljenim uzorcima papirnih i solitarnih osa sa šest lokacija na području Hrvatske. Svaka od lokacija odabrana je kako bi predstavljala određeni tip okoliša, obilježen drugačijim uvjetima života i različitim očekivanim opsegom štetnih okolišnih učinaka (tablica 1). Dodatno je svaka lokacija bila prikazana na karti uz kratak opis lokacije (slika 1).



Slika 1 Lokacije na kojima su ose uhvaćene

Urbani okoliš se smatrao nepovoljnijim zbog vjerojatnosti izloženosti osa štetnim čimbenicima, poput onečišćenja teškim metalima, kao što su olovo, živa i kadmij (Mielczarek i sur., 2021), te onečišćenja mikroplastikom. Sve su ose bile uhvaćene tijekom proljeća i ljeta 2021. i 2022. godine, mrežom načinjenom od tila i pohranjene u 70 %-tnom alkoholu etanolu (C_2H_5OH), u kojem su bile čuvane do početka drugog dijela istraživanja. Određivanje vrsta osa provedeno je korištenjem ključa za rod *Polistes* (Schmid-Egger i sur., 2017), dok su vrste solitarnih osa određene korištenjem ključa za Europske vrste osa lončarica (Schmid-Egger, 2004). Zaraza endoparazitom *X. vesparum* utvrđena je vizualnom analizom zatka ose. U istraživanju je analizirano ukupno 124 primjeraka osa.



Tablica 1 Lokacije na kojima su ose uhvaćene, obilježja okoliša na navedenim lokacijama

Lokacija	Obilježje okoliša
Virovitica	urbani okoliš, naselje s dvokatnicama prošarano zelenim površinama
Virovitica, Požari	ruralni okoliš, rub livade uz odvodne kanale i područja niskog grmolikog raslinja
Rugvica, Okunščak	ruralni okoliš, niska razina urbanizacije (stari dio sela)
Split, Trstenik	visoko urbanizirani okoliš, obilježen uskim zonama zelenila uz višestambene višekratne zgrade
Split, Karepovac	rubna zona grada, s mnoštvom deponiranog materijala, rubna zona gradskog deponija za odlaganje smeća
Mosor, Dubrava	visinski (planinski) okoliš, na oko 700 m nadmorske visine

Nakon što su svi uzorci osa bili prikupljeni s različitih lokacija, započeo je drugi dio istraživanja koji se sastojao od četiri faze: priprema preparata i njihovo fotografiranje, izrada morfometrijskog protokola u javno dostupnom programu iz *tps* skupine programa - *tpsUtil* (Rohlf, 2015), označavanje unaprijed definiranih 20 točaka na svakom krilu u programu *tpsDig* (Rohlf, 2015) te analiza podataka u programu *tpsRelw* (Rohlf, 2015).

Priprema preparata i fotografiranje

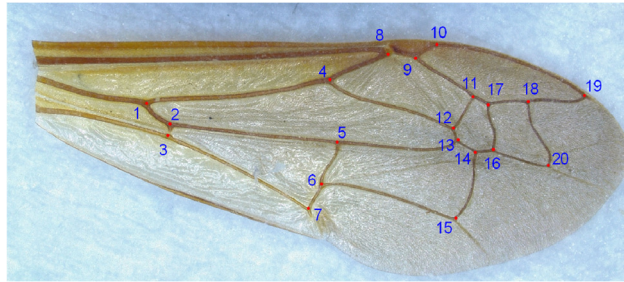
Prikupljenim osama u laboratoriju su anatomske škaricama odrezana krila kako bi se mogla dobro raširiti i pregledati ispod lupe. Za izradu trajnih preparata je staklenim štapićem na predmetno staklo stavljeno malo kanadskog balzama i ravnomjerno raspoređeno po staklu. Pincetom je svako prednje krilo pojedine ose položeno u kanadski balzam, pažljivo rašireno kako bi se izbjegli nabori ili preklapanja, koja bi mogla utjecati na mjerenja te je krilo u takvom obliku prekriveno pokrovnim stakalcem. Napravljena su dva trajna preparata za svaku jedinku, jedan s lijevim prednjim krilom i jedan s desnim prednjim krilom. Sva krila zatim su fotografirana korištenjem stereomikroskopske lupe Leica S9i s ugrađenom kamerom. Fotografije krila su izrađene u rezoluciji od 0,8 megapiksela, koja je bila dovoljna za analizu žilica krila. Fotografije glave i tijela izrađene su u rezoluciji od 10 megapiksela (van Beusekom, 2013).

Izrada morfometrijskog protokola u javno dostupnom programu iz *tps* skupine programa – *tpsUtil*

U analizi su korištene morfometrijske metode koje se temelje na analizi oblika i veličine organizma. Glavna prednost morfometrijske metode pred morfološkom analizom koja se temelji samo na kvalitativnoj usporedbi dva ili više uzorka, ali bez kvantitativnog mjerenja, je istovremena analiza većeg broja obilježja (Rohlf, 2015).

Morfometrijska metoda korištena u ovom istraživanju je analiza tanke ploče (engl. *thin spline*). Ova metoda temelji se na korištenju fotografija krila, na kojima je potrebno definirati i označiti polazne točke (engl. *landmark*). Te točke predstavljaju unaprijed zadane anatomske detalje, poput sjecišta linija ili rubove pojedinih dijelova krila. Korišteno je ukupno 20 točaka na svakom krilu koje su odabrane na temelju sličnih radova (Owen, 2012), a odgovarale su pojedinim sjecištima žila na krilu (slika 2).

Ranije napravljene fotografije krila su uvrštene u dokument u programu *tpsUtil*, koji je polazište za morfometrijsku analizu. Kako bi se dobili najvjerođostojniji rezultati i smanjio rizik pogreške poredak svih fotografija bio je nasumičan.



Slika 2 Dvadeset unaprijed definiranih točaka koje su korištene u morfometrijskoj analizi krila

Na svakom krilu je nakon fotografiranja određeno unaprijed definiranih 20 točaka u dvodimenzionalnom prostoru (slika 2). Na taj način je svako krilo pretvoreno u mrežu točaka. Glavna prednost ovog procesa je dobivanje digitaliziranog krila u koordinatnom sustavu. To omogućuje precizna mjerenja udaljenosti i međudnosa bilo kojeg para točaka u tom koordinatnom sustavu, čime se znatno smanjuje pogreška mjerenja u usporedbi s korištenjem mikrometra. Konačan rezultat ove faze istraživanja je dokument u kojem su sva krila predstavljena s ukupno 40 podataka, koji predstavljaju x i y koordinate svake od 20 analiziranih točaka.

Analiza podataka u programu *tpsRe/w* (Rohlf, 2015)

U posljednjem koraku provedena je analiza krila, u kojoj je svako krilo svih primjeraka bilo analizirano u analitičkom programu *tpsRe/w* (Rohlf, 2015) i smješteno u istom koordinatnom sustavu. Program je zatim preklopio sva krila i proveo niz malih trodimenzionalnih deformacija koordinatnog sustava (Rohlf, 2015). Prilikom svake deformacije program mjeri sličnost bilo kojeg para krila, a konačan rezultat je prikaz svakog pojedinog krila pomoću jedne točke u novom koordinatnom sustavu. Položaj svake točke odgovara jednom krilu, a matematička udaljenost između dvije točke, odnosno dva krila, predstavlja mjeru sličnosti ta dva krila (Rohlf, 2015). Udaljenost između dvije točke koje su predstavljale lijevo i desno krile iste ose bila je korištena kao glavna mjera asimetrije krila u ovom istraživanju.

Statistička usporedba asimetrije među analiziranim skupinama provedena je računanjem prosječne vrijednosti i standardne devijacije te korištenjem t-testa. Ovaj test koristi se za usporedbu dvije skupine numeričkih podataka. Analiza je provedena korištenjem funkcije *average*, *stdev* i *ttest* u programu MS Excel, uz razinu statističke značajnosti od $p < 0,05$.

U prethodnim istraživanjima često je spominjana pogreška mjerenja te je ona uključena i u ovo istraživanje. U svrhu razumijevanja opsega pogreške mjerenja provedena su dva postupka ponavljanih mjerenja. Prvi se odnosio na pogrešku koja može nastati tijekom postavljanja 20 točaka na fotografiju krila, a drugi se odnosio na pogrešku koja može nastati tijekom pripreme preparata.

U svrhu razumijevanja opsega pogreške prilikom postavljanja 20 točaka na krilo korišteno je pet nasumično odabranih osa, odnosno ukupno deset krila. Od svakog krila bio je napravljen preparat koji je fotografiran. Na toj fotografiji provedena su tri odvojena (ponavljana) postupka postavljanja točaka. Nakon toga provedena je analiza tankih slojeva i sva krila su dobila dvodimenzionalne koordinate u koordinatnom sustavu. Pri tome su u analizi opsega pogreške uvijek analizirana samo odstupanja za isto krilo, a ne razlike između dva različita krila.

U drugom koraku mjereno je opseg pogreške koja može nastati zbog pripreme preparata. Iz istih deset krila iz prethodnog koraka napravljen je preparat, krilo je pažljivo rašireno i pripremljeno, fotografirano, a zatim vraćeno u alkohol u kojem krilo više nije bilo idealno rašireno. Zatim je cijeli postupak pripreme preparata za svako krilo ponovljen još dva puta, kako bi se postiglo ukupno 30 ciklusa pripreme preparata i omogućilo ponavljano mjerenje istog krila. Na ovaj način izračunato je odstupanje u pikselima ponavljanih mjerenja za svako krilo.

Najveće odstupanje ponavljanih mjerenja izraženo je u pikselima. Ovo je provedeno kako bi se bolje razumjele razlike između pojedinih analiziranih skupina osa. Ukoliko je asimetrija među dvije analizirane skupine bila veća od najveće pogreške mjerenja, takva razlika smatrana je relevantnom, odnosno dostatnim dokazom postojanja asimetrije. Ukoliko je razlika bila unutar pogreške mjerenja, smatrano je kako se ne radi o relevantnoj razlici među skupinama, odnosno govorila je u prilog nepostojanja asimetrije krila.

REZULTATI

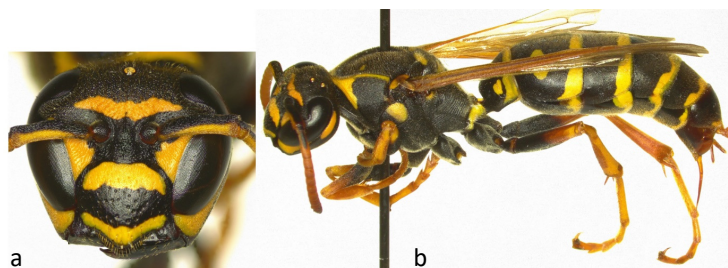
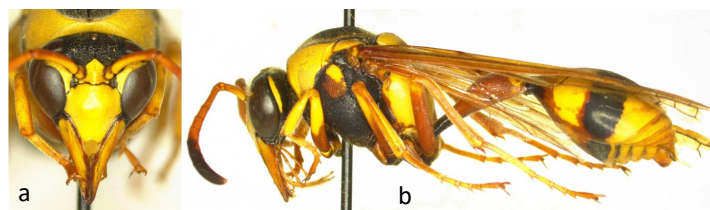
Ovo istraživanje temeljilo se na analizi 124 primjeraka osa (ukupno 248 analiziranih krila). Zadržane ose pripadale su vrstama *P. dominula* (slika 3) i *P. nimpha* (slika 4), a solitarne ose vrstama *Delta unguiculatum* (slika 5) i *Eumenes mediterraneus* (slika 6). Ose su svrstane prema vrsti i mjestu na kojem su ulovljene u ukupno 16 skupina (tablica 2). Najveći broj primjeraka analiziran je s područja Trstenika u Splitu, a najmanji s područja Karepovca u Splitu (tablica 2).

Tablica 2 Broj i vrsta analiziranih primjeraka s raznih lokacija

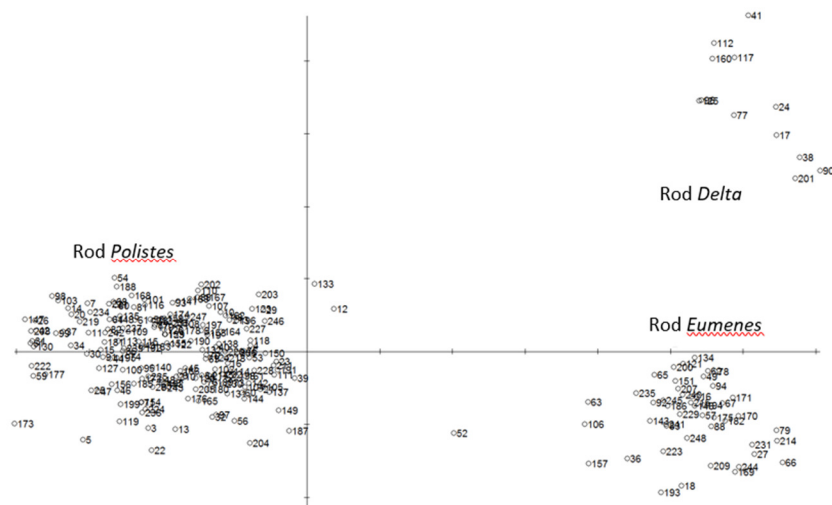
Lokacija	Obilježje okoliša	Zadržane ose (N)	Solitarne ose (N)
Virovitica	urbani okoliš	<i>P. dominula</i> (10) <i>P. nimpha</i> (10)	-
Virovitica, Požari	ruralni okoliš	<i>P. dominula</i> (8) <i>P. nimpha</i> (10)	-
Rugvica, Okunščak	ruralni okoliš	<i>P. dominula</i> (9) <i>P. nimpha</i> (10)	<i>Eumenes mediterraneus</i> (7)
Split, Trstenik	visoko urbanizirani okoliš	<i>P. dominula</i> (10) <i>P. nimpha</i> (10)	<i>Eumenes mediterraneus</i> (9)
Split, Karepovac	rubna zona grada, odlagalište smeća	<i>P. dominula</i> (5)	<i>Eumenes mediterraneus</i> (6)
Mosor, Dubrava	visinski (planinski) okoliš	<i>P. dominula</i> (5)	<i>Eumenes mediterraneus</i> (4) <i>Delta unguiculatum</i> (6)
Razni lokaliteti	parazit <i>Xenos vesparum</i> L.	<i>P. dominula</i> (5)	-



Slika 3 *Polistes dominula*, a) glava sprijeda, svjetliji oblik, b) glava sprijeda, tamniji oblik, c) tijelo, sa strane

Slika 4 *Polistes nimpha*, a) glava sprijeda, b) tijelo, sa straneSlika 5 *Delta unguiculatum*, a) glava sprijeda, b) tijelo, sa straneSlika 6 *Eumenes mediterraneus*, a) tijelo, sa strane, b) glava sprijeda, svjetliji oblik, c) glava sprijeda, uobičajeni oblik, d) glava sprijeda, tamniji oblik

Nakon označavanja svih krila, analiza podataka ukazala je na postojanje tri velike skupine (slika 3). Ove skupine odgovarale su rodovima osa; s lijeve strane koordinatnog sustava nalazili su se primjerci zadružnih (papirnih) osa, desno dolje solitarnih osa iz roda *Eumenes*, a desno gore solitarnih osa iz roda *Delta* (slika 7). Detaljnija analiza pokazala je veliko preklapanje između obje analizirane vrste zadružnih osa, među kojima nije bilo izraženije razlike.



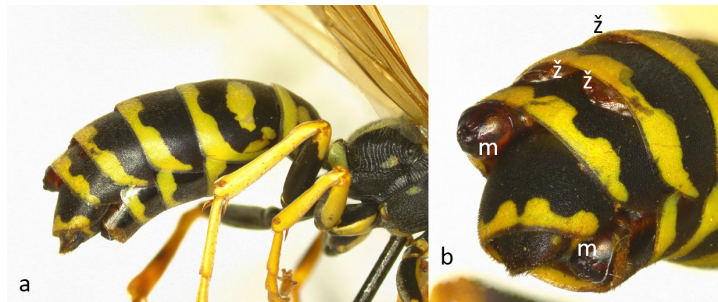
Slika 7 Rezultati analize asimetrije krila triju rodova analiziranih zadržanih osa (*Polistes*) i solitarnih osa (*Eumenes* i *Delta*) u koordinatnom sustavu

Osnovna mjera asimetrije krila ukazala je na ujednačene rezultate za obje analizirane vrste zadržanih osa, bez izraženijih razlika među skupinama (tablica 3).

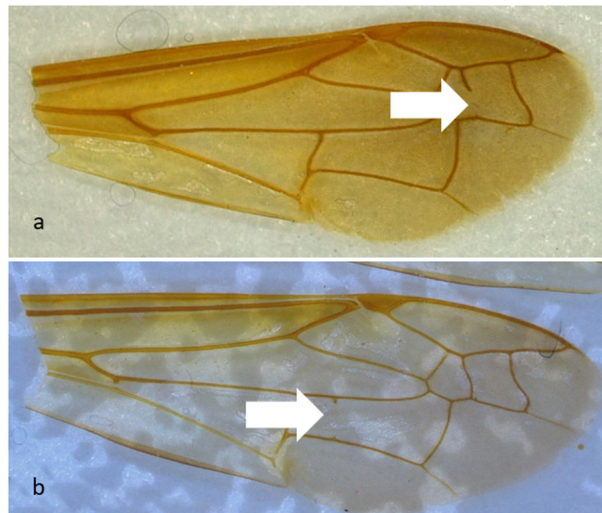
Tablica 3 Prosječne vrijednosti asimetrije krila za analizirane skupine

Vrsta	Lokalitet ili skupina	Prosječna asimetrija (u pikselima) i standardna devijacija
<i>P. dominula</i>	Virovitica	412,1 ± 167,4
<i>P. dominula</i>	Požari	384,4 ± 149,7
<i>P. dominula</i>	Okunščak	341,3 ± 125,6
<i>P. dominula</i>	Trstenik	395,4 ± 141,5
<i>P. dominula</i>	Karepovac	304,7 ± 149,3
<i>P. dominula</i>	Mosor	361,7 ± 151,8
<i>P. nimpha</i>	Virovitica	489,6 ± 165,7
<i>P. nimpha</i>	Požari	335,7 ± 135,1
<i>P. nimpha</i>	Okunščak	356,3 ± 216,2
<i>P. nimpha</i>	Trstenik	343,4 ± 149,7
<i>E. mediterraneus</i>	Karepovac	800,5 ± 243,1
<i>E. mediterraneus</i>	Okunščak	741,6 ± 173,1
<i>E. mediterraneus</i>	Trstenik	710,0 ± 198,5
<i>E. mediterraneus</i>	Mosor	580,2 ± 144,9
<i>D. unguiculatum</i>	Mosor	621,8 ± 176,8

Statistička analiza potvrdila je izostanak statistički značajnih razlika između ove dvije vrste (p vrijednost = 0,748). Najizraženija razlika za vrstu *P. dominula* zabilježena je između lokaliteta Virovitica i Karepovac, iako je statistička analiza ukazala da ona nije statistički značajna ($p = 0,147$). Kod vrste *P. nimpha* najveća razlika zabilježena je između lokaliteta Virovitica i Požara i jedino u ovom slučaju je ona bila statistički značajna ($p = 0,035$). S druge strane, usporedba zadržanih i solitarnih vrsta ukazala je da je razlika među njima izrazito statistički značajna ($p < 0,001$). Među solitarnim osama najizraženija razlika je bila između lokaliteta Karepovac i Mosor ($p = 0,015$). Konačno, najveći opseg asimetrije krila zabilježen je kod pet zadržanih osa koje su bile zaražene parazitom *X. vesparum* (slika 8), s prosječnom vrijednosti od $997,2 \pm 371,9$ piksela, što je bilo statistički značajno različito od primjeraka vrste *P. dominula* koji nisu imali parazita ($p < 0,001$; tablica 3).



Slika 8 Parazit *X. vesparum* u tijelu ose *P. dominula*, a) prikaz sa strane, b) kosi prikaz, vidljiva dva mužjaka (m) i tri ženke (ž) Primjeri morfološke asimetrije zabilježeni su za ukupno šest osa, od kojih su dvije bile s područja Karepovca, jedna iz Virovitice, jedna s Trstenika i jedna iz Požara (svi slučajevi zabilježeni su kod zadružnih osa). Najčešće se radilo o nedostatku dijela žile krila (slika 9a), ali u nekim slučajevima i pojavi nove nepotpune žile krila (slika 9b).



Slika 9a i 9b Primjeri neuobičajene morfologije žila krila

Pogreška mjerenja procijenjena je za dva procesa. Prvi je bio ponovno postavljanje primjerka i ravnanje krila. Ponavljanim mjerenjem deset krila (svako po tri puta) od pet nasumično odabranih osa, dobivena je mjera pogreške koja je za postavljanje primjerka iznosila u prosjeku 33,0 piksela. Pogreška ponovnog postavljanja točaka temeljila se na analizi istih deset krila, samo su u označavanju točaka korištene tri kopije iste fotografije. Pogreška postavljanja točaka iznosila je u prosjeku 12,9 piksela. S obzirom da je pogreška mjerenja bila puno manja od zabilježenih razlika među skupinama i lokalitetima, rezultati ovog istraživanja smatraju se pouzdanima.

RASPRAVA

Rezultati ovog istraživačkog projekta pokazuju da zadružne ose koje žive u ruralnim područjima imaju minimalnu razinu asimetrije prednjeg krila u odnosu na zadružne ose koje žive u urbanom području. Jedina iznimka bila je zabilježena za vrstu *P. nimpha*, pri čemu su ose u urbanom okolišu (Virovitica) imale izraženiju asimetriju od onih u obližnjem ruralnom okolišu (Požari). Ovo je u skladu s prethodnim istraživanjem, u kojem je *P. nimpha* korištena kao organizam na kojem je mjerena asimetrija krila ovisno o okolišu u kojem živi (Mielczarek i sur., 2017), i potvrđuje činjenicu da je ovo vrsta korisna za biološki monitoring. S druge strane, niti za jedno okruženje u kojem je uhvaćena vrsta *P. dominula* nije utvrđena statistički značajna razlika u asimetriji, što govori o većoj otpornosti ove vrste na štetne



okolišne utjecaje. To bi moglo biti jedno od objašnjenja invazivnosti vrste *P. dominula*. Ova vrsta je originalno bila rasprostranjena u Europi i dijelovima Azije, a od 1970. se invazivno širi po sjevernoj Americi. Godine 2009. je primijećena čak i južnoj Africi, a u ovom trenutku je kao invazivna vrsta prisutna i u dvije regije Australije, na Novom Zelandu te u dijelovima južne Amerike (Howse i sur., 2020), čime je postala jedna od najraširenijih invazivnih vrsta kukaca.

Za razliku od malog opsega asimetrije kod zadružnih vrsta, solitarne ose imale su izraženiju asimetriju krila. Ose koje žive u urbanom području imale su veći opseg asimetrije krila u odnosu na one koje žive u ruralnom području. Ovim rezultatima djelomično je potvrđena prva hipoteza, odnosno, da pojavnost asimetrije krila ovisi o okolišu u kojem osa živi, što je bilo znatno izraženije u solitarnih osa.

Zadružne ose imale su manji opseg asimetrije na istom životnom području u odnosu na solitarne ose. Ovaj rezultat mogao bi se objasniti time što su ose koje žive u zajednici vjerojatno puno otpornije na štetne učinke okoliša (Jeanne, 1975) pa će im stoga opseg asimetrije krila biti manji. Solitarne ose koje samostalno moraju nadjačati štetan učinak okoliša imale su puno veći opseg asimetrije krila. Ovime je potvrđena i druga hipoteza istraživanja.

Mjerenje asimetrije krila različitih vrsta u istom okolišu i istih vrsta u različitom okolišu jedan je od glavnih doprinosa ovog istraživanja. Usporedbom rezultata istih vrsta na različitom staništu, vidljivo je kako su zadružne ose imale nešto veću mjeru asimetrije u urbanom okolišu. Zanimljiv rezultat je bio da su zadružne ose vrste *P. dominula* koje žive blizu deponija Karepovac, koji je smatran najnepovoljnijim okolišem u cijelom istraživanju, imale najmanju ukupnu mjeru asimetrije od svih zadružnih osa u ovom istraživanju. Ovaj rezultat također ukazuje na njihovu sposobnost da kao kolonija u velikoj mjeri nadjačaju većinu štetnih okolišnih učinaka (Jeanne, 1975).

Mogući problem u istraživanju bio je izmjeriti točan opseg asimetrije u populaciji. S obzirom da je okoliš već utjecao na odrasle uhvaćene jedinke, nije poznato jesu li one jedinke rođene s deformacijama prethodno već uginule zbog neotpornosti na štetne okolišne učinke. Zbog toga je moguće da je opseg asimetrije u prirodi puno veći nego opseg koji je zabilježen u ovom istraživanju. Kako bi se dobio pouzdani odgovor na ovo pitanje, bilo bi potrebno u laboratoriju uzgojiti koloniju osa i izlagati je kontroliranim štetnim učincima od samog rođenja ličinke do odrasle ose ili pratiti cijeli ciklus kod solitarnih osa.

Primjena ovakve metode gdje je ručno potrebno obilježiti svaki uzorak, postoji mogućnost da će prvi analizirani uzorci zbog nedostatka iskustva autora biti lošije ili nepreciznije obilježeni od kasnijih uzoraka. Rješenje ovog problema je nasumičan poredak svih uzoraka u programu. Tako nije bilo poznato o kojem se uzorku prilikom obilježavanja točaka radi pa je analiza rezultata bila preciznija.

Jedan od zanimljivijih rezultata istraživanja bila je utvrđena asimetrija kod zadružnih osa zaraženih parazitom *X. vesparum*. S obzirom da ovaj parazit počinje utjecati na osu prije metamorfoze (Manfredini i sur., 2007) uočena mjera odstupanja od ostalih srednjih vrijednosti asimetrije zadružnih osa je vrlo važna spoznaja. Zadružne ose s parazitom imale su srednju vrijednost asimetrije od 997,2 piksela dok su sve ostale zadružne ose imale vrijednosti do 500 piksela. Ovaj rezultat ukazuje da osim štetnih učinaka onečišćenja okoliša i endoparaziti mogu mijenjati simetriju krila osa.

Pogreška mjerenja bila je ključna za razumijevanje rezultata u ovom istraživanju. S obzirom na neka istraživanja koja su navodila važnost pogreške mjerenja i kako ona može značajno utjecati na rezultate



(Symanski i Redak, 2021), zaključeno je koliko je pogreška mjerenja važna u znanstvenim i stručnim istraživanjima te da je ovo važan element planiranja i provedbe istraživanja.

ZAKLJUČCI

Iz ovog istraživanja može se zaključiti sljedeće:

- ☞ nepovoljan učinak okoliša na istraženim lokalitetima nije doveo do izraženijeg opsega asimetrije krila u zadružnih osa u odnosu na lokalitete s povoljnijim uvjetima okoliša,
- ☞ solitarne ose imale su veći opseg asimetrije krila, a on je bio najizraženiji u urbanom okolišu,
- ☞ zadružne ose imale su manji opseg asimetrije krila od solitarnih osa,
- ☞ najveći opseg asimetrije krila imale su zadružne ose zaražene parazitom *X. vesparum* L.

LITERATURA

- Corballis M.C. 2020. Bilaterally Symmetrical: To Be or Not to Be?. *Symmetry* 12: 326.
- Hoffmann A.A., Woods R.E., Collins E., Wallin K., White A., McKenzie J.A. 2005. Wing shape versus asymmetry as an indicator of changing environmental conditions in insects. *Australian Journal of Entomology* 44: 233-243.
- Holló G. 2015. A new paradigm for animal symmetry. *Interface Focus* 5: 20150032.
- Howse M.W.F., Haywood J., Lester P.J. 2020. Bioclimatic Modelling Identifies Suitable Habitat for the Establishment of the Invasive European Paper Wasp (Hymenoptera: Vespidae) across the Southern Hemisphere. *Insects* 11: 784
- Jeanne R.L. 1975. The adaptiveness of social wasp nest architecture. *The Quarterly Review of Biology* 50: 267-287
- Manfredini F., Giusti F., Beani L., Dallai R. 2007. Developmental strategy of the endoparasite *Xenos vesparum* (strepsiptera, Insecta): host invasion and elusion of its defense reactions. 268: 588-601.
- Meunier J. 2015. Social immunity and the evolution of group living in insects. *Philos Trans R Soc Lond B Biol Sci.* 370: 20140102.
- Mielczarek A., Mielczarek Ł., Wojciechowicz-Żytka E. 2021. The influence of heavy metals on the shape and asymmetry of wings of female *Polistes nimpha* (Hymenoptera, Vespidae) living on contaminated sites. *Ecotoxicology* 30: 1854-1861.
- Owen R.E. 2012. Applications of Morphometrics to the Hymenoptera, Particularly Bumble Bees (*Bombus*, Apidae). U: *Morphometrics* (ur. Wahl C), ISBN: 978-953-51-0172-7, InTech, dostupno na adresi: https://www.researchgate.net/publication/221926644_Applications_of_Morphometrics_to_the_Hymenoptera_Particularly_Bumble_Bees_Bombus_Apidae, pristupljeno 14.1.2023.
- Palmer A.R. 1996. From symmetry to asymmetry: phylogenetic patterns of asymmetry variation in animals and their evolutionary significance. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* 93: 14279-14286.
- Polidori C., Pastor A., Jorge A., Pertusa J. 2018. Ultrastructural Alterations of Midgut Epithelium, But Not Greater Wing Fluctuating Asymmetry, in Paper Wasps (*Polistes dominula*) from Urban Environments. *Microsc Microanal* 24: 183-192.
- Rohlf J.F. 2015. The *tps* series of software. *Hystrix It J Mamm* 26: 9-12.
- Schmid-Egger C., van Achterberg C., Neumeyer R., Moriniere J., Schmidt S. 2017. Revision of the West Palaearctic *Polistes* Latreille, with the descriptions of two species – An integrative approach using morphology and DNA barcodes (Hymenoptera, Vespidae). *ZooKeys* 713: 53-112.
- Schmid-Egger C. 2004. Bestimmungsschlüssel für die deutschen Arten der solitären Faltenwespen (Hymenoptera: Eumeninae). *Deutscher Jugendbund für Naturbeobachtung* 106.
- Symanski C., Redak A.R. 2021. Does fluctuating asymmetry of wing traits capture relative environmental stress in a lepidopteran?. *Ecology and Evolution* 11: 1199-1213.
- van Beusekom P. 2013. Digital Photography with the low-power microscope and the use of software for extended focus, dostupno na adresi: <http://www.microscopy-uk.org.uk/maq/artjan14/pvb-digistereo.pdf>, pristupljeno 10.4.2023.

Ispitivanje toksičnosti troske iz dugog rata pomoću *Allium cepa* testa

Tončica Grubišić i Vita Medić, 2. razred

III gimnazija, Split
Mentor: Alujević Ines

SAŽETAK

Velike količine odbačene troske odložene na području Dugog Rata dugi niz godina čekaju na sanaciju, Dosadašnja istraživanja ovlaštenih institucija o štetnosti troske za zdravlje stanovnika dala su proturječne rezultate, Provedeno je istraživanje s ciljem utvrđivanja učinaka (toksičnosti) odložene troske pomoću *Allium cepa* testa, Na lukovicama vrste *Allium cepa* tretiranim otopinama s troskom istraživana je duljina korjenčića, mitotski indeks i morfološke promjene na korjenčićima, kromosomske aberacije (c-mitoza, interfazne vakuole, anafazni mostovi) te promjene na interfaznim jezgrama (interfazne vakuole), Rezultati su pokazali da troska ubrzava rast korjenčića u odnosu na negativnu kontrolu (vodu), dovodi do povećanja mitotskog indeksa, morfoloških promjena na korjenčićima i povećanja udjela mutiranih stanica s kromosomskim aberacijama i interfaznim vakuolama, Uočeno je da su mutacije, kao i mitotski indeks, izraženije u korjenčićima tretiranim otopinom s usitnjenom troskom, Ovo istraživanje je pokazalo da troska u testnim otopinama djeluje genotoksično i citotoksično na meristemske stanice korjenčića luka,

Ključne riječi: metaloprerađivačka industrija, sanacija otpada, mitotski indeks, mutacije

UVOD

Metaloprerađivačka industrija direktan je izvor emisije metala u okoliš. Kroz otpadne vode metali ulaze u vodotoke, a metalne čestice nastale tijekom proizvodnje raspršuju se u okoliš, cirkuliraju vjetrom, oborinama se ispiru i talože u tlu, bioakumuliraju u biljke te se biomagnificiraju kroz hranidbeni lanac (Knezović, 2016). U bivšoj tvornici *Dalmacija d,d* na području Dugog Rata odvijala se proizvodnja ferolegura tijekom druge polovine prošlog stoljeća. Nije postojao sustav praćenja stanja okoliša unatoč postojanju zakonskih propisa. Tvornica je započela s radom 1912. godine. Proizvodio se kalcijev karbid i povremeno ferosilicij. Od 1969, troska i sav materijal su bacani u more. Tvornica je zatvorena u rujnu 2000, godine i tek tada je prestalo odbacivanje troske i materijala od rušenih objekata. U razdoblju od 30 godina u more je odbačeno oko 1,670,000 m³ troske i materijala (Bakula, 2015) (slika 1).



Slika 1 Naslage troske (izvor: TVDR / Youtube / Screenshot)

Ferolegure koje su se proizvodile većinom su ferokromne te u manjoj količini feromanganske i silikomanganske. Odložena troska sastoji se pretežito od oksida, Tako su najčešći oksidi silicijev (IV)oksid, aluminijev oksid, magnezijev oksid, manganov(II)oksid, kalcijev oksid i kromov(III)oksid,



Tvornica je srušena 2009. godine kada je i izrađen Sanacijski program tvorničkog kruga bivše tvornice ferolegura u Dugom Ratu.

Radioaktivnost troske testirana je na dva uzorka. Utvrđeno je da je vrlo niska i da se materijal može bez ograničenja koristiti u graditeljstvu (Bakula, 2015). U svibnju 2014. godine dodatno su provedene analize na uzorcima troske i morskog sedimenta. Rezultati analiza pokazali su da je materijal na većini prostora inertan i da koncentracija kroma i aromatskih ugljikovodika na pojedinim lokacijama nije opasna. Ministarstvo zaštite okoliša 7. ožujka 2022. godine službeno je objavilo da u obrađenoj troski postoje toksični spojevi, potvrđeni još u svibnju 2011.

Ovlašteni laboratorij *Zavoda za javno zdravstvo Andrija Štampar* iz Zagreba u svibnju 2011. godine obavio je detaljnije uzorkovanje sve tri frakcije obrađene troske, neobrađene troske, morske vode iz laguna i direktno iz mora, kako bi se utvrdila koncentracija oksida kroma Cr(VI) i policikličkih aromatskih ugljikovodika (PAH). Analizom su potvrđene povećane koncentracije i kroma i PAH-ova u obrađenoj troski te je ocijenjeno je da se daljnje aktivnosti na sanaciji ne mogu provoditi (UTDR, 2014). Mnogi stanovnici Dugog Rata gašenjem tvornice ostali su bez radnih mjesta te su se usmjerili na turističku djelatnost kao izvor prihoda. Naslage troske u velikoj mjeri nagrđuju vizuru mjesta, uništavaju prirodna staništa i predstavljaju potencijalnu opasnost za stanovnike ne samo Dugog Rata nego i šireg područja.

Brojna istraživanja su provedena kako bi se dokazalo može li se troska iskoristiti kao građevinski materijal ili pojačivač sastava tla, Sandev (2016) je u svom istraživanju dokazala pozitivan učinak troske iz elektropeći na rast i fiziološke procese graha. Njenim dodavanjem u tlo povećala se dostupnost mineralnih tvari biljci, Taj postupak otpuštanja minerala je postupan i polagan te ne utječe na okoliš. No, jako je malo istraživanja koja bi pokazala utjecaj troske na tlo nakon višegodišnjeg korištenja ili njezinu potencijalnu fitotoksičnost (Sandev, 2016).

Više biljke, kao što je luk, odnosno *Allium cepa* L., koriste se za otkrivanje mutagenih tvari u okolišu, Leván je 1938. godine uveo *Allium cepa* test za praćenje mutacija u mitozu i učestalosti kromosomskih aberacija pod utjecajem kolhicina, Kasnije je test korišten za istraživanje mutagenosti otpadnih voda, pesticida i herbicida, onečišćenih tla, prehrambenih konzervansa, biljnih ekstrakata i dr. (Khanna i Sharma, 2013). *Allium cepa* L., odnosno crveni luk je dvogodišnja zeljasta biljka iz porodice sunovrata (Amaryllidaceae). Ima plitko, čupavo korijenje, Sama lukovica je zaobljena i spljoštena, obavijena crvenosmeđim ljuskama. Stabljika joj je šuplja i sadrži cjevaste, šuplje listove. Porijeklom je iz zapadne Azije (Umeljić, 2004). *Allium cepa*-test ima mnoge prednosti poput niske cijene, jednostavne izvedbe i dostupnosti lukovica tijekom cijele godine, malog broja dugačkih kromosoma ($2n = 16$) i raspoloživosti velikog broja stanica na jednom mikroskopskom preparatu što doprinosi pouzdanosti dobivenih rezultata (Kokotović i Radić Brkanac, 2019). Kao pokazatelji toksičnosti prate se makroskopske promjene kao što su rast korijena, oblik korijena i pojava listova na lukovici te mikroskopske promjene kao što su mitotska aktivnost (određivanje mitotskog indeksa) i pojava kromosomskih i mitotičkih nepravilnosti (Fiskesjö, 1988). Tipovi nepravilnosti u mitozu koji se mogu pojaviti su: lomovi, anafazni mostovi, sljepljivanje, c-mitotički, zaostali kromosomi i anafaze s multipolarnim vretenom. Anafazni mostovi pojavljuju se kao jedna ili dvije kromosomske strukture koje povezuje dvije grupe kromosoma



prilikom razdvajanja u anafazi, dok se kod lomova kromosoma dio kromosoma odvojio od ostatka kromosoma. C-mitoza očituje se kao maksimalno kondenzirani kromosomi porazbacani po stanici, a ljepljivi kromosomi se prepoznaju u metafazi kao nepravilno smotane strukture koje su i međusobno povezane (Cabaravdic, 2010).

Iako se radi o testnom biljnom organizmu, dobiveni rezultati mogu upozoravati na toksičnost istraživanog spoja i kod životinja, s obzirom da je oštećeni materijal DNA zajednički svim živim bićima (Tedesco i Laughinghouse, 2012). Istraživanja su pokazala da ovaj test jako dobro korelira s testovima koji se izvode na drugim živim organizmima, pa tako i sisavcima. U istraživanju koje je proveo Grant (1982), 76 % kemikalija koje su testirane *Allium cepa* testom bile su u korelaciji s onima na sisavcima. Fiskesjö (1985) je u svom istraživanju pokazao da je osjetljivost *Allium cepa* testa gotovo jednaka onoj u testovima na ljudskim limfocitima. Nakon toga su Rank i Nielsen (1994) pokazali 82 %-tnu korelaciju *Allium cepa* testa s testom kancerogenosti na glodavcima. U istraživanju citogenetskog učinka insekticida, Chauhan i sur. (1999) izvijestili su o dobroj korelaciji *Allium cepa* testa s testovima na koštanoj srži glodavaca i ljudskim limfocitima.

Cilj ovog istraživačkog projekta je utvrditi učinak (toksičnost) troske odložene na području Dugog Rata pomoću *Allium cepa* testa, ukazati na potrebu što hitnije sanacije koja je izostala zbog sporosti sustava te pridonijeti razumijevanju proturječnih rezultata koji su do sada objavljeni od nadležnih institucija na odloženoj troski.

Planiranim istraživanjem testirana je točnost sljedećih hipoteza:

- 1) Troska će imati pozitivan učinak na rast korjenčića u odnosu na negativnu kontrolu (korjenčiće tretirane vodom);
- 2) Na korjenčićima lukovica tretiranim otopinama s troskom biti će uočene makroskopske promjene (manja duljina korjenčića, promjena boje i oblika korjenčića);
- 3) Na korjenčićima lukovica tretiranim otopinama s troskom biti će uočljive mikroskopske promjene (kromosomske aberacije, vakuole u interfaznim jezgrama);
- 4) Na lukovicama tretiranim otopinom usitnjene troske biti će jače izražene promjene nego na lukovicama tretiranim otopinom troske u izvornom obliku (izraženije kromosomske aberacije i promjene u izgledu korjenčića).

METODE RADA

Područje uzorkovanja troske

Onečišćeno područje čini tvornički krug bivše tvornice ferolegura *Dalmacija d.d.* Nalazi se u samom naselju Dugi Rat na području općine Dugi Rat u Splitsko-dalmatinskoj županiji, Na zapadnoj i južnoj strani onečišćeno područje je omeđeno morem, na istočnoj strani državnim cestom (D8), a na sjevernoj strani građevinama koje su se nekada korištene za potrebe rada tvornice (Bakula. 2015). Uzorci troske skupljeni su s tog područja na kopnu 6.11.2022. (slika 2 i slika 3), pri čemu su zbog predostrožnosti korištene rukavice i zaštitne maske. Uzorci troske skupljeni su s dubine oko 30 cm te je materijal pohranjen u zatvorenu posudu.



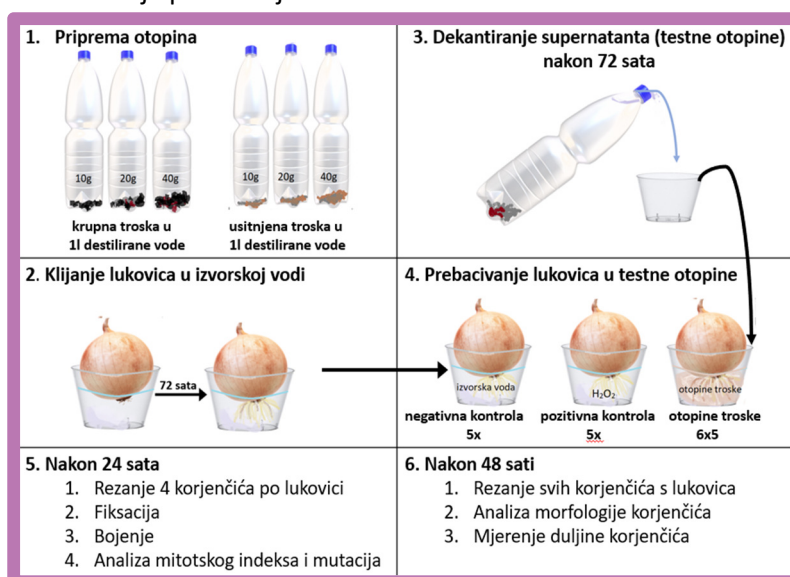
Slika 2 Mjesto uzorkovanja označeno žutim krugom (Google Earth)



Slika 3 Naslage troske na području uzorkovanja

Plan istraživanja

Sažeti prikaz plana istraživanja prikazan je na slici 4.



Slika 4 Plan istraživanja

Allium cepa-test – inhibicija rasta korjenčića, mitotski indeks i kromosomske nepravilnosti

Inhibicija rasta korjenčića luka kao i promjene u morfologiji samih korjenčića korišteni su kao pokazatelji ukupne toksičnosti uzoraka. Korišteno je 40 lukovica kojima su skalpelom odstranjeni suhi korjenčići. Svaka je lukovica stavljena na vrh zasebne plastične čašice (volumena 100 ml) te bazom uronjena u 50 mL flaširane izvorske vode (Aquaviva). Lukovice su postavljene na tamno mjesto. Praćen je rast korjenčića dok nisu postigli duljinu oko 2 cm.

Dio troske je usitnjen metalnim čekićem i prosijan pomoću finog sita uz korištenje rukavica i zaštitnih maski. Otopine su pripravljene dodavanjem 10, 20 i 40 g troske u izvornom obliku (u kojem je skupljena) u 1 L destilirane vode te 10, 20 i 40 g usitnjene troske u 1 L destilirane vode. Troska je teško topiva te su smjese odstajale 72 h uz povremeno miješanje nakon čega su dekantirani supernatanti koji su poslužili kao testne otopine.

Po 5 lukovica prebačeno je u plastične čašice s 100 mL otopine za svaku od 6 otopina s troskom. po 5 lukovica u čašice s izvorskom vodom kao negativnom kontrolom te 5 lukovica u čašice s 300 mM



vodikovim peroksidom kao pozitivnom kontrolom (njime su se koristili i Radić i sur. (2010) u istraživanju genotoksičnosti otpadnih voda). Nakon 24 h korjenčići su isprani pod vodom i izrezano je 4 korjenčića po lukovici (slika 4).

Korjenčići su fiksirani u mješavini 96 %-tnog etanola i ledene octene kiseline u omjeru 3:1 (24 h) kako bi se zaustavila dioba stanica. Nakon 24 h fiksacije, korjenčići su izvađeni iz fiksativa i prebačeni u 70 %-tni etanol u kojem su čuvani na temperaturi od 4 °C do korištenja. Prije same analize korjenčići su omekšani u 1 M HCl (10 min), isprani destiliranom vodom te obojeni 1 %-tnom otopinom aceto-karmina (20 min). Pri izradi preparata, otkinuti vršni dijelovi korjenčića (intezivno obojana zona primarnog meristema) stavljeni su na predmetno stakalce u kap aceto-karmina te macerirani staklenim štapićem. Macerirani korjenčići prekriveni su pokrovnicom i laganim pritiskom zgnječeni. Predmetna i pokrovna stakalca prethodno su očišćena u etanolu. Po dva vrška korjenčića sa svake lukovice korištena su za izradu jednog mikroskopskog preparata. Za mikroskopiranje i fotografiranje preparata korišten je digitalni binokularni mikroskop B-150D-BRPL s kamerom. Na svakom mikroskopskom preparatu prebrojano je 250 stanica, tj. 500 stanica po lukovici odnosno 2500 po tretmanu za kromosomske aberacije i mitotski indeks. Mitotski indeks izražava se kao omjer između broja stanica u mitozu i ukupnog broja stanica. Moguće ga je izračunati prema izrazu:

$$\text{Mitotski indeks} = \frac{(P + M + A + T)}{N} \cdot 100\%$$

u kojem je (P+M+A+T) suma svih stanica u profazi (P), metafazi (M), anafazi (A) i telofazi (T), a N je ukupan broj stanica. Stanice su brojane pregledom cijelog vidnog polja mikroskopa pri povećanju 1000 puta, pomicanjem preparata s lijeva na desno, pazeći pritom da ne dolazi do dvostrukog brojanja (Vareško, 2017).

Inhibicija rasta korjenčića luka praćena je nakon 72 h rasta u testnim otopinama. Duljina korjenčića (5 lukovica za pojedini uzorak otopine troske) izmjerena je u milimetrima (mm) pomičnom mjerkom MEBA Inoxydoble uz upotrebu ručne lupe (povećanje 10 x) nakon što su korjenčići odrezani pri bazi lukovice te je izračunata prosječna vrijednost duljine korjenčića po tretmanu.

Mutacije koje su praćene uključuju kromosomske aberacije (anafazni mostovi, lomovi kromosoma, c-mitotza, ljepljivi kromosomi) te promjene u interfaznim jezgrama (vakuole). Kromosomske aberacije određene su analizom preparata pod mikroskopom. Rezultat je izražen kao udio kromosomskih aberacija u ukupnom broju izbrojanih stanica po tretmanu (2500).

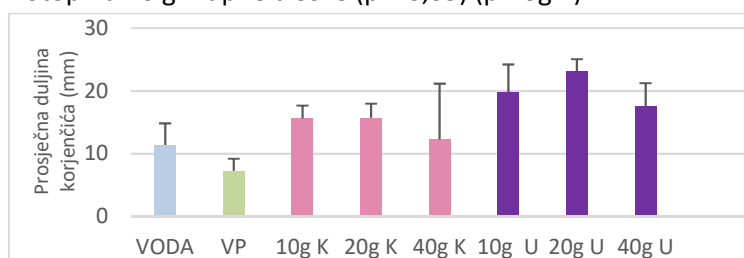
Testirano je postoji li statistički značajna razlika u mitotskom indeksu, duljini korjenčića, broju/tipu kromosomskih aberacija i morfologiji (čvrstoća, boja i debljina korjenčića) između tretmana (negativna kontrola, pozitivna kontrola i tri tretmana s različitim koncentracijama troske). U statističkoj analizi korištene su standardne devijacije za procjenu odstupanja od srednje vrijednosti, a statistička značajnost utvrđena ANOVA testom uz pomoć mrežnog statističkog kalkulatora (<https://datatab.net>, 2023). Radi utvrđivanja statistički značajne razlike između svakog od parova tretmana korišten je Bonfferoni post-hoc test. Ukoliko je P vrijednost (engl. probability – vjerojatnost) manja od 0,05 (što je

postavljeno kao granica značajnosti), rezultat se smatra statistički značajnim. To znači da je vjerojatnost da je rezultat slučajan manja od 5 %, Ukoliko je P vrijednost veća od 0,05 rezultat se ne smatra statistički značajnim.

REZULTATI I RASPRAVA

Prosječna duljina korjenčića

Slikom 5 prikazane su prosječne duljine korjenčića lukovica izmjerene nakon tretmana otopinama troske u trajanju od 48 h. Zabilježeno je da su korjenčići izloženi svim testnim otopinama s troskom imali veće prosječne duljine u odnosu na pozitivnu i negativnu kontrolu. Statistički značajna razlika u duljini utvrđena je za korjenčiće iz otopine 20 g usitnjene troske u odnosu na pozitivnu kontrolu, negativnu kontrolu i otopinu 40 g krupne troske ($p < 0,05$) (prilog 1).



Slika 5 Prosječna duljina korjenčića (mm) nakon 48 h tretmana: vodom – negativna kontrola, VP – vodikovim peroksidom – pozitivna kontrola, K – krupnom troskom, U – usitnjenom troskom), Standardne devijacije su prikazane stupićima pogreške.

Razlike u duljini i izgledu korjenčića u otopinama krupne troske u odnosu na negativnu i pozitivnu kontrolu prikazane su slikom 6.



Slika 6 Usporedba duljine korjenčića i morfologije kod lukovica tretiranih redom s: H_2O , H_2O_2 , (KT - krupna troska) KT 10 g, KT 20 g, KT 40 g

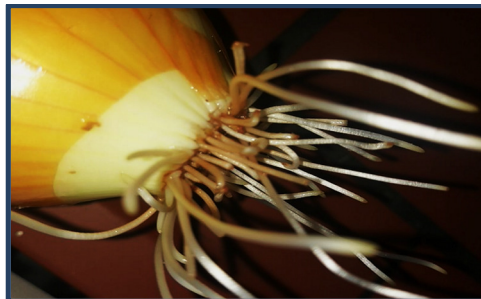
Razlike u duljini i izgledu korjenčića u otopinama usitnjene troske u odnosu na negativnu i pozitivnu kontrolu prikazane su slikom 7.



Slika 7 Usporedba duljine korjenčića i morfologije kod lukovica tretiranih redom s: H_2O , H_2O_2 , (UT-usitnjena troska) UT 10 g, UT 20 g, UT 40 g

Uočena je promjena u morfologiji korjenčića koji su bili izloženi trosci u odnosu na one koji su bili u vodi. Korjenčići na lukovici u tretmanu s krupnom troskom dijelom su bili manji i tamniji, a neki su imali i savijene vrhove. Na nekima su bile prisutne i crne točke. Na korjenčićima koji su bili izloženi otopini

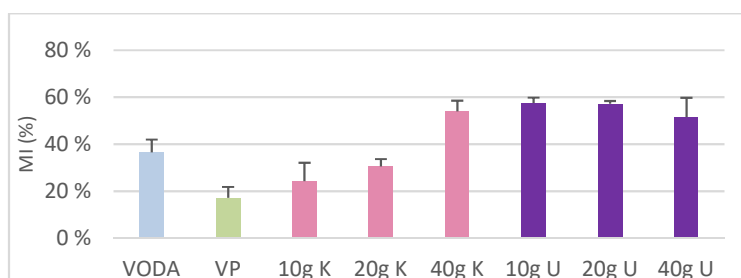
usitnjene troske također su neki bili tamne boje, na malim korjenčićima bili su savijeni vrhovi, ali uočeno je da su dulji korjenčići svijetli i dulji od korjenčića u vodi (slika 8).



Slika 8 Morfološke promjene na korjenčićima lukovica tretiranih usitnjenom troskom

Mitotski indeks

Nakon prebrojavanja stanica, na mikroskopskim preparatima utvrđen je udio stanica u mitozu u odnosu na ukupan broj stanica za različite tretmane te je izračunat mitotski indeks. Rezultati su prikazani slikom 9.

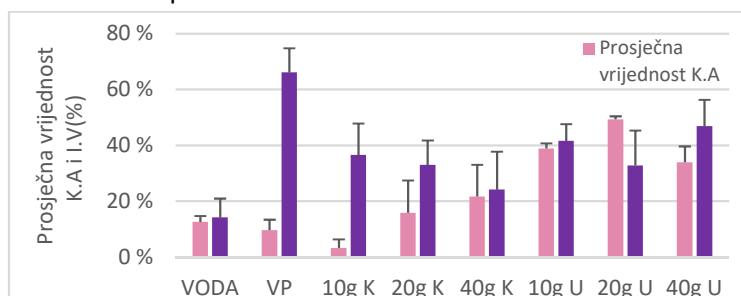


Slika 9 Mitotski indeks korjenčića luka ovisno o tretmanima; VODOM – negativna kontrola, VP – vodikovim peroksidom (pozitivna kontrola), K – krupnom troskom, U – usitnjenom troskom), Standardne devijacije su prikazane stupićima pogreške.

Na slici 9 je vidljivo da su tretmani s usitnjenom troskom i 40 g krupne troske imali značajno veće mitotske indekse u odnosu na kontrolne otopine i tretmane s 10 g i 20 g krupne troske ($p < 0,0001$).

Kromosomske aberacije i interfazne vakuole

Kromosomske aberacije (anafazni mostovi, lomovi kromosoma, c-mitoza, ljepljivi kromosomi i vakuole u profazi) i interfazne vakuole su prvo uočene pri povećanju mikroskopa 400X, a potom su promatrane pri povećanju 1000X. Rezultat je izražen kao udio stanica s mutacijama i u odnosu na ukupan broj stanica. Rezultati su prikazani slikom 10.



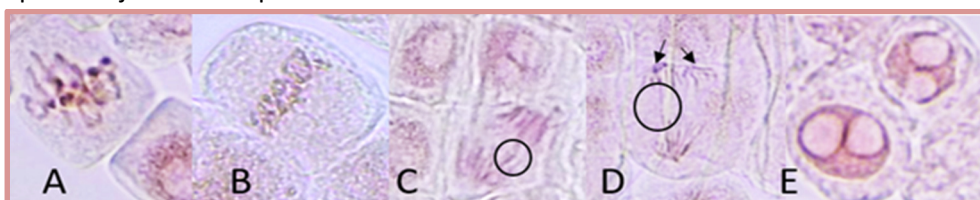
Slika 10 Prikaz prosječnih vrijednosti kromosomskih aberacija i interfaznih vakuola u jezgrama izražen u postocima (K,A, I,V – kromosomske aberacije, I,V – interfazne vakuole, VODA – negativna kontrola, VP – vodikov peroksid (pozitivna kontrola), K – krupna troska, U – usitnjena troska)

Iz slike 10 je vidljivo da su testne otopine s usitnjenom troskom izazvale najviše kromosomskih aberacija. Najveći negativni učinak pokazuje tretman s 20 g usitnjene troske (u usporedbi s pozitivnom i negativnom kontrolom) ($p < 0,0001$). Pojava interfaznih vakuola najčešća je kod pozitivne kontrole. Statistički značajni udio interfaznih vakuola u odnosu na negativnu kontrolu pokazuju tretmani s 10 g usitnjene troske ($p = 0,0008$), 40 g usitnjene troske ($p = 0,0003$) te 10 g krupne troske ($p = 0,02$). Tijek normalne diobe sa svim fazama diobe prikazan je slikom 11.



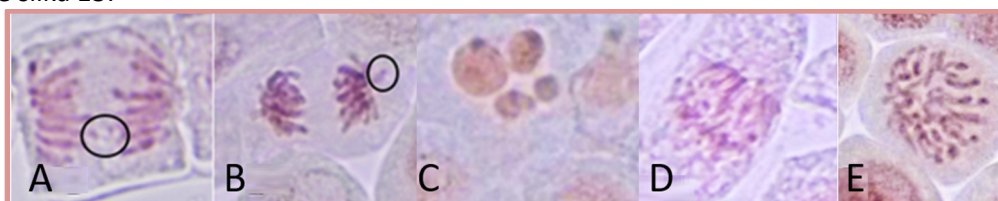
Slika 11 Normalne faze diobe u stanicama *Allium cepa* L, ($2n=16$), A – profaza, B – metafaza, C – anafaza, D – telofaza (povećanje 1000x)

Različite mutacije uočene u stanicama *A. cepa* pri tretmanu krupnom troskom 10 g/L prikazane su na slici 12 pri povećanju mikroskopa 1000X.



Slika 12 Mutacije u stanicama *Allium cepa* L. pri tretmanu krupnom troskom 10 g/L : A – slijepljeni kromosomi u anafazi, B – slijepljeni kromosomi u metafazi C – anafazni most, D – anafazni most i multipolarno diobeno vreteno, E – interfazne vakuole u jezgri (povećanje 1000x)

U stanicama *A. cepa* pri ostalim tretmanima uz mutacije prikazane na slici 12 uočene su i mutacije koje prikazuje slika 13.



Slika 13 Mutacije u stanicama *Allium cepa* L, pri tretmanu usitnjenom troskom 10 g/L: A i B – anafaze s fragmentiranim kromosomom, pri tretmanu krupnom troskom 20 g/L: C – segmentirane interfazne jezgre, pri tretmanu krupnom troskom 40 g/L : D – stanica s dvostrukom metafazom, E – c-mitoza (povećanje 1000x)

Cilj ovog istraživačkog projekta bio je utvrditi učinak (toksičnost) troske odložene na području Dugog Rata pomoću *Allium cepa* testa. Sanacija tog područja koja je predviđala obradu troske i njenog iskorištavanja kao građevinskog materijala je zaustavljena jer su u obrađenoj (usitnjenj) troski potvrđene povećane koncentracije kroma i policikličkih aromatskih ugljikovodika (UTDR, 2014).

Istražen je utjecaj troske u različitim testnim otopinama. Postavljene hipoteze su bile da će troska u odnosu na negativnu kontrolu zbog svog mineralnog sastava imati pozitivan učinak na rast korjenčića (hipoteza 1). Prosječne duljine korjenčića iz vode (10 mm) koja je služila kao negativna kontrola izmjerene u ovom istraživanju (slika 5) bile su manje od duljina izmjerenih u istraživačkom radu Vareško (2017) (oko 40 mm). Dulje korjenčiće (53 mm) su izmjerili i Radić i sur. (2010). Prosječne duljine korjenčića (7,3 mm) iz otopine vodikovog peroksida (pozitivna kontrola) također su manje u odnosu na one u istraživačkom radu Vareško (2017) (17 mm). Razlika moguće proizlazi iz činjenice da su korištene



lukovice različite starosti i dobavljača te flaširana izvorska voda različitog proizvođača koja je korištena za početno klijanje te kao negativna kontrola. Za razliku od rezultata koje je dobila Vareško (2017) u istraživanju mutagenosti antiperspiranta i dezodoransa na korjenčićima luka gdje su testne otopine inhibirale rast korjenčića luka, testne otopine troske su uzrokovale ubrzan rast korjenčića. Prosječna duljina korjenčića u otopini krupne troske ne pokazuje statistički značajno odstupanje u odnosu na negativnu kontrolu, i granično odstupa od pozitivne kontrole ($p = 0,056 - 0,062$) (prilog 1). Statistički značajnu razliku u duljini pokazuje korjenčići iz otopine 20 g usitnjene troske u odnosu na pozitivnu kontrolu, negativnu kontrolu i otopinu 40 g krupne troske ($p < 0,05$) (prilog 1). Time je potvrđena hipoteza 1 u kojoj je pretpostavljeno djelovanje troske kao mineralnog gnojiva. Sandev (2016) je u svom istraživanju također utvrdila da elektropečna troska u količini 10 i 20 g po kg supstrata poboljšava rast graha (visina, broj listova, broj mahuna, prinos mase suhe tvari) neovisno o supstratu.

Očitovanje negativnog djelovanja troske očekivano je u promjenama boje i morfologije korjenčića te manje duljine korjenčića (hipoteza 2).

Promijenjena morfologija korjenčića uočena je u svim testnim otopinama. Izraženije su promjene bile vidljive na korjenčićima testiranim u otopinama usitnjene troske te u otopini 40 g krupne troske (slika 8). Troska nije negativno djelovala na duljinu korjenčića koji su svim testnim otopinama bili dulji u odnosu na negativnu kontrolu (slika 5).

Pretpostavljeno je i da će kromosomske aberacije i interfazne vakuole biti mnogobrojnije u korjenčićima luka tretiranim troskom nego u negativnoj kontroli (hipoteza 3) te da će ih biti više u tretmanu otopinom usitnjene troske u usporedbi s otopinom troske u izvornom obliku (hipoteza 4). Mitotski indeks (MI) u vodi kao i negativnoj kontroli iznosio je 36,57 %, dok se u radovima drugih istraživača navode MI od 13 % (Sutan, 2014) pa sve do 35 % (Sreeranjini i Siril, 2011). MI pozitivne kontrole (H_2O_2) je znatno manji (17,35%) kao i u istraživanju koje su proveli Vareško (2017) te Radić i sur. (2010). Značajan porast duljine korjenčića je u pozitivnoj korelaciji s velikim brojem dioba odnosno visokim MI koji je najveći u otopinama usitnjene troske (slika 9). Povećanje MI upućuje na djelovanje troske kao umjetnog gnojiva (Sandev, 2016). Međutim, značajno je veći u odnosu na negativnu kontrolu ($p < 0,00001$) (prilog 1). MI veći od onoga u negativnoj kontroli upućuje na nepravilnu proliferaciju, a može značiti i stvaranje tumora (Hoshina, 2002). Vrijednost MI pada u testnim otopinama s najviše usitnjene troske (40 g) prema onima s 20 g i 10 g usitnjene troske. Ti rezultati se ponovno poklapaju s istraživanjem koje je provela Sandev (2016).

U otopinama troske zabilježen je veliki broj kromosomskih aberacija (KA) (slika 10). Postotak KA u negativnoj kontroli (12,58 %) i pozitivnoj kontroli (9,64 %) značajno je različit od udjela KA u usitnjenj trosci (u prosjeku 40 %) što je u korelaciji sa visokim mitotskim indeksom. U svim testnim otopinama najčešća je bila pojava slijepljenih metafaznih kromosoma (slike 12 i 13). Oni se prepoznaju u metafazi kao nepravilno smotane strukture koje su međusobno povezane, a znak su toksičnog djelovanja na organizaciju kromatina zbog utjecaja na histonske bjelančevine (Radić i sur, 2010). Uočeni su i anafazni mostovi koji se pojavljuju kao jedna ili dvije kromosomske strukture koje povezuju dvije grupe kromosoma prilikom razdvajanja u anafazi kao rezultat nepotpunog odvajanja kromatida



nekoj kromosoma (Cabaravdic, 2010). U testnim otopinama prepoznate su i c-mitoze koje se očituju se kao maksimalno kondenzirani kromosomi porazbacani po stanicama i nastaju kao posljedica štetnog djelovanja na diobeno vreteno (Radić i sur, 2010). Fiskesjö (1981) navodi u svom istraživanju da različiti ioni metala poput bakra, nikla, kadmija, berilija, aluminija, mangana i litija izazivaju aberacije poput c-metafaze. S obzirom da se u sastavu troske navode oksidi kroma i drugih metala (UTDR, 2014) vjerojatno je da su štete nastale na stanicama rezultat njihova djelovanja.

Rezultati pokazuju da je visoki udio interfaznih vakuola u testnim otopinama troske (slika 10). Vakuole u jezgrama zabilježene su u 31,23 % prebrojanih stanica iz otopina krupne troske i 40,4 % stanica iz otopina usitnjene troske što statistički značajno odstupa i od negativne (14,19 %) i pozitivne kontrole (66,08 %). Manji udio interfaznih vakuola u odnosu na pozitivnu kontrolu može se povezati s velikom razlikom u mitotskom indeksu. Zbog velikog mitotskog indeksa u testnim otopinama manji se broj stanica nalazi u interfazi, no u većini stanica mogu se uočiti vakuole u jezgrama. Pojavu interfaznih vakuola na korjenčićima luka pod utjecajem vodikovog peroksida u svom su radu opisali Sreeranjini i Siril (2011).

Pojava mutacija u kontrolnoj otopini (flaširana izvorska voda) nije očekivana. Vodovodna voda je odbačena kao kontrolna otopina zbog prisustva klora koji može djelovati te je iz tog razloga odabrana izvorska voda Aquaviva. Uzrok pojave mutacija moguće je povezati s plastičnom ambalažom, nepravilnim skladištenjem ili mogućim tretmanom lukovica (iako su nabavljene iz organskog uzgoja). Prilikom određivanja mutacija, razlikovanja interfaze i profaze koje su kod nekih manje kvalitetno pripremljenih preparata slično izgledale postoji mogućnost pogreške jer je analiza rađena bez pomoći stručnjaka iz tog područja. Takvi preparati u cilju smanjenja pogreške su dva puta prebrojani.

Ovim je istraživanjem potvrđena pretpostavka o citotoksičnosti i genotoksičnosti troske što se očituje kroz povećanje rasta korjenčića i povećane učestalosti dioba te pojavu mutacija i interfaznih vakuola čime su potvrđene hipoteze 1, 3 i 4 i dijelom hipoteza 2 koja predviđa promjene u morfologiji korjenčića. U svom istraživanju procjene toksičnosti rijeke Save, Kokotović (2019) je utvrdila da uzorci vode prikupljeni na nekim lokacijama nisu inhibirali rast korjenčića luka, no pokazali su se genotoksičnim, a neki i citotoksičnim, što se poklapa s rezultatima našeg istraživanja. Toksičnost troske potvrđena *Allium cepa* testom ukazuje na to da svakodnevno udisanje čestica troske stanovnika Dugog Rata vjerojatno negativno utječe na njihovo zdravlje. Radi poboljšanja istraživanja trebalo bi skupiti više uzoraka troske s različitih dijelova odlagališta zbog heterogenosti troske, odrediti sastav uzorka, finije usitniti trosku radi preciznijih rezultata te istražiti utjecaj otopina s većim udjelima troske.

ZAKLJUČCI

Na osnovu provedenog istraživanja doneseni su zaključci:

- ☞ Troska ubrzava rast korjenčića luka.
- ☞ Prosječna duljina korjenčića najveća je u testnoj otopini 20 g usitnjene troske što korelira s najvišim mitotskim indeksom korjenčića iz iste otopine.
- ☞ Neki korjenčići iz testnih otopina pokazuju morfološke promjene u vidu savijenih vrhova, tamnih mrlja te su tamnije obojani.



- ☛ Velik je udio (40 %) kromosomskih aberacija utvrđen kod korjenčića koji su bili u testnim otopinama usitnjene troske.
- ☛ Visoki mitotski indeks korelira s velikim udjelom kromosomskih aberacija u testnim otopinama usitnjene troske.
- ☛ U testnim otopinama s najviše usitnjene troske (40 g) pada mitotski indeks i broj kromosomskih aberacija u odnosu na otopinu s 20 g usitnjene troske, a raste udio stanica s interfaznim vakuolama.
- ☛ Najveći udio stanica s interfaznim vakuolama imaju korjenčići iz testne otopine s 40 g usitnjene troske.
- ☛ Interfazne vakuole predstavljaju veći udio mutacija u otopinama krupne troske u odnosu na kromosomske aberacije.
- ☛ Troska u testnim otopinama djeluje genotoksično i citotoksično na meristemske stanice korjenčića luka.

LITERATURA

- Bakula M, 2015, Sanacijski program tvorničkog kruga bivše tvornice ferolegura u Dugom Ratu DVOKUT ECRO d.o.o, https://mingor.gov.hr/UserDocsImages/NASLOVNE%20FOTOGRAFIJE%20I%20KORI%20C5%A0TENI%20LOGOTIPOVI/doc/sanacijski_program.pdf, pristupljeno 20,10,2022,
- Cabaravdic M, 2010, Induction of chromosome aberrations in the *Allium cepa* test system caused by the exposure of cells to benzo(a)pyrene, *Med, Arch*, 64(4),
- Chauhan L,K,S,, Saxena P,N, i Gupta S,K, 1999, Cytogenetic effects of cypermethrin and fenvalerate on the root meristem cells of *Allium cepa*, *ScienceDirect*, <https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S0098847299000337>, pristupljeno: 20, 10, 2022,
- DATAtab Team, 2023, DATAtab: Online Statistics Calculator, DATAtab e,U, Graz, Austria, URL <https://datatab.net>, pristupljeno: 27, 1, 2023,
- Fiskesjö G,, 1981, *Allium* test on copper in drinking water, *Vatten* 37: 232–240,
- Fiskesjö G,, 1985, The *Allium* test as a standard in environmental monitoring, *Hereditas* 102: 99-112,
- Fiskesjö G,, 1988, The *Allium* test - an alternative in environmental studies: the relative toxicity of metal ions, *ScienceDirect*, <https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/0027510788900966>, pristupljeno: 20, 12, 2022,
- Grant W,F, 1982, Chromosome aberration assays in *Allium* , *ScienceDirect*, <https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/016511108290046X>, pristupljeno: 27, 1, 2023,
- Hoshina M, M, 2002, Evaluation of a possible contamination of the waters of the Claro River municipality of Rio Claro, part of the Corumbatai River basin, with the mutagenicity tests using *Allium cepa*, State University of Sao Paulo, Rio Claro, pristupljeno: 8, 3, 2023,
- Khanna N,, Sharma S, 2013, *Allium cepa* root chromosomal aberration assay: a review, *Indian J, Pharm, Biol, Res Vol*, 1 (3), pristupljeno: 8, 3, 2023,
- Knezović, Z, 2016, Studija utjecaja okoliša na sadržaj teških metala u mekoniju novorođenčadi Splitsko-dalmatinske županije, doktorska disertacija, Kemijsko tehnološki fakultet, Split,
- Kokotović, I,, Radić Brkanac, S, 2019, Primjena *Allium*-testa u nastavi biologije, <https://hrcak.srce.hr/file/345303>, pristupljeno: 20,10,2022,
- Radić S,, Stipaničev D,, Vujčić V,, Marijanović Rajčić M,, Širac S,, Pavalek-Kozlina B, 2010, The evaluation of surface and wastewater genotoxicity using the *Allium cepa* test, *Science of the Total Environment* 408: 1228-1233,
- Rank J,, Nielsen M, H, 1994, Evaluation of the *Allium* anaphase–telophase test in relation to genotoxicity screening of industrial wastewater, *National Library of Medicine*, <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/7507212/>, pristupljeno: 27, 1, 2023,
- Sandev, D, 2016, Utjecaj troske iz elektropeći na rast i fiziološke procese graha (*Phaseolus vulgaris* L.), Disertacija, Sveučilište u Zagrebu, Prirodoslovno-matematički fakultet <https://urn.nsk.hr/urn:nbn:hr:217:272466>, pristupljeno: 20,12,2022,
- Sreeranjini S,, Siril E, A, 2011, Evaluation of anti-genotoxicity of the leaf extracts, *Plant Soil Environ*, 57(5): 222–227,
- Șuțan A, N,, Popescu A,, Mihăescu C,, Soare L, C,, Marinescu M, V, 2014, Evaluation of cytotoxic and genotoxic potential of the fungicide ridomil in *Allium cepa* L, *Analele Stiint, Univ, Al, I, Cuza Iasi, Sect, II a, Biol, veget.*, 60(1): 5-12,



- Tedesco S, B,, Laughinghouse IV H, D, 2012, Bioindicator of genotoxicity: The *Allium cepa* test, IntechOpen, <https://www.intechopen.com/chapters/29315>, pristupljeno: 22, 10, 2022,
- TVDR 2013, The film Televizija Dugi Rat https://www.youtube.com/watch?v=__Wj5IROLdk, pristupljeno: 20,10,2022,
- UTDR 2014, Odgovor ministarstva na upit za informacijama o procesima na područje bivše tvornice Dalmacija Udruga "Tvornica" Dugi Rat, <http://tvornica-dugirat.hr/inner.html>, pristupljeno: 20,10,2022,
- Umeljić V, 2004, Crveni luk, U svijetu cvijeća i pčela: atlas medonosnog bilja, <https://www.plantea.com/hr/crveni-luk/>, pristupljeno: 20,10,2022,
- Vareško A, 2017, Ispitivanje mutagenosti antiperspiranta i dezodoransa na korjenčićima luka, Biozinalac, <https://www.hbd-sbc.hr/wp-content/uploads/2018/11/Biozinalac-br,-3-2017,,pdf>, pristupljeno: 20,10,2022,

PRILOZI

Prilog 1 Statistički značajne razlike po parovima tretmana (p -vrijednosti) (voda-negativna kontrola, VP- vodikov peroksid- pozitivna kontrola, U-usitnjena troska, K-kрупna troska)

Parovi tretmana	Statistički značajne razlike po parovima tretmana (p-vrijednosti)			
	Duljina korjenčića	Mitotski indeks	Kromosomske aberacije	Interfazne vakuole
10gU-10gK	0,7642366	0	0	0,9030748
20gK-10gK	1	0,5763431	0,068975	0,9991591
20gU-10gK	0,1207939	0	0	0,9988012
40gK-10gK	0,905201	0	0,0017194	0,5298087
40gU-10gK	0,9954021	0,0000001	0,0000003	0,7315995
VP-10gK	0,062236	0,4034518	0,7603486	0,0012618
voda-10gK	0,7458155	0,0160595	0,3243018	0,0254793
20gK-10gU	0,7886165	0,0000001	0,0000675	0,6075258
20gU-10gU	0,9036126	1	0,2086133	0,5874209
40gK-10gU	0,121924	0,9613229	0,0039013	0,0524192
40gU-10gU	0,9891519	0,6179223	0,92124	0,9999569
VP-10gU	0,0010663	0	0,0000009	0,0356385
voda-10gU	0,0585115	0,0000094	0,0000069	0,0008579
20gU-20gK	0,1322882	0,0000001	0,0000001	1
40gK-20gK	0,8888857	0,0000011	0,830302	0,8541243
40gU-20gK	0,9968817	0,0000089	0,0020945	0,3880177
VP-20gK	0,0562367	0,0068732	0,7901246	0,0002627
voda-20gK	0,7197541	0,6058981	0,9920324	0,0926145
40gK-20gU	0,0056908	0,9708254	0,0000028	0,8678593
40gU-20gU	0,4305667	0,652204	0,0134748	0,370356
VP-20gU	0,000029	0	0	0,0002402
voda-20gU	0,002277	0,000011	0	0,0990745
40gU-40gK	0,5020359	0,994309	0,0808069	0,02228
VP-40gK	0,5737155	0	0,0923762	0,000005
voda-40gK	0,9999699	0,0001919	0,3555369	0,7627504
VP-40gU	0,0104358	0	0,0000281	0,0808232
voda-40gU	0,3091227	0,0016094	0,0002224	0,000314
voda-VP	0,7792427	0,000041	0,9955713	0,0000001
		Statistički značajno p<0,05		
		Granično statistički značajno p=0,05		

RASPROSTRANJENOST I ZNAČAJKE NASELJA ENDEMSKE VRSET *FUCUS VIRSOIDES* J. AGARDH U NOVIGRADSKOM MORU

Mirna Šarić, 3. razred

Gimnazija Franje Petrića, Zadar

Mentor: *Nela Mendić*

SAŽETAK

Jadranski bračić (*Fucus virsoides* J. Agardh, 1868) strogo je zaštićena smeđa alga, endem Jadranskog mora. Njegova rasprostranjenost najbolje je zabilježena u sjevernom dijelu Jadrana, dok su podaci za ostatak Jadrana vrlo skromni. Kako se u današnje vrijeme ubrzano smanjuje biološka raznolikost, cilj je ovog istraživanja bilo bilježenje rasprostranjenosti i značajki naselja navedenog endema u Novigradskom moru. Isti je pronađen na devet od deset pregledanih lokacija s obilježjima koja karakteriziraju staništa bračića, a naselja su bila najbolje razvijena na polegnutim zaštićenim kamenitim obalama. Osim prisutnosti navedenog endema zabilježeni su i fizikalno-kemijski pokazatelji vode te specifični ekološki uvjeti u istraživanom staništu. Rezultati prikupljeni ovim istraživanjem ukazuju na to kako unatoč klimatskim promjenama i antropogenim pritiscima na jadransku obalu još uvijek postoje lokacije na kojima se nalaze dobro razvijena naselja jadranskog bračića, no kako bismo ih sačuvali potrebno ih je evidentirati te podizati svijest javnosti o ugroženosti ovog endema.

Ključne riječi: jadranski bračić; endem; kartiranje staništa; Natura 2000 područje

UVOD

Jadranski bračić (*Fucus virsoides* J. Agardh, 1868) smeđa je alga, endem Jadranskog mora. Strogo je zaštićena vrsta prema Prilogu I. Pravilnika o strogo zaštićenim vrstama (NN 144/13 i 73/16). Nastanjuje mediolitoralni pojas, odnosno moguće ga je pronaći u području plime i oseke. Linardić (1949) navodi kako gornju granicu pojasa rasprostranjenosti određuje najviša razina plime, dok donju granicu određuje najniža razina oseke, odnosno njegova vertikalna rasprostranjenost jasno je određena. Horizontalna rasprostranjenost ove alge ovisi o nagibu obale. Naime, što je obala položajna mediolitoralna zona bit će šira pa tako i stanište na kojem bračić živi (Linardić, 1949). U literaturi se mogu pronaći podaci kako su naselja jadranskog bračića najbolje razvijena na staništima s umjereno polegnutom kamenitom podlogom te na takvim staništima mogu činiti pojas širine i do dva metra (Battelli i Rindi, 2005).

Osim nagiba obale za rasprostranjenost bračića jako je bitan i supstrat na kojem se nalazi. S obzirom na to što je područje na kojem živi izloženo čestom prskanju valova, jadranski bračić naseljava čvrste podloge, najčešće vapnenačkog podrijetla, ali može se prihvatiti i za lapore kao i betonirane dijelove obale (Linardić, 1949). Život bračića u području plime i oseke znači da je izložen ekstremnim okolišnim uvjetima te je zbog toga morao razviti mnogobrojne prilagodbe. Najočitiji ekstremni uvjet kojem je ova alga izložena taj je da se svaki dan njena naselja nađu iznad razine mora, odnosno na suhom (Linardić, 1949). Navedeno jadranskog bračića izlaže ekstremnim uvjetima isušivanja, posebice za vrijeme vrućih ljetnih mjeseci te je zbog toga prekriven sa sluzi koja ga štiti od isušivanja (Božić, 2010).

Jadranski bračić vrsta je prilagođena na hladnije temperature morske vode koje obično vladaju od kraja jeseni, tijekom zime pa sve do ranog proljeća, stoga se on smatra mikroeuritermnom vrstom s optimumom pri nižim temperaturama, odnosno s optimalnom temperaturom za rast nižom od 15° C (Božić, 2010). Zbog navedenog je pred kraj zime i u proljeće vegetacija jadranskog bračića najbujnija te se bračić približava i vremenu rasplodivanja koje se događa tijekom proljeća, a nakon toga dolazi do propadanja jedinki čiji dijelovi gube svoju svježu smeđezelenu boju i blijede (žute). Također u tom



vremenu epifiti vrlo često obrastaju dijelove talusa zbog čega dolazi do njihova propadanja. Nakon ljetne stanke, u kasnu jesen jadranski bračić razvija mlade izbojke, odnosno započinje regeneraciju iz ostataka tijekom ljeta zakržljalih talusa (Linardić, 1949).

Prema toleranciji na raspon saliniteta, jadranskog bračića ubrajamo u eurihalnu vrstu s optimumom saliniteta bližom prosječnom minimumu nego maksimumu za Jadransko more (Linardić, 1949; Božić 2010). Linardić (1949) navodi kako na područjima na kojima s kopna pritječu znatne količine slatke vode (potoci, izvori), salinitet u mediolitoralnoj zoni može pasti do 21 ‰, što predstavlja već jako oslađenje i približavanje donjoj ekološkoj granici saliniteta koju bračić može podnijeti. Linardić (1949) navodi kako se jadranski bračić ne može pronaći na ušćima većih rijeka gdje se velike količine slatke vode slijevaju u more. U literaturi se mogu pronaći podaci o rasprostranjenosti bračića. Navodi se da je prisutan u sjevernom dijelu Jadrana (npr. Munda, 1993; Battelli 2010; Čelig, 2010; Gljušić, 2016; Orlando-Bonaca, 2013; Kučinar, 2014), kao i u Boki kotorskoj (Mračić, 2006) dok su podaci za ostatak Jadrana vrlo skromni.

Novigradsko more dio je ekološke mreže Natura 2000 kao područje značajno za očuvanje i ostvarivanje povoljnog stanja pojedinih divljih vrsta i njihovih staništa, kao i prirodnih stanišnih tipova (Natura 2000). Nastalo je preplavlivanjem ušća Zrmanje nakon otapanja ledenjaka i dizanja morske razine poslije zadnjeg ledenog doba. Novigradsko more duboko je uvučeni morski zaljev koji je dug u smjeru istok zapad 10 km. Širina u najširem dijelu iznosi 4,5 km, a ukupna površina 28,6 km². Novsko ždrilo na zapadnom dijelu povezuje Novigradsko more s Velebitskim kanalom, a na jugoistoku ga Karinsko ždrilo povezuje s Karinskim morem (HE, 2023). U Novigradsko more ulijeva se rijeka Zrmanja kao i drugi manji vodotoci. Kroz Karinsko ždrilo u Novigradsko more dotječe more iz Karinskog mora u koje se ulijevaju rječice Karišnica i Bijela. Zbog svega navedenog Novigradsko je more pod snažnim utjecajem površinskih i podzemnih voda. Najveći utjecaj ima rijeka Zrmanja koja u prosjeku svake godine donese 2 do 3 puta veći volumen vode nego što je volumen Novigradskog mora (Magaš, 1993). Ulijevanje slatke vode značajno djeluje na fizikalno-kemijska i biološka svojstva Novigradskog mora. Među ostalim zbog ulijevanja velikih količina slatke vode, koja je manje gustoće pa se zadržava na površini Novigradskog mora, salinitet na površini varira između 17,3 ‰ i 33,8 ‰, a u dubljim slojevima između 36,2 ‰ i 37,9 ‰. Temperatura Novigradskog mora kreće se u rasponu od 6,7 do 26,6 °C (Kršinić, 2017). Zbog velike količine hranjivih tvari koje se različitim vodotocima i ispiranjem s pošumljenih obala slijevaju u Novigradsko more ono je poznato po bogatstvu riba i školjkaša (Kršinić, 2017). U literaturi se također mogu pronaći davni podatci da je jadranski bračić zabilježen u Maslenici, odnosno na samom ulazu Novigradskog mora u Novsko ždrilo (Linardić, 1949) te navodi o uzorkovanju jadranskog bračića iz Novigradskog mora u svrhu provedbe istraživanja njegova kemijskog sastava (Banožić i sur., 2022; Cikoš i sur., 2022). Ipak do sada nije provedeno sustavno istraživanje o njegovoj rasprostranjenosti i značajkama u Novigradskom moru.

Potaknuti tvrdnjom različitih autora (Čelig, 2010; Battelli, 2010) kako je u novije vrijeme zabilježen nestanak jadranskog bračića u sjevernom Jadranu na više područja kao posljedice antropogenog djelovanja te nedostatkom aktualnih i detaljnijih podataka o rasprostranjenosti ove alge u Novigradskom moru odlučili smo provesti istraživanje prisutnosti naselja jadranskog bračića te njihovih obilježja u Novigradskom moru. Glavna je pretpostavka istraživanja, s obzirom na prije navedene literaturne podatke, dokazati kako na pojedinim dijelovima Novigradskog mora postoje naselja jadranskog bračića.

Cilj je istraživanja bio zabilježiti rasprostranjenost i značajke naselja te provesti kartiranje naselja jadranskog bračića u Novigradskom moru na izabranim lokacijama. U istraživanju se pokušalo utvrditi utjecaj vrste supstrata, nagiba i izgleda obale, izloženosti obale udarima valova, odnosno dominantnom vjetru na vertikalnu i horizontalnu rasprostranjenost bračića kao i na izgled i veličinu jedinki. Prikazan je i učinak antropogenog djelovanja (betoniranja obale) na rasprostranjenost, izgled naselja i izgled jedinki bračića. S obzirom na to da je istraživanje provedeno u vremenskom razdoblju od četiri mjeseca koji se podudaraju s vegetacijskim maksimumom istraživane vrste prikazane su i promjene koje se događaju na razini pojedinačnih jedinki jadranskog bračića u Novigradskom moru.

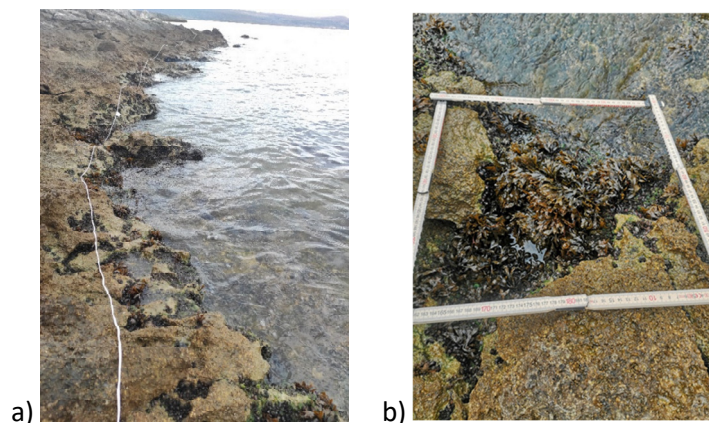
Pretpostavke provedenog istraživanja bile su:

1. U Novigradskom moru mogu se pronaći naselja jadranskog bračića.
2. Vrsta supstrata, nagib obale te izloženost udarima valova utječu na izgled naselja i veličinu jedinki jadranskog bračića.
3. Ekološki uvjeti u Novigradskom moru utječu na vrijeme vegetacijskog maksimuma jadranskog bračića.
4. Lokalno antropogeno djelovanje negativno utječe na rasprostranjenost jadranskog bračića.

METODE

Jedinke jadranskog bračića determinirane su prema detaljnom opisu vrste objavljenom u radu Linardića (1949), kao i fotografijama vrste dostupnim u radovima koje su objavili Čelig (2010) i Gljušić (2016). Istraživanje je provedeno u razdoblju od listopada 2022. godine do siječnja 2023. godine te je tijekom vremena provođenja istraživanja pregledano 10 lokacija na oblama Novigradskog mora koje po izgledu obale i vrsti supstrata odgovaraju lokacijama na kojima se mogu pronaći naselja bračića. Na svakoj od navedenih lokacija postavljen je transekt dužine od 100 do 200 metara (slika 1a). Dužina transeкта zavisila je o dostupnosti obale kao i od vrste supstrata koji čini mediolitoralnu zonu. Na transektima je bilježena prisutnost bračića, izgled naselja, nagib obale, vrste supstrata na kojoj se bračić nalazi, izloženost lokacije dominantnom vjetru (buri) i posljedičnim valovima te eventualno antropogeno djelovanje na obalu. Za fotografiranje jedinki i staništa korištena je kamera GoPro HERO10, a za procjenu nagiba obale korištena je aplikacija Libela na mobitelu Samsung Galaxy A30s.

Na svakoj od lokacija na kojoj su jedinke jadranskog bračića bile prisutne izabran je kvadrat dimenzija 20 × 20 centimetara na kojem je izmjereno 10 jedinki bračića (slika 1b).



Slika 1. Transekt postavljen na jednom od naselja jadranskog bračića u Novigradskom moru (a); kvadrat za mjerenje 20 × 20 cm (b)

Mjerenje je obavljeno ravnalom te se mjerila najveća udaljenost od supstrata do vrha lisnatog dijela alge. Pomoću dobivenih vrijednosti izračunata je prosječna dužina jedinki na svakoj od lokacija te je ista prikazana grafički pomoću Microsoft Excel programa. Na svim lokacijama zabilježena je horizontalna širina naselja te vertikalna visina na onim lokacijama na kojima je to bilo moguće. Prilikom provođenja istraživanja jedinke jadranskog bračića nisu se oštećivale niti izuzimale iz prirode, već su se samo bilježila opažanja i naselja bračića te fotografirale pojedinačne jedinke.

Naselja prema izgledu svrstana su u pet kategorija sukladno metodologiji koju je Gljuščić (2016) opisao u svom radu:

- kontinuirano naselje (Kategorija 5),
- kontinuirano do mozaično naselje (Kategorija 4),
- mozaično naselje (Kategorija 3),
- prorijeđeno do mozaično naselje (Kategorija 2),
- prorijeđeno naselje (Kategorija 1).

Sukladno metodologiji koju je u radu opisala Čelig (2010) zabilježena je izloženost lokacije, odnosno dijelova pojedine lokacije valovima te su sukladno izloženosti lokacije podijeljene u tri kategorije:

- zaštićena lokacija (ZL),
- poluizložena lokacija (PL),
- izložena lokacija (IL).

Prema vrsti supstrata lokacije su podijeljene u dvije kategorije:

- prirodan supstrat (PS),
- umjetan supstrat – betonirana obala (US).

Prema nagibu obale lokacije smo podijelili na:

- polegnute (od 0° do 20°) (P),
- umjereno polegnute (od 21° do 40°) (UP),
- umjereno strme (od 41° do 60°) (US),
- strme (od 61° do 90°) (S).

Predmet istraživanja bili su i fizikalno-kemijski pokazatelji morske vode u Novigradskom moru za vrijeme provođenja istraživanja. Salinitet i temperatura površinskog sloja Novigradskog mora određivala se pomoću refraktometra (Salinity Tester) (slika 2). Svi izmjereni fizikalno-kemijski parametri površinskog sloja morske vode uzete za vrijeme provođenja istraživanja u Novigradskom moru prikazani su tablično.



Slika 2. Refraktometar korišten u istraživanju za određivanje saliniteta i temperature površinskog sloja Novigradskog mora

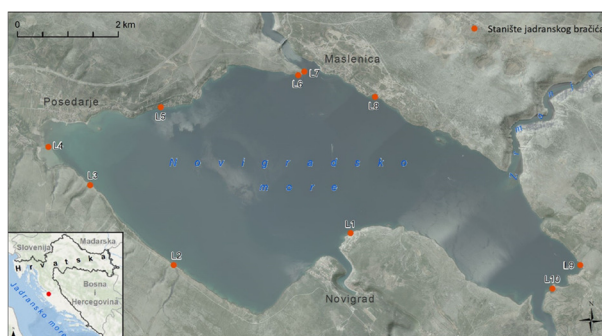
Geografske koordinate lokacija (tablica 1) na kojima se nalaze naselja bračića, odnosno početna i krajnja točka svakog transekt, zabilježene su mobilnim telefonom koji ima mogućnost bilježenja svoje pozicije pomoću višestrukog sistema satelitske navigacije (GPS, GLONASS, Galileo). Tako prikupljene geografske koordinate transformirane su u službenu HTRS 96/TM projekciju te su pomoću ARCGIS programa prikazane na karti. Tablica 1. u WGS84 projekciji i projekcijskom koordinatnom referentnom sustavu Republike Hrvatske (HTRS96/TM) prikazuje početne i krajnje geografske koordinate svakog pregledanog transekt.

Tablica 1. Geografske koordinate lokacija na kojima su istraživana naselja jadranskog bračića

	Početne koordinate WGS84	Završne koordinate WGS84	Početne koordinate HTRS96	Završne koordinate HTRS96
Lokacija 1	Širina: 44,190367° Dužina: 15,546977°	Širina: 44,191297° Dužina: 15,549130°	Y: 423813,99 X: 4894927,01	Y: 423987,3 X: 4895028,34
Lokacija 2	Širina: 44,185002° Dužina: 15,504235°	Širina: 44,18505289° Dužina: 15,505289°	Y: 420389,91 X: 4894371,44	Y: 420474,24 X: 4894376,07
Lokacija 3	Širina: 44,199420° Dužina: 15,483327°	Širina: 44,198731° Dužina: 15,484134°	Y: 418738,15 X: 4895993,82	Y: 418801,71 X: 4895961,47
Lokacija 4	Širina: 44,205645° Dužina: 15,472260°	Širina: 44,295662° Dužina: 15,472935°	Y: 417862,22 X: 4896696,45	Y: 417916,19 X: 4896697,61
Lokacija 5	Širina: 44,212925° Dužina: 15,500050°	Širina: 44,213022° Dužina: 15,501292°	Y: 420129,03 X: 4897477,46	Y: 420192,45 X: 4897487,47
Lokacija 6	Širina: 44,219563° Dužina: 15,534788°	Širina: 44,219171° Dužina: 15,536014°	Y: 422876,93 X: 4898117,56	Y: 422975,14 X: 4898235,23
Lokacija 7	Širina: 44,219563° Dužina: 15,536534°	Širina: 44,220046° Dužina: 15,535479°	Y: 423017,2 X: 4898180,58	Y: 422933,53 X: 4898235,23
Lokacija 8	Širina: 44,215652° Dužina: 15,553503°	Širina: 44,215299° Dužina: 15,554301°	Y: 424368,05 X: 4897730,28	Y: 424431,85 X: 4897690,32
Lokacija 9	Širina: 44,186499° Dužina: 15,604339°	Širina: 44,185278° Dužina: 15,605819°	Y: 428394,92 X: 4894445,68	Y: 428511,77 X: 4894308,74
Lokacija 10	Širina: 44,181683° Dužina: 15,598548°	Širina: 44,180940° Dužina: 15,598792°	Y: 427926,08 X: 4893915,66	Y: 427944,69 X: 4893832,9

REZULTATI

Od 10 pregledanih lokacija (slika 3) na njih 9 zabilježena je prisutnost jedinki bračića. Samo na lokaciji L6 jedinke bračića nisu bile prisutne. U nastavku donosimo detaljan opis lokacija i zabilježeno stanje na njima.



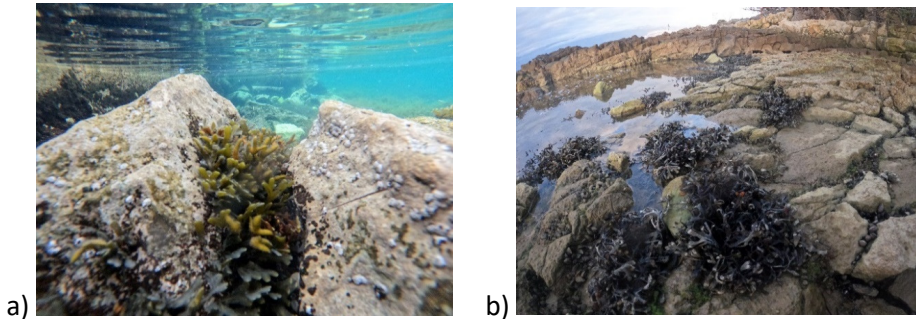
Slika 3. Lokacije istraživanja jadranskog bračića u Novigradskom moru

Pojedinačni prikaz lokacija

Lokacija 1.

Ova lokacija nalazi se u mjestu Novigrad, istočno od glavne plaže. Dužina pregledanog transekt bila je 200 m, a naselje bračića možemo svrstati u kategoriju 3 (mozaično naselje). U prvom dijelu transekt izgrađena je betonska obala. U tom se dijelu jedinke bračića nalaze između ili u pukotinama stijena udaljenih do 2,5 metra od obale dok se na okomitom dijelu betonirane obale ne nalaze (slika 4a). U dijelu lokacije koji nije betoniran jedinke se nalaze u cijelom mediolitoralnom prostoru (slika 4b).

Lokacija je okrenuta prema sjeverozapadu te je izložena udarima bure pa je stoga ubrajamo u kategoriju izložene lokacije (IL), a prema nagibu u polegnute lokacije (P).



Slika 4. Jedinke bračića, između stijena (a); jedinke bračića prisutne u cijeloj mediolitoralnoj zoni (b)

Lokacija 2

Lokacija 2 nalazi se na južnoj obali Novigradskog mora, okrenuta je prema sjeveru te je u potpunosti izložena udarima bure te je stoga svrstavamo u kategoriju izloženih lokacija (IL). Obala je polegnuta (P), a najvećim dijelom sačinjena je od oblutaka i većih kamenih blokova te poneke hridi koja viri iz mora. Pregledan je transekt u dužini od 100 metara. Jedinke bračića uočene su samo na četiri mjesta, stoga naselje možemo svrstati u kategoriju 1. prorijeđeno naselje. Uočene jedinke nalazile su se prihvaćene na manjim kamenim blokovima koji su se nalazili s južne strane manjih hridi (slika 5).



Slika 5. Jedinka jadranskog bračića na kamenom bloku na lokaciji 5

Lokacija 3

Ova lokacija nalazi se na jugozapadnom dijelu obale Novigradskog mora, okrenuta je prema sjeveru i izložena udarima bure (kategorija IL), a po nagibu obale svrstavamo je u polegnute lokacije (P), odnosno po svojim karakteristikama ova lokacija slična je lokaciji 2. Jedina je razlika to što je na ovoj lokaciji prisutan veći broj hridi (slika 6).



Slika 6. Položena obala s većim brojem hridi i kamenih blokova na lokaciji 3

Pregledan je transekt u dužini 100 metara i prema prostornoj rasprostranjenosti naselje možemo ubrojiti u kategoriju 2 (prorijeđeno do mozaično naselje). Jedinke bračića bile su prisutne u pukotinama stijena i između stijena, a horizontalna rasprostranjenost na nekim dijelovima iznosila je do 1,5 metara.

Lokacija 4

Ova lokacija nalazi se na zapadnom dijelu obale Novigradskog mora i riječ je o manjem otočiću na kojem se nalazi crkvice Duha Svetog. Obala je otočića kamenita, na južnom i zapadnom dijelu obala je polegnuta (P), na istočnom umjereno polegnuta (UP), a na sjevernim umjereno strma (US). Otočić okružuje plitko more, s istočne strane otočića nalazi se pješčana plaža, a sa zapadne močvarno područje. Sjeverni i istočni dio otočića izloženi su udarima valova koje ublažava okolno plitko more pa je riječ o poluizloženim lokacijama (PL), dok su južni i zapadni dio otočića zaštićeni (zaštićene lokacije (ZL)). Pregledan je transekt u dužini od 160 metara i jedinke bračića zamijećene su po cijeloj dužini obale otočića (slika 7). Sukladno rasprostranjenosti naselje možemo ubrojiti u kategoriju 4 (kontinuirano do mozaično naselje).



Slika 7. Naselje jadranskog bračića oko otočića smještenog uz zapadnu obalu Novigradskog mora

Lokacija 5

Lokacija se nalazi na sjeverozapadnom dijelu Novigradskog mora, obala je okrenuta prema jugu i lokaciju svrstavamo prema izloženosti valovima u poluizložene lokacije. Riječ je o kamenitoj do hridinastoj polegnutoj obali (P). Pregledan je transekt od 100 metara i cijelom dužinom transekta uočene su jedinke jadranskog bračića. Na nekim dijelovima horizontalna rasprostranjenost naselja bila je i do tri metra (slika 8). Naselje možemo ubrojiti u kategoriju 4 (kontinuirano do mozaično naselje).



Slika 8. Jedinke bračića pričvršćene za manje kamene blokove na lokaciji 5

Lokacija 6

Lokacija 6 proteže se od Novskog ždrila prema jugozapadu. Obala je nerazvedena, hridinasta, građena od hrapavog vapnenca s puno pukotina te je na sjevernom dijelu lokacije umjereno polegnuta (UP), a na južnom umjereno strma (US). Lokaciju svrstavamo prema izloženosti valovima u izložene lokacije (IL). Pregledan je transekt u dužini od 100 m, ali nije uočena niti jedna jedinka jadranskog bračića iako

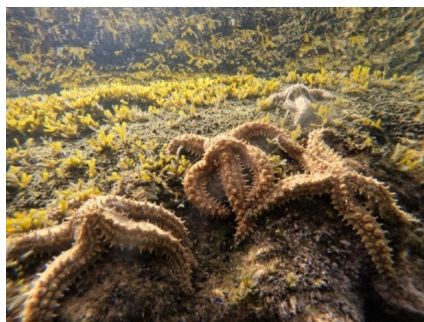
supstrat po svom izgledu odgovara prihvaćanju i rastu jadranskog bračića. Općenito govoreći morsko dno bilo je pretežno golo bez algi i drugih organizama (slika 9).



Slika 9. Hridinasta obala na lokaciji 6 na kojoj nisu pronađene jedinke bračića

Lokacija 7

Ova lokacija nalazi se na južnoj obali Novskog ždrila, na samom ulazu u Novigradsko more. S obzirom na to da je lokacija okrenuta prema sjeveru svrstavamo je u izložene lokacije. Prvih 50 metara transektu betonirana je obala (djelomično urušeni ostaci pontonskog mosta) i taj dio ubrajamo u umjereno polegnute obale (UP). Ostalih 50 metara prirodna je kamenita obala Novskog ždrila koju svrstavamo u umjereno strme obale (US). U cijelom transektu bračić je pronađen točkasto na pet mjesta te stoga lokaciju svrstavamo u kategoriju 1 (lokacija s prorijeđenim naseljem). Prilikom prvog pregleda lokacije dana 23. listopada 2022. godine uočena je umjereno polegnuta betonska ploča dimenzija 1,3 x 0,5 m na kojoj se nalazila gusta populacija mladih jedinki jadranskog bračića koja je u trenutku pregleda pokrivala 60 % ploče. Na ploči su uočene i četiri zvjezdače vrste *Marthasterias glacialis* (Linnaeus, 1758) (slika 10a). Kada je jedna zvjezdača uklonjena ispod nje nije bilo jedinki bračića (slika 10b). Navedena lokacija ponovno je pregledana 27. studenog i 1. siječnja. Pokrivenost površine bračićem do zadnjeg se pregleda smanjila na otprilike 20 % i bračić se zadržao samo na gornjem rubu ploče.



a)



b)

Slika 10. Zvjezdače vrste *Marthasterias glacialis* na betonskoj podlozi s jedinkama jadranskog bračića (a); mjesto na stijeni s kojeg je uklonjena zvjezdača, bez jedinki jadranskog bračića (b)

Lokacija 8

Ova lokacija nalazi se na sjevernoj obali Novigradskog mora u mjestu Maslenica. Lokacija je okrenuta prema jugu i svrstavamo je poluizložene lokacije. Transekt je postavljen na uređenom kupalištu te je 70 metara transketa bila betonirana strma obala (kategorija S), a 30 metara nasuta polegnuta (kategorija P) šljunčana plaža. Jedinke bračića bile su prisutne u cijelom dijelu betonirane obale i činile su pojas širine 10 cm (slika 11), dok na šljunčanoj plaži jadranskog bračića nije bilo. Usprkos vrlo uskoj horizontalnoj rasprostranjenosti riječ je o kontinuiranom naselju pa ga svrstavamo u kategoriju 4. Za

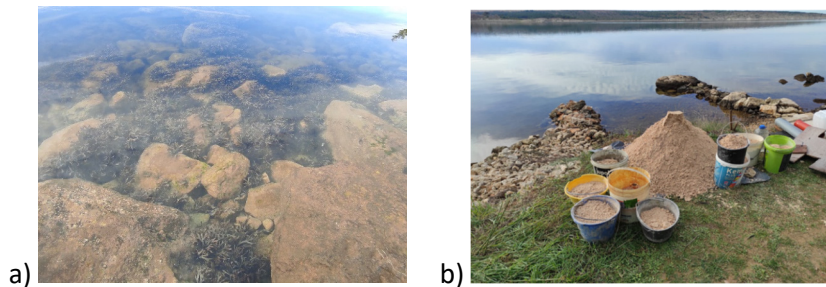
vrijeme pregleda iz pukotina betoniranog dijela na nekoliko mjesta izvirala je slatka voda, ali unatoč tome oko takvih pukotina nalazile su se jedinke bračića.



Slika 11. Vrlo uska vertikalna rasprostranjenost jedinki bračića na betoniranoj obali u mjestu Maslenica

Lokacija 9

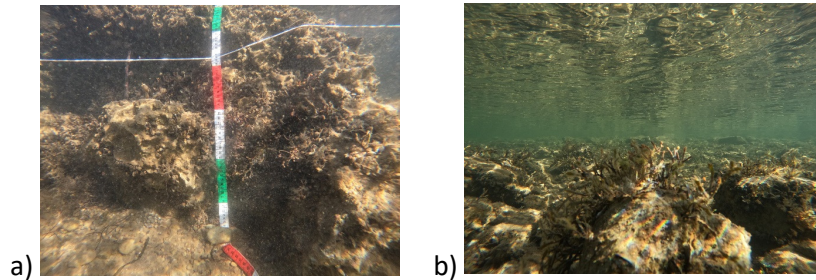
Ova lokacija nalazi se na sjeveroistočnom dijelu Novigradskog mora u mjestu Meka Draga. Riječ je o uvali s kamenitom obalom na kojoj je izgrađeno nekoliko manjih privezišta za brodove (molova) od kojih su neki betonirani, a neki su napravljeni od velikih kamenih blokova. Lokaciju svrstavamo u zaštićene lokacije (ZL), a sukladno nagibu obale najveći dio lokacije svrstavamo u polegnute lokacije (P). Transekt je bio dužine 180 metara i jedinke jadranskog bračića bile su kontinuirano prisutne u cijeloj dužini pregledanog dijela. Na dijelu obale na kojem nisu izgrađena privezišta horizontalna rasprostranjenost iznosila je do dva metara (slika 12a), dok je na betoniranim okomitim dijelovima ograničena samo na uski dio. S obzirom na manju brojnost rasprostranjenosti jedinki u izgrađenim dijelovima obale naselje ubrajamo u kontinuirano do mozaično naselje (Kategorija 4). Prilikom pregleda obavljenog polovinom siječnja zabilježene su pripreme za betoniranje obale na kojoj se nalazi naselje jadranskog bračića (slika 12b).



Slika 12. Naselje bračića na prirodnom dijelu obale (a); pripreme za betoniranje obale na kojoj se nalazi naselje jadranskog bračića (b)

Lokacija 10

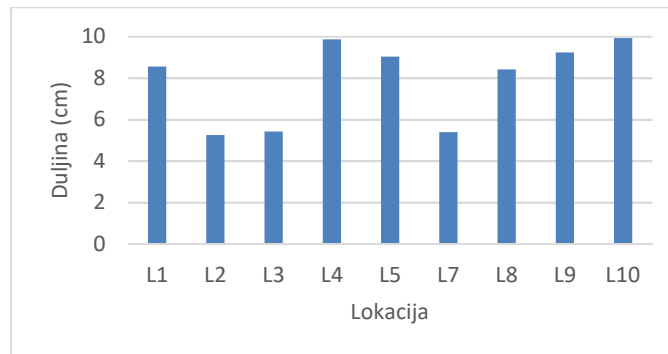
Lokacija 10 manja je uvala okrenuta prema zapadu koja se nalazi se na istočnoj obali Novigradskog mora. Pregledan je transekt u dužini od 100 m od čega je 60 metara bila stjenovita strma obala sa sjeverne strane uvale koju prema nagibu obale ubrajamo u strmu lokaciju (S), a 40 metara plitka polegnuta (P) kamenita uvala. Lokaciju svrstavamo u zaštićene lokacije (ZL). Cijelom dužinom transekta bile su prisutne jedinke jadranskog bračića. Na stjenovitoj strmoj obali naselje je bilo razvijeno na prostranim dijelovima stijena pa smo na njima zabilježili vertikalnu rasprostranjenost bračića koja je na pojedinim mjestima dosizala 35 cm (slika 13a). U pojedinim dijelovima polegnute uvale naselje bračića bilo je široko i do tri metara (slika 13b). Naselje na ovoj lokaciji svrstali smo u kategoriju 5 (kontinuirano naselje).



Slika 13. Vertikalna rasprostranjenost naselja jadranskog bračića od 35 cm (a); plići ravno polegnuti dio uvale s dobro razvijenim jedinkama bračića (b)

Duljine bračića na pojedinoj lokaciji

Najveće duljine jedinki jadranskog bračića zabilježene su na lokacijama L10 (11,1 cm) i L4 (10,9 cm). Suprotno tomu, najveće jedinke na lokacijama L7, L3 i L2 bile su duge 6,1 cm, 6,5 cm i 6,3 cm. Prosječna duljina jedinki na svim lokacijama na kojim je utvrđena prisutnost jadranskog bračića prikazana je na slici 14.



Slika 14. Prosječne duljine jadranskog bračića na istraživanim lokacijama Novigradskog mora

Vrijednosti površinskog saliniteta i temperature Novigradskog mora

Površinske vrijednosti saliniteta zabilježene tijekom istraživanja u Novigradskom moru kretale su se od 0,6 ‰ do 11 ‰. Vrijednosti saliniteta i temperature zabilježeni u Novigradskom moru za vrijeme provođenja istraživanja prikazani su u tablici 2.

Tablica 2. Površinske vrijednosti saliniteta i temperature zabilježene u Novigradskom moru za vrijeme provođenja istraživanja

Datum mjerenja	21. 11. 2022.	2. 12. 2022.	21. 12. 2022.	1. 1. 2023.	13. 1. 2023.	19. 1. 2023.
Temperatura (°C)	14	13,5	8,8	11	13	12
Salinitet na površini (‰)	11	8	1	2	6	7

Promjena izgleda jedinki jadranskog bračića (*F. virsoides*) tijekom vremena na lokaciji L1

Prilikom pregleda 23. 10. na lokaciji L1 lisnati dijelovi bračića (filoidi) bili su smeđozelene boje, a na vrhu filoida vidjeli su se zametnuti fertilni vršci (receptakuli) (slika 15a). Pregled koji je obavljen 1. siječnja pokazao je kako su lisnati dijelovi bračića sivozelene boje, vrhovi bračića kraći i oštećeni, s vidljivim epifitima, a receptakuli se vrlo rijetko uočavaju (slika 15b). Slična situacija zabilježena je i 15. siječnja, jedinke su i dalje sivozelene boje, a receptakuli više nisu vidljivi (slika 15c).



Slika 15. Promjene izgleda jedinki jadranskog bračića tijekom vremenskog razdoblja od tri mjeseca: a) 23.10.2022.; b) 01.01.2023.; c) 15.01.2023.

RASPRAVA

Iako se u literaturi mogu pronaći podatci o prisutnosti jadranskog bračića u Novigradskom moru (Linardić, 1949) te navodi o uzorkovanju jadranskog bračića iz Novigradskog mora u svrhu provedbe istraživanja njegova kemijskog sastava (Banožić i sur., 2022; Cikoš i sur., 2022), ipak do sada nije provedeno sustavno istraživanje o njegovoj rasprostranjenosti i značajkama naselja u ovom području. Rezultati provedenog istraživanja potvrdili su pretpostavku istraživanja kako se u Novigradskom moru mogu pronaći naselja jadranskog bračića. Kako je bračić pronađen na devet od deset lokacija koje po izgledu obale i sastavu supstrata odgovaraju njegovom staništu, možemo reći kako je bračić raširen po obalama Novigradskog mora te njegove obale predstavljaju pogodno stanište za život ovog endema. Iako se smatra kako su naselja jadranskog bračića osobito razvijena u sjevernom Jadranu, rezultati ovog istraživanja ukazuju kako su naselja bračića u Novigradskom moru raširenija nego na području Istre. Naime, istraživanja provedena u Istri pokazala su da su naselja jadranskog bračića relativno rijetka i većinom se nalaze na područjima izloženim manjim ili umjerenim antropogenim djelovanjima (Čelig, 2010; Gljuščić, 2016). Rezultati ovog istraživanja tim su značajniji jer je riječ o strogo zaštićenoj vrsti čija su staništa ugrožena betoniranjem obala, zagađenjem i rastom temperatura mora (Gljuščić, 2016) pa je potrebno uložiti dodatne napore za kartiranje i zaštitu njegovih staništa.

Jadranski bračić živi u mediolitoralnoj zoni te je izložen djelovanju plime i oseke, udaranju valova, ali i puhanju vjetrova. Zbog toga jadranski bračić nastanjuje nepomičan i čvrst supstrat. U prikazanom je istraživanju jadranskom bračiću supstrat za pričvršćivanje većinom bila kamenita vapnenačka podloga. Na zaštićenijim dijelovima pojedinih lokacija (npr. L10) bračić se nalazio i na manjim kamenim blokovima koji su ipak dovoljne veličine da ih u zaštićenim uvalama snaga valova ne može pomicati (Linardić, 1949). U dijelu lokacije 8 na kojoj je bila nasuta šljunčana plaža bračić nije bio prisutan. Ovo se podudara s tvrdnjom koju je u svom radu naveo Gljuščić (2016) kako naseljima bračića najveću opasnost predstavlja razaranje prirodne obale i nasipavanje obale u svrhu izgradnje kupališta. Nagib obale također igra važnu ulogu u horizontalnoj i vertikalnoj rasprostranjenosti naselja jadranskog bračića. Naime, što je nagib obale manji to je veći horizontalni razmak između razine plime i oseke. Lokacije na kojima je obala bila polegnutija pokazale su se povoljnijima za rast bračića (npr. polegnuti plitki dio lokacije 10), ali samo pod uvjetom da je riječ o zaštićenim lokacijama. Istraživanja provedena na sjevernom Jadranu utvrdila su horizontalnu rasprostranjenost naselja bračića na povoljnim staništima najčešće do 2 m širine, a na nekim iznimnim lokacijama čak je zabilježena horizontalna širina od 3,45 m (Rindi i Battelli, 2005; Čelig, 2010). Ovi rezultati podudaraju se s rezultatima našeg istraživanja u kojem je na lokaciji L10 zabilježena horizontalna rasprostranjenost od 3 m. Najmanja horizontalna rasprostranjenost zabilježena je na betoniranim dijelovima lokacija (dio lokacije L8).



Naime, betonirani dijelovi najčešće su okomito položeni u more pa ne postoji velika horizontalna razlika između razine plime i oseke. Zanimljivo je kako je na betoniranom dijelu lokacije L8 zabilježena i najmanja vertikalna rasprostranjenost jedinki bračića od samo 10 cm. Linardić (1949) navodi kako će udarna snaga zapljuskivanja valova biti potencirana ako su obale strme pa možemo pretpostaviti kako je izgled betonirane obale na lokaciji L8 u kombinaciji s djelomičnom izloženošću obale udarima valova uzrok ovako male vertikalne rasprostranjenosti. Zanimljivo je kako je na stjenovitom dijelu zaštićene lokacije L10 zabilježena najveća vertikalna rasprostranjenost bračića od čak 35 cm što je više od prosječne vrijednosti amplitude plime i oseke u Zadru koja iznosi 25 cm (HHI, 2005).

Osim nagiba obale izloženost obale udarima valova uvjetuje veličinu naselja i izgled jedinki bračića. Organizmi koji žive u mediolitoralnim zonama koje se nalaze pod snažnim utjecajem valova manji su od organizama koji žive u zaštićenijem obalnom području. Naime, uvjeti na izloženim obalama zaustavljaju rast ili otkidaju, odnosno trgaju organizme koji su dosegili neku kritičnu veličinu (Čelig, 2010). Stoga su lokacije s većim brojem zaštićenih dijelova, odnosno lokacije s razvedenijom obalom prikladnija mjesta za rast jadranskog bračića (Lindarić, 1949). Rezultati ovog istraživanja to podupiru jer su jedinke bračića na lokacijama izloženim snažnim udarima valova i dominantnog vjetrova (bure) (L2, L3) bile u prosjeku manje, a naselja puno rjeđa od onih na lokacijama koje su bile zaštićene (L9, L10). Štoviše na izloženoj lokaciji L6, iako je bilo riječ o vapnenačkoj obali, odnosno supstratu pogodnom za rast jadranskog bračića, jedinke bračića nisu zabilježene. Možemo pretpostaviti kako je razlog tome izloženost lokacije udarima vjetrova, odnosno razornim valovima.

Čelig (2010) je izmjerene duljine jedinki jadranskog bračića na svakoj lokaciji prikazala s dužinskim razredima. Iz rezultata njenih istraživanja provedenih u Istri vidljivo je kako se dužinski razredi s najvećim brojem ponavljanja na pojedinoj lokaciji kreću od dužinskog razreda 4 do 6 cm pa sve do dužinskog razreda 10 do 12 cm. Iako direktna usporedba nije moguća vidljivo je da je slična varijabilnost zabilježena u ovom istraživanju jer je najmanja zabilježena prosječna vrijednost na pojedinoj lokaciji iznosila 5,25 cm, a najveća 9,92 cm. S druge strane postoji vidljiva razlika u maksimalno izmjerenim duljinama jedinki u Istri i u Novigradskom moru. Naime, u Istri su izmjerene pojedine jedinke duge čak 22 cm dok je u ovom istraživanju najveća jedinka izmjerena u Novigradskom moru bila duga 11,1 cm.

Kako je vidljivo u tablici 1, zabilježeni površinski salinitet za vrijeme provođenja istraživanja bio je puno niži od prosječnog površinskog saliniteta Jadranskog mora. S obzirom na to da je poznato kako jadranski bračić podnosi promjene saliniteta smatra se eurihalinom vrstom. Linardić (1949) navodi: „Gdje s kopna pritječu znatne množine slatke vode (potoci, izvori), salinitet se u emerznoj litoralnoj zoni može u velikoj mjeri da opadne (28, 26, 21‰ i niže), što predstavlja već jako oslađanje i približavanje donjoj ekolozijskoj granici saliniteta, koju može da podnosi jadranski fucus.“ Također navodi kako se ovako nizak salinitet nikad ne zadržava dugo nego ga utjecaj plime i oseke vrlo brzo izjednačava s salinitetom otvorenog mora. Linardić (1949) iznosi i tvrdnju kako se jadranski bračić ne može pronaći na ušćima većih rijeka u kojima se velike količine slatke vode slijevaju u more. Rezultati ovog istraživanja donekle odudaraju od prije navedenih tvrdnji i ukazuju kako je bračić tolerantniji na niske salinitete u dužem razdoblju nego što se do sada navodilo u literaturi. Naime, tijekom provođenja istraživanja najveći zabilježeni salinitet bio je 11 ‰ a najniži smo 1 ‰. Vegetacijski aspekti jadranskog bračića zabilježeni prilikom provođenja ovog istraživanja u Novigradskom moru ne odgovaraju onima koje je Linardić (1949) naveo u svom radu. Naime, Linardić (1949) navodi kako je jadranski bračić



prilagođen na niže temperature morske vode te bračić pred kraj zime i u proljeće doživljava svoj maksimum. U tom razdoblju približava se vremenu rasplodivanja koje se događa u proljeće i tada su receptakuli maksimalno nabubreni. U drugoj polovini proljeća jedinke bračića počinju kržljati, a ispražnjeni receptakuli gube svježju smeđezelenu boju, postaju bljedožuti te na kraju istrunu i otpadaju. Na vegetativnim dijelovima talusa javljaju se epifiti te dolazi do propadanja tih dijelova. Čini se da su jedinke u Novigradskom moru pregledane u sklopu ovog istraživanja svoj vegetacijski maksimum doživjele krajem jeseni i početkom zime. Naime, prilikom pregleda u listopadu jedinke bračića smeđezelene su boje, a na vrhu filoida vide se zametnuti fertilni vršci (receptakuli). Pregled jedinki u više navrata u siječnju pokazao je kako one mijenjaju boju u sivozelenu, vrhovi su lisnatog dijela kraći i oštećeni, s vidljivim epifitima, a receptakuli se prema kraju siječnja sve manje uočavaju. Možemo samo pretpostaviti kako abiotički čimbenici koji vladaju u Novigradskom moru, npr. vrlo nizak salinitet tijekom dugih jesenskih i zimskih razdoblja, uvjetuju ovakav vremenski razvoj vegetacije bračića u Novigradskom moru, ali za izvođenje konkretnih zaključaka trebalo bi provesti višegodišnje praćenje vegetacije i abiotičkih čimbenika u Novigradskom moru.

Na pregledanim lokacijama nisu primijećeni ispusti otpadnih voda niti drugi oblici zagađenja pa se istraživanje antropogenog utjecaja svelo na betoniranje i nasipanje obale. Naselja bračića bila su najbolje rasprostranjena na prirodnim polegnutim razvedenim i zaštićenim kamenitim obalama. Ipak, naselja su primijećena i na betoniranim dijelovima obale, ali kod takvih naselja, kao što je već navedeno, horizontalna i vertikalna rasprostranjenost bila je manja od one na prirodnim naseljima. Linardić (1949) navodi kako izgradnja molova i betonskih pristaništa na području u kojem je obala strma, a more duboko može doprinijeti rasprostranjenosti bračića. Unutrašnje strane takvih molova koji su zaštićeni od direktnih udara valova mogu postati pogodna mjesta za naseljavanje bračića. U Novigradskom moru obala je na većini lokacija kamenita te polegnuta do umjereno polegnuta tako da izgradnja betoniranih obala neće doprinijeti rasprostranjenosti bračića. Štoviše, na lokaciji 9 zamijetili smo pripreme za betoniranje obale, odnosno pripreme za izgradnju betonskog mola na prirodnoj kamenitoj polegnutoj obali koja je već naseljena jadranskim bračićem, stoga će nakon izgradnje ovakvog mola sa strmom betonskom obalom površina na koju će se bračić naseliti eventualno biti puno manja od one koju sad zauzima. Gljuščić (2016) navodi kako naseljima bračića najveću opasnost predstavlja razaranje prirodne obale i nasipavanje obale u svrhu izgradnje kupališta. Rezultati ovog istraživanja to potkrepljuju jer na nasutim dijelovima (npr. dio lokacije L8) nema jedinki jadranskog bračića jer nema fiksnog supstrata koji bi bračić naselio. Kako bismo pomogli u zaštiti ove strogo zaštićene vrste od antropogenog djelovanja, nakon završetka projekta, geografske koordinate lokacija na kojim se nalaze jedinke bračića kao i svi drugi podaci prikupljeni ovim istraživanjem bit će proslijeđeni ustanovi za zaštitu prirode koja brine o Novigradskom moru kako bi čuvari prirode mogli lakše nadzirati i sprječavati uništavanje staništa endema jadranskog bračića.

Za kraj želimo se osvrnuti na utjecaj zvjezdača vrste *Marthasterias glacialis*, koje su jako raširene u Novigradskom moru, na jedinke jadranskog bračića. Linardić (1949) navodi kako bračić može biti predmet predacije različitih životinja koje žive u moru. Kada smo prilikom pregleda lokacija L7 uočili nekoliko jedinki zvjezdače na stijeni na kojoj se nalazi naselje bračića, pomislili smo kako se zvjezdače hrane bračićem, pogotovo što ispod mjesta na kojima su se nalazile zvjezdače nije bilo jedinki bračića. Naše uvjerenje dodatno su potaknuli naknadni pregledi navedene lokacije pri kojima smo uočili kako se površina obrasla jadranskim bračićem smanjuje. Ipak, pregledom literature nismo pronašli uporište



za našu pretpostavku. Naime, Frid (1992) navodi kako samo jedinke *M. glacialis* manje od 5 cm jedu alge. Kako su jedinke zabilježene prilikom pregleda lokacije bile veće od 15 cm, odlučili smo detaljno pregledali stijenu i na preostalom dijelu stijene prekrivene bračićem između jedinki bračića uočili ličinke i male jedinke različitih vrsta školjkaša i puževa. Stoga je vrlo vjerojatno kako su zvjezdačama primarna hrana bili mali školjkaši i puževi, ali prilikom hranjenja njima zvjezdače su uklonile i jedinke bračića koje su se nalazile na stijeni.

ZAKLJUČCI

Sukladno provedenom istraživanju navodimo sljedeće zaključke:

- ☞ Naselja vrste *Fucus virsoides* na području Novigradskog mora pronađena su na 9 od pregledanih 10 lokacija.
- ☞ Naselja su najbolje razvijena na polegnutim zaštićenim kamenitim obalama te su na takvim obalama jedinke bračića i najduže.
- ☞ Na betoniranim dijelovima obale jedinke bračića mogu se pronaći, ali je njihova horizontalna i vertikalna rasprostranjenost manja od one na prirodnim obalama.
- ☞ Jedinke bračića u Novigradskom moru izložene su nižim vrijednostima saliniteta od onih koje je literatura do sad navodila da ih jedinke bračića mogu tolerirati. Takav nizak salinitet zadržavao se tijekom vremenskog razdoblja od nekoliko tjedana.
- ☞ Zvjezdače svojim načinom ishrane uklanjanju jedinke bračića s obale.

LITERATURA

- Banožić M., Čolnik M., Škerget M., Cikoš A.-M., Aladić K., Jokić S. 2022. Formation and characterization of *Fucus virsoides* J. Agardh pigment–polyethylene glycol microparticles produced using PGSS process. *Applied Sciences* 12(22):11496. doi.org/10.3390/app122211496.
- Battelli C. 2010. Disappearance of *Fucus virsoides* J. Agardh from the Slovenian coast (Gulf of Trieste, northern Adriatic) *ANNALES Ser. hist. nat.* 26-1.
- Cikoš A.-M., Aladić K., Jokić S., Živković D., Jerković I. 2022. Chemical profiles of less-volatile organic compounds from the Adriatic Sea macroalgae obtained by supercritical CO₂ extraction. *Croat. J. Food Sci. Technol.* 14 (2) 07.
- Čelig A. 2010. Kartiranje naselja smeđe alge *Fucus virsoides* J. Agardh u priobalju južne Istre. Sveučilište u Zagrebu, PMF, Biološki odsjek, diplomski rad.
- Frid C. L. J. 1992. Foraging behaviour of the spiny starfish *Marthasterias glacialis* in Lough Ine, Co. Cork. *Marine Behaviour and Physiology*, 19:4, 227-239. doi: 10.1080/10236249209378811.
- Gljuščić E. 2016. Rasprostranjenost i ekologija endemske makroalge *Fucus virsoides* J. Agardh na području Poreča, Funtane i Vrsara. Sveučilište Jurja Dobrile u Puli.
- Hrvatski hidrografski institut (HHI) 2005. Morske mijene i razina Jadrana on-line, Hrvatski hidrografski institut, <https://www.hhi.hr/o-nama/projekti/morske-mijene-i-razina-jadrana-on-line> pristupljeno 5.3.2023.
- Kršinić F. 2017. Biološko bogatstvo srednjeg dijela rijeke Zrmanje s posebnim osvrtom na zooplankton. Monografija: Novigrad nekad i sad, str. 107.
- Kučinar I. 2014. Kartiranje naselja smeđe alge *Fucus virsoides* J. Agardh u priobalju Rovinja. Završni rad. Sveučilište Jurja Dobrile u Puli.
- Linardić J. 1949. Studije o Jadranskom Fukusu. *Acta Botanica* 12/13: 7-132.
- Mačić V. 2006. Distribution of seaweed *Fucus virsoides* J. Agardh in Boka kotorska Bay (South Adriatic sea). *Annales* 16: 1-4.
- Munda I.M. 1993. Changes and degradation of seaweed stands in the Northern Adriatic. *Hydrobiologia* 260, 239–253. <https://doi.org/10.1007/BF00049025>.
- Natura 2000. Novigradsko i Karinsko more, <https://natura2000.eea.europa.eu/Natura2000/SDF.aspx?site=HR4000> pristupljeno 28.1.2023.
- Hrvatska enciklopedija (HE) 2023. Novigradsko more. Hrvatska enciklopedija, mrežno izdanje. Leksikografski zavod Miroslav Krleža, 2021. Pristupljeno 5. 3. 2023. <<http://www.enciklopedija.hr/Natuknica.aspx?ID=44271>>.
- Orlando-Bonaca M., Mannoni P. A., Poloniato D., Falace A. 2013. Assessment of *Fucus virsoides* distribution in the Gulf of Trieste (Adriatic Sea) and its relation to environmental variables. *Botanica Marina* 56(5-6): 451-459.
- Pravilnik o strogo zaštićenim vrstama (NN 144/13 i 73/16).
- Rindi F., Battelli C. 2005. Spatio-temporal variability of intertidal algal assemblages of the Slovenian coast (Gulf of Trieste, northern Adriatic Sea). *Botanica Marina* 48: 96-105. doi: 10.1515/BOT.2005.022.

Utjecaj usne higijene i vrste hrane na pH-vrijednost sline

Fazlić Uma, 3. razred

Lončarević Katarina, 3. razred

V. gimnazija, Zagreb

Mentor: Halapir Franković Romana

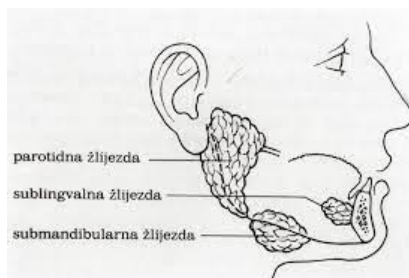
SAŽETAK

Ovim istraživanjem nastojao se proučiti utjecaj zubne higijene i različitih vrsta hrane na kiselost usne šupljine. Slina, glavni čimbenik zdravlja usne šupljine u usnoj šupljini konstantno neutralizira kiseline nastale bakterijskom razgradnjom šećera, a učinkovitost toga ovisi upravo o usnoj higijeni i prehrani. Tako je na četiri skupine učenika 3. razreda provedeno dvodnevno prikupljanje uzoraka sline kojim se ispitivalo djelovanje kisele hrane – čajnih kolutića (prvi dan) te alkalne hrane – meda (drugi dan) na promjenu pH-vrijednosti sline uz određene prethodne uvjete. Prva skupina, kontrolna, nije prala zube prije konzumacije ugljikohidrata, druga je prala zube samo pastom i četkicom, treća je uz pastu i četkicu koristila bezalkoholnu vodicu za ispiranje usta, dok je četvrta uz pranje koristila alkoholnu vodicu. Ciljevi istraživanja bili su uvidjeti učinke navedenih sredstava za pranje zuba na promjene pH-vrijednosti sline u više vremenskih intervala nakon konzumacije hrane te usporediti promjene pH-vrijednosti sline kod djevojaka i mladića kontrolne i eksperimentalnih skupina za pojedinu vrstu hrane. Slina se prikupljala u epruvetama, a njezina pH-vrijednost mjerena je pH metrom. Istraživanjem su potvrđene početne hipoteze kojima su djevojke svih skupina kroz većinu mjerenja imale nižu pH-vrijednost sline od dječaka te je neutralizacija pH-vrijednosti sline bila najsporija kod kontrolne skupine i nije se vratila na početnu vrijednost u danom vremenskom intervalu. Čajni kolutići nisu uzrokovali veći pad pH-vrijednosti sline od meda te temeljitost usne higijene nije pokazala značajan utjecaj na pad pH-vrijednosti kod skupina koje su jele med. Istraživanjem je također zaključeno da je pranje zuba pastom i vodicom za ispiranje s alkoholom uzrokovalo najmanji pad pH-vrijednosti sline samo kod skupina koje su jele čajne kolutiće.

Ključne riječi: kiselost usne šupljine, oralno zdravlje, šećeri, neutralizacija

UVOD

Slina je osnovni čimbenik o kojem ovisi opće zdravlje usne šupljine. Ona održava sluznicu vlažnom (olakšavajući tako kretanje jezika i funkciju govora te kemijsku razgradnju hrane), neutralizira pH-vrijednost usne šupljine i obnavlja zubnu caklinu. Slina je proizvod velikih i malih žlijezda slinovnica – egzokrinih žlijezda koje kontrolira parasimpatikus. Velike su žlijezde slinovnice parne i znatno više doprinose stvaranju sline od malih žlijezda. Nalaze se izvan same usne šupljine pa sekret u usta dolazi kanalčićima koji se otvaraju u usnoj šupljini. Razlikujemo parotidne (podušne), sublingvalne (podjezične) i submandibularne (podčeljusne) žlijezde (slika 1). Male žlijezde slinovnice vrlo su sitne i smještene su većinom na tvrdom nepcu, no nalazimo ih i u ostatku usne šupljine i ždrijela (Marić, 2015).



Slika 1 Velike žlijezde slinovnice <https://repozitorij.unizg.hr/islandora/object/mef:941>; 23.1.2023.



Dnevno se luči između 800 i 1500 mL sline, pri čemu razlikujemo nestimuliranu i stimuliranu slinu. Nestimulirana slina je količina sline koja se dobije iz usta u jedinici vremena bez ikakva podražaja (Marić, 2015). Mnogi čimbenici mogu povećati ili smanjiti brzinu lučenja sline. Tri glavna podražaja koja pojačavaju lučenje su: mehanički (čin žvakanja), okusni (kiselina kao najjači i slatko kao najslabiji okidač) i mirisni (razmjerno slab podražaj). Ostali čimbenici koji utječu na lučenje sline su psihički čimbenici, bol, pojedine vrste lijekova i različite lokalne i sistemske bolesti koje utječu na same žlijezde slinovnice (Konta, 2018). Neke od bolesti su hipoplazija – nepotpuni razvoj žlijezda slinovnica, aberacija – pojava tkiva žlijezda slinovnica izvan njihovog uobičajenog anatomskeg mjesta i sijalolitilaza – prisutnost kamenca u žlijezdama slinovnicama (Kratohvil, 2018).

Sastav sline većinski čini voda, no slina sadrži i ione nekih minerala, hidrogenkarbonate i proteine u obliku enzima i protutijela. Protutijela štite sluznicu od mikroorganizama koji hranom i disanjem neprestano ulaze u naše tijelo. Među enzimima koji čine slinu nalazi se amilaza, odnosno ptijalin, koji u ustima započinje proces probave ugljikohidrata razgrađujući škrob na maltozu i glukozu. Zbog toga ćemo ubrzo nakon žvakanja (npr. kruha ili krumpira koji sadrže škrob) osjetiti slatkoću u ustima koja ne odgovara samo nama, već i bakterijama u ustima koje upijaju oslobođene šećere i luče organske kiseline, što naglo smanjuje pH-vrijednost sline (Božikov, 1991). Prisutnost navedenih bakterija smanjuje se redovitim i temeljitim pranjem usne šupljine. Paste za zube i vodice za pranje usta sadrže aktivne tvari poput triklosana, klorheksidina i kositrenog ili cinkovog klorida – antimikrobnih sastojaka koje sprječavaju ubrzani rast bakterija (Gović, 2017).

Kod ljudi koji kontinuirano konzumiraju veće količine namirnica bogatih ugljikohidratima, razgradnjom šećera stvara se okoliš s nižom pH-vrijednosti koji sprječava rast na kiselinu osjetljivih mikroorganizama, a pogoduje rastu vrsta kojima kiseli okoliš odgovara te dolazi do disbalansa oralne mikrobiote i predispozicije za nastanak karijesa (Antal, 2019). Rizik od pojave karijesa javlja se zbog reagiranja kiseline sa zubnom caklinom, pri čemu kiselina demineralizira caklinu i stavlja zube u rizik od karijesa. Nasreću, nakon nekog vremena, slina u ustima neutralizira kiseline i pH-vrijednost ponovno raste da bi došla do normalne vrijednosti od 6 do 7. Osim negativnog djelovanja na zubnu caklinu, kisela hrana ometa apsorpciju hranjivih tvari, proizvodnju energije i održavanje ravnotežne pH-vrijednosti u tijelu. Konzumiranjem alkalne hrane, hrane bogate vitaminima i mineralima, poput voća i povrća, zdravih masti, meda i sl., tijelu se olakšava održavanje normalne pH-vrijednosti (Bogdan, 2020).

Osim uspostavljanja normalne pH-vrijednosti na zubima (ako je prije toga bila snižena razgradnjom hrane), slina čišćenjem zubi od ostataka hrane i mekih naslaga pridonosi održavanju oralne higijene (Jelinek, 1979). Jedan od sastojaka sline, odgovoran za održavanje konstantne pH vrijednosti su i hidrogenkarbonati, čija koncentracija ovisi o protoku sline – obujmu sline koji se izluči u usnu šupljinu u jedinici vremena. Kada je brži protok, koncentracija hidrogenkarbonata je veća pa s time i pH vrijednost sline raste. Vrijednost pH varira između 5,3 pri manjem protoku i 7,8 pri većem protoku sline. Istraživanja su pokazala da postoji razlika u sastavu sline osoba muškog i ženskog spola. Žene imaju znatno manju submandibularnu žlijezdu od muškaraca. Budući da je baš ona najveći izvor sline, žene imaju manji protok sline, a to znači da se u njihovoj slini nalazi manja koncentracija otopljenih tvari koje bi mogle neutralizirati kiseline (Tolić, 2022).

Ovim se istraživanjem želi ukazati na važnost pranja zuba i održavanja oralne higijene koja je jedan od glavnih čimbenika ljudskog zdravlja i zaštite od zaraznih bolesti.

Ciljevi istraživanja su:

- utvrditi i usporediti učinke različitih vrsta sredstava za pranje zuba na promjene pH vrijednosti sline nakon konzumacije hrane
- usporediti promjene pH sline nakon konzumacije čajnih kolutića (kisele hrane) i meda (alkalne hrane)
- usporediti promjene pH-vrijednosti sline kod djevojaka i mladića kontrolne i eksperimentalnih skupina
- usporediti pH-vrijednost sline nakon različitih intervala vremena – prije jela, odmah nakon, 15 minuta, 30 minuta i 45 minuta nakon jela.

Glavna je hipoteza ovog istraživanja da će svi ispitanici eksperimentalnih skupina koji će prati zube imati, nakon konzumacije hrane, manji pad pH-vrijednosti sline i bržu neutralizaciju od kontrolne skupine. Pretpostavlja se i da će se najmanji pad postići nakon korištenja alkoholne vodice te da će svi ispitanici do 45 minuta nakon obroka ponovno uspostaviti uobičajenu pH vrijednost sline.

Također, pretpostavlja se da će pad pH vrijednosti sline biti veći kod skupina koja će jesti čajne kolutiće te da će djevojke svih skupina imati niži pH sline od mladića.

METODE RADA

Istraživanje je provedeno na 80 učenika (40 djevojaka i 40 mladića) koji pohađaju 3. razred srednje škole, dakle dobi od 17 godina. Ispitanici su trebali biti zdravi i nisu smjeli imati nikakvu povijest bolesnih stanja i kroničnih bolesti. Kako bi ispitanici znali u kakvom su istraživanju sudjelovali, pripremila se uvodna prezentacija na kojoj im se predstavilo cjelokupno istraživanje i objasnila njegova svrha.

Ispitanici su bili podijeljeni u četiri skupine, od kojih je svaku činilo 10 djevojaka i 10 mladića, na kojima se provelo mjerenje pH-vrijednosti nestimulirane sline, odnosno tzv. sline mirovanja – sline koja se izlučuje spontano, nakon obroka. Svaka je skupina koristila pastu za zube (slika 4) i vodice za pranje zuba (slika 2 i slika 3) istog proizvođača.



Slika 2 Vodica za usta s alkoholom korištena u istraživanju

<https://www.konzum.hr/web/products/listerine-fresh-burst-antisepticka-vodica-za-ispiranje-usta-250-ml>



Slika 3 Vodica za usta bez alkohola korištena u istraživanju

<https://www.dm.de/dontodent-mundspuelung-zahnfleisch-intensiv-pflege-p4058172925870.html>



Slika 4 Pasta za zube korištena u istraživanju

<https://www.konzum.hr/web/products/aquafresh-fresh-minty-zubna-pasta-75-ml>

Prva skupina, kontrolna (K), prije obroka nije prala zube. Druga (E1) ih je oprala običnom četkicom i pastom za zube u trajanju od dvije minute. Treća skupina (E2) je uz četkanje pastom za zube dvije minute koristila i vodicu za pranje zuba bez alkohola prema uputama na proizvodu. Četvrta (E3) je uz četkanje pastom za zube dvije minute koristila vodicu za pranje zuba s alkoholom u sastavu, također prema uputama na proizvodu. Ispitanicima je prije pranja zuba u prezentaciji bio pokazan video pravilnog pranja zuba u svrhu kontrole uvjeta istraživanja. Ispitanici nisu smjeli konzumirati hranu i piće minimalno 45 minuta prije prikupljanja sline. Budući da istraživanje obuhvaća i usporedbu pH sline nakon konzumacije dvije različite namirnice, uzorkovanja su bila provođena na istom uzorku tijekom dva dana za svaku od skupina.

Prvi dio eksperimenta odnosio se na promatranje promjene pH sline nakon konzumacije čajnih kolutića. Nakon određenog načina pranja zubi, svaki je pojedinac pojeo dva čajna kolutića istog proizvođača i istog tipa (slika 5).



Slika 5 Čajni kolutići korišteni u istraživanju
<https://www.konzum.hr/web/products/cajni-kolutici-800-g>



Slika 6 Cvjetni med korišten u istraživanju
<https://www.konzum.hr/web/products/slova-med-cvietni-900g>

Drugi dio eksperimenta odnosio se na promatranje promjene pH sline nakon konzumacije meda istog proizvođača i istog tipa (slika 6). Svaki je ispitanik konzumirao jednu čajnu žličicu meda.

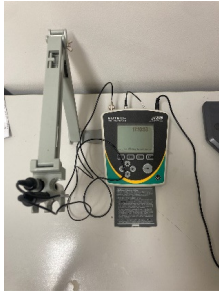
Postupak uzorkovanja bio je identičan kao u prvom dijelu eksperimenta. Ukupno je provedeno pet mjerenja; jedno prije jela, a nakon pranja zuba, jedno neposredno nakon jela i ostala tri 15 minuta, 30 minuta i 45 minuta nakon jela. Shematizirani prikaz provedbe eksperimenta prikazan je na slici 7.



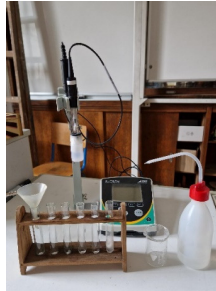
Slika 7 Shematski prikaz eksperimenta

Slina je prikupljena nestimuliranim, pasivnim uzorkovanjem sline u epruvete pomoću lijevaka koji su prethodno oprani vodovodnom vodom, potom dezinficirani alkoholom te na kraju temeljito isprani destiliranom vodom. Nakon prikupljanja uzoraka, u epruvete je umočena sonda pH-metra (slika 8) iz školskog laboratorija, proizvođača tvrtke *Eutech Instruments* i modela *pH 2700*, koja je precizno određivala pH-vrijednost sline (na dvije decimale). Takvi pH-metri omogućuju točnije rezultate jer njihove sonde sadrže elektrode koje mjere električni potencijal koji ovisi o koncentraciji vodikovih iona u otopini. Sonde ovakvih pH metara inače se čuvaju u 4 molarnoj otopini kalijeva klorida, a pH metar

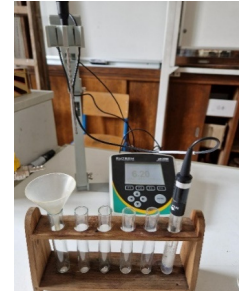
se redovito prije mjerenja kalibrirao pomoću triju pufera (pH-vrijednosti 7, 10 i 4) kako bi bilo sigurno da su rezultati maksimalno precizni. Pri mjerenju pH-vrijednosti korištene su zaštitne rukavice i medicinska maska za lice.



Slika 8 pH-metar



Slika 9 pH metar prije mjerenja pH



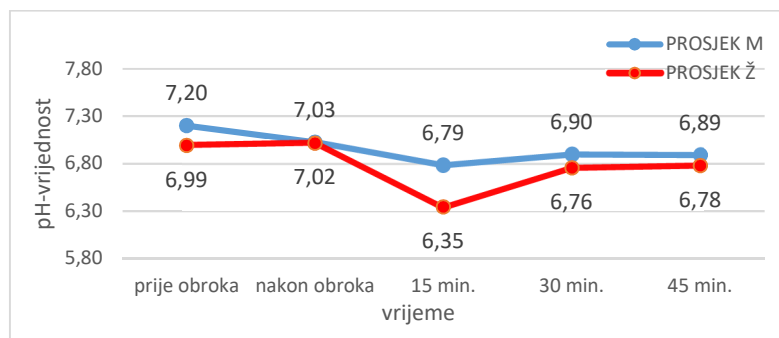
Slika 10 pH metar tijekom mjerenja pH

Rezultati su bilježeni u tablice prema skupinama odvojeno za dječake i djevojke i prema vrstama konzumirane hrane. Utvrđivani su međudnosi rezultata unutar pojedine skupine s obzirom na uzorkovanje u vremenskim intervalima, međudnosi rezultata između skupina s različitim načinima pranja zuba, međudnosi rezultata nakon konzumacije čajnih kolutića i nakon konzumacije meda, te razlike u pH-vrijednosti kod djevojaka i mladića.

Za statističku obradu podataka koristio se dvosmjerni statistički t-test u programu *Microsoft Excel* u svrhu utvrđivanja značajnosti razlika kontrolnih i pojedinih eksperimentalnih skupina. U analizi je uzeta razina značajnosti 0,05. U Excelu su također izrađeni i grafički prikazi rezultata.

REZULTATI

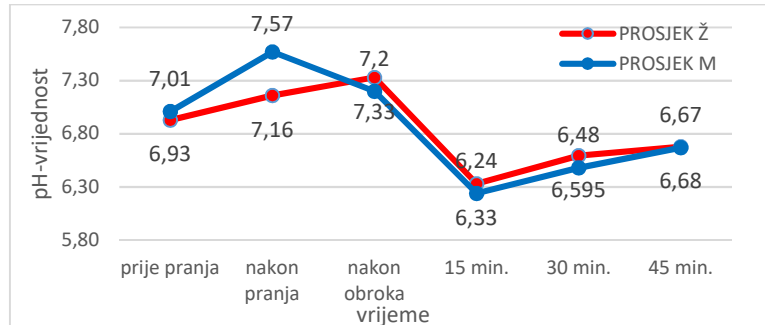
Na slici 11 vidljive su prosječne promjene pH-vrijednosti sline tijekom vremena kod djevojaka i mladića kontrolne skupine prije i nakon konzumacije čajnih kolutića. Vidljivo je da su kod djevojaka pH-vrijednosti niže u svim mjerenim intervalima. Osim toga, pH-vrijednost najviše je pala 15 minuta nakon obroka. pH-vrijednosti nisu se vratile na početnu vrijednost 45 minuta nakon obroka.



Slika 11 Prosječne pH-vrijednosti kontrolne skupine (dječaka – M i djevojčica – Ž) nakon konzumiranja čajnih kolutića

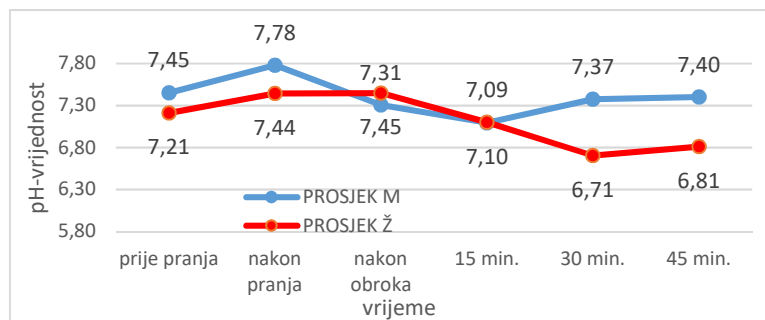
Na slici 12 vidljive su prosječne promjene pH-vrijednosti sline tijekom vremena kod djevojaka i mladića E1 skupine prije i nakon konzumacije čajnih kolutića. Nakon pranja zubi svima se povećala pH-vrijednost sline. Pad pH ponovno je najveći 15 minuta nakon obroka, a djevojke su nakon obroka u

svim idućim mjerenjima imale veći pH sline. pH-vrijednosti nisu se vratile na početnu vrijednost 45 minuta nakon obroka.



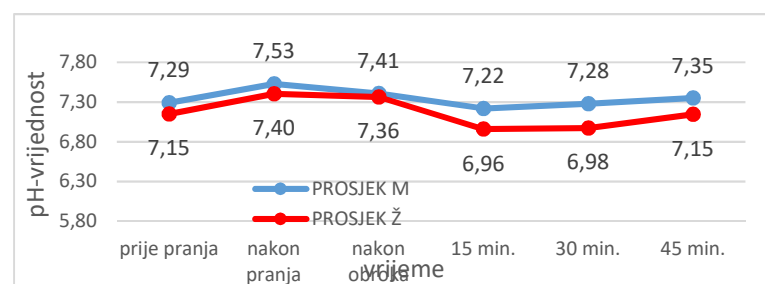
Slika 12 Prosječne pH-vrijednosti skupine E1 (dječaka – M i djevojčica – Ž) nakon konzumiranja čajnih kolutića

Na slici 13 vidljive su prosječne promjene pH-vrijednosti sline tijekom vremena kod djevojaka i mladića E2 skupine prije i nakon konzumacije čajnih kolutića. Nakon pranja zubi svima se povećala pH-vrijednost sline. Kod mladića je pH -vrijednost najviše pala nakon 15 minuta, a kod djevojaka nakon 30. Djevojkama je pH sline bio viši od mladića samo neposredno nakon obroka. pH-vrijednosti nisu se vratile na početnu vrijednost 45 minuta nakon obroka.



Slika 13 Prosječne pH-vrijednosti skupine E2 (dječaka – M i djevojčica – Ž) nakon konzumiranja čajnih kolutića

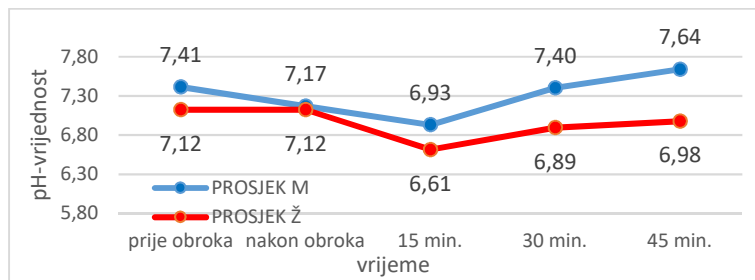
Na slici 14 vidljive su prosječne promjene pH-vrijednosti sline tijekom vremena kod djevojaka i mladića E3 skupine prije i nakon konzumacije čajnih kolutića.



Slika 14 Prosječne pH-vrijednosti skupine E3 (dječaka – M i djevojčica – Ž) nakon konzumiranja čajnih kolutića

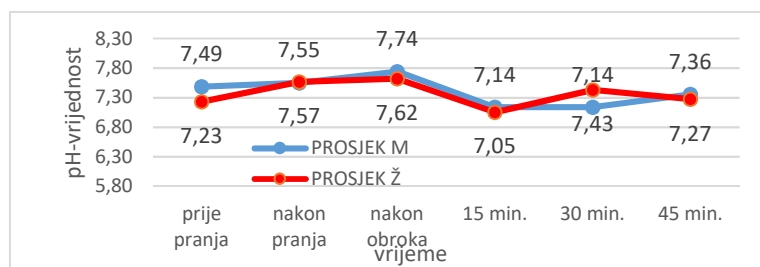
Nakon pranja zubi svima se povećala pH-vrijednost sline. Svima je pH-vrijednost najviše pala nakon 15 minuta. Kod djevojaka je pH sline niži u svim mjerenim intervalima. pH-vrijednosti vratile su se na početnu ili višu vrijednost 45 minuta nakon obroka.

Na slici 15 vidljive su prosječne promjene pH-vrijednosti sline tijekom vremena kod djevojaka i mladića kontrolne skupine prije i nakon konzumacije meda. Svima je pH-vrijednost najviše pala nakon 15 minuta. Djevojkama je pH sline bio niži od mladića u svim mjerenim intervalima. pH-vrijednosti kod mladića vratile su se na vrijednost višu od početne 45 minuta nakon obroka, dok je kod djevojaka ona ostala niža.



Slika 15 Prosječne pH-vrijednosti kontrolne skupine (dječaka – M i djevojčica – Ž) nakon konzumiranja meda

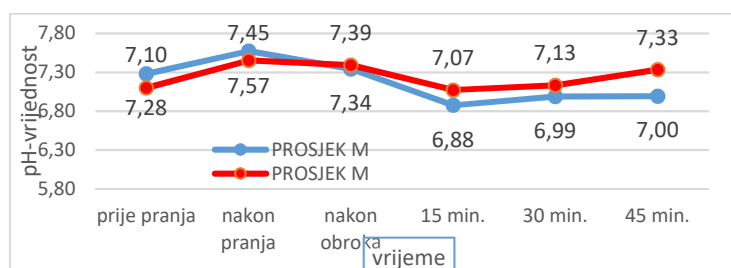
Na slici 16 vidljive su prosječne promjene pH-vrijednosti sline tijekom vremena kod djevojaka i mladića E1 skupine prije i nakon konzumacije meda. Svima je pH-vrijednost najviše pala nakon 15 minuta.



Slika 16 Prosječne pH-vrijednosti skupine E1 (dječaka – M i djevojčica – Ž) nakon konzumiranja meda

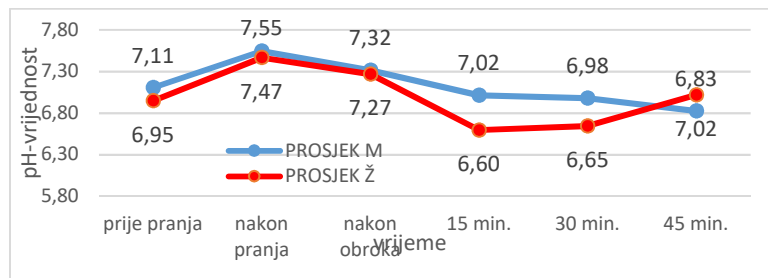
Djevojkama je pH sline bio viši od mladića samo 30 minuta nakon obroka. pH-vrijednosti kod djevojaka vratile su se na vrijednost višu od početne 45 minuta nakon obroka, dok je kod mladića ona ostala niža.

Na slici 17 vidljive su prosječne promjene pH-vrijednosti sline tijekom vremena kod djevojaka i mladića E2 skupine prije i nakon konzumacije meda. Svima je pH-vrijednost najviše pala nakon 15 minuta. Djevojkama je pH sline bio viši od mladića u svim mjerenjima nakon obroka. pH-vrijednosti kod djevojaka vratile su se na vrijednost višu od početne 45 minuta nakon obroka, dok je kod mladića ona ostala niža.



Slika 17 Prosječne pH-vrijednosti skupine E2 (dječaka – M i djevojčica – Ž) nakon konzumiranja meda

Na slici 18 vidljive su prosječne promjene pH-vrijednosti sline tijekom vremena kod djevojaka i mladića E3 skupine prije i nakon konzumacije meda. Djevojkama je pH-vrijednost najviše pala nakon 15 minuta, a mladićima nakon 45. Djevojkama je pH sline bio viši od mladića samo 45 minuta nakon obroka. pH-vrijednosti kod djevojaka vratile su se na vrijednost višu od početne 45 minuta nakon obroka, dok je kod mladića ona bila niža od početne.



Slika 18 Prosječne pH-vrijednosti skupine E3 (dječaka – M i djevojčica – Ž) nakon konzumiranja meda

Dvosmjernim statističkim t-testom u programu Excel potvrđena je statistički značajna razlika pH-vrijednosti sline djevojaka i dječaka na početku svih mjerenja. P-vrijednost iznosi 0,017267.

T-testom uočeno je i da se pH-vrijednost značajno razlikovala između skupina koje su jele čajne kolutiće i onih koje su jele med u E1 skupinama odmah nakon obroka, 15 i 30 minuta nakon obroka, a u E3 skupinama 15, 30 i 45 minuta nakon obroka. U ostalim skupinama i vremenskim intervalima nije prisutna značajna razlika u utjecajima čajnih kolutića i meda na pH-vrijednost sline.

Tablica 1 p-vrijednosti u usporedbi pH-vrijednosti sline skupina učenika koje su konzumirale med i čajne kolutiće.

Uspoređene skupine učenika	odmah nakon konzumacije	15 minuta nakon konzumacije	30 minuta nakon konzumacije	45 minuta nakon konzumacije
K-K	0,9530	0,6475	0,0927	0,2272
E1-E1	0,0099	0,0003	0,0194	0,2159
E2-E2	0,9811	0,4661	0,5054	0,8052
E3-E3	0,4582	0,0225	0,0227	0,0189

Zelenom bojom označene su značajne p-vrijednosti. Kontrolna skupina (K) prije obroka nije prala zube, skupina E1 je prala zube običnom četkicom i pastom za zube u trajanju od dvije minute, skupina E2 je uz četkanje pastom za zube dvije minute koristila i vodicu za pranje zuba bez alkohola prema uputama na proizvodu, skupina E3 je uz četkanje pastom za zube dvije minute koristila vodicu za pranje zuba s alkoholom u sastavu.

Nadalje, t-testom provjerena je značajnost razlike u pH-vrijednostima između K i E1, E1 i E2, i E2 i E3 skupina odvojeno za skupinu koja je jela čajne kolutiće i onu koja je jela med. Unutar skupine koja je jela čajne kolutiće nema značajne razlike u pH-vrijednosti odmah nakon jela ni za jednu eksperimentalnu skupinu, razlika u pranju samo s pastom i pranju s vodicom vidljiva je 15, 30 i 45 minuta nakon obroka, a s obzirom na prisutnost alkohola u vodicama za ispiranje, nema značajne razlike u pH-vrijednosti u bilo kojem intervalu.

Tablica 2 p-vrijednosti u usporedbi pH-vrijednosti sline skupina učenika koje su primijenile različite načine pranja zubi nakon konzumacije čajnih kolutića

Uspoređene skupine učenika	odmah nakon konzumacije	15 minuta nakon konzumacije	30 minuta nakon konzumacije	45 minuta nakon konzumacije
K-E1	0,2344	0,0882	0,0241	0,0261
E1-E2	0,6140	0,0006	0,0069	0,0306
E2-E3	0,9101	0,9321	0,8681	0,4606

Zelenom bojom označene su značajne p-vrijednosti. Kontrolna skupina (K) prije obroka nije prala zube, skupina E1 je prala zube običnom četkicom i pastom za zube u trajanju od dvije minute, skupina E2 je uz četkanje pastom za zube dvije minute koristila i vodicu za pranje zuba



bez alkohola prema uputama na proizvodu, skupina E3 je uz četkanje pastom za zube dvije minute koristila vodicu za pranje zuba s alkoholom u sastavu.

Unutar skupine koja je jela med, odmah nakon obroka uočena je značajna razlika u pH kod K, E1 i E2 skupina, no nema bitne razlike između E2 i E3 skupine. 15 minuta nakon obroka uočena je razlika između K i E1 skupine. U ostalim intervalima nema značajne razlike u pH-vrijednostima skupina.

Tablica 3 p-vrijednosti u usporedbi pH-vrijednosti sline skupina učenika koje su primijenile različite načine pranja zubi nakon konzumacije meda.

Uspoređene skupine učenika	odmah nakon konzumacije	15 minuta nakon konzumacije	30 minuta nakon konzumacije	45 minuta nakon konzumacije
K-E1	2,8486E-05	0,0126	0,1882	0,0871
E1-E2	0,03670	0,4525	0,1647	0,2494
E2-E3	0,8791	0,4069	0,5985	0,5144

Zelenom bojom označene su značajne p-vrijednosti. Kontrolna skupina (K) prije obroka nije prala zube, skupina E1 je prala zube običnom četkicom i pastom za zube u trajanju od dvije minute, skupina E2 je uz četkanje pastom za zube dvije minute koristila i vodicu za pranje zuba bez alkohola prema uputama na proizvodu, skupina E3 je uz četkanje pastom za zube dvije minute koristila vodicu za pranje zuba s alkoholom u sastavu.

RASPRAVA

Kao što je prikazano u prethodnom poglavlju, nakon provedenog istraživanja i analize dobivenih rezultata utvrđeno je da su početne pretpostavke povezane s promjenom pH vrijednosti sline nakon konzumacije čajnih kolutića i meda točne uz nekoliko odstupanja. Ponajprije, dvosmjernim statističkim t-testom u programu Excel uočena je statistički značajna razlika pH-vrijednosti sline djevojaka i mladića na početku svih mjerenja sukladno s hipotezom, a to se održalo i u većini skupina u drugim vremenskim intervalima s manjim odstupanjima. Mogući uzrok tomu je sporija brzina protoka sline i posljedično manja koncentracija hidrogenkarbonata kod žena zbog manje submandibularne žlijezde (najveći izvor nestimulirane sline) te ženski spolni hormon estrogen (Tolić, 2022).

Nadalje, nakon konzumiranja meda primijećena je veća pH-vrijednost odmah nakon, 15 i 30 minuta nakon obroka sukladno s hipotezom samo u skupini koja je prala zube pastom (E1), dok je u skupini koja je koristila i vodicu za ispiranje s alkoholom (E3) u istim intervalima primijećen viši pH kod skupine koja je jela čajne kolutiće. U kontrolnoj i E2 skupini nema značajne razlike. Navedeno opovrgava hipotezu da je pad pH kod svih skupina koje jedu čajne kolutiće veći u odnosu na one koji jedu med.

Rezultati potvrđuju iduću hipotezu prema kojoj je neutralizacija pH-vrijednosti sline najsporija kod kontrolne skupine, tj. u ostalim je skupinama u 45. minuti bila manja razlika pH-vrijednosti od početne. No, nakon 45 minuta, jedino u E1 i E2 skupini s medom te E3 skupini s čajnim kolutićima dolazi se do točne pH-vrijednosti kao i tijekom početnog mjerenja. Dakle, pH-vrijednost nije se vratila na početnu vrijednost u svim slučajevima te se ovdje uviđa metodološki nedostatak – pretpostavlja se da se trebalo dodati još jedno mjerenje nakon 45 minuta kojim bi se dobilo više vrijednosti jednakih početnim rezultatima. Slično je učinjeno u radu Jelineka i Radionova (1979), gdje su mjerene pH-vrijednosti sline desetogodišnjaka prije žvakanja, neposredno nakon njega te pola sata i sat vremena nakon, kada se slina nakon žvakanja jabuke i gume za žvakanje bez šećera (kod djevojčica) uspjela vratiti na početnu ili čak višu vrijednost. Nadalje, najveći pad pH-vrijednosti sline nije bio, u skladu s hipotezom, u najmanjem intervalu vremena, već 15 minuta nakon obroka.



Što se tiče razlika među skupinama ovisno o načinu pranja, skupina za koju se pretpostavljalo da će imati najmanji pad pH – skupina koja je prala zube pastom i vodicom s alkoholom (E3), imala je taj učinak samo u skupinama koje su jele čajne kolutiće, dok se u skupinama koje su jele med nije pokazao značajniji utjecaj u odnosu na druge dvije skupine manje temeljitosti pranja (E1 i E2 skupinu). Najveći pad zbio se i s keksima i s medom u kontrolnoj skupini te keksima u E1 skupini, čime se uspjelo dokazati da se različitim sredstvima za pranje prije obroka utječe na stanje, odnosno pH-vrijednost, u ustima poslije konzumiranja hrane. t-testom utvrđeno je da nakon konzumacije čajnih kolutića postoji značajna razlika u utjecaju na pH sline između skupine koja nije prala zube i one koja je prala zube pastom nakon 30 i 45 minuta, kao i između skupina koje su prale zube samo pastom i onih koje su koristile i vodicu za ispiranje bez alkohola nakon 15, 30 i 45 minuta. Nakon konzumacije meda postoji značajna razlika između kontrolne skupine i skupine koja je prala zube pastom odmah nakon i 15 minuta nakon obroka, a razlika između pranja zuba samo pastom i pastom i vodicom za ispiranje bez alkohola značajna je samo odmah nakon obroka. U obje skupine nema značajne razlike između vodice s alkoholom i bez alkohola nakon bilo kojeg intervala vremena.

Razlog većemu padu vrijednosti pH u nekim eksperimentalnim skupinama u odnosu na kontrolne može biti u lošoj kontroli uvjeta rada. Moguće je da ispitanici nisu pratili dane upute i da su jeli prije istraživanja. Također, jednoj grupi nije bio pokazan video o pravilnom pranju zuba neposredno prije samog mjerenja, već su video dobili unaprijed, jer se u vremenu dostupnom za provedbu istraživanja na satu ne bi stiglo i napraviti takav uvod i provesti sva mjerenja do kraja. Smatra se da je samostalna gledanost tog videa bila minimalna te se u drugim skupinama uspio svima pravovremeno pokazati taj video. Također, nije se uzimala u obzir temperatura uzorka. Kada bi se temperatura uzimala u obzir, moguće je da bi rezultati bili više u skladu s hipotezama jer ravnotežna pH-vrijednost uzorka nije ista pri različitoj temperaturi. Neki ispitanici nisu dali uzorak sline dovoljan da se pravilno uroni sonda pH metra, što je moglo utjecati na rezultate koje je pH metar pokazivao.

Dobivenim podacima uočava se da kisela hrana, kao što su bili čajni kolutići, ne snižava pH-vrijednost sline više od alkalnije hrane poput meda, nego i med može uzrokovati veće smanjenje pH-vrijednosti. Jedan od razloga zašto je med uzrokovao veće smanjenje pH-vrijednosti može biti to da je korišteni med prerađen, prodaje se u trgovinama i ne može se garantirati da nema dodanih šećera koji mogu utjecati na smanjenje pH (Bogdan, 2020).

Smatra se da bi više pretpostavki bilo potvrđeno kada bi uvjeti rada bili strože kontrolirani (nitko ne bi smio jesti 45 minuta prije mjerenja, jesti usred mjerenja i piti vodu usred mjerenja), kada bi sve skupine garantirano prije pranja zubi pogledale video o pravilnom pranju zubi, kada bi svaki ispitanik sakupio dovoljnu količinu sline, kada bi se u obzir uzela i temperatura i koristila sposobnost pH metra da istovremeno mjeri temperaturu i pH-vrijednost, i kada bi se u eksperimentu koristio domaći, a ne kupovni med.

Mikrobiota usne šupljine je nakon crijevne mikrobiote druga po raznolikosti mikroorganizama u tijelu te je za samo zdravlje usne šupljine bitna oralna higijena. Ako se ona održava, smanjuje se rizik od pojave karijesa, a posljedično i od sistemskih bolesti poput infektivnog endokarditisa i apscesa u mozgu i jetri do kojih može doći ako takva mikrobiota usne šupljine uđe u krvotok čovjeka zbog infekcija i upala desni koje uzrokuje karijes (Antal, 2019). Ako bi se željelo spriječiti veće sniženje pH-vrijednosti,



bilo bi dobro prati zube prije doručka ujutro te nikako ne do 30 minuta nakon jer je tad prisutna najveća kiselost koja bi mogla itekako naštetiti zubnoj caklini u kombinaciji s četkanjem. Trebalo bi čekati barem pola sata nakon jela kada se postupno neutralizira kiselost i razgradi šećer iz hrane.

ZAKLJUČCI

Na osnovu provedenog istraživanja doneseni su slijedeći zaključci:

Pri pripremi zaključaka u obliku natuknica treba slijediti stil *Natuknice* i pridržavati se slijedećih uputa:

- ☞ Temeljnost pranja zuba pokazala je značajan utjecaj na pad pH-vrijednosti samo nakon konzumacije keksa.
- ☞ Samo poslije konzumacije keksa, došlo je do potpune neutralizacije pH-vrijednosti sline nakon 45 minuta kod skupine koja je prala zube pastom i alkoholnom vodicom.
- ☞ Samo poslije konzumacije keksa, pranje zuba pastom i alkoholnom vodicom uzrokovalo je najmanji pad pH-vrijednosti sline.
- ☞ Keksi nisu uzrokovali značajnije veće sniženje pH-vrijednosti sline od meda.
- ☞ Djevojke svih skupina su i prije jela i tijekom većine drugih intervala imale statistički značajno nižu pH-vrijednost sline od mladića.

ZAHVALA

Želimo zahvaliti našoj mentorici profesorici Romani Halapir-Franković na podršci tijekom izrade ovoga istraživanja kao i svim našim kolegama na sudjelovanju u istraživanju i pomoći prilikom mjerenja pH-vrijednosti uzoraka.

LITERATURA

- Antal I., Jelić M., Sila S., Kolaček S., Andrašević A. 2019. Ljudska mikrobiota i mikrobiom. Klinika za infektivne bolesti „Dr. Fran Mihaljević“, Zagreb i Klinika za dječje bolesti, Zagreb, <https://hrcak.srce.hr/file/319582>, pristupljeno 5. 3. 2023.
- Bogdan I. 2020. Uloga suplemenata i prehrambenih proizvoda u kvalitetnom osiguranju acido-baznog statusa organizma, <https://zir.nsk.hr/islandora/object/unin%3A3183/datastream/PDF/view>, pristupljeno 18. 4. 2023.
- Božikov J., Ciglar I., Škaljac-Staudt G., Šutalo J. 1991. Slina kao činilac karijes rizika u bolesnika od šećerne bolesti. Sveučilište u Zagrebu, Stomatološki fakultet, Zavod za dentalnu patologiju, <https://hrcak.srce.hr/file/148550>, pristupljeno 20. 1. 2023.
- Gović T. 2017. Citotoksični i genotoksični učinak zubnih pasta s fluorom i bez fluora na stanicama bukalne sluznice. Sveučilište u Splitu, Medicinski fakultet, diplomski rad, file:///C:/Users/ucenik/Downloads/govic_tanja_mefst_2017_diplo_sveuc.pdf, pristupljeno 20. 1. 2023.
- Jelinek E., Radionov D. 1979. Djelovanje jabuka i guma za žvakanje na pH sline. Sveučilište u Zagrebu, Stomatološki fakultet, Zavod za dječju i preventivnu stomatologiju, <https://hrcak.srce.hr/file/155746>, pristupljeno 20. 1. 2023.
- Konta R. 2018. Aktivnost salivarne alfa amilaze u zdravoj populaciji adolescenata. Sveučilište u Splitu, Sveučilišni odjel zdravstvenih studija, završni rad, <https://urn.nsk.hr/urn:nbn:hr:176:296636>, pristupljeno 26. 1. 2023.
- Kratohvil A. 2018. Bolesti žlijezda slinovnica. Sveučilište u Zagrebu, Stomatološki fakultet, diplomski rad, <https://repositorij.sfzg.unizg.hr/islandora/object/sfzg%3A521/datastream/PDF/view>, pristupljeno 20. 1. 2023.
- Marić I. 2015. Tumori žlijezda slinovnica. Sveučilište u Zagrebu, Medicinski fakultet, diplomski rad, <https://urn.nsk.hr/urn:nbn:hr:105:066410>, pristupljeno 20. 1. 2023.
- Radović A. 2020. Utjecaj fizioloških faktora na pojavu kristala u slini. Sveučilište u Zagrebu, Stomatološki fakultet, diplomski rad, <https://repositorij.sfzg.unizg.hr/islandora/object/sfzg%3A753/datastream/PDF/view>, pristupljeno 5. 3. 2023.
- Tolić A. 2022. Primjena Ramanove spektroskopije u forenzici za analizu sline. Sveučilište u Zagrebu, Prirodoslovno-matematički fakultet, https://www.pmf.unizg.hr/_download/repository/Tolic_Ana%2C_KS1.pdf, pristupljeno 28. 1. 2023.

Ovisnost brzine vizualnih i slušnih reakcija o korištenju dominantne i nedominantne ruke te o spolu kod srednjoškolskih učenika

Klara Huzak, 3. razred

XV. gimnazija, Zagreb

Mentor: *Mihaela Marceljak Ilić*

SAŽETAK

Vrijeme reakcije važno je u raznim aspektima ljudskog života poput vožnje automobila, sportova i razgovora. Provedena su neka istraživanja na tu temu, ali zbog svoje kompleksnosti, većina se zaključaka ne poklapa, čak su ponekad i kontradiktorna, što ostavlja znanstvenike zbunjene, a temu vremena reakcije i kako na njega utječu određeni čimbenici nedovoljno istraženom. Cilj ovog istraživanja je usporediti vrijeme reakcije na vizualni i na slušni podražaj zasebno, u dječaka i djevojčica, ljevaka i dešnjaka kod korištenja dominantne i nedominantne ruke na uzorku srednjoškolaca. U tu svrhu anketirano je 155 učenika jedne srednje škole. Utvrđeno je kojeg su spola i jesu li dešnjaci ili ljevaci te je izmjereno njihovo vrijeme reakcije na vizualni i slušni podražaj prvo reagirajući desnom, pa lijevom rukom. Pokazano je da dječaci značajno brže reagiraju na vizualni podražaj dominantnom nego nedominantnom rukom te značajno brže reagiraju na vizualni podražaj dominantnom rukom od djevojčica. Također, pokazano je da ljevaci značajno brže reagiraju od dešnjaka na slušni podražaj. Iako je ovo istraživanje provedeno na relativno malom uzorku srednjoškolaca, zaključci bi trebali barem djelomice doprinijeti istraživanju ove kompleksne teme.

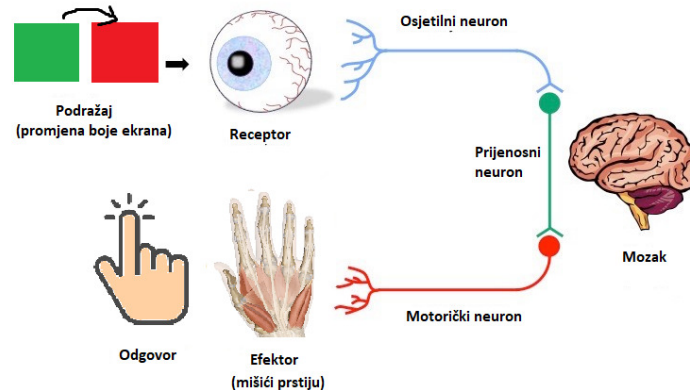
Ključne riječi: vrijeme reagiranja, vizualni podražaj, slušni podražaj

UVOD

Vrijeme reakcije isprepliće se s našim svakidašnjim životom, a gotovo i ne primjećujemo njegovu važnost i ulogu koju nam predstavlja. Svako hvatanje lopte, svaki razgovor, vožnja automobila i kuhanje bilo bi otežano da nemamo brzo vrijeme reakcije. U raznim situacijama može spasiti život, naš ili tuđi, te predstavlja posebnu važnost sportašima i profesionalnim igračima videoigara.

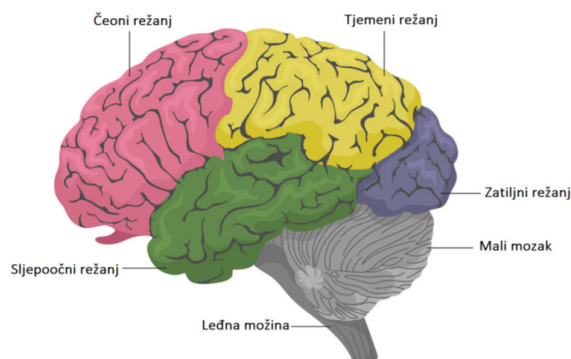
Vrijeme reakcije je mjera brzine kojom organizam reagira na određeni podražaj. Definira se kao vremenski interval između pojave podražaja i trenutka reakcije na taj podražaj (Jain i sur., 2015). Istraživanja su pokazala da u reakciji na podražaj najveću ulogu imaju vizualna i slušna percepcija podražaja iz okoline. Njihova zajednička značajka je sposobnost određivanja brzine i smjera objekta koji se kreće, poput automobila koji prolazi ulicom (Lewis i sur., 2000). Vizualni i slušni sustavi rade odvojeno te i u kombinaciji jedan s drugim kako bi izvodili unutarnje i vanjske radnje tijela. Ponekad su odgovori na svjetlo ili zvuk jednostavni i smatraju se refleksima. Drugi putovi sadrže više neurona i zahtijevaju više obrade u višim moždanim centrima (Haen Whitmer, 2021). Pritom neuroni prenose informacije između stanica receptora (stanica koje primaju podražaj) i stanica efektora (stanica koje odgovaraju na podražaj).

Na primjeru jednog od pokusa koji je proveden u ovome istraživanju, objasniti će se senzomotorni put za voljni odgovor na podražaj čiji se grafički prikaz može vidjeti na slici 1. Kada uoči crvenu boju na ekranu, osoba mora pritisnuti ekran prstom. Fotoreceptori u oku primaju svjetlosne podražaje iz okoline (uoče promjenu boje ekrana). Podražaj se prenosi osjetnim neuronima do mozga koji obrađuje informaciju i daje uputu kako djelovati. Informacija se šalje motoričkim živcima prema mišićnim stanicama ruke koje reagiraju na podražaj dodiranjem ekrana mobilnog telefona (Čačev i sur., 2020).

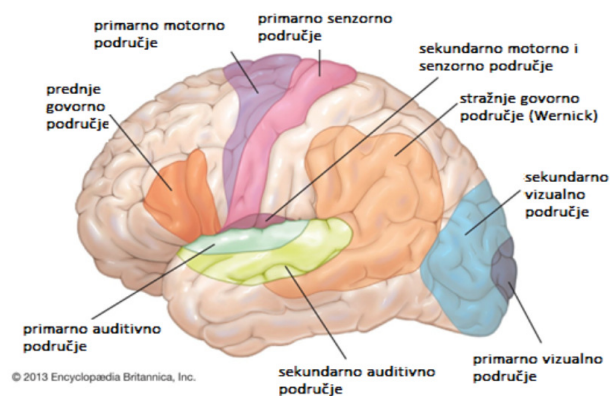


Slika 1 Shematski prikaz senzomotornog puta za voljni odgovor na podražaj (Prilagođeno prema: Taylor, 2019)

Za razliku od reagiranja na vizualne podražaje, u reakciji na zvuk sudjeluju slušni receptori koji reagiraju na zvučne valove. Druga razlika je što potpuno drugi dio mozga sudjeluje u obradi informacija i slanju upute. Različiti dijelovi mozga sudjeluju u reakciji na podražaje ovisno o samom podražaju. Kora (korteks) velikog mozga dubokim je brazdama podijeljena u režnjeve (čeonni, tjemeni, sljepoočni i zatiljni) i u njemu se nalaze mnogobrojni primarni i sekundarni motorni, senzorni i asocijacijski centri, kao i složeni centri za podražaje (Proleksis enciklopedija, 2012). Vizualne informacije se iz mrežnice prenose do primarnog vidnog korteksa koji se nalazi u zatiljnom režnju u stražnjem dijelu glave (vidi sliku 2 i 3). Zatiljni režanj je najvažniji za vid i vizualnu obradu. Zvučni valovi putuju od uha do primarnog slušnog korteksa koji se nalazi u sljepoočnom režnju mozga (slika 2 i 3). Slušni korteks sortira, obrađuje, tumači i arhivira informacije o zvuku (Britannica, 2020).



Slika 2 Dijelovi mozga: veliki mozak podijeljen na režnjeve, mali mozak i leđna moždina (Izvor: Johns Hopkins Medicine, bez dat.)



Slika 3 Funkcionalna područja ljudskog mozga (Izvor: Britannica, 2020)

Danas postoji nekoliko istraživanja koja uspoređuju brzine reakcije na vizualne i slušne podražaje, no svi njihovi rezultati se ne poklapaju. Zaključak većine istraživanja je da slušni podražaj brže dolazi do područja u mozgu koji ga obrađuje nego vizualni, iako svjetlo brže putuje od zvuka. Zato je i vrijeme reakcije na slušne podražaje brže nego na vizualne. Rezultati istraživanja Kemp (1973) pokazuju da je slušnom podražaju potrebno samo 8-10 ms da dođe do mozga, a vizualnom podražaju treba 20-40 ms. U istraživanju koje su proveli Thompson i sur. (1992), dokumentirano je da je srednje vrijeme reakcije na vizualne podražaje približno 180-200 ms, dok je za zvuk oko 140-160 ms. S druge strane, postoje i



istraživanja, na primjer Yagi i sur. (1999), koja pokazuju suprotno, odnosno da je vrijeme reakcije na vizualne podražaje brže nego na slušne.

Kroz različita istraživanja su dokazani i razni čimbenici koji utječu na ljudsko vrijeme reakcije; uključuju dob, spol, korištenje dominantne ili nedominantne ruke, inteligenciju, vježbu, središnji ili periferni vid, fizičku aktivnost i druge (Jain i sur., 2015). Međutim, većina istraživanja fokusira se na dob i količinu tjelesne aktivnosti zbog posebne važnosti koje ta dva faktora pridonose sportašima, zanemarujući ostale čimbenike. Uz to, ne postoji puno istraživanja koja se provode na uzorku srednjoškolaca.

Direktnu usporedbu vremena reakcije na vizualne i slušne podražaje nije moguće sprovesti u ovome istraživanju zbog karakteristike mjernog instrumenta. Ispitanici bi morali koristiti slušalice za slušni test, a pri njihovom korištenju dolazi do pojave audio latencije. Audio latencija je vrijeme koje je potrebno da se audio signal prenese s izvornog uređaja na slušalice. Što je veća latencija zvuka, to je zvuk više odgođen. Žične slušalice imaju latenciju zvuka 5-10 ms, a bežične 32-300 ms (Kadrija, 2022). Zato vrijeme reakcije na slušne podražaje ima pomak u vremenu koji nije usporediv sa vremenom reakcije na vizualne podražaje koji nema ni približno tako velik pomak, ali je moguće uspoređivati vremena reakcije na slušni podražaj među grupama (odabrani čimbenici).

Već poznata istraživanja poput rada Chouamo i sur. (2020) su pokazala da je vrijeme reakcije dominantne ruke kraće nego kod nedominantne ruke. Neuron koji prenosi poruku između ruke i mozga brže prenosi elektrokemijske signale za dominantnu ruku s obzirom na to da se ona češće koristi.

Iako ga većina ne navodi kao čimbenik koji utječe na ljudsko vrijeme reakcije, neka su istraživanja pokazala razliku u vremenu reakcije desnjaka i ljevaka. Rezultati se doduše razlikuju. Na primjer u istraživanju Nunan (2010) vrijeme reakcije u desnjaka je bilo brže nego u ljevaka za razliku od istraživanja Cherbuin i Brinkman (2006) gdje nije nađena značajna razlika. Ti su rezultati, tvrde dr. Cherbuin i Brinkman (2006), bili začuđujući s obzirom na razlike u morfologiji i strukturi žuljevita tijela ljevaka. Žuljevito tijelo je središnji dio velikoga mozga izgrađen od vlakana poprečnoga smjera koja povezuju jednake točke desne i lijeve polutke mozga. Ljevacima je više simetričan i veći, a time je izgrađen od većeg broja poprečnih vlakana među hemisferama mozga zbog kojih bi vrijeme reakcije na podražaje trebalo biti kraće (Bartholomew, 2021).

Što se tiče usporedbe vremena reakcije ovisno o spolu, većina istraživanja, poput istraživanje Lipps i sur. (2011), pokazuje da su motoričke reakcije muškaraca brže nego kod žena, iako je vrijeme kontrakcije mišića u oba spola jednako. Znači muškarci će brže reagirati i na vizualne i na slušne podražaje nego žene. Pokazano je da se ta razlika sve više smanjuje zbog sve većeg broja žena koje se bave sportovima koji zahtijevaju brzu reakciju i koje voze automobil. Zato što je ovo istraživanje provedeno na odraslim muškarcima i ženama postavlja se pitanje odnose li se takvi rezultati i na srednjoškolce? Ali i sur. (2018) su u svom radu uvidjeli kako je starenjem vrijeme reakcije sve sporije zbog prekida moždanih veza, posebno nakon 24. godine, iako razlike u vremenu reakcije između različitih dobnih skupina nisu prevelike. To dovodi do zaključka da srednjoškolci brže reagiraju od odraslih. S druge strane, neka su istraživanja poput rada Thompson i sur. (2014) pokazala kako hormonske promjene imaju većinski negativan utjecaj na mozak, ali kako određeni hormoni mogu štititi neurone, poput estrogena. Djeca u srednjoškolskoj dobi još uvijek rastu i mijenjaju se, te su skloni



raznim naglim hormonskim promjenama koje bi mogle utjecati na strukturu moždanih stanica, a time i njihovo vrijeme reakcije.

Zbog nedoumica među znanstvenicima ovim istraživanjem se želi istražiti koji je zaključak ispravan i svojim podacima i zaključcima pridonijeti ovome znanstvenome području istraživanja.

Cilj ovog istraživanja je usporediti vrijeme reakcije zasebno na vizualni i na slušni podražaj dječaka i djevojaka, ljevaka i dešnjaka kod korištenja dominantne i nedominantne ruke na uzorku srednjoškolaca.

Temeljem proučavanja literature postavljene su sljedeće hipoteze:

- ☞ Reakcija dječaka na oba podražaja je brža nego kod djevojaka.
- ☞ U oba spola reakcija na oba podražaja je brža pri služenju dominantnom rukom.
- ☞ Ljevac reagiraju brže na oba podražaja neovisno o spolu.

METODE

Istraživanje je provedeno na ukupno 155 učenika jedne srednje škole, 65 djevojaka i 89 dječaka (i jedan učenik koji nije naznačio spol). Svim učenicima je dana anonimna online anketa napravljena u programu Google Forms na linku: <https://forms.gle/nT7W8vmc2Uv5Cjo69>. Anketa je rješavana tijekom nastave u razdoblju od 14-16 sati na mobilnim telefonima. Anketa je podijeljena na 2 dijela. U prvom dijelu ispitanik je spol, koje vrste slušalica su korištene za test reakcije na slušne podražaje (bežične, žične ili nisu korištene), dominantna ruka (dešnjaci ili ljevac) te procjena vidno auditornih problema i mogućeg daltonizma skalom od 1 (najbolje stanje) do 3 (najgore stanje). Drugi dio testa sastojao se od rješavanja i 2 testa kojima je mjereno vrijeme njihove reakcije na vizualne i slušne podražaje.

Obzirom da je za istraživanje bitan vid, sluh i raspoznavanje crvene i zelene boje, anketom dobiveni podatci ispitanika koji imaju izrazito loš vid i sluh i ne raspoznaju crvenu i zelenu nisu korišteni u ovome istraživanju.

Test na vizualne podražaje

Prvim testom je mjereno vrijeme reakcije na vizualne podražaje. Korišten je program sa stranice Human Benchmark (Human Benchmark, 2007). Test je izrađen tako da nakon nekog kratkog vremena ekran početno crvene boje promijeni boju u zelenu. Kada je primijećena promjena boje, ispitanik mora kliknuti na ekran. Program je računao vrijeme koje je prošlo od promjene boje do reagiranja ispitanika.

Test na slušne podražaje

Drugim testom je mjereno vrijeme reakcije na slušne podražaje. Korišten je program sa stranice playback.fm (playback.fm, 2022). Test je izrađen na način da se nakon nekog kratkog vremena čuje zvuk. Kada ga ispitanik čuje mora kliknuti na ekran. Program je računao vrijeme koje je prošlo od puštanja zvuka do reagiranja ispitanika. Pri rješavanju testa učenici su većinom koristili slušalice kako bi bili koncentrirani samo na zvuk na koji trebaju reagirati. Oni koji ih nisu imali su koristili dezinficirane posuđene žičane slušalice ili su rješavali test bez slušalica sami u sobi bez ometajućih zvukova.

Svaki učenik je adaptiran na test vježbom od 5 početnih pokušaja koja nisu ulazila u uzorak. Nakon adaptacije na test, ispitanik je pet puta mjerio vrijeme reakcije desnom rukom, pa 5 puta s lijevom rukom. Program je računao srednju vrijednost tih vremena. Na taj su način za svaki test dobivena 2

podatka po učeniku: srednja vrijednost vremena reakcije na vizualne ili slušne podražaje učenika desnom i srednja vrijednost vremena reakcije na vizualne ili slušne podražaje učenika lijevom rukom.

Metode obrade i prikaza podataka

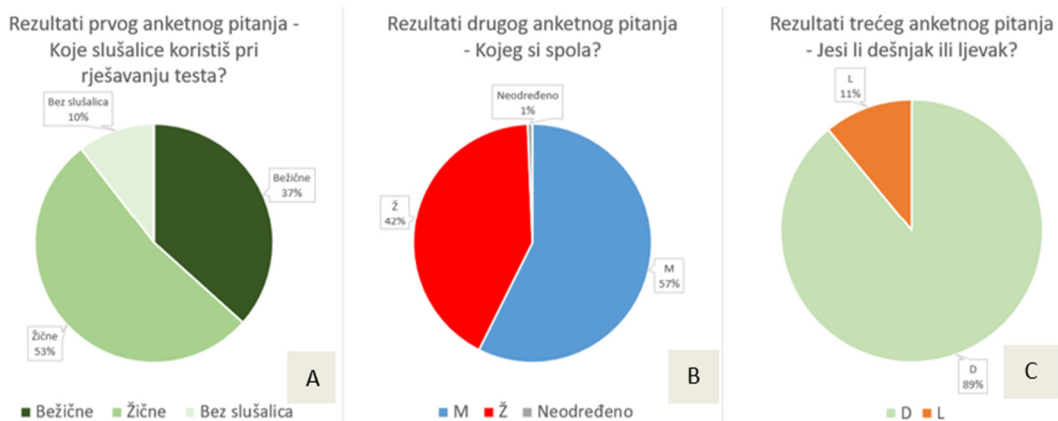
U istraživanju su gledani uzorci svih učenika te poduzorci dječaka i djevojaka. Iz svakog uzorka i poduzorka učenika računate su: aritmetičke sredine i standardne devijacije svih varijabli (reakcije na vizualni podražaj dominantnom rukom, reakcije na vizualni podražaj nedominantnom rukom, reakcije na slušni podražaj dominantnom rukom i reakcije na slušni podražaj nedominantnom rukom).

Podatci su prikazani grafički histogramom. U istraživanju su korišteni nezavisni uzorci (dječaka i djevojaka) i uzorci uparenih podataka (vremena reakcije dominantne i nedominantne ruke istog učenika na vizualni i posebno na slušni podražaj). Nezavisni uzorci su uspoređeni njihovim histogramima. Kod uparenih podataka računate su razlike podataka paru, a zatim aritmetičke sredine tih razlika i njihove standardne devijacije te su prikazane grafički histogramom. Upareni podatci uspoređeni su histogramom njihovih razlika.

Postavljene hipoteze testirane su standardnim parametarskim statističkim z-testom, verzije za uparene podatke i nezavisne uzorke (Social science statistics, 2023). Budući da su uzorci relativno veliki, primjena tog testa je primjerena. Testiranje je sprovedeno na razini značajnosti od 5 %.

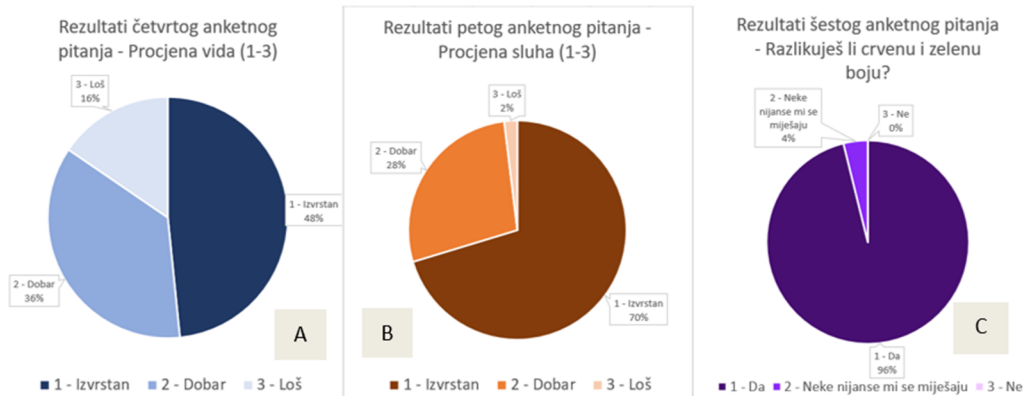
REZULTATI

U prvom dijelu ankete učenici su bili pitani šest pitanja koja pokazuju strukturu uzorka (Prilog 1). Kroz prvo pitanje ankete utvrđeno je i prikazano na slici 4A da je 36,1 % učenika koristilo je bežične slušalice, 52,3 % žične, a 11,6 % nije koristilo slušalice. Podatci dobiveni drugim pitanjem prikazani su na slici 4B i prikazuju da je 57,4 % učenika muškog spola, 41,9 % ženskog, a 0,7 % učenika nije označilo spol (oni nisu bili uzeti u obzir kod usporedbe vremena reakcije ovisno o spolu). Trećim pitanjem dobiveno je i prikazano na slici 4C da je 89,0 % učenika dešnjaka, a 11,0 % ljevaka.



Slika 4 Rezultati odgovora na 1.-3. anketno pitanje

Rezultati četvrtog pitanja pokazuju da 48,3 % vidi izvrsno, 36,1 % dobro, a 15,6 % loše (Slika 5A). Petim pitanjem je utvrđeno da 70,3 % učenika čuje izvrsno, 27,7 % dobro, a 2,0 % učenika loše. Grafički su prikazani rezultati na slici 5B. Šestim pitanjem dobiveni su i prikazani na slici 5C podatci da 96,1 % učenika razlikuje crvenu od zelene, a 3,9 % učenika se neke nijanse miješaju. U uzorku ne postoji učenik koji u potpunosti ne razlikuje crvenu i zelenu boju.



Slika 5 Rezultati odgovora na 4.-6. anketno pitanje

U drugom dijelu ankete (Prilog 2 i 3) dobivena su vremena reakcija na vizualni i slušni podražaj, posebno lijevom i desnom rukom. Na temelju tih podataka dobiveni su sljedeći rezultati.

Razlike u vremenu reakcije dominantne i nedominantne ruke

Da bi se mogli usporediti vremena reakcija na podražaje dominantnom i nedominantnom rukom, tretirali smo podatke vremena reakcije dominantne i nedominantne ruke kao upareni podatak. Iz toga je izveden novi podatak za svakog od ispitanika koji je jednak razlici vremena reakcije dominantne ruke i nedominantne ruke (D-ND). Statistička analiza je sprovedena na tako dobivenim izvedenim podacima.

U tablici 1 prikazani su obrađeni podatci o razlikama u brzini reakcije pri korištenju dominantne ili nedominantne ruke za oba spola i podražaja. Za svaki od promatranih poduzoraka, vrijednosti aritmetičke sredine razlika dominantne i nedominantne ruke su uglavnom negativne. Standardne devijacije podataka su uglavnom istog reda veličine. Navedene su vrijednosti testnih statistika z-testa (verzija za uparene podatke) te odgovarajuće p-vrijednosti. Test je proveden pod nul-hipotezom da je srednja vrijednost razlike vremena reakcije dominantnom i nedominantnom rukom jednaka nuli. Rezultati ukazuju na to da je dominantna ruka u dječaka značajno brža od nedominantne pri reakciji na vizualne podražaje ($p\text{-}z < 0,05$, tablica 1). Uspoređujući vrijeme reakcije dominantnom i nedominantnom rukom dječaka pri slušnom podražaju i djevojčica na oba podražaja, zaključujem da u tim slučajevima dominantna ruka nije značajno brža od nedominantne ($p\text{-}vrijednosti > 0,05$; tablica 1).

Tablica 1 Razlika u vremenu reakcije dominantne i nedominantne ruke (D-ND) ovisno o spolu i podražaju

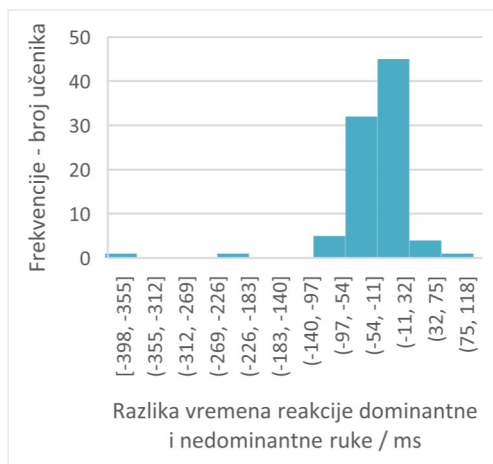
	Spol			
	Muški		Ženski	
Broj učenika	89		65	
Podražaj	Vizualni	Slušni	Vizualni	Slušni
Aritmetička sredina / ms	-13,8090	-12,0674	-0,2923	-15,4154
Standardna devijacija / ms	54,2601	91,2824	40,0822	136,4445
z-test	-2,4009	-1,2472	-0,0588	-0,9109
p-v-z	0,0082	0,1062	0,4766	0,1812

Na histogramima (slike 6 - 9) prikazana je frekvencijska razdioba grupiranih podataka po intervalima vrijednosti izvedene varijable D-ND.

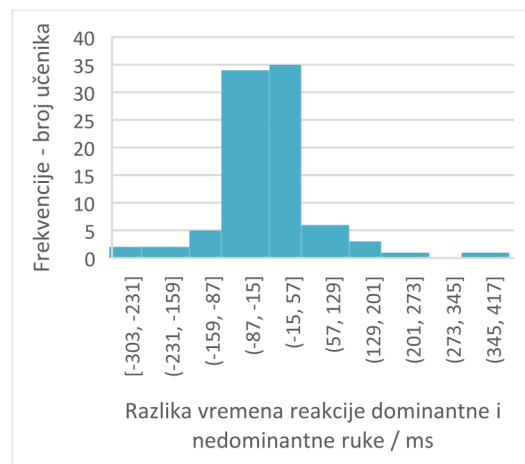
Slika 6 prikazuje histogram razlike vremena reakcije dječaka dominantnom i nedominantnom rukom na vizualne podražaje. Vrijednosti podataka variraju od -398 do 118 ms. Većina dječaka ima bržu

dominantnu od nedominantne ruke. Najviše dječaka ima razliku vremena reakcije u rasponu vrijednosti od -11 do 32 ms.

Na slici 7 prikazan je histogram razlike vremena reakcije dječaka dominantnom i nedominantnom rukom na slušne podražaje. Podatci se nalaze u rasponu od -303 do 417 ms. Dominantna ruka je kod većine dječaka malo brža nego nedominantna. Najviše dječaka ima razliku vremena reakcije u rasponu vrijednosti od -87 do 57 ms.



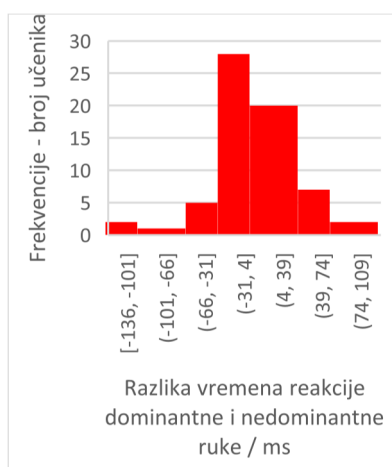
Slika 6 Histogram razlike vremena reakcije dječaka dominantnom i nedominantnom rukom (D-ND) na vizualne podražaje



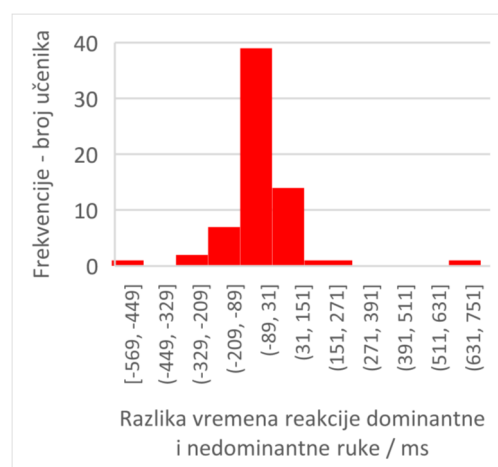
Slika 7 Histogram razlike vremena reakcije dječaka dominantnom i nedominantnom rukom (D-ND) na slušne podražaje

Prikaz histograma razlike vremena reakcije djevojaka dominantnom i nedominantnom rukom na vizualne podražaje nalazi se na slici 8. Podatci variraju u rasponu od -136 do 109 ms. Na prvi pogled ne može se reći prevladavaju li pozitivne ili negativne vrijednosti, odnosno da je jedna ruka brža od druge. Najviše djevojaka ima razliku vremena reakcije u rasponu vrijednosti od -31 do 39 ms.

Na slici 9 je prikaz histograma razlike vremena reakcije djevojaka dominantnom i nedominantnom rukom na slušne podražaje. Podatci se nalaze u rasponu od -569 do 751 ms. Na prvi pogled ne može se reći prevladavaju li pozitivne ili negativne vrijednosti, odnosno da je jedna ruka brža od druge. Najviše djevojaka ima razliku vremena reakcije u rasponu vrijednosti od -89 do 31 ms.



Slika 8 Histogram razlike vremena reakcije djevojaka dominantnom i nedominantnom rukom (D-ND) na vizualne podražaje



Slika 9 Histogram razlike vremena reakcije djevojaka dominantnom i nedominantnom rukom (D-ND) na slušne podražaje

Vremena reakcija dječaka i djevojaka (dominantnom rukom)

Tablica 2 prikazuje aritmetičke sredine i standardne devijacije vremena reakcija ovisno o spolu i podražaju. Uspoređujući samo aritmetičke sredine za oba podražaja, dječaci su pri korištenju svoje dominantne ruke brži od djevojaka (pri reakcijama na vizualni podražaj su brži za 20,8 ms, a na slušni podražaj za 41,9 ms). Standardne devijacije podataka su i za vizualne i za slušne podražaje za oba spola istog reda veličine, ali za slušne podražaje prikazuju puno veću raspršenost podataka.

Tablica 2 Vremena reakcije na podražaje dominantnom rukom muških i ženskih ispitanika

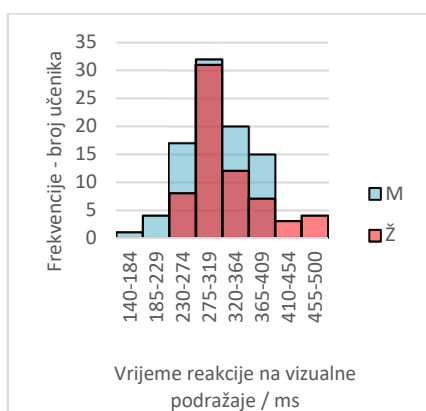
	Spol			
	Muški		Ženski	
Broj učenika	89		65	
Podražaj	Vizualni	Slušni	Vizualni	Slušni
Aritmetička sredina / ms	306,2921	585,3820	327,1077	627,2615
Standardna devijacija / ms	50,8217	215,9695	56,3333	204,4798

Usporedba vremena reakcije na podražaje dominantnom rukom muških i ženskih ispitanika prikazana je u tablici 3. Navedene su vrijednosti testnih statistika z-testa (verzija za nezavisne uzorke) te odgovarajuće p-vrijednosti. Test je proveden pod nul-hipotezom da je srednja vrijednost vremena reakcije dječaka dominantnom rukom jednaka vremenu reakcije djevojaka dominantnom rukom. Dominantna ruka je značajno brža u dječaka nego djevojaka pri reagiranju na vizualne podražaje ($p\text{-}z < 0,05$ u tablici 3). U slučaju reakcije na slušne podražaje dominantna ruka nije značajno brža u dječaka ($p\text{-}z > 0,05$; tablica 3).

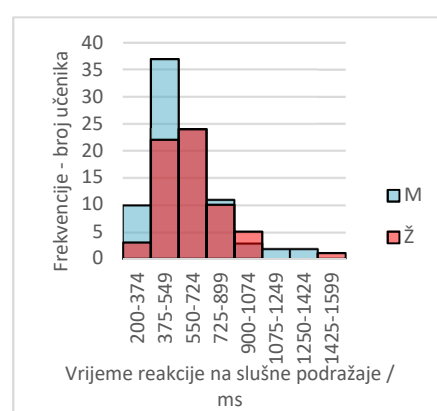
Tablica 3 Usporedba vremena reakcije na podražaje dominantnom rukom muških i ženskih ispitanika

	Podražaj	
	Vizualni	Slušni
z-test	-2,3593	-1,2258
p-v-z	0,0092	0,1102

Na slici 10 uspoređeni su histogrami frekvencijskih razdioba grupiranih podataka po intervalima vrijednosti vremena reakcije na vizualne podražaje u dječaka (plavi) i u djevojaka (crveni). Opaža se da je lijevi rep distribucije kod plavog histograma više pomaknut ulijevo (više učenika s vrlo brzim vremenom reakcije), a kod crvenog histograma je razvučeniji desni rep (više učenika s vrlo sporim vremenom reakcije), ali se većinski poklapaju.



Slika 10 Usporedba histograma vremena reakcije na vizualne podražaje dominantnom rukom u djevojaka (Ž) i dječaka (M)



Slika 11 Usporedba histograma vremena reakcije na slušne podražaje dominantnom rukom u djevojaka (Ž) i dječaka (M)



Na slici 11 uspoređeni su histogrami frekvencijskih razdioba grupiranih podataka po intervalima vrijednosti vremena reakcije na slušne podražaje u dječaka (plavi) i u djevojaka (crveni). Plavi histogram prikazuje frekvencijsku razdiobu grupiranih podataka po intervalima vrijednosti vremena reakcije na slušne podražaje u dječaka, a crveni u djevojaka. Ovdje se histogrami gotovo poklapaju. U oba slučaja je desni rep distribucije razvučeniji (postoji značajan broj učenika oba spola sa vrlo sporim vremenom reakcije).

Vremena reakcija dešnjaka i ljevaka (dominantnom rukom, neovisno o spolu)

Tablica 4 prikazuje aritmetičke sredine i standardne devijacije vremena reakcije dešnjaka i ljevaka na vizualne i slušne podražaje. Za oba podražaja, ako gledamo aritmetičke sredine, ljevaci su brži (u reakciji na vizualni podražaj za 12,6 ms, a na slušni za 81,3 ms). Standardne devijacije podataka su i za vizualne i za slušne podražaje za dešnjake i ljevake istog reda veličine, ali za slušne podražaje prikazuju puno veću raspršenost podataka.

Tablica 4 Vremena reakcije na podražaje dominantnom rukom dešnjaka i ljevaka

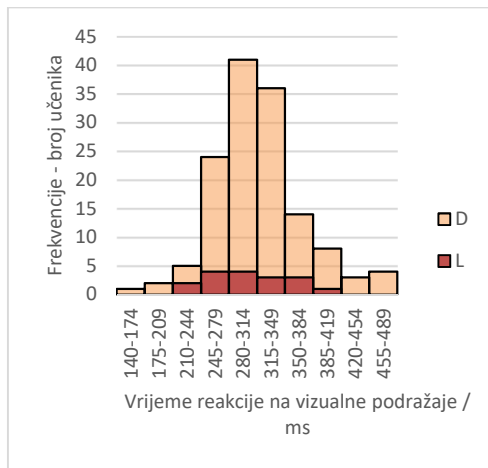
	Dešnjaci		Ljevaci	
	Vizualni	Slušni	Vizualni	Slušni
Broj učenika	138		17	
Podražaj	Vizualni	Slušni	Vizualni	Slušni
Aritmetička sredina / ms	316,2101	612,3188	303,6471	531,0000
Standardna devijacija / ms	54,3658	216,1816	50,4950	147,1594

Usporedba vremena reakcije na podražaje dominantnom rukom dešnjaka i ljevaka prikazana je u tablici 5. Navedene su vrijednosti testnih statistika z-testa (verzija za nezavisne uzorke) te odgovarajuće p-vrijednosti. Test je proveden pod nul-hipotezom da je srednja vrijednost vremena reakcije dešnjaka dominantnom rukom jednaka vremenu reakcije ljevaka dominantnom rukom. Vrijeme reakcije na vizualni podražaj dešnjaka nije značajno brži od ljevaka ($p\text{-}z > 0,05$ vidi tablicu 5). U drugom slučaju z-test pokazuje da je vrijeme reakcije dešnjaka na slušni podražaj značajno kraće od vremena reakcije ljevaka ($p\text{-}z < 0,05$, vidi tablicu 5).

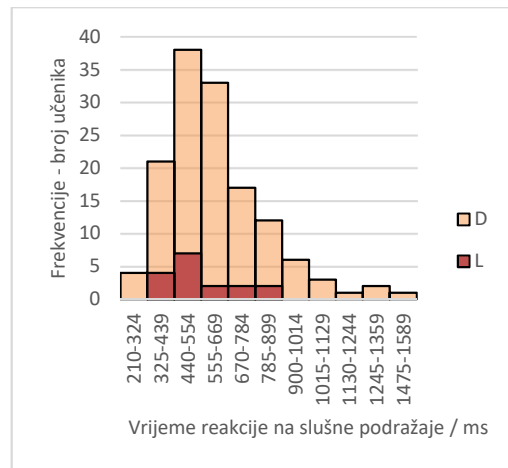
Tablica 5 Usporedba vremena reakcije na podražaje dominantnom rukom dešnjaka i ljevaka

	Podražaj	
	Vizualni	Slušni
z-test	-0,9596	-2,0251
p-v-z	0,1686	0,0214

Na slici 12 prikazani su histogrami vremena reakcija na vizualni podražaj u ljevaka (tamno smeđi) i dešnjaka (svijetlo smeđi). Zbog malenog broja ljevaka naspram broja dešnjaka, frekvencije tamno smeđeg histograma su znatno niže. Bez obzira na to, grafovi se uglavnom poklapaju. Raspon podataka za dešnjake je veći nego za ljevake, odnosno histogram dešnjaka preklapa histogram ljevaka.



Slika 12 Usporedba histograma vremena reakcije na vizualne podražaje dominantnom rukom u dešnjaka (D) i lijevaka (L)



Slika 13 Usporedba histograma vremena reakcije na slušne podražaje dominantnom rukom u dešnjaka (D) i lijevaka (L)

Na slici 13 prikazani su histogrami vremena reakcija na slušni podražaj u lijevaka (tamno smeđi) i dešnjaka (svijetlo smeđi). Zbog malenog broja lijevaka naspram broja dešnjaka frekvencije tamno smeđeg histograma su znatno niže. Bez obzira na to, grafovi se uglavnom poklapaju. Raspon podataka za dešnjake je veći nego kod lijevaka, odnosno histogram dešnjaka preklapa histogram lijevaka. Uočava se asimetrija oba histograma, desni rep distribucije je razvučeniji što znači da ima znatan broj dešnjaka i lijevaka sa vrlo sporim vremenom reakcije.

RASPRAVA

Rezultati ovog istraživanja uspoređeni su sa rezultatima istraživanja drugih znanstvenika kako bi se došlo do određenih zaključaka vezanih uz postavljene hipoteze.

Yang i sur. (2021) su proveli slično istraživanje uspoređujući razliku vremena reakcije dominantne i nedominantne ruke kod vizualnog i slušnog podražaja, no nisu našli značajnu razliku među njima. S druge strane, u radu Chouamo i sur. (2020) pri usporedbi vremena reakcije na taktilni podražaj ispitanici oba spola bili su brži pri korištenju dominantne ruke (kod muškaraca je dominantna za 25,0 ms brža, a kod žena za 40,5 ms). Iako se u ovom istraživanju radi o drugoj vrsti podražaja, podatci istraživanja pokazuju također brže vrijeme reakcije dominantnom rukom kod oba spola i podražaja, ali jedino kod vremena reakcije na vizualne podražaje dječaka je ta razlika značajna. Stoga se može zaključiti da je vrijeme dječaka na vizualni podražaj značajno kraće pri služenju dominantnom nego nedominantnom rukom.

U istraživanju Jain i sur. (2015) dobiveni su rezultati da su muškarci pri korištenju svoje dominantne ruke i za vizualne i za slušne podražaje značajno brži od žena. Iako je i ovo istraživanje pokazalo da dječaci brže reagiraju dominantnom rukom na vizualni i slušni podražaj od djevojaka, ta je razlika značajna samo za vizualni podražaj. Na usporednom histogramu vremena reakcija na vizualne podražaje dječaka i djevojaka dominantnom rukom uočavamo da znatno veći broj dječaka ima brže vrijeme reakcije dok znatan broj djevojaka ima sporije vrijeme reakcije, iako se histogrami većinski poklapaju. To upućuje na razliku u distribuciji vremena reakcije dominantnom rukom na vizualni podražaj dječaka i djevojaka. Ta činjenica također ide u prilog odbacivanja nul-hipoteze, odnosno u korist alternativnoj hipotezi da je reakcija dječaka na vizualni podražaj brža nego kod djevojaka.



Cherbuin i Brinkman (2006) u svom istraživanju navode da ne postoji značajna razlika u vremenu reakcije u dešnjaka i ljevaka na isti podražaj, usprkos njihovoj početnoj hipotezi da su ljevaci brži od dešnjaka. Njihovi dobiveni rezultati se uglavnom podudaraju sa rezultatima ovog istraživanja koje je pokazalo da su ljevaci značajno brži od dešnjaka, ali samo pri slušnom podražaju. Budući da je poduzorak ljevaka relativno mali i p-vrijednost je vrlo blizu granične vrijednosti od 0,05, može se s oprezom zaključiti da je dobivena razlika značajna.

Uspoređivanjem rezultata ovog istraživanja s literaturom o istraživanom području i drugim radovima, mogu se navesti mogući razlozi za dobivene rezultate. Lipps i sur. (2011) u svome istraživanju zaključuju da su motoričke reakcije muškaraca brže nego kod žena. Svoje motoričke sposobnosti unaprjeđujemo što češćim ponavljanjem istih pokreta kako bi naše tijelo sljedeći put na njih brže reagiralo. Ponavljajuće radnje koje grade naše motoričke sposobnosti najčešće se javljaju pri treningu sporta, ali i kada na primjer učestalo tipkamo po tipkovnici računala. Općenito veći broj dječaka se aktivno i intenzivno bavi sportom od djevojaka što je moguć razlog njihovog bržeg vremena reakcije na vizualne podražaje (Torres Burtka, 2019). Uz to, pogotovo u srednjoj školi u kojoj informatički smjer upisuju uglavnom učenici muškog spola, očekivano je da će većinski dječaci koji ju pohađaju imati brze motoričke sposobnosti, a zatim i brže vrijeme reakcije.

Razlog bržeg vremena reakcije dječaka dominantnom rukom na vizualni podražaj je najvjerojatnije u tome što ju oni zbog gore navedenih razloga češće koriste. Neuronima tada brže prenose elektrokemijske signale putem od mozga do dominantne ruke (Chouamo i sur., 2020).

Istraživanje je pokazalo da su ljevaci značajno brži u reakciji na podražaje od dešnjaka, a moguć razlog tomu je dokazana različita morfologija i struktura žuljevita tijela u ljevaka (veći je i simetričniji). Zbog toga sadrži veći broj poprečnih vlakana među hemisferama mozga zbog kojih bi reakcije na podražaje trebale biti brže (Cherbuin i Brinkman, 2006).

Odstupanja rezultata ovog istraživanja u odnosu na druga objavljena istraživanja moguća su zbog odabira drugačije metode i mjernog instrumenta te razlike u njegovoj preciznosti, ali i različite veličine uzorka i poduzoraka. Također, većina navedenih istraživanja proučavala je vremena reakcije na odraslim osobama, a budući da je dob jedan od faktora koji utječe na vrijeme reakcije na podražaj i to je moguć razlog za razlike u rezultatima.

Iako je uzorak dosta reprezentativan za populaciju srednje škole u kojoj je istraživanje provedeno, zbog relativno male veličine uzorka mogući su neprecizni rezultati (to se posebno očituje kod poduzorka ljevaka). Idealno, kako bi se umanjile nepreciznosti u rezultatima, uzorci bi bili trebali biti veći i poduzorci po mogućnosti usporedivih veličina.

Također, iz razloga što anketu nije bilo moguće kontrolirano provesti na način da svi ispitanici rješavaju test vremena reakcije na slušne podražaje bez slušalica, barem je pokušano dobiti približno jednak broj učenika koji koriste žične ili uopće ne koriste slušalice i onih koji koriste bežične slušalice kako bi se umanjio utjecaj tog kofaktora na ukupni srednji rezultat. Zbog postojanja audio latencije, s oprezom moramo pristupiti analizi vremena za slušne podražaje za svaku grupu posebno, ali još uvijek možemo uspoređivati vremena reakcije na slušni podražaj među grupama (spol, dominantno-nedominantno, ljevaci-dešnjaci).



ZAKLJUČCI

Na temelju dobivenih rezultata moguće je zaključiti sljedeće:

- ☞ dječaci značajno brže reagiraju na vizualni podražaj dominantnom nego nedominantnom rukom,
- ☞ kod vremena reakcije dječaka na slušne podražaje i djevojaka na vizualne i slušne podražaje nema značajne razlike u reakciji dominantnom i nedominantnom rukom,
- ☞ dječaci značajno brže reagiraju na vizualni podražaj dominantnom rukom od djevojaka,
- ☞ nije pokazana značajna razlika u vremenu reakcije dječaka i djevojaka na slušni podražaj,
- ☞ nije pokazana značajna razlika u vremenu reakcije dešnjaka i ljevaka na vizualni podražaj,
- ☞ ljevaci značajno brže reagiraju na slušni podražaj dominantnom rukom od dešnjaka.

LITERATURA

- Ali S. A., Begum T., Reza F. 2018. Hormonal Influences on Cognitive Function. *The Malaysian journal of medical sciences* 25(4): 31–41.
- Bartholomew R. 2021. Are left-handed people smarter? *LiveScience*. <https://www.livescience.com/are-left-handed-people-smarter>, pristupljeno 22.4.2023.
- Britannica, The Editors of Encyclopaedia. 2020. Wernicke area. *Encyclopedia Britannica*. <https://www.britannica.com/science/Wernicke-area>, pristupljeno 4.1.2023.
- Cherbuin N., Brinkman C. 2006. Hemispheric interactions are different in left-handed individuals. *Neuropsychology* 20(6): 700–707.
- Chouamo A.K., Griego S., Lopez F.A.S. 2020. Reaction time and hand dominance. *Journal of Science and Medicine* 3(Special Issue): 1-7.
- Čačev T., Horvat B., Ivandić A., Korač Šubaša A., Marceljak Ilić M. 2020. Eukariotske stanice u višestaničnim organizmima, Kondžoman A. (ur.), *Biologija 3 – udžbenik biologije u 3. razredu gimnazije*. Profil Klett, Zagreb, str. 99.
- Haen Whitmer K.M. 2021. *A Mixed Course-Based Research Approach to Human Physiology*. Iowa State University Digital Press. <https://iastate.pressbooks.pub/curehumanphysiology/chapter/auditory-and-visual-pathways/>, pristupljeno 4.1.2023.
- HB 2007. Reaction time test. *Human Benchmark*. <https://humanbenchmark.com/tests/reactiontime>, pristupljeno 26.8.2022.
- Jain A., Bansal R., Kumar A., Singh K.D. 2015. A comparative study of visual and auditory reaction times on the basis of gender and physical activity levels of medical first year students. *Int J Appl Basic Med Res*. 5(2): 124-127.
- JHM (bez dat.). *Brain Anatomy and How the Brain Works*. Johns Hopkins Medicine. <https://www.hopkinsmedicine.org/health/conditions-and-diseases/anatomy-of-the-brain>, pristupljeno 9.1.2023.
- Kadrinja E. 2022. Sound Delay in Headphones? (Here's the FIX!). *These Gadgets*. <https://www.thesegadgets.com/sound-delayed-in-headphones-fix/#:~:text=The%20time%20it%20takes%20for,latency%20of%2032%2D300%20ms,> pristupljeno 8.3.2023.
- Kemp B. J. 1973. Reaction time of young and elderly subjects in relation to perceptual deprivation and signal-on versus signal-off conditions. *Developmental Psychology* 8(2): 268–272.
- Lewis J.W., Beauchamp M.S., DeYoe E.A. 2000. A Comparison of Visual and Auditory Motion Processing in Human Cerebral Cortex. *Cerebral Cortex* 10(9): 873-888.
- Lipps D.B., Galecki A.T., Ashton-Miller J.A. 2011. On the Implications of a Sex Difference in the Reaction Times of Sprinters at the Beijing Olympics. *PLoS one* 6(10). e26141. <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/22039438/>, pristupljeno 4.1.2023.
- Nunan C. 2010. The effect of handedness on interhemispheric interaction in a simple reaction time task. *The Plymouth Student Scientist* 3(1): 142-162.
- PBF (bez dat.). *Test Your Reaction Speed to Sound*. Playback.fm. <https://playback.fm/audio-reaction-time>, pristupljeno 26.8.2022.
- PE 2012. Korteks. *Proleksis enciklopedija*. <https://proleksis.lzmk.hr/56466/>, pristupljeno 4.1.2021.



SSS 2023. Science calculators. Social Science Statistics.

<https://www.socscistatistics.com/tests/>, pristupljeno 22.1.2023.

Taylor T. 2019. Muscles of the Hand and Wrist. Innerbody.

https://www.innerbody.com/image_skel13/ligm27.html, pristupljeno 9.1.2023.

Thompson J.J., Blair M.R., Henrey A.J. 2014. Over the hill at 24: persistent age-related cognitive-motor decline in reaction times in an ecologically valid video game task begins in early adulthood. *PLoS one* 9(4): e94215. <https://journals.plos.org/plosone/article?id=10.1371/journal.pone.0094215>, pristupljeno 22.1.2023.

Thompson P.D., Colebatch J.G., Brown P., Rothwell J.C., Day B.L., Obeso J.A. i sur. 1992.

Voluntary stimulus-sensitive jerks and jumps mimicking myoclonus or pathological startle syndromes. *Mov Disord* 7: 257–62.

Torres Burtka A. 2019. Girls Play Sports Less Than Boys, Miss Out On Crucial Benefits. *Global Sport*

Matters. <https://globalsportmatters.com/youth/2019/10/11/girls-play-sports-less-than-boys-miss-out-on-crucial-benefits/>, pristupljeno 8.3.2023.

Yagi Y., Coburn K. L., Estes K. M., Arruda J. E. 1999. Effects of Aerobic Exercise and Gender

on Visual and Auditory P300, Reaction Time, and Accuracy. *European Journal of Applied Physiology* 80: 402- 408.

Yang Y., Weiss P.H., Fink G.R. i sur. 2021. Hand preference for the visual and auditory modalities in

humans. *Sci Rep* 11: 7868. <https://www.nature.com/articles/s41598-021-87396-4>, pristupljeno 8.3.2023.

PRILOZI

Prilog 1 Prvi dio ankete u Google Forms prikazana na računalu.

Usporedno istraživanje vremena reakcije na vizualne i slušne podražaje	
<p>Prijavite se na Google da biste spremili svoj napredak. Saznajte više</p> <p>Opći podatci o učenicima/učenicima</p>	
<p>Koristiš li trenutno bežične ili žičane slušalice?</p> <p><input type="radio"/> Bežične</p> <p><input type="radio"/> Žičane</p> <p><input type="radio"/> Ne koristim slušalice</p>	<p>Imaš li problema sa vidom? (procijeni na skali od 1-3)</p> <p><input type="radio"/> 1 - Izvršno vidim</p> <p><input type="radio"/> 2 - Dobro vidim</p> <p><input type="radio"/> 3 - Loše vidim</p>
<p>Kojeg si spola?</p> <p><input type="radio"/> M</p> <p><input type="radio"/> Ž</p>	<p>Imaš li problema sa sluhom? (procijeni na skali od 1-3)</p> <p><input type="radio"/> 1 - Izvršno čujem</p> <p><input type="radio"/> 2 - Dobro čujem</p> <p><input type="radio"/> 3 - Loše čujem</p>
<p>Jesi li dešnjak ili lijevak?</p> <p><input type="radio"/> D</p> <p><input type="radio"/> L</p>	<p>Razlikuješ li crvenu i zelenu? (procijeni na skali od 1-3)</p> <p><input type="radio"/> 1 - Da</p> <p><input type="radio"/> 2 - Neke nijanse mi se miješaju</p> <p><input type="radio"/> 3 - Ne</p>

Prilog 2 Drugi dio ankete, test reakcije na vizualne podražaje u Google Forms prikazana na računalu.

Test vremena reakcije na vizualne podražaje (i dešnjaci i lijevci DESNOM RUKOM)	Test vremena reakcije na vizualne podražaje (i dešnjaci i lijevci LIJEVOM RUKOM)
<p>UPUTE: Priloženi link vodi na program koji će ispitati tvoje vrijeme reakcije na vizualni podražaj. Tvoj zadatak je kliknuti na ekran kada promijeni boju iz crvene u zelenu svojom DESNOM rukom.</p> <p>1. Rezultat dobitan nakon prvih 5 pokušaja, samo je za vježbu. NE UPISUJ TAJ REZULTAT.</p> <p>2. UPIŠI REZULTAT prikazan na ekranu nakon sljedećih 5 mjerenja kao ODGOVOR NA PITANJE ISPOD.</p> <p>LINK: https://humanbenchmark.com/tests/reactiontime</p>	<p>UPUTE: Priloženi link vodi na program koji će ispitati tvoje vrijeme reakcije na vizualni podražaj. Tvoj zadatak je kliknuti na ekran kada promijeni boju iz crvene u zelenu svojom LIJEVOM rukom.</p> <p>1. Rezultat dobitan nakon prvih 5 pokušaja, samo je za vježbu. NE UPISUJ TAJ REZULTAT.</p> <p>2. UPIŠI REZULTAT prikazan na ekranu nakon sljedećih 5 mjerenja kao ODGOVOR NA PITANJE ISPOD.</p> <p>LINK: https://humanbenchmark.com/tests/reactiontime</p>
<p>Koliko iznosi tvoje vrijeme reakcije na vizualni podražaj desnom rukom (upiši broj bez mjerne jedinice)?</p> <p>Vaš odgovor _____</p>	<p>Koliko iznosi tvoje vrijeme reakcije na vizualni podražaj lijevom rukom (upiši broj bez mjerne jedinice)?</p> <p>Vaš odgovor _____</p>

Prilog 3 Drugi dio ankete, test reakcije na slušne podražaje u Google Forms prikazana na računalu.

Test vremena reakcije na slušne podražaje (i dešnjaci i lijevci DESNOM RUKOM)	Test vremena reakcije na slušne podražaje (i dešnjaci i lijevci LIJEVOM RUKOM)
<p>UPUTE: Priloženi link vodi na program koji će ispitati tvoje vrijeme reakcije na slušni podražaj. Tvoj zadatak je kliknuti na ekran svojom DESNOM rukom kada čuješ zvuk.</p> <p>1. Rezultat dobitan nakon prvih 5 pokušaja, samo je za vježbu. NE UPISUJ TAJ REZULTAT.</p> <p>2. UPIŠI REZULTAT prikazan na ekranu nakon sljedećih 5 mjerenja kao ODGOVOR NA PITANJE ISPOD.</p> <p>LINK: https://playback.fm/audio-reaction-time</p>	<p>UPUTE: Priloženi link vodi na program koji će ispitati tvoje vrijeme reakcije na slušni podražaj. Tvoj zadatak je kliknuti na ekran svojom LIJEVOM rukom kada čuješ zvuk.</p> <p>1. Rezultat dobitan nakon prvih 5 pokušaja, samo je za vježbu. NE UPISUJ TAJ REZULTAT.</p> <p>2. UPIŠI REZULTAT prikazan na ekranu nakon sljedećih 5 mjerenja kao ODGOVOR NA PITANJE ISPOD.</p> <p>LINK: https://playback.fm/audio-reaction-time</p>
<p>Koliko iznosi tvoje vrijeme reakcije na slušni podražaj desnom rukom (upiši broj bez mjerne jedinice)?</p> <p>Vaš odgovor _____</p>	<p>Koliko iznosi tvoje vrijeme reakcije na slušni podražaj lijevom rukom (upiši broj bez mjerne jedinice)?</p> <p>Vaš odgovor _____</p>

Usporedba utjecaja ekstrakata sjemenki grejpa, eteričnog ulja čajevca i propolisa te sintetskog antibiotika ampicilina na razmnožavanje bakterija i gljivica

Jan Vlahinić, 3. razred

Gimnazija Andrije Mohorovičića Rijeka, Rijeka

Mentor: Tvrtko Buger

SAŽETAK

Antibiotici su lijekovi koji se koriste za liječenje bolesti uzrokovanih bakterijama. Sintetski antibiotici imaju neželjene nuspojave, a jedna od njih su gljivične infekcije. Kao moguća alternativa sintetskim antibioticima, sve se češće istražuju i primjenjuju prirodni antibiotici. Cilj ovoga znanstvenog istraživanja je ispitivanje razlike učinkovitosti prirodnih i sintetskog antibiotika na rast bakterije *Escherichia coli* i gljivice *Candida albicans*. U ovom istraživanju bila je korištena metoda kultura stanica, a analiza podataka vršena je mjerenjem promjera zone inhibicije rasta bakterija i gljivica. Sintetski antibiotik, korišten u istraživanju, bio je ampicilin, a prirodni antibiotici koji su bili korišteni su: propolis, ekstrakt sjemenki grejpa i eterično ulje čajevca. Rezultati istraživanja ukazuju kako su korištenjem „suhih“ diskova dobiveni precizniji rezultati zbog smanjene mogućnosti od izlivanja antibiotika pri polaganju na podlogu. Najveću učinkovitost protiv bakterije *Escherichia coli* pokazao je prirodni antibiotik čajevac s učinkovitosti od 125,00 % u odnosu na ampicilin, a najmanju propolis s učinkovitošću od 0 %. U djelovanju na rast gljivice *Candida albicans* najučinkovitiji bio je prirodni antibiotik citrofit s učinkovitošću od 465,50 %, a najmanje učinkovit propolis s 147,83 %. Time je dokazano, u skladu s očekivanjem, da je sintetski antibiotik ampicilin minimalno ili potpuno neučinkovit u zaustavljanju rasta gljivice *Candida albicans*. Dobiveni podaci važni su zbog mogućeg sprječavanja neželjenog širenja gljivica u ljudskome tijelu uzrokovane upotrebom sintetičkih antibiotika, samostalno ili istovremenom, uporabom prirodnih antibiotika.

Ključne riječi: ampicilin, ekstrakt sjemenki grejpa, eterično ulje čajevca, propolis, bakterijske i gljivične infekcije

UVOD

Bedenić (2009) navodi kako su antibiotici lijekovi koji se koriste za liječenje bolesti uzrokovanih bakterijama na način da koče i zaustavljaju razvoj bakterija (bakteriostatski učinak) ili ih ubijaju (baktericidni učinak). Njihovi principi djelovanja najčešće se temelje na: napadanju stanične membrane bakterija, ometanju njihove reprodukcije te blokiranju proizvodnje proteina u bakterijama (www.healthline.com, 2022a). Najstariji zapisi, o korištenju smjesa sličnih antibioticima, jesu zapisi drevnih Egipćana i Grka koji bilježe uporabu smjesa antimikrobnih svojstava za liječenje infekcija (www.news-medical.net, 2022). Prvi znanstveno dokazani antibiotik otkrio je škotski bakteriolog Alexander Fleming 1928. godine. Primijetio je da su kolonije bakterija, koje su rasle u Petrijevoj zdjelici, bile pod nepovoljnim utjecajem neke tvari, te je istraživao uzrok tog utjecaja. Rast bakterija bio je inhibiran pomoću plijesni kistac (*Penicillium notatum*) koja je kontaminirala uzgajanu kulturu zlatnog stafilokoka (*Staphylococcus aureus*) (Gaynes, 2017).

Kurylowicz i sur. (1975) dijeli antibiotike prema podrijetlu, pa antibiotici mogu biti mikrobnog podrijetla, koji se dalje dijeli na bakterijsko, gljivično i *Actinomyces* podrijetlo, te polusintetsko i sintetsko podrijetlo. Chandel i Budinger (2013) navode kako je primjena antibiotika izrazito široka, zbog velikog broja pozitivnih učinaka, kao što je: značajno smanjivanje smrtnosti od zaraznih bolesti, smanjenje stope smrtnosti od ozljeda i komplikacija nakon operacija, te pomaganje u uporabi lijekova protiv npr. autoimunih bolesti i karcinoma. Sintetski antibiotici mogu imati neočekivane i neželjene učinke. Primjerice, mogu povećati odgovor na već poznati učinak lijeka, imunosni odgovor organizma na lijek ili njegove proizvode metabolizma i toksični učinak lijeka ili njegova metabolita o čemu govore



Chandel i Budinger (2013) i Krajinović (2017). Prilikom korištenja antibiotika moguće su alergijske reakcije koje se kod nekih antibiotika, kao što su penicilini, cefalosporini i karbapenemi, često pojavljuju (www.plivazdravlje.hr, 2009). Može se pojaviti i negativan utjecaj antibiotika na rad mitohondrija i učinkovitost procesa staničnog disanja (Kalghatgi i sur., 2013). Jedna od bitnih nuspojava antibiotika je povećanje osjetljivosti na pojavu bolesti uzrokovanih gljivičnim infekcijama te smanjenje otpornosti organizma, odnosno imunološkog odgovora organizma, prema gljivičnoj infekciji posebice u crijevima (Drummond i sur., 2022). Drummond i sur. (2022) uočili su da upotreba antibiotika kod miševa povećava osjetljivost na gljivičnu infekciju, zbog oslabljene imunološke (protugljivične) reakcije unutar crijeva. U istom radu su primijetili i kako ova pojava nastaje i kao posljedica ubijanja bakterija crijevne mikroflore, čime se može uzrokovati neravnoteža bakterija u tijelu, što može dovesti do problema u probavnom sustavu čovjeka.

Bakterija *Escherichia coli* izabrana je zbog česte prisutnosti u ljudskome organizmu u kojemu živi u mutualizmu s čovjekom u crijevima, ali često uzrokuje bolesti, ako se raširi u susjedne organe, kao što su: upala mokraćnog sustava, probavne smetnje i trovanje hranom, a također je i izrazito brza u razmnožavanju, što smanjuje vrijeme uzgoja (Pei i Schmidt, 2018; www.healthline.com, 2021b). Soj ATCC 25922 često je korišten soj za kontrolu kvalitete, posebno u testovima osjetljivosti na antibiotike i izvorno je izoliran iz kliničkog uzorka ljudi prikupljenog u Seattleu (1946.) (Minogue i sur., 2014). S druge strane, gljivica *Candida albicans* je izabrana zbog prisutnosti u ljudskome organizmu u kome uzrokuje razne vrste infekcija nakon pada imuniteta (Mayer i sur., 2013). Gljivice *Candida* najčešći su gljivični patogeni koji uzrokuju bolesti stečene u bolničkom okruženju (Rodríguez-Leguizamón i sur., 2015). Postoji više od 20 vrsta gljivica *Candida* koje mogu uzrokovati infekciju u ljudi, ali većinu infekcija uzrokuje *Candida albicans*, *C. glabrata*, *C. parapsilosis* i *C. tropicalis* (www.niaid.nih.gov, 2022). Soj ATCC 90028 korišten je u članku autora Fang i sur. (2006) gdje se ispitivao učinak šest antibakterijskih sredstava na šest patogenih bakterija povezanih s oralnim zaraznim bolestima.

Anmol i sur. (2021) uočili su kako se grejp (*Citrus grandis*) naširoko uzgaja u mnogim zemljama zbog svojih velikog broja funkcionalnih, nutritivnih i bioloških svojstva. Farmakološki aktivne tvari grejpa uključuju flavonoide, polifenole, kumarine, limonoide, akridonske alkaloidne, eterična ulja i vitamine. Bogat je hranjivim tvarima, a sadrži i minerale poput kalcija, fosfora, natrija i kalija, koji pomažu u održavanju pravilnog zdravlja i rasta kostiju, kao i ravnoteže elektrolita u tijelu. Sjemenke grejpa, od kojih se dobiva ekstrakt (citrofit), sadrže biološki aktivne tvari limolim i nomilin.

Carson i sur. (2006) uočili su kako se eterično ulje čajevca koristi gotovo 100 godina u Australiji, a sada je dostupno diljem svijeta kao čisto ulje te kao aktivna komponenta u nizu proizvoda. Primarna upotreba ulja čajevca povijesno se temeljila na antiseptičkom i protuupalnom djelovanju ulja. Eterično ulje čajevca se sastoji od terpenkih ugljikovodika i povezanih alkohola. Dokazano je kako eterično ulje čajevca narušava strukturu i funkcionalnost membrane bakterije *Escherichia coli*. Slični efekt uočen je i kod gljivice *Candida albicans*.

Braakhuis (2019) uočava kako je propolis sličan medu sa zdravstvenim prednostima kao što su poboljšanje imuniteta, sniženje krvnog tlaka, liječenje alergija i stanja kože. Propolis sadrži fenolne kiseline, flavonoide, estere, diterpene, seskviterpene, lignane, aromatske aldehide, alkohole, aminokiseline, masne kiseline, vitamine i minerale. Budući da je funkcija propolisa održavanje sterilnosti i zdravlja košnice, zaštitna svojstva bioaktivnih tvari koje se nalaze u propolisu mogu pružiti



značajne dobrobiti za ljudsko zdravlje. Aktivne tvari unutar propolisa utječu na bakterijsku aktivnost i rast, te sprječavaju diobu bakterijskih stanica.

Zbog navedenih negativnih učinaka sintetskih antibiotika, ali i zbog pojave rezistencije na antibiotike, povećava se broj istraživanja alternativnih rješenja za zamjenu sintetskih antibiotika. U najvećem udjelu to su istraživanja na bakterijama *Escherichia coli* (Przybyłek i Karpińskog, 2019). Navedeni autori su u svom preglednom radu uočili antibakterijske učinke propolisa nakon testiranja na više od 600 sojeva bakterija u različitim istraživanjima. Carson i sur. (2006) u svome preglednom radu analizirali su mnoge studije koje su istraživale učinkovitost eteričnog ulja čajevca te su zaključili kako ima antibakterijska svojstva. Hegggers i sur. (2002) dokazali su efikasnost ekstrakta sjemenki grejpa na deset gram negativnih i gram pozitivnih bakterija (uključujući i bakteriju *Escherichia coli*) u raznim koncentracijama. Xu i sur. (2007) dokazali su antibakterijska svojstva ekstrakta sjemenki grejpa na bakterijama *Escherichia coli*, *Salmonella typhimurium* i *Listeria monocytogenes*, a Han i sur. (2021) su dokazali antibakterijska svojstva na bakteriji *Staphylococcus aureus* koja je rezistentna na više sintetskih antibiotika.

Cerqueira i sur. (2022) u svom preglednom članku zaključili su na temelju više znanstvenih studija da propolis posjeduje protugljivična svojstva na najučestalije gljivice koje su uzročnici kožnih bolesti. Krajewska-Kuľak i sur. (2001) dokazali su protugljivična svojstva na više različitih sojeva gljivice *Candida*. Cvetnić i Knežević (2004) uočili su antimikrobna svojstva ekstrakta sjemenki grejpa. Tan i sur. (2015) istraživali su protugljivična svojstva ekstrakta sjemenki grejpa u svrhu pakiranja hrane. Hammer i sur. (2004) uočili su protugljivična svojstva eteričnog ulja čajevca na gljivicu *Candida albicans*. Marcos-Tejedor i sur. (2020) istražili su protugljivična svojstva eteričnog ulja čajevca na gljivicama *Trichophyton rubrum* i *Trichophyton mentagrophytes* koje uzrokuju infekcije noktiju, dok su Singhania i sur. (2022) dokazali učinak eteričnog ulja čajevca na sprječavanje prijanjanja gljivica *Candida albicans* na proteze.

Cilj ovoga znanstvenog istraživanja je ispitivanje učinka prirodnih i sintetskog antibiotika na bakterije *Escherichia coli* te na preživljenje i razmnožavanje gljivica *Candida albicans*.

Pretpostavka ovog znanstvenog istraživanja bila je da prirodni antibiotici imaju slična baktericidna svojstva kao i sintetski antibiotici u borbi protiv bakterija *Escherichia coli*, ali da prirodni antibiotici manje pogoduju razmnožavanju gljivica *Candida albicans* od sintetskih. Od velikog broja prirodnih pripravaka koji se koriste u borbi protiv bakterijskih infekcija mogu se spomenuti oni koji se najčešće koriste i istražuju, a to su: propolis, eterično ulje čajevca, ekstrakt sjemenki grejpa, ulje češnjaka, ulje divljeg origana (*Origanum vulgare*), ekstrakt roda *Echinacea*, med, kurkuma te mnogi drugi.

Tema je odabrana zbog zanimanja za učinkovitost prirodnih antibiotika koji se rjeđe koriste u svakodnevnom životu, te zbog nedovoljne informiranosti opće populacije o njihovoj mogućoj uporabi. Vjerojatno je to razlog zašto se u medicini manje koriste, a pri propisivanju antibiotika najčešće se ne naglašava roditeljima važnost crijevne mikroflore, koja uporabom antibiotika može uzrokovati gljivične infekcije. Glavni razlozi zanimanja za ovu temu jesu nedovoljna svijest opće populacije o učincima antibiotika na naše tijelo, pretjerana i neopravdana upotreba antibiotika, te česte pogrešne informacije koje se mogu naći i na internetu i među ljudima.



METODE

Materijali i pribor koji su bili korišteni u provedbi istraživanja su: destilirana voda, hranjivi agar (proizvođač: *Biolife*, naziv: *Nutrient agar with NaCl*, rok trajanja do 30.08.2025.), tikvica (sterilna, volumen: 2000 mL), menzura (sterilna, volumen: 1000 mL), vaga (proizvođač: *Mettler toledo*, model: ME802, preciznost: $\pm 0,01$ g), autoklav (proizvođač: *Systec*, model: VE-65, zapremina: 73 L), destilator (proizvođač: *Koncept media*, zapremina: 16 L), vodena kupelj za epruvete (proizvođač: *Iniko*, model: VK3ERP, zapremina: 50 L), Petrijeve zdjelice (sterilne, 90 mm x 14 mm), plamenik (plinski, proizvođač: *Interga*, naziv: *Flameboy*, model: 145000), frižider (od 4 °C do 7 °C, odstupanje: ± 3 °C), laboratorijska čaša (sterilne, volumen: 200 mL), mikrobiološke ušice (eze, sterilne), povećalo, kulture *Escherichia coli* (soj: ATCC 25922), kulture *Candida albicans* (soj: ATCC 90028), inkubator (proizvođač: *Blinder*, Serijski broj: 11-15927, 35 °C, odstupanje: ± 4 °C), epruvete (sterilne), fiziološka otopina (kupljena), *Mcfarland* standard 0.5 (proizvođač: *bioMérieux*, naziv: *Mcfarland* standard, bakterijska koncentracija: 150×10^6 mL⁻¹), električni vibrator za epruvete (proizvođač: *technoKartell*, model: TK3S), brisni štapići (sterilni), marker, diskovi (sterilni), diskovi s ampicilinom (masa ampicilina: 2 µg), ekstrakt sjemenki grejpa (proizvođač: *BioRama*, naziv: *Citrofit*, volumen: 100 mL, sastojci: voda, citrus grandis ekstrakt 44% (od čega je aktivno 27%), biljni glicerol), eterično ulje čajevca (proizvođač: *N Elements*, naziv: *Eterično ulje-čajevac*, volumen: 10 mL, sastojci: *Melaleuca alternifolia* (ulje iz lista), citral, d-limonene, linalool), propolis (proizvođač: *Medex*, naziv: *PFropolis*, volumen: 15 mL, sastojci: etanol, emulgator: glicerol, voda, alkoholni ekstrakt propolisa 10%, med, niacin (kao nikotinamid), prirodna aroma, ulje eukaliptusa (*Eucalyptus spp.*), 54 vol% alkohola) pincete (sterilne), plamenik (plinski), ravnalo.

Pokus je napravljen pomoću metode kultura stanica bakterije *Escherichia coli* i kultura stanica gljivica *Candida albicans*. Kako bi rezultati bili što točniji, bilo je planirano uzgojiti 10 Petrijevih zdjelica s bakterijama, te 10 Petrijevih zdjelica s gljivicama. Od navedenog na 5 uzoraka bakterija i gljivica bili su testirani diskovi, koji su izravno, nakon umakanja u antibiotik, bili položeni na podlogu. Ostali uzorci bili su tretirani s diskovima koji su prvobitno bili osušeni na sobnoj temperaturi 24 h. Svi uzorci bili su skladišteni u inkubatoru s prosječnom temperaturom od 308,15 K (35 °C), temperaturi bliskoj onoj u ljudskom tijelu. Cijelo istraživanje sastojalo se od četiri etape:

- izrade hranjivih podloga,
- presađivanja kultura bakterija i gljivica,
- nasađivanja bakterija i gljivica, te davanja diskova s antibioticima,
- mjerenja i analiziranja dobivenih rezultata.

Pri izradi hranjivih podloga izvagano je 28 g hranjivog agara, pomoću laboratorijske vage te je pomoću sterilne menzure odmjereno 1000 ml destilirane vode dobivene u destilatoru. Voda se zatim dodala u sterilnu tikvicu u koju je nakon ulijevanja vode dodan ranije izvagan agar. Tikvica se začepila te se smjesa dobro izmiješala. Nakon toga, smjesa se stavlja u autoklav gdje ostaje 15 minuta pri najvećoj temperaturi od 394,15 K (121 °C), a nakon autoklaviranja tikvica se postavlja u vodenu kupelj u kojoj se smjesa zadržava dok se smjesa ne rashladi do temperature od 323,15 K (50 °C). Nakon toga, 1/10 volumena smjese se preliilo u sterilnu laboratorijsku čašu kako bi se lakše prelijevala u sterilizirane Petrijeve zdjelice. 1/10 smjese bila je dovoljna za 5 podloga tako da se cijeli postupak ponovio 10 puta. Nakon ulijevanja smjese, proveo se postupak sterilizacije Petrijevih zdjelica plamenom kako bi podloge ostale sterilne. Nakon sterilizacije podloge su ostavljene na sobnoj temperaturi 30 min kako bi se podloge skrutile, te su potom odnijete u hladnjak na 277,15 K (4 °C). U hladnjaku se Petrijeve zdjelice



ostavljaju naopako okrenute kako bi se smanjila potencijalna mogućnost od kontaminacije i kako kondenzirana voda ne bi kapala na podloge. Cijeli postupak izrade hranjivih podloga napravljen je dva puta.

Nakon provjere izlivenih podloga pod lupom, zbog moguće kontaminacije, slijedio je postupak presađivanja kultura bakterija i gljivica. Pomoću sterilne mikrobiološke ušice (eze) na dvije hranjive podloge nanosena je kultura bakterije *Escherichia coli*, a na druge dvije gljivica *Candida albicans*. Petrijeve zdjelice su zatim ostavljene u inkubatoru na 308,15 K (35 °C) okrenute naopako 24 h. Tako dobivene kulture bakterija *Escherichia coli* i gljivica *Candida albicans* kasnije su korištene u postupku nasađivanja.

Nakon inkubacije kolonija, podloge su pregledane pod lupom kako bi se uočile moguće kontaminacije. Kako nakon ponovne provjere kontaminacija nije uočena, ezom se uzima nekoliko kolonija, koje se polažu u sterilnu epruvetu s fiziološkom otopinom. Sadržaj epruvete dobro je izmiješan električnim vibratorom za epruvete te se naknadno dodavalo kulture ili fiziološke otopine dok se mutnoća smjese nije poistovjetila s *Mc Farlandovim* standardom 0,5 (bakterijska koncentracija: $150 \times 10^6/\text{mL}$). Nakon dobivanja željene mutnoće smjese, ona se sterilnim brisnim štapićem nanosila na hranjive podloge koje su prvobitno provjerene zbog moguće kontaminacije. Svaka podloga je prošla provjeru te su markerom označena mjesta postavljanja diskova i imena kulture koja će se kasnije naći na podlozi. Smjesa se zatim nanosila u četiri smjera: horizontalno, vertikalno, te u smjeru obje dijagonale. Nakon nanošenja smjese na predviđena označena mjesta, dodane su četiri vrste diskova: kontrola (ampicilin), čajevac, citrofit i propolis, na dva puta po pet podloga jedne i druge kulture. Kod prvih pet podloga prve kulture korišteni su diskovi koji su bili „svježe“ umočeni u antibiotike, dok su se kod drugih pet slučajeva dodali diskovi s osušenim antibioticima (sušenje je trajalo 24 h). Diskovi su dodani sterilnom pincetom koja je kod svake promjene vrste antibiotika bila sterilizirana plamenikom. Nakon postupka nanošenja kultura i diskova podloge su ostavljene naopako okrenute u inkubatoru na 308,15 K (35 °C). Inkubacija bakterija trajala je 24 h, a gljivica 48 h.

Mjerenje dobivenih podataka je izvršeno uz pomoć ravnala, te su izmjereni promjeri zone inhibicije rasta. Pozitivna kontrola bili su diskovi s ampicilinom, dok su negativne kontrole bile podloge s presađenim kulturama na koje su postavljeni diskovi s fiziološkom otopinom. Zavisne varijable ovoga istraživanja bile su zone inhibicije, a nezavisne varijable istraživanja kulture bakterija i gljivica. Analiza podataka temeljila se na mjerenju promjera inhibicije rasta i njihovom statističkom obradom koja se vršila T-testom napravljenim uz pomoć programa *MedCalc* (verzija 20.218) kojim se provjerila značajnost rezultata (s razinom značajnosti od 5 %). Kako bi dobiveni podaci bili vjerodostojni istraživanje se ponovilo 3 puta.

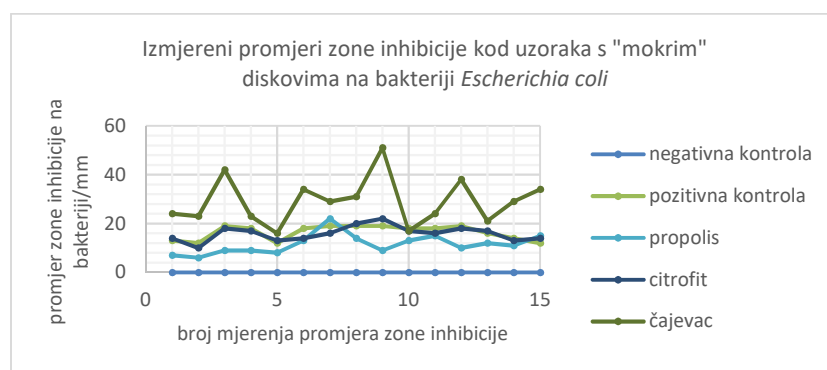
Kod bakterije *Escherichia coli* učinkovitost prirodnih antibiotika u usporedbi s ampicilinom izračunata je po formuli: $učinkovitost = \frac{x-6}{x_{kontrola}-6} * 100 \%$, gdje x označava prosječni promjer zone inhibicije nekog prirodnog antibiotika, 6 promjer diska i ujedno minimalnu moguću izmjerenu zonu inhibicije, a $x_{kontrola}$ prosječni promjer zone inhibicije ampicilina za kojeg je uzeta učinkovitost 100 %.

Kod gljivice *Candida albicans* učinkovitost prirodnih antibiotika u usporedbi s ampicilinom izračunata je po formuli: $učinkovitost = \frac{x-6}{x_{kontrola}} * 100 \%$, gdje x označava prosječni promjer zone inhibicije

nekoj prirodnoj antibiotiku, 6 promjer diska i ujedno minimalnu moguću izmjerenu zonu inhibicije, a $X_{kontrola}$ prosječni promjer zone inhibicije ampicilina za kojeg je uzeta učinkovitost 100 %.

REZULTATI

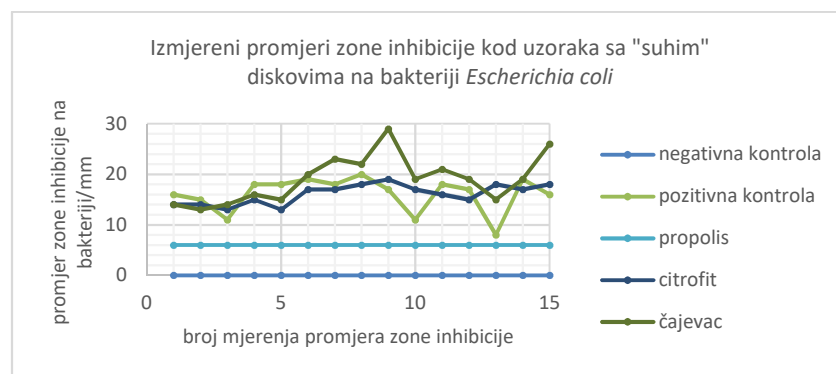
Temeljem mjerenja i analiza podataka dobiveni su sljedeći rezultati. Kod uzoraka s bakterijom *Escherichia coli* vidljivo je da je učinkovitost veća kod „mokrih“ diskova u usporedbi sa „suhim“.



Slika 1 Izmjereni promjeri zone inhibicije kod uzoraka s "mokrim" diskovima na bakteriji *Escherichia coli*

Najveću učinkovitost kod uzoraka na bakteriji *Escherichia coli* s „mokrim“ diskovima imao je čajevac s učinkovitošću od 221,73 % u odnosu na kontrolu, dok je najmanju učinkovitost imao propolis s 53,17 % u usporedbi s kontrolom. Prosječna vrijednost izmjerenih promjera zone inhibicije rasta kod kontrole je iznosila 16,40 mm, 11,53 mm za propolis, 15,93 mm za citrofit te 29,06 mm za čajevac.

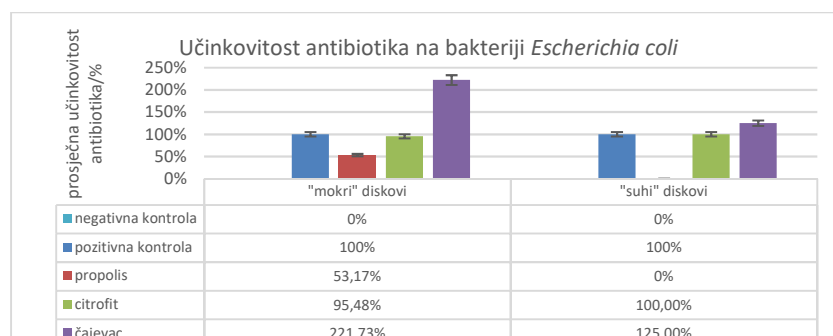
Kod uzoraka sa „suhim“ diskovima na bakteriji *Escherichia coli* izmjerena je nešto manja učinkovitost prirodnih antibiotika u usporedbi s kontrolom.



Slika 2 Izmjereni promjeri zone inhibicije kod uzoraka sa "suhim" diskovima na bakteriji *Escherichia coli*

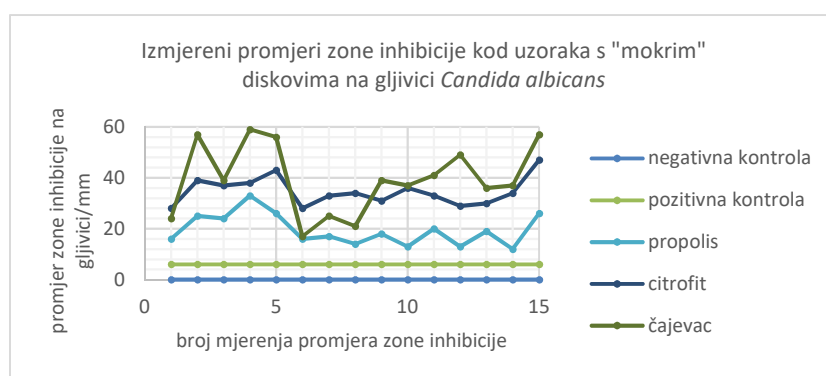
Najveća vrijednost učinkovitosti kod uzoraka na bakteriji *Escherichia coli* sa „suhim“ diskovima iznosila je 125,00 % kod čajevca, dok je najmanja vrijednost učinkovitosti bila 0 % kod propolisa. Prosječne vrijednosti izmjerenih promjera zone inhibicije rasta iznosile su: 16,07 mm kod kontrolnog mjerenja, 6,00 mm kod propolisa, 16,07 mm kod citrofita te 19,00 mm kod čajevca.

U svim uzorcima dokazano je kako diskovi umočeni u fiziološku otopinu nisu imali utjecaja na razmnožavanje bakterije *Escherichia coli*.

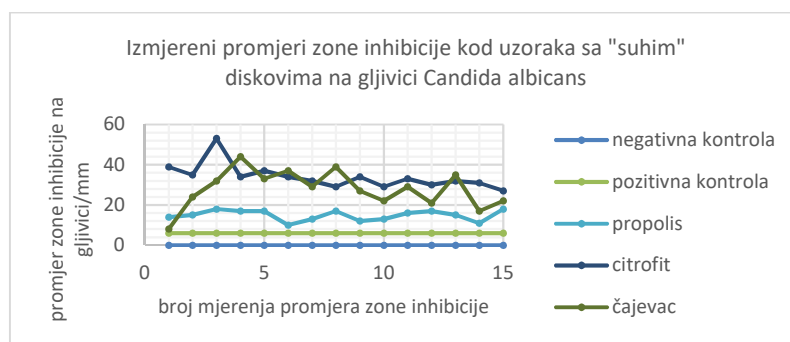
Slika 3 Učinkovitost antibiotika na bakteriji *Escherichia coli*

Nakon provođenja analize t-testom dobivenim rezultatima se potvrdilo kako su rezultati čajevca i propolisa statistički značajno različiti u odnosu na kontrolna mjerenja, dok kod citrofitu nije bilo statistički značajne razlike u odnosu na kontrolna mjerenja.

Kod uzoraka s gljivicom *Candida albicans* također je vidljivo da je učinkovitost veća kod „mokrih“ diskova u usporedbi sa „suhim“. Kod uzoraka s gljivicom *Candida albicans* kod ispitivanja sa „suhim“ diskovima došlo je do kontaminacije pa je ta skupina uzoraka ponovljena, ali nakon ponavljanja rezultati su bili slični pa se zaključuje kako kontaminacija nije utjecala na područje testiranja.

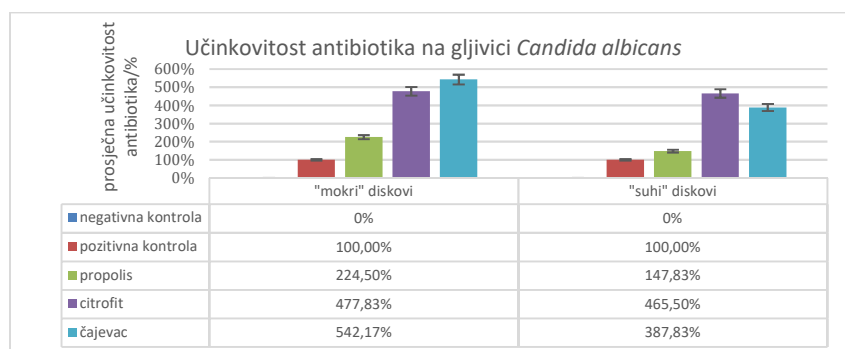
Slika 4 Izmjereni promjeri zone inhibicije kod uzoraka s "mokrim" diskovima na gljivici *Candida albicans*

Najveću učinkovitost kod uzoraka s gljivom *Candida albicans* s „mokrim“ diskovima imao je čajevac s učinkovitošću od 542,17 % u odnosu na kontrolu, dok je najmanju učinkovitost imao propolis s 224,50 % u usporedbi s kontrolom. Prosječna vrijednost izmjerenih promjera zone inhibicije rasta kod kontrole je iznosila 6,00 mm, 19,47 mm za propolis, 34,67 mm za citrofit te 38,53 mm za čajevac.

Slika 5 Izmjereni promjeri zone inhibicije kod uzoraka sa "suhim" diskovima na gljivici *Candida albicans*

Najveća vrijednost učinkovitosti kod uzoraka s gljivicom *Candida albicans* sa „suhim“ diskovima iznosila je 465,50 % kod citrofiti, dok je najmanja vrijednost učinkovitosti bila 147,83 % kod propolisa. Prosječne vrijednosti izmjerenih promjera zone inhibicije rasta iznosile su 6,00 mm kod kontrole, 14,87 mm kod propolisa, 33,93 mm kod citrofiti te 29,27 mm kod čajevca.

U svim uzorcima dokazano je kako diskovi umočeni u fiziološku otopinu nisu imali utjecaja na razmnožavanje gljivica *Candida albicans*.



Slika 6 Učinkovitost antibiotika na gljivici *Candida albicans*

Nakon provođenja analize t-testom dobivenim rezultatima se potvrdilo da su rezultati sva tri prirodna antibiotika statistički značajno različiti od kontrolnih mjerenja. Nadalje, citrofit i čajevac su statistički značajno različiti od propolisa, dok rezultati citrofiti i čajevca nisu bili statistički značajno različiti.

RASPRAVA

Glavna motivacija za provedbu ovog istraživanja bilo je ispitivanje alternative sintetskim antibioticima koje imaju slična ili bolja antibakterijska svojstva, a istovremeno posjeduju i protugljivična svojstva. Prvi dio hipoteze ovog rada pretpostavlja da prirodni antibiotici imaju sličnu učinkovitost kao i sintetski antibiotici u borbi protiv bakterija *Escherichia coli*. U okviru ovog istraživanja citrofit i čajevac pokazali su sličnu učinkovitost u usporedbi s ampicilinom, što je u skladu s ranije navedenim radovima (Hegggers i sur., 2002; Carson i sur., 2006; Xu i sur., 2007; Han i sur., 2021). Čajevac je pokazao čak i bolju efikasnost od ampicilina, dok je citrofit imao jednaku učinkovitost kao ampicilin, te su oba prirodna antibiotika, prema ovom istraživanju, dobra i efikasna zamjena za sintetski antibiotik. Odstupanja od početne hipoteze uočena su kod rezultata vezanih uz propolis koji pokazuju kako propolis ima malu ili nikakvu učinkovitost u borbi protiv bakterija *Escherichia coli*, što nije u skladu s drugim istraživanjima (Przybyłek i Karpiński, 2019). Moguće je da je pozitivan efekt otopine propolisa bio uzrokovan alkoholom iz otopine, a ne propolisom. Kod suhih diskova, nakon što je alkohol ishlapio, nije bilo nikakvog utjecaja na bakteriju. Također se predlaže da se u daljnjim istraživanjima koristi propolis na uljnoj bazi. Temeljem analize znanstvenog rada autora Przybyłek i Karpiński (2019) vidi se još 2 moguća razloga odstupanja rezultata, a to su: činjenica da propolis slabije djeluje na gram-negativne bakterije (Przybyłek i Karpiński, 2019), skupinu bakterija u koje spada korištena bakterija *Escherichia coli* te činjenica da je jedan od načina na koji propolis djeluje i aktivacija imunološkog sustava (Przybyłek i Karpiński, 2019), a što se ovim istraživanjem nije ispitivalo. Važnost ovog dijela istraživanja je ta što rezultati učinkovitosti prirodnih antibiotika na bakteriju *Escherichia coli* pokazuju kako su u borbi protiv ove bakterije određeni prirodni antibiotici kvalitetna zamjena sintetičkim antibioticima.



S druge strane rezultati izvedeni iz ovog istraživanja potvrđuju da je drugi dio hipoteze bio točan. Dokazano je kako su prirodni antibiotici učinkoviti u borbi protiv gljivice *Candida albicans* u usporedbi s ampicilinom koji je bio malo ili neučinkovit, što je također u skladu s dosadašnjim istraživanjima (Krajewska-Kuřak i sur., 2001; Cvetnić i Knežević, 2004; Hammer i sur., 2004; Tan i sur., 2015; Marcos-Tejedor i sur., 2020; Cerqueira i sur., 2022; Singhania i sur., 2022). Ovim rezultatima dokazano je kako uzimanje prirodnih antibiotika pozitivno djeluje na suzbijanje i razmnožavanje gljivica *Candida albicans* za razliku od sintetičkih. To je posebno važno s obzirom da je jedna od mogućih neželjenih pojava uzimanja sintetičkih antibiotika narušavanje crijevne mikroflore i stvaranju uvjeta za razmnožavanje gljivice *Candida albicans*. Temeljem ovog istraživanja potvrđeno je kako prilikom korištenja određenih prirodnih antibiotika oni rade svoju primarnu zadaću, ubijaju bakterije, a istovremeno i sprječavaju mogući razvitak gljivične infekcije.

Također, ovo istraživanje otvara mogućnost za istovremeno korištenje sintetskih i prirodnih antibiotika. Takva primjena mogla bi se provesti kod korištenja antibiotika u bolnicama tijekom operacija, te u oporavku nakon operacija, gdje bi se u situacijama postojanja bakterija rezistentnih na antibiotik moglo uz sintetski koristiti i prirodni antibiotik, na koji bakterije nisu razvile rezistentni učinak (Menz i sur., 2021).

Ovo istraživanje nije ispitalo utjecaj prirodnih antibiotika na dobre bakterije koje se nalaze u crijevnoj mikroflori, kao što su bakterije rodova *Bifidobacterium* i *Lactobacillus*, te se predlaže u budućim istraživanjima testiranja i na ovim vrstama bakterija. Kako bi rezultati istraživanja bili bliži i što precizniji, predlaže se da se ovo istraživanje proširi na istraživanje u kojem bi se koristile podjednake koncentracije i volumeni prirodnih antibiotika. Nadalje, za bolju pouzdanost rezultata trebalo bi koristiti veći broj uzoraka. Mogla bi se provesti istraživanja i s ostalim prirodnim antibioticima kao što su: eterična ulja, na primjer, ulje divljeg origana (*Origanum vulgare*), ili cijelim biljkama kao što su: ekstrakt roda *Echinacea*, ulje češnjaka (*Allium sativum*), med, kurkuma (*Curcuma*) te mnoge druge biljke. Također, predlaže se da se u mogućim daljnjim istraživanjima koriste „suhi“ diskovi kako bi se spriječilo moguće izlivanje i širenje antibiotika pri polaganju diskova na hranjivu podlogu. U skladu s dosadašnjim rezultatima predlaže se i testiranje prirodnih antibiotika *in vivo* kako bi se provjerila njihova učinkovitost u vremenu slabljenja imunološkog sustava.

ZAKLJUČCI

Rezultati istraživanja ukazuju kako su korištenjem „suhih“ diskova dobiveni rezultati koji su bliži stvarnijim uvjetima. Čajevac i citrofit imaju sličnu učinkovitost na bakterijama *Escherichia coli*, dok propolis ima malu ili nikakvu učinkovitost. U svim slučajevima dokazano je kako je ampicilin malo ili neučinkovit u sprečavanju razmnožavanja gljivica *Candida albicans*. S druge strane, sva tri prirodna antibiotika inhibirali su razmnožavanje gljivica *Candida albicans* s različitim učinkovitostima. Jedan od bitnih zaključaka ovog istraživanja ukazuje da uzimanje prirodnih antibiotika pozitivno djeluje na bakterije i suzbija razmnožavanje gljivica za razliku od sintetskih, gdje razmnožavanje gljivica nije inhibirano prisutnošću sintetskog antibiotika.

ZAHVALA

Najljepše se zahvaljujem svom mentoru prof. Tvrtku Bugeru na korisnim sugestijama i savjetima pri izradi rada. S obzirom na nepostojanje uvjeta u školi, jedan dio praktičnog dijela rada proveden je na Zavodu za mikrobiologiju i parazitologiju



Medicinskog fakulteta u Rijeci. Posebno se zahvaljujem predstojnici Zavoda prof. dr. sc. Maji Abram na dozvoli za korištenje laboratorija, pomoći i korisnim savjetima pri korištenju uređaja i provedbi praktičnog dijela istraživanja.

LITERATURA

- Anmol R. J., Marium S., Hiew F. T., Han W. C., Kwan L. K., Wong A. K. Y., Khan F., Sarker M. M. R., Chan S. Y., Kifli N., Ming L. C. 2021. Phytochemical and therapeutic potential of *Citrus grandis* (L.) Osbeck: a review. *Journal of evidence-based integrative medicine* 26: 2515690X211043741.
- Bedenić B. 2009. Antibakterijski lijekovi, Uzunović-Kamberović S. (ur.), *Medicinska mikrobiologija*. Štamparija Fojnica d.o.o., Zenica, str. 221-252.
- Braakhuis A. 2019. Evidence on the health benefits of supplemental propolis. *Nutrients* 11(11): 2705.
- Carson C. F., Hammer K. A., Riley T. V. 2006. *Melaleuca alternifolia* (Tea Tree) oil: a review of antimicrobial and other medicinal properties. *Clinical microbiology reviews* 19(1): 50-62.
- Carter A. 2022a. How do antibiotics work? Healthline. <https://www.healthline.com/health/how-do-antibiotics-work>, pristupljeno 6.3.2023.
- Cerqueira P., Cunha A., Almeida-Aguiar C. 2022. Potential of propolis antifungal activity for clinical applications. *Journal of applied microbiology* 133(3): 1207-1228.
- Chandel N. S., Budinger G. R. 2013. The good and the bad of antibiotics. *Science Translational Medicine* 5(192): 192fs25.
- Cvetnić Z., Vladimir-Knezević S. 2004. Antimicrobial activity of grapefruit seed and pulp ethanolic extract. *Acta Pharmaceutica* 54(3): 243-250.
- Drummond R. A., Desai J. V., Ricotta E. E., Swamydas M., Deming C., Conlan S., Quinones M., Matei-Rascu V., Sherif L., Lecky D., Lee C. R., Green N. M., Collins N., Zelazny A. M., Prevots D. R., Bending D., Withers D., Belkaid Y., Segre J. A., Lionakis M. S. 2022. Long-term antibiotic exposure promotes mortality after systemic fungal infection by driving lymphocyte dysfunction and spristupljenoystemic escape of commensal bacteria. *Cell Host Microbe* 30(7): 1020-1033.
- Fang M., Chen J. H., Xu X. L., Yang P. H., Hildebrand H. F. 2006. Antibacterial activities of inorganic agents on six bacteria associated with oral infections by two susceptibility tests. *International journal of antimicrobial agents* 27(6): 513-517.
- Gaynes R. 2017. The discovery of penicillin - new insights after more than 75 years of clinical use. *Emerging Infectious Diseases* 23(5): 849-53.
- Hammer K. A., Carson C. F., Riley T. V. 2004. Antifungal effects of *Melaleuca alternifolia* (tea tree) oil and its components on *Candida albicans*, *Candida glabrata* and *Saccharomyces cerevisiae*. *Journal of Antimicrobial Chemotherapy* 53(6): 1081-1085.
- Han H.W., Kwak J.H., Jang T.S., Knowles J.C., Kim H.W., Lee H.H., Lee J.H. 2021. Grapefruit seed extract as a natural derived antibacterial substance against multidrug-resistant bacteria. *Antibiotics (Basel)* 10(1): 85.
- Hegggers J. P., Cottingham J., Gusman J., Reagor L., McCoy L., Carino E., Cox R., Zhao J. G. 2002. The effectiveness of processed grapefruit-seed extract as an antibacterial agent: II. Mechanism of action and in vitro toxicity. *The Journal of Alternative and Complementary Medicine* 8(3): 333-340.
- Kalghatgi S., Spina C. S., Costello J. C., Liesa M., Morones-Ramirez J. R., Slomovic S., Molina A., Shirihai O. S., Collins J. J. 2013. Bactericidal antibiotics induce mitochondrial dysfunction and oxidative damage in Mammalian cells. *Science Translational Medicine* 5(192): 192ra85.
- Krajewska-Kuřak E., Lukaszuk C., Niczyporuk W. 2001. Ocena wpływu 33% ekstraktu z grejfruta na wzrost grzybów drożdżopodobnych, dermatofitów i pleśni [Effects of 33% grapefruit extract on the growth of the yeast-like fungi, dermatopytes and moulds]. *Wiad Parazytol* 47(4): 845-849.
- Krajinović V. 2017. Nuspojave antibiotika. *Medicus* 26(1 Farmakovigilancija): 47-51.
- Kuryłowicz W., Raczynska-Bojanowska K., Kowszyk-Gindifer Z. 1975. Classification of antibiotics according to their chemical structure, origin, biogenesis and the mode of action. *Postepy Higieny i Medycyny Doswiadczalnej* 29(3): 385-406.
- Marcos-Tejedor F., González-García P., Mayordomo R. 2020. Solubilization in vitro of tea tree oil and first results of antifungal effect in onychomycosis. *Enferm Infecc Microbiol Clin* S0213-005X(20)30245-7.
- Mayer F. L., Wilson D., Hube B. 2013. *Candida albicans* pathogenicity mechanisms. *Virulence* 4(2): 119-128.
- Menz B. D., Charani E., Gordon D. L., Leather A. J. M., Moonesinghe S. R., Phillips C. J. 2021. Surgical antibiotic prophylaxis in an era of antibiotic resistance: ccommon resistant bacteria and wider considerations for practice. *Infection and Drug Resistance* 14: 5235-5252.
- Minogue T. D., Daligault H. A., Davenport K. W., Bishop-Lilly K. A., Broomall S. M., Bruce D. C., Chain P. S., Chertkov O., Coyne S. R., Freitas T., Frey K. G., Gibbons H. S., Jaissle J., Redden C. L., Rosenzweig C. N., Xu Y., Johnson, S. L. 2014. Complete genome assembly of *Escherichia coli* ATCC 25922, a serotype O6 reference strain. *Genome announcements* 2(5): e00969-14.
- NIAID 2022. Fungal disease-specific research. National Institute of Allergy and Infectious Diseases. <https://www.niaid.nih.gov/diseases-conditions/fungal-disease-specific-research>, pristupljeno 23.04.2023.
- Pei L., Schmidt M. 2018. Fast-growing engineered microbes: new concerns for gain-of-function research?. *Frontiers in Genetics* 9: 207.



Usporedba utjecaja ekstrakata sjemenki grejpa, eteričnog ulja čajevca i propolisa te sintetskog antibiotika ampicilina na razmnožavanje bakterija i gljivica

Mentor:
Buger T.

- Przybyłek I., Karpiński T. M. 2019. Antibacterial properties of propolis. *Molecules* 24(11): 2047.
- Rodríguez-Leguizamón G., Fiori A., López L. F., Gómez B. L., Parra-Giraldo C. M., Gómez-López A., Suárez C. F., Ceballos A., Van Dijck P., Patarroyo M. A. 2015. Characterising atypical *Candida albicans* clinical isolates from six third-level hospitals in Bogotá, Colombia. *BMC microbiology* 15: 199.
- Seladi-Schulman J. 2021b. Everything you need to know about *E. coli* infection. Healthline. <https://www.healthline.com/health/e-coli-infection>, pristupljeno 8.3.2023.
- Singhania A., Sathe S., Ranka R., Godbole S. 2022. Individual and synergistic effects of tea tree oil and neem extract on *Candida albicans* adhesion to denture soft liner. *Cureus* 14(8): e27869.
- Sinha Dutta S. 2022. The history of antibiotics. *News Medical*. <https://www.news-medical.net/health/The-History-of-Antibiotics.aspx>, pristupljeno 8.3.2023.
- Tan Y.M., Lim S.H., Tay B.Y., Lee M.W., Thian E.S. 2015. Functional chitosan-based grapefruit seed extract composite films for applications in food packaging technology. *Materials Research Bulletin* 69: 142-146.
- Tudorić N. 2009. Alergije na lijekove i cjepiva. *Pliva zdravlje*. <https://www.plivazdravlje.hr/aktualno/clanak/16173/Alergije-na-lijekove-i-cjepiva.html>, pristupljeno 5.3.2023.
- Xu W., Qu W., Huang K., Guo F., Yang J., Zhao H., Luo Y. 2007. Antibacterial effect of grapefruit seed extract on food-borne pathogens and its application in the preservation of minimally processed vegetables. *Postharvest Biology and Technology* 45(1): 126-133.

Usporedba genotoksičnog utjecaja prirodnog i umjetnih gnojiva pri različitim koncentracijama putem *Allium* testa

Kate Kukuljica, 3. razred

Gimnazija Franje Petrića, Zadar

Mentor: Nela Mandić

SAŽETAK

Kako bi se zadovoljila povećana potražnja hrane zbog eksponencijalnog rasta stanovništva, poljoprivrednici su pritekli uporabi umjetnih gnojiva koji uzrokuju ekološke i zdravstvene probleme. U ovome se istraživanju putem *Allium* testa usporedio genotoksični utjecaj prirodnog (prah konjske rotkvice, *Moringa oleifera* Lam.) i umjetnih (urea i amonijev nitrat) gnojiva uz kontrolu destiliranom vodom praćenjem duljine korijena i izdanaka, mitotskog indeksa i ostalih abnormalnosti DNA molekule. Zaključeno je kako najveći rast izdanaka i korijena uzrokuje tretman vodenom otopinom uree masene koncentracije 10 g/L. Isti tretman uzrokuje najveći mitotski indeks dok najviše evidentiranih mutacija uzrokuje tretman vodenom otopinom uree masene koncentracije 30 g/L. Tretman amonijevim nitratom pozitivno utječe na rast izdanaka lukovica dok je isti učinak izostao na rast korijena. Iako je najmanji rast izdanaka i korijena uočen kod tretmana *M. oleifera*, ovaj tretman uzrokuje kontinuiran rast lukovica pri čemu utjecaj koncentracija nije bio značajan. Suprotno hipotezi, povećanje masene koncentracije umjetnih gnojiva rezultira smanjivanjem duljine izdanaka i korijena. Kako bi se kroz budućnost smanjio broj upalnih procesa ili bolesti uzrokovanih prehranom, potrebno je provesti još istraživanja o utjecaju različitih vrsta gnojiva na genome biljaka koje se koriste u stočnoj i ljudskoj prehrani.

Ključne riječi: ekologija, Allium test, mitoz, gnojiva

UVOD

Zbog eksponencijalnog rasta stanovništva uzrokovanog primarno industrijskim revolucijama i razvojem medicine, svijet se početkom 19. stoljeća upoznao sa sintetičkim ili umjetnim gnojivima koja uvelike povećavaju godišnji prihod žetvi. Kako bi se osigurala stabilnost i što veća efikasnost gnojiva, znanost je pritekla uporabi teških metala i kemijskih spojeva koji onečišćuju tlo i vodu (Erisman i sur., 2007). Brojni autori navode kako najveći problem koji predstavljaju umjetna gnojiva čini pretjerana i neadekvatna uporaba.

Gnojiva djeluju pozitivno na rast biljnih kultura u svome prvotnome obliku, ali utjecajem mikroorganizama i drugih sastavnica tla oni se razlažu na spojeve nepovoljne za razvoj i bioraznolikost ekosustava. Korištenjem umjetnih gnojiva dolazi do akumulacije teških metala (živa, kadmij, olovo itd.) u tlu, a posredno i do zadržavanja istih spojeva kroz hranidbene lance (Savci, 2012). Dodatan je problem njihov niski stupanj korisnosti s obzirom da se preko 85 % gnojiva izgubi raspadom u tlu (Erisman i sur., 2007).

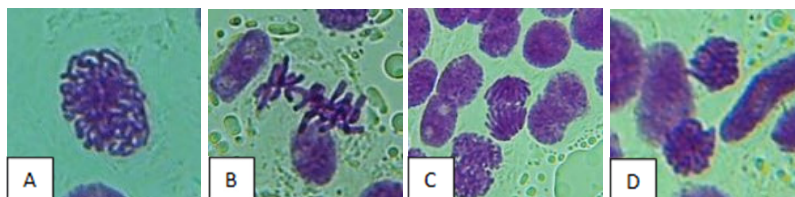
Zbog velike razlike u stupnju razvijenosti industrije u svijetu, većina država ima problema s neravnomjernom raspodjelom dušika u tlu. Na ovaj način dušik predstavlja ograničavajući čimbenik održavanja ekosustava zbog čega su dušikovi spojevi glavni sastojci većine gnojiva (Verma i sur., 2016). Dušik kao biogeni element gradi živi svijet i prijeko je potreban za održavanje homeostaze (ravnotežnog stanja organizma) jer gradi aminokiseline i njihove derivate (HE, 2023.). Ovaj plin u prosjeku čini oko 78 % sastava zraka, ali u svome elementarnome stanju (N_2) nije pogodan za apsorpciju kod većine organizama. Elementarni dušik reducira se do oblika koje mogu koristiti većina organizama, npr. do dušične kiseline (HNO_3) i amonijaka (NH_3). Takav korak u kruženju dušika naziva se fiksacijom. Preko 90 % fiksiranog dušika nastaje utjecajem mikroorganizama koji mogu biti nesimbiotski (npr.

cijanobakterije i bakterije roda *Azotobacter*) i simbiotski (npr. bakterije roda *Rhizobium* u suživotu s mahunarkama).

Zbog sve manje bioraznolikosti zajednica koje žive u tlu, razvila se potreba za razvijanjem industrijskih procesa za sintezu dušikovih spojeva. Jedan od najpoznatijih i najraširenije korištenih procesa je tzv. Haber-Boschov proces kojim se pri visokim temperaturama i tlakom sintetizira amonijak iz elementarnog dušika i vodika (Britannica, 2023). Preko 80 % industrijski proizvedenog amonijaka služi daljnjoj proizvodnji gnojiva od kojih su najpoznatiji urea ($\text{CH}_4\text{N}_2\text{O}$) i amonijev nitrat (NH_4NO_3). Smatra se kako preko 40 % ljudske populacije može opstati upravo zbog razvijenih sustava sinteze dušičnih spojeva koji omogućuju apsorpciju dušika autotrofnim organizmima (Erisman i sur., 2007). Zbog jednostavnosti i dostupnosti, umjetna gnojiva postala su opće prihvaćena kao najbolje rješenje za poljoprivredu. Najbolji dokaz tome je što se u Sjedinjenim Američkim Državama koristi 160,8 kg umjetnih gnojiva na svaki hektar zemlje ($1 \text{ ha} = 10\,000 \text{ m}^2$) dok u Nizozemskoj ta brojka premašuje 665,5 kg/ha (Savci, 2012). Naime, umjetna gnojiva koja sadrže amonijak i njegove spojeve uzrokuju acidifikaciju, odnosno zakiseljenje, tla i podzemnih voda (Erisman i sur., 2007). Istovremeno, prema Sharma i Bhattacharya (2016), gotovo jedna šestina svjetske populacije nema pristup dostatnim količinama pitke vode, a trend onečišćavanja povećava se antropogenim utjecajima, pogotovo agrokulturom.

Dok su urea i amonijev nitrat općepoznati sastojci gnojiva, *M. oleifera* našla se u fokusu znanstvenika kao biljka iznimnog potencijala. *Moringa oleifera* Lam., poznata kao i konjska rotkvica, zimzeleno je grahorično stablo koje potječe s indijskog potkontinenta. U narodu, ova biljka nosi ime „stablo života“ (Soltan i sur., 2017). Danas je rasprostranjena po gotovo svim vrstama staništa jer može opstati u različitim uvjetima tla. Ipak, osjetljiva je na sušu te može opstati unutar temperaturnog raspona između 25 i 35 °C. Iako je ova biljka u potpunosti jestiva, za prehranu su najčešće korišteni listovi koji sadrže vitamine A, C, E i B-kompleksa, sve esencijalne aminokiseline, minerale kalcija, magnezija, željeza itd. zbog čega može biti rješenje za sprječavanje gladi u nerazvijenim zemljama (Soltan i sur., 2017). *M. oleifera* prepoznata je u znanosti zbog svojih ljekovitih svojstava. Djeluje kao antibiotik, pomaže pri liječenju visokog tlaka, smanjuje upale i pomaže u liječenju astme (Singh i Prasad, 2013). Prema Soltan i sur. (2017), *M. oleifera* pokazuje antifungalnu aktivnost kod ljudskih i biljnih patogena, služi kao inhibitor metana te povećava količinu i kvalitetu mlijeka sisavaca. Kako bi se proširilo znanje o ovoj biljci, postavlja se pitanje može li se ova biljka koristiti kao prirodno gnojivo. Ako gnojiva štetno djeluju na primarne uvjete za odvijanje fotosinteze, postavlja se pitanje kako umjetna gnojiva djeluju na stanice biljaka koje se tretiraju istima.

S obzirom na to da gnojiva biljkama služe kao izvori esencijalnih elemenata i minerala, kao takvi pospješuju i ubrzavaju rast biljaka (Morgan i Connolly, 2013). Ubrzani rast biljke na mikroskopskoj razini vidljiv je kroz ubrzano dijeljenje stanica, odnosno mitozu. Mitoza je vrsta diobe stanica kojom se dijele tjelesne stanice, tj. novonastale stanice kćeri imaju jednaku gensku uputu kao prvotna stanica. Mitoza



Slika 1 Prikaz uobičajene mitoze na primjeru destilirane vode

se dijeli na četiri koraka: profaza, metafaza, anafaza i telofaza, iako je bitno napomenuti i razdoblje između dvije mitozne diobe, interfazu, u kojoj se odvija udvostručenje



genske upute kako bi se ona ravnomjerno raspodijelila. Molekule DNA s proteinima histonima u profazi procesom uvijanja i skraćivanja stvaraju kromosome, strukture vidljive pod mikroskopom (Slika 1. A). U metafazi, mikrotubuli uzrokuju postavljanje kromosoma u ekvatorijalnu ravninu (Slika 1. B). Centromera u anafazi razdvaja dva dijela kromosoma (kromatide) tako da budu postavljene na suprotnim stranama stanice (Slika 1. C). Na kraju telofaze nastaju dvije odvojene stanice (Slika 1. D) te se ciklus ponavlja (Šver i sur., 2017). S obzirom da je mitozna složen proces, podložan je pogreškama poput preklapanja kromosoma te se takve pojave nazivaju mutacijama. Mutacije mogu biti na razini promjene gena, kromosoma ili genoma te se događaju istovremeno u slučaju izloženosti mutagenima (tvarima koje ih uzrokuju). Iako mutacije nisu apsolutno pozitivne ili negativne, nakupljanje stanica nastalih somatskim mutacijama (na razini tjelesnih stanica) može uzrokovati pojavu tumora i nefunkcionalnosti organa pojedinog organizma. Većinu mutacija organizam uspijeva samostalno eliminirati apoptozom, smrti mutirane stanice (Anić, 2017). Mutacije nižih karika hranidbenog lanca mogu uzrokovati promjene na razini cijelog ekosustava. Primjerice, mutacija kojom se onemogućuje pravilno izlučivanje štetnih tvari biljke uzrokuje akumulaciju štetnih tvari kroz hranidbeni lanac i može dovesti do patološkog stanja neke životinje ili čovjeka. S obzirom na to da bržim odvijanjem mitoze, koje mogu uzrokovati gnojiva, kontrolni procesi ne mogu prepoznati svaku mutiranu stanicu, povećava se vjerojatnost nastajanja mutacija.

Kako bi se istražio utjecaj pojedinih tretmana na kromosome, tj. molekulu DNA, u ovome istraživanju koristi se *Allium* test, jedan od najboljih i najjednostavnijih genotoksičnih testova prema Morais Leme i Marin-Morales (2009). Ovaj test temelji se na mikroskopiranju preparata pripremljenih tretiranjem lukovica žutoga luka (*Allium cepa* L.) željenim spojevima. Za ovakvu vrstu testa preporučuje se uporaba vrste *A. cepa* zbog smanjenog broja kromosoma ($2n = 16$) i relativno velikih kromosoma što omogućuje proučavanje mikroskopima manje razlučivosti. Dodatna je prednost ovog testa mogućnost promatranja više promjena istovremeno. Neki su od glavnih pokazatelja promjene strukture DNA mitotski indeks i poremećaji mitoze.

U ovome istraživanju primarno će se promatrati mitotski indeks (udio stanica u nekom stadiju mitoze računat na proizvoljan broj od 200 stanica) dok će se ostale, često i rjeđe, abnormalnosti dokumentirati kako bi se što bolje opisao utjecaj korištenih gnojiva. Mitotski indeks (MI) pojedinog tretmana uspoređuje se s onim kontrole: ako je MI tretmana značajno veći od onog kontrole, vjerojatniji je razvoj mutiranih stanica, a ako je manji, tretman nepovoljno utječe na tijek mitoze. Oba slučaja su od iznimnog značaja u određivanju genotoksičnog utjecaja tretmana na stanice. Ostale abnormalnosti dijele se na kromosomske aberacije (npr. C-metafaza, zalijepljeni kromosomi itd.), abnormalnosti stanice (npr. povezivanje dviju stanica) i mikronukleuse (nastajanje stanice kćeri zbog nepravilnog prepravljanja stanice majke) (Morais Leme i Marin-Morales, 2009). Osim vrste samog gnojiva, kao nezavisna varijabla eksperimenta određena je i masena koncentracije vodenih otopina gnojiva. Iako su urea i amonijev nitrat iznimno topljivi u vodi (108 g i 213 g u 100 mL vode), konjska rotkvice ne dijeli ovo svojstvo s obzirom da zasićena otopina sadrži tek 4 g praha ove biljke (Singh i Prasad, 2013). Iz tog su razloga koncentracije određene s obzirom na *M. oleifera* pa su lukovice tretirane otopinama masenih koncentracija 10 g/L, 20 g/L i 30 g/L pojedinog gnojiva.

S ciljem dobivanja što potpunijih rezultata o utjecaju različitih vrsta gnojiva, istraživanje je podijeljeno na nekoliko etapa:

- praćenje utjecaja različitih koncentracija različitih gnojiva na rast izdanaka i korijena lukovica *A. cepa* te izgled korijena lukovica
- praćenje utjecaja različitih gnojiva na promjene mitotskog indeksa i mutacije stanica
- praćenje utjecaja različitih koncentracija gnojiva na promjene mitotskog indeksa i mutacije stanica

Zbog svega ranije navedenoga, postavlja se pitanje kakva je razlika u genotoksičnom utjecaju (promjenama genske upute) prirodnog i umjetnih gnojiva na stanice biljaka tretiranih istima. Također se postavlja pitanje postoji li značajna razlika u efektivnosti prirodnih i umjetnih gnojiva koja opravdava masovno korištenje umjetnih gnojiva u poljoprivredi. Istovremeno, postavlja se pitanje o utjecaju koncentracije gnojiva na rast i razvoj biljaka. Iz tog razloga, u ovome se istraživanju uspoređuje utjecaj prirodnog gnojiva (prah *Moringa oleifera* Lam.) i umjetnih gnojiva (organskih: urea ($\text{CH}_4\text{N}_2\text{O}$) i anorganskih: amonijev nitrat (NH_4NO_3) na stanice luka (*Allium cepa* L.) pomoću *Allium* testa uz kontrolu uzgajanu na destiliranoj vodi.

Uzimajući sve navedeno u obzir, postavljene pretpostavke predloženog istraživanja glase:

- S obzirom na to da gnojiva pospješuju rast biljaka, odnosno ubrzavaju proces mitoze, za očekivati je kako će gnojiva pokazati veći udio stanica u mitozu, odnosno mutacija, u usporedbi s destiliranom vodom kao kontrolom.
- S obzirom na maseni udio dušika u gnojivima, urea ($W(N) = 46\%$) će povoljnije utjecati na rast biljaka u usporedbi s amonijevim nitratom ($W(N) = 35\%$).
- Pretpostavlja se kako će tretman prirodnim gnojivom (*Moringa oleifera*) rezultirati manjim brojem evidentiranih mutacija u odnosu na ostale tretmane isključujući destiliranu vodu.
- Povećanjem koncentracije gnojiva, povećavat će se broj mutacija i duljina izdanaka

METODE

Opisane metode istraživanja provedene su u izoliranim uvjetima u školskome kabinetu za biologiju i kemiju sa zaštitnom opremom (rukavicama, zaštitnim naočalama i kutom) te u prisustvu mentora. Za rad s kiselinama korišten je digestor (model digestora: Captair Smart 633).

Priprema uzoraka i opis mjerenja

Kako bi se osigurali kontrolirani uvjeti, pribavljene su lukovice vrste *Allium cepa* L. uzgojene bez uporabe pesticida, umjetnih gnojiva i ostalih kemikalija. Korištene su lukovice promjera između 2 cm i 2,5 cm. Prije tretiranja lukovica gnojivima, lukovicama su odstranjeni korijeni i prvi sloj kore te su postavljene u epruvete napunjene destiliranom vodom. Ukupno je korišteno 30 lukovica (po tri ponavljanja za sve tri koncentracije sva tri gnojiva + kontrola, destilirana voda).



Slika 2 Mjerenje duljine korijena prije tretmana



Slika 3 Tretiranje lukovica različitim koncentracijama gnojiva

ponavljanja za sve tri koncentracije sva tri gnojiva + kontrola, destilirana voda). Epruvete s lukovicama skladištene su u mračnim uvjetima četiri dana kroz tjedan. Nakon četiri dana, ravnalom su izmjerene duljine izdanaka i korijena lukovica prije tretmana. Lukovice su



zatim tretirane kroz 24 sata vodenom otopinom svakog pojedinog gnojiva (Slika 2). Zbog jednostavnije izvedbe, skupine od po tri lukovice (tri ponavljanja) probodene su drvenim štapićima te postavljene u čaše za urinokulturu sa željenom vodenom otopinom (Slika 3). Pri isteku 24-satnog razdoblja, izmjerene su duljine izdanaka i korijena ravnalom kako bi se utvrdio stimulirajući utjecaj gnojiva na razvoj biljke. Postupak mjerenja duljine izdanaka i korijena ponovljen je svaki dan kroz tjedan dana u 10 sati.

Izrada mikroskopskih preparata

Za *Allium* test pripremljeni su mikroskopski preparati od korijena svake korištene lukovice. Fokus je na korijenovoj kapi samog korijena u kojoj se odvija mitozu. Metoda izrade mikroskopskih preparata dijeli se na više faza: fiksaciju, hidrolizu i bojenje tkiva te je odrađena prema Sharma i Sharma (1980). Uloga fiksacije razlikuje se ovisno o vrsti fiksatora i promatranoga tkiva, ali glavna uloga jest spriječiti daljnje diobe stanica i istovremeno ne oštetiti njihovu strukturu. Kao fiksator korištena je Carnoyeva tekućina, smjesa glacijalne octene kiseline i apsolutnog etanola u omjeru 1:3. Za hidrolizu je korištena klorovodična kiselina (HCl) množinske koncentracije 1 M. Klorovodična kiselina služi za pročišćavanje citoplazme unutar rizoderme kako bi se osigurao bolji kontrast. Druga uloga jest promjena viskoznosti same citoplazme koja omogućava ravnomjernu raspoređenost kromosoma po preparatu.

Uzorci za promatranje bojaju se kako bi se osigurao kontrast između tražene organele i pozadine. U ovome istraživanju korišten je tzv. Feulgenov reagens koji boji jezgru, odnosno kromosome. Naziv Feulgenov reagens označava reakciju aldehida i klorovodične kiseline kojom dolazi do obojenja dok samo obojenje uzrokuje Schiffov reagens (kiselu fuksin i sumporasta kiselina). Tijekom hidrolize u klorovodičnoj kiselini dolazi do pucanja veza u molekuli DNA između šećera i dušičnih baza (adenina i gvanina). Preostali šećer sadrži aldehidnu funkcionalnu skupinu koja reagira sa Schiffovim reagensom te dolazi do ljubičastog obojenja korijena (Sharma i Sharma, 1980). Ova boja dobiva se otapanjem 0.5 g običnog fuksina u 100 mL kipuće destilirane vode. Otopina se zatim hladi do 58 °C i filtrira. Filtrat se pomiješa s 10 mL klorovodične kiseline ($c(HCl) = 1 \text{ mol/L}$) i 0,5 g kalijeva metabisulfita. Smjesa se drži u mraku 24 sata te treba biti transparentna i gotovo prozirna. Zbog jednostavnije izvedbe, korišten je već pripremljen Feulgenov reagens tvrtke Biognost. Tkivo se boji nekoliko sati u tamnim uvjetima. Preparati se zatim dovršavaju tzv. „squash“ metodom.

Za pripremu mikroskopskog preparata, plamenom steriliziranim skalpelom odstranjeno je nekoliko prosječnih korijena svake lukovice. Zatim su korijeni postavljeni u epruvetu (Eppendorf) s 1 mL Carnoyeve otopine za fiksaciju kako bi se osiguralo zaustavljanje mitotičkih dioba. Nakon otprilike 5 minuta korijeni su isprani u običnoj destiliranoj vodi. Zatim su postavljeni u epruvetu s 1 mL klorovodične kiseline temperature oko 60 °C kroz 6 - 8 minuta. Uzorci su ponovno isprani destiliranom vodom i postavljeni u epruvetu s 1 mL Feulgenovog reagensa. Epruvete (Eppendorf) su obložene aluminijskom folijom kako bi se simulirao mrak (Slika 4). Korijeni u boji mogu ostati preko noći, ali je

eksperimentom zaključeno kako je potrebno obojenje dobiveno nakon jednoga sata. Nakon navedenog vremenskog razdoblja, jasno se razlikuje korijenova kapa od ostatka korijena zbog intenzivnog ljubičastog obojenja tog dijela. Korijenova kapa pažljivo se odvoji skalpelom i postavi na predmetno stakalce dok se ostatak korijena odstranjuje. Na tkivo se kapne jedna kap 45 %-tne octene kiseline (zbog jednostavnosti je korištena boja acetokarmin koja ne utječe na reakciju obojenja) te se tapkajući staklenim štapićem uzorak priprema za mikroskopiranje. U slučaju sušenja uzorka, dodana je kap octene kiseline po potrebi. Na vlažan uzorak postavljena je pokrovnica te je takav preparat pažljivo zagrijan na plameniku prolazeći rubom plamena nekoliko puta. Višak boje odstranjen je pomoću filter papira. Preparati su promatrani na školskome mikroskopu proizvođača Delta Optical (model: Genetic Pro Bino) pod povećanjem od 400 x. Pomoću ugrađene kamere, po preparatu je fotografirano prosječno vidno polje kako bi se olakšalo daljnje promatranje i statistička analiza.

Pristup podacima i statistička analiza

Svi podatci su statistički obrađeni. Izračunavanje prosječne duljine izdanaka i korijena lukovica odrađeno je prema formuli:

$$\bar{d} = \frac{\sum d}{N}$$

\bar{d} – prosječna duljina izdanaka/korijena, $\sum d$ – zbroj svih duljina izdanaka/korijena, N – broj ponavljanja

Prosječne duljine izdanaka/korijena po tretmanu kroz tjedan dana su prikazane pomoću linijskog dijagrama. Po preparatu je prebrojeno po 200 stanica (proizvoljno izabran uzorak) te su prebrojene stanice u pojedinoj fazi mitoze i izdvojene mutacije. Za mitotski indeks korišten je prosječan broj stanica u mitozu između tri ponavljanja istog tretmana. Mitotski indeks izračunat je po formuli

$MI (tretman) = \frac{\text{broj stanica u mitozu}}{\text{broj promatranih stanica}}$. Mutacije stanica dokumentirane su pomoću slika i opisa



Slika 4 Epruvete (Eppendorf) s uzorcima za bojenje

prema Morais Leme i Marin-Morales (2009), Radić i sur. (2009) i Kumar i sur. (2020). S obzirom na literaturu i uočene mutacije, podatci o prosjeku uočenih vrsta mutacija biti će prikazani tablično.

Kako bi se odredio statistički značaj rezultata, korišten je Kruskal-Wallis test koji uspoređuje medijane više od dvije grupe (Šopić i Car-Pušić, 2018). Ovaj test spada u neparametrijske testove jer se koristi za nepravilno raspoređene skupove podataka. Test je proveden u programu za statističku obradu podataka PAST prema formuli:

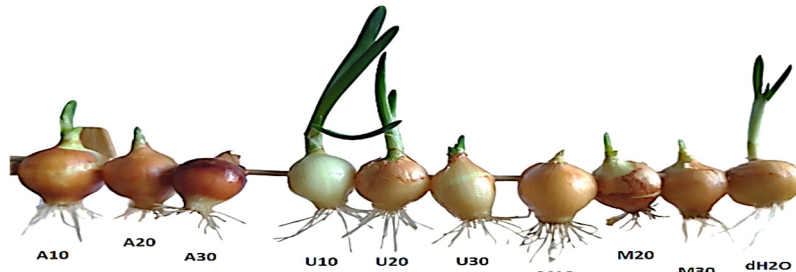
$$H = \frac{12}{N(N+1)} \sum_{i=1}^k \frac{R_i^2}{n_i} - 3(N+1)$$

k – broj uspoređivanih nezavisnih skupina, N – ukupan broj podataka, n_i – broj podataka po skupini, R_i – zbroj rangova i -te skupine.

Dobivena vrijednost H omogućuje zaključivanje o postojanju razlike između skupina, ali kao takva ne navodi koje se skupine razlikuju. U tom slučaju, potrebno je provesti i „post hoc“ analizu koja uspoređuje sve parove skupina (Šopić i Car-Pušić, 2018). Za svrhu ovog istraživanja, korišten je Dunnov post hoc test ugrađen u program PAST.

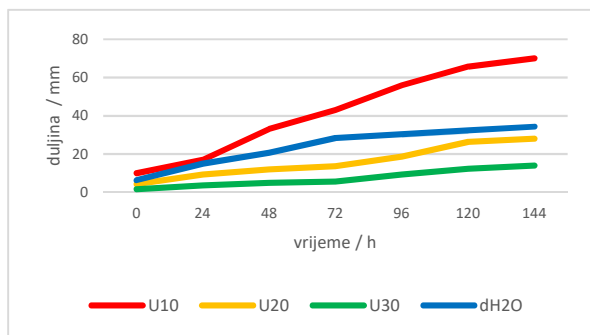
REZULTATI

Podaci dobiveni tretmanom lukovica luka (slika 5) analizirane su kao prosječne duljine izdanaka/korijena lukovica (aritmetička sredina duljina izdanaka/korijena za tri ponavljanja) za korištena gnojiva.

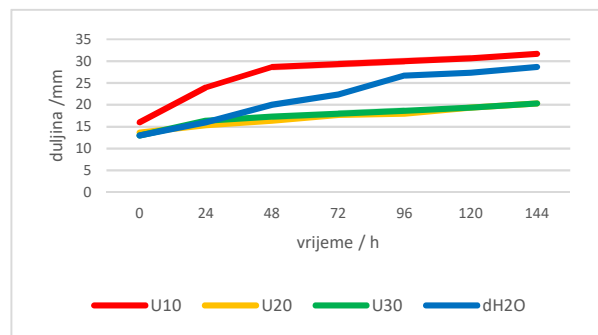


Slika 5 Prikaz lukovica nakon tjedan dana tretmana na primjeru trećeg ponavljanja; legenda: U – urea, A – amonijev nitrat, M – *Moringa oleifera*, dH₂O – destilirana voda, 10 – 10 g/L, 20 – 20 g/L, 30 – 30 g/L

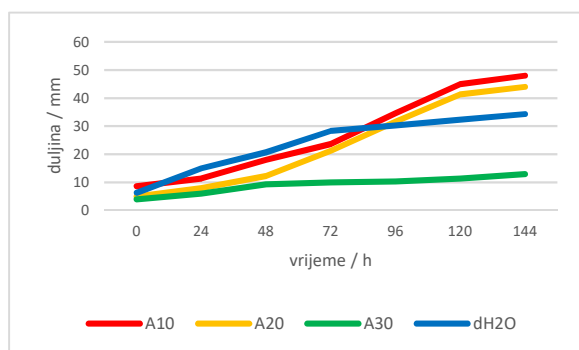
Na linijskim grafovima crvenom bojom označeni su podaci za tretman masene koncentracije 10 g/L pojedinog gnojiva. Analogno, žutom bojom označeni su podaci za koncentraciju 20 g/L, a zelenom 30 g/L. Osim podataka za određeno gnojivo, svaki graf sadrži i podatke za destiliranu vodu, označeno plavom bojom koji predstavljaju kontrolu. Grafovi označeni na slikama 6 do 11 prikazuju rezultate za promjenu duljina izdanaka (lijevo) i korijena (desno).



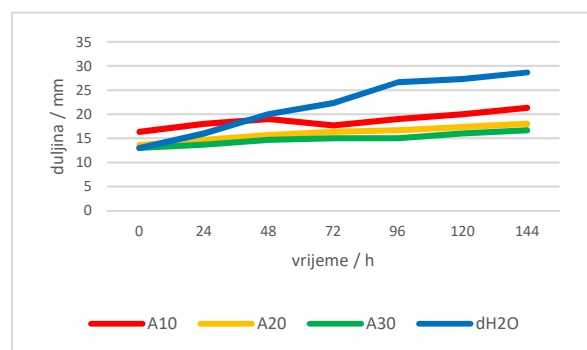
Slika 6 Ovisnost duljine izdanaka o duljini izlaganja izdanaka lukovica ureom



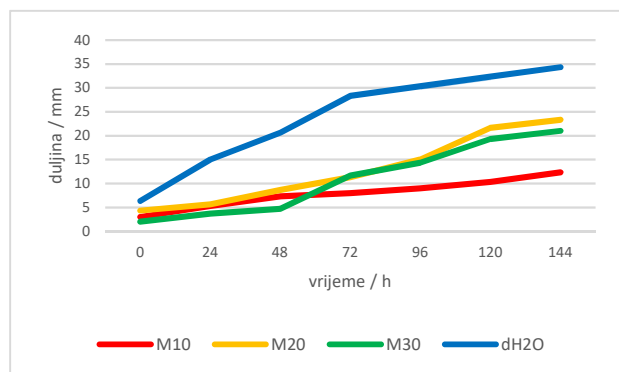
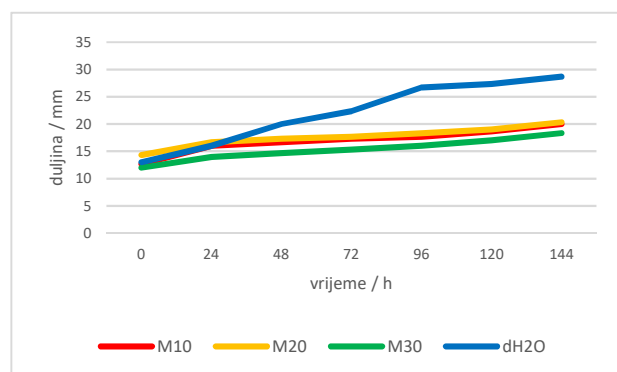
Slika 7 Ovisnost duljine korijena o duljini izlaganja korijena lukovica ureom



Slika 8 Ovisnost duljine izdanaka o duljini izlaganja izdanaka lukovica amonijevim nitratom



Slika 9 Ovisnost duljine korijena o duljini izlaganja izdanaka korijena amonijevim nitratom

Slika 10 Ovisnost duljine izdanaka o duljini izlaganja izdanaka lukovica *M. oleifera*Slika 11 Ovisnost duljine izdanaka o duljini izlaganja izdanaka korijena *M. oleifera*

Slika 12 predstavlja Kruskal-Willis test odrađen na podacima za duljinu izdanaka lukovica dok slika 13 predstavlja isto za duljinu korijena lukovica. Iz njih je vidljivo kako postoji značajna statistička razlika između skupina podataka, odnosno tretmana i koncentracija.

One-way ANOVA Residuals Tukey's pairwise Kruskal-Wallis Mann-Whitney pairwise

Kruskal-Wallis test for equal medians

$H(ch^2)$: 32,41
 H_c (tie corrected): 32,42
 p (same): 0,0001681

There is a significant difference between sample medians

Slika 12 Rezultati Kruskal-Wallis testa na duljinama izdanaka

One-way ANOVA Residuals Tukey's pairwise Kruskal-Wallis Mann-Whitney pairwise

Kruskal-Wallis test for equal medians

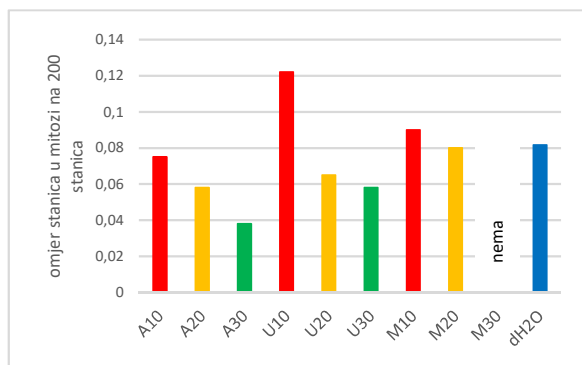
$H(ch^2)$: 28,95
 H_c (tie corrected): 29,01
 p (same): 0,0006466

There is a significant difference between sample medians

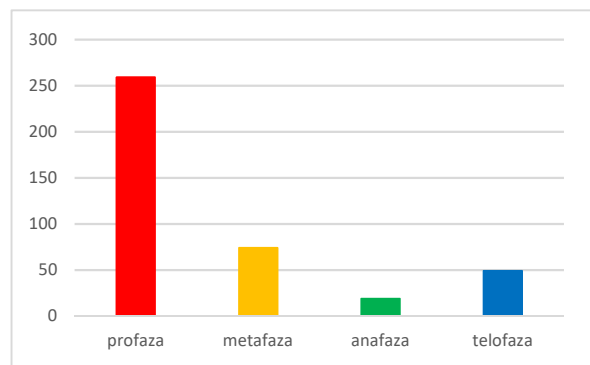
Slika 13 Rezultati Kruskal-Wallis testa na duljinama korijena

Prema Dunnovom post hoc testu za izdanke i korijene, tretman vodene otopine uree masene koncentracije 10 g/L statistički najviše odstupa od ostalih podataka i predstavlja pozitivno odstupanje. Isto je vidljivo i na grafovima dok ostali tretmani uzrokuju manji ili gotovo jednak rast u usporedbi s kontrolom. Na Slici 6 i Slici 7 vidljivo je kako tretman vodenom otopinom uree masene koncentracije 10 g/L uzrokuje najveći porast duljine izdanaka i korijena – u tjedan dana prosječna duljina izdanaka povećala se za sedam puta dok se prosječna duljina korijena udvostručila. Tretman ureom pri svim koncentracijama uzrokuje veće produljenje izdanaka i korijena od kontrole, destilirane vode. Na Slici 8 vidljivo je kako tretmani vodenim otopinama amonijeva nitrata masenih koncentracija 10 g/L i 20 g/L uzrokuju veće duljine izdanaka u odnosu na vodu. Kod masene koncentracije od 10 g/L prosječna duljina izdanaka upeterostručila se, a kod masene koncentracije 20 g/L povećala se za čak devet puta.

Sljedeći stupčasti dijagrami prikazuju podatke o prosječnoj mitotskoj indeksu pri pojedinom tretmanu (aritmetička sredina stanica u mitozu za tri ponavljanja kroz 200 stanica) i podjelu stanica u nekoj fazi mitoze na uočene faze. Na Slici 14 vidljivo je kako tretman vodenom otopinom uree pri koncentraciji 10 g/L uzrokuje najveći mitotski indeks. Također je vidljivo kako samo tretmani U10 i M10 uzrokuju veći broj mitotskih dioba od kontrole dok ostali tretmani usporavaju mitozu.

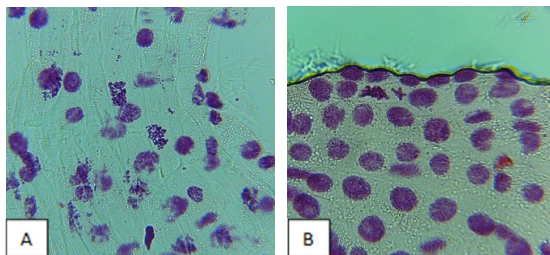


Slika 14 Prosječni mitotski indeksi za pojedini tretman



Slika 15 Podjela stanica u mitozu na faze mitoze

Prema Slici 15, najveći broj stanica u stadiju mitoze uočen je u profazi, a najmanji u anafazi. Naime, Kruskal-Wallis test pokazuje kako ovi podatci nisu statistički značajni s obzirom da vrijednost p iznosi $p = 0,925$.

Slika 16 Usporedba jezgri lukovica žutog luka tretiranih otopinom *M. oleifera* koncentracije 30 g/L (A) i 10 g/L (B)

Bitno je za naglasiti kako za tretman vodene otopine *M. oleifera* masene koncentracije 30 g/L ne postoji podatak o mitotskoj indeksu s obzirom da jezgre stanica nisu bile dovoljno jasne kako bi se precizno odredile faze mitoze. Na Slici 16 prikazana je usporedba jezgri lukovica žutog luka tretiranih vodenom otopinom *M. oleifera* masene koncentracije 30 i 10 g/L.

Tablica 1 predstavlja legendu za tumačenje vrsta mutacije dok popratne slike označene kao Slika 17 A - F predstavljaju primjer navedenih mutacija. Tablica 2 predstavlja prosječan broj pojedinih mutacija po tretmanu kao i ukupan broj mutiranih stanica određene vrste mutacije.

Tablica 1 Legenda za oznake i opis mutacija

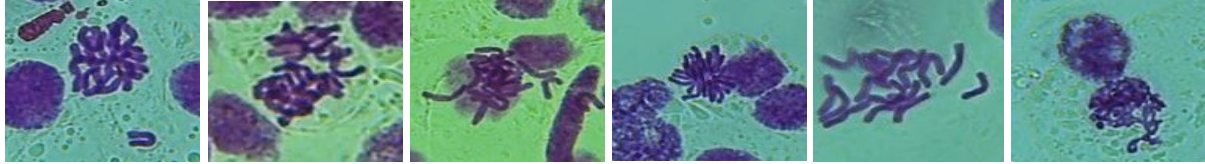
Oznaka:	Opis mutacije:
A	metafaza s odlomljenim kromosomom
B	C-metafaza
C	zalijepljeni kromosomi
D	metafaza s petljom
E	interfaza s profazom
F	rasprsnuta metafaza

Tablica 2 Prosječan broj pojedinih mutacija po tretmanu

tretman	A	B	C	D	E	F	ukupno:
U10	2,33	1,66	0,66	1	0,33	2,33	8,31
U20	0,66	1	0,33	2,33	3	2,66	9,98
U30	1,66	2,33	1,66	2	0,33	2,33	10,31
A10	0	0,33	2,33	1,33	0	0,33	4,32
A20	1,66	0	1,33	1,33	2,66	0	6,98
A30	1	0	1,66	0,66	2,33	1,66	7,31
M10	0,66	0,66	2	0	0	0,66	3,98
M20	1,66	0	2	0,66	0,33	0	4,65
M30	x	x	x	x	x	x	x
dH ₂ O	0,33	0	0	0	0,33	1,66	2,32
ukupno:	11,3	5,98	13	9,64	9,31	14	

Svi primjeri prikazani na Slici 17 dobiveni su ovim istraživanjem. Vidljivo je kako tretman vodenim otopinama uree uzrokuje najviše mutacija, a općenito se broj mutacija povećava povećavanjem

koncentracije pojedinog tretmana. Također je vidljivo kako je najčešća uočena mutacija metafaza s odlomljenim kromosomom.



Slika 17 Primjeri mutacija stanica lukovica žutog luka

RASPRAVA

Kako bi se što bolje protumačili rezultati ovog istraživanja, potrebno je dati istraživanju genotoksikološki i ekološki kontekst te usporediti opažanja s dostupnom literaturom. Promatrajući Sliku 5, vidljivo je kako korijen izgleda iznimno zdrav (bijele boje, čvrst i netransparentan) kod tretmana vodenim otopinama A10, uree kod svih tretmana, M10 i destilirane vode. Također je vidljivo kako se, suprotno pretpostavci, duljina izdanka lukovica smanjuje u odnosu na kontrolu povećanjem masene koncentracije (osim kod tretmana vodenim otopinama *M. oleifera*). Prema Albornoz i Lieth (2015), manje koncentracije nitratnih gnojiva uzrokuju rast listova obične salate (*Lactuca sativa* L.) dok se pri višim koncentracijama rast smanjuje jer tada kalij predstavlja ograničavajući čimbenik rasta.

Navedeni utjecaj razlike u koncentraciji uočen je kod tretmana ureom i amonijevim nitratom dok je tretman vrstom *M. oleifera* uzrokovao smanjenu duljinu izdanaka i korijena u odnosu na kontrolu neovisno o koncentraciji. Rezultati su jasno ukazali da najveći porast duljine izdanaka i korijena uzrokuje tretman vodenom otopinom uree, što je u skladu sa istraživanjima Kaymak (2013). Prema Kaymak (2013), u usporedbi utjecaja različitih izvora dušika na rast tušta (*Portulaca oleracea* L.), urea i amonijev nitrat rezultiraju sličnim porastom visine ove biljke. Slike 7, 9 i 11 pokazuju kako jedino tretman U10 ima pozitivno djelovanje na rast korijena lukovica žutog luka, dok se ostali tretmani nisu razlikovali ili su bili manji od kontrole. značajno povećanje korijena *A. cepa* uzrokuje jedino kontrola, destilirana voda. Razlog ovakvoj razlici umjetnih gnojiva na rast izdanaka i korijena može biti činjenica da povećanjem koncentracije nitrata u tlu, izdanci biljke rastu značajno više u odnosu na korijene (Weaver i Himmel, 1929). Autori navode kako je moguć razlog takvom ishodu manjak ugljikohidrata koji se skladište u korijenu.

Iako tretman vodenom otopinom vrste *M. oleifera* nije uzrokovao povećanje duljine izdanka i korijena u odnosu na kontrolu vidljivo je kako ovaj tretman uzrokuje kontinuiran rast neovisno o koncentraciji (Slika 10 i 11). S obzirom da tretman *M. oleifera* rezultira značajno manjim duljinama izdanaka i korijena u usporedbi s ureom i amonijevim nitratom, moguć razlog je problem slabe topljivosti praha (Singh i Prasad, 2013). Prema Abdalla (2013), ekstrakti lišća i grančica djeluju kao biostimulanti za brojne kulture zbog svoje visoke iskoristivosti, nutritivne kvalitete, antioksidantske uloge i jednostavne pripreme. Prema Phiri (2010), konjska rotkvica ulazi u svakodnevni život Zambijaca koji pate od nedostatka tla pogodnog za uzgoj nutricionalno važnih žitarica. Zaključeno je kako rani tretman sjemenki žitarica ovom biljkom poboljšava klijanje istih, ali kako daljnji kontakt uzrokuje usporavanje rasta klica. Potrebno je provesti više istraživanja na ovu temu kako bi se uspostavili najpovoljniji uvjeti za uzgajanje bitnih kultura pomoću pripravaka dobivenih od ove biljke.



Naime, uobičajeni udjeli stanica u mitozu kroz broj promatranih stanica iznose od šest do osam (Ali i sur., 2019). Razlog ovako malim mitotskim indeksima u usporedbi s literaturom nije poznat te se predlaže ponavljanje istraživanja na većem broju ponavljanja. Prema Verma i sur. (2016), amonijev nitrat rezultirao je većem mitotskom indeksu i broju mutiranih stanica u usporedbi s ureom dok rezultati ovog istraživanja upućuju na obrnut slučaj. Prema Tablici 2, vidljivo je kako se povećanjem koncentracije tretmana povećava broj mutiranih stanica, pri čemu je najveći broj mutiranih stanica uočen kod tretmana ureom. Također, svi tretmani imaju veći broj mutiranih stanica u odnosu na kontrolu. Iz rezultata je vidljivo kako je najčešća dokumentirana mutacija metafaza s odbjeglih kromosomima koja, prema Morais Leme i Marin-Morales (2009), nastaje zbog klastogeničnih utjecaja. Ostale evidentirane mutacije (osim interfaze s profazom) pripadaju aneugeničnim mutacijama. Osnovna je razlika klastogeničnih i aneugeničnih mutacija ta da klastogenične mutacije upućuju na izravnu izmjenu DNA molekule dok aneugenične upućuju na izmjenu proteina i drugih molekula koje komuniciraju s molekulom DNA (Europska agencija za zaštitu hrane, 2021). Iako i *M. oleifera* uzrokuje mutacije stanica, vidljivo je kako ostali tretmani uzrokuju višestruko više mutiranih stanica po uzorku. Slične rezultate dobili su i Kumar i sur. (2020) u istraživanju usporedbe genotoksičnog utjecaja umjetnog i prirodnog gnojiva te su zaključili kako prirodno gnojivo pokazuje slabije izražene negativne posljedice na strukturu kromosoma biljke dok istovremeno poboljšava klijanje, preživljavanje i rast promatranog uzorka.

Dodatni podatci koji upućuju na potrebu davanja prednosti prirodnim gnojivima bave se ekološkom perspektivom. Prema Mozafar (2008), prekomjerno korištenje gnojiva koja sadrže dušikove spojeve znatno smanjuje količine vitamina C dok istovremeno povećava količine nitratnog iona (NO_3^-). Nitratni ioni u biljci mogu sintetizirati kancerogene nitrozilne spojeve čiji je glavni inhibitor upravo vitamin C. Ovo može predstavljati problem u prehrambenoj industriji zbog čega je potrebno dodatno istraživanje i educiranje o temi umjetnih gnojiva u ekologiji. Također, prema Sharma i Bhattacharya (2016), konzumacija vode s visokim koncentracijama nitrata uzorkovano pretjeranim korištenjem umjetnih gnojiva dovodi do ozbiljnih patoloških stanja zbog toga što oksidacija nitrata u nitrite u tijelu remeti transport kisika u krvi. Prema Savci (2012), međunarodno prihvaćena masena koncentracija nitrata u vodi iznosi tek 11,3 mg/L dok navodi kako ista u Europi iznosi 23 mg/L, a u SAD-u 45 mg/L. Sigurno je za reći kako će se kroz idućih nekoliko desetljeća povećati broj autoimunih i genskih bolesti uzrokovanih ovim problemom. Kako ne bi došlo do rapidnog povećanja patoloških stanja čovjeka uzrokovanih izmijenjenim genomom hrane, potrebno je naglasiti važnost educiranja o temi umjetnih gnojiva i njihovih utjecaja na okoliš. *M. oleifera* kao i ostala prirodna gnojiva povoljna su rješenja za poljoprivredu jer ih sami korisnici mogu uzgajati te se time smanjuje ugljični otisak zajednice zbog manje potrebe za transportom biomase. Također se postavlja pitanje jednostavnosti uporabe prirodnih gnojiva s obzirom na cijenu kad je već opisani proces proizvodnje amonijaka iznimno jeftin. Iako cijena proizvodnje može stvarati prepreku u pokušaju popularizacije prirodnih gnojiva, prema Baba i sur. (2015), proizvodnja *M. oleifera* ostvaruje pozitivnu dobit. Ipak, kao problem naglašavaju se česte zaraze parazitima zbog čega je potrebno razviti nove metode uzgoja ovakve biljke. Pri tome je potrebno naglasiti kako je potreban oprez kod uvođenja ove biljke na nova područja s obzirom da nije dokazano može li predstavljati rizik autohtonim vrstama.



Istraživanje bi se moglo proširiti:

- a) ponavljanjem na većem uzorku i broju ponavljanja kako bi se potvrdio značaj dobivenih rezultata
- b) uzgajanjem lukovica u različitim vrstama tla kako bi se odredio utjecaj:
 1. mikroorganizama tla na iskoristivost vrste gnojiva
 2. vrste i koncentracije gnojiva na kemijska svojstva tla (npr. pH, strukturu tla, brojnost i raznolikost mikroorganizama...)

ZAKLJUČCI

Tijekom ovog istraživanja zaključeno je kako:

- ☞ najveći rast izdanka i korijena i najveći mitotski indeks u odnosu na kontrolu uzrokuje tretman vodenom otopinom uree masene koncentracije 10 g/L
- ☞ povećanjem koncentracije gnojiva, duljina izdanaka i korijena se smanjuje
- ☞ tretman vodenom otopinom praha vrste *Moringa oleifera* ne uzrokuje značajno povećanje duljine izdanaka i korijena u odnosu na kontrolu
- ☞ najviše mutacija uzrokuje tretman vodenom otopinom uree masene koncentracije 30 g/L

ZAHVALA

Ovim putem želim se zahvaliti: prof. Elmi Vuko s Prirodoslovno-matematičkog fakulteta Split na upućivanju na opisani protokol za *Allium* test, prof. Sanji Vlahović na lekturi, svim zaposlenicima škole i kolegama na pomoći i strpljenju kao i svima ostalima koji su pomogli na svoj način.

LITERATURA

- Abdalla M. 2013. The potential of *Moringa oleifera* extract as a biostimulant in enhancing the growth, biochemical and hormonal contents in rocket (*Eruca vesicaria* subsp. *sativa*) plants. *International Journal of Plant Physiology and Biochemistry*, 5(3), 42-49. doi: 10.5897/IJPPB2012.026.
- Albornoz F., Lieth J. H. 2015. Over fertilization limits lettuce productivity because of osmotic stress. *Chilean Journal of Agricultural Research* 75(3). <http://dx.doi.org/10.4067/S0718-58392015000400003>.
- Ali R. T., Abdel-Ghany E. M., Mohamed F. I., Hanna E. M., Elshery Z. M. 2019. Usage of the cyto-genetics and cytology to identify the action mechanisms of two biofertilizers on *Allium cepa* meristematic cells. *Bulletin of the National Research Centre*, 43:138 doi: <https://doi.org/10.1186/s42269-019-0171-1>.
- Anić P. 2017. Mutacije i bolesti. Sveučilište Josipa Jurja Strossmayera u Osijeku. <https://urn.nsk.hr/urn:nbn:hr:181:541423>.
- Baba M. D., Yakubu G., Yelwa J. M., Haruna L. 2015. Costs and returns of moringa (*Moringa oleifera*) production in Zuru local government area of Kebbi State, Nigeria. *New York Science Journal* 2015;8 (1).
- Britannica, 2023. "nitrogen fixation". *Encyclopedia Britannica*, 16 Feb. 2023. <https://www.britannica.com/science/nitrogen-fixation>. Pristupljeno 21. 2. 2023.
- HE, 2023. Dušik. *Hrvatska enciklopedija, mrežno izdanje*. Leksikografski zavod Miroslav Krleža, 2021. Pristupljeno 1. 3. 2023. <http://www.enciklopedija.hr/Natuknica.aspx?ID=16715> Pristupljeno 21. 2. 2023.
- Erisman J. W., Bleeker A., Galloway J., Suttom M. S. 2007. Reduced nitrogen in ecology and the environment. *Environmental Pollution* 150:140-149 doi: 10.1016/j.envpol.2007.06.033.
- Europska agencija za zaštitu hrane: More S. J., Benford D., Bampidis V., Bragard C., Halldorsson T. I., Hernández-Jerez A. F., Bennekou S. H., Koutsoumanis K., Lambré C., Machera K., Naegeli H., Nielsen S. S., Schlatter J., Schrenk D., Turck D., Younes M. 2021. Guidance on a neogenecity assessment. *EFSA Journal*. 19:8. doi: <https://doi.org/10.2903/j.efsa.2021.6770>.
- Geissler D., Scow K. M. 2014. Long-term effects of mineral fertilizers on soil microorganisms – A review. *Soil Biology & Biochemistry*, 75, 54-63. <http://dx.doi.org/10.1016/j.soilbio.2014.03.023>.
- Kaymak H. C. 2013. Effect of nitrogen forms on growth, yield and nitrate accumulation of cultivated purslane (*Portulaca oleracea* L.). *Bulgarian Journal of Agricultural Science*, 19:3 444-449.
- Kumar G., Singh R., Mishra R. 2020. Biofertilizer and chemical fertilizer induced changes in cyto-morphological and biochemical constituents of *Foeniculum vulgare* Mill. *Current Botany* 2020, 11:7-13 doi: 10.25081/cb.2020.v11.5984.
- Morais Leme D., Marin-Morales M. 2009. *Allium cepa* test in environmental monitoring: A review on its application. *Mutation Research*, 682: 71-91 doi: doi.org/10.1016/j.mrrev.2009.06.002.



- Morgan J. B., Connolly E. L. 2013. Plant-soil interactions: nutrient uptake. *Nature Education Knowledge* 4(8):2 doi: 10.1016/j.scitotenv.2009.11.055.
- Mozafar A. 2008. Nitrogen fertilizers and the amount of vitamins in plants: A review. *Journal of Plant Nutrition*, 16:12, 2479-2506 doi: 10.1080/01904169309364698.
- National Center for Biotechnology Information. PubChem Compound Summary for CID 22985, Ammonium nitrate. <https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/compound/Ammonium-nitrate>. Pristupljeno 7. 1. 2023.
- National Center for Biotechnology Information. PubChem Compound Summary for CID 1176, Urea. <https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/compound/Urea>. Pristupljeno 7. 1. 2023.
- Phiri C. 2020. Influence of *Moringa oleifera* leaf extracts on germination and early seedling development of major cereals. *Agriculture and Biology Journal of North America*, 2151-7517 doi: 10.5251/abjna.2010.1.5.774.777.
- Radić S., Stipaničev D., Vujčić V., Marijanović Rajčić M., Širac S., Pevalek-Kozlina B. 2009. The evaluation of surface and wastewater genotoxicity using the *Allium cepa* test. *Science of the Total Environment* 408 (2010) 1228–1233. doi: 10.1016/j.scitotenv.2009.11.055.
- Savci S. 2012. Investigation of effect of chemical fertilizers on environment. *APCBEE Procedia* 1 (2012), 287 – 292 doi: 10.1016/j.apcbee.2012.03.047
- Sharma S., Bhattacharya A. 2016. Drinking water contamination and treatment techniques. *Appl Water Sci*, 7:1043-1067 doi: 10.1007/s13201-016-0455-7.
- Sharma A. K., Sharma A. 1980. *Chromosome techniques - theory and practice*. Butterworths, London.
- Singh Y., Prasad K. 2013. *Moringa oleifera* leaf as functional food powder: characterization and uses. *International Journal of Agriculture and Food Science Technology*, 4: 317-324. https://www.ripublication.com/ijafst_spl/ijafstv4n4spl_07.pdf.
- Soltan Y. A., Hashem N. M., Mosry A. S., Sallam S. M. 2017. Utilization of *Moringa oleifera* in ruminant nutrition (Review article). 3 rd. International conference "Sustainable Development of Livestock's Production Systems" (sdlps2017)" from 7-9 November, 2017. Department of Animal production, Faculty of Agriculture, Alexandria University, Egypt).
- Šopić M., Car-Pušić D. 2018. Statistička obrada podataka o vremenskim nepravilnostima u svrhu određivanja mjesečnog intervala s matematički očekivanim danima zastoja pri radu gradilišta na području grada Rijeke. Sveučilište u Rijeci, Građevinski fakultet. <https://hrcak.srce.hr/file/317461>.
- Šver L., Bielen A., Babić I., Vladušić T., Hrašćan R., Durgo K., Franekić J. 2017. Priručnik za vježbe iz biologije 1. Prehrambeno-biotehnološki fakultet Sveučilišta u Zagrebu.
- Verma S., Arora K., Srivastava A. 2016. Monitoring of genotoxic risks of nitrogen fertilizers by *Allium cepa* L. mitosis bioassay. *Caryologia*, 69:4, 343-350 doi: 10.1080/00087114.2016.1226540.
- Weaver J. E., Himmel W. J. 1929. Relation between the development of root system and shoot under long- and short-day illumination. *Plant Physiology*, 4:4, 435-457.

Raznolikost orhideja (Orchidaceae) na području vodica

Sebastian Čato, 4. razred

Srednja strukovna škola Šibenik, Šibenik

Mentor: Marijana Nikolić

SAŽETAK

Orhideje kao porodica biljaka ima vrlo široku rasprostranjenost te se pojavljuju kao samonikle biljke i kod nas. Naše vrste cvatu kratko vrijeme te se pojavljuju na određenim staništima čime vrlo često ostaju neotkrivene. Za Vodice nema podatka o prisutnoj flori na području, pa tako nema podataka ni za orhideje. Ovo istraživanje je nastalo s ciljem da se opiše lokalna flora i bolje razumije rasprostranjenost određenih vrsta. Istraživanje područja Vodica u trajanju od dvije godine (2021. – 2022.) potvrdilo je prisutnost 23 svojite orhideja. Najbogatiji vrstama su rodovi *Ophrys* i *Orchis* dok preostalih šest rodova ima po tri ili manje predstavnika. Garig se iskazao kao omiljeno stanište mnogih svojiti, među kojima se ističe *Himantoglossum robertianum* kao najčešća vrsta, prisutna na svim staništima. Vrhunac cvatnje je mjesec travanj kad su u cvatu gotovo sve prisutne svojite. Čak 12 pronađenih svojiti je svrstano u Crvenu knjigu vaskularne flore Hrvatske s dodijeljenom jednom od kategorija ugroženosti. Neke pronađene svojite koje je vrijedno navesti su: *Himantoglossum adriaticum*, *Ophrys archipelagi*, *Ophrys lutea ssp. minor*, *Orchis italica* te *Orchis × pseudoanatolica*. Dobiveni rezultati su od velike važnosti za područje, ali i za cijelu Hrvatsku.

Ključne riječi: flora; Dalmacija; garig; Ophrys

UVOD

Porodica orhideja (Orchidaceae Juss.) je bogata, gotovo kozmopolitska porodica kritosjemenjača koja uključuje otprilike 28 000 vrsta svrstanih u više od 700 rodova, a najbogatija je vrstama u tropima (Chase i sur., 2015). Tamo su vrste uglavnom epifitske (rastu pričvršćene modificiranim korijenjem za npr. stabla), no u ostatku svijeta one su terestrijalne (rastu iz tla). Cvjetovi su im modificirani na razne načine ovisno na koji način su oprašivane, zbog čega je prisutna tako široka varijacija veličine, oblika i boja cvjetova unutar porodice ili čak i samoga roda (Palomino i Theißen, 2009). Jedan od primjera je oprašivanje imitacijom ženki kukaca, takozvana „seksualna obmana“: svojstvo prisutno u rodu *Ophrys* L., gdje je mužjak kukca (uglavnom pčele) prevaren. U susretu sa cvijetom on se pokušava pariti sa tom „ženkom“ te u procesu zapravo vrši oprašivanje vrlo modificiranog cvijeta (Schiestl, 2005).

U Hrvatskoj se razne vrste orhideja pojavljuju diljem zemlje na širokom broju staništa s najvećim brojem vrsta prisutnim na obali i po otocima. Prema bazi podataka Flora Croatica, u hrvatskoj flori je do sad zabilježeno 193 svojite orhideja od kojih je 11 endemično (Nikolić, 2023). Cijela porodica je strogo zakonom zaštićena (Anonymous, 2009), a visoki broj od čak 58 svojiti je uključen u Crvenu knjigu vaskularne flore Hrvatske (Nikolić i Topić, 2005).

Vodice su manji obalni grad u Dalmaciji koji se nalazi u blizini Šibenika te koji je ujedno i popularna turistička destinacija. Pod utjecajem turizma u posljednjih 60 godina, grad se urbanizirao i znatno proširio (Lasan, 2019) što je u konačnici smanjilo površinu različitih prirodnih staništa flore i faune. Posljedica je siromašan broj prisutnih halofita (biljaka prilagođenih na rast u zaslanjenim staništima) i faune na obali koja je uništena betoniranjem te nasipima šljunka (osobna zapažanja). Posljednjih godina se urbanizacija više proširila i na zaleđe grada gdje se svakodnevno izgrađuju mnogobrojni novi objekti, što ponovno stavlja veliki broj organizama pod rizik od gubitka staništa; tu spadaju i orhideje, koje su od posebnog značaja u ovom istraživanju. Riječ je o fascinantnim biljkama koje



dolaze u bezbroj varijacija, a mogu se pronaći u vlastitoj okolini. Osim što za preživljavanje trebaju mikorizu (simbiotska veza gljiva i biljnog korijena) te je tako njihovo rasprostranjivanje otežano, svakodnevno gube staništa te ujedno i šansu za opstanak (Rasmussen, 1995; Wraith i Pickering, 2017). Do danas floristička istraživanja nisu bila provedena na području Vodica, no prema osobnim, još neobjavljenim podacima, na području Vodica je trenutno prisutno više od 700 svojti vaskularnih biljaka. Okolna područja čije flore su dokumentirane i sadrže predstavnike iz porodice orhideja su: Murter (Pandža, 1998; Milović i Pandža, 2010), Tribunj (Milović i sur., 2013), Lukovnik (Vukelja, 2009), Prvić (Pandža, 1998; Milović i Pandža, 2010), Zlarin (Milović i Pandža, 2010; Justić i sur., 2021.) te Šibenik i okolica (Milović, 2002). Rezultati ovog istraživanja će se floristički usporediti s podacima iz navedenih istraživanja, također već sad iz tih radova možemo pretpostaviti koje će svojte biti pronađene. Najčešće svojte, često i zajedničke tih prostora (i koje se mogu očekivati na području Vodica) su: *Anacamptis morio*, *A. pyramidalis*, *Limodorum abortivum*, *Neotinea tridentata*, *Ophrys bertolonii*, *O. sphegodes ssp. atrata*, *O. × flavicans*, *O. purpurea*, *O. quadripunctata*.

Cilj ovog istraživanja je napraviti detaljnu analizu vrsta orhideja prisutnih na području Vodica i doprinijeti poznavanju flore ovog područja te na koncu usporediti dobivene rezultate s rezultatima iz okolno istraživanih mjesta. Floristička usporedba će podrazumijevati isticanje i raspravu zajedničkih svojti Vodica i okolnih područja te onih svojti koje su prisutne samo na području Vodica. Vodice su izrazito bogate različitim reljefom i staništima, što otvara mogućnost da broj prisutnih svojti bude prilično visok, no zbog velike površine postoji mogućnost da određene rjeđe vrste prisutne na malom broju lokaliteta ostanu neprimijećene. Osim samih vrsta, zabilježiti će se njihova sklonost za određenim staništima da se utvrdi koje vrste staništa su najbogatija, te će dobiveni rezultati biti korisni za njihovu eventualnu zaštitu. Također će se zabilježiti rasprostranjenost vrsta i njihova rijetkost te saznati koje su vrste pod prijetnjom od potencijalnog lokalnog izumiranja u budućnosti. Vrijeme cvatnje pronađenih svojti će također biti praćeno te napomenuto u rezultatima.

Pretpostavke ovog istraživanja su: (1) velik broj vrsta je prisutan na području istraživanja, s garigom kao najbogatijim staništem; (2) prisutnost nekoliko čestih vrsta velikim dijelom Vodica, dok ostatak vrsta ima po jednu ili nekoliko fragmentiranih populacija; (3) zbog mediteranske klime te nepovoljnih uvjeta ljeti većina, ako ne i sve pronađene svojte su geofiti (životni oblik u kojem biljka pohranjuje hranjive tvari u podzemnom organu, npr. gomolju, lukovici, rizomu), a ne neki drugi životni oblik kao što su terofiti (jednogodišnje biljke koje preživljavaju nepovoljne uvjete u obliku sjemena, npr. *Aegilops* sp. (ostika), *Lysimachia* sp. (protivak)) ili pak hidrofiti (biljke koje su vezana za vodena staništa i žive potopljeni djelomično ili potpuno u njoj, npr. *Nymphaea* sp. (lopoč), *Alisma* sp. (žabočun)) (Raunkiaer, 1934); te (4) vrhunac cvatnje očekuje se proljeće zbog povišene vlage i toplog vremena te brojnih aktivnih kukaca (potencijalnih oprašivača).

METODE

Istraživano područje Vodica (slika 1) je smješteno na obali u južnom dijelu Sjeverne Dalmacije (43° 45' 36" N, 15° 46' 48" E). Vodice prekrivaju područje površine nešto više od 35 km² uz bogati reljef sa brojnim brdima te livadama, kršom, garizima, makijama i šumama. Najviši vrh Vodica, nadmorske visine od 165 metara je Srzetov vrh smješten na brdu Kozari. Maslinarstvo i vinogradarstvo je zastupljeno kroz cijelo područje koje je pod utjecajem Mediteranske klime, koja su karakterizirana vrućim i suhim ljetima, te blagim i vlažnim zimama. Tijekom ljetnog perioda nije neuobičajeno da jačih padalina izostaje i po nekoliko mjeseci.



Slika 1 Lokacija Vodica te okolnih naselja (Tribunj, Zaton, Srma) i otoka (Lukovnik, Logorun, Prvić, Tijat, Lupac)

Prema podacima iz Klimatskog atlasa Hrvatske (Zaninović i sur., 2008), relativna vlažnost zraka na području Vodica je 65 – 70%, dok srednja temperatura zraka varira između 15 – 16°C. Srednje godišnje osunčavanje iznosi visokih 2500 – 2600 h te je srednja godišnja količina oborina 800 – 900 mm s najviše oborina tijekom rujna i listopada.

Karta prikladnosti tla za uzgoj (Bogunović i sur., 1996) pokazuje da su na području Vodica prisutne tri vrste tla: (i) antropogena krška tla (najviše zastupljena), (ii) litosol na vapnencu i dolomitu (srednje zastupljena), te (iii) antropogena tla na flišu i kolaju (najmanje zastupljena).

Istraživanje je provedeno u vremenskom periodu od dvije sezone, od rane 2021. do kasne 2022. godine. Izlasci na teren i terenska istraživanja su bila provođena tijekom cijele godine s fokusom na proljeće kad je većina svojti u cvatu. Ako je jedinka bila pronađena tijekom perioda vegetacije, bila je zabilježena i ponovno posjećena tokom perioda cvatnje te dokumentirana. Također, za svaku vrstu zabilježeno je na kojem tipu staništa se pojavljuje (livada, kamenjar, garig, šuma ili maslinik). Veliki broj jedinki je uslikan i kasnije objavljen na stranici iNaturalist (online platforma za objavljivanje bioloških nalaza i opservacija) radi doprinosa novih podataka o rasprostranjenosti ovih svojti u mediteranskom području.

Analiza podataka

Za determinaciju je korištena internetska stranica Orchids of Britain and Europe (OBE, 2007) te knjiga Flora Croatica 3 (Nikolić, 2020). Taksonomija je uređena prema Plants of the World Online (POWO, 2023) s iznimkama (*O. archipelagi*, *O. incantata*, *O. rhodostephane*, *O. lutea* ssp. *minor*), čija je nomenklatura slijedila Flora Croatica Database (FCD) (Nikolić, 2023). Klasifikacija životnih oblika je u skladu sa Pignatijem (1982). Biljke nisu sakupljane niti herbarizirane zbog same ugroženosti i zaštićenosti zakonom, zbog čega je determinacija izvršena isključivo kroz određivanja na terenu i preko fotografija.

Svojtama su dodijeljene kategorije ugroženosti prema IUCN-u (EN: ugrožena, VU: osjetljiva, NT: gotovo ugrožena, DD: nedovoljno poznata) iz Crvene knjige vaskularne flore Hrvatske (Nikolić i Topić, 2005) ako su podaci bili dostupni. Svojtama su također dodijeljeni faktori relativne rijetкости (u: uobičajeni nalaz, p: povremeni nalaz, r: rijedak nalaz).

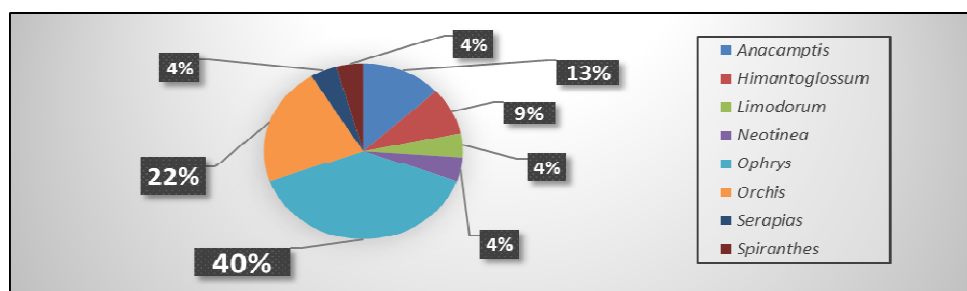
Faktor vrijednosti „u“ dodijeljen je svojti koja je česta te prisutna na većem broju lokaliteta s bogatim populacijama; faktor vrijednosti „p“ dodijeljen je svojti koja je povremeno pronađena, ispunjavajući jedan od dva uvjeta: (i) svojta ima samo jedan lokalitet sačinjen od male/srednje populacije, (ii) svojta ima više od jednog lokaliteta na širem području koji su sačinjeni od malih populacija ili tek nekoliko

usamljenih jedinki; faktor „r“ dodijeljen je svojti s malim brojem jedinki, (takve svojte su često prisutne samo na jednom lokalitetu).

Sve pronađene svojte (vidjeti *Popis pronađenih svojti* u Rezultatima) i njihova prisutnost na području Vodica je uspoređena s okolnim mjestima za koje postoje podaci (Tablica 2), te su dobiveni rezultati prokomentirani u raspravi.

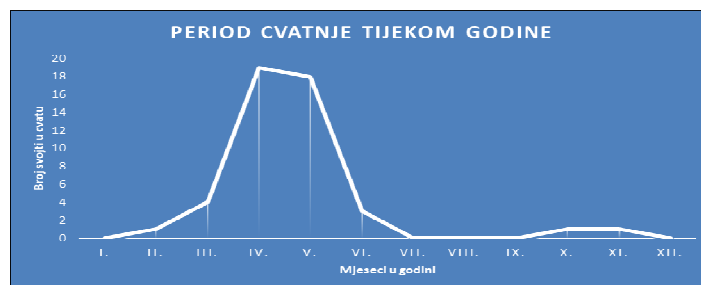
REZULTATI

U vremenskom razdoblju od proljeća 2021. do kraja 2022. godine, na području Vodica zabilježeno je sveukupno 23 svojte orhideja raspodijeljenih u osam rodova. Zabilježene svojte pripadaju rodovima *Anacamptis* (3), *Himantoglossum* (2), *Limodorum* (1), *Neotinea* (1), *Ophrys* (9), *Orchis* (5), *Serapias* (1) te *Spiranthes* (1) (slika 2). Najveći broj populacija i jedinki bio je otkriven tokom njihovog perioda vegetacije (jesen, zima, rano proljeće) te su, nakon što su zabilježene, ponovno posjećene za vrijeme proljeća kad su jedinke u cvatu. To je bilo nužno jer se velika većina pronađenih svojti ne može determinirati bez prisutnosti cvijeta, osim nekoliko iznimki (npr. *Orchis quadripunctata* koja ima točkaste listove i *Himantoglossum robertianum* koji ima velike, karakteristične lisne rozete).



Slika 2 Udio pojedinih svojti orhideja zabilježenih na području Vodica

Među pronađenim svojtama, njih čak 12 (52%) ima dodijeljenu jednu od kategorija ugroženosti, jedna je vrsta nedovoljno poznata (DD) (*O. × flavicans*) dok za ostalih 10 nema dostupnih informacija. Najviši broj je osjetljivih (VU) svojti, njih sedam, nakon kojih dolaze tri ugrožene (EN) te dvije gotovo ugrožene (NT) svojte (tablica 1). Vrhunac cvatnje travanj s 19 svojti u cvatu tokom tog perioda; više od 80% prisutnih vrsta cvate tijekom proljeća, što potvrđuje postavljenu hipotezu (4) proljeća kao vrhunca cvatnje (slika 3).



Slika 3 Graf perioda cvatnje zabilježenih svojti na području Vodica

Jedino kod vrste *Spiranthes spiralis*, cvatnja je zabilježena tokom jesenskog perioda, što je karakteristično za spomenutu vrstu (Delforge, 2006). Sve pronađene svojte su prema životnom obliku, kao što je pretpostavljeno hipotezom (3), geofiti.

Popis pronađenih svojti:

- *Anacamptis coriophora* ssp. *fragrans* (Pollini) R.M.Bateman, jedan lokalitet

- *Anacamptis morio* (L.) R.M.Bateman, Pridgeon & M.W.Chase, dva lokaliteta, dvije jedinke
- *Anacamptis pyramidalis* (L.) Rich., više lokaliteta
- *Himantoglossum adriaticum* H.Baumann, jedan lokalitet, <20 jedinki
- *Himantoglossum robertianum* (Loisel.) P.Delforge, široko rasprostranjena, vrlo česta
- *Limodorum abortivum* (L.) Sw., više lokaliteta
- *Neotinea tridentata* (Scop.) R.M.Bateman, Pridgeon & M.W.Chase, jedan lokalitet
- *Ophrys apifera* Huds., jedan lokalitet, <15 jedinki
- *Ophrys archipelagi* Gözl & H.R.Reinhard, jedna jedinka
- *Ophrys bertolonii* Moretti, više lokaliteta
- *Ophrys incantata* Devillers & Devillers-Tersch, više lokaliteta
- *Ophrys liburnica* Devillers & Devillers-Tersch, tri lokaliteta
- *Ophrys lutea ssp. minor* (Tod.) O.Danesch & E.Danesch ex Golz & H.R.Reinhard, par lokaliteta
- *Ophrys rhodostephane* Devillers & Devillers-Tersch, široko rasprostranjena, česta
- *Ophrys sphegodes ssp. atrata* (Rchb.f.) A.Bolòs, široko rasprostranjena, česta
- *Ophrys* × *flavicans* Vis. (= *O. bertolonii* × *O. sphegodes*), široko rasprostranjena, vrlo česta
- *Orchis italica* Poir., jedan lokalitet, <10 jedinki
- *Orchis pauciflora* Ten., više lokaliteta
- *Orchis purpurea* Huds., nekoliko jedinki na dva lokaliteta
- *Orchis quadripunctata* Cirillo ex Ten., široko rasprostranjena
- *Orchis* × *pseudoanatolica* H.Fleischm. (= *O. pauciflora* × *O. quadripunctata*), jedna jedinka
- *Serapias parviflora* Parl., jedan lokalitet
- *Spiranthes spiralis* (L.) Chevall., dva lokaliteta

Svojtama poredanim abecednim redom je definirano stanište (slika 4) na kojima su pojedine svojite pronađene (l: livada, k: kamenjar, g: garig, š: šuma, m: maslinik), faktor relativne rijetкости, prema ranije spomenutim kriterijima (u: uobičajen nalaz, p: povremeni nalaz, r: rijedak nalaz), IUCN kategorija ugroženosti (ako su dostupni podaci za svojitu) (EN: ugrožena, VU: osjetljiva, NT: gotovo ugrožena, DD: nedovoljno poznata), životni oblici i vremenski periodi cvatnje (mjeseci) (tablica 1). Također su zabilježene i lokacije svojiti na istraživanom području (slika 8).



Slika 4 Prikaz različitih staništa. A) Livada (*A. pyramidalis*), B) kamenjar (*N. tridentata*), C) Garig (*O. lutea ssp. minor*)

Tablica 1 Pronađene svojite i njihova staništa, faktori relativne rijetкости, ugroženosti te životni oblici, r.r. – relativna rijetkost, cv. – cvatnja, o. – oblik

Naziv svojite	Stanište	Faktor r.r.	Ugroženost	Vrijeme cv.	Životni o.
<i>Anacamptis coriophora ssp. fragrans</i>	g	p	VU	V.-VI.	geofit
<i>Anacamptis morio</i>	g	r	/	IV.-V.	geofit
<i>Anacamptis pyramidalis</i>	l,g,m	p	NT	IV.-V.	geofit
<i>Himantoglossum adriaticum</i>	g	r	NT	V.-VI.	geofit
<i>Himantoglossum robertianum</i>	l,k,g,š,m	u	/	II.-IV.	geofit
<i>Limodorum abortivum</i>	š	p	/	IV.-V.	geofit
<i>Neotinea tridentata</i>	k	p	VU	IV.-V.	geofit

Naziv svojte	Stanište	Faktor r.r.	Ugroženost	Vrijeme cv.	Životni o.
<i>Ophrys apifera</i>	g	r	EN	V.-VI.	geofit
<i>Ophrys archipelagi</i>	g	r	/	IV.-V.	geofit
<i>Ophrys bertolonii</i>	g	p	VU	IV.-V.	geofit
<i>Ophrys incantata</i>	k	p	/	III.-IV.	geofit
<i>Ophrys liburnica</i>	k,g	r	/	III.-IV.	geofit
<i>Ophrys rhodostephanes</i>	g,k	u	/	IV.-V.	geofit
<i>Ophrys lutea ssp. minor</i>	g	p	EN	IV.-V.	geofit
<i>Ophrys sphegodes ssp. atrata</i>	g	u	VU	III.-V.	geofit
<i>Ophrys x flavicans</i>	k,g	u	DD	III.-IV.	geofit
<i>Orchis italica</i>	g	r	EN	IV.-V.	geofit
<i>Orchis pauciflora</i>	k	p	VU	IV.-V.	geofit
<i>Orchis purpurea</i>	š	r	VU	IV.-V.	geofit
<i>Orchis quadripunctata</i>	k,h	u	VU	IV.-V.	geofit
<i>Orchis x pseudoanatolica</i>	k	r	/	IV.-V.	geofit
<i>Serapias parviflora</i>	g	p	/	IV.-V.	geofit
<i>Spiranthes spiralis</i>	g	p	/	X.-XI.	geofit

Pronađene svojte i njihova prisutnost na području Vodica je uspoređena s okolnim mjestima za koje postoje podaci (tablica 2).

Tablica 2 Usporedba zabilježenih svojti orhideja Vodica i okolnih područja

Istraživano područje	Površina područja (cca)	Broj zabilježenih rodova	Broj zabilježenih svojti	Broj prisutnih svojti u Vodicama	Izvor podataka
Vodice	35 km ²	8	23	/	ovo istraživanje
Murter (o.)	18 km ²	5	14	10/14	Pandža (1998), Milović i Pandža (2010)
Tribunj	15 km ²	4	11 (2+9)	11/11	Milović i sur., (2013), <i>osobni podaci</i>
Lukovnik (o.)	0,06 km ²	1	1	1/1	Vukelja (2009)
Prvić (o.)	2,4 km ²	2	4	4/4	Pandža (1998), Milović i Pandža (2010)
Zlarin (o.)	8 km ²	9	14	9/14	Pandža (1998.), Milović i P. (2010), Justić i sur.,(2021)
Šibenik i oko.	350 km ²	8	18 (17+1)	14/18	Milović (2002), <i>osobni podaci</i>

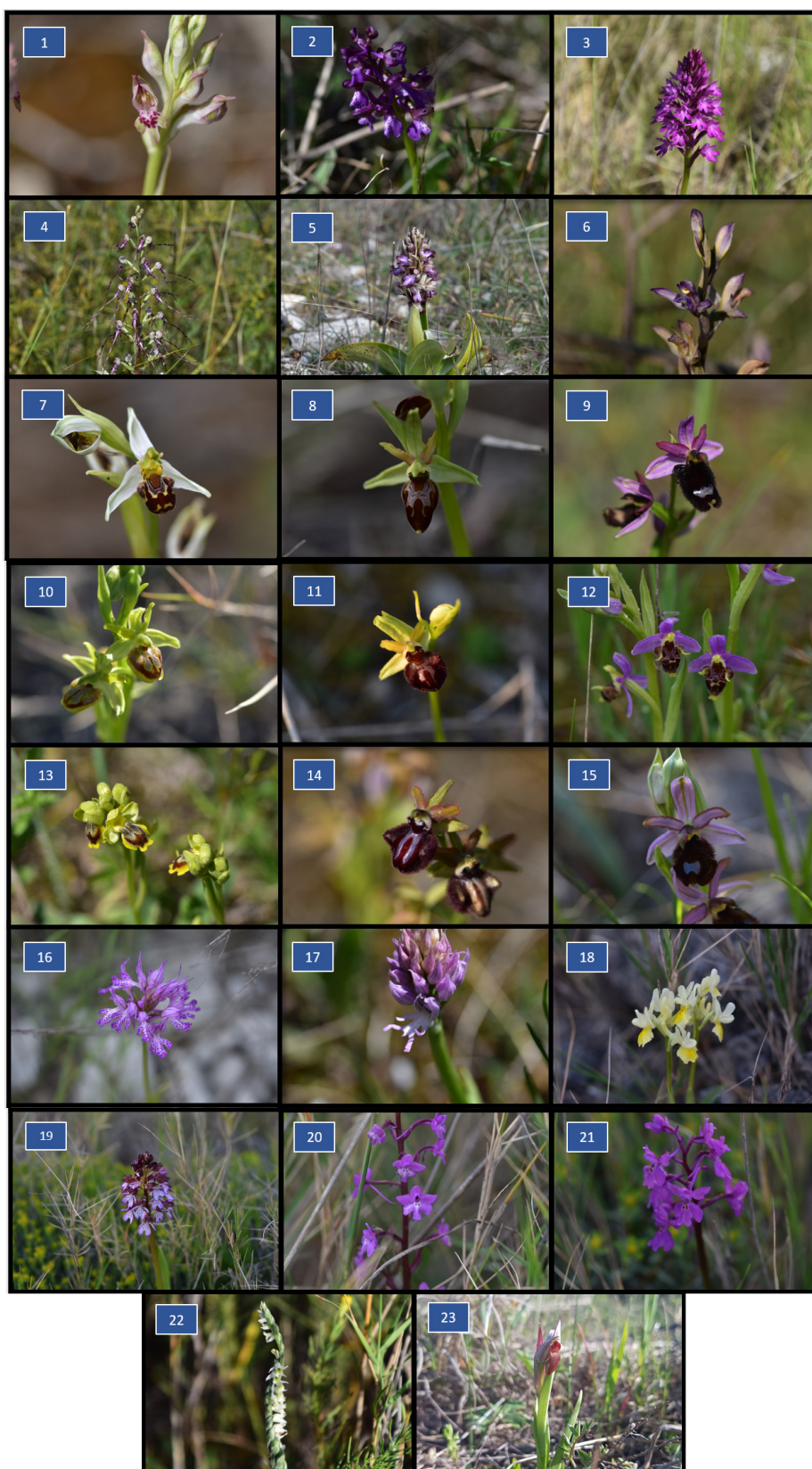
Naznaka „osobni podaci“ za Tribunj odnosi se na osobno zapažanje i potvrdu prisutnost svojti: *H. robertianum*, *O. bertolonii*, *O. liburnica*, *O. incantata*, *O. italica*, *O. pauciflora*, *O. quadripunctata*, *O. x pseudoanatolica*, te *S. parviflora*. Naznaka „osobni podaci“ za Šibenik se odnosi na osobno zapažanje i prisutnost vrste *H. robertianum* koja nije spomenuta u radu o flori Šibenika i okolice, što je neobično s obzirom da je vrlo česta vrsta na području Vodica.

Najzanimljiviji nalaz je jedna jedinka hibridne vrste *O. x pseudoanatolica*. Ova prekrasna vrsta nastala je intermedijalnim križanjem vrsta *O. pauciflora* i *O. quadripunctata*, što je jasno vidljivo po cvijetu koji je po izgledu intermedijalan između ovih roditeljskih vrsta (slika 5).

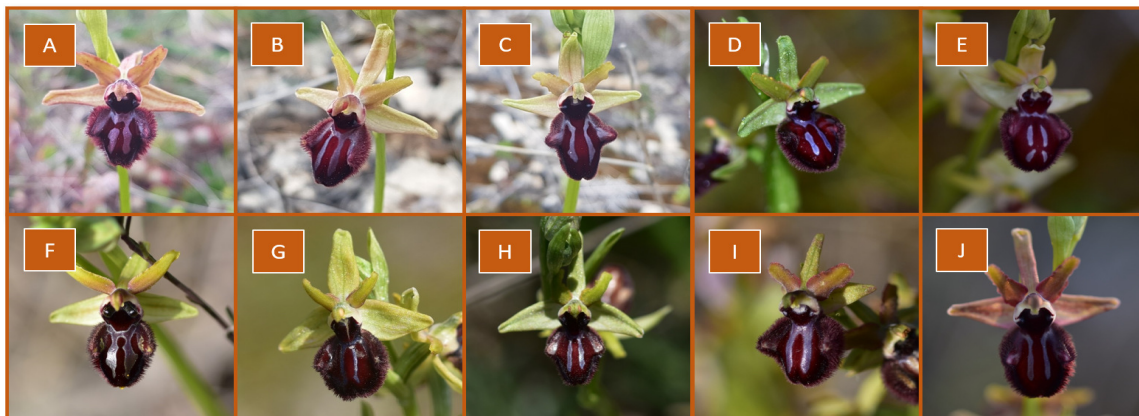


Slika 5 A) Usporedba cvijeta hibridne vrste *Orchis x pseudoanatolica* (sredina) te njenih roditelja, *O. pauciflora* (lijevo) i *O. quadripunctata* (desno), B) *O. x pseudoanatolica* u staništu uz vrste *Brachypodium retusum* (Pers.) P.Beauv. (Poaceae) i *Euphorbia spinosa* L. (Euphorbiaceae)

Vrijedno je spomenuti jako veliku morfološku varijabilnost cvjetova spomenutog roda (slika 6) koja je prisutna te vidljiva i unutar samih populacija između jedinki iste vrste (slika 7).



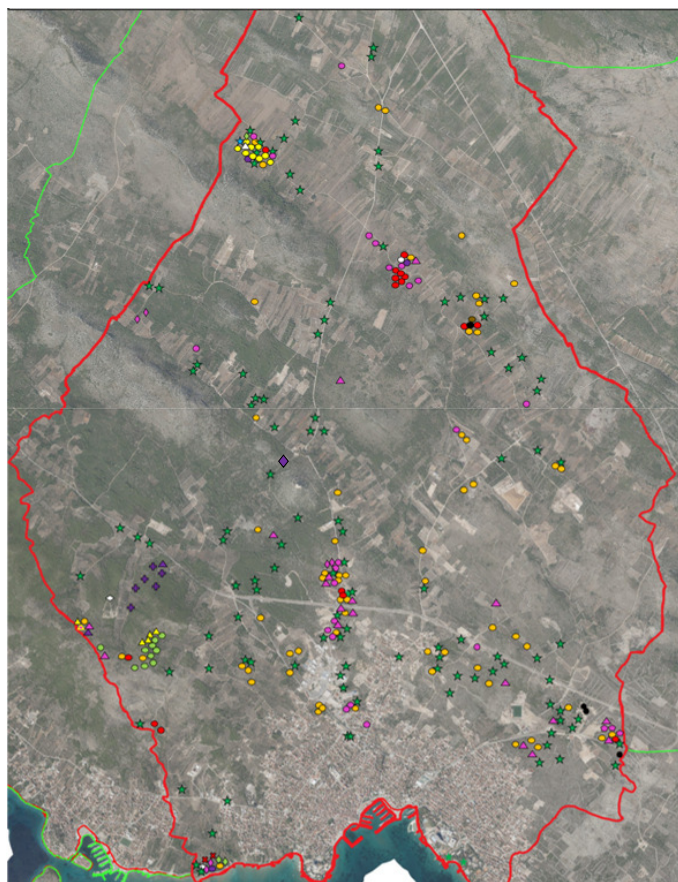
Slika 6 Fotografije svih pronađenih svojti: 1) *Anacamptis coriophora* ssp. *fragrans*, 2) *A. morio*, 3) *A. pyramidalis*, 4) *Himantoglossum adriaticum*, 5) *H. robertianum*, 6) *Limodorum abortivum*, 7) *Ophrys apifera*, 8) *O. archipelagi*, 9) *O. bertolonii*, 10) *O. incantata*, 11) *O. liburnica*, 12) *O. rhodostephane*, 13) *O. lutea* ssp. *minor*, 14) *O. sphegodes* ssp. *atrata*, 15) *O. × flavicans*, 16) *Neotinea tridentata*, 17) *Orchis italica*, 18) *O. pauciflora*, 19) *Orchis purpurea*, 20) *O. quadripunctata*, 21) *O. × pseudoanatolica*, 22) *Spiranthes spiralis*, 23) *Serapias parviflora*



Slika 7 Primjer morfološke varijacije cvjetova vrste *Ophrys sphegodes* ssp. *atrata*. Jedinke na fotografijama A), B) i C) pripadaju jednoj populaciji te jedinke na fotografijama D) i E) pripadaju drugoj populaciji, dok su jedinke na fotografijama F), G), H), I), J) pripadnici različitih populacija s brojnih lokaliteta u Vodicama

Rasprostranjenost zabilježenih orhideja

Pronađene vrste orhideja raspodijeljene su u široko rasprostranjene svojte i usko rasprostranjene svojte (slika 8). U kategoriju široko rasprostranjene svojte spadaju *H. robertianum*, *O. rhodostephane*, *O. sphegodes* ssp. *atrata* te *O. × flavicans*. U kategoriju usko rasprostranjene svojte spadaju *A. morio*, *H. adriaticum*, *O. apifera*, *O. archipelagi*, *O. liburnica*, *O. italica*, *O. purpurea* i *O. × pseudoanatolica*.



<i>Anacamptis coriophora</i> ssp. <i>fragrans</i>	<i>Limodorum abortivum</i>	<i>Ophrys bertalanii</i>	<i>Ophrys sphegodes</i> ssp. <i>atrata</i>	<i>Orchis quadripunctata</i>
<i>Anacamptis morio</i>	<i>Serapias parviflora</i>	<i>Ophrys incantata</i>	<i>Ophrys × flavicans</i>	<i>Orchis × pseudoanatolica</i>
<i>Anacamptis pyramidalis</i>	<i>Spiranthes spiralis</i>	<i>Ophrys liburnica</i>	<i>Orchis italica</i>	<i>Neotinea tridentata</i>
<i>Himantoglossum robertianum</i>	<i>Ophrys apifera</i>	<i>Ophrys rhodostephane</i>	<i>Orchis pauciflora</i>	
<i>Himantoglossum adriaticum</i>	<i>Ophrys archipelagi</i>	<i>Ophrys lutea</i> ssp. <i>minor</i>	<i>Orchis purpurea</i>	

Slika 8 Karta Vodica s nalazištima pojedinih svojti, simboli predstavljaju jednu ili više jedinke prisutno na tom području



RASPRAVA

Broj pronađenih svojti na području Vodica je zapanjujuće visok, pogotovo u usporedbi s brojem svojti orhideja prisutnih na području Šibenika i okolice, čija je površina gotovo deset puta veća od područja istraživanog u ovome radu. Prema trenutnim podacima o cjelokupnoj vaskularnoj flori Vodica (osobni, još neobjavljeni podaci), istraživana porodica sa 23 zabilježene svojte predstavlja sveukupno 3% vaskularne flore Vodica što ju je smješta među 10 vrstama najbogatijih porodica na području.

Među dokumentiranim svojtama dominira rod *Ophrys* L. koji s devet pronađenih vrsta čini čak 40% sveukupnih nalaza, što je i očekivano s obzirom da je ovaj rod najbogatiji vrstama na području Mediterana (Dressler, 1981). Vrijedno je spomenuti jako veliku morfološku varijabilnost cvjetova spomenutog roda koja je prisutna te vidljiva i unutar samih populacija između jedinki iste vrste, što je u konačnici stvorilo jako zahtjevnu i kontroverznu taksonomsku situaciju u posljednjih nekoliko desetljeća, gdje određeni taksonomi grupiraju vrste dok ih drugi stalno dijele. Ta pojava stvara velike probleme s taksonomijom roda, koje je vrlo komplicirano riješiti zbog neslaganja i različitih mišljenja pojedinih taksonoma (npr. Bertrand i sur., 2021; Cuyppers i sur., 2022; Bateman i Rudall, 2023). Baš zbog ovog problema, u ovom radu je njihova nomenklatura preuzeta iz dva različita izvora (opisana u poglavlju *Analiza podataka*). Drugi po redu što se tiče zastupljenosti je rod *Orchis* Tourn. ex. L. kojeg je gotovo za polovicu manje u usporedbi sa prethodno spomenutim rodom *Ophrys*. Ovaj omjer je u skladu s njihovim omjerima u flori Hrvatske u kojoj je prisutno gotovo dvostruko više svojti roda *Ophrys* nasuprot svojtama roda *Orchis* (Nikolić, 2023). Prema broju predstavnika, nakon njih dolaze rodovi *Anacamptis* Rich., *Himantoglossum* Spreng., *Neotinea* Rchb.f., *Serapias* L., *Spiranthes* Rich. Ovako visoke brojke na relativno malom području, pogotovo u usporedbi s ostalim okolnim mjestima te njihovim podacima, zabilježene su zbog autorovog poznavanja okoline, temeljitosti te puno vremena provedenog na terenu (istraživanje tijekom cijele godine i svih godišnjih doba).

Rezultati upućuju kako je garig svojtama najbogatije stanište, no postavlja se pitanje zašto su garig i kamenjar najbogatiji svojtama. Osim ljudskih utjecaja, kao što su uništavanje staništa i zagađenje, bitna prijetnja mnogim orhidejama je sukcesija. Sukcesija je naziv za prirodan proces promjene staništa gdje ono zarasta vegetacijom rastom drvenastih vrsta postepeno zarasta u šumu: npr., zarastanjem kamenjara nastaje garig, koji se zarastanjem drvenastim trajnicama pretvara u makiju u kojoj stabla nakon nekog vremena nadržu te kompeticijom potisnu većinu biljnih vrsta ispod sebe (uglavnom kao posljedica nedostatka sunčeve svjetlosti) posljedično smanjujući bioraznolikost te na koncu stvarajući šumu. Sukcesija je prirodan proces koji je u prirodi kontroliran najviše aktivnostima biljojeda koji hranjenjem drvenastim vrstama zaustavljaju njihov daljni rast čime u konačnici zaustavljaju sukcesiju. S druge strane, kad na području nedostaje biljojeda, tada sukcesija nesmetano napreduje, čime se ugrožavaju mnoge biljne vrste koje ovise o otvorenim staništima kao što su kamenjari, garizi te livade. Ljudi također mogu utjecati na sukcesiju, tj. spriječiti ju na razne načine: košnjom, krčenjem šuma ili pak ispašom, dok neprovođenjem tih radnji sukcesija progresa te se, kao što je već spomenuto, gubi bioraznolikost (Krebs, 1985). Dobar primjer opisan ju u nedavno objavljenom radu pod nazivom *Raznolikost i ugroženost travnjaka Nacionalnog parka Sjeverni Velebit* (Alegro i Šegota, 2020) gdje se istraživanjem provedenim u NP Sjeverni Velebit pokazalo da intenzitet sukcesije zapuštenih travnjačkih površina s drvenastim i grmolikim vrstama uvelike ovisi o tipu travnjaka tj. o njegovoj nadmorskoj visini, reljefu terena, značajkama tla, utjecaju vjetrova i sl. Za kamenjarske travnjake se pokazalo da iako su u pitanju skeletna tla koja sprječavaju rast stabala, sukcesija je svejedno prisutna te na koncu stvara guste i neprohodne šikare. Vrsta koja nastanjuje



kamenjar/kamenjarske travnjake u Vodicama jest *Neotinea tridentata*, kojoj je zabilježen samo jedan lokalitet u kamenjaru gdje prevladava *Brachypodium retusum* (Pers.) P.Beauv (Poaceae Barnhart). Radi se o jako čestoj vrsti trave prisutne na gotovo svim staništima u Vodicama; ova vrsta nerijetko uguši ostale biljke oko sebe svojim gustim rastom, no s obzirom da su u ovom kamenjaru osim siromašnog tla, prisutne i velike količine kamenja koje prekriva tlo, to ovu vrstu sprječava da u potpunosti uguši ostale biljke koje rastu u njezinoj okolini. Ova činjenica omogućava vrsti *N. tridentata* da nesmetano raste i razmnožava se bez rizika da postane žrtvom sukcesije u budućnosti. Kod gariga je slična situacija, nerijetko se na tlu gariga može vidjeti tepih mahovine, ponegdje uz razne lišajeve iz roda *Cladonia* P. Browne (osobno zapažanje). Iz toga se može zaključiti da ovaj faktor u ovom slučaju ima istu ulogu kao i kamenje u kamenjaru: mahovina svojom prisutnošću i zbijenim rastom sprječavaju rast trava i niskog raslinja na određenom prostoru te osiguravaju mnogim orhidejama privremeno ili stalno stanište. Tokom ovog istraživanja pokazalo se da je rod *Ophrys* taj koji najčešće raste iz mahovina čime sprječava zagušenje od strane okolnih biljaka.

U široko rasprostranjene svojte spadaju *H. robertianum*, *O. rhodostephane*, *O. sphegodes ssp. atrata* te *O. × flavicans*. Navedene svojte roda *Ophrys* prisutne su u gotovo svakom garigu; često su sve tri svojte zabilježene zajedno te u većem broju, a to je vjerojatno zbog potrebe za identičnim uvjetima zbog čega nastanjuju ista staništa. S druge strane, slučaj vrste *H. robertianum*, ranije poznate i pod imenom *Barlia robertiana* (Loisel.) Greuter, malo je drugačiji. Naime, ova vrsta je jedina u ovom istraživanju zabilježena u svih pet vrsta staništa, i to uz bogate populacije. Također je jedina među pronađenim svojtama koja uspijeva u šumi, što joj vjerovatno omogućava viša tolerancija na nižu količinu sunca (koja je kod ostalih svojti puno niža s obzirom da rastu na izrazito sunčanim pozicijama). Delforge (2006) kao staništa ove vrste navodi sunčane do srednje sjenovite pozicije. Teorija vezana za rasprostranjenost i visoki broj jedinki unutar populacija je prvenstveno sama veličina vrste koja u cvatu može biti visoka i preko 30 cm uz bogatu rozetu velikih listova, što ju čini manje podložnom zagušivanju od strane ostalog biljnog pokrova, tj. sukcesiji. Drugi mogući razlog njene visoke rasprostranjenosti je njena tolerancija na različite tipove tla. Obzirom da sam ju zabilježio kako raste u šumi alepskog bora, na raznim livadama, garizima, kamenjarima i maslinicima čija su tla različitog sastava, to ukazuje da ova vrsta nije „izbirljiva“ vrsti supstrata u kojemu raste. Jedina bitna stavka bila bi da je tlo alkalno, kao što Delforge (2006) navodi za ovu vrstu. Kao zadnji faktor naveo bih pretpostavku da široki spektar gljiva može vršiti uspješnu mikorizu sa spomenutom vrstom, kao što je to slučaj kod srodne *H. adriaticum* H. Baumann (Pecoraro i sur., 2013). Ova teorija može biti podloga vrlo zanimljivom istraživanju koje bi se moglo provesti u budućnosti. Vrsta se još pojavljuje u Tribunju, Šibeniku (osobna zapažanja) i na otoku Zlarinu (Justić i sur., 2021).

Usko rasprostranjene svojte su *A. morio*, *H. adriaticum*, *O. apifera*, *O. archipelagi*, *O. liburnica*, *O. italica*, *O. purpurea* i *O. × pseudoanatolica*. Dvije jedinke vrste *A. morio* zabilježene su na dva lokaliteta, međusobno udaljena više od 2 km. Vrsta je vjerojatno šire rasprostranjena, pogotovo na manje istraživanim područjima te je očekivan pronalazak još jedinki u budućnosti. *H. adriaticum* je pronađen kako raste na jednom lokalitetu, u garigu okruženom maslinicima. Pronađeno je 14 jedinki na površini od 25 m² što bi značilo da je vrsta vjerovatno prije bila šire rasprostranjena na području no zbog ljudskog djelovanja je njena populacija znatno smanjena. Jedine druge dokumentirane populacije se nalaze u okolici Šibenika (Milović, 2002). Delforge (2006) kao staništa za ovu vrstu navodi siromašne livade, rubove šuma te otvorenije šume, a istraživanjem koje su proveli Judit i sur. (2018) se pokazalo da ova vrsta nastanjuje staništa koje navodi Delforge (2006), ali među kojima se u



velikom broju pojavljuje na zapostavljenim zemljištima gdje su prisutni raniji stadiji sukcesije. Kao karakteristično stanište ove vrste navode livadnu zajednicu dominiranu vrstama trava (Poaceae) *Bromus erectus* Huds. i *Brachypodium pinnatum* (L.) P. Beauv. Ovo bi značilo da takva (ili slična) staništa treba pobliže istražiti narednih sezona u nadi za potencijalnim pronalaskom novih populacija. Osim malog broja pronađenih jedinki u 2022., slučaj s *O. apifera* je da zbog ozbiljne suše te kasnije cvatnje, veliki broj biljaka uopće nije završio cvatnju. Suša je uzrokovala dehidraciju i raniji početak mirovanja kod mnogih jedinki što je uzrokovalo uvenuće biljaka prije kraja cvatnje te prije pojavljivanja i sazrijevanja tobolaca. Ova zabilježena pojava znatno utječe na razmnožavanje te opće rasprostranjivanje spomenute vrste, s obzirom da se cijela jedna generacija takoreći izgubila zbog nepovoljnih uvjeta sredine. *O. archipelagi* je zabilježena tokom proljeća 2022. kao jedan jedini primjerak u populaciji *O. bertolonii*, *O. sphegodes* ssp. *atrata* i *O. × flavicans*. Planirano je posjetiti ovaj lokalitet i okolinu narednih sezona u potrazi za još jedinki te potencijalno novim vrstama s obzirom da je spomenuto područje slabije istraženo proteklih sezona. *O. liburnica* je zabilježena na tri lokacije na istom području Vodica gdje prevladava krško stanište, što potvrđuje tvrdnju da je navedena vrsta kalcifit, tj. da voli nastanjivati vapnenačka tla (OBE, 2007). Cijela populacija vrste *O. italica* sastoji se od tri jedinke s najbližim nalazištem u Tribunju, a nije zabilježena nigdje drugdje u okolici što je dobar pokazatelj njene rijetkosti i razloga zašto je svrstana u IUCN-ovu kategoriju ugrožene vrste (EN) (Nikolić i Topić, 2005). Iako je vrsta *O. purpurea* pronađena u broju od tek nekoliko jedinki, vjerujem da je vrsta više zastupljena te da joj je populacija veća nego što se pokazalo u rezultatima ovog rada. Najzanimljiviji nalaz je jedna jedinka hibridne vrste *O. × pseudoanatolica*. Ova prekrasna vrsta nastala je intermedijalnim križanjem vrsta *O. pauciflora* i *O. quadripunctata*, što je jasno vidljivo po cvijetu koji je po izgledu intermedijalan između ovih roditeljskih vrsta. Jedinka je pronađena na staništu bogatom vrstama smještenom na granici Vodica i Tribunja (zbog čega je uključena u obje flore) gdje su prisutne bogate populacije obaju roditelja te se stoga ovaj hibrid sigurno može očekivati i na širem području (što će biti pobliže istraživano narednih sezona). Tijekom provođenja istraživanja neki lokaliteti u blizini urbane sredine bili su uništeni čišćenjem zemljišta što nije posebno ugrozilo nijednu pronađenu svojtu, ali je uzrokovalo gubitak lokaliteta za pojedine svojte i time im smanjilo područje rasprostranjenosti. Od svih nabrojanih rijetkih svojti, za pretpostaviti je da potencijal od lokalnog izumiranja nema ni jedna (barem ne u bliskoj budućnosti), a razlog tome je poprilično udaljen lokalitet populacija od urbane sredine čime ove vrste zasad nisu ugrožene od strane urbanizacije (barem trenutno, za vrijeme pisanja ovog rada).

Okolna mjesta na kojima su zabilježene biljke iz porodice orhideja (*Orchidaceae*) te s kojima će se usporediti podaci ovog rada su: otok Murter (Pandža, 1998; Milović i Pandža, 2010), Tribunj (Milović i sur., 2013), otok Lukovnik (Vukelja, 2009), otok Prvić (Pandža, 1998; Milović i Pandža, 2010), otok Zlarin (Pandža, 1998; Milović i Pandža, 2010; Justić i sur., 2021.), Šibenik i okolica (Milović, 2002).

Iako je na području Dalmacije provedeno puno više florističkih istraživanja od gore navedenih, usporedba je rađena samo s okolim mjestima čija bi flora mogla biti važna za ovo istraživanje. Ovakvom usporedbom će se istaknuti bogatstvo orhideja na ovom prostoru Dalmacije koju je potom moguće pobliže analizirati. Vrijedi napomenuti da zbog različitih autora te same starosti pojedinih radova, taksonomija orhideja nije međusobno usklađena na što se pazilo tijekom zabilježavanja prisutnih tj. odsutnih svojti.

Prvo objavljeno florističko istraživanje za otok Murter je rad „Flora of the island of Murter (central Adriatic)“ kojeg je objavila Pandža 1998. godine; u ovom istraživanju za otok Murter navedeno je



sedam svojti orhideja. Ta brojka se 2010. godine povećala na 14 kad je sedam novih svojti za otok Murter navedeno u radu Milovića i Pandže. Od navedenih 14 svojti, na području Vodica je prisutno njih čak 10. Odsutne vrste (4) su *Anacamptis laxiflora* ssp. *laxiflora* (L.) R.M.Bateman, Pridgeon & M.W.Chase, *Gymnadenia conopsea* (L.) R.Br., *Ophrys bombyliflora* Link., *Serapias vomeracea* (Burm.f.) Briq.

Rad objavljen 2013. (Milović i sur.) navodi prisutnost dvaju svojti (*Ophrys* × *flavicans*, *O. sphegodes* ssp. *atrata*) za Tribunj, dok moja osobna istraživanja potvrđuju prisutnost još njih 9 (*H. robertianum*, *O. bertolonii*, *O. incantata*, *O. italica*, *O. pauciflora*, *O. × pseudoanatolica*, *O. purpurea*, *O. quadripunctata*, *S. parviflora*). Od navedenih 11 svojti, na području Vodica je prisutno svih 11.

Na otoku Lukovnik zabilježena je samo vrsta *O. bertolonii* (Vukelja, 2009) koja je ujedno prisutna i na području Vodica.

Objavljen 1998., rad Pandže za otok Prvić navodi tri svojte (*O. bertolonii*, *O. sphegodes* ssp. *atrata*, *N. tridentata*) dok je još jedna (*O. × flavicans*) dodana popisu radom Milovića i Pandže objavljenog 2010. godine. Od navedene četiri svojte, na području Vodica su prisutne sve četiri.

Na otoku Zlarin jedna vrsta (*O. bertolonii*) je zabilježena radom Pandže (1998) te još jedna (*O. purpurea*) radom Milovića i Pandže (2010). Justić i suradnici (2021) su u svom radu naveli prisutnost sveukupno 14 vrsta na otoku, od kojih je pet njihovih novih nalaza (*A. pyramidalis*, *Epipactis microphylla* (Ehrh.) Sw., *G. conopsea*, *Ophrys medea* Devillers et Devillers-Tersch, *S. parviflora*), te se u raznim izorima spominje prisutstvo još osam svojti (*H. robertianum* (kao *Barlia robertiana*), *Limodorum abortivum*, *Ophrys scolopax* Cav., *O. sphegodes* Mill., *O. sphegodes* ssp. *atrata*, *Orchis morio*, *N. tridentata* (kao *Orchis tridentata*)). (Spomenutim izvorima nemam pristup te stoga nisam mogao saznati i istaknuti u kojim se izvorima po prvi put spominje prisutnost svake pojedine svojte). Kao novi nalaz Justić i suradnika navodi se vrsta *Ophrys scolopax* kojoj nije navedena podvrsta te za koju postoji velika vjerojatnost da je zapravo *O. rhodostephane* (tzv. *O. scolopax* ssp. *cornuta* (Steven) E.G.Camus) za što smatram da je visoka vjerojatnost zbog prisutnosti *O. rhodostephane* na području Vodica (Tablica 1) te na području Šibenika i okolice (navedena kao *O. scolopax* ssp. *cornuta* u radu Milovića, 2002). Imajući ovo na umu, svejedno ću navesti spomenutu *O. scolopax* kao vrstu odsutnu s područja Vodica. Od navedenih 14 svojti, na području Vodica prisutno je njih 10. Odsutne vrste (4) su *Epipactis microphylla*, *Gymnadenia conopsea*, *Ophrys medea*, te *Ophrys scolopax*.

Čak 17 vrsta je navedeno za područje Šibenika i okolice u radu Milovića (2002), a osobnim istraživanjem sam potvrdio prisutnost još jedne vrste (*H. robertianum*). Od navedenih 18 svojti, na području Vodica je prisutno njih 14. Odsutne svojte (3) su: *A. laxiflora* ssp. *laxiflora*, *Cephalanthera damasonium* (Mill.) Druce, *E. microphylla*.

Za Šibenik i okolicu te otok Zlarin se spominje svojta *N. tridentata* ssp. *commutata* (Tod.) R.M.Bateman, Pridgeon (u oba rada navedena kao *Orchis tridentata* ssp. *commutata* (Tod.) Nyman). No istraživanjem objavljenim 2012. (Pavarese i sur.) otkriveno je da je zapravo riječ o tetraploidnoj svojti koja je nastala križanjem dviju srodnih vrsta, hibridne formule *N. tridentata* × *N. lactea* (Poir.) R.M.Bateman, Pridgeon & M.W.Chase. Stoga se prijašnja teorija da ju u pitanju autoploid vrste *N. tridentata* (Mazzola, 1984) iskazala netočnom. Također, *N. commutata* (Tod.) R.M.Bateman je endemična za Siciliju, zbog čega nalaze za Šibenik i okolicu te otok Zlarin tretiram kao *N. tridentata*.



Sveukupno osam svojti iz okolice nije pronađeno na području Vodica tijekom provođenja ovog istraživanja. Objašnjenje odsutnosti nekih svojti je jednostavno, npr. svojta *Anacamptis laxiflora* ssp. *laxiflora* preferira malo vlažnija staništa (Wood i Ramsay, 2004) kao što su poplavne livade kojih nema na području Vodica pa se tako bez odgovarajućeg staništa niti ne mogu nastaniti na ovom području. Velik dio ostalih svojti vjerojatno nema populacije na području Vodica, dok je nekolicina njih jednostavno ostala nezamijećena. Tijekom prve sezone ovog istraživanja zabilježeno je ukupno deset svojti, a tijekom sljedeće preostalih 13 što ukazuje na moguću prisutnost većeg broja vrsti od zabilježenog. Postoji dobra mogućnost da će se od vegetacijske sezone 2023. nadalje zabilježiti još barem nekoliko novih svojti posjetom prije zanemarenih lokacija. Područje istraživanja je dosta veliko te zahtjeva više sezona terenskog istraživanja za preciznije rezultate. Jedan dobar kandidat za pronalazak u budućnosti je hibridna svojta *Ophrys x lyrata* H.Fleischm koja je hibrid dvaju čestih roditelja: *O. bertolonii* i *O. sphegodes* ssp. *atrata*. Oba roditelja se nerijetko pronalaze na istim lokalitetima pa je mogućnost prisutnosti ove hibridne vrste vrlo vjerojatna, samo ju treba potvrditi. U radu od Vuković i sur. (2011) navodi se kako je ovaj hibrid široko rasprostranjen na području rta Kamenjak u Istri te da je zabilježen na gotovo svim lokalitetima gdje su prisutna oba roditelja. Navedena informacija ukazuje da je ovaj hibrid vjerojatno prisutan i na prostoru Vodica, bez obzira što dosad nije zabilježen drugdje u okolici. Još jedna vrsta čija je prisutnost upitna, ali manje vjerovatna je također vrsta iz roda *Ophrys*, *O. bombyliflora* Link. Ova vrsta je prisutna na otoku Murteru (Milović i Pandža, 2010) u blizini naselja Jezera, koje je od Vodica udaljeno manje od 20 km. Ova vrsta do danas nije zabilježena ni u jednoj drugoj okolnoj flori, no moguće je da jednostavno nije bila primjećena tokom terenskih istraživanja zbog svog niskog rasta (5-20 cm, rijetko 30 cm) i malih cvjetova (9-12 mm × 6-8 mm) (Delforge, 2006). Radi potvrđivanja prisutnosti ovih te drugih svojti, potrebno je provesti daljna istraživanja tokom narednih sezona.

ZAKLJUČCI

Provedenim istraživanjem došlo se do sljedećih zaključaka:

- ☞ Na području Vodica prisutne su 23 svojte iz porodice orhideja (*Orchidaceae*)
- ☞ Najviše zastupljen je rod *Ophrys* s devet svojti
- ☞ Garig je stanište najbogatije svojta orhidejama
- ☞ Vrhunac cvatnje je mjesec travanj, kad cvate 83% svojti
- ☞ Najrasprostranjenija vrsta je *Himantoglossum robertianum*
- ☞ Najrijeđe zabilježene vrste su *Ophrys archipelagi* i *Orchis x pseudoanatolica*
- ☞ Nijedna svojta trenutno nije pod rizikom od lokalnog izumiranja.

ZAHVALA

Ovim putem se želim zahvaliti svojim roditeljima i obitelji na neprestanoj podršci te prijevozu po Vodicama što mi je puno značilo za provođenje ovog istraživanja, prijateljima i poznicima koji su mi činili društvo i pomagali tijekom provođenja mojih istraživanja i izlazaka na mnogobrojne terene, također svojoj mentorici na danoj podršci.

LITERATURA

- Alegro A., Šegota V. 2019. Raznolikost i ugroženost travnjaka Nacionalnog parka Sjeverni Velebit. Senjski zbornik, 46(1):61-80.
- Anonymous 2009. Pravilnik o proglašavanju divljih svojti zaštićenim i strogo zaštićenim. Narodne novine 99/09.
- Bateman R., Rudall P. 2023. Morphological continua make poor species: genus-wide morphometric survey of the European bee orchids (*Ophrys* L.). *Biology*, vol. 12(1):1–52.



- Bertrand J. A., Baguett, M., Joffard N. i Schatz B. 2021. Challenges inherent in the systematics and taxonomy of genera that have recently experienced explosive radiation: the case of orchids of the genus *Ophrys*, Grandcolas P., Maurel M-C. (ur.), Systematics and the Exploration of Life. Wiley-ISTE, London, 113-134.
- Bogunović M., Vidaček Ž., Rac Z., Husnjak S., Sraka M. 1996. Soil suitability map for cultivation, Hrvatske vode, Zagreb
- Chase M. W., Cameron K. M., Freudenstein J.V., Pridgeon A. M., Salazar G., Berg C., Schuiteman A. 2015. An updated classification of *Orchidaceae*. Botanical Journal of the Linnean Society, 177(2):151 – 174.
- Cuypers V., Reydon T., Artois T. 2022. Deceiving insects, deceiving taxonomists? Making theoretical sense of taxonomic disagreement in the European orchid genus *Ophrys*. Perspectives in Plant Ecology, Evolution and Systematics, 56.
- Delforge P. 2006. Orchids of Europe, North Africa and the Middle East. A&C Black Publishers Ltd., London.
- Dressler R.L. 1981. The Orchids: Natural history and classification. Harvard University Press, Cambridge.
- Judit B., Éva B., Nagy T., Takács A., Molnár V. A., Lukács B. 2018. Habitat preferences of the rare lizard-orchid *Himantoglossum adriaticum* H. Baumann. Tuexenia, 38:329-345.
- Justić M., Bučar M., Vizec P., Vukres A., Šegota V., Vuković N. 2021. The diversity and distribution of flora of the island of Zlarin (Northern Dalmatia). Natura Croatica, 30 (2):435-466.
- Krebs, Charles J. 2008. Ecology; the experimental analysis of distribution and abundance (6th edition). Pearson, London.
- Lasan F. 2019. Turizam kao čimbenik prostornog razvoja Vodica. Diplomski rad, Sveučilište u Zagrebu, Prirodoslovno-matematički fakultet.
- Mazzola P. 1984. Cytogeographic aspects of *Orchis commutata* Tod. (*Orchidaceae*). Webbia, 38:773-779.
- Milović, M. 2002. The flora of Šibenik and its surroundings. Natura Croatica, 11 (2):171-223.
- Milović M., Pandža M. 2010. A contribution to the vascular flora of the Šibenik archipelago islands (Dalmatia, Croatia). Natura Croatica, 19 (1):179-203.
- Milović M., Vukelja N., Pandža M., Mitić B. 2013. Vaskularna flora Tribunja i obližnjih otočica Logoruna i Lukovnika (Dalmacija, Hrvatska). Natura Croatica, 22 (1):45-71.
- Nikolić T., Topić J. 2005: Crvena knjiga vaskularne flore Hrvatske. Ministarstvo kulture, Državni zavod za zaštitu prirode, Zagreb.
- Nikolić T. 2020. Orchidaceae, U Nikolić T. (ur.), Flora Croatica 3: Vaskularna flora Republike Hrvatske. ALFA d. d., Zagreb, 193.-227.
- Nikolić T. ur. 2023. Flora Croatica Database (URL <http://hirc.botanic.hr/fcd>). Prirodoslovno-matematički fakultet, Sveučilište u Zagrebu. Pristupljeno 20.1.2023.
- OBE 2007. Orchids of Britain and Europe. <http://www.orchidsofbritainandurope.co.uk/index.htm>, pristupljeno 20.1.2023.
- Pandža M. 1998. Flora of the island of Murter (central Adriatic). Acta Botanica Croatica, 57 (1):99-122.
- Pandža, M. 1998. Flora of the island of Zlarin. Natura Croatica, 7(1):59-78.
- Pandža, M. 1998. Flora of the islands of Krapanj and Prvić. Natura Croatica, 7 (4):321-339.
- Palomino, M.M., Theißen, G. 2009. Why are orchid flowers so diverse? Reduction of evolutionary constraints by paralogues of class B floral homeotic genes. Annals of botany, 104:583-94.
- Pecoraro, L., Girlanda M., Kull T., Perini C., Perotto S. 2013. Fungi from the roots of the terrestrial photosynthetic orchid *Himantoglossum adriaticum*. Plant Ecology and Evolution, 146:145-152.
- Pignatti S. 1982. Flora d'Italia 1-3. Edagricole, Bologna.
- POWO 2023. Plants of the World Online. Facilitated by the Royal Botanic Gardens, Kew. Published on the Internet; <http://www.plantsoftheworldonline.org/>, pristupljeno 20.1.2023.
- Rasmussen, H.N. 1995. Terrestrial orchids, from seed to mycotrophic plant. Cambridge University Press, Great Britain.
- Raunkiaer C. 1934. The life forms of plants and statistical plant geography. Clarendon Press, Oxford.
- Schiestl, F.P. 2005. On the success of a swindle: pollination by deception in orchids. Naturwissenschaften, 92:255–264.
- Vukelja N. 2009. Vaskularna flora Tribunja, Lukovnika i Logoruna. Diplomski rad, Sveučilište u Zagrebu, Prirodoslovno-matematički fakultet, Zagreb.
- Vuković N., Brana S., Mitić B. 2011. Orchid diversity of the cape of Kamenjak (Istria, Croatia). Acta Botanica Croatica, 70:23-40.
- Zaninović K., Gajić-Čapka M., Perčec Tadić M. i sur., 2008. Klimatski atlas Hrvatske / Climate atlas of Croatia 1961–1990., 1971–2000. Državni hidrometeorološki zavod, Zagreb, 200 str.
- Wraith J., Pickering C. 2017. Quantifying anthropogenic threats to orchids using the IUCN Red List. Ambio, 47.
- Wood J., Ramsay M. 2004. 482. *Anacamptis laxiflora* (Orchidaceae). Curtis's Botanical Magazine, 21(1):26-33.

Utjecaj plastike na zagrijavanje pješčane podloge

Tia Gebauer, 4. razred
Mia Bacalja, 3. razred
Andrea Brzica, 3. razred
Jakov Lušo, 1. razred

XV. Gimnazija, Zagreb
Mentor: *Mihaela Marceljak Ilić*

SAŽETAK

Cilj ovog rada je istražiti utječe li mikroplastika u pijesku ili na površini pijeska na njegovo zagrijavanje te indirektno to provjeriti na omjeru novorođenih muških i ženskih crvenouhих kornjača (*Trachemys scripta elegans* (Wied-Neuwied, 1839)) koji je usko vezan uz temperaturu pijeska u kojem su inkubirana jaja. Projekt je proveden u razdoblju od 2 tjedna tijekom kojih se pratilo kako se mijenja temperatura na tri različite pješčane podloge: kontrolna podloga je bila samo pijesak, a istraživane podloge: pijesak s mikroplastikom te pijesak s mikroplastikom i plastičnim pokrovom. Pijesak je zagrijavan žaruljama koje emitiraju infracrveno (IR) i ultraljubičasto (UV) zračenje, dok je rad žarulja reguliran termometrima zakopan u podlogu. Temperatura zagrijavanja podloga se održavala između 28,4°C i 28,8°C, što je temperaturni interval u kojemu se izliježu isključivo muške jedinke roda *Trachemys scripta elegans*. Prosječna temperatura pijeska s mikroplastikom i plastičnim pokrovom je za 0,5°C viša od prosječne temperature pijeska u kontrolnoj skupini. Tim porastom temperature se prelazi temperaturni interval u kojem se izliježu isključivo muške jedinke te prelazi u interval u kojem se izliježu jedinke muškog i ženskog spola u istom omjeru.

Cljučne riječi: mikroplastika; omjer spolova; temperatura; zagađenje plastikom

UVOD

Uočavamo kako je plastika sve češće prisutna u prirodi i to od plastičnih boca na livadama do sitnih čestica mikroplastike koje nas okružuju. Usprkos svakodnevnom povećanju plastičnog zagađenja, problemi zagađenja okoliša mikroplastikom još uvijek imaju dosta nepoznanica. Obzirom da dosta životinja svoja jaja odlaže u pijesak na inkubaciju, a determinacija spola kod nekih od njih je određena temperaturom inkubacije odlučili smo istražiti kako plastika u, te plastika na pijesku utječe na zagrijavanje podloge. Ako plastika uistinu utječe na temperaturu pijeska, što istraživanja već pokazuju (Lavers i sur., 2021), možemo zaključiti kako je zagađenje plastikom jedan od čimbenika koji pridonose negativnom učinku zagrijavanja uslijed klimatskih promjena, a time i na životinje i biljke čiji je životni ciklus usko vezan uz pijesak. Primjer takvih životinja su kornjače, čije je razmnožavanje vezano uz pijesak. Naime, brojne vrste kornjača imaju temperaturno ovisnu determinaciju spola, što znači da će temperatura pri kojoj se polegnuta jaja inkubirati odrediti kojeg će spola biti jedinke. Stoga će promjene u uobičajenim temperaturama na koje su ove vrste prilagođene imati značajan utjecaj na njihove biološke procese te na razvoj populacija tih vrsta na plastikom zagađenom području. Kako bi ovo istraživanje bilo relevantno, odlučeno je da će se temperatura pijeska regulirati u biološki značajnom temperaturnom intervalu. U ovom istraživanju ciljani temperaturni interval bio je između 28,4°C i 28,8°C. Navedeni interval odabran je jer u prirodi na temperaturama ispod 29°C izliježu isključivo muške jedinke crvenouhe kornjače *Trachemys scripta elegans*, dok se pri temperaturama između 29°C i 29,5°C izliježu u omjeru spolova 1:1. Pri povećanju temperature iznad 29,5°C prema istraživanjima dolazi do izlijezanja sve većeg broja ženskih jedinki crvenouhих kornjača (Bull i sur., 1982; Crews i sur., 1990; Ewert i sur., 1991; Wibbels i sur., 1994). Uz mjerenje temperature podloge, primjenom GLOBE pedoloških protokola, provedena su mjerenja pH vrijednosti i infiltracija sve tri



skupine pješčanih podloga ovog istraživanja. Navedeno je provedeno kako bi se utvrdio utjecaj mikroplastike na pH vrijednost pijeska i zadržavanje vode u tlu obzirom da istraživanja (Guo i sur., 2022) upućuju da tla koja sadrže mikroplastiku postaju propusnija i lakše se ispiru te imaju sniženu pH vrijednost (Gharahi, 2022). Takav fenomen može imati veliki utjecaja za živi svijet ovisan o pijesku, jer ukoliko tlo postaje propusnije, ono se tijekom obilnih kiša više ispiru te dolazi do promjena staništa mnogih biljnih i životinjskih vrsta. Postavili smo hipoteze:

Temperatura pijeska s mikroplastikom bit će veća od temperature čistog pijeska izloženog jednakoj količini i jakosti IR i UV svjetlosti.

Za podlogu s plastikom na površini očekujemo da će plastični pokrov imati zaseban učinak na temperaturu pijeska. Istraživanja pokazuju da plastični otpad utječe na temperaturu sedimenta na način da mijenja ulaznu/izlaznu snagu zagrijavanja, odnosno apsorpciju IR zračenja. Tim se mehanizmom povećavaju temperaturne amplitude i mijenja dnevni ritam pijeska. Kako plastični fragment apsorbira određenu toplinu, pretpostavljamo da će pri njenom otpuštanju više zagrijati pijesak. Obzirom da je plastika poznata kao dobar toplinski izolator, pretpostavka je da će plastični pokrov onemogućiti prodor topline i smanjiti učinak plastičnog zagrijavanja na mjerenoj dubini. Pokazalo se kako se na većim dubinama pijeska temperatura stabilizira, te da u slučajevima gdje plastika pokriva 100% površine remeti se taj efekt te dolazi do većih fluktuacija minimalnih i maksimalnih temperatura podloge (Lavers i sur., 2021).

Temperaturni interval od 28,4 °C do 28,8 °C odabran je jer smo planirali u eksperiment uključiti i jaja kornjača. Na taj način bismo provjerili utjecaj mikroplastike na određivanje spola, odnosno u kontrolnoj skupini bi se izlijegale isključivo jedinke muškog spola, dok bi se u terariju s mikroplastikom izlijegale i ženke. Jaja, međutim, nismo uspjeli prikupiti pa smo rezultate povezivali i tumačili teoretski na osnovu podataka iz literature.

pH vrijednost kontrolne skupine pijeska bit će viša u usporedbi s pH vrijednostima pijeska s mikroplastikom i pijeska s mikroplastikom i plastikom u pokrovu, dok za propusnost očekujemo da će biti najmanja u kontrolnoj skupini.

Navedeno se pretpostavlja jer plastika općenito sadrži razna bojila i kemikalije koje svojom razgradnjom povećavaju kiselost (Gharahi, 2022). Pretpostavlja se pak kako će najveću propusnost imati upravo pijesak s mikroplastikom i pokrovom od plastike, zatim pijesak s mikroplastikom te tek onda običan pijesak kontrolne skupine. Navedeno se pretpostavlja jer je u literaturi pronađeno kako mikroplastika utječe na propusnost pijeska čineći ga propusnijim (Guo i sur., 2022).

METODE RADA

Eksperimentalni postav osmišljen je kako bi se u kontroliranim uvjetima ispitao utjecaj plastike na zagrijavanje pijeska. U ovom istraživanju korištene su tri različite vrste podloge. Zbog preciznosti mjernih instrumenata uzeta je gornja temperaturna granica kontrole od 28,8°C (umjesto 29°C) kako bi bilo osigurano da su kontrolne skupine držane na temperaturnim intervalima na kojima se ne bi izlegla niti jedna ženska jedinka. Naposljetku je provedena statistička analiza dobivenih podataka za izmjerene temperaturne vrijednosti.

Ukupno vrijeme istraživanja bilo je 14 dana. Prvih pet dana kalibriran je sustav žarulja i termometara na istu temperaturu u šest staklenih posuda (dimenzija 23x14x16cm), a kada su sve posude zagrijane na jednake temperature, još je 2 dana praćeno je li sve posude ujednačeno održavaju temperatura (7 dana kalibracije). Jedanaestog dana u šest staklenih posuda stavljene su 3 različite pokusne podloge.

U svrhu preciznog reguliranja temperature pijeska unutar eksperimentalnog postava, iznad svake staklene posude na istu visinu postavljen je terarijski nosač žarulje JBL TEMPSET BASIC. Na terarijske nosače žarulja montirane su D3 UV Heat Spot žarulje s izlaznom snagom 80W. U sve staklene posude u pijesak su zakopani digitalni ubodni termometri (tvrtke Vernier) na dubinu od 10 cm, te spojeni na LabQuest softvere. Softveri su za vrijeme istraživanja služili za prikupljanje i spremanje podataka temperature pijeska. Prije pokusa je utvrđeno da lampe ne griju čak niti običan pijesak na istim visinama jednako te je trebalo prilagoditi postav mijenjanjem visine terarijskih nosača. Navedeni se postupak baždarenja radio nad staklenim posudama ispunjenim isključivo običnim pijeskom (bez prisustva mikroplastike ili plastičnog pokrova) kako je prikazano slikom 1. Baždarenje je izvršeno tako što su u staklene posude ispunjene običnim pijeskom u koji su zakopani isti termometri te su visine lampi nad staklenim posudama mijenjane sve dok nije postignut sustav u kojemu su nakon zadanog vremena (7 dana) uvijek temperaturne oscilacije bile iste. Tijekom kalibracije mijenjan je raspored posuda te razmaci među njima dok se nije složio sustav u kome su sve podloge jednako zagrijane (slika 2). Tim postupkom osigurano je da svi terariji primaju jednaku količinu topline.



Slika 1 Eksperimentalni postav tijekom postupka kalibracije sustava na jednake ulazne snage zagrijavanja

Sustav je zatim pušten u opticaj te su termometri i žarulje održavali temperaturu pijeska u kontrolnim podlogama na željenom intervalu od 28,4°C do 28,8°C. U eksperimentalnom postavu korištenom u ovom istraživanju strogo je kontroliran temperaturni interval pijeska pomoću prethodno opisanih termometara (zakopanih na dubinu od 10 cm), tako da, ako se u pripadajućoj kontrolnoj staklenoj posuda temperatura pijeska spustila na 28,4°C, žarulje su se iznad svih posuda palile, te ostajale upaljene sve dok temperatura pijeska prema termometru u danoj kontrolnoj posudi nije dostigla 28,8°C.

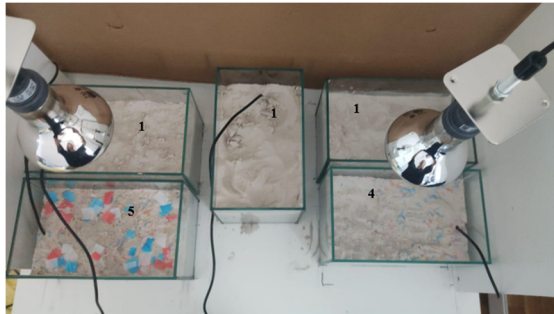
Postava skupina

U pokusu je korišteno pet posuda podijeljenih na 3 sustava (grijača). U svakom sustavu jedna je posuda bila kontrolna. Prvi sustav tako je sadržavao podlogu s mikroplastikom u i na pijesku te kontrolnu podlogu, a drugi podlogu s mikroplastikom u pijesku i kontrolnu podlogu. Bilo je nužno uvesti kontrolnu skupinu za svaku od eksperimentalnih posuda zasebno kako bi se temperaturni interval mogao pratiti relativno u odnosu na danu kontrolu budući da je pri kalibraciji pokazano da lampe ne zagrijavaju

jednako. Treći sustav sastojalo se od samo jedne kontrolne posude pod zasebnim grijačem koja je prvenstveno služila za jednostavniju kontrolu i dodatnu regulaciju temperature, ali i kontrolu vlage.

Izrada podloga

Svaka posude sadržavala je 4 kilograma običnog terarijskog pijeska marke Flamingo. Riječ je o prirodnom, netoksičnom pijesku za terarije koji ne sadrži bojila i druge kemijske aditive. Također, prema specifikacijama, navedeni ne sadrži organske tvari ili patogene. Korištene su ukupno tri kontrolne posude (slika 2, oznake 1) u kojima je bio samo navedeni pijesak. U četvrtu posudu (slika 2, oznaka 4), uz navedenu količinu pijeska, dodano je 20 g mikroplastike. Navedena mikroplastika izrađena je mehaničkim usitnjavanjem plastičnih slamčica i plastičnih čaša različitih boja koristeći kuhinjski mikser, te su žlicom nadodani u pijesak unutar četvrte staklene posude. Peta posuda (slika 2, oznaka 5) bila je istog sastava kao i podloga u posudi 4, međutim u ovu posudu osim običnog pijeska i 20 g umiješane mikroplastike dodan je plastični pokrov u obliku tankih listova plastike izrađenih izrezivanjem raznobojnih plastičnih čaša. Oni su bili položeni na vrh pijeska te su prekrivali 30% površine, tako da je ovdje pijesak sadržavao mikroplastiku u podlozi (20 g), ali i plastiku na površini.



Slika 2 Eksperimentalni postava tijekom trajanja istraživanja (oznaka 1 - kontrolna skupina, oznaka 4 - skupina s mikroplastikom u pijesku, oznaka 5 - skupina s mikroplastikom u pijesku i plastikom na površini)

Nakon kalibracije sustava (7 dana) provedena su mjerenja temperature u sva 3 sustava tj. u pet staklenih posuda. Temperaturni senzori su podatke o temperaturi pijeska u pet staklenih posuda bilježili na LabQuest software svakih 30 minuta.

Kako bi što bolje simulirali prirodne uvjete tijekom eksperimenta je bilo potrebno vlažiti pijesak. U svaku skupinu pijeska dodano je 600 ml vode prskalicom kako bi se ravnomjerno disperzirala kroz cijeli volumen pijeska. Vlažnost pijeska mjerena je higrometrom te je održavana na 50%. Zbog zagrijavanja, voda je iz pijeska isparavala te je bilo potrebno svakodnevno špricati pijesak vodom kako bi se vlažnost održavala na istoj vrijednosti. Svakodnevno je dodatno prskano s do 10 ml destilirane vode.

Nakon završetka istraživanja, koristeći GLOBE protokole za analizu tla (Program GLOBE-Hrvatska, 2021), provedena je i analiza propusnosti tla, tj. pijeska korištenog u istraživanju u sve tri vrste podloge (slika 3).



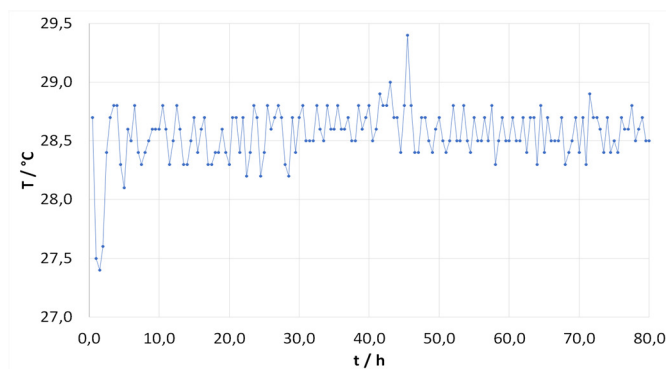
Slika 3 Eksperimentalni postav za mjerenje propusnosti pijeska

Pri mjerenju infiltracije podloga korišten je *LearningActivity* protokol „*JustPassingThrough*“ (GLOBE.gov, 2014) zbog nemogućnosti provođenja GLOBE *Soil Infiltration* protokola. Tim protokolom mjerena je infiltracija tako da su plastične boce posložene kao na slici 3 te su u njih dodani pijesak i voda u volumnom omjeru 2:1. Nakon prestanka kapanja vode izmjerena je masa mokrog pijeska od koje je oduzeta masa suhog pijeska, koja je izmjerena prije dodavanje vode, kako bi izračunali masa vode koju je pijesak upio. Pomoću dobivene mase, na temelju gustoće vode, dobiven je i volumen upijene vode pomoću kojeg je izračunata vrijednost infiltracije. Izmjerena je i pH - vrijednost sve tri skupine pijeska prije i nakon završetka projekta.

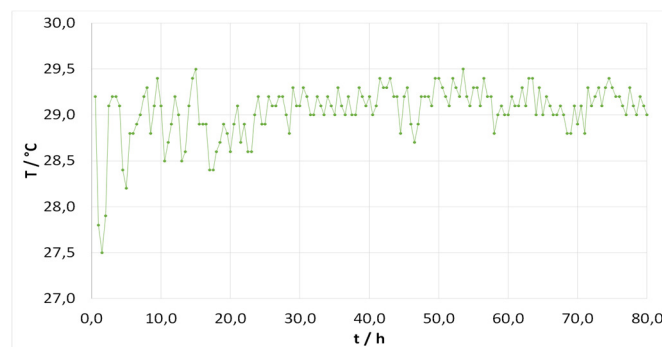
REZULTATI

Analiza rezultata ovog istraživačkog rada temelji se na podacima izmjerenih temperatura prikupljenih za sve tri skupine podloga u periodu od tjedan dana.

Slika 4 prikazuje kako se temperatura pijeska kontrolne skupine mijenjala tijekom vremenskog perioda od tjedan dana. Prosječna temperatura pijeska kontrolne skupine iznosi 28,6°C. Standardna devijacija iznosi $\pm 0,23^\circ\text{C}$. Najviša zabilježena vrijednost iznosila je 29,4°C. Prosječna temperatura pijeska s mikroplastikom iznosila je 29,1°C, s standardnom devijacijom $\pm 0,27^\circ\text{C}$. Najviša zabilježena vrijednost iznosila je 29,5°C (slika 5).

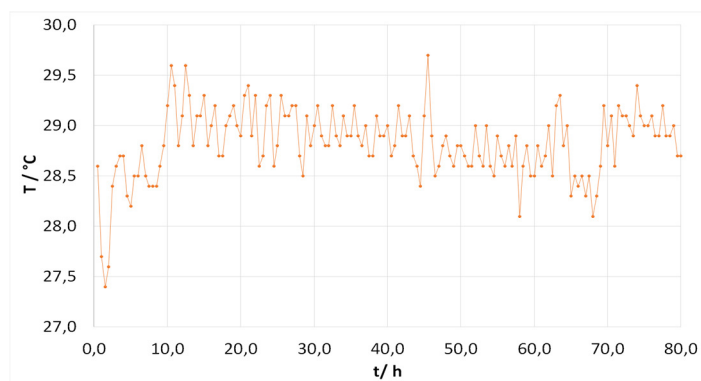


Slika 4 Temperatura pijeska kontrolne skupine u periodu od tjedan dana



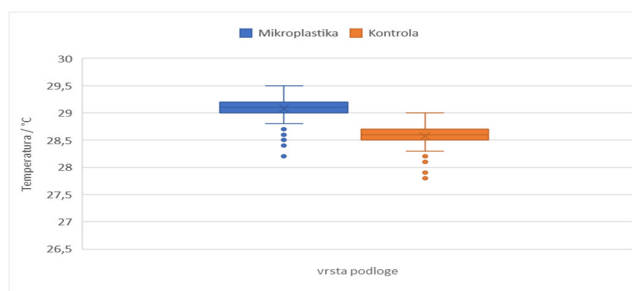
Slika 5 Temperatura pijeska s mikroplastikom u periodu od tjedan dana

Slika 6 prikazuje ovisnost temperature pijeska ispunjenog mikroplastikom i komadićima plastike na površini u periodu tjedan dana. Prosječna temperatura pijeska bila je 28,8°C, s standardnom devijacijom $\pm 0,33^\circ\text{C}$. Najviša zabilježena vrijednost iznosila je 29,7°C.



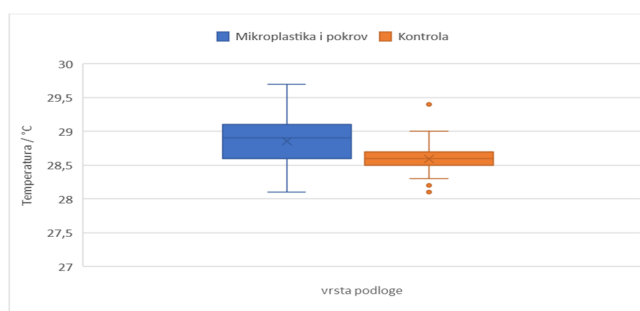
Slika 6 Temperature pijeska s mikroplastikom i plastikom na površini u periodu od tjedan dana

Slikom 7 je prikazan dijagram koji omogućuje razumijevanje razlike između temperatura pijeska s mikroplastikom te pijeska kontrolne skupine. Vidljiva znatna razlika u prosječnoj temperaturi kontrolne skupine u odnosu na pijesak s mikroplastikom i pokrovom.



Slika 7 Usporedba podataka temperature pijeska s mikroplastikom i pijeska kontrolne skupine; vodoravna linija prikazuje prosječnu vrijednost temperature, pravokutnik standardne devijacije, a okomita linija minimalne i maksimalne vrijednosti, s točkastim prikazom ekstremnih vrijednosti

Slikom 8 prikazan je dijagram koji omogućuje razumijevanje razlike između temperatura pijeska s mikroplastikom i plastikom na površini te pijeska kontrolne skupine. Vidljiva je razlika u prosječnoj temperaturi kontrolne skupine u odnosu na pijesak s mikroplastikom i plastikom na površini.



Slika 8 Usporedba podataka o temperaturi pijeska s mikroplastikom i pokriva i pijeska kontrolne skupine vodoravna linija prikazuje prosječnu vrijednost temperature, pravokutnik standardne devijacije, a okomita linija minimalne i maksimalne vrijednosti, s točkastim prikazom ekstremnih vrijednosti

Statistički t-test usporedbe temperatura u pijesku s mikroplastikom i kontrolnom skupinom, te mikroplastikom, plastikom na površini i njenom kontrolom upućuje je da je razlika u temperaturama podloga statistički značajna. Za usporedbu temperatura podloge s mikroplastikom i kontrolom t-vrijednost iznosi 24,68329 s pouzdanošću $p < 0,00001$, dok za usporedbu temperatura podloge s



mikroplastikom i plastikom na površini te njenom kontrolom vrijednost t iznosi 10,42417, s pouzdanošću $p < 0,00001$.

Tablica 1 Prosječni rezultati mjerenja pH vrijednosti i infiltracije

	pijesak	pijesak ispunjen mikroplastikom	pijesak ispunjen mikroplastikom i plastikom na površini
pH vrijednost	7,0	6,8	7,0
infiltracija	0,40	0,40	0,46

U tablici 1 vidljivo je sniženje pH za podlogu s mikroplastikom i povišenje vrijednosti za infiltraciju s podlogom koja sadrži mikroplastiku i plastiku na površini.

RASPRAVA

Dobiveni podatci pokazuju da prisutnost mikroplastike u pijesku i plastike na površini pijeska uzrokuje povećanje temperature pijeska i to za više od 0,5 °C. Iako dobivena razlika možda ne izgleda velika, ona biološki može biti itekako utjecajna. S obzirom da se u slučaju vrste *Trachemys scripta elegans*, koja jaja polaže u pijesku na dubini od 10 cm, na temperaturama ispod 29°C izliježu isključivo muške jedinke, povećanjem temperature do 29,5°C omjer muških i ženskih jedinki je približno 1:1, a što se više temperatura povećava, pojavljuje se sve veći udio ženskih jedinki sve dok ne dođe do 100%. Prema dobivenim podacima koji pokazuju da prisutnost mikroplastike povećava temperaturu pijeska i za više od 0,5°C, jaja inkubirana u kontrolnim skupinama dala bi 100% muškog potomstva, dok bi skupine s mikroplastikom i mikroplastikom i plastikom na površini dale potomstvo u omjeru 1:1, ili čak većem u korist ženskih jedinki. Daljnjim bi se povišenjem temperature omjer sve više pomicao u korist ženki, dok ne bi došao do 100% ženskog potomstva. U prirodi omjer mužjaka i ženki varira ovisno o uvjetima okoliša; u toplijim će područjima udio ženki biti veći, dok će na hladnijima biti veći udio muških jedinki. Pokazano povećanje temperature ima potencijal poremetiti prirodnu ravnotežu omjera spolova crvenouhe kornjače na način da smanjuje udio muških jedinki. Iako je ta vrsta u Hrvatskoj invazivna, ovaj je učinak primjenjiv na sve vrste koje imaju temperaturno ovisnu determinaciju spola (što je velik broj vrsta kornjača pa tako i onih autohtonih). Remećenje prirodne ravnoteže omjera spolova ima alarmantan utjecaj na preživljavanje navedenih vrsta te sve ekosustave u koje su one uključene.

Nismo zabilježili velike razlike pH vrijednosti i infiltracije pijeska između kontrolnih podloga i onih s mikroplastikom. Istraživanja (Medyńska-Juraszek, 2022; Gharahi, 2022) ukazuju da prisutnost mikroplastike u tlu smanjuje pH, jer se pri utjecaju UV i IR zračenja iz plastike oslobađaju organski ugljikovi spojevi koji mogu zakiseliti supstrat (Dissanayake i sur., 2022). Rezultati ovog istraživanja poklapaju se s rezultatima pronađenim u literaturi, jer je u pijesku s dodanom mikroplastikom izmjeren pH nešto niži od pH kontrolne skupine običnog pijeska. Rezultati infiltracije pijeska pokazali su se također ujednačenima, no pijesak s dodanom mikroplastikom i plastikom na površini bolje zadržava vodu nego pijesak ispunjen isključivo mikroplastikom i običan pijesak. Navedeno dolazi u kontradikciju s istraživanjima pronađenim u literaturi (Guo i sur., 2022), no razlog za navedeno je najvjerojatnije je što je plastični pokrov na pijesku bio sastavljen od većih komada plastike koji su vjerojatno otežali protok vode kroz pijesak.

Najveće metodološko ograničenje predstavljale su lampe korištene za grijanje pijeska koje nisu imale jednak intenzitet zagrijavanja zbog čega je proces kalibracije trajao duže i bilo je potrebno modificirati njihovu udaljenost od površine pijeska prije dodavanja plastike kako bi grijanje između skupina bilo ujednačeno te kako se razlika u zagrijavanju ne bi pogrešno protumačila kao utjecaj plastike. Također,



održavanje kontrolnih skupina unutar ciljanog intervala 28,4°C – 28,8°C je bilo otežano zbog “zakašnjelih” reakcija žarulja. Nakon što se žarulje upale, potrebno im je određeno vrijeme da zapravo krenu sa zagrijavanjem, te nakon što se ugase nastavljaju sa zagrijavanjem sve dok se ne ohlade. Zbog toga je paljenje/gašenje moralo biti modificirano kako bi interval bio što bliži ciljanom. Kod skupine s plastičnim pokrovom došlo je do zadržavanja kapljica vode na površini uzrokovano načinom unosa vode u sistem (prskanjem). Preferirano bi bilo imati drugačiji način unosa kako ovaj problem ne bi negativno utjecao na količinu vlage u pijesku i temperaturu plastičnog pokrova, odnosno utjecaj njegovog toplinskog kapaciteta na temperaturu. Za donošenje adekvatnijeg zaključka vezanog uz utjecaj temperature na spol kornjača bilo bi idealno da smo imali i jaja kornjača te više replikata staklenih podloga.

ZAKLJUČCI

Na temelju provedenog istraživanja izvodi se zaključak da:

- ☞ prisutnost mikroplastike u pijesku i plastike na površini pijeska uzrokuje povećanje temperature pijeska i to za više od 0,5 °C.
- ☞ mikroplastika također utječe na pH pijeska čineći ga kiselijim,
- ☞ prisutnost mikroplastike i plastičnog pokrova može povećati i propusnost vode u pijesku.

ZAHVALA

Rad je prezentiran na 26. Državnoj smotri i natjecanju hrvatskih GLOBE škola u Čakovcu od 15. – 17. 5. 2023., stoga zahvaljujemo recenzentima Borjanki Smojver i Renati Matonićkin Kepčija na strpljivosti i detaljnosti.

LITERATURA

- Bull, J. J., Legler, J. M., & Vogt, R. C. (1985). Non-Temperature Dependent Sex Determination in Two Suborders of Turtles. *Copeia*, 1985(3), 784–786.
- Crews, D., Bull, J. J., & Wibbels, T. (1991). Estrogen and sex reversal in turtles: a dose-dependent phenomenon. *General and comparative endocrinology*, 81(3), 357-364.
- Dissanayake, P. D., Kim, S., Sarkar, B., Oleszczuk, P., Sang, M. K., Haque, M. N., Ahn, J.H., Bank, M. S., Ok, Y. S. (2022). Effects of microplastics on the terrestrial environment: A critical review. *Environmental Research, Volume 209*
- Ewert, M. A., & Nelson, C. E. (1991). Sex Determination in Turtles: Diverse Patterns and Some Possible Adaptive Values. *Copeia*, 1991(1), 50–69.
- Gharahi, N., & Zamani-Ahmadmahmoodi, R. (2022). Effect of plastic pollution in soil properties and growth of grass species in semi-arid regions: a laboratory experiment. *Environmental science and pollution research international*, 29(39), 59118–59126.
- GLOBE.gov. (2014). *JustPassingThrough*.
<https://www.globe.gov/documents/352961/353899/Just+Passing+Through/06f90bc2-1e4e-4830-b36d-dba1e170914e>. pristupljeno 10.1.2023.
- Guo, Z., Li, P., Yang, X., Wang, Z., Lu, B., Chen, W., Wu, Y., Li, G., Zhao, Z., Liu, G., Ritsema, C., Geissen, V., & Xue, S. (2022). Soil texture is an important factor determining how microplastics affect soil hydraulic characteristics. *Environment international*, 165, 107293.
- Lavers, J. L., Rivers-Auty, J., Bond, A. L. (2021). Plastic Debris Increases Circadian temperature extremes in beach sediments. *Journal of Hazardous Materials, Volume 416*
- Medyńska-Juraszek, A., & Jadhav, B. (2022). Influence of Different Microplastic Forms on pH and Mobility of Cu²⁺ and Pb²⁺ in Soil. *Molecules (Basel, Switzerland)*, 27(5), 1744.
- Program GLOBE-Hrvatska. (2020). Ispitivanje tla.
https://drive.google.com/file/d/14nPucdT8Sf_Xp7qcSdLO-WFJm1mE02NW/view
pristupljeno 10.1.2023
- Wibbels, T., Cowan, J., & LeBoeuf, R. (1998). Temperature-dependent sex determination in the red-eared slider turtle, *Trachemys scripta*. *The Journal of experimental zoology*, 281(5), 409–416.
- Wibbels, T., Bull, J.J., Crews, D. (1994). Temperature-Dependent Sex Determination: A Mechanistic Approach. *The Journal of experimental zoology*, 270, 71–78.

Utjecaj mediteranskih dagnji (*Mytilus galloprovincialis*, LMK.) na količinu mikroplastike u moru

Karla Lea Čerkuć, 3. razred

XV. gimnazija, Zagreb

Mentor: *Mihaela Marceljak Ilić*

SAŽETAK

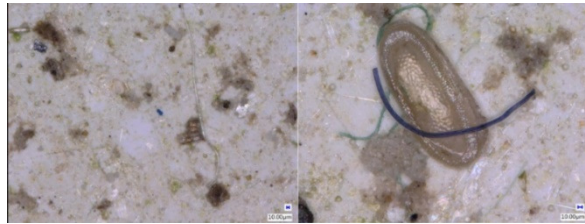
Mediteranska dagnja (*Mytilus galloprovincialis* Lamarck, 1819) jestivi je morski školjkaš, tamnomodre ljušture, sprijeda šiljaste a straga proširene i zaobljene, duge najčešće 5 do 8 cm, iako može doseći i do 15 cm duljine. Hrani se planktonom i organskom tvari filtrirajući morsku vodu. Prosječna dagnja filtrira i do 6 litara vode u satu. Plastika je naziv za široku skupinu sintetičkih i polusintetičkih polimera s različitim značajkama obično dobivenih iz fosilnih resursa (ugljen, sirova nafta, prirodni plin), a često se dobivaju i iz organskih proizvoda (celuloza, šećerna repa, kukuruz, morske alge itd.). Mikroplastika je bilo koja sintetička čvrsta čestica ili polimerna matrica, pravilnog ili nepravilnog oblika i veličine u rasponu od 1 µm do 5 mm, primarnog ili sekundarnog proizvodnog podrijetla, koja je netopiva u vodi. Cilj istraživanja je utvrditi smanjuju li mediteranske dagnje količinu mikroplastike iz mora te mogu li poslužiti kao biopročišćivači mikroplastike u moru u područjima uzgoja drugih morskih organizama namijenjenih za prehranu ljudi. Mjerni podatci su količina, oblik, boja i veličina mikroplastike. Nakon uzorkovanja 18 L morske vode, uzorci su filtrirani i mikroskopirani. Rezultati su statistički provjereni ANOVA testom. Najveća količina mikroplastike pronađena je u područjima gdje dagnje ne rastu. Veličine vlakna podjednake su veličine. S druge strane lokacije dagnja u prirodi imaju najveće fragmente, dok lokacije bez dagnji imaju najmanje fragmente mikroplastike. U uzorcima se većinom nalaze fragmenti te je najčešća boja svih komadića mikroplastike tamno plava. Daljnja obrada podataka ANOVA i Tukey HSD post hoc testovima ukazala je značajnu razliku među veličinama fragmenata i manjak značajne razlike među veličinama vlakna mikroplastike.

Ključne riječi: zagađenje plastikom; biopročišćivači; školjke; bioakumulacija

UVOD

Mediteranska dagnja (*Mytilus galloprovincialis* Lamarck, 1819) jestivi je morski školjkaš, tamnomodre ljušture, sprijeda šiljaste a straga proširene i zaobljene, duge najčešće 5 do 8 cm, iako može doseći i do 15 cm duljine (Bonham, 2017). Hrani se planktonom i organskom tvari filtrirajući morsku vodu. Prosječna dagnja filtrira i do 6 litara vode u satu. Uzgaja se u pergolarima. Pergolari su mreže nalik na najlonke oka promjera 2 do 3 centimetra, obično duge 3 metra (Šarlija, 2021). Plastika je naziv za široku skupinu sintetičkih i polusintetskih polimera s različitim značajkama obično dobivenih iz fosilnih resursa (ugljen, sirova nafta, prirodni plin), a često se dobivaju i iz organskih proizvoda (celuloza, šećerna repa, kukuruz, morske alge itd.). Polimeri su dugačke molekule sastavljene od ponavljajućih molekularnih jedinica. Oni mogu imati različite strukture: linearne, razgranate, umrežene, itd. (Sutti i sur., 2020). Dugotrajnost i otpornost plastike ujedno je i najveći razlog onečišćenja okoliša kako na kopnu tako i u morima (Sivan, 2011). Prve zabilješke o prisutnosti plastike u morima datiraju iz 1960.-ih kada su zapaženi prvi primjeri zaplitanja morskih sisavaca u odbačene mreže i hranjenje morskih ptica plastikom u sjevernom dijelu Tihog oceana. U 14 vrsta riba na području istočne obale Sjeverne Amerike je 1972. godine zabilježena probava polistirenskih peleta (Ryan, 2015). Znatno onečišćenje morskih sustava zabilježeno je u zatvorenim uvalama i zaljevima koji su obično u neposrednoj blizini naseljenih područja. Napušteni ribolovni alati, plastične vrećice, pakiranja hrane i plastične boce jedni su od glavnih razloga ugibanja sve većeg broja morskih organizama poput riba, morskih sisavaca, ptica i morskih gmazova koji se zapliću u njih ili jednostavno zabunom zamjenjuju svoj plijen s plastikom (Eriksen i sur., 2014). Istraživanjima u morskom ekosustavu otkriveno je da kemijski dodaci plastici

omekšivači, sredstva koja smanjuju zapaljivost, antimikrobne čestice, nanočestice titan dioksida (TiO₂-NPs) koji se dodaju kako bi se poboljšala njena svojstva, predstavljaju opasne okolišne onečišćivače jer na svoju površinu mogu vezati pesticide, herbicide, teške metale i različite druge. Mikroplastika je bilo koja sintetička čvrsta čestica ili polimerna matrica, pravilnog ili nepravilnog oblika i veličine u rasponu od 1 μm do 5 mm, primarnog ili sekundarnog proizvodnog podrijetla, koja je netopiva u vodi (Slika 1) (Frias i Nash, 2019).



Slika 1 Fragment plastike i plastično vlakno (Izvor: Sutti i sur., 2021)

Polimeri veće gustoće od gustoće morske vode uglavnom tonu na dno (PVC), dok polimeri s manjom gustoćom ostaju na površini ili u vodenom stupcu (PE, PP). Obrastanje krhotina, daljnja fragmentacija i otpuštanje aditiva u more utječe na plovnost istih kao i na položaj mikroplastike u vodenom stupcu (Lusher, 2017). Kada se plastika fragmentira u mikroplastiku, lako ju progutaju organizmi poput dagnji koje ljudi obično konzumiraju (Khoironi i sur., 2018). Rezultat mikroskopske analize mikrostrukture koju su proveli A. Khoironi i sur. (2018) pokazao je da su dagnje iz morskog okoliša kontaminirane mikroplastikom. Prethodna istraživanja također dokazuju da se bioakumulacija mikroplastike događa unutar svake trofičke razine, što vodi do biomagnifikacije kroz hranidbeni lanac (Miller i sur., 2020). Unos mikroplastike potvrđen je u divljim populacijama brojnih morskih organizama prikupljenih iz njihovih prirodnih staništa. U svim biološkim sustavima izloženost mikroplastici može uzrokovati toksičnost, oksidativni stres i upalne ozljede (Prata i sur., 2020). Negativni učinak mikroplastike na organizme također se očituje u poremećaju ekspresije gena, enzimske aktivnosti ili oksidaciji slobodnih radikala na molekularnoj razini (Shah i sur., 2017.). Kod morskih organizama ovi negativni učinci izazivaju smanjenu plodnost, poremećaje metabolizma i pojavu tumora (Guzzetti i sur., 2018). Nemogućnost ljudskog imunološkog sustava da ukloni sintetičke čestice može dovesti do kronične upale i povećati rizik od tumora (Prata i sur., 2020). Neki dokazi pokazuju da je unos plastičnih čestica u crijevima relativno nizak i uglavnom ovisi o veličini čestica. Međutim, drugi dokazi naglašavaju da fragmenti mikroplastike remete ključne molekularne signalne putove, mijenjaju sastav crijevne mikrobiote i mogu uzrokovati epigenetske promjene, uključujući transgeneracijske učinke koji mogu biti uključeni u pojavu mnogih metaboličkih poremećaja. Ovi rezultati imaju značajne implikacije na izloženost mikroplastici u ranom životu i metaboličke promjene i pretilost kod ljudi. Promjene u crijevnoj mikrobioti životinja uzrokovane djelovanjem mikroplastike mogu poremetiti fiziološku homeostazu, što dovodi do bolesti drugih organa kao što su poremećaji bubrega, poremećaji krvožilnog sustava, pojave upale i tumora te neuroloških poremećaja (Kannan i Vimalkumar, 2021). Woods i sur. (2018) zaključili su kako plava dagnja (*Mytilus edulis*) može služiti kao ponor mikroplastike u obalnim vodama zaljeva Maine, stoga je i cilj ovog istraživanja utvrditi smanjuju li mediteranske dagnje količinu mikroplastike iz mora te mogu li poslužiti kao biopročišćivači mikroplastike u mora u područjima uzgoja drugih morskih organizama namijenjenih za prehranu ljudi. Pretpostavka je da će u uzorcima mora s područja gusto naseljenog dagnjama biti manja količina mikroplastike od uzoraka mora gdje dagnji

nema, upravo zbog svojstava dagnji da filtracijom unose mikroplastiku u svoj organizam, a i činjenice da se ona akumulira u njima (Miller i sur., 2020). Potvrda hipoteze mogla bi potaknuti nove ideje o rješavanju problema unosa prevelike količine nerazgradivog plastičnog ljudskog otpada iz mora u uzgajane morske organizme namijenjene prehrani te novog načina uzgoja morskih organizama gdje bi dagnje uzgajane oko ribogojilišta služile kao biofilteri i omogućavale dotok mora s manjom količinom mikroplastike.

METODE

Uzorci mora su prikupljeni u kolovozu 2022. godine kada je prosječna temperatura mora iznosila 23° C. Uzorci su s tri različite skupine lokacija: A) uzgajališta dagnji, B) stanište bez dagnji i C) dagnje u prirodi odnosno mjesta na kojima dagnje rastu bez izravnog čovjekova utjecaja. Lokacije gdje dagnji nema služile su kao kontrola u istraživanju. Na uzgajališta se išlo u dogovoru s mentorom te u pratnji roditelja.



Slika 2 Lokacije uzorkovanja (Izvor: Google Maps, 2022)

Uzgajalište dagnji

- A1. Uzgajalište 1 ima pergolare na udaljenosti između 6 i 30 m od obale te su uzorci uzimani na dubini od 0,5 m. Nalazi se na koordinatama 44° 15' 51.5304" N, 15°31' 47.4996" E.
- A2. Uzgajalište 2 ima pergolare na udaljenosti između 300 i 500 m od obale te su uzorci uzimani na dubini od 0,5 m. Nalazi se na koordinatama 44°16' 2.82" N, 15°31' 35.6376"E.
- A3. Uzgajalište 3 ima pergolare na udaljenosti između 50 i 150 m od obale te su uzorci uzimani na dubini od 0,5 m. Nalazi se na koordinatama 44° 16' 5.574" N, 15°31' 20.226" E.

Dagnje u prirodi

- B1. Uzorak s lokacije 1 uzet je na udaljenosti 15 do 20 m od obale te na dubini od 0,5 m. Nalazi se na koordinatama 44° 14' 10.4424" N, 15° 31' 21.9504" E.
- B2. Uzorak s lokacije 2 uzet je na udaljenosti 15 do 20 m od obale te na dubini od 0,5 m. Nalazi se na koordinatama 44° 12' 17.7768" N, 15° 34' 34.2156" E.
- B3. Uzorak s lokacije 3 uzet je na udaljenosti 15 do 20 m od obale te na dubini od 0,5 m. Nalazi se na koordinatama 44° 12' 29.2932" N, 15° 34' 5.1528" E.

Stanište bez dagnji

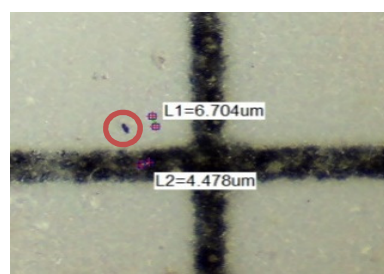
- C1. Uzorak s lokacije 1 uzet je na udaljenosti 100 m od obale te na dubini od 0,5 m. Nalazi se na koordinatama 44° 33' 80.18" N, 15° 04' 61.40" E.
- C2. Uzorak s lokacije 2 uzet je na udaljenosti 100m od obale te na dubini od 0,5 m. Nalazi se na koordinatama 44° 34' 71.63" N, 15° 06' 09.11" E.
- C3. Uzorak s lokacije 3 uzet je na udaljenosti 120 m od obale te na dubini od 0,5 m. Nalazi se na koordinatama 44° 33' 15.53" N, 15° 07' 63.43" E.

Uzorkovanje

Uzorci su uzimani oko pergolara u uzgajalištima dagnji, a u prirodnom staništu dagnji i staništima bez dagnji uzimani su na gore navedenim udaljenostima od najbliže obale. Punile su se po 2 boce od 0,5 L na svakoj lokaciji na dubini od 0,5 m. U prethodnom istraživanju koje je provedeno 2022. godini uspostavljen je kontakt s vlasnicima dagnjogajilišta te je tada uzet uzorak morske vode oko istih. Kod lokacija uzorkovanja koje su bile dosta udaljene od obale dolazilo se čamcem do približne lokacije, a do točne lokacije uzorkovanja dolazilo se plivajući. Kod uzgajališta dagnji uzorak se uzimao među pergolarima. Uzorak je uzet uranjanjem boce pod more te zatvaranje iste pod morem. Nakon uzorkovanja, boce su se skladištile u prijenosni hladnjak. Sveukupno je prikupljeno 18 uzoraka morske vode. Boce su potom označene nazivom lokacije na kojoj je uzorkovano, te općim podacima o lokaciji (dubina, udaljenost od obale, temperatura mora i datum uzorkovanja) te su zamrznute i transportirane u školu. Daljnja obrada i analiza uzoraka rađena je u školskom laboratoriju. Korištena oprema se sastoji od lijevka za vakuum filtraciju, i vakuum pumpe, iscrtane filter membrane promjera 47 mm i širine pore 0,45 μm , Petrijeve zdjelice promjera 55 mm, pincete, sterilne šprice, ionizirane vode, markera, lateks rukavica, bijele kute, stolne lampe i mikroskopa s kamerom (modela DN-107T), laptopa i USB kabela. Uzorci su filtrirani pomoću vakuum pumpe i lijevka za vakuum filtraciju uzoraka. Prilikom filtracije posebno se pazilo na moguću kontaminaciju filtera i opreme. Stoga je između filtracije svakog uzorka aparat za filtriranje pročišćen ioniziranom vodom pomoću šprice. Kako bi se spriječila kontaminacija, provedeno je niz mjera koje su uključivale čišćenje stola 70%-tnim alkoholom, korištenje bijele kute, vezanje kose, odsustvo šminke i laka za nokte, korištenje lateks rukavica. Morska voda iz boca od 0,5 L 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 μm) ostale su na samoj membrani. Kada je sav uzorak profiltriran, dodano je 10 mL ionizirane vode te je završena filtracija, membrana je premještena i zatvorena u Petrijevu zdjelicu koja je označena šifriranom oznakom za lokaciju. Šifrirana oznaka sastojala se od naziva lokacije te rednog broja uzorka. Nakon što su svi uzorci osušeni, svaki je uzorak mikroskopiran na način da se je pregledao cijeli filter s uzorkom.



Slika 3 Aparat za filtraciju u školskom laboratoriju s ostalom potrebnom opremom



Slika 4 Čestica mikroplastike u pripremljenom uzorku pri povećanju od 400 x . Na slici je prikazana čestica mikroplastike oblika fragment, veličine (<100 μm) i plave boje

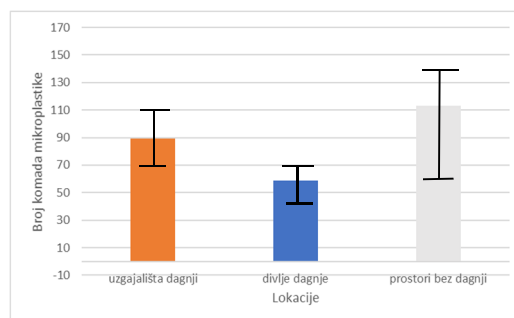
Membrane s filtratom su analizirane uz pomoć školskog mikroskopa modela DN-107T koristeći povećanje 400x. Prije analize uzoraka mikroplastike, proučen je protokol (Sutti i sur., 2021; Sutti, 2020), i napravljen trening prepoznavanja mikroplastike s mentorom pomoću baze od nekoliko stotina fotografija. Obzirom da je veličina mikroplastike jedan od elemenata analize uzoraka, pomoću iscrtane mreže filtera napravljena je kalibracija mjernom skalom unutar okulara mikroskopa modela Olympus CX23 gdje razmak između dvije crtice na 100x povećanju iznosio 10 μm i utvrđena je debljina linije filter

papira od 22 μ m. Dodatna kalibracija je napravljena uz pomoć programa ScopeImage 9.0 koji je kalibriran automatskom funkcijom u sustavu te potvrdio istu debljinu linije filter papira. Mikroskopiranjem se brojala količina fragmenata mikroplastike i mikro-niti plastičnog podrijetla uključujući njihov promjer boju i oblik u uzorku od 500 mL mora te je svaka čestica uslikana. 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 18 uzoraka. Slika 4 prikazuje česticu mikroplastike.

REZULTATI

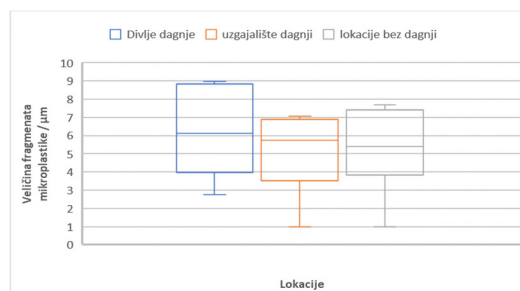
Rezultati rada ukazuju da je prosječno najveći broj komadića mikroplastike u prostorima gdje nema dagnji (Slika 5).

Prosječan broj komadića mikroplastike u uzgajalištima dagnji bio je 89, od čega je prosječno 85 fragmenata i 4 vlakna. Za lokacije divljih dagnji prosječan broj komadića mikroplastike je 61 od čega je prosječno njih 51 u obliku fragmenta, a 3 u obliku vlakna. Prostori gdje dagnji nema prosječno imaju pristno 128 komadića mikroplastike, od čega je 113 u obliku fragmenta, a 15 u obliku vlakna.



Slika 5 Usporedba prosječnog broja komadića mikroplastike po lokaciji

Analiza veličine fragmenata mikroplastike prikazana je na slici 6. Vidljivo je da su fragmenti sa svakog tipa lokacije sličnih proporcija, no najveću količinu odstupanja od prosjeka pokazuju prostori divljih dagnji, a najveće odstupanje uzgajalište dagnji.

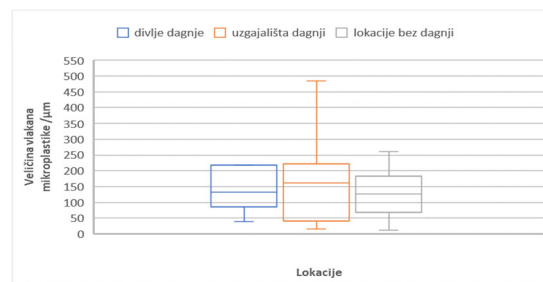


Slika 6 Usporedba prosječne veličine fragmenata mikroplastike ovisno o lokaciji

Plava linija u sredini okvira predstavlja prosječnu veličinu fragmenata mikroplastike pronađenih u prirodnim staništima dagnji. Okviri pravokutnika prikazuju kako su podaci raspoređeni uzimajući 50% zadanih vrijednosti podataka. Plave okomite crte na pravokutniku predstavljaju najveću (iznad pravokutnika) i minimalnu (ispod pravokutnika) vrijednost veličine fragmenata. Narančasta linija u sredini okvira predstavlja prosječnu veličinu fragmenata mikroplastike pronađenih u uzgajalištima dagnji. Okvir pravokutnika prikazuje distribuciju podataka. Narančaste okomite crte na pravokutniku

predstavljaju najveću (iznad pravokutnika) i minimalnu (ispod pravokutnika) vrijednost veličine fragmenata. Siva linija u sredini predstavlja prosječnu veličinu fragmenata mikroplastike pronađenih na lokacijama bez dagnji. Okvir pravokutnika prikazuje distribuciju podataka. Sive okomite crte na pravokutniku predstavljaju najveću (iznad pravokutnika) i minimalnu (ispod pravokutnika) vrijednost veličine fragmenata.

Daljnjom analizom ANOVA testom utvrđena je značajna razlika u veličinama fragmenata mikroplastike ($F = 10,59$, $p < 0,0001$). Tukey HSD post hoc test pokazuje značajne razlike između veličina fragmenta svih triju lokacija tj. usporedbom sve tri vrijednosti zasebno utvrđeno je da je kod svih $p < 0,0001$.



Slika 7 Usporedba prosječne veličine vlakana ovisno o tipu lokacije na kojem su pronađeni

Rezultati prikazani slikom 7 pokazuju da uzgajališta dagnji imaju prosječno najduža vlakna te najveću količinu odstupanja od prosječne vrijednosti vlakna. Jedino na području divljih dagnji postoji vrijednost koja značajno odstupa od prosjeka duljine vlakna.

Plava linija u sredini okvira predstavlja prosječnu veličinu vlakana mikroplastike pronađenih u prirodnim staništima dagnji. Okviri pravokutnika prikazuju kako su podaci raspoređeni uzimajući 50% zadanih vrijednosti podataka. Plave okomite crte na pravokutniku predstavljaju najveću (iznad pravokutnika) i minimalnu (ispod pravokutnika) vrijednost veličine vlakana. Narančasta linija u sredini okvira predstavlja prosječnu veličinu vlakana mikroplastike pronađenih u uzgajalištima dagnji. Okvir pravokutnika prikazuje distribuciju podataka. Narančaste okomite crte na pravokutniku predstavljaju najveću (iznad pravokutnika) i minimalnu (ispod pravokutnika) vrijednost veličine vlakana. Siva linija u sredini okvira predstavlja prosječnu veličinu vlakana mikroplastike pronađenih na lokacijama bez dagnji. Okvir pravokutnika prikazuje distribuciju podataka. Sive okomite crte na pravokutniku predstavljaju najveću (iznad pravokutnika) i minimalnu (ispod pravokutnika) vrijednost veličine vlakana.

Daljnjom analizom ANOVA testom utvrđena je da razlika u veličinama vlakana mikroplastike nije značajna. ($F = 1,46$, $p > 0,0001$). Tukey HSD post hoc pokazuje kako nema značajne razlike među istraživanim lokacijama.

RASPRAVA

Hipoteza ovog istraživanja potvrđena je. Najveća količina mikroplastike pronađena je na lokacijama gdje nema dagnji. Unatoč većoj koncentraciji dagnji u uzgajalištima dagnji veća je koncentracija mikroplastike u uzgajalištima u usporedbi sa prostorima dagnji u prirodi. To je vjerojatno posljedica zagađenja lokacije korištenjem plastičnih oruđa u uzgoju. U kontrolnoj lokaciji tj. prostorima gdje nema dagnji pronađeno je prosječno 128 komadića mikroplastike po m^2 lokacije. Schmidt i sur. (2018) radili su istraživanje o količini mikroplastike u Mediteranskom moru te ovisno o lokaciji njihov prosjek varira



od 34 do 212 komadića po m². Ti rezultati podudaraju se s dobivenim rezultatima ovog istraživanja. S druge strane, Glavičić Marović (2022) u svome istraživanju koristi istu metodu kao i ovo istraživanje te je ona u istraživanju zaštićenih područja Jadranskog mora pronašla 10-ak komadića mikroplastike na 500 mL morske vode. S obzirom na to da većina istraživanja o mikroplastici istražuju njenu kemijsku strukturu ili bioakumulaciju u morskim organizmima teško je usporediti rezultate s prijašnjim istraživanjima.

Pouzdanije rezultate mogli bi postići promatranjem količine mikroplastike na danim lokacijama kroz duži period, preciznijim načinom brojanja i mjerenja komadića mikroplastike te filtracijom uzoraka odmah nakon uzorkovanja.

ZAKLJUČCI

Na osnovu provedenog istraživanja mogu se donijeti slijedeći zaključci:

- ☞ Najveći broj komadića mikroplastike pronađen je u prostorima gdje nema dagnji.
- ☞ Područja divljih dagnji imali su prosječno najveće fragmente mikroplastike.
- ☞ Uzgajališta dagnji imaju najveća odstupanja kod prosječne veličine vlakna.
- ☞ Fragmenti su najčešće pronađeni oblici mikroplastike.

ZAHVALA

Ovaj rad je sudjelovao na The GLOBE Program „International Virtual Science Symposium 2023.“ stoga zahvaljujem svima koji su me potakli i pomogli da ne odustanem od ovog istraživanja.

LITERATURA

- Bonham V. 2017. *Mytilus galloprovincialis* (Mediterranean mussel). Cabi <https://www.cabi.org/isc/datasheet/73756>. pristupljeno 15. 7.2022
- Eriksen M., Lebreton L.C.M., Carson H.S., Thiel M., Moore C.J. 2014. Plastic Pollution in the World's Oceans: More than 5 Trillion Plastic Pieces Weighing over 250,000 Tons Afloat at Sea. *PLoS ONE* 9(12)
- Frias J. P. G. L., Nash R. 2019. Microplastics: Finding a consensus on the definition. *Marine Pollution Bulletin*, 138, 145-147.
- Glavičić Marović L. 2022. Prisutnost mikroplastike u zaštićenom i ne zaštićenom akvatoriju zapadne obale Istre. *Bioznalac* 8
- Guzzetti E., Sureda A., Tejada S., Faggio C. 2018. Microplastic in Marine Organism: Environmental and Toxicological Effects. *Environmental Toxicology and Pharmacology*.
- Kannan K., Vimalkumar K. 2021. A Review of Human Exposure to Microplastics and Insights Into Microplastics as Obesogens. *Frontiers*. <https://www.frontiersin.org/articles/10.3389/fendo.2021.724989/full>. pristupljeno 20.8.2022.
- Khoironi A., Anggoro S., Sudarno 2018. The existence of microplastic in Asian green mussels. *iopscience*. <https://iopscience.iop.org/article/10.1088/1755-1315/131/1/012050/pdf>
- Lusher A. 2015. Microplastics in the Marine Environment; Distribution, Interactions and Effects. *Marine Anthropogenic Litter*: 245-307.
- Mihaljević D. 2020. Mikroplastika u mediteranskoj dagnji (*Mytilus galloprovincialis* Lamarck, 1819) i kamenici (*Ostrea edulis* Linnaeus, 1758) u šibenskom zaljevu. Sveučilište U Zagrebu, Prirodoslovno-matematički fakultet: diplomski rad.
- Miller M.E., Hamman M., Kroon F.J. 2020. Bioaccumulation and biomagnification of microplastics in marine organisms. A review and meta-analysis of current data. *PLoSone* <https://journals.plos.org/plosone/article?id=10.1371/journal.pone.0240792>. pristupljeno 8.1.2023.
- Prata, J. C., da Costa J. P., Lopes I., Duarte A. C., Rocha-Santos T. 2020. Environmental exposure to microplastics. An overview on possible human health effects. *Sci Total Environ*, <https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S0048969719344468>. pristupljeno 3.11.2022.
- Ryan P.G. 2015. A Brief History of Marine Litter Research. *Marine Anthropogenic Litter*: 0 -25
- Schmidt N., Thibault D., Galgani F., Paluselli A., Sempere R. 2018. Occurrence of microplastics in surface waters of the Gulf of Lion (NW Mediterranean Sea). *ScienceDirect*. <https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S0079661117300484>, pristupljeno 8.3.2023.
- Shah S.N., Shah Z., Hussain M., Khan M. 2017. Hazardous Effects of Titanium Dioxide Nanoparticles in Ecosystem. *National Library of Medicine*. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC5360948/> pristupljeno 8.1.2023.



- Sivan A. 2011. New perspectives in plastic biodegradation. Environmental biotechnology. <https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S0958166911000292> pristupljeno 15.7.2022.
- Social Science Statistics. 2023. One-Way ANOVA Calculator, Including Tukey HSD, <https://www.socscistatistics.com/tests/anova/default2.aspx>. pristupljeno 25.1.2023.
- Sutti A., Robottom S., Sutti S. 2021. MICROPLASTICS-Protocol Proposal. DeakinUni-LabTer-Crea-GLOBE Italia, radna verzija, <https://drive.google.com/file/d/1YBIPVUN7-GHy6hZYomyjGtHoZ6XMT19X/view>
- Sutti A., 2020. MICROPLASTICS-Protocol Proposal. DeakinUni. https://video.deakin.edu.au/media/t/1_ewulcwtx pristupljeno 30.1.2023.
- Šarlija D. 2021. Pers. comm.
- Woods M.N., Stack M.E., Fields D.M., Shaw S.D., Matrai P.A. 2018. Microplastic fiber uptake, ingestion, and egestion rates in the blue mussel (*Mytilus edulis*) <https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S0025326X18307732> pristupljeno 12.12.2022.