



Hrvatsko biološko društvo
Societas biologorum croatica

BioZnalac

časopis učeničkih istraživanja iz biologije



2024.



Pokrovitelj:



SVEUČILIŠTE U ZAGREBU
PRIRODOSLOVNO-MATEMATIČKI FAKULTET
Biološki odsjek

ISSN 1849-837X

BIOZNALAC



časopis učeničkih istraživanja iz biologije

Izdavač

Hrvatsko biološko društvo

Rooseveltove trg 6 , 10000 Zagreb

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

E-mail: info@hbd-sbc.hr

SOCIETAS BIOLOGORUM CROATICA



Hrvatsko biološko društvo

ISSN 1849-837X

Uredništvo časopisa Bioznalac

Glavni urednik

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

Operativni urednici

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

Marina Ništ, Marina.Nist@azoo.hr

Žaklin Lukša, zaklinluksa@gmail.com

Recenzenti

7. i 8. razred – recenzenti: D. Mamić i M. Ništ

1. i 2. razred – recenzenti: A. Lucić i M. Samardžić

3. i 4. razred – recenzenti: V. Mičetić Stanković i I. Štolfa Čamagajevac
M. Sertić Perić

Web urednik

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

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

SADRŽAJ

Bioznalac 2024.

Državno natjecanje iz biologije 2024. Zadar, 5. - 8. svibnja 2024.

Članak	Autori	Naslov rada	Razred	Mentor	Naziv škole	Stranice
1	Filip Kovačić Luka Kovačić	Bila boja je boja	7.	Banović T.	OŠ Josip Pupačić, Omiš	1 - 16
2	Patricija Kučiš Maja Meštrović	Vrijeme reakcije – koliko brzo živčani sustav šalje informacije kroz ljudsko tijelo	7.	Međeral Ozimec P.	Osnovna škola Stjepana Radića Brestovec Orehovički, Brestovec Orehovički	17 - 22
3	Lana Bošnjak Antonija Habijanac	Utjecaj biljnih „čajeva“ i meda na klijavost graška	8.	Irić Šironja S.	OŠ Augusta Cesarca, Zagreb	23 - 30
4	Nika Kolić Sara Makek	Jesi li ti Vitruvijev čovjek?	8.	Belančić A.	Osnovna škola Ivane Brlić-Mažuranić, Ogulin	31 - 38
5	Dorotea Jaganjac	“Superhrana” u borbi protiv kvasca	8.	Patafta Đ.	OŠ Ljudevita Gaja, Zaprešić	39 - 49
6	Jana Rodeš	Utjecaj deterdženata na brzinu rasta i razvoja graha	8.	Glavaš K.	OŠ Đure Deželića Ivanić-Grad, Ivanić-Grad	50 - 57
7	Emilio Kanisek	Značajke cvijeta naših proljetnica pod UV zračenjem	8.	Kočić A.	OŠ Josip Kozarac, Josipovac Punitovački	58 - 67
8	Sara Mandić	Utjecaj promjene temperature okoliša na dozivnu pjesmu Jamajčanskog poljskog zrikavca <i>Gryllus assimilis</i>	1.	Medić K.	II. gimnazija, Zagreb	68 - 72
9	Nela Šarić	Kako različite vrste napitaka utječu na boju i teksturu ljuske jajeta	1.	Horvat D.	Srednja škola Čakovec, Čakovec	73 - 77
10	Sara Polašek	Od biljke do antiseptika – potraga za antibakterijskim spojevima u biljaka	2.	Peter K.	Prirodoslovna škola Vladimira Preloga, Zagreb	78 - 90
11	Mia Cvitak	Utjecaj UV-C zračenja na razvitak kukuruza (<i>Zea mays</i> L. 1753)	3.	Milinković A.	Gimnazija Karlovac, Karlovac	91 - 104
12	Klara Orehovec Paula Marija Petrlić	Hoće li vaša biljka prije ozdraviti od bakterijske bolesti ako konzumira WIIP?	3.	Peter K.	Prirodoslovna škola Vladimira Preloga, Zagreb	105 - 113
13	Luka Čus	Ishrana sivog čuka (<i>Athene noctua</i> SCOPOLI, 1769)	3.	Lugarić S.	Srednja škola Vrbovec, Vrbovec	114 - 125
14	Tončica Grubišić Vita Medić	Ispitivanje utjecaja krema za sunčanje na vodene ekosustave	3.	Alujević I.	III. gimnazija, Split	126 - 136
15	Alba Štifanić Nikola Radman-Livaja	Utjecaj različitih abiotičkih čimbenika na rast gljivice <i>Aspergillus brasiliensis</i> Varga, Frisvad i Samson	3.	Peter K.	Prirodoslovna škola Vladimira Preloga, Zagreb	137 - 146
16	Jakov Lisica	Ornitofauna u Perivoju Vladimira Nazora u Zadru	4.	Nižić M.	Gimnazija Vladimira Nazora, Zadar	147 - 158
17	Borna Sočev	Trebaju li kirurzi igrati videoigre	4.	Samardžić M.	Gimnazija „Fran Galović“, Koprivnica	159 - 168

BILA BOJA JE BOJA

Filip Kovačić, 7. razred

Luka Kovačić, 7. razred

OŠ Josip Pupačić, Omiš

Mentor: Tamara Banović

SAŽETAK

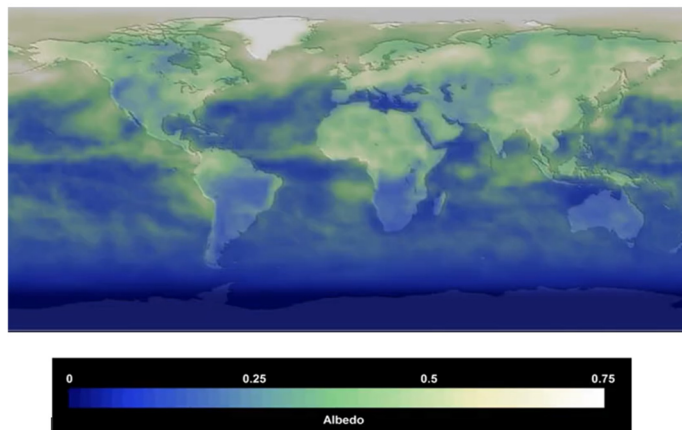
Cilj ovoga rada je ispitati utjecaj boje podloge na njeno zagrijavanje, s naglaskom na mjerenje razlike u zagrijavanju različito obojenih površina stambenih i poslovnih objekata te ispitati njihov utjecaj na pojavnost urbanih toplinskih otoka. Prvi dio istraživanja provodio se u školskom laboratoriju gdje se pokusom ispitala brzina taljenja leda ovisno o boji podloge na kojoj se led nalazi te se ispitala razlika u temperaturi zagrijavanja triju različito obojenih podloga, koje simuliraju zagrijavanje tla, vode i ledenjaka. Drugi dio istraživanja povodio se na terenu gdje se laserskim infracrvenim termometrom mjerila površinska temperatura različito obojenih dijelova objekata kojima smo okruženi. Mjerenje se obavljalo od lipnja 2023. do siječnja 2024. na pet stambenih objekata. Treći dio istraživanja uključivao je mjerenje temperature zraka u izgrađenom urbanom dijelu grada i u zapuštenom, neizgrađenom dijelu kako bi se utvrdila razlika u temperaturi zraka na tim područjima. Rezultati istraživanja pokazuju brže taljenje leda na tamnim podlogama te brže zagrijavanje tamnijih površina. Mjerenje temperature različito obojenih fasada pokazuju veću zagrijanost tamnog dijela fasade za sva mjerenja na svim objektima. Temperaturna razlika u zagrijavanju povećava se s povećanjem temperature zraka, a ovisi i o orijentaciji fasade na kojoj se mjerenja obavljaju. U urbanom dijelu grada, temperatura zraka mjerena među stambeno-poslovnim zgradama, s djelomično tamno obojanim fasadama, viša je u odnosu na temperaturu zraka mjerenu svega nekoliko stotina metara udaljenom području na kojem nema izgrađenih objekata. Ovim istraživanjem dolazi se do zaključka da tamne površine, s niskim albedo efektom, upijaju veću količinu energije od bijelih površina. Otpuštanjem topline povećavaju temperaturu okolnog zraka i utječu na pojavnost urbanih toplinskih otoka. U područjima s blagim zimama i vrućim ljetima, bijela fasada bolji je izbor od tamne fasade zbog većeg zagrijavanja tamne fasade ljeti, dok je razlika u zagrijavanju tamne fasade u odnosu na bijelu zanemariva u zimskom razdoblju.

Ključne riječi: *albedo efekt; globalno zatopljenje; taljenje ledenjaka; bijele kuće; urbani toplinski otoci*

UVOD

Pojačani učinak staklenika, globalno zatopljenje i klimatske promjene, teme su o kojima učimo u školi i o kojima svakodnevno možemo čuti i čitati u medijima. Razdoblje od 2011. do 2020. godine bilo je najtoplije desetljeće otkako postoje meteorološka mjerenja, a globalno zagrijavanje Zemlje trenutačno iznosi 0,2 °C po desetljeću (Europska komisija, 2021). Ljudskim djelovanjem, u atmosferi se povećava koncentracija ugljikovog(IV) oksida i ostalih stakleničkih plinova, koji zadržavaju toplinu odbijenu od površina na Zemlji i sprječavaju njen povratak u svemir te tako uzrokuju globalno zatopljenje. Ono podrazumijeva porast temperature na Zemlji, sve češću pojavu suša i šumskih požara, otapanje ledenjaka i podizanje razine mora, poplave, erozije tla i slično (Europska komisija, 2022). Izgled Zemlje brzo se mijenja uslijed globalnog zatopljenja, a jedan od najalarmantnijih procesa koji se uočava je smanjivanje površine ledenjaka. Osim što taljenje ledenjaka utječe na povišenje razine mora i smanjenje količine pitke vode, nestajanjem ledenjaka dodatno se povećava temperatura atmosfere što pridonosi globalnom zatopljenju. Razlog tome možemo naći u albedo efektu. Riječ albedo potječe od latinskog naziva *albus* što znači bijelo ili bjelina, a definira se kao udio svjetlosti reflektirane od neke površine. Kada sunčeva svjetlost dopre do površine Zemlje, dio se apsorbira, a dio reflektira. Vrijednosti albeda kreću se od 0 do 1, odnosno od 0 do 100 %. Površina s visokim albedom će reflektirati više sunčeve svjetlosti od površine s niskim albedom. Površine s visokim albedom uključuju pijesak, snijeg i led te neke urbane površine, poput betona ili svijetlog kamena, a površine s niskim albedom uključuju šume, oceane i neke urbane površine, poput asfalta (My Nasa data 1, 2021). Na slici 1 prikazana je skala vrijednosti albedo učinka.

Plavom bojom prikazano je područje koje odbija najmanju količinu sunčevog zračenja. Uglavnom su to područja mora i oceana. Zelenom bojom prikazana je postupno rastuća količina odbijene sunčeve svjetlosti dok je područje najveće količine odbijene sunčeve energije prikazano bijelom bojom. Bijela boja prisutna je na vrhovima bijelih oblaka te na ledom prekrivenim područjima vode i kopna.



Slika 1 Skala vrijednosti albedo učinka na Zemlji (izvor: www.earthobservatory.nasa.gov, 2005)

Albedo planeta Zemlje može se izračunati pomoću satelitskih mjerenja, a prema podacima NASA-e, Zemljin prosječni albedo iznosi 0,3, što znači da reflektira 30 % zračenja koje prima od Sunca. Kako je Zemlja otvoren sustav, tako se energija i tvari izmjenjuju s okolinom te albedo učinak ima značajan utjecaj na temperaturu nekog područja lokalno, ali bitno utječe i na klimu čitavog planeta (My Nasa data 1, 2021).

Pojavnost urbanih (gradskih) toplinskih otoka također je povezana s albedo efektom. Izraz urbani toplinski otoci odnosi se na područja unutar gradskog okoliša koja imaju značajno višu temperaturu u usporedbi s okolnim ruralnim područjima (Žgela, 2019). Urbani toplinski otoci rezultat su urbanizacije i koncentracije građevinskih materijala koji apsorbiraju i zadržavaju toplinu, poput betona i asfalta, odnosno zbog niskog albedo učinka koje navedeni materijali imaju (GLOBE, 2022). U urbanim područjima temperature zraka dosežu i do 6 °C višu vrijednost nego u okolnim predgrađima i ruralnim područjima (My Nasa data 2, 2021). Odabir materijala za izgradnju stambenih prostora utječe na zagrijanost atmosfere u gradovima, jer i građevinski materijal koji se koristi za izgradnju stambenih objekata također ima različiti albedo efekt. Tako primjerice, bijela cigla ima albedo vrijednost 0,4, dok je albedo narančaste cigle 0,26. Odabir materijala za izgradnju krovnih površina također utječe na zagrijanost atmosfere, tako narančasta opeka ima albedo 0,41, a smeđa opeka 0,36 (Žgela, 2020).

Budući iz literaturnih izvora saznajemo da je bijela boja, zbog visoke vrijednosti albedo učinka, važna i za temperaturu zraka, zapitali smo se koji je razlog da ljudi u području s vrućim ljetima boje fasade kuća i zgrada u bilo koju drugu boju osim bijelu. S obzirom na područje mediteranske klime koja vlada u području u kojem živimo, a koje karakteriziraju vruća i suha ljeta, postavlja se pitanje otkuda trend izgradnje objekata s tamnom fasadom. Od davnina su Dalmaciju karakterizirale bijele kamene kuće, dok se u posljednje vrijeme takve kuće gotovo i ne grade, a posebno ne u urbanim područjima. Zamijenile su ih građevine čije se fasade boje različitim bojama, a nije rijedak slučaj tamno obojenih kuća, najčešće tamno sivom, ali i smeđom bojom. Istraživačka pitanja koja su nas potakla na ovo



istraživanje su sljedeća. Utječe li boja podloge na brzinu taljenja leda? Zagrijavaju li se jednakom brzinom različite podloge poput vode, tla i snijega? Razlikuje li se površinska temperatura različito obojenih fasada kuća i zgrada koje su izložene jednakoj količini sunčevog zračenja? Kako albedo učinak utječe na pojavnost gradskih toplinskih otoka?

Cilj ovoga rada je ispitati utjecaj boje podloge na njezino zagrijavanje, s naglaskom na mjerenje razlike u zagrijavanju različito obojenih površina stambenih i poslovnih objekata te ispitati njihov utjecaj na pojavnost urbanih toplinskih otoka. Također, cilj nam je ispitati ovisnost zagrijavanja različito obojenih dijelova fasada o temperaturi zraka i o satu mjerenja.

Na temelju svega prethodno navedenoga, postavljene su sljedeće hipoteze:

1. Led će se brže taliti ukoliko se nalazi na tamno obojenoj površini u odnosu na led koji se nalazi na bijeloj površini.
2. Tamnije površine zagrijavat će se brže od svijetlih površina – što je površina tamnija, brže će se zagrijavati.
3. Fasade tamnih objekata zagrijavat će se više od bijelih fasada te će utjecati na pojavnost urbanih toplinskih otoka.

METODE

Istraživanje se provodilo na tri razine. Prvi dio istraživanja provodio se u školskom laboratoriju, tako da su urađena dva pokusa. Prvim pokusom ispitala se brzina taljenja leda ovisno o boji podloge na kojoj se led nalazi. Drugim pokusom ispitala se razlika u temperaturi zagrijavanja triju različito obojenih podloga koje su početno imale jednaku temperaturu.

Drugi dio istraživanja povodio se na terenu od početka lipnja 2023. do kraja siječnja 2024. godine. U tom dijelu istraživanja, laserskim infracrvenim termometrom mjerila se površinska temperatura različito obojenih dijelova objekata kojima smo okruženi.

Treći dio istraživanja također se provodio na terenu. Taj dio istraživanja uključivao je mjerenje temperature zraka u izgrađenom urbanom dijelu grada i u neizgrađenom dijelu kako bi se utvrdila razlika u temperaturama zraka na tim područjima, odnosno kako bi se utvrdilo postojanje urbanih toplinskih otoka.

Brzina taljenje leda

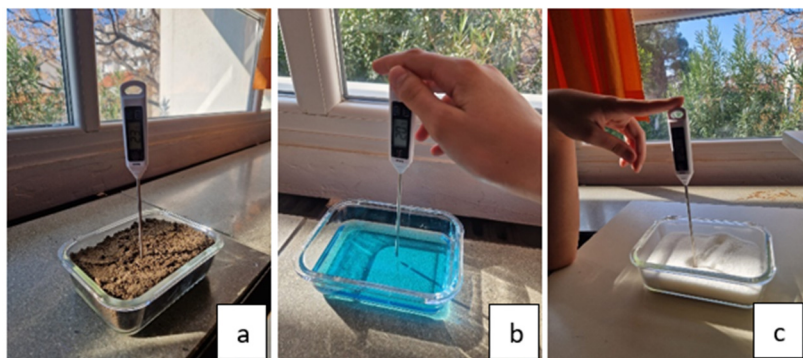
Dvije kockice leda jednakoga volumena položene na bijeli i crni papir izlože se izravnom sunčevom zračenju. Papiri s ledom postave se jedan do drugoga tako da je kut upada svjetlosti za oba uzorka tijekom provedbe pokusa jednak (slika 2). Bilježi se vrijeme koje je potrebno da se u potpunosti rastale kockice leda na tamnoj i svijetloj podlozi. Pokus se ponovi još dva puta te se rezultati za ukupno tri para uzoraka leda prikažu grafički.



Slika 2 Pokus: brzina taljenje leda na različito obojenim podlogama

Zagrijavanje različito obojenih površina

Tri jednake pravokutne posude visine 4 cm napune se do vrha različitim materijalima. U prvoj posudi to je tamno smeđe obojena zemlja za cvijeće, u drugoj voda obojena plavom prehrambenom bojom, a u trećoj šećer. Ovim pokusom simulira se brzina zagrijavanja tla u prvoj posudi, mora u drugoj posudi te snijega, odnosno leda u trećoj. Posude se ostave stajati na sobnoj temperaturi tri sata da se temperature uzoraka izjednače. Tri jednaka, prethodno baždarena ubodna termometra, na istoj dubini postave se u posude s uzorcima i provjeri se jednakost početne temperature različitih uzoraka. Termometri su postavljeni tako da vrškom dotiču dno posude u kojoj se uzorci nalaze, a iz specifikacije termometara vidljivo je da je senzor za mjerenje temperature smješten 2 cm od vrha ubodnog termometra te se temperatura uzoraka na ovaj način mjeri na 2 cm dubine. Posude se potom izlože izravnom sunčevom zračenju koje ravnomjerno zagrijava sve tri podloge (slika 3). Po izlaganju uzoraka sunčevim zrakama pokrene se štoperica te se bilježe promjene temperature svake minute tijekom 10 – minutnog zagrijavanja za svaki uzorak (My Nasa data 3, 2021). Rezultat zagrijavanja smeđe, plave i bijele podloge prikaže se grafički.



Slika 3 Pokus: brzina zagrijavanja različito obojenih podloga a) smeđe tlo, b) plava voda, c) bijeli snijeg/led

Zagrijavanje različito obojenih fasada stambenih i poslovnih objekata

Za provođenje istraživanja odabrano je pet objekata označenih brojevima od 1 do 5. Kriterij za izbor objekata bio je da objekti imaju jednak izolacijski materijal. U ovom istraživanju za sve objekte to je bila kamena vuna debljine 15 cm. Sljedeći uvjet bio je da fasada bude jednim dijelom bijela odnosno svijetla, a drugim dijelom tamno obojena i da su tako različito obojeni dijelovi fasade jednako usmjereni u prostoru odnosno jednako izloženi sunčevom zračenju. Određivalo se i prema kojoj strani svijeta je orijentiran dio fasade na kojemu se obavljalo mjerenje. Orijentacija je određena kompasom. Pokus se sastojao u tome da se mjerila temperatura zagrijavanje svijetlog i tamnog dijela fasade. Mjerenje temperature obavljalo se pomoću IR termometra, uvijek na istoj visini od podloge na kojoj se objekt

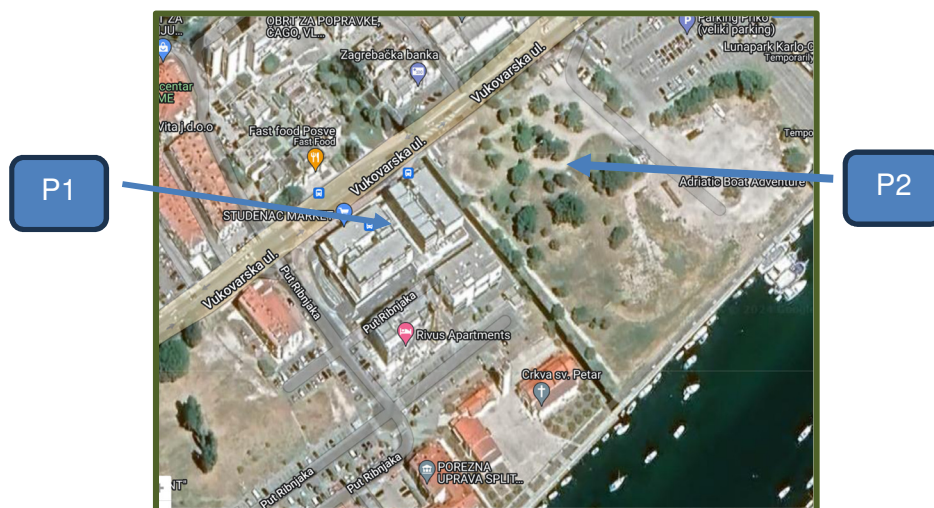
nalazi. S udaljenosti od jednoga metra, crveni laser infracrvenog (IR) termometara usmjeri se prema podlozi, pričekaju se nekoliko sekundi da se temperatura ustali te se očita vrijednost sa zaslona mjernog uređaja. Visina na kojoj se mjerila temperatura objekata je u razini ispružene ruke u kojoj se nalazio mjerni instrument prilikom mjerenja temperature fasade. Mjerenja su napravljena dva puta mjesečno tijekom osam mjeseci, odnosno za svaki objekt je napravljeno ukupno 16 mjerenja.

Jedan od pet objekata, objekt 5, odabran je za intenzivna mjerenja kako bi se utvrdilo kako se zagrijavanje površina mijenja ovisno o dobu dana, kada je temperatura zraka i upad sunčevih zraka različit. To je mjerenje koje se obavljalo jednom mjesečno. Tijekom jednoga dana mjerene su na istoj mjestnoj postaji temperature svijetle i tamne fasade pet puta, u 9, 12, 15, 18 i 21 sat.

Uz sva navedena mjerenja, alkoholnim termometrom mjerila se i temperatura zraka u bliskom okolišu mjernih postaja kako bi se povezala temperatura zraka s temperaturom zagrijavanja tamne i svijetle površine promatranih objekata. Metoda rada za ovaj dio istraživanja osmišljena je od strane učenika, autora ovoga istraživačkoga projekta.

Urbani toplinski otoci

Odabrana su dva područja istraživanja koja su udaljena jedan od drugoga manje od pola kilometra i nalaze se na istoj nadmorskoj visini (slika 4). Prvo područje (P1) je urbani, naseljeni dio grada u kojem se nalaze objekti s tamnim fasadama dok je drugo područje neizgrađeno i smješteno je rubno od naseljenog dijela. Drugo stanište (P2) karakterizira nisko raslinje i kamenjar. Na oba područja se digitalnim termometrom mjerila temperatura zraka na visini od 1 m od površine tla te su se dobivene vrijednosti usporedile i prikazale grafički. Mjerenja su obavljena svaka dva tjedna od početka lipnja 2023. do kraja svibnja 2024. godine. Ukupan broj mjerenja bio je 17.

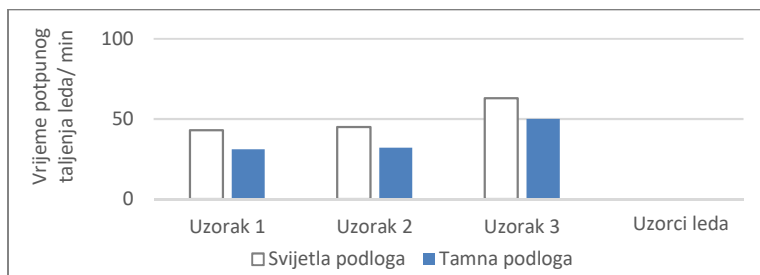


Slika 4 Postaje (P1 i P2) na kojima se mjerila i uspoređivala temperatura zraka

REZULTATI

Brzina taljenja leda

Na slici 5 grafički su prikazani rezultati usporednog taljenja tri para uzoraka kockica leda jednakoga volumena na različito obojenim podlogama. Plavo obojeni stupci prikazuju vrijeme koje je bilo potrebno za taljenje kockice leda na crnoj podlozi, a žuto obojeni stupci prikazuju vrijeme potpunog taljenja kockica leda na bijeloj podlozi.

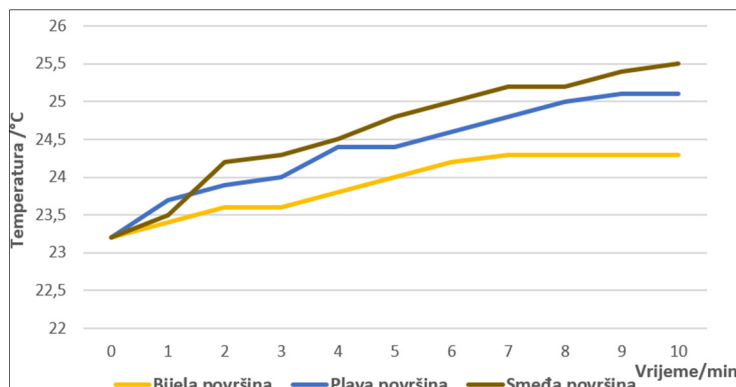


Slika 5 Vrijeme potrebno za taljenje kockica leda u ovisnosti o boji podloge na kojoj se nalaze

Iz grafikona je vidljivo da je, za sva tri para uzoraka, vrijeme potrebno za potpuno taljenje leda bilo kraće ukoliko se kockica leda nalazila na tamnoj podlozi. Tako se u prvom uzorku kockica leda na crnoj podlozi u potpunosti rastalila za 31 minutu, a kockica na bijeloj podlozi za 43 minute. U uzorku 2, kockica na tamnoj podlozi rastalila se za 32, a na bijeloj za 45 minuta. U trećem uzorku, vrijeme potrebno za taljenje leda na tamnoj podlozi bilo je 50 min, dok je kockici leda na bijeloj podlozi za potpuno taljenje bilo potrebno malo više od jednoga sata, točnije 63 minute.

Zagrijavanje različito obojenih površina

Na slici 6 grafički je prikazan porast temperature bijele, plave i smeđe površine koje u pokusu imaju ulogu usporediti zagrijavanje leda odnosno snijega, mora i tla. Dobiveni rezultati odnose se na temperature mjerene na 2 cm dubine od površine tijekom izravne izloženosti sunčevom zračenju u trajanju od 10 minuta.



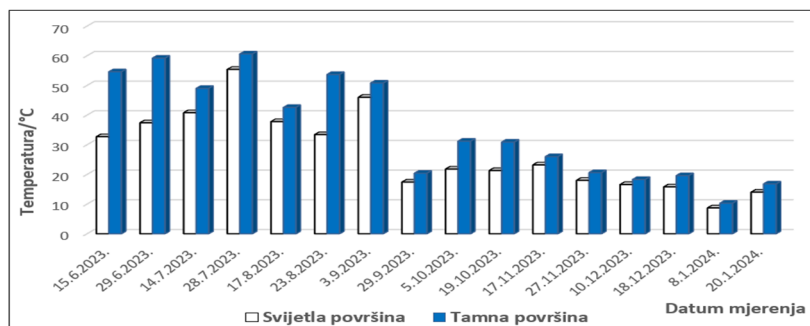
Slika 6 Zagrijavanje različito obojenih podloga na 2 cm dubine tijekom 10 - minutnog izlaganja sunčevom zračenju

Od jednake početne temperature od 23,2 °C, tijekom izloženosti sunčevom zračenju, u svim uzorcima dolazi do porasta temperature. Najveći porast temperature zabilježen je u smeđe obojenom uzorku tla, temperatura je porasla za 2,2 °C. U vodi obojenoj modrom bojom temperatura je tijekom desetominutnog zagrijavanja porasla za 1,9 °C dok je u bijelom uzorku temperaturni porast bio 1,1 °C.

Zagrijavanje različito obojenih fasada stambenih i poslovnih objekata

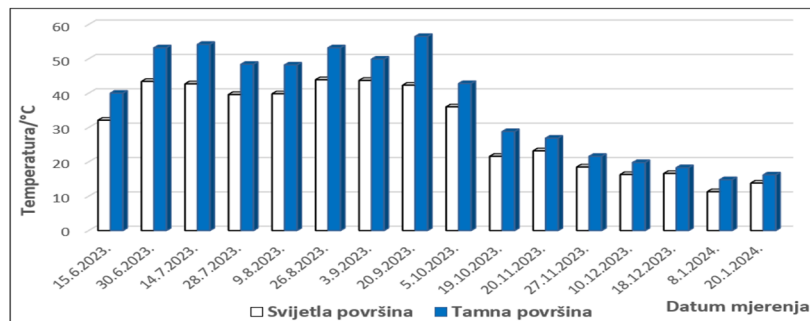
Na slikama od 7 do 11 prikazane su vrijednosti izmjerenih temperatura bijelog i tamnog dijela fasade za pet objekata na kojima su se obavljala mjerenja. Za svaki objekt prikazani su rezultati 16 mjerenja koja su napravljena od lipnja 2023. do siječnja 2024. godine. Na svakoj slici (slike 7, 8, 9, 10 i 11) rezultati su usporedni, bijeli stupci grafikona prikazuju temperaturu bijelog dijela fasade dok plavi stupci prikazuju temperature tamnog dijela fasade pojedinoga objekta.

Slika 7 prikazuje podatke za objekt 1 na kojemu je mjerena temperatura na pročelju kuće koje je okrenuto prema jugoistoku, kuća je smještena uz vrlo prometnu cestu i većim dijelom dana izložena je izravnom sunčevom zračenju. Na grafikonu na slici 7 može se uočiti da se tamna fasada više zagrijava kod svih mjerenja, ali ta razlika u temperaturi nije uvijek jednaka. Primjerice u ljetnim mjesecima temperature zraka i mjerenih dijelova fasade su više, a veća je i razlika u zagrijanosti tamne površine u odnosu na svijetlu. Razlike u temperaturi manje su tijekom jeseni i zime kada su i temperature zraka dosta niže (prilog 1).



Slika 7 Odnos temperatura svijetle i tamne površine objekta 1 mjerenih od lipnja 2023. do siječnja 2024.

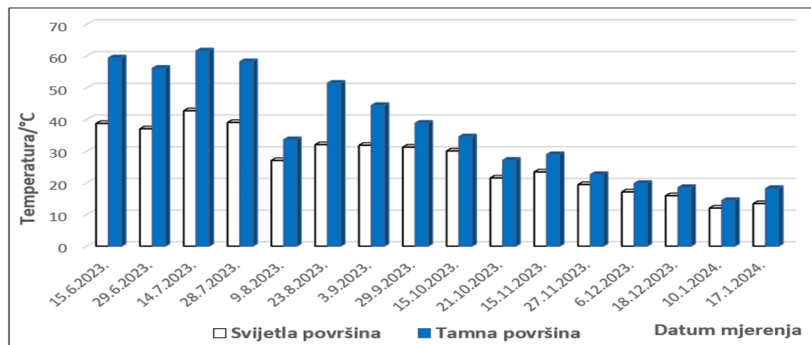
Na slici 8 prikazan je odnos zagrijavanja tamnog i bijelog dijela fasade objekta 2. Temperatura je mjerena na dijelu fasade koji je orijentiran prema jugoistoku. Objekt je okružen drugim stambenim objektima koji u pojedinom dijelu dana rade sjenu i sprječavaju direktnu izloženost objekta sunčevom zračenju.



Slika 8 Odnos temperatura svijetle i tamne površine objekta 2 mjerenih od lipnja 2023. do siječnja 2024.

Vrijednosti izmjerenih temperatura različito obojenih dijelova fasade objekta 2 također pokazuju da je temperatura tamnog dijela fasade viša od temperature bijele fasade kod svih 16 mjerenja (slika 8), a također ovisno o temperaturi zraka mijenja se razlika u zagrijanosti različito obojenih površina, što je temperatura zraka viša uglavnom je veća i razlika u temperaturi tamne i svijetle podloge (prilog 2).

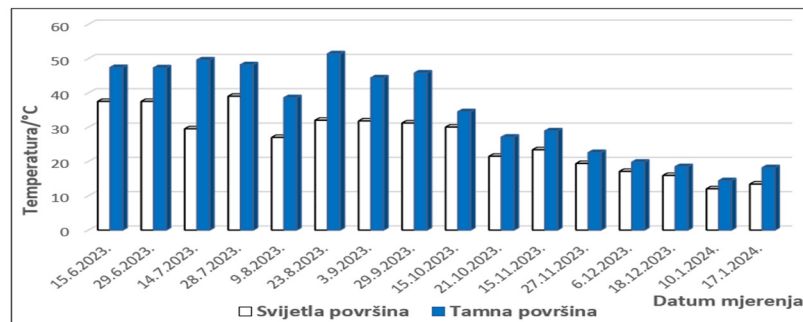
Objekt 3 je poslovno - stambena zgrada, nezaklonjena i izložena izravnom sunčevom zračenju. Temperatura je mjerena na istočnoj strani objekta. Slika 9 prikazuje rezultate mjerenja na objektu 3.



Slika 9 Odnos temperatura bijele i tamne površine objekta 3 mjerenih od lipnja 2023. do siječnja 2024.

Rezultati, kao i kod prethodnih mjerenja pokazuju da je kod svih mjerenja zabilježena viša temperatura tamno obojenog dijela fasade (slika 9) i da se razlika u temperaturi povećava s povećanjem temperature zraka (prilog 3).

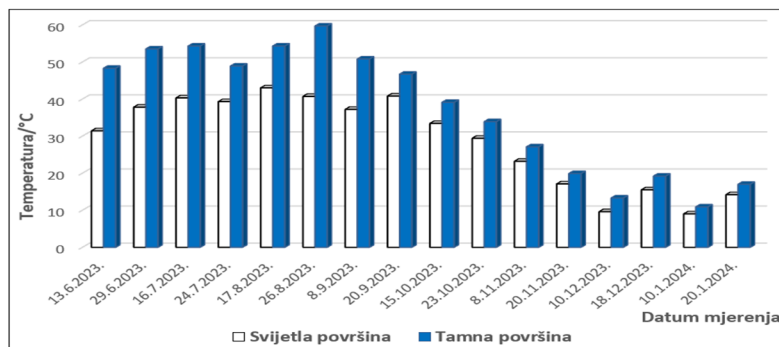
Objekt 4 nalazi se u blizini objekta 3, a zajedno se nalaze u novoizgrađenom poslovno-stambenom kompleksu. Objekt je također izložen izravnom zagrijavanju Sunca, a fasada zgrade na kojoj su obavljena mjerenja orijentirana je u smjeru sjeverozapada. Rezultati mjerenja prikazani su grafičkim prikazom na slici 10.



Slika 10 Odnos temperatura bijele i tamne površine objekta 4 mjerenih od lipnja 2023. do siječnja 2024.

Rezultati pokazuju višu temperaturu tamnog dijela fasade u odnosu na svijetlu za svih 16 mjerenja napravljenih tijekom osam mjeseci (slika 10), a razlika u temperaturi tamnog i bijelog dijela fasade veća je kod viših temperatura zraka (prilog 4).

Rezultati prikazani grafikonom na slici 11 prikazuju izmjerene temperaturne vrijednosti tamnog i svijetlog dijela fasade objekta 5. Fasada na kojoj su obavljena mjerenja okrenuta je u smjeru sjeverozapada, objekt je u blizini drugih stambenih objekata, ali dovoljno udaljen da nije u sjeni susjednih objekata, ali je zid na kojem se mjerila temperatura veći dio dana zasjenjen od samog objekta kojemu zid pripada.

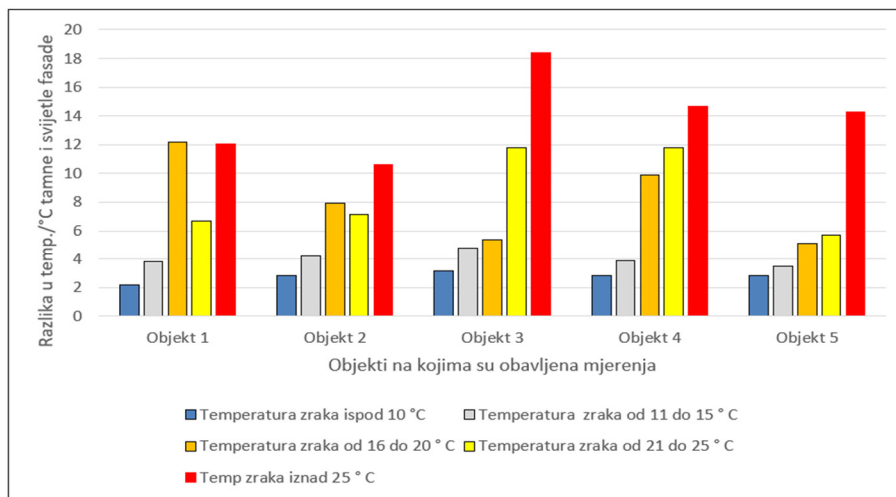


Slika 11 Odnos temperatura bijele i tamne površine objekta 5 mjerenih od lipnja 2023. do siječnja 2024.

Izmjerene temperature su kao i u prethodnim mjerenjima uvijek više na tamnom dijelu fasade (slika 11) i razlika temperature između tamne i svijetle fasade veće je tijekom razdoblja viših temperatura zraka (prilog 5).

Ovisnost zagrijavanja različito obojenih dijelova fasada o temperaturi zraka

Na slici 12 prikazana je usporedba razlike temperature tamnog i bijelog dijela fasade u ovisnosti o temperaturi zraka. Rezultati su prikazani na način da su izmjerene temperature zraka podijeljene u pet skupina: temperatura zraka manja od 10 °C, između 11 i 15 °C, između 16 i 20 °C, između 21 i 25 °C i iznad 25 °C. Izračunata je aritmetička sredina razlika u temperaturi tamnog i bijelog dijela fasade svih mjerenja za svaku skupinu raspona temperature zraka te su rezultati prikazani grafički za svaki od pet promatranih objekata.



Slika 12 Odnos temperature zraka i razlike u temperaturi tamnog i svijetlog dijela fasade

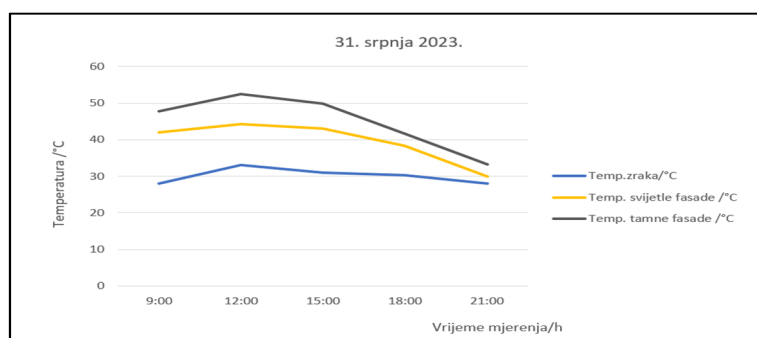
Na slici 12 može se uočiti da je srednja vrijednost razlike u zagrijavanju tamnog i svijetlog dijela promatranih objekata bila najveća kada je temperatura zraka bila najviša. Razlika u povećanju temperature povećava se s povećanjem temperature zraka za objekte 3, 4, 5 dok se na objektima 1 i 2 može uočiti nepravilnost u povećanju temperature za raspone temperature zraka od 16 do 20 °C i 21 do 25 °C. Kako bi se objasnila ova pojava napravljena je analiza dobivenih vrijednosti povećanja temperatura tamnog i svijetlog dijela fasade u ovisnosti o dobu dana, odnosno satu kada se pristupilo mjerenju (prilog 6). Analiza je napravljena za vremensko razdoblje od lipnja do listopada 2023., budući su razlike u zagrijavanju tamne i svijetle fasade znatno manje od studenoga kada su i temperature zraka

znatno niže. Analiza pokazuje da je razlika u temperaturi tamne i svijetle podloge na svim mjernim postajama najmanja u jutarnjim satima. Mjerenja na području objekata 1 i 2 koji su orijentirani jugoistočno, temperaturna razlika povećava se do 15 sati, a nakon 15 sati se smanjuje. Na objektu 3, na kojem su mjerena obavljena na fasadi koja je okrenuta prema istoku, temperaturna razlika smanjuje se već nakon 12 sati. Objekt 4, kojemu je fasada na kojoj se obavljaju mjerenja orijentirana sjeverozapadno imaju povećanje razlike temperature sve do 19 sati, dok na jednako orijentiranom objektu 5 već iza 15 sati dolazi do smanjenja razlike u temperaturi.

Ovisnost zagrijavanja različito obojenih dijelova fasada o satu mjerenja tijekom jednoga dana

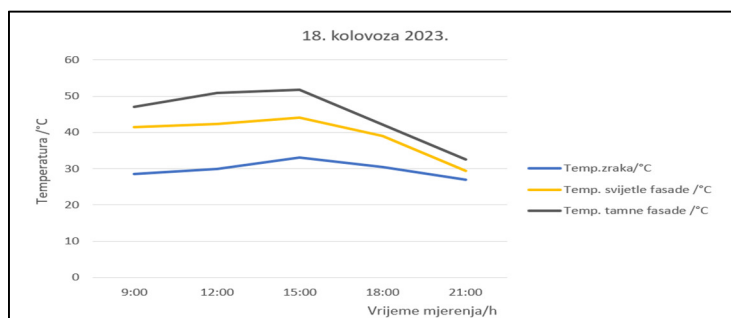
Na slikama od 13 do 19 grafički su prikazani odnosi temperatura zraka te temperatura tamnog i bijelog dijela fasade mjerenih u različitim dijelovima dana. Mjerenja su obavljena na objektu 5, jednom mjesečno i to pet puta tijekom jednoga dana: u 9, 12, 15, 18 i 21 sat.

Intenzivna mjerenja u srpnju 2023. (slika 13), pokazuju da su razlike u temperaturi najniže u kasnim popodnevnim i večernjim satima, a najviša razlika u temperaturi mjerena je u 12 sati i iznosila je 8,2 °C. Razlika u temperaturi u 15 sati iznosila je 6,7 °C. Temperature zraka tijekom mjerenja bile su visoke i kretale su se od 28 °C do 33 °C. Razlika u zagrijavanju bila je najveća kada je i temperatura zraka bila najviša. Razlika u najvećem i najmanjem zagrijavanju tijekom dnevnog mjerenja tamne i bijele fasade iznosila je 5°C.



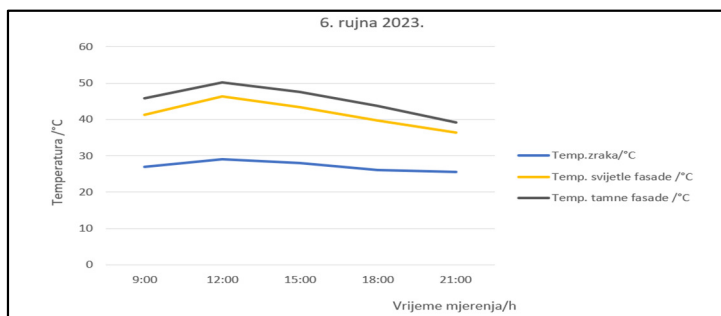
Slika 13 Odnos temperatura zraka i različito obojenih dijelova fasade u ovisnosti o satu mjerenja tijekom 31. srpnja 2023.

Na slici 14 prikazani su podaci intenzivnih mjerenja iz kolovoza 2023. Ovoga puta ne poklapa se najveća razlika u zagrijavanju tamne i bijele podloge s najvišom temperaturom zraka. Najviša temperatura izmjerena je u 15 sati, a najveća razlika u 12 sati. Razlika izmjerenih temperatura tamne i svijetle podloge u 12 sati iznosila je 8,6 °C, a potom u 15 sati kada je razlika bila 7,7 °C. Najniže razlike bilježe se u kasnim popodnevnim i večernjim satima. Razlika najvećeg i najmanjeg zagrijavanja različito obojenih fasada iznosila je 5,5 °C.



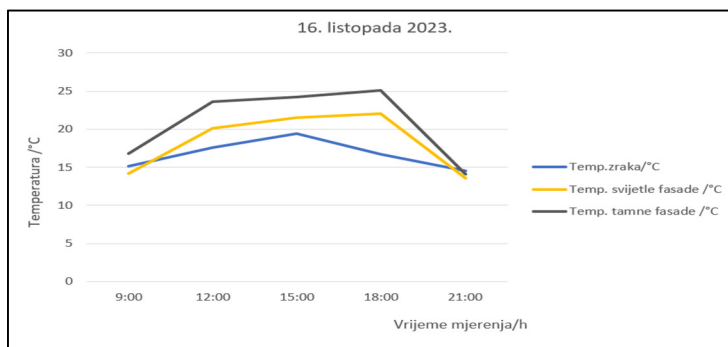
Slika 14 Odnos temperatura zraka i različito obojenih dijelova fasade u ovisnosti o satu mjerenja tijekom 18. kolovoza 2023.

Slika 15 prikazuje podatke intenzivnih mjerenja obavljenih u rujnu 2023. U rujnu, temperature zraka postaju nešto niže, a mjerenja pokazuju manju razliku između temperature tamnog i svijetlog dijela fasade (slika 15). Najmanja razlika među temperaturama tamne i svijetle površine izmjerena je u 21 sat, a najviša ujutro u 9 sati, kada temperatura zraka nije bila najviša. Razlika između najvećeg i najmanjeg zagrijavanja iznosi 1,9 °C.



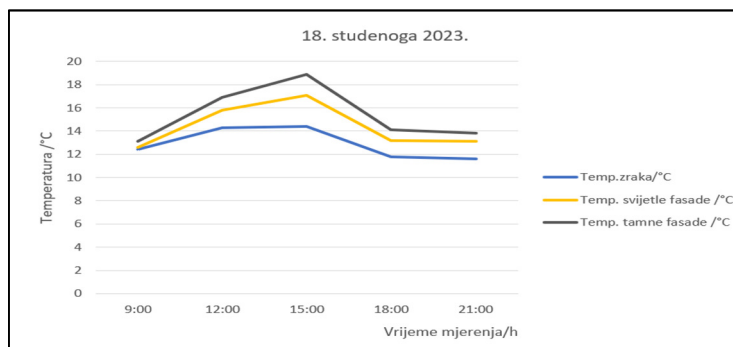
Slika 15 Odnos temperatura zraka i različito obojenih dijelova fasade u ovisnosti o satu mjerenja tijekom 6. rujna 2023.

Na slici 16 grafički su prikazani podaci intenzivnih mjerenja za listopad 2023. Temperature zraka su daleko niže u odnosu na prethodne mjesec i razlika izmjerenih temperatura tamne i svijetle površine je manja. Najviša razlika, od 3,5 °C izmjerena je u 12 sati, iako je najviša temperatura zraka bila u 15 sati. Najmanja razlika u zagrijavanju različito obojenih podloga bila je u 21 sat i iznosila je svega 0,5 °C. Razlika u najvećem i najmanjem zagrijavanju bile je 3 °C.



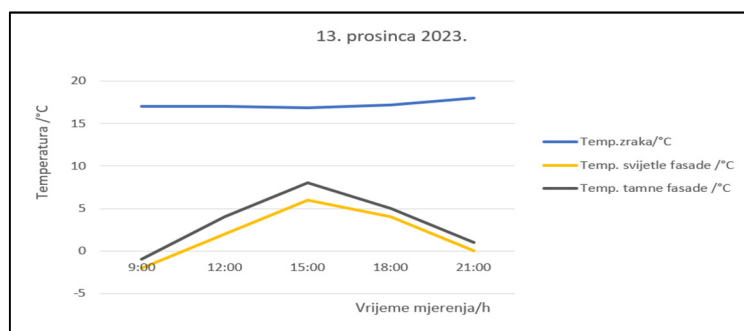
Slika 16 Odnos temperatura zraka i različito obojenih dijelova fasade u ovisnosti o satu mjerenja tijekom 16. listopada 2023.

Rezultati mjerenja u studenom 2023. grafički su prikazani su na slici 17. Razlike u temperaturama različito obojenih površina promatranih objekata u studenom su male, od 0,5 °C za mjerenje u 9 sati kada je temperaturna razlika bila najniža, do najviše razlike u 15 sati koja je iznosila 1,8 °C. Razlika u mjerenjima iznosila je 1,3 °C.



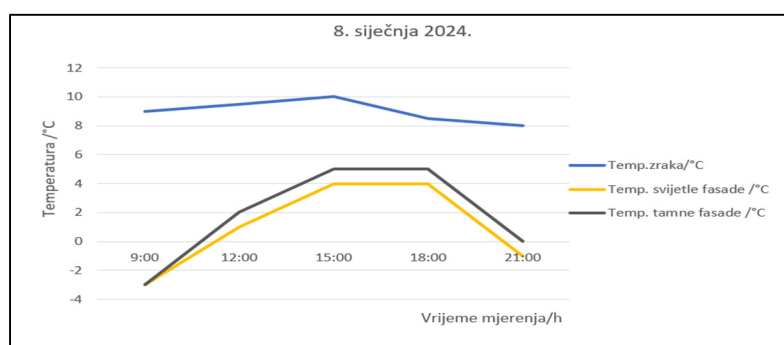
Slika 17 Odnos temperatura zraka i različito obojenih dijelova fasade u ovisnosti o satu mjerenja tijekom 18. studenoga 2023.

Slika 18 prikazuje vrijednosti izmjerenih temperatura u prosincu 2023. U prosincu se vrijednosti razlike temperature kreću između 1 °C i 2 °C.



Slika 18 Odnos temperatura zraka i različito obojenih dijelova fasade u ovisnosti o satu mjerenja tijekom 13. prosinca 2023.

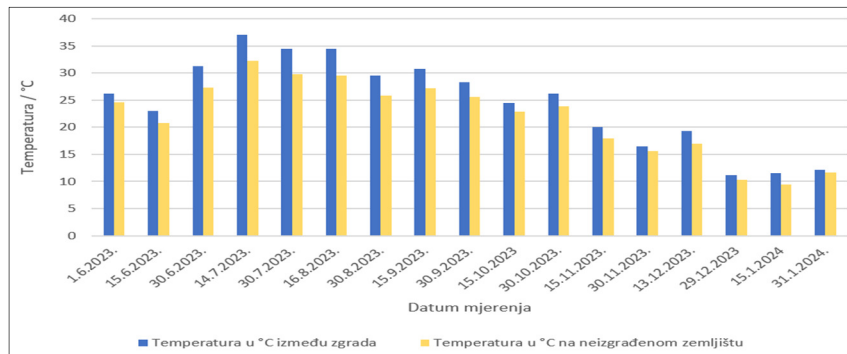
Rezultati mjerenja u siječnju 2024. grafički su prikazani su na slici 19. U siječnju su također zabilježene razlike u zagrijavanju u okviru 1°C razlike. Razlike u temperaturi različito obojenih dijelova fasade ili nije bilo ili je bila razlika od 1 °C.



Slika 19 Odnos temperatura zraka i različito obojenih dijelova fasade u ovisnosti o satu mjerenja tijekom 8. siječnja 2024.

Urbani toplinski otoci

Slika 20 prikazuje razlike u temperaturama zraka koje su mjerenje u izgrađenom i neizgrađenom području našega grada.



Slika 20 Odnos temperatura zraka u izgrađenom i neizgrađenom dijelu grada

Krivulje pokazuju za sva mjerenja višu temperaturu zraka u stambenom dijelu, te razlike su maksimalne u ljetnim mjesecima i iznose do 5 °C, dok je najmanja razlika bila krajem studenoga i iznosila je 0,6 °C.

RASPRAVA

Pretpostavka da će se led u potpunosti rastaliti brže ukoliko se nalazi na tamnoj podlozi potvrdila se ovim istraživanjem. Povezujući tu činjenicu s literaturnim nalazima, može se povezati utjecaj tamnih površina na brže taljenje leda u prirodi i to zbog niskog albedo efekta tamnih površina. Učinak niskog albeda znači da površina upija sunčevu toplinu i takva pojava doprinosi zagrijavanju planeta. Bijela, snijegom i ledom prekrivena područja kao što su Arktik i Antarktik imaju jako visok albedo učinak i važni su za hlađenje Zemlje. Najveći učinak je zimi jer svježi snijeg odbija 90 % sunčevog zračenja. Ostale važne površine s visokim albedom su oblaci i pustinje. Druga pak područja imaju vrlo nizak albedo efekt, primjerice tamni i otvoreni oceani. Površina oceana ima prosječni albedo efekt 0,08, što bi značilo da vraća u svemir svega 8 % primljenog zračenja. Drugim riječima, oceani apsorbiraju veliku količinu sunčevog zračenja i dodatno zagrijavaju Zemlju. Dakle, oceani se povećavaju zbog taljenja leda, a zbog svog albeda dodatno doprinose još bržem procesu taljenja novih količina leda (www.climatehero.me, 2021).

Rezultati zagrijavanja različito obojenih površina poput tamno smeđe zemlje, plavo obojene vode i bijeloga šećera mogu se povezati sa zagrijavanjem tla, mora i ledenjaka u prirodi. U kratko vremenu zagrijavanja dogodila se razlika u zagrijavanju od nekoliko stupnjeva, najviše se zagrijalo tlo, potom voda, a zbog visokog albeda bijela površina, najmanje se zagrijala. Kao u slučaju pokusa, i literaturni nalazi potvrđuju da je za isti volumen tla potrebno dovesti daleko manje topline u odnosu na količinu energije koje je potrebna za zagrijavanje voda (Šegota i Filipčić, 1996). Razlog tomu navodi se veliki toplinski kapacitet vode te kod donošenja zaključaka o zagrijavanju različitih površina treba uključiti i druge moguće čimbenike, a ne isključivo albedo učinak.

Rezultati mjerenja zagrijanosti tamnog i svijetlog dijela fasada na svih pet objekata pokazuju da je tamni dio fasade uvijek imao višu temperaturu od svijetloga dijela. Taj podatak u skladu je s pretpostavkom postavljenom na početku istraživanja. U nedostatku sličnih istraživanja o zagrijavanju različito obojenih dijelova fasada, usporedit ćemo rezultate ovoga rada s rezultatima usporedne analize zagrijavanja bijelog i crvenog krova na kućama u Novom Zelandu. Prema Tayloru (2016), razlika u zagrijavanju različito obojenih krovova ima mali utjecaj na temperaturu tijekom niskih temperatura, dok tijekom toplijih dijelova dana može doći i do temperaturne razlike od 10 °C veće zagrijanosti tamnijeg krova. Tako podaci navedenog istraživanja pokazuju da bijeli krovovi pomažu smanjiti



unutarnju temperaturu tijekom toplijih razdoblja, a ne utječu na unutarnju temperaturu tijekom hladnijih razdoblja. Kod istraživanja zagrijavanja fasade došlo se do sličnih rezultata jer su razlike u temperaturi različito obojenih dijelova fasada bile jako velike tijekom ljetnog razdoblja kada je temperatura zraka bila jako visoka, a padom temperature zraka tijekom jeseni i zime razlika u zagrijavanju fasada jako se smanjila, a u pojedinim mjerenjima je bila i jednaka.

Osim temperature zraka, koja utječe na razliku u zagrijavanju tamnih i svijetlih dijelova fasade, ovim istraživanjem uočilo se da orijentacija kuća u prostoru i doba dana kada se mjerenja obavljaju predstavljaju vrlo važne čimbenike koji utječu na zagrijavanje fasada. Također, važan utjecaj ima i položaj mjernih postaja u odnosu na prometnice i druge objekte koji ih okružuju. Tako objekti 1 i 2 imaju istu orijentaciju fasada na kojima su se mjerenja obavljala, a razlike u temperaturi bile su veće na objektu 1, jer je veći dio dana sunčevo zračenje na mjerenu podlogu bilo izravno, a u blizini je prometnica s gustim prometom, dok je objekt 2 dijelom dana zaklonjen sjenom susjednih zgrada, sunčevo zračenje nije izravno te je temperaturna razlika tamnog i svijetlog dijela fasade manja. Također, razlika u zagrijavanju tamne i svijetle fasade objekata 4 i 5 u popodnevnim satima, koje imaju fasade orijentirane u smjeru sjeverozapada, može se objasniti pojavom sjene koja se stvara na objektu 5.

Vrućine kojima smo izloženi tijekom ljeta, a nerijetko i na prijelazu iz proljeća u ljeto, najintenzivnije se osjećaju u središtima velikih gradova, gdje su temperature zraka i po nekoliko stupnjeva više nego drugdje. Mnogi znanstvenici diljem svijeta već desetljećima upozoravaju na negativne posljedice koje porast površinske temperature Zemlje ima na ljude te na biljni i životinjski svijet. To je već vidljivo u gradovima gdje porast globalne temperature znatno mijenja lokalna klimatska obilježja i dovodi do stvaranja takozvanih urbanih toplinskih otoka (Bogdan, 2019). Rezultati ovoga rada također su u suglasju s navodima Bogdana (2019). Tijekom ljetnih mjeseci temperatura zraka među zgradama s dijelom prisutnim tamnim fasadama povećava se preko 5 °C u odnosu na obližnje neizgrađeno područje. U zimskom razdoblju s niskim temperaturama zraka ta vrijednost je manja, ali i dalje postoji.

Ovim našim istraživanjima smo potvrdili sve naše pretpostavke. Dakle, bijela boja, bilo snijega, leda ili u bijelo obojenih objekata, važna je za odbijanje sunčeve energije sa Zemlje čime se sprječava povećanje temperature na Zemlji. Stoga bojimo kuće u bijelo jer "bila boja je boja". Boja za Zemlju i za bolju budućnost.

ZAKLJUČCI

Na temelju rezultata provedenog istraživanja doneseni su sljedeći zaključci:

- ☞ Kockica leda jednakog volumena brže će se rastaliti ukoliko se nalazi na tamno obojenoj površini u odnosu na kockicu leda koja se nalazi na svijetlo obojenoj površini. Ukoliko se rezultat poveže s taljenjem ledenjaka u prirodi zaključuje se da se ledenjaci brže tale ukoliko su okruženi tamnim područjima kao što su oceani.
- ☞ Tamnije površine brže se zagrijavaju od svijetlih površina. Prema rezultatima pokusa može se zaključiti da se najbrže zagrijava tlo, potom voda, a najsporije se zagrijavaju bijele površine.



- Tamni dijelovi fasada kuća više će se zagrijavati od bijelih dijelova tijekom cijele godine, ali će razlika u zagrijavanju biti veća što je temperatura zraka viša. Temperaturne razlike u zagrijavanju različito obojenih površina veće su tijekom ljeta kada su temperature zraka najviše, a najmanje tijekom zime kada su temperature zraka najniže.
- Temperatura zraka viša je među stambenim zgradama s prisutnim tamnim fasadama u odnosu na obližnje neizgrađeno područje te na taj način možemo utvrditi postojanje urbanog toplinskog otoka u našem gradu. Razlika u zagrijavanju izgrađenog i neizgrađenog područja veća je što je temperatura zraka viša.

LITERATURA

- Bogdan A. 2019. Učinak urbanog toplinskog otoka. Građevinar 9: 802- 806, <http://www.casopis-gradjevinar.hr/assets/Uploads/JCE-71-2019-9-7-ZO.pdf>, pristupljeno 20.2.2024.
- Climate Hero 2021. Albedo Effect, <https://climatehero.me/albedo-effect/>, pristupljeno 23.1.2024.
- Europska komisija 2021. Uzroci klimatskih promjena, https://climate.ec.europa.eu/climate-change/causes-climate-change_hr, pristupljeno 20. 2. 2024.
- Europska komisija 2022. Posljedice klimatskih promjena, https://climate.ec.europa.eu/climate-change/consequences-climate-change_hr#regionalne-prijetnje, pristupljeno 23.1.2024.
- GLOBE 2022. Urban Heat Island Effect Surface Temperature Intensive Observation Period, <https://www.globe.gov/web/surface-temperature-field-campaign>, pristupljeno 15.12.2023.
- My Nasa data 1, Albedo values, <https://mynasadata.larc.nasa.gov/basic-page/albedo-values>, pristupljeno 12.1.2024.
- My Nasa data 2, Urban Heat Islands, <https://mynasadata.larc.nasa.gov/basic-page/urban-heat-islands>, pristupljeno 18.12.2023.
- My Nasa data 3, Changing Albedo Lab, <https://mynasadata.larc.nasa.gov/lesson-plans/changing-albedo-lab>, pristupljeno 15.12.2023.
- NASA earth observatory 2005. Earth's Albedo in Decline, <https://earthobservatory.nasa.gov/images/5484/earths-albedo-in-decline>, pristupljeno 12.1.2024.
- Šegota T., Filipčić A. 1996. Klimatologija za geografe. Školska knjiga, Zagreb.
- Taylor A.P.R. 2016. A comparative analysis of a white-roof installation during a New Zealand autumn and winter. International Journal of Sustainable Building Tehnology and Urban Development 7: 52-60, <https://www.tandfonline.com/doi/abs/10.1080/2093761X.2016.1167644>, pristupljeno 22.2.2024.
- Žgela M. 2019. Urbana klimatologija – primjer toplinskog otoka grada Zagreba, <https://hrcak.srce.hr/file/321962>, pristupljeno 1.12.2023.
- Žgela M. 2020. Utjecaj promjena podloge na toplinska obilježja grada Zagreba na temelju analize Landsat podataka - diplomski rad, <https://repozitorij.pmf.unizg.hr/islandora/object/pmf%3A9203/datastream/PDF/view>, pristupljeno 10.12.2023.

PRILOZI

Prilog 1 Podaci za objekt 1

Datum mjerenja	Sat mjerenja	Temperatura zraka /°C	Razlika u temperaturi tamne i svijetle fasade u °C
15.6.2023.	11:50	20	21,9
29.6.2023.	10:45	26	21,8
14.7.2023.	9:30	28,5	8,2
28.7.2023.	9:40	26	5,2
17.8.2023.	8:00	25	4,8
23.8.2023.	14:15	34	20,3
3.9.2023.	8:30	22	4,8
29.9.2023.	7:30	20	3
5.10.2023.	18:40	23	9,4
19.10.2023.	13:45	22	9,6
17.11.2023.	10:30	18	2,8
27.11.2023.	13:30	5	2,6
10.12.2023.	7:30	7	1,7
18.12.2023.	11:30	14,5	3,8
8.1.2024.	9:30	9	1,6
20.1.2024.	13:30	7	2,8



Prilog 2 Podaci za objekt 2

Datum mjerenja	Sat mjerenja	Temperatura zraka /°C	Razlika u temperaturi tamne i svijetle fasade u °C
15.6.2023.	10:30	20	7,9
30.6.2023.	10:30	26,5	9,8
14.7.2023.	11:00	31	11,5
28.7.2023.	10:00	26	8,8
9.8.2023.	10:00	25	8,4
26.8.2023.	11:00	30	9,3
3.9.2023.	9:30	25	6,2
20.9.2023.	15:15	27,5	14,2
5.10.2023.	10:00	22	6,8
19.10.2023.	14:45	21	7,2
20.11.2023.	10:30	14,5	4,2
27.11.2023.	13:30	6	3,1
10.12.2023.	7:30	7	3,5
18.12.2023.	7:30	5,5	1,7
8.1.2024.	9:30	9	3,5
20.1.2024.	14:00	7	2,4

Prilog 3 Podaci za objekt 3

Datum mjerenja	Sat mjerenja	Temperatura zraka /°C	Razlika u temperaturi tamne i svijetle fasade u °C
15.6.2023.	11:00	20,5	20,9
29.6.2023.	9:45	25,5	19,1
14.7.2023.	12:00	32	22,4
28.7.2023.	9:45	25	19,2
9.8.2023.	7:30	22	6,6
23.8.2023.	14:00	34	19,4
3.9.2023.	12:00	28	12,6
29.9.2023.	9:30	24	7,6
15.10.2023.	16:00	24,5	4,5
21.10.2023.	12:00	20	5,6
15.11.2023.	11:30	18	5,1
27.11.2023.	9:00	6	3,2
6.12.2023.	8:30	8	2,7
18.12.2023.	9:00	7	2,6
10.1.2024.	9:30	6	2,4
17.1.2024.	11:00	15	4,8

Prilog 4 Podaci za objekt 4

Datum mjerenja	Sat mjerenja	Temperatura zraka /°C	Razlika u temperaturi tamne i svijetle fasade u °C
15.6.2023.	10:45	20	9,9
29.6.2023.	11:00	26,5	9,8
14.7.2023.	18:00	33	21,1
28.7.2023.	9:50	25	9,2
9.8.2023.	11:40	26,5	11,6
23.8.2023.	15:30	35,5	19,4
3.9.2023.	14:00	28,5	12,6
29.9.2023.	16:00	26,5	13,6
15.10.2023.	17:30	24	20,5
21.10.2023.	8:00	23	5,6
15.11.2023.	8:00	12	5,5
27.11.2023.	9:30	6,5	3,2
6.12.2023.	10:30	11	2,7
18.12.2023.	14:00	15	2,6
10.1.2024.	10:30	8	2,4
17.1.2024.	9:40	14,9	4,8

Prilog 5 Podaci za objekt 5

Datum mjerenja	Sat mjerenja	Temperatura zraka /°C	Razlika u temperaturi tamne i svijetle fasade u °C
13.6.2023.	10:00	26	16,9
29.6.2023.	11:30	27,5	15,7
16.7.2023.	10:30	30	14
24.7.2023.	9:00	29	9,6
17.8.2023.	10:00	29	11,3
26.8.2023.	15:00	33	19



8.9.2023.	17:00	30,5	13,6
20.9.2023.	9:30	23	5,9
15.10.2023.	10:00	19	5,7
23.10.2023.	9:00	19	4,5
8.11.2023.	9:00	13,5	3,9
20.11.2023.	9:00	12	2,8
10.12.2023.	13:30	10	3,7
18.12.2023.	15:00	15	4
10.1.2024.	7:00	5	1,9
20.1.2024.	9:30	5,5	2,8

Prilog 6 Prikaz srednjih vrijednosti temperaturnih razlika u zagrijavanju tamnog i svijetlog dijela fasade u ovisnosti o satu obavljenih mjerenja

Objekt mjerenja/orijentiranost	Vrijeme mjerenja	Srednja vrijednost razlika u temperaturi /°C tamnog i svijetlog dijela fasade
Objekt 1/ jugoistok	do 9:00 sati	4,2
	09:00 – 12:00 sati	14,3
	12:00 – 15:00 sati	15
	15:00 – 19:00 sati	9,4
Objekt 2/ jugoistok	do 9:00 sati	nema mjerenja
	09:00 – 12:00 sati	8,5
	12:00 – 15:00 sati	10,7
	15:00 – 19:00 sati	nema mjerenja
Objekt 3/ istok	do 9:00 sati	6,6
	09:00 – 12:00 sati	16,7
	12:00 – 15:00 sati	15
	15:00 – 19:00 sati	4,5
Objekt 4/ sjeverozapad	do 9:00 sati	5,6
	09:00 – 12:00 sati	10,1
	12:00 – 15:00 sati	12,6
	15:00 – 19:00 sati	18,6
Objekt 5/sjeverozapad	do 9:00 sati	7
	09:00 – 12:00 sati	11,5
	12:00 – 15:00 sati	19
	15:00 – 19:00 sati	13,6

VRIJEME REAKCIJE – KOLIKO BRZO ŽIVČANI SUSTAV ŠALJE INFORMACIJE KROZ LJUDSKO TIJELO

Patricija Kučič, 7. razred
Maja Meštrović, 7. razred

Osnovna škola Stjepana Radića Brestovec Orehovički, Brestovec Orehovički

Mentor: Petra Međeral Ozimec

SAŽETAK

Jedna od stvari u sportu koju svaki sportaš želi poboljšati je njegovo vrijeme reakcije. Vrijeme reakcije je vrijeme koje je potrebno pojedincu da odgovori na poticaj iz svog okoliša. Cilj ovog istraživanja je usporediti vrijeme reakcije šake dominantne ruke i nedominantne ruke na početku i na kraju istraživanja te ustanoviti razliku li se ostvareni rezultati ovisno o spolu. Podatci su prikupljeni na uzorku od 50 ispitanika u dobi od 12 do 14 godina podijeljenih na kontrolnu (27 učenika) i ispitivanu skupinu (23 učenika). Ispitivana skupina provodila je vježbe Catch Po Imitation Test i Catch the Ball Test. Analizom prikupljenih podataka zaključeno je da su na početku istraživanja rezultati reakcije dominantne ruke bili značajno bolji od rezultata nedominantne ruke kod oba spola. Na kraju istraživanja reakcija nedominantnom rukom je pokazala veća poboljšanja u odnosu na dominantu, a to se najviše moglo uočiti kod dječaka ispitivane skupine.

Ključne riječi: *Blaze Pod Imitation; CatchTheBall Test; dominantna ruka; nedominantna ruka; vrijeme reakcije*

UVOD

Jedna od stvari u sportu, koju svaki sportaš želi poboljšati, je njegovo vrijeme reakcije. Vrijeme reakcije je vrijeme koje je potrebno pojedincu da odgovori na poticaj iz svog okoliša. Koliko brzo će osoba reagirati na neki podražaj, ovisi o radu mozga i protoku živčanog impulsa. Sportašima je cilj poboljšati vrijeme reakcije odnosno u što kraćem vremenu svladati što duži put (Jakop, 2022). Prema Jozaku i Segedi (2010), za povećanje brzine, agilnosti i eksplozivnosti potrebno je utjecati na središnji živčani sustav, osobine mišića, tehniku kretanja i motivaciju.

Ljudski mozak zajedno s leđnom moždinom čini središnji živčani sustav, a živci su sastavni dio perifernog živčanog sustava. Mozak je zaštićen lubanjom dok je leđna moždina zaštićena kralježnicom. Mozak je organ koji će svaku informaciju primljenu osjetilima iz okoliša obraditi i primjereno će na nju odgovoriti. Takav se odgovor šalje leđnom moždinom preko motoričkih vlakana do određenog organa ili tkiva te on obavlja zadanu radnju. U ovom istraživanju se pratilo vrijeme reakcije između osjetila vida i mišićne reakcije ruku. U oba oka receptori na mrežnici reagiraju na svjetlosne podražaje te ih pretvaraju u živčane impulse. Od svakog oka osjetilnim (vidnim) živcem živčani impuls putuje do vidnog područja u moždanoj kori. Mozak obrađuje primljenu informaciju, ispravlja je i spaja u jednu trodimenzionalnu sliku. Potom se preko motoričkih (pokretačkih) živčanih vlakana šalje informacija do mišića ruke i šake čiji prsti odgovaraju na podražaj (Begić, 2020).

S obzirom da većina učenika naše škole trenira neki timski sport u klubovima (nogomet, rukomet), a skoro svi učenici pohađaju izvannastavne sportske aktivnosti, došli smo na ideju provjeriti može li se poboljšati vrijeme reakcije ruku unutar određenog perioda vježbanja.

Cilj ovog istraživanja je usporediti vrijeme reakcije šake dominantne i nedominantne ruke na početku i na kraju istraživanja te ustanoviti razliku li se ostvareni rezultati ovisno o spolu. Kao i u ljudskoj populaciji, i u našoj školi većina ispitanika su dešnjaci (95 %). Naša pretpostavka (hipoteza) je da će na



početku istraživanja dominantna ruka imati bolje vrijeme reakcije u odnosu na nedominantnu ruku, a da će dječaci zbog anatomske građe imati bolje rezultate nego djevojčice. Nakon provođenja vježbi, također pretpostavljamo da će se vrijeme reakcije nedominantne ruke više poboljšati u odnosu na vrijeme reakcije dominantne ruke i to kod oba spola.

METODE

Uzorak

Istraživanje je obuhvatilo učenike šestog i sedmog razreda. Ukupno je sudjelovalo 50 učenika od 12 do 14 godina starosti. Treba napomenuti da škola ima mali broj učenika stoga se nije uspjelo složiti grupu od minimalno 100 ispitanika. Pri ispitivanju uzimalo se u obzir koja je ruka ispitanika dominantna (desna, lijeva ili obje) te da li se bavi sportom i kojeg je spola. Kontrolnu skupinu činili su učenici šestog razreda. Ukupno ih je bilo 27, od toga 17 dječaka i 10 djevojčica. Kontrolnoj skupini mjerena je brzina reakcije na početku i na kraju istraživanja, s tim da oni nisu provodili zadane vježbe. Ispitivanu skupinu činili su učenici sedmih razreda kojih je ukupno bilo 23, od toga 14 dječaka i 9 djevojčica. Ovoj skupini mjerena je brzina reakcije na početku i na kraju istraživanja, a oni su provodili zadane vježbe tijekom dva i pol mjeseca.

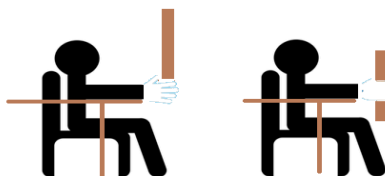
Tijek ispitivanja

Za početno, kontrolno, mjerenje brzine reakcije koristilo se ravnalo od 30 centimetara, kemijska olovka i tablica u koju su se upisivale informacije o ispitaniku (ime i prezime, godina rođenja, spol, dominantna ruka) te početna mjerenja brzine reakcije hvatanja ravnala (prilog 1).

Početno istraživanje je krenulo krajem listopada u jutarnjem turnusu za vrijeme sata tjelesne i zdravstvene kulture (TZK). Vrijeme ispitivanja se kretalo od 7.25 do 12.30 sati, ovisno kad je koji razred imao sat TZK-a.

Provedba eksperimenta

Uvjeti ispitivanja bili su podjednaki. Svaki ispitanik je bio sam u prostoriji s provoditeljem mjerenja bez smetnje drugih osoba kako bi se mogli bolje fokusirati na zadatak i time postići što bolje rezultate početnog mjerenja. Ispitanik je bio u sjedećem položaju, izravnatog vrata i čeljusti paralelne s podom. Ispitivana ruka je bila oslonjena na rub stola. Nadlaktica ruke je pratila liniju trupa, a podlaktica je bila pod pravim kutom u odnosu na nadlakticu. Šaka je bila slobodna preko ruba stola. Time se htjelo smanjiti trzanje ruke i njezino pomicanje kako bi rezultati mjerenja bili što precizniji. Provoditelj mjerenja je ravnalo držao palcem i kažiprstom iznad ispružene šake ispitanika. Ravnalo je brojem nula bilo okrenuto iznad prstiju ispitanika. Bez najave, provoditelj mjerenja bi pustio ravnalo, a ispitanik bi ga što brže hvatao svojim prstima (slika 1).



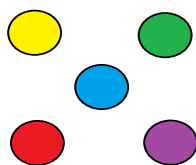
Slika 1 Shema prikaza ispitanika pri mjerenju brzine reakcije hvatanja ravnala (modificirano prema: <https://ar.javamem.com/pictures/sat-on-a-chair-clipart>)



Mjesto gdje je ispitanik uhvatio ravnalo se očitalo i broj se zapisao u tablicu. Mjerenje se za svaku ruku provodilo pet puta. Svaki put se u tablicu zapisao broj na kojem se ravnalo primilo te se izračunala srednja vrijednost za svaku ruku.

Nakon početnog mjerenja, u suradnji s učiteljem iz tjelesne i zdravstvene kulture i učiteljicom iz biologije, provodila su se dva tipa testa pod nazivom Blaze Pod Imitation Test i CatchTheBall Test (Jakop, 2022). Učitelj je testove prilagodio istraživanju. Testovi su se provodili na satovima tjelesne i zdravstvene kulture i biologije (dva puta tjedno) tijekom studenog, prosinca i siječnja.

Blaze Pod Imitation Test (taping) osmišljen je s namjerom da se unaprijedi brzina reakcije na zvučni signal. Ispitanik prilikom izvođenja testa stoji ispred zida na kojem se nalazi pet različito obojanih krugova (žuta, zelena, plava, crvena, ljubičasta). Kada ispitanik čuje od strane ispitivača da je izrekao određenu boju, mora dotaknuti na zidu krug s odgovarajućom bojom (slika 2). Ispitivač izgovara boje u razmaku od jedne boje u sekundi. Test se izvodi jednu minutu. Broje se točni i netočni dodiri boja/krugova.



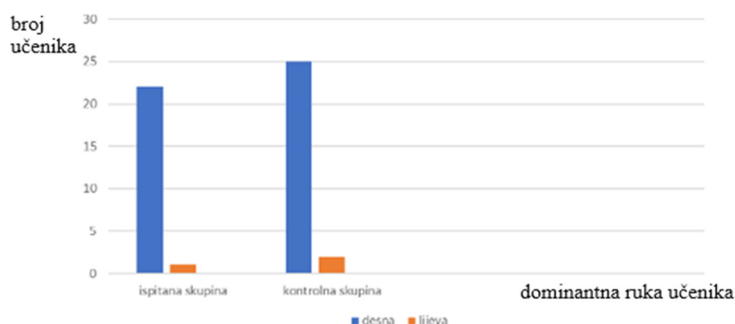
Slika 2 Prilagođen Blaze Pod Imitation Test (tapping) – pet obojanih krugova

I CatchTheBall Test (hvatanje loptice) izrađen je s namjerom da se unaprijedi brzina reakcije. Ispitanik se nalazi u sjedećem položaju, podlaktice su mu postavljene paralelno sa natkoljenicama. Ispitivač stoji iznad ispitanika držeći loptice iznad dlanova ispitanika. Također, loptice su izvan ispitanikovog vidnog polja. Ispitivač ispušta loptice iznad dlanova ispitanika. Zadatak ispitanika je uloviti što više ispuštenih loptica. Zapisuje se broj uhvaćenih i neuhvaćenih loptica. Test se izvodi jednu minutu.

Završno mjerenje brzine reakcije ispitanika se odvijalo krajem siječnja.

REZULTATI

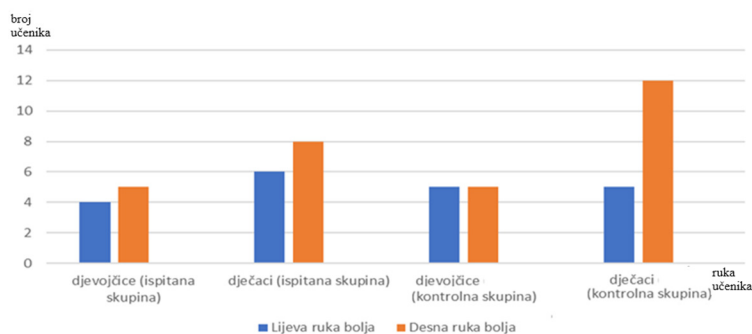
U kontrolnoj skupini bilo je ukupno 27 učenika od kojih je 25 učenika s dominantnom desnom rukom, a dvoje ima dominantu lijevu ruku. U ispitivanoj skupini 22 učenika od ukupno 23 ima dominantnu desnu, a samo jedan ima dominantnu lijevu ruku (slika 3).



Slika 3 Prikaz dominantne ruke u kontrolnoj i ispitivanoj skupini učenika

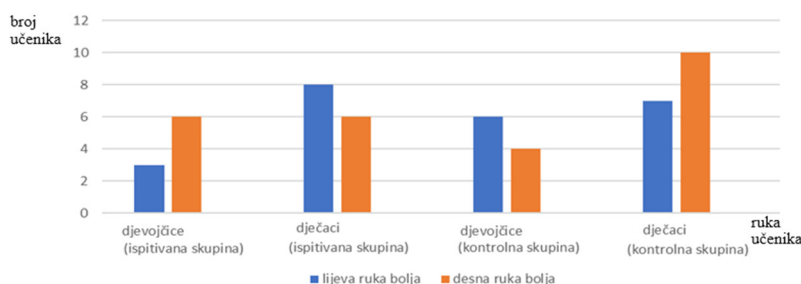


Početno mjerenje vremena reakcije učenika pomoću ravnala u kontrolnoj skupini pokazuje da su djevojčice imale podjednako vrijeme hvatanja ravnala za obje ruke. Kod dječaka, u kontrolnoj skupini, dominantna ruka je imala znatno bolji rezultat u odnosu na nedominantnu ruku (slika 4). Kod ispitivane skupine, dječaci i djevojčice su imali podjednaki rezultat mjerenja za dominantnu ruku u odnosu na nedominantnu (slika 4).



Slika 4 Usporedba dominantne i nedominantne ruke na početku istraživanja kod oba spola u ispitivanoj i kontrolnoj skupini

Završno mjerenje je pokazalo da u kontrolnoj skupini kod dječaka nije došlo do promjene vremena reakcije brzine za dominantnu ruku dok je nedominantna ruka imala bolji rezultat nego pri prvom mjerenju. Kod djevojčica nije bilo velikih promjena u rezultatima na početku i na kraju istraživanja. U ispitivanoj skupini kod dječaka se vidi da je nedominantna ruka imala bolje vrijeme reakcije u odnosu na prvo mjerenje dok je njihova dominantna ruka imala neznatno slabiji rezultat vremena reakcije. Kod djevojčica se vrijeme brzine reakcije više poboljšalo kod dominantne ruke u odnosu na nedominantnu ruku (slika 5).



Slika 5 Usporedba dominantne i nedominantne ruke kod oba spola u kontrolnoj i ispitivanoj skupini na kraju istraživanja

RASPRAVA

Naša škola ima mali broj učenika i razrednih odjeljenja po generaciji što je i bio razlog malom uzorku ispitanika. U istraživanju je ukupno sudjelovalo 50 učenika šestih i sedmih razreda podijeljenih u kontrolnu (27 učenika) i ispitivanu skupinu (23 učenika).

Istraživanjem je utvrđeno da većina ispitanika ima dominantu ruku desnu dok neznatan broj ispitanika ima lijevu ruku dominantnu. Početno mjerenje vremena brzine reakcije pokazalo je da obje skupine, bez obzira na spol, imaju bolje rezultate s dominantnom rukom.



Ovim istraživanjem nismo uočili da bi djevojčice bile bolje u tappingu rukom (Blaze Pod Imitation Test) u odnosu na dječake. Do istih rezultata se došlo u istraživanju motoričkih sposobnosti učenika dobi 13 i 14 godina koje je proveo Prskalo i sur. (2011) te u istraživanju koje je proveo Šegregur i sur. (2010). S obzirom da istraživanja u literaturi uspoređuju motoričke sposobnosti majke i kćeri u osmom razredu u jednom grafu te očeva i sinova u osmom razredu u drugom grafu, dobiva se dojam da su djevojčice bolje u tappingu (Jelenković i sur., 2015). Ove rezultate ne bi mogle ovdje upotrijebiti za usporedbu s našima jer grafovi prikazuju odnose majki i kćeri te očeva i sinova. Za hvatanje loptice (CatchTheBall Test) nismo uspjele pronaći istraživački rad s kojim bi mogle usporediti naše rezultate.

Nakon tri mjeseca provedenih vježbi hvatanja loptice (CatchTheBall Test) i tappinga (Blaze Pod Imitation Test) izvršeno je završno mjerenje vremena reakcije učenika pomoću ravnala. Rezultati tog mjerenja pokazali su da dječaci i djevojčice kontrolne skupine imaju malo bolje rezultate nedominantne ruke u odnosu na početno mjerenje dok je brzina dominantne ruke bilo malo slabija. Razlog tome bi moglo biti poznavanje načina testiranja, a primijetile smo da su kod završnog testiranja učenici imali veću koncentraciju pri testiranju nedominantne ruke.

U ispitivanoj skupini dječaci su na završnom mjerenju vremena reakcije ravnalom imali bolji rezultat s nedominantnom rukom u odnosu na dominantu. Kod ispitivanih djevojčica nije došlo do većih promjena u vremenu brzine dominantne i nedominantne ruke. U odnosu na dječake, djevojčice imaju lošije rezultate i kod dominantne i kod nedominantne ruke. Ti rezultati mogu biti posljedica razlike u građi tijela između djevojčica i dječaka, a drugi razlog može biti u češćim treninzima dječaka u sportskim klubovima dok djevojčice sudjeluju u sportskim izvannastavnim aktivnostima jednom tjedno u školi.

Naša namjera je bila da se istraživanje provede u cijelosti minimalno tri mjeseca (od listopada do siječnja). Međutim, tijekom razdoblja testiranja ispitanika bilo je nekoliko blagdana i zimski praznici pa se redovito provođenje vježbi u jednom trenutku prekinulo. Ovi prekidi kao i činjenica da su učenici već znali oblik testiranja, moglo je pridonijeti boljim završnim rezultatima nedominantne ruke.

ZAKLJUČCI

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

- ☞ Na početku istraživanja rezultati vremena reakcije u obje skupine su pokazali da su dominantne ruke bile značajno bolje od nedominantnih ruku,
- ☞ Na kraju istraživanja rezultati reakcija obje ruke ispitivane skupine su se poboljšali, no rezultati nedominantne ruke su pokazali veće poboljšanje u odnosu na dominant,
- ☞ Kod kontrolne skupine (oba spola) uočilo se poboljšanje vremena reakcije nedominantne ruke
- ☞ Tijekom provođenja dva tipa testa: tapping (Blaze Pod Imitation Test) i hvatanje loptice (CatchTheBall Test) nisu se uočile razlike u rezultatima kod spolova,
- ☞ Rezultati istraživanja mogu biti posljedica razlike u anatomske građi djevojčica i dječaka, češći treninzi dječaka u sportskim klubovima dok djevojčice sudjeluju u sportskim školskim izvannastavnim aktivnostima jednom tjedno u školi, mali broj ispitanika, poznavanje načina testiranja vremena reakcije ravnalom.



LITERATURA

- Begić V., Bastić M., Madaj Prpić J., Bakarić A. 2020. Zašto reagiramo na podražaje, Novoselić D. (ur.) Biologija udžbenik iz biologije za osmi razred osnovne škole. Alfa, Zagreb, str. 64-74.
- Jakop, I. (2022). Trening brzine i agilnosti po dobnim skupinama u rukometu. (Specijalistički diplomski stručni). On-line URL: <https://urn.nsk.hr/urn:nbn:hr:117:617685> Pristupljeno 15. 9. 2022.
- Jelenković N, Milohanić N. 2015. Usporedba antropometrijskih karakteristika i motoričkih sposobnosti učenika 8.osmih razreda i njihovih roditelja u 8. razredu rada. Bioznanac 1: 65-81.
- Prskalo I., Nedić A., Sporiš. G, Badrić M., Milanović Z. 2011. Spolni dimorfizam motoričkih sposobnosti učenika dobi 13 i 14 godina. Hrvatski športskomedicinski Vjesnik 26: 100-105.
- Jozak, R., Segedi, I. 2010. Kondicijski trening (s naglaskom na brzinu, agilnost i eksplozivnost) u nogometnoj školi NK Dinama, 8. godišnja međunarodna konferencija Kondicijska priprema sportaša. On-line URL: https://www.researchgate.net/publication/329591044_Kondicijski_trening_s_naglaskom_na_brzinu_agilnost_i_eksplozivnost_u_nogometnoj_skoli_NK_DINAMA Pristupljeno 15. studenog 2022.
- Šegregur D., Kuhar V., Paradžik P. 2010. Antropometrijska, motorička i funkcionalna obilježja učenika prvih razreda srednjih škola. Hrvatski športskomedicinski vjesnik 25: 67-74.

PRILOG

Prilog 1 Primjer tablice mjerenja brzine reakcije ispitanika

DATUM: _____ VRIJEME MJERENJA: PRIJE PODNE – POSLIJE PODNE MJERILI: _____

IME, PREZIME ISPITANIK	GODINA ROĐENJA	SPOL M/Ž	DOMINANTNA RUKA PRI PISANJU D/L	MJERENJE BRZINE REAKCIJE DESNE RUKE (cm)						MJERENJE BRZINE REAKCIJE LIJEVE RUKE (cm)					
				1.	2.	3.	4.	5.	Srednja vrijednost	1.	2.	3.	4.	5.	Srednja vrijednost

UTJECAJ BILJNIH „ČAJEVA“ I MEDA NA KLIJAVOST GRAŠKA

Lana Bošnjak, 8. razred
Antonija Habijanac, 8. razred

OŠ Augusta Cesarca, Zagreb

Mentor: Sanja Irić Šironja

SAŽETAK

Pomoću ljekovitog bilja i njegovih pripravaka liječe se najrazličitije bolesti još od davnina. Mnogi suvremeni lijekovi neposredno ili u djelomično promijenjenom obliku potječu od biljaka. Biljne kupke pomažu sjemenu koje se sije u borbi s potencijalnim bolestima koje ga mogu zahvatiti i omekšavaju vanjsku opnu sjemena kako bi ono lakše proklijalo. Osim za prehranu ljudi i narodnu medicinu med se može iskoristiti i u poljoprivrednoj proizvodnji. Koristi se kao biostimulans, za aktiviranje sjemena, zalijevanje i privlačenje kukaca. Cilj je ovog istraživačkog rada utvrditi utječu li biljni „čajevi“ i med na klijavost sjemenke graška. Istraživanje je pokazalo kako su sjemenke graška namakane i zalijevane biljnim „čajevima“, destiliranom i običnom vodom s dodatkom meda proklijale prije nego sjemenke graška zalijevane biljnim „čajevima“, destiliranom i običnom vodom, a bez dodatka meda. Sjemenke graška namakane i zalijevane svim biljnim „čajevima“ osim kamilice, s dodatkom ili bez dodatka meda proklijale su prije sjemenki tretiranih samo običnom i destiliranom vodom. Najveći postotak klijavosti imaju sjemenke graška tretirane običnom vodom i medom, zatim slijede sjemenke tretirane destiliranom vodom i medom, čistom, običnom vodom, a tek potom sjemenke graška tretirane biljnim „čajevima“. Iz navedenih rezultata možemo zaključiti kako med i biljni „čajevi“ pomažu bržem klijanju sjemenki graška, ali ne utječu na sam broj uspješno proklijalih sjemenki.

Ključne riječi: biljni čajevi; med; grašak; klijavost; ljekovite biljke

UVOD

Pomoću ljekovitog bilja i njegovih pripravaka od davnina se liječe najrazličitije bolesti, a još i danas dvije trećine čovječanstva, ljekovitim se biljem koristi kao glavnim sredstvom liječenja. I mnogi suvremeni lijekovi neposredno ili u djelomično promijenjenom obliku potječu od biljaka. U svijetu se koristi približno 20 000 ljekovitih biljaka. Od tog je 11 000 dobro istraženo, a od 250 vrsta dobivaju se osnovni sastojci za proizvodnju suvremenih lijekova s biljnim aktivnim tvarima (Toplak Galle, 2009).

Ljekovite biljke iz prirode pomažu organizmima vratiti se u uravnoteženo stanje i omogućavaju im normalno funkcioniranje. Osim kod ljudi i životinja, tretiranje sjemena čajnim kupkama ljekovitog bilja omogućuje isto to i biljkama. Jedna izreka kaže kako u prirodi postoji lijek za svaku bolest, samo ga treba otkriti. No, nije samo djelovanje ljekovitih biljaka usmjereno na bolesti. One svojim blagotvornim učinkom pomažu organizmima i u razvoju imuniteta te jačanju i očuvanju zdravlja. Kao što biljke imaju ljekovito djelovanje na ljudsko zdravlje, jednako tako mogu pozitivno utjecati i jedna na drugu (Klanfar i Šukurma, 2017). Cilj je biljnih kupki sjemenu koje se sije pomoći u borbi s potencijalnim bolestima koje ga mogu zahvatiti. Osim toga cilj je omekšati vanjsku opnu sjemena kako bi ono lakše proklijalo, odnosno dodati vodu sjemenu koje se sprema na klijanje. Samim time omogućava se lakši razvoj prvog korjenčića i lakši prihvrat biljke u supstratu. Isti „čajevi“ koji se koriste za namakanje sjemena mogu se potom iskoristiti i za zalijevanje svježih posijanih biljaka kako bi se njihov blagotvoran učinak prenio i na supstrat u kojem će se razvijati buduća biljka. Osim „čajeva“ za tretiranje sjemena, kasnije u uzgoju, mogu se pripremati i razni „čajevi“ kojima se koristi za zaštitu od neželjenih korova, za gnojdbu tekućim gnojivima od biljaka ili pak za folijarnu prehranu vrta ili nasada. Stoga, u namjeri kako bi pomogli svojim budućim presadnicama, mogu se koristiti raznim biljnim „čajevima“ prije same sjetve sjemena. Obično su to kombinacije ljekovitih biljaka u kojima svaka biljka ima zadatak djelovati na



jedan spektar potencijalnih bolesti koje mogu utjecati na mladi rasad. Kad se slaže biljna kupka, uzimaju se u obzir i one biljke koje rastu u okruženju gospodarstva. U primorskim područjima nalazi se potpuno drukčiji spektar bilja od onih na kontinentu (Vukelić, 2021).

U cilju smanjenja korištenja sintetičkih, kemijskih sredstava u uzgoju biljaka, sve se više istraživanja okreće prema ekološkim, okolišno prihvatljivijim metodama. Zato se u novije vrijeme sve više istražuju alelopatski utjecaji određenih biljaka na druge biljke. Iako su utjecaji nekih biljaka poznati već desetljećima, na tržištu se može pronaći vrlo malo prirodnih zaštitnih sredstava ili stimulatora rasta koji potječu od alelokemikalija (Balenović, 2020).

Jedan je od načina stimulacije bržeg klijanja i nicanja sjemena primjena biostimulatora. Biostimulatori su tvari koje pozitivno utječu na imunološki sustav biljaka i njihov metabolizam, rast i razvoj, mogu im pomoći u prevladavanju stresnih situacija, povećanju prinosa i smanjenju upotrebe gnojiva. Utvrđeno je da biostimulatori pozitivno utječu na klijanje sjemena te mogu imati pozitivan učinak na fiziološku kvalitetu sjemena proizvedenog u sljedećoj generaciji (Palfi i sur., 2017). Biostimulatori ne utječu štetno na okoliš i čovjeka, a biljku mogu zaštititi u nepovoljnim ekološkim uvjetima što u konačnici može rezultirati povećanjem prinosa kultiviranih sorti (Tomić, 2013).

Med je sladak i gust sok koji pčele medarice rade od nektara što ga skupljaju na cvjetovima ili slatkim izlučevinama (medene rose) nekih kukaca, poput lisnih uši. Nektar, koji pčele skupljaju iz cvijeća, glavni je izvor ugljikohidrata koje pčele pretvaraju u lako probavljivi slador - glukozu i fruktozu, koji je glavni sastojak meda. Med je najsavršeniji proizvod prirode, a u medu se nalaze gotovo svi sastojci koji grade ljudski organizam. U medu se nalaze minerali, aminokiseline, visoko vrijedne organske kiseline kao što su mravlja, jabučna, limunska, octena, jantarna kiselina, pigmenti, razni derivati klorofila, vosak, inulin te elementi kompleksa vitamina B. Zreli med ne sadrži više od 15 % vode, a pčele med u saću pokrivaju voštanim poklopcima i tako čuvaju med od upijanja vlage i kvarenja (Uppdl, 2019). Osim za prehranu ljudi i narodnu medicinu med se može iskoristiti i u poljoprivrednoj proizvodnji. Ovaj pčelinji proizvod nije podložan kvarenju jer sadrži malo vode i puno šećera. U takvoj sredini patogeni organizmi, poput bakterija, dehidriraju i uginu. Koristi se kao biostimulans, za aktiviranje sjemena, zalijevanje i privlačenje kukaca. Osim što će se aktivirati, brže klijati i niknuti, ovim postupkom na površinu sjemena se vežu korisne tvari i minerali. Koristi se i za zalijevanje mladih biljaka jer jača korijen, kao i za reznice (Vojnović, 2023).

Grašak je jednogodišnja zeljasta biljka iz porodice mahunarki (Fabaceae syn. Leguminosae), porijeklom iz Male Azije i istočnog Sredozemlja, a kao povrtlarska kultura pripada zrnastim mahunarkama, povrću s izrazito bogatom hranjivom vrijednošću. U 100 grama ima 81 kcal/339 kJ. Bogat je izvor ugljikohidrata i bjelančevina poput legumina, legumelina, vicilina, trigonelina i dr. Visok sadržaj bjelančevina (5,42 %) ima zahvaljujući kvržicama u korijenu u kojima se nalaze bakterije koje vežu dušik iz zraka i pretvaraju ga u vrijedne aminokiseline, a tako i u bjelančevine. Graškov je korijen vretenast, prodire duboko u tlo do 120 cm, dobro je razgranat. Usisna moć korijena je velika. Visina stabla ovisi o sorti, a može biti 30 – 200 cm. List je parno perast, s 1 – 3 para liski. Vrh lista završava viticom koja pomaže biljci da se prihvaća za oslonac. Cvjetovi su leptirasti, bijele boje pa više njih izbija iz pazušca lista. Mahune su različitog oblika, dužine i širine, a isto tako i raznih kombinacija boja. U mahunama se nalazi različit broj zrna što ovisi o sorti. Grašak se uspješno uzgaja u uvjetima umjerene i vlažne klime. Optimalna

temperatura za razvoj iznosi 18 °C, a niže već kod temperature 4 – 6 °C. Da bi potpuno iznikao, potrebno je osam dana. Mlade biljke podnose temperature i do -6 °C. Za rast treba sunčanu poziciju, slabo kiselo tlo i veliku količinu vode (Agroklub, 2023).

Grašak je značajna povrtlarska kultura, koja klije u širokom temperaturnom rasponu, a zbog lakog i brzog uzgoja pogodan je za različita istraživanja. Pripravci od koprive i peršinova lista koriste se pri ekološkom uzgoju povrća za suzbijanje različitih štetnika, kao tekuće gnojivo i za općenito jačanje otpornosti kod biljaka. Kamilica, kadulja, majčina dušica, komorač i zeleni čaj sprječavaju rast i razvoj bakterija i gljivica, omekšavaju vanjsku opnu sjemena kod klijanja te potiču vegetativni rast biljaka. Osušeni stolisnik koristi se u prehrani domaćih životinja. Svi „čajevi“, koji se koriste za namakanje sjemena, mogu se potom iskoristiti i za zalijevanje svježih posijanih biljaka kako bi se njihov blagotvoran učinak prenio i na supstrat u kojem će se razvijati buduća biljka.

Cilj je ovog istraživačkog rada utvrditi utječu li biljni „čajevi“ i med na klijavost sjemenke graška. S obzirom na to da bogatstvo različitih kemijskih tvari prisutnih u biljkama korištenim u ovom istraživanju i u medu utječe na klijavost, pretpostavka je da će navedeni pripravci pomoći bržem klijanju sjemenki. Nadalje, zbog prisutnosti mnogobrojnih nutrijenata u biljnim „čajevima“ s medom, lakše će se razviti prvi korjenčić, stoga će uspješno proklijati više onih sjemenki koje su tretirane biljnim „čajevima“ s dodatkom meda.

METODE

Istraživanje je trajalo ukupno tri tjedna, sve metode rada su samostalno osmišljene, zapažanja su bilježena svakodnevno, a analiza dobivenih rezultata provedena je na kraju istraživanja.

Opis pripreme biljnih čajeva

Biljni „čajevi“ kupljeni su u prodavaonici proizvoda na bazi prirodnog i medicinskoga bilja u obliku sušenih pripravaka od organsko uzgojenih biljaka za izradu „čajeva“ u svrhu očuvanja zdravlja ljudi. Odabrani su „čajevi“ koji se najčešće koriste u tu svrhu: kamilica, kadulja, stolisnik, majčina dušica, kopriva, zeleni čaj, komorač i peršin. Svi su pripravci istog proizvođača. „Čajevi“ su napravljeni prema uputstvu na kutiji (slika 1).



Slika 1 Sjemenke graška u pripremljenim biljnim čajevima

U pola litre kipuće vode dodaju se dvije jušne žlice suhog pripravka te se otopina ostavi poklopljenom 10 minuta nakon čega se procijedi. Tako pripremljeni „čajevi“ ohlađeni su na sobnoj temperaturi, a potom je u polovicu otopina dodana po jedna jušna žlica meda. Otopina se miješa drvenom žlicom dok

se sav med ne otopi. Med je također iz ekološkog uzgoja, kupljen od lokalnog OPG-a. Sav je korišten med istovrstan (cvjetni) i istog proizvođača.

Tretiranje sjemenki graška i postavljanje uzoraka

Odabrano je 200 sjemenki graška, otprilike jednake veličine i boje bez ikakvih vidljivih oštećenja izvana te je potopljeno u otopine čajeva u 20:00 sati tako da je u svaku vrstu čaja stavljeno 10 sjemenki. Po deset je sjemenki graška stavljeno i u destiliranu i u običnu vodu te u destiliranu vodu s medom i običnu vodu s medom. Sjemenke su bile potopljene cijelu noć te su u staklenkama zajedno s čajem donesene u školu. U svaku plastičnu posudu za sadnju (manji cvjetnjaci) stavljeno je 280 g zemlje za cvijeće (slika 2), a potom je u svaku posađeno po pet prethodno tretiranih sjemenki graška na ukupnu dubinu od 3 cm (slike 3 i 4).



Slika 2 Priprema (vaganje) zemlje za sadnju



Slika 3 Sadnja sjemenki graška



Slika 4 Postavljeni uzorci

Svakodnevno tretiranje posađenih sjemenki

Cvjetnjaci s posađenim sjemenkama promatrani su i zalijevani svaki dan (slika 5) s po 50 ml određene otopine „čaja“ (skupina 1), otopine „čaja“ i meda (skupina 2), običnom vodom i medom (skupina 3), destiliranom vodom i medom (skupina 4) te običnom (skupina 5) i destiliranom vodom (skupina 6). Svaki treći dan pravljene su i svježi „čajevi“ kod kuće, a potom su doneseni u školu.



Slika 5. Zalijevanje uzoraka



REZULTATI

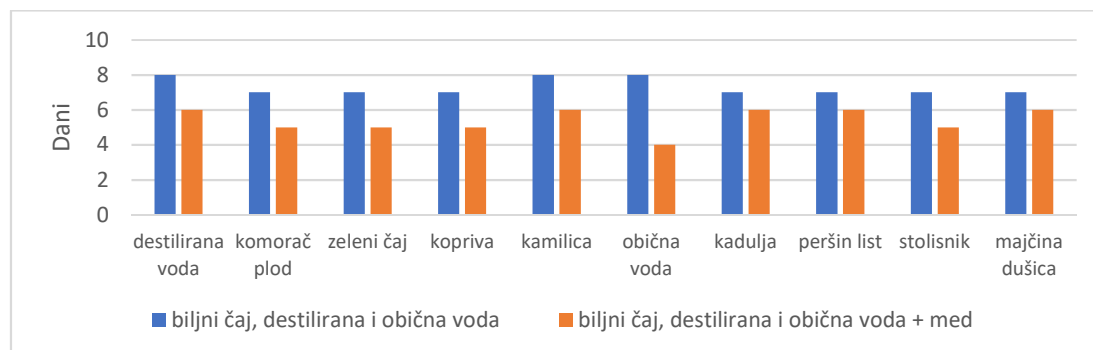
Klijavost sjemenki graška

Najmanji vremenski period klijanja (tablica 1) imale su sjemenke graška tretirane običnom vodom i medom (četiri dana), a potom slijede sjemenke graška tretirane sljedećim biljnim „čajevima“ i medom; komorač, zeleni čaj, kopriva i stolisnik (pet dana).

Tablica 1 Vremenski period od sadnje do nicanja/klijanja sjemenki graška zalijevanih različitim otopinama

Otopina (destilirana/obična voda)	Datum nicanja	Razdoblje klijanja (broj dana)
Destilirana voda + med	20.11.2023.	6
Komorač + med	19.11.2023.	5
Zeleni čaj + med	19.11.2023.	5
Kopriva + med	19.11.2023.	5
Stolisnik + med	19.11.2023.	5
Majčina dušica + med	20.11.2023.	6
Kamilica + med	20.11.2023.	6
Obična voda + med	18.11.2023.	4
Kadulja + med	20.11.2023.	6
Peršin + med	20.11.2023.	6
Zeleni čaj	21.11.2023.	7
Peršin	21.11.2023.	7
Kadulja	21.11.2023.	7
Komorač	21.11.2023.	7
Kopriva	21.11.2023.	7
Stolisnik	21.11.2023.	7
Majčina dušica	21.11.2023.	7
Destilirana voda	22.11.2023.	8
Obična voda	22.11.2023.	8
Kamilica	22.11.2023.	8

Sjemenke graška tretirane destiliranom vodom, peršinom, kaduljom, majčinom dušicom i kamilicom, sve s dodatkom meda proklijale su za šest dana. Sjemenke graška tretirane biljnim „čajevima“ bez meda; majčina dušica, stolisnik, peršin, kadulja, kopriva, zeleni čaj i komorač proklijale su za sedam dana. Posljednje su proklijale sjemenke graška tretirane običnom vodom, biljnim „čajem“ od kamilice i destiliranom vodom bez meda i to za osam dana (slika 6).



Slika 6 Razdoblje klijanja graška (u danima)

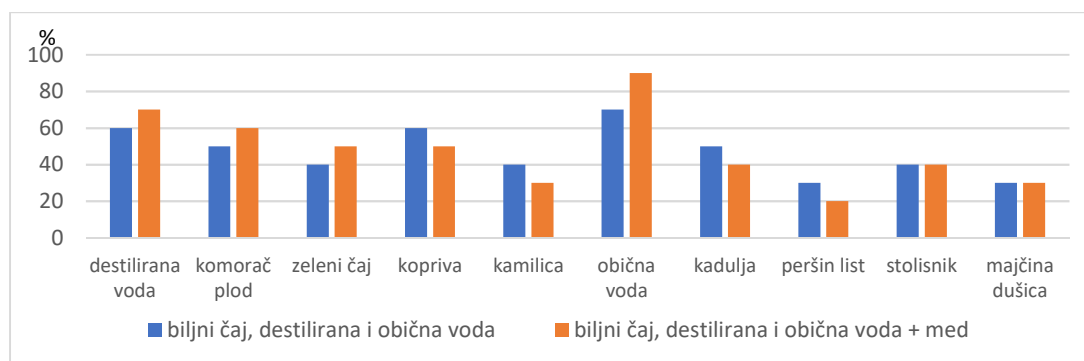
Sve posađene sjemenke graška nisu proklijale u jednakom postotku. Broj proklijalih sjemenki graška također se razlikuje prema otopinama (tablica 2). Klijavost je izračunata pomoću formule, a rezultat prikazan u obliku postotka: $Klijavost (\%) = \frac{\text{broj iskljajalih sjemenki}}{\text{ukupan broj sjemenki}} \times 100$.



Najveći postotak klijavosti imaju sjemenke graška tretirane običnom vodom i medom (90 %), zatim slijede sjemenke tretirane destiliranom vodom i medom i čistom običnom vodom (70 %). Sjemenke tretirane komoračem i medom, destiliranom vodom i koprivom imaju postotak klijavosti od 60 %, a sjemenke tretirane zelenim čajem i medom, koprivom i medom te kaduljom i komoračem imaju postotak klijavosti od 50 %. Nešto manje postotke klijavosti imaju sjemenke tretirane stolisnikom i medom, kaduljom i medom, zelenim čajem, stolisnikom i kamilicom od 40 %. Najmanje postotke klijavosti imaju sjemenke tretirane majčinom dušicom i medom, kamilicom i medom, peršinom i majčinom dušicom i to od 30 % te sjemenke tretirane peršinom i medom s postotkom klijavosti od 20 % (slika 7).

Tablica 2. Postotak klijavosti sjemenki graška zalijevanih različitim otopinama

Otopina (destilirana/obična voda)	Broj ukupno prokljalih sjemenki graška	Klijavost (%)
Destilirana voda + med	7	70
Komorač + med	6	60
Zeleni čaj + med	5	50
Kopriva + med	5	50
Stolisnik + med	4	40
Majčina dušica + med	3	30
Kamilica + med	3	30
Obična voda + med	9	90
Kadulja + med	4	40
Peršin + med	2	20
Zeleni čaj	4	40
Peršin	3	30
Kadulja	5	50
Komorač	5	50
Kopriva	6	60
Stolisnik	4	40
Majčina dušica	3	30
Destilirana voda	6	60
Obična voda	7	70
Kamilica	4	40



Slika 7. Postotak klijavosti sjemenki graška

RASPRAVA

Sjemenke graška namakane i zalijewane biljnim „čajevima“, destiliranom i običnom vodom s dodatkom meda prokljale su prije nego sjemenke graška zalijewane biljnim „čajevima“, destiliranom i običnom vodom, a bez dodatka meda. Prosječno vrijeme potrebno za klijanje sjemenki graška zalijevanih biljnim



„čajevima“, destiliranom i običnom vodom s dodatkom meda iznosi pet dana, a prosječno vrijeme za klijanje sjemenki graška zalijevanih biljnim „čajevima“, destiliranom i običnom vodom bez dodatka meda iznosi sedam dana.

Prema Pevalek-Kozlina (2003) nepropusna sjemena lupina često onemogućava primanje vode i uzrokuje mirovanje sjemenki biljaka, osobito mahunarki. Voštana kutikula sprječava ulazanje vode u sjemenke. Upijanje vode može se omogućiti različitim postupcima, npr. struganjem pijeskom, a u prirodi se to vjerojatno zbiva djelovanjem različitih mikroorganizama koji razaraju vanjski sloj lupine. Također, različiti enzimi svojim djelovanjem omekšavaju sjemenu lupinu i omogućavaju lakše probijanje klicinog korijenka.

Med sadrži malo vode i jako puno različitih šećera zbog čega oblaže sjemenke potrebnim hranjivim tvarima. Zbog visoke koncentracije šećera nije podložan kvarenju te osigurava sjemenkama okruženje bez štetnih patogenih bakterija. Bogat je različitim mineralnim tvarima poput silicija, aluminijske, željeza, kalcija, magnezija, natrija, kalija i fosfora koji mogu pomoći bržem razvoju klice. Također, bogat je i nizom organskih kiselina od kojih je najprisutnija mravlja kiselina koja omogućuje brže razgrađivanje sjemene lupine (Vojnović, 2023).

Prema Tomić (2013) biljni ekstrakti ili biostimulatori ekstrakti su dobiveni iz jedne ili više vrsta biljaka koji mogu stimulativno djelovati na rast i razvoj kultiviranih biljaka jer štite biljku od napada različitih patogena, ali i ostalih nepovoljnih utjecaja vanjske okoline. Enzimi i druge fiziološki aktivne tvari iz biljaka razgrađuju rezervne organske spojeve pohranjene u sjemenu čime osiguravaju veću mogućnost iskorištavanja rezervne hrane u periodu do početka autotrofnog načina prehrane.

Sve posađene sjemenke graška nemaju jednaku klijavost. Najveći postotak klijavosti imaju sjemenke graška tretirane običnom vodom i medom, zatim slijede sjemenke tretirane destiliranom vodom i medom te čistom, običnom vodom. Najveći postotak klijavosti sjemenki graška tretiranih biljnim „čajevima“ iznosi svega 60 %. Balenović (2020) navodi kako ekstrakti nekoliko biljnih vrsta (kamilica, kopriva, maslačak, kora hrasta, stolisnik, valerijana te mješavina navedenog bilja) ovisno o koncentraciji mogu imati stimulirajući, ali i inhibitorni utjecaj na klijanje sjemena kupusa te duljinu klijanaca (stabljike i korjenčića). Više koncentracije biljnih ekstrakata djeluju inhibitorno na klijanje sjemena kultiviranih biljaka ili snižavaju postotak klijavosti.

Nizak postotak klijavosti sjemenki graška tretiranih biljnim „čajevima“, dobiven u našem istraživanju, moguć je upravo zbog prejake koncentracije biljnih ekstrakata u pripremljenoj otopini biljnog „čaja“. Prema istraživanju Klanfar i Šukurma (2017) klijanci pšenice i kukuruza najbolje uspijevaju na podlozi od prokuhane vode, a potom na podlozi od različitih „čajeva“. Fermentacija (duljina stajanja suhe tvari u vodi) poboljšava rast klijanaca. U našem istraživanju suha tvar je odstajala 14 sati, što je moguće prekratak period za aktivaciju svih korisnih tvari u biljnim pripravcima.

ZAKLJUČCI

Nakon provedenog istraživanja i analize dobivenih rezultata može se utvrditi kako su pretpostavke iznesene na početku istraživanja djelomično točne.

Na temelju dobivenih rezultata izvedeni su sljedeći zaključci:



- med značajno utječe na brzinu klijanja sjemenki graška; sjemenke graška tretirane biljnim čajevima, destiliranom i običnom vodom s dodatkom meda niknule su prije nego sjemenke graška zalijevane biljnim čajevima, destiliranom i običnom vodom, a bez dodatka meda,
- biljni čajevi utječu na brzinu klijanja sjemenki graška; sjemenke graška namakane i zalijevane svim biljnim čajevima osim kamilice, s dodatkom ili bez dodatka meda niknule su prije sjemenki tretiranih samo običnom i destiliranom vodom,
- med uzrokuje nešto veći postotak klijavosti sjemenki graška; najveći postotak klijavosti imaju sjemenke graška tretirane običnom vodom i medom, zatim slijede sjemenke tretirane destiliranom vodom i medom te čistom, običnom vodom,
- biljni čajevi ne uzrokuju veći postotak klijavosti sjemenki graška; najveći postotak klijavosti sjemenki graška tretiranih biljnim čajevima iznosi svega 60 %.

LITERATURA

- Balenović, M., 2020. *Utjecaj vodenih ekstrakata samoniklog bilja na klijanje sjemena kupusa* (Brassica oleracea var. Capitata L.). Završni rad. Odjel za ekologiju, agronomiju i akvakulturu Sveučilišta u Zadru.
- Klanfar N., Šukurma E., 2017. *Klijavost sjemenja pšenice (Triticum aestivum L.) i kukuruza (Zea mays L.) nakon tretiranja biljnim pripravcima*. Bioznalac 3: 11-22.
- Palfi M., Matotan Z., Matotan S., 2017. *Utjecaj tretiranja sjemena stimulatorom klijanja Ekobooster 1 na početni rast i razvoj paprike*. Sjemenarstvo 30(1-2): 45-53. doi: 10.33128/s1.30.1-2.5.
- Pevalek-Kozlina, B., 2003. *Fiziologija bilja*. Profil, Zagreb.
- Tomić, O., 2013. *Klijavost sjemena kres salate nakon tretmana biljnim ekstraktima*. Diplomski rad. Fakultet agrobiotehničkih znanosti, Osijek.
- Toplak Galle, K., 2009. *Domaće ljekovito bilje*. Mozaik knjiga, Zagreb.
- Vojnović R. 2023. *Kako koristiti med u poljoprivredi kao biostimulans i gnojivo*. Agroklub (<https://www.agroklub.com/eko-proizvodnja/kako-koristiti-med-u-poljoprivredi-kao-biostimulans-i-gnojivo/83743>), pristupljeno 15.12.2023.
- Agroklub. 2023. *Grašak – sortna lista*. (<https://www.agroklub.com/sortna-lista/povrce/grasak-176/>), pristupljeno 13.12.2023.
- Vukelić A. 2021. *Tretiranje sjemena čajnim kupkama*. Gospodarski list (<https://gospodarski.hr/rubrike/ljekovito-bilje-rubrike/tretiranje-sjemena-cajnim-kupkama-prije-sjetve/>), pristupljeno 10.11.2023.
- Uppdl. 2019. *Što je med?*. Pčelarsko društvo Ludbreg (<https://uppd.hr/sto-je-med/>), pristupljeno 13.12.2023.

JESI LI TI VITRUVIJEV ČOVJEK?

Nika Kolić, 8. razred
Sara Makek, 8.razred

Osnovna škola Ivane Brlić-Mažuranić, Ogulin
Mentor: Anita Belančić

SAŽETAK

Prije više od pet stoljeća renesansni majstor Leonardo da Vinci proveo je niz antropometrijskih mjerenja kako bi što točnije izradio danas najpoznatiji crtež onoga što je smatrao savršeno proporcionalnim muškim tijelom - *Vitruvijeva čovjeka*. Neke od ovih mjerenja proveli smo na uzorku učenika naše škole i njihovih ukućana. Željeli smo utvrditi do koje su mjere Leonardove proporcije primjenjive na današnje ljude iz našeg okruženja, te može li se, na ovoj veličini uzorka, uočiti razlika između žena i muškaraca ili dobni skupina. Također, ovim istraživanjem željeli smo saznati kako se antropometrija općenito, ali i same Leonardove proporcije, koriste u suvremenoj znanosti. Rezultati istraživanja pokazali su veliku podudarnost naših ispitanika s proporcijama Vitruvijeva čovjeka. Uočili smo značajne razlike u apsolutnim mjerama ženskog tijela u usporedbi s muškim, ali vrlo male razlike u proporcijama ženskoga tijela u odnosu na muško. Najveću podudarnost s Leonardovim omjerima pokazala je skupina ljudi srednje dobi. Značaj ovog istraživanja ipak nije samo u konkretnim podacima naše skupine ispitanika, već je i metodički, i prepoznaje se u integraciji više STEM ishoda i vještina u sam istraživački rad. Naime, obrada bioloških podataka uz korištenje matematičkih metoda i informatičkih alata iz kurikula osnovne škole omogućuje vrijedne interpretacije i zaključke, ostvarene na temelju jednostavnih mjerenja. Također, zanimljiv je i vrijedan doprinos antropometrijskih podataka za primjenu u suvremenoj znanosti, primjerice sportskoj medicini, ergonomiji i forenzici.

Ključne riječi: *Leonardo da Vinci; Vitruvijev čovjek; proporcije; ljudsko tijelo; STEM*

UVOD

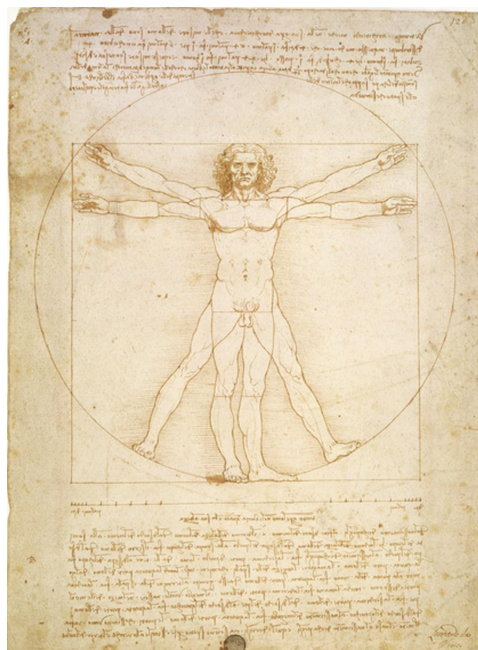
Vjerojatno najpoznatiji crtež na svijetu, Vitruvijev čovjek Leonarda da Vincija (slika 1), ukazuje, kroz jednostavnu umjetničku formu, na savršenu vezu između čovjeka i prirode (Trklja, 2020).

Iz perspektive današnjega učenja i poučavanja, on predstavlja izuzetan spoj umjetnosti i znanosti, upravo kako se to i potiče u suvremenim tzv. STE(A)M aktivnostima i projektima. Naime, popratni tekst ovoga crteža daje konkretne (o)mjere dijelova ljudskog tijela koji su rezultat pomnih antropometrijskih mjerenja najprije Vitruvija iz 1. st. pr. Kr, a zatim i Leonarda da Vincija iz 15. stoljeća. Ipak, prema Isaacsonu (2017), ove proporcije ne predstavljaju prosječnog, već idealnog čovjeka, što je opravdano i činjenicom da u Leonardovim zapisima ne postoje podaci o broju i dobi izmjerenih ljudskih tijela (Thomas i sur., 2020), kao ni o statističkim metodama koje su ionako razvijene tek u zadnjih nekoliko stoljeća (Stigler, 1986).

Cilj je našeg istraživanja provjera vjerodostojnosti ovoga starog znanstveno-umjetničkog djela na današnjoj populaciji nama bliskih ljudi, prijatelja i obitelji. Pretpostavili smo da mjere ljudskih proporcija dane u popratnom tekstu crteža *Vitruvijev čovjek* nisu samo ideal, već u velikoj mjeri ipak predstavljaju prosjek za današnje odrasle muškarce, uz moguće manje odstupanje kod žena.

Konkretno, prema Magazù i sur. (2019), provjeravamo sljedeće:

- dužina čovjekovih raširenih ruku jednaka je njegovoj visini;
- razmak između početka kose na čelu i dna brade (visina lica) jest 1/10 čovjekove visine;
- maksimalna širina ramena jest 1/4 čovjekove visine;
- dužina čovjekovog stopala jest 1/7 njegove visine.



Slika 1 Leonardo da Vinci: Vitruvijeve čovjek (Izvor: Gallerie dell'Accademia, Venice, Italy/Bridgeman Images, <https://academic.oup.com/occmed/article/69/2/86/5455125?login=false>)

Thomas i sur. (2020) radili su slična suvremena mjerenja novaka američkog zrakoplovstva i zaključili da je većina razlika od Leonardovih mjera manja od 10 %, iako su dio njihovog uzorka i žene. Našim istraživanjem htjeli smo provjeriti ima li razlike u proporcijama kod muških i ženskih ispitanika, te dodatno, kod različitih dobnih skupina.

Osim u povezivanju umjetnosti i znanosti, ovo istraživanje smatramo zanimljivim zbog moguće primjene i povezivanja sa suvremenim antropometrijskim znanstvenim istraživanjima iz polja sportske medicine, poput Mermier i sur. (2000), koji ispituju značaj širine ruku za penjačke sportove, ili Cullen i sur. (2020) koji ističu važnost praćenja antropometrijskih karakteristika u različitim sportovima.

Također, Shah i sur. (2015) ispituju povezanost između visine ljudi, širine ramena, raspona ruku i duljine stopala na dijelu indijske populacije s ciljem korištenja ovih podataka u forenzičke svrhe uslijed porasta stope kriminaliteta u toj zemlji.

Wood (2008) ističe da je širina raširenih ruku jednostavna mjera koja se smatra jako važnom u antropometrijskom profiliranju sportaša u mnogim sportovima u kojima je važan doseg, kao što su veslanje, plivanje i košarka. Posebno ističe primjer poznatog olimpijskog plivačkog prvaka Michaela Phelpsa koji, zanimljivo, ima ruke čak 10 cm duže od visine tijela.

Iz svega navedenog, postavljamo sljedeće pretpostavke:

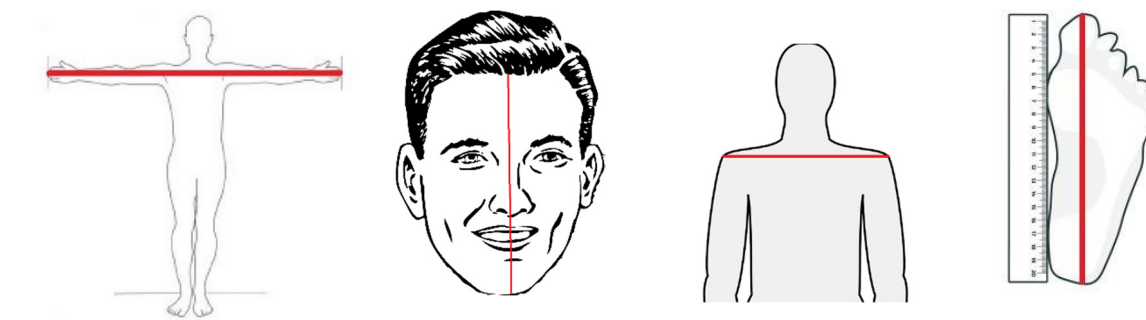
- Četiri navedene Leonardove mjere vrijede za sve naše ispitanike s mogućim odstupanjem od 10 %;
- Postoji manja razlika (do 10 %) između muškaraca i žena na način da su muškarci „bliže“ Leonardovu idealu;
- Postoji manja razlika između dobnih skupina (do 10 %), na način da su osobe srednje dobi „bliže“ Leonardovu idealu.



METODE RADA

Istraživanje je provedeno na uzorku koji predstavljaju učenici 7. i 8. razreda naše škole i njihovi ukućani. Podaci su prikupljeni po principu tzv. *citizen science* (Cambridge Dictionary, 2014), odnosno svaki je učenik, osim što je sudjelovao kao ispitanik, vršio mjerenja nekoliko svojih ukućana. Ovom je metodom omogućeno dobivanje većeg broja podataka za analizu. Kao metoda ovog istraživanja uzeto je najjednostavnije ručno mjerenje određenih veličina na ljudskom tijelu, krojačkim metrom. Podaci su uneseni izravno u Excel tablicu kojoj imaju pristup svi učenici, po razredima. Za svakog ispitanika izmjerena je: visina osobe, širina raspona ruku, širina ramena, duljina stopala i duljina lica između dna brade i početka rasta kose u centimetrima (slika 2). Ovo su duljine koje su međusobno dovedene u određene omjere, prema Vitruvijevim, a kasnije i Leonardovim mjerenjima.

Korištenjem mogućnosti programa *Excel* za matematičke izračune na velikom broju podataka, analizirano je koliko su Leonardovi omjeri primjenjivi na našem uzorku, koji od omjera je najtočniji za naš uzorak te ima li razlike među spolovima i dobnim skupinama. Korištene su formule programa *Excel* za računske operacije množenja, dijeljenja te izračun srednje vrijednosti, kao i postotak. Rezultati su prikazani grafički i tablično, a zaključci povezani sa suvremenim, nama dostupnim, znanstvenim podacima.



Slika 2 Slikovni prikaz točnih raspona mjerenih veličina (Izvori: <https://www.quora.com/What-is-the-average-arm-span-for-the-listed-heights>; <https://pixabay.com/>, <https://runrepeat.com/guides/how-to-measure-shoe-size>)

Koliko je pojedina mjera u skladu s očekivanim proporcijama ustanovili smo dijeljenjem, odnosno korištenjem sljedećih jednadžbi:

$$(1) \text{ visina tijela} / \text{širina raširenih ruku} = A$$

$$(2) (\text{visina tijela} / 10) / \text{visina lica} = B$$

$$(3) (\text{visina tijela} / 4) / \text{širina ramena} = C$$

$$(4) (\text{visina tijela} / 7) / \text{dužina stopala} = D$$

Očekivani rezultat (A, B, C, D) svih ovih jednadžbi bio je 1, budući da su uspoređene veličine koje bi po Leonardovim postavkama trebale biti jednake.

Za svakog ispitanika izračunate su vrijednosti A-D, a zatim i srednja vrijednost po određenoj veličini za ukupan broj ispitanika. Izračunato je koliko ove vrijednosti odstupaju od očekivane (1) i rezultat je izražen u postotku. Ovaj postupak ponovljen je odvojeno za mjere muškaraca i žena, te za tri dobne skupine: 5-20, 21-60 i 61-85 godina starosti ispitanika.



REZULTATI

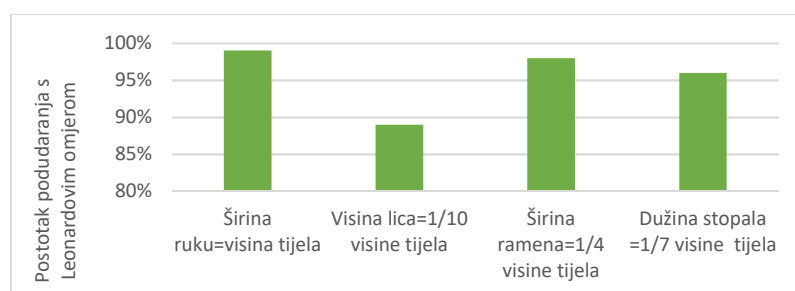
U istraživanju je sudjelovalo ukupno 35 učenika i prikupljeno 750 izmjerenih vrijednosti za 150 osoba. Uzorak ukupne tablice, kao i prikaz izračuna omjera i srednjih vrijednosti prikazan je u prilogu 1. Uz zadane mjere, prikupljeni su i podaci o dobi i spolu ispitanika, kako je prikazano u tablici 1.

Tablica 1 Prikaz ukupnog broja ispitanika po spolu i dobnoj skupini

Ukupno ispitanika	Žene	Muškarci
150	83	67
Dobne skupine		
	5-20 godina	21-60 godina
	61	75
		61-85 godina
		14

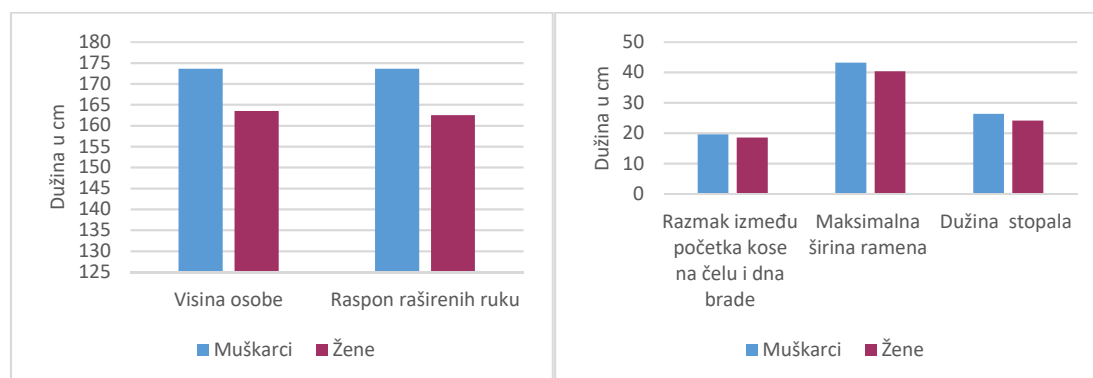
Za svaku osobu izmjerena je visina osobe, raspon raširenih ruku, visina lica, širina ramena i dužina stopala te je izračunat količnik prema jednadžbama 1-4 (prikazano u poglavlju Metode rada), koji prikazuje podudarnost s Leonardovim omjerima. Očekivana vrijednost za svaki od rezultata (A-D) bila je 1, budući da se uspoređuju (dijele) prema pretpostavci, dva ista broja. Izračunat je postotak podudaranja s očekivanim rezultatom. Ovi postoci podudaranja izraženi su u grafičkim prikazima za svaku mjerenu veličinu tijela.

Iz slike 3 vidljivo je da se najviše podudara omjer širine ruku i visine čovjeka, a najmanje omjer lica i visine. Ipak, sve proporcije su unutar 10 % odstupanja, osim visine lica koja odudara 11 % od očekivanog omjera.



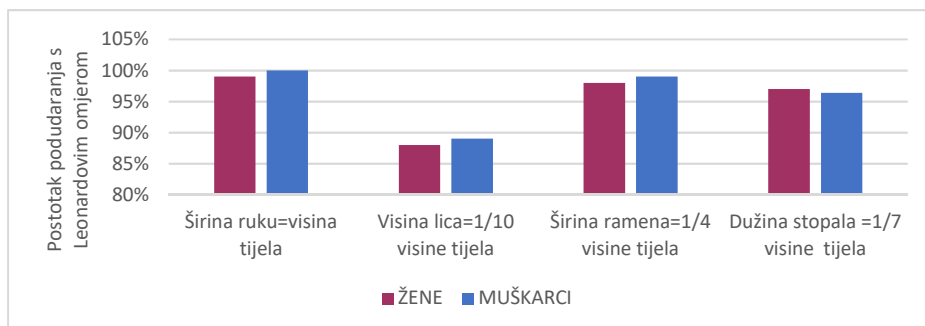
Slika 3 Ukupni rezultati podudarnosti podataka s Leonardovim omjerima

Srednje vrijednosti svake pojedine mjere tijela izračunate su zasebno za muškarce i za žene te uspoređene kako bi se naglasila apsolutna razlika u mjerama odraslih osoba različita spola, što je vidljivo na slici 4.



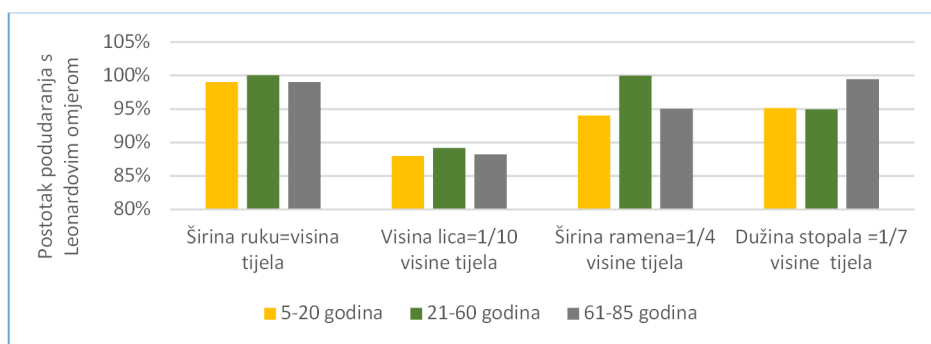
Slika 4 Usporedba apsolutnih izmjerenih veličina na muškarcima i ženama

Unatoč razlici u apsolutnim veličinama muškog i ženskog tijela, omjeri zadanih veličina pokazuju drugačije, manje razlike među spolovima. Na slici 5 dana je usporedba podudarnosti s Leonardovim proporcijama za muškarce i žene.



Slika 5 Ukupni rezultati podudarnosti podataka s Leonardovim omjerima prikazani zasebno za muškarce i žene

Uzorak ispitanika podijeljen je na tri dobne skupine te su uspoređeni postoci podudaranja sa zadanim proporcijama. Rezultati su prikazani na slici 6.



Slika 6 Ukupni rezultati podudarnosti podataka s Leonardovim omjerima prikazani po dobnim skupinama

RASPRAVA

Naša prva pretpostavka potvrđena je na ukupnom setu podataka koji uključuje sve dobne skupine i oba spola uz manju iznimku kod mjere visine lica (od vrha brade do početka rasta kose), gdje je podudaranje s Leonardovim proporcijama bilo 89 %. Ova manja razlika od očekivanog i to na način da je ova veličina (visina lica) veća od očekivane vjerojatno je rezultat nepreciznog mjerenja s obzirom da su neki učenici mjerili preko nosa, a neki pored nosa. Ovaj rezultat dakle smatramo greškom u nedovoljno preciznim uputama za mjerenje, a ne nekom značajnom iznimkom koja se pokazuje na našem uzorku.

Muško i žensko tijelo razlikuju se u apsolutnim veličinama pojedinih mjera (ramena, visina/širina ruku, stopalo), što smo potvrdili našim mjerenjima i u dostupnoj literaturi. Primjerice Saini (2023) navodi da je prosječna širina muških ramena 41,1 cm, a u žena 36,7 cm, dok naši podaci pokazuju prosjek od 43,17 za muškarce i 40,41 za žene. Bez obzira na apsolutne vrijednosti, potvrđena je razlika među spolovima, kako za ramena, tako i za ostale mjere. Visina i širina raspona ruku se razlikuju najviše, a ostale mjere slijede ih proporcionalno.

Međutim, apsolutne su mjere samo temelj za izračun zadanih omjera koje, prema pretpostavci, uspoređujemo. Naši rezultati pokazali su veće podudaranje omjera tijela muškaraca u tri od četiri



uspoređene veličine (slika 5). Jedino je omjer visine lica i tijela bio bliži očekivanom kod žena nego kod muškaraca. Dakle, razlike između muškaraca i žena pokazale su se vrlo male, ali ipak u korist muškaraca, što može biti dokaz da je većina Leonardovih mjerenja obavljena upravo na muškarcima. Ipak, ovaj podatak nismo potvrdili literaturnim navodima. Naime, Thomas i sur. (2020) proveli su neka od ovih mjerenja odvojeno na ženskoj populaciji, ali ne navode razlike od osnovnog modela, već izrađuju novi grafički prikaz ženskog tijela, čime ističu, ali ne kvantificiraju, razlike među spolovima.

Zaključujemo da su ove nađene razlike među spolovima vrlo male te bi s obzirom na metodologiju ovog istraživanja mogle biti zanemarene, odnosno da Leonardove proporcije opisuju „idealni“ oblik ljudskog tijela koji se u većoj mjeri odnosi na oba spola.

Budući da je uz crtež Vitruvijev čovjek naveden dugi niz različitih proporcija ljudskog tijela, a mi u našem radu provjeravamo samo četiri (sve u odnosu na visinu tijela), teško je napraviti usporedbu s rezultatima ostalih istraživanja koji uzimaju u obzir i neke druge proporcije iako također s ciljem „provjere točnosti“ Leonardovih zapisa.

U slikovnom prikazu distribucije rezultata po dobnim skupinama (slika 6), uočavamo da najveći postotak podudarnosti ima srednja skupina ispitanika u dobi od 20 do 60 godina starosti. Ovaj smo rezultat očekivali jer je to najvjerojatnije skupina na kojoj su i obavljena prvotna mjerenja. Ipak, kod mjere dužine stopala podudarnost je najveća za najstariju dobnu skupinu. Za ovu iznimku nismo našli potporu u literaturi, ali pretpostavljamo da bi mogla biti povezana sa smanjenjem visine starijih osoba.

Osnovni omjeri na kojima se temelji ovaj rad potječu od Vitruvija iz 1. st. pr. Kr., a u manjoj su mjeri promijenjeni od strane Leonarda da Vincija u 15. stoljeću. Uzevši u obzir sve navedene rezultate, možemo se složiti sa Thomas i sur. (2020), koji ističu da se današnja mjerenja koja koriste kompleksnije znanstvene analize ipak u značajnoj mjeri podudaraju s više od 500 godina starim crtežom jednog čovjeka. Isti autori također napominju da se ni sama Leonardova mjerenja ne trebaju uzeti s velikom preciznošću, najviše stoga što nisu poznate niti veličine uzorka niti statističke metode koje je on koristio.

Također, i naša metoda prikupljanja većeg broja podataka (tzv. *citizen science*), ostavlja mogućnost pogreške pri mjerenju ili unosu podataka.

Antropometrija je znanstvena disciplina koja se bavi mjerama i proporcijama tijela. Uz kognitivne čimbenike i čimbenike okoliša, to je poddisciplina ergonomije - znanosti o međuodnosima između rada, ljudi, radnih metoda, opreme, radnog mjesta i radne okoline (Pheasant, 2003).

Značaj antropometrijskih podataka, a posljedično i naših rezultata, potvrdili smo pronalaskom literature koja se bavi procjenom predispozicija ljudi za određeni sport, identifikacijom tijela u forenzici te prilagodbom radne opreme u ergonomiji.

ZAKLJUČCI

Našim istraživanjem, iako na relativno malom uzorku ljudi, provjeravali smo sljedeće omjere:

- dužina čovjekovih raširenih ruku jednaka je njegovoj visini
- razmak između početka kose na čelu i dna brade jest 1/10 čovjekove visine
- maksimalna širina ramena jest 1/4 čovjekove visine
- dužina čovjekovog stopala jest 1/7 njegove visine.



Dokazali smo sljedeće:

A) Svi navedeni odnosi vrijede za sve naše ispitanike uz odstupanje od maksimalno 10 % uz manju iznimku omjera visina lica i tijela gdje smo našli odstupanje od 11 %.

B) Pojedine apsolutne veličine muškog i ženskog tijela znatno razlikuju posebno u ukupnoj visini i rasponu ruku, ali omjeri pojedinih veličina ostaju unutar 10 % od Leonardovih mjera, osim mjere visine lica koja kod oba spola ima malo veće odstupanje.

C) Rezultati razvrstani u tri dobne skupine pokazuju najveću podudarnost ispitanika u dobi od 20 do 60 godina, što je očekivano, zato jer je to najveća dobna skupina, a i najvjerojatnija skupina na kojoj su obavljena sva Leonardova mjerenja. Uočenu iznimku omjera stopala i visine osobe kod najstarije populacije nismo mogli potvrditi literaturnim navodima.

Iz svega navedenog zaključujemo da Leonardove proporcije opisuju idealan oblik ljudskog tijela koji se u većoj mjeri odnosi na oba spola i gotovo je u potpunosti primjenjiv na današnju populaciju nama bliskih ljudi.

ZAHVALA

Svim učenicima i njihovim obiteljima koji su sudjelovali u prikupljanju podataka zahvaljujemo na doprinosu ovom istraživanju. Profesorici Nataši Možgon hvala na lekturi teksta ovog rada.

LITERATURA

- Cambridge Dictionary, 2014. Citizen Science, On-line URL: <https://dictionary.cambridge.org/dictionary/english/citizen-science> Pristupljeno: 15.2.2024.
- Cullen S., Fleming J., Logue D., O'Connor J., Connor, B., Cleary, J., Watson, J., Madigan, S. 2020. Anthropometric profiles of elite athletes. *Journal of Human Sport and Exercise*. 17/1. On-line URL: https://www.researchgate.net/publication/344090736_Anthropometric_profiles_of_elite_athletes Pristupljeno: 15.2.2024.
- Isaacson W. 2017. Leonardo da Vinci. Simon & Schuster.
- Magazù, S., Coletta, N., Migliardo, F. 2019. The Vitruvian Man of Leonardo da Vinci as a Representation of an Operational Approach to Knowledge. *Foundations of Science*. 24 (4): 751–773. On-line URL: [The Vitruvian Man of Leonardo da Vinci as a Representation of an Operational Approach to Knowledge](https://www.springer.com/journal/10992/issue/4) | Foundations of Science (springer.com) Pristupljeno: 23.2.2024.
- Mermier C.M., Janot J.M., Parker D.L., Swan J.G. 2000. Physiological and anthropometric determinants of sport climbing performance. *Br J Sports Med.*; 34(5):359-65. On-line URL: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/11049146/> Pristupljeno: 24.2.2024.
- Nicholson P.J. 2019. Leonardo da Vinci, The Proportions of the Human Figure (after Vitruvius), c 1490, *Occupational Medicine*, Volume 69, Issue 2, Pages 86–88. On-line URL: [Leonardo da Vinci, The Proportions of the Human Figure \(after Vitruvius\), c 1490](https://www.oxfordjournals.org/doi/full/10.1093/occmed/kqz014) | Occupational Medicine | Oxford Academic (oup.com) Pristupljeno: 23.2.2024.
- Pheasant, S. 2003. *Bodyspace. Anthropometry, Ergonomics and the Design of Work*, London, Taylor and Francis. On-line URL: <https://ftp.idu.ac.id/wp-content/uploads/ebook/ip/BUKU%20ANTROPOMETRI/Bodyspace%20Anthropometry,%20Ergonomics%20and%20the%20Design%20of%20the%20Work,%20Second%20Edition.pdf> Pristupljeno 22.2.2024.
- Stigler, S.M. 1986. *The History of Statistics: The Measurement of Uncertainty Before 1900*. Harvard University Press: Cambridge. On-line URL: <http://www.med.mcgill.ca/epidemiology/Hanley/bios601/GaussianModel/CombiningObservationsStiglerCh1.pdf> Pristupljeno: 20.2.2024.
- Thomas D.M., Galbreath D., Boucher M., Watts K. 2020. Revisiting Leonardo da Vinci's Vitruvian Man Using Contemporary Measurements. *JAMA.*; 323(22):2342-2343. On-line URL: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC7284298/> Pristupljeno: 20.2.2024.
- Trklja B. 2020. Čovjek kao model sveta- Vitruvijev čovjek Leonarda da Vinčija. On-line URL: <https://www.srbijaspaces.rs/blog/čovjek-kao-model-sveta---vitruvijev-čovjek-leonarda-da-vinčija-1470.html> Pristupljeno: 20.2.2024.



Wood R. 2008. Arm Span Measurement. Topend Sports Website, On-line URL:

<https://www.topendsports.com/testing/tests/arm-span.htm> Pristupljeno: 25.2.2024.

Shah T., Patel M.I., Nath S., Menon, S. 2015. A Model for Construction of Height and Sex from Shoulder Width, Arm Length and Foot Length by Regression Method. Journal of Forensic Science & Criminology. On-line URL: [\(PDF\) A Model for Construction of Height and Sex from Shoulder Width, Arm Length and Foot Length by Regression Method](#) (researchgate.net) Pristupljeno: 25.2.2024.

Saini V. 2023. Average Shoulder Width For Men and Women. Fitness Volt. On-line URL: <https://fitnessvolt.com/average-shoulder-width/>

Prilog 1 Isječak tablice prikupljenih podataka s primjerom izračuna omjera, srednjih vrijednosti i postotka podudaranja s Leonardovim očekivanjem (ovdje prikazane srednje vrijednosti i postotak podudaranja izračunate su na temelju ukupnih podataka)

Ime i prezime učenika	Redni broj mjerenja (različite osobe, za pojedinog učenika)	Dob osobe	Spol osobe	Visina u cm	Raspon ruku u cm	Razmak između početka kose na čelu i dna brade u cm	Maksimalna širina ramena u cm	Dužina stopala u cm	Visina tijela/Širina raširenih ruku	(Visina tijela/10)/Razmak između početka kose na čelu i dna brade u cm	(Visina tijela/4) / Širina ramena	(Visina tijela/7) /Dužina stopala
<i>Učenik 1</i>	Osoba 1	45	žensko	168	162	18	43	24	1.04	0.93	0.98	1.00
	osoba 2	84	žensko	169	160	18	43	23	1.06	0.94	0.98	1.05
	osoba 3	13	žensko	171	167	20	45	24	1.02	0.86	0.95	1.02
	osoba 4	47	muško	189	196	20	48	27	0.96	0.95	0.98	1.00
<i>Učenik 2</i>	Osoba 1	13	muško	156	151	17	35	24	1.03	0.92	1.11	0.93
	Osoba 2	48	muško	172	175	20	48	26.5	0.98	0.86	0.90	0.93
	Osoba 3	44	žensko	165	161	19.5	43	26.5	1.02	0.85	0.96	0.89
	Osoba 4	75	žensko	150	150	19	40	22.5	1.00	0.79	0.94	0.95
									..	..	..	..
								SREDNJA VRIJEDNOST:	1.01	0.89	1.02	0.95
							Postotak podudaranja		99%	89%	98%	95%

UTJECAJ DETERDŽENATA NA BRZINU RASTA I RAZVOJA GRAHA

Jana Rodeš, 8. razred

OŠ Đure Deželića Ivanić-Grad, Ivanić-Grad

Mentor: Kaja Glavaš

SAŽETAK

Deterdženti se u kućanstvima svakodnevno koriste za strojno i ručno pranje rublja i posuđa te na taj način nastaju velike količine otpadnih voda. Vodu koja u sebi sadrži različite vrste deterdženata zovemo siva voda. Ponovna uporaba sive vode u svrhu zalijevanja travnjaka i vrtova važna je za očuvanje okoliša i smanjenje potrošnje pitke vode čije su zalihe sve manje. Cilj istraživanja je utvrditi kako otopine s različitim deterdžentima utječu na klijanje sjemena i brzinu rasta graha (*Phaseolus vulgaris* L.). U istraživanju su korištene dvopopstotne otopine različitih deterdženata kojima su zalijevani posađeni uzorci dvije vrste graha – zeleni slavonski i trešnjevac. Istraživanje je provedeno tijekom veljače 2024. godine u kontroliranim uvjetima svjetlosti, temperature, vlažnosti i hranjive podloge. Posude sa posađenim sjemenkama zalijevane su svaki drugi dan jednakom količinom tekućine za zalijevanje. Promatran je početak klijanja sjemenki graha i početak pojave prvih listova. Nakon klijanja sjemenki svakodnevno se ravnalom mjerila visina izdanaka. Najveći utjecaj na sporiji rast stabljike graha imale su otopina Jara i otopina Persila, dok otopina eko-deterdženta (u odnosu na zalijevanje vodom iz slavine) nije pokazala značajan utjecaj na rast stabljike graha. Temeljem prikupljenih podataka izveden je zaključak da se uz običnu vodu iz slavine za zalijevanje biljke graha može koristiti i siva voda koja sadrži eko-deterdžent za pranje posuđa.

Glavne riječi: deterdžent; grah; izdanak; rast

UVOD

Grah (*Phaseolus vulgaris* L.) je jednogodišnja zeljasta biljka iz porodice mahunarki (*Fabaceae*) koja potječe iz Amerike. U Španjolsku je prenet u 16. stoljeću, a u naše krajeve u 17. stoljeću. Republika Hrvatska se nalazi u vrlo pogodnom geografskom području u kojem vladaju izuzetno povoljni životni uvjeti za uzgoj graha. Iako se grah prema svom porijeklu smatra biljkom kratkog dana, većina sorti je neutralna po pitanju dužine dana. Nadmorska visina nema veći utjecaj na rast i razvoj graha ako su zadovoljeni ostali životni uvjeti.

Za uspješan uzgoj graha potrebno je osigurati propusno i plodno humusno tlo pH vrijednosti između 6,5 i 7,5. Potrebe graha za vodom su umjerene, povećane u doba cvatnje. Minimalna temperatura za klijanje biljke je od 7 do 14°C, a najpovoljnija temperatura je od 18 do 23°C.

Korijen graha je vretenastog oblika sa slabo razvijenim glavnim korijenom dok su bočni korijeni dobro razvijeni i dugački (Golubov, 2018). Boja stabljike varira od zelene do ljubičasto zelene, a prema građi stabljike grah dijelimo na: visoki (*Phaseolus vulgaris* ssp. *volubilis*) i niski (*Phaseolus vulgaris* ssp. *nanus*). Listovi se pojavljuju naizmjenično na stabljici i njihova boja varira od svijetlozelene i tamnozelene do zeleno-ljubičaste kod nekih sorti. Površina listova prekrivena je finim dlačicama. Cvjetovi su leptiraste građe, dvospolni su i sastoje se od 5 zelenih lapova i 5 latica bijele, ružičaste, ljubičaste ili crvene boje. Imaju 10 prašnika od kojih je 9 međusobno sraslo, a 1 je slobodan. Sorte graha koje imaju krupnije sjeme u pravilu imaju i veći cvijet (Šepet, 2015).

Grah je samooplodna vrsta jer se oplodnja odvija prije otvaranja cvijeta, a cvijet se otvara i ostaje otvoren samo 2 do 3 dana. Rijetki slučajevi stranooplodnje pojavljuju se na cvjetovima koji su se otvorili prije oplodnje – oprašuju ih kukci (Carović-Stanko, 2022). Plod graha je mahuna koja dolazi u više različitih oblika, boja i veličina, može biti okrugla ili plosnata, dužine od 8 do 20 cm.

Sjemenke graha su različitog oblika i veličine, nalaze se u mahuni i pričvršćene su za mahunu šavom. Prema obliku ih dijelimo na okrugle, ovalne, eliptične i cilindrične (bubrežaste). Boja sjemenki može biti bijela, siva, smeđa, crna, crvena, šarena itd. U mahuni se obično nalazi 2 – 10 sjemenki. Sjemenka

graha se sastoji od sjemenke lupine, dvije supke u kojima se nalaze rezervne hranjive tvari i klice (Haramija, 2007). Supke su mesnate i biljka ih koristi za skladištenje škroba i drugih složenih molekula u sjemenu koje će se koristiti za prehranu biljke koja raste. Klijanje sjemenke je epigejsko (slika 1), što znači da supke probijaju sjemenu ljusku, izdižu se iznad površine tla, pozelene i neko vrijeme asimiliraju. Kad se potroši škrob supke postaju zelene i počinju fotosintezom stvarati hranjive tvari. U povoljnim uvjetima sjemenke mogu zadržati klijavost 4 do 5 godina. Haploidni broj kromosoma graha je $n = 11$.



Slika 1 Epigejsko klijanje i rast izdanka graha trešnjeveca Autor: J. Rodeš

Na ovo istraživanje potaknule su me spoznaje o globalnom zatopljenju i nedostatku pitke vode te predviđanja da će se u budućnosti voditi ratovi za pitku vodu. Gledajući dokumentarnu emisiju o globalnom zatopljenju postala sam svjesna da se naš planet svake godine sve više zagrijava i da sve više vode odlazi u atmosferu što za posljedicu ima suše, smanjenje vodenih resursa i nestašicu hrane.

Kućanstva, restorani, škole i uredske zgrade svakodnevno proizvode veliku količinu otpadnih voda koje potječu od umivaonika, tuša, kade, perilice rublja ili perilice posuđa. Takva voda u sebi sadrži različite deterdžente i zovemo ju siva voda. S obzirom na to da ukupna siva voda prema Svjetskoj zdravstvenoj organizaciji predstavlja više od 2/3 otpadne vode u domaćinstvu te da se preko 70 % potrošnje slatkih voda utroši za poljoprivredne potrebe, siva voda predstavlja alternativno rješenje za zalijevanje biljaka tijekom sušnih razdoblja. Ponovna uporaba sive vode pruža brojne ekonomske i ekološke prednosti, a to su prepoznale i brojne države u kojima se siva voda koristi za navodnjavanje poljoprivrednog zemljišta, travnjaka, parkova, golf terena i sl. (Dabić i sur., 2018).

Budući da siva voda iz kućanstava završava u otpadnim vodama, cilj ovog istraživanja je saznati kako različite vrste deterdženata djeluju na rast i razvoj biljke graha (*Phaseolus vulgaris* L.) i može li se siva voda iz kućanstava koristiti za navodnjavanje u vrtu i na poljoprivrednim površinama. Grah sam odabrala jer sadrži velik udio bjelančevina (često ga zovu „meso za siromahe“), bogat je ugljikohidratima, folnom kiselinom i željezom te biljnim vlaknima i najvažnije – nije skup. Smatram grah „hranom budućnosti“ jer se lako uzgaja i skladišti te može biti dostupan tijekom cijele godine.

Pretpostavke istraživanja su sljedeće:

- ☛ Grah će brže proklijati i rasti brže ako ga zalijevam vodom iz slavine nego ako ga zalijevam otopinama koje sadrže deterdžente;
- ☛ Siva voda iz kućanstava može se koristiti za navodnjavanje u vrtu i na poljoprivrednim površinama.

METODE

Istraživanje je provedeno od 13. do 29. veljače 2024. godine. Nakon odabira teme istraživačkog rada, proučena je literatura i načinjen je plan istraživanja. Za istraživanje su odabrane dvije vrste graha: zeleni slavonsac i trešnjevac (obiteljski OPG, 2 x 80 sjemenki).

Pripremljene su dvopostotne otopine različitih deterdženata (2 g deterdženta je otopljeno u 98 ml vode):

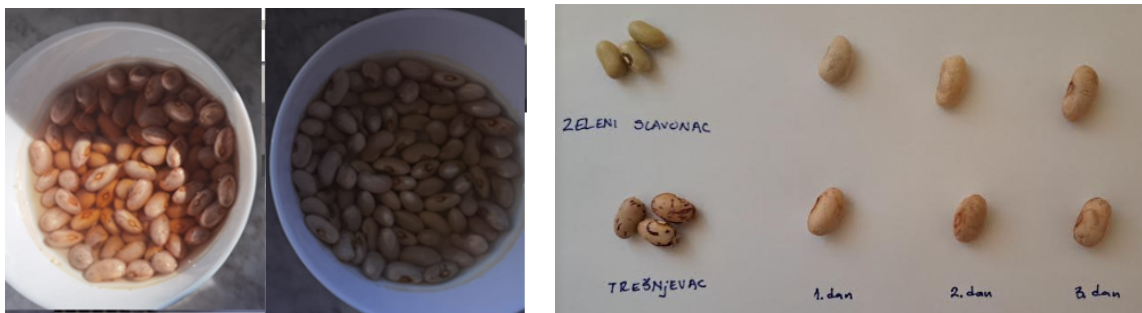
- otopina 1 - dvopostotna otopina eko-deterdženta za pranje posuđa (Ecover, ECOVER)
- otopina 2 - dvopostotna otopina deterdženta za pranje posuđa (Jar, Procter & Gamble)
- otopina 3 - dvopostotna otopina deterdženta za pranje rublja (Persil, Henkel).

U istraživanju su praćene promjene varijabli u kontroliranim uvjetima:

Zavisna varijabla – visina rasta izdanka graha

Nezavisna varijabla – tekućina za zalijevanje (voda, otopine deterdženta), vrsta graha

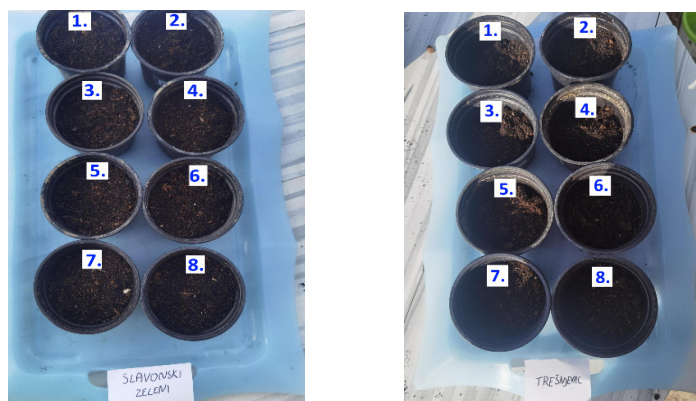
Obje vrste graha su prije sadnje namakane tri dana u vodovodnoj vodi sobne temperature kako bi se ubrzao proces klijanja biljke (slika 2).



Slika 2 Namakanje sjemenki graha (lijevo) i bubrenje sjemenki graha tijekom tri dana (desno)

Autor: J. Rodeš

U posude za sadnju stavljen je humusni supstrat, 10 nabubrenih sjemenki graha i ponovno humusni supstrat (za svaku posudu je izvagano 100 g supstrata). Odabrane su sjemenke starih sorti graha (zeleni slavonsac i trešnjevac) iz domaćeg uzgoja, jednake boje i približno jednake mase (trešnjevac od 0,55 do 0,60 g, zeleni slavonsac od 0,54 do 0,57 g), bez vidljivih vanjskih oštećenja. Posude su podijeljene u dvije skupine i označene brojevima od 1 do 8. U prvih 8 posuda posađena je sorta graha zeleni slavonsac, a u preostalih 8 posuda posađen je grah trešnjevac (slika 3).



Slika 3 Posude s posađenim sjemenkama graha zelenog slavonsca (lijevo) i graha trešnjevca (desno)

(Autor: J. Rodeš)



Posude za sadnju su izložene jednakim životnim uvjetima (intenzitet Sunčeve svjetlosti, temperatura, vlaga, hranjiva podloga). Temperatura u prostoriji tijekom izvođenja istraživačkog rada iznosila je 18°C (mjerena je svaki dan).

Zalijevanje:

- prva i druga posuda zalijevane su vodom iz slavine sobne temperature (kontrolna skupina)
- treća i četvrta posuda zalijevane su dvopostotnom otopinom eko-deterdženta sobne temperature
- peta i šesta posuda zalijevane su dvopostotnom otopinom deterdženta za pranje posuđa (Jar) sobne temperature.
- sedma i osma posuda zalijevane su dvopostotnom otopinom deterdženta za pranje rublja (Persil) sobne temperature

Zalijevanje je provedeno svaki drugi dan s 20 ml tekućine. Praćen je početak klijanja sjemenki, pojava listova na izdancima i brzina rasta izdanka graha. Promjene su svakodnevno bilježene u dnevnik i fotografirane kamerom mobitela. Rast izdanka mjeren je uz pomoć ravnala.

Postotak vidljivih izdanaka u posudama tijekom istraživanja izračunat je prema formuli:

$$\text{Postotak vidljivih izdanaka graha} = \frac{\text{broj vidljivih izdanaka u posudi}}{\text{broj posađenih sjemenki}} \times 100 \%$$

Tijekom mjerenja je uočeno da postoje razlike u dužini izdanaka u istoj posudi i zbog toga je izračunata prosječna visina izdanka u istoj posudi prema formuli za aritmetičku sredinu:

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

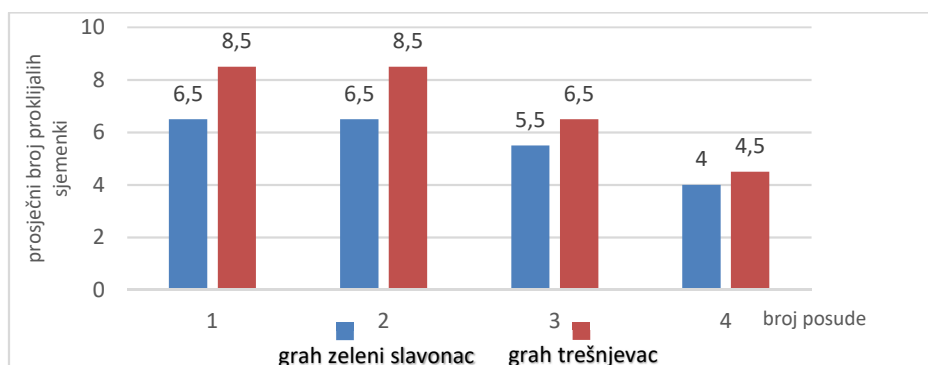
$V_{(\text{prosječna})}$ - prosječna visina izdanka

V_1, V_2, V_n - visine pojedinih izdanaka

n - ukupan broj izdanaka

REZULTATI

Uočeno je da je u posudama zalijevanim vodom iz slavine (posuda 1) i otopinom eko-deterdženta (posuda 2), kod obje promatrane sorte graha, proklijalo više sjemenki nego u posudama zalijevanim otopinom Jara (posuda 3) i otopinom Persila (posuda 4) (slika 4).



Slika 4 Usporedba prosječnog broja proklijalih sjemenki za ispitivane sorte graha

Izdanci graha u posudama koje su zalijevane otopinom Jara i otopinom Persila rasli su puno sporije u usporedbi sa izdancima iste sorte zalijevane vodom iz slavine ili otopinom eko-deterdženta (slika 5).



Slika 5 Rast izdanka graha tresnjevca (lijevo) i graha zelenog slavonsca (desno) u posudama koje su zalijevane različitim otopinama (Autor: J. Rodeš)

Mjerenje visine izdanka započeto je 18. veljače jer su se tek tada počeli pojavljivati izdanci, a zadnji dan mjerenja bio je 29. veljače. Rast izdanaka graha bio je neujednačen i u istoj posudi su se mogli vidjeti izdanci u različitim fazama razvoja. Prvi listovi na izdancima u posudama koje su zalijevane vodom iz slavine i otopinom eko deterdženta pojavili su se 24. veljače, dok su se u posudama zalijevanim otopinom Jara i otopinom Persila pojavili tek 28. veljače.

Postotak vidljivih izdanaka graha prikazan je u tablici 1, a izračunat je prema formuli:

$$\text{Postotak vidljivih izdanaka graha} = \frac{\text{broj vidljivih izdanaka u posudi}}{\text{broj posađenih sjemenki}} \times 100 \%$$

Nakon sedmog dana nije bilo promjena u pojavi novih izdanaka te podatci za preostale dane nisu navedeni u tablici 1.

Tablica 1 Postotak vidljivih izdanaka graha po danima

Tekućina za zalijevanje		1. dan (%)	2. dan (%)	3. dan (%)	4. dan (%)	5. dan (%)	6. dan (%)	7. dan (%)
		GRAH ZELENi SLAVONAC						
Voda	1. posuda	30	40	50	60	60	70	70
	2. posuda	40	50	50	50	50	60	60
Otopina eko deterdženta	3. posuda	30	40	40	50	50	60	70
	4. posuda	20	30	40	60	60	60	60
Otopina Jara	5. posuda	20	30	30	50	50	60	60
	6. posuda	20	30	40	50	50	50	50
Otopina Persila	7. posuda	20	30	40	40	50	50	50
	8. posuda	20	30	30	30	30	30	30
		GRAH TREŠNJEVAC						
		1. posuda	2. posuda	3. posuda	4. posuda	5. posuda	6. posuda	7. posuda
Voda	1. posuda	30	60	80	80	80	90	90
	2. posuda	30	50	70	70	70	80	80
Otopina eko deterdženta	3. posuda	20	40	60	70	80	80	80
	4. posuda	30	50	60	80	90	90	90
Otopina Jara	5. posuda	20	30	40	60	60	60	60
	6. posuda	30	30	40	60	70	70	70
Otopina Persila	7. posuda	0	20	30	30	40	40	40
	8. posuda	10	30	30	30	40	50	50



Budući da su uočene razlike u duljini izdanaka u istoj posudi, izračunate su prosječne duljine izdanaka. Podatci o izmjenjenim duljinama izdanaka navedeni su u tablici 2.

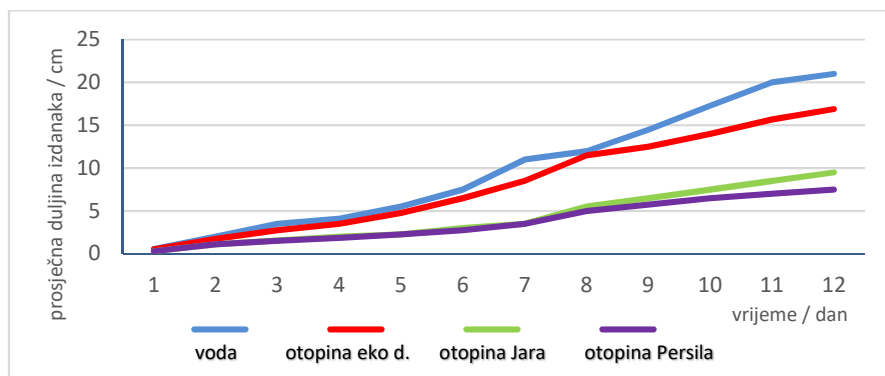
Prosječna duljina izdanka graha izračunata je kao aritmetička sredina za svaki dan prema formuli:

$$\text{Prosječna duljina izdanka} = \text{duljina izdanka u 1. mjerjenju} + \text{duljina izdanka u 2. mjerjenju} / 2$$

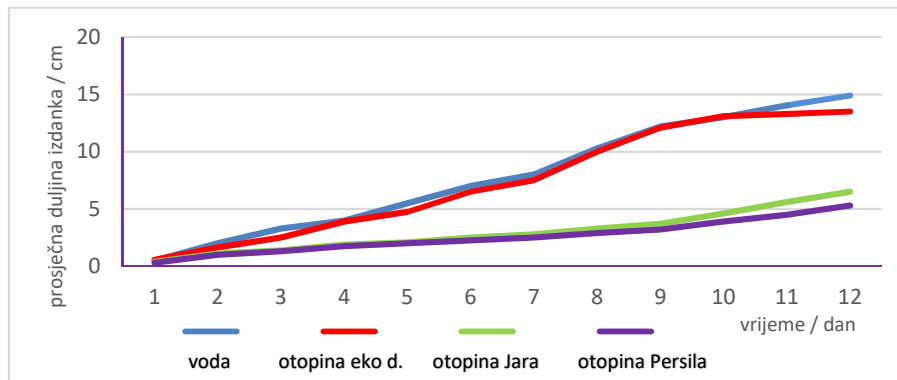
Tablica 2 Duljina izdanka graha po danima

		Visina izdanka u cm											
Tekućina za zalijevanje		SLAVONSKI ZELENI GRAH											
		1. dan	2. dan	3. dan	4. dan	5. dan	6. dan	7. dan	8. dan	9. dan	10. dan	11. dan	12. dan
Voda	1. posuda	0.5	2	3.5	4	6	8	12	13	16	19	22	23
	2. posuda	0.6	2	3.7	4.2	5	7	10	11	13	15.6	18	19
	srednja duljina	0.55	2	3.6	4.1	5.5	7.5	11	12	14.5	17.3	20	21
Otopina eko deterdženta	3. posuda	0.4	1.5	2	3	5	7	9	11	12	13	14.6	15.5
	4. posuda	0.6	2	3.5	4	4.5	6	8	10	13	15	17	18.3
	srednja duljina	0.51	1.75	2.75	3.5	4.75	6.5	8.5	11.5	12.5	14	15.7	16.9
Otopina Jara	5. posuda	0.3	1	1.5	2	2.2	3	3.4	5	6	7.1	8	9
	6. posuda	0.3	1.2	1.6	2	2.3	3	4	6	7	7.9	9	10
	srednja duljina	0.3	1.1	1.55	2	2.25	3	3.5	5.5	6.5	7.5	8.5	9.5
Otopina Persila	7. posuda	0.3	1.2	1.6	2	2.5	3	4	6	6.5	7	7.5	8
	8. posuda	0.3	1	1.4	1.7	2	2.5	3	4	5	6	6.5	7
	srednja duljina	0.3	1.1	1.5	1.85	2.25	2.75	3.5	5	5.75	6.5	7	7.5
		GRAH TREŠNJEVAC											
Voda	1. posuda	0.6	2	3.2	4	5	6.5	7.5	9.6	11.4	12	12.9	14
	2. posuda	0.4	2	3.4	4	6	7.5	8.5	11	13	14	15.2	15.8
	srednja duljina	0.5	2	3.3	4	5.5	7	8	10.3	12.2	13	14.05	14.9
Otopina eko deterdženta	3. posuda	0.5	1.5	2.5	3.8	4.5	6	7	9	11	12.2	13.6	13
	4. posuda	0.6	1.8	2.5	4	5	7	8	11	13.2	14	13	14
	srednja duljina	0.55	1.65	2.5	3.9	4.75	6.5	7.5	10	12.1	13.1	13.3	13.5
Otopina Jara	5. posuda	0.3	1	1.5	2.2	3.5	4	4.5	5	5.6	6	9	10
	6. posuda	0.3	1.2	1.8	2.4	3.7	4	4.7	6	6.6	7	10	11
	srednja duljina	0.4	1.1	1.65	2.3	3.6	4	4.6	5.5	6.1	6.5	9.5	10.5
Otopina Persila	7. posuda	0.3	1.2	1.5	1.8	2	2.3	2.6	3	3.5	4.2	6	7
	8. posuda	0.3	1	1.4	1.9	2.1	2.5	2.8	3.3	3.7	4.6	5.6	6.5
	srednja duljina	0.3	1.1	1.45	1.85	2.05	2.4	2.7	3.15	3.6	4.4	5.8	6.75

Nakon izračuna prosječnih duljina izdanaka graha grafički su prikazane brzine rasta graha zalijevanog vodom iz slavine i dvopostotnim otopinama različitih deterdženata tijekom dvanaest dana koliko je trajalo mjerenje visine izdanaka (slike 6 i 7).



Slika 6 Ovisnost prosječne duljine izdanka graha zelenog slavonsca o vremenu



Slika 7 Ovisnost prosječne duljine izdanaka graha trešnjevca o vremenu

RASPRAVA

Rast i razvoj biljaka ovisi o brojnim vanjskim čimbenicima. Smatra se da i različite tekućine za zalijevanje kao vanjski čimbenici mogu utjecati na promjene u brzini i kvaliteti rasta i razvoja biljke. Nisam pronašla konkretna istraživanja koja su ispitivala utjecaj otopine deterdženata na brzinu rasta graha ili neke druge biljke, pa ne mogu usporediti svoje rezultate sa sličnim istraživanjima. Dosadašnja istraživanja se odnose općenito na zalijevanje poljoprivrednih površina i nije ispitan utjecaj sive vode na pojedine biljke.

Praćenjem početka klijanja sjemenki i kasnije rasta izdanaka dviju sorti graha (zeleni slavonski i trešnjevac) utvrđeno je da otopine deterdženata imaju utjecaja na klijanje sjemenki i brzinu rasta izdanaka. U posudama koje su zalijevane vodom iz slavine i otopinom eko deterdženta, kod obje sorte graha je niknuo veći broj sjemenki u usporedbi sa posudama koje su zalijevane otopinom Jara i otopinom Persila. Sjeme graha trešnjevca se pokazalo kao puno bolji izbor za uzgoj u usporedbi sa sjemenom graha zelenog slavonskog jer mu je klijavost puno bolja što je dokazano ovim istraživanjem.

Također je u posudama koje su zalijevane vodom iz slavine i otopinom eko deterdženta primijećena ranija pojava listova i brži rast stabljike u odnosu na posude zalijevane otopinom Jara i otopinom Persila. Uočene razlike u brzom rastu izdanaka u posudama u kojima je posađen grah zeleni slavonski u odnosu na posude u kojima je posađen grah trešnjevac mogu se povezati sa sortama graha. Grah trešnjevac pripada sortama niskog rasta (*Phaseolus vulgaris* ssp. *nanus*) dok grah zeleni slavonski pripada sortama visokog rasta (*Phaseolus vulgaris* ssp. *volubilis*).

Dobiveni rezultati potvrđuju pretpostavku da je voda najbolja tekućina za zalijevanje biljaka. Pretpostavka o negativnom utjecaju otopine deterdženata na razvoj biljaka je djelomično potvrđena jer se otopina eko deterdženta pokazala kao dobar izbor za zalijevanje.

Kada bih ponavljala istraživački rad, u istraživanje bih uključila i druge mahunarke (grašak, bob) te bih radila ispitivanje s više eko proizvoda (eko deterdžent za pranje rublja i ekološki tekući sapuni za pranje ruku).

Preporučila bih svim ljudima korištenje eko-proizvoda za pranje rublja i pranje posuđa jer su takvi proizvodi biorazgradivi, ne zagađuju okoliš i mogu se koristiti za zalijevanje biljaka. Veliki problem za većinu ljudi predstavlja visoka cijena eko proizvoda, stoga se nadam da će u budućnosti eko proizvodi biti jeftiniji i dostupniji većem broju ljudi.



ZAKLJUČCI

Rezultati koji su prikazani u ovom samostalnom istraživačkom radu dobiveni su promatranjem utjecaja različitih otopina deterdženata na klijanje i brzinu rasta dviju sorti graha (*Phaseolus vulgaris* L.) – zeleni slavonski i trešnjevski.

Sve promatrane posude sa sjemenkama (kasnije izdancima) bile su izložene jednakim vanjskim uvjetima – hranjiva podloga, svjetlost, vlažnost i temperatura.

Na temelju dobivenih rezultata izvedeni su slijedeći zaključci:

- tekućina za zalijevanje utječe na rast biljke
- obični deterdženti nepovoljno djeluju na klijanje, rast i razvoj graha
- eko-deterdženti prisutni u sivoj vodi nemaju veći utjecaj na rast i razvoj graha
- izdanci u posudama zalijevanim vodom iz slavine i otopinom eko-deterdženta rastu brže, čvršći su i zeleniji
- siva voda u kojoj su prisutni eko-deterdženti može se koristiti za navodnjavanje u vrtu i poljoprivrednim površinama.

LITERATURA

- Carović-Stanko K., Gunjača J., Lazarević B. i Vidak M. 2022. Čarobni grah. Sveučilište u Zagrebu Agronomski fakultet i Znanstveni centar izvrsnost za bioraznolikost i molekularno oplemenjivanje bilja (Crop-BioDiv), Zagreb, str. 36-40
- Dabić B., Mladenović E. i Grabić J. 2018. Potencijali sive vode za navodnjavanje urbanog zelenila. Glasnik Šumarskog fakulteta Univerziteta u Banjoj Luci 28: 103-105.
- Golubov F. 2018. Završni rad: Tehnologija uzgoja graha (*Phaseolus vulgaris* L.), Sveučilište J. J. Strossmayera u Osijeku, Fakultet agrobiotehničkih znanosti Osijek, str. 7-9.
- Haramija J. 2007. Utjecaj kvalitete sjemena graha mahunara na klijavost te rast i razvoj klice. Sjemenarstvo 24 (2): 97-98.
- Šeput J. 2015. Završni rad: Utjecaj bakterizacije na nodulaciju i prinos graha (*Phaseolus vulgaris* L.). Sveučilište J. J. Strossmayera u Osijeku, Poljoprivredni fakultet, str. 5-9.

ZNAČAJKE CVIJETA NAŠIH PROLJETNICA POD UV ZRAČENJEM

Emilio Kanisek, 8. razred

OŠ Josip Kozarac, Josipovac Punitovački

Mentor: Aleksandra Kočić

SAŽETAK

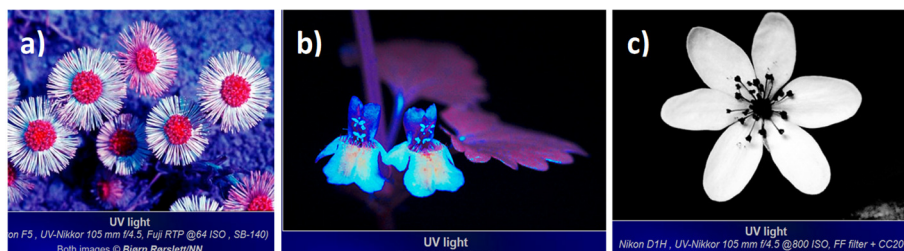
Uspjeh u privlačenju oprašivača ključan je za uspješno oprašivanje biljaka, pri čemu su boje važan posrednik u interakciji biljka-oprašivač. Vidno područje pčela obuhvaća UV valne duljine zbog čega su mnoge biljke razvile oznake koje su vidljive pod UV zračenjem. Na proljetnicama okoline Punitovaca pokušali smo utvrditi prisutnost oznaka na cvijetu vidljivih samo pod UV osvjetljenjem (365 nm) te odrediti dijelove cvijeta na kojima se nalaze. Od ukupno 45 zabilježenih biljnih vrsta, čak 69 % ih je imalo UV oznake. Utvrdili smo tri tipa oznaka: centralni krug, kontrastne oznake vjenčića gdje tučak i prašnici apsorbiraju UV svjetlost, a dio vjenčića ju reflektira te kontrastne oznake na reproduktivnim organima, uglavnom na prašnicima. 31 % biljnih vrsta nije imalo posebnih UV oznaka, dio biljaka je reflektirao UV zračenje i nije pokazivao promjene, dok je dio biljaka potpuno apsorbirao UV zračenje poprimajući tamnu boju prilikom zračenja. Osim što pomaže u privlačenju pčela, apsorpcija UV zračenja ima važnu ulogu u zaštiti reproduktivnih organa. U svijetu u kojem broj pčela naglo opada, a izloženost povećanoj količini UV zračenja raste, sposobnost biljaka da stvaraju UV oznake koje ne samo da privlače oprašivače, već ih istovremeno i štite od štetnih utjecaja UV zračenja, može biti presudna u borbi za opstanak.

Ključne riječi: boja cvijeta, UV-A zračenje, UV oznake cvijeta, oprašivanje

UVOD

Biljke koriste različite taktike za privlačenje oprašivača. Neke od njih poput šarenih boja cvijeća oduvijek privlače ljudsku pažnju, no one služe privlačenju oprašivača kao što su pčele, leptiri, muhe, kornjaši, moljci, šišmiši, a od kojih su najvažnije pčele (Gronquist i sur, 2001). U svijetu u kojem je sve manje pčela (Macgregor i Scott-Brown, 2020), uspjeh u njihovu privlačenju ključan je za uspješno oprašivanje biljke s bojom kao važnim posrednikom u njihovoj interakciji. Boja cvijeta proizlazi iz apsorpcije i refleksije svjetlosnog spektra. Dok se dio svjetlosti koja pada na cvijet apsorbira, drugi se dio reflektira. Taj reflektirani dio svjetlosti oči vide kao boju. Ljudsko oko na mrežnici sadrži osjetne stanice osjetljive na tri boje: crvenu, zelenu i plavu (valne duljine 400-760 nm). Miješanjem ove tri osnovne boje nastaje čovjeku vidljiv dio spektra. Svijet kako ga vide pčele uvelike se razlikuje. Osjetne stanice složenog oka pčela osjetljive su na tri boje, ali su one zelena, plava i ultraljubičasta (valne duljine 300-650 nm) (Verhoeven i sur, 2018). Spektar boja vidljiv pčelama pomaknut je prema UV području zbog čega su im posebno privlačne boje plava i ljubičasta (Gronquist i sur, 2001; Tunes i sur, 2021). Ultraljubičasto je područje manje zastupljeno u istraživanjima boje cvijeća, premda ga brojni autori (Lunau i sur, 2020; Tunes i sur, 2021) povezuju s pčelama kao glavnim oprašivačima.

Raznolikost boje cvijeća proteže se od jednostavne obojenosti do različitih uzoraka nastalih lokalnim nakupljanjem pigmenta. Međutim, mnogi cvjetovi koje mi vidimo kao jednoboje, sadrže oznake vidljive pod UV svjetlom zbog čega ih pčele vide potpuno drugačije. Prema nekim je istraživanjima velik udio cvijeća (čak 70 %) bez posebnih UV oznaka i uglavnom samo apsorbira UV zračenje (Lunau i sur, 2020). Istraživanja Tunes i sur. (2021) pokazuju da su UV značajke cvijeta uvelike povezane s vrstom oprašivača pa su kod cvjetova s UV oznakama glavni oprašivači pčele. Pčelama je UV svjetlost ključna u traženju nektara, pri čemu su UV oznake važan vodič za slijetanje na cvijet i pronalazak nektara.



Slika 1 Prikaz tri tipa UV oznaka: a) centralni krug na cvijetu *Tussilago farfara*, b) kontrastne oznake vjenčića, *Glechoma hederacea* i c) kontrastne oznake reproduktivnih organa, *Hepatica nobilis*. Slike preuzete s:

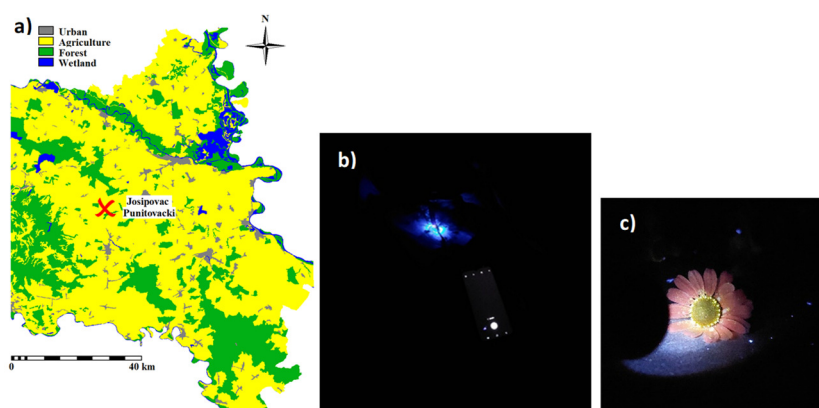
http://www.naturfotograf.com/UV_flowers_list.html

Navode se tri tipa oznaka (Gronquist i sur, 2001; Lunau i sur, 2020; Tunes i sur, 2021): centralni krug (Slika 1a), kontrastne oznake vjenčića gdje tučak i prašnici apsorbiraju UV svjetlost, a dio vjenčića ju reflektira (Slika 1b). Kontrastne oznake mogu biti i na reproduktivnim organima (prašnici, tučak; Slika 1c), a tada su uglavnom označeni prašnici (Tunes i sur, 2021).

Na području Hrvatske, prema našim saznanjima, nisu istraživane UV značajke cvjetova. Zbog toga je cilj ovog istraživanja, na proljetnicama našeg područja, utvrditi prisutnost oznaka na cvijetu vidljivih samo pod UV osvjetljenjem, te odrediti dijelove cvijeta na kojima se nalaze. Obzirom da se velik dio naših proljetnica oprašuje kukcima pretpostavljamo da će većina proljetnica imati oznake vidljive pod UV svjetlosti.

METODE RADA

Istraživane su biljne vrste šuma, travnjaka, ruderalnih površina i vrtova u fazi cvatnje iz okolice Punitovaca (Slika 2a), prikupljene tijekom veljače 2024. Rijetke i ugrožene biljne vrste prema Crvenoj knjizi vaskularne flore Hrvatske (Nikolić i Topić, 2005), Zakonu o zaštiti prirode (NN 57/11) te Pravilniku o proglašavanju divljih svojti zaštićenim i strogo zaštićenim (NN 99/09), poput jaglaca, visibaba itd. prikupljeni su isključivo iz vrtova i okućnica istraživanog područja. Tijekom terenskog istraživanja cvijeće je fotografirano *in situ*, a sakupljeni uzorci cvijeća doneseni su u prostore škole.



Slika 2 a) Prikaz područja istraživanja i naselja Josipovac Punitovački. Prikazana je karta kategorija zemljišta (poljoprivredno, šumsko, močvarno zemljište i naselja) dobivena iz CORINE land cover, b) prikaz mrakne prostorije s UV osvjetljenjem i pametnim telefonom, c) prikaz bilnog materijala pod UV osvjetljenjem.

Za procjenu UV obilježja cvijeta i snimanje UV oznaka prisutnih na cvjetovima i cvatovima korišteni su pametni telefoni REDMI 10C i Samsung Galaxy A52. Za fotografiranje su uzeta najmanje 3 primjerka iste vrste. Budući da ne posjedujemo fotografsku opremu i filtere koji bi mogli izolirati UV spektar pri

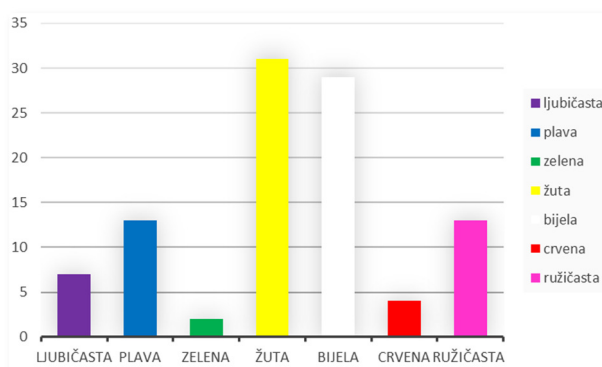


dnevnoj svjetlosti, pri fotografiranju cvijeća korištena je mračna prostorija (Slika 2b, 2c) kako bi isključili svu vidljivu svjetlost. Za istraživanje je korišten prostor i oprema Regionalnog znanstvenog centra Panonske Hrvatske (RZC PAN HR) koji se nalazi u prostorima naše škole. Posebna briga posvećena je zaštiti od raspršenog UV zračenja, uključujući nošenje zaštitnih naočala i zaštitne odjeće.

Snimanje UV oznaka ograničeno je unutar UV-A područja zračenja, a u skladu s vidom pčela koje obuhvaća UV područje od 300 do 400 nm, kao i CMOS senzorima u kamerama pametnih telefona koji su osjetljivi na UV A zračenje i mogu se koristiti za snimanje valnih duljina iznad 350 nm, pri čemu je potrebno koristiti dodatan izvor UV zračenja (Igoe i sur, 2013). Većina fluorescencija javlja se na valnim duljinama od oko 360 nm (Igoe i sur, 2013; Verhoeven i sur, 2018), pa je za osvjetljavanje cvjetova korištena UV baterijska lampa (Alonefire SV643W) koja emitira UV zračenje valne duljine 365 nm, što okvirno predstavlja sredinu vidnog područja pčela.

REZULTATI

Tijekom veljače 2024. godine, zabilježeno je ukupno 45 različitih biljnih vrsta iz 20 porodica (Tablica 1, Prilog 1), koje su najvećim dijelom prikupljene u vrtovima i okućnicama okolice Punitovaca, a manjim dijelom na travnjacima i rubovima šuma. Među različitim bojama cvjetova prikupljenih ranih proljetnica prevladavale su žute (31 %) i bijele boje (29 %) cvijeta, zatim plave (13 %), ružičaste (13 %) i ljubičaste (7 %). Najmanje je bilo crvenih (4 %) i zelenih (2 %) cvjetova (Slika 3).

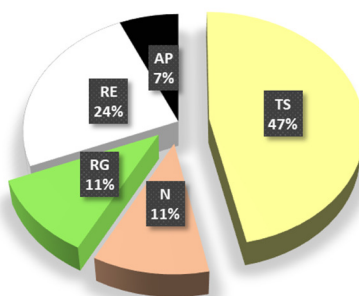


Slika 3 Raspodjela boje cvjetova istraživanih ranih proljetnica na području Punitovaca

Kako je UV svjetlost nama nevidljiva, ne prepoznavamo ju kao boju, već reflektiranu UV svjetlost prepoznavamo kao svijetla, a apsorbiranu kao tamna područja. Korištenjem UV svjetlosti u mračnoj prostoriji i fotografiranjem pametnim telefonima uspjeli smo detektirati UV uzorke na istraživanim cvjetovima, što pokazuje usporedba s istraživanjima Verhoeven i sur (2018), Tunes i sur. (2021), Lunau i sur. (2020), te fotografijama na internetskim stranicama

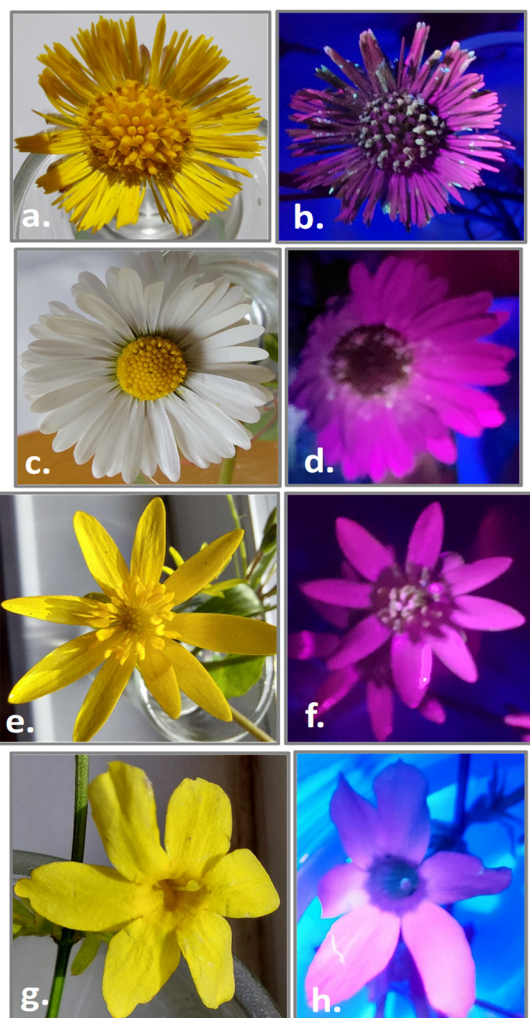
(http://www.naturfotograf.com/UV_flowers_list.html#ASTERACX, 2024).

Od ukupno 45 zabilježenih biljnih vrsta čak 69 % ih je imalo UV oznake (Slika 4).

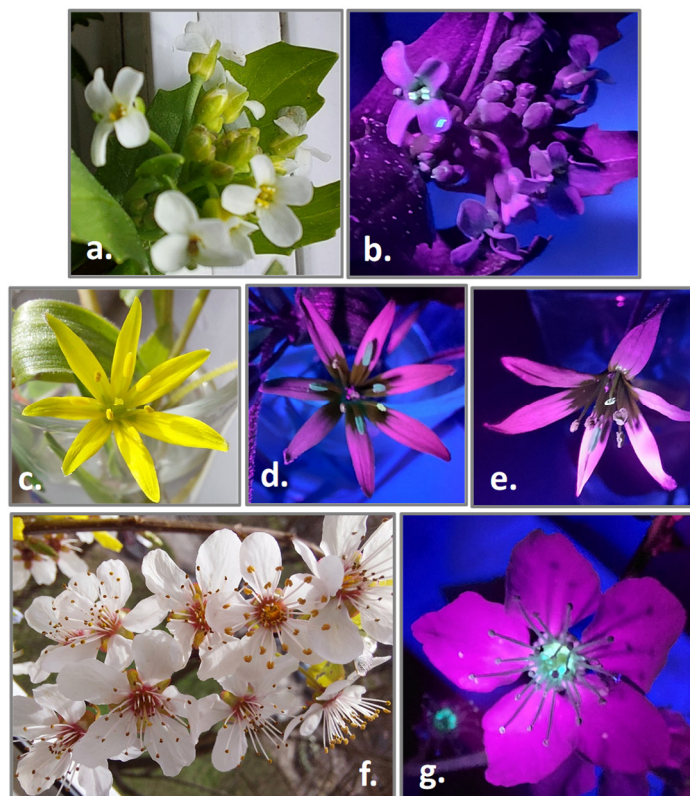


Slika 4 Raspodjela UV oznaka među istraživanim proljetnicama okolice Punitovaca. Prikazan je udio biljnih vrsta s centralnim krugom (TS), kontrastne oznake vjenčića koje vode do nektara (N), kontrastne oznake reproduktivnih organa (RG), biljne vrste koje reflektiraju UV zračenje (RE) i one koje apsorbiraju UV zračenje (AP)

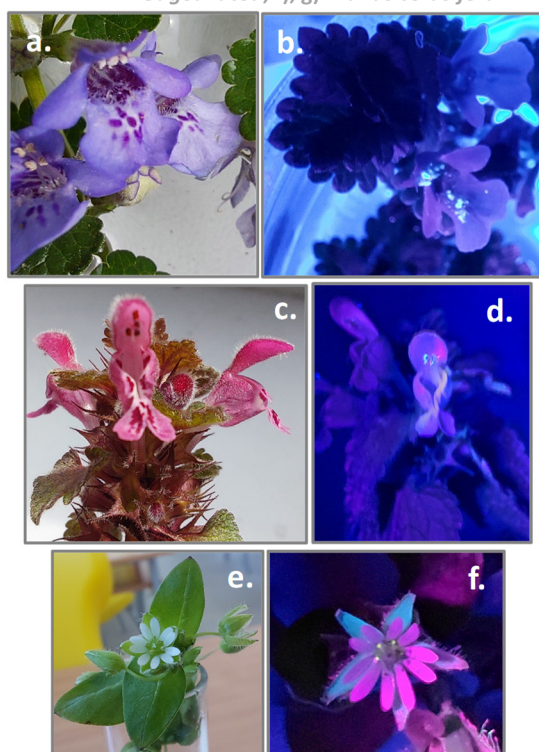
Pod UV osvjetljenjem najveći je broj biljnih vrsta (Slika 5) imao centralni krug na cvijetu (TS, 47 %). 11 % biljaka imao je UV oznake usmjerene prema nektaru (Slika 6) ili reproduktivnim organima (N, 11 %), dok je 11 % biljaka imao kontrastne reproduktivne organe (RG, 11 %), (Slika 7).



Slika 5 Centralni krug u obliku tamne centralne zone pod UV zračenjem (desni red) na primjerima a), b) *Tussilago farfara*, c), d) *Bellis perennis*, e), f) *Ranunculus ficaria*, g), h) *Jasminum nudiflorum*.



Slika 6 Kontrastne oznake vjenčića, nektara i reproduktivnih organa na primjerima a), b) *Calepina irregularis*, c), d), e) *Gagea lutea*, f), g) *Prunus cerasifera*

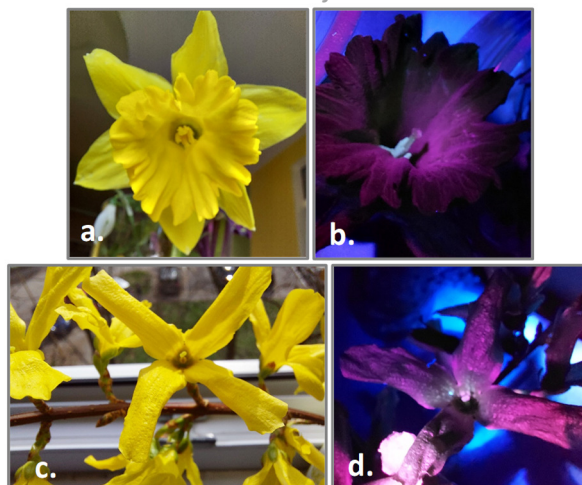


Slika 7 Kontrastne oznake vjenčića, nektara i reproduktivnih organa na primjerima a), b) *Glechoma hederacea*, c), d) *Lamium purpureum*, e), f) *Stellaria media*

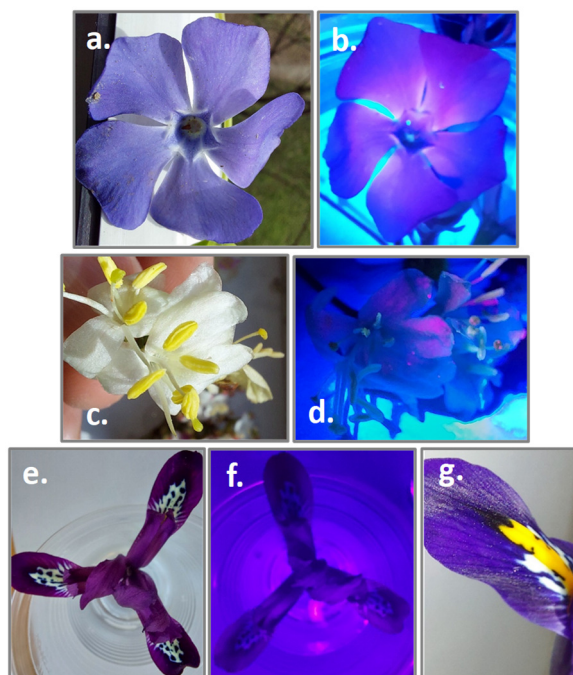
31 % biljnih vrsta nije imalo posebnih UV oznaka pa je onih koje reflektiraju UV svjetlost (RE) i ne pokazuju nikakve promijene pod UV zračenjem (Slika 9) zabilježeno 24 %, a cvjetova biljnih vrsta koje potpuno apsorbiraju UV svjetlost (Slika 7) i potpuno su tamne pod UV zračenjem (AP) zabilježeno 7 %.



Slika 8 Prašnici reflektiraju odnosno apsorbiraju UV zračenje ovisno o fazi sazrijevanja cvijeta na primjeru vrste *Scilla bifolia*



Slika 9 Biljne vrste koje apsorbiraju UV zračenje na primjerima a), b) *Narcissus pseudonarcissus*, c), d) *Forsythia europaea*



Slika 10 Biljne vrste koje reflektiraju UV zračenje i nisu zabilježene UV oznake na primjerima a), b) *Vinca minor*, c), d) *Lonicera fragrantissima*, e), f), g) *Iris reticulata*



RASPRAVA

U provedenom istraživanju velik dio naših ranih proljetnica, njih čak 69 %, imalo je oznake na cvijetu vidljive samo pod UV zračenjem, kao što su centralni krug (TS), kontrastne oznake vjenčića gdje tučak i prašnici apsorbiraju UV svjetlost, a dio vjenčića ju reflektira (N), te kontrastne oznake na reproduktivnim organima, gdje su većinom označeni prašnici (RG). Tunes i sur. (2021) navode da su UV značajke cvijeta uvelike povezane s vrstom oparašivača, pa su cvjetovima s UV oznakama glavni oparašivači pčele. Time smo potvrdili pretpostavku da se većina naših proljetnica oparašuje upravo pčelama. UV svjetlost je ljudima nevidljiva i nema posebnu boju. Područja cvijeta na kojima se UV svjetlost reflektira su svijetla, dok su tamna područja ona gdje se UV svjetlost apsorbira (Lunau i sur., 2020). U našem je istraživanju centralni krug (TS) jasno vidljiv kod 47 % biljnih vrsta. Lijepo je vidljiv kod vrsta *Taraxacum officinale*, *Tussilago farfara*, *Bellis perennis* i *Ranunculus ficaria* (Slika 5). Centralni krug u obliku tamne centralne zone koji nastaje apsorpcijom UV zračenja daje snažan kontrast svijetlom vanjskom dijelu cvijeta (vanjski dijelovi latica, ili vanjski dijelovi cvata kod glavočika) na kojem dolazi do refleksije UV zračenja. Kontrast cvjetnih boja i pozadine, oparašivačima je ključan za primjećivanje cvijeta iz daljine (Gronquist i sur., 2001; Tunes i sur., 2021), dok su oznake nektara i spolnih organa cvijeta važni za orijentaciju na kraćoj udaljenosti (Lunau i sur., 2020).

Cvjetni uzorci s oznakama nektara mogu se vidjeti kod vrste *Glechoma hederacea* (Slika 7 a, b), *Lamium purpureum* (Slika 7 c, d) i *Prunus cerasifera* (Slika 6 f, g) gdje ocvijeće ima područja s jakom refleksijom UV zračenja što izaziva svjetlucanje. Posebno je zanimljiva vrsta *Stellaria media* (Slika 7 e, f) jednostavnog, nama neuglednog bijelog cvijeta. Pod UV svjetlom centralni dio cvijeta sa slabom refleksijom (tučak i prašnici) zajedno s jakom UV refleksijom latica stvara kontrastne zone zanimljive oparašivačima.

Kontrastne oznake reproduktivnih organa kod većine zabilježenih vrsta znače da tučak i prašnici apsorbiraju UV zračenje, pri čemu je apsorpcija povezana sa zaštitom peluda (Lunau i sur., 2020). Uzorci na cvijetu vidljivi pod UV zračenjem mogu biti stalna karakteristika cvijeta, ali se mogu pojavljivati i povremeno (Gronquist i sur., 2001), pa kod vrste *Scilla bifolia* (Slika 8) prašnici i pelud reflektiraju odnosno apsorbiraju svjetlost ovisno o fazi sazrijevanja cvijeta. Slična zapažanja navode Verhoeven i sur. (2018) kod vrste *Myosotis arvensis*.

Osim što stvaraju kontrast i privlače oparašivače, pigmenti koji apsorbiraju UV zračenje pružaju važnu zaštitu reproduktivnim organima. Na primjer, centralni krug, koji apsorbira UV zračenje, pruža posebnu zaštitu smanjujući refleksiju UV svjetla od lapova do prašnika (Tunes i sur., 2021), pri čemu ima važnu ulogu u zaštiti peluda (Lunau i sur., 2020).

U našem je istraživanju zabilježeno čak 24 % biljnih vrsta koje reflektiraju svjetlost i nemaju posebnih UV oznaka. Tunes i sur. (2021) navode da u takvim slučajevima oparašivači nisu pčele, već je biljna vrsta usmjerena prema oparašivačima koji vide druge boje izvan UV spektra. Za neke vrste koje smo zabilježili, a reflektiraju UV zračenje je to točno, pa su glavni oparašivači vrste *Magnolia liliflora* kornjaši (Allain i sur., 1999). Međutim, cvijet vrste *Iris reticulata* nema posebnih UV oznaka na cvijetu, a oparašuju ga pčele (Slika 10 e, f). S jedne strane, to je cvijet ljubičastih latica sa šarenim oznakama na vjenčiću (Slika 10 g) koje mogu vidjeti i kukci. S druge strane, najprivlačnije boje pčelama su ljubičasta i plava (Tunes i sur., 2021), a povezuju ih s obiljem nektara u usporedbi s drugim bojama (Lunau i sur.,



2020), zbog čega nije potrebno dodatno ulaganje u posebne UV oznaka. Osim bojom, velikom količinom nektara i šarenim oznakama, snažan miris vrste *I. reticulata*, također je važan u privlačenju pčela (Bisrat i Jung, 2022).

Oprašivači, osobito pčele vrlo lako povezuju značajke cvijeta poput boje, mirisa, i oblika s količinom nektara i peluda koju dobiju na cvijetu. Za učinkovito pronalaženje biljke domaćina, stoga često koriste i druga osjetila (Tunes i sur., 2021, Bisrat i Jung, 2022). Pčele se često oslanjaju na miris jer ga lako prepoznaju na većim udaljenostima (Bisrat i Jung, 2022). Vrsta *Lonicera fragrantissima* koja je jednostavne bijele boje i nema posebnih UV oznaka, pčele privlači svojim snažnim mirisom (Feng i sur., 2022). Miris je osobito važan kod biljaka koje cvjetaju noću i u velikoj ga mjeri koriste za privlačenje oprašivača. Snažnim mirisom, vrsta *L. fragrantissima*, osigurava osim oprašivanja pčelama danju i oprašivanje drugim vrstama kukaca noću (Macgregor i Scott-Brown, 2020).

Osvjetljavanje na valnoj duljini od 365 nm, koje predstavlja otprilike sredinu UV vidnog područja pčela, kao i snimanje pametnim telefonima pokazalo se učinkovitim u svrhu otkrivanja oznaka na cvjetovima vidljivih pod UV zračenjem. Za istraživanja punog UV spektra kojeg vide pčele (300-400 nm) potrebna je posebna oprema. Naime, u UV fotografiji, problem predstavljaju leće kamera napravljene od stakla. One propuštaju valne duljine UV spektra iznad 350 nm, ali apsorbiraju one niže od 350 nm (Igoe i sur., 2013). Za takva se snimanja zato koriste posebno izrađene leće od kvarca ili fluorita ili posebna oprema koja uključuje kamere punog spektra i filtere koji propuštaju potrebne valne duljine (Lunau i sur., 2020). Takve kamere omogućuju fotografiranje svih valnih duljina pri punom osvjetljenju. Kako bi, na primjer, dočarali boju cvijeta kako ju vide pčele, na takvoj bi kameri bila potrebna upotreba filtera koji propuštaju valne duljine spektra (300-650 nm) kojeg vide pčele (Verhoeven i sur., 2018), što bi bio vrlo zanimljiv nastavak našeg istraživanja. Osim toga, za dodatnu emisiju punog UV spektra, morali bi se koristiti različiti izvori svjetlosti poput živinih, ksenonskih i halogenih lampa čime bi istraživanje značajno poskupjelo.

Ovim smo jednostavnim istraživanjem dali uvid u vrlo široko područje boja i pokazali na neuglednim, jednostavnim cvjetovima vrlo zanimljive uzorke pod UV zračenjem koji su našem oku nevidljivi. S obzirom na zaštitnu ulogu pigmenata, bilo bi zanimljivo usporediti spektar UV oznaka na cvjetovima ljetnih vrsta kada je jačina UV zračenja veća. Tematika je posebno zanimljiva kada uzmemo u obzir da živimo u svijetu u kojem je sve manje pčela, i u kojem njihovo privlačenje biljkama postaje sve veća borba za opstanak.

ZAKLJUČCI

Korištena metoda pokazala se učinkovitom u detekciji najvažnijih UV oznaka na cvijetu. Većina naših proljetnica ima razvijene UV oznake, što govori u prilog oprašivanju pčelama.

Kontrast cvjetnih boja i pozadine i centralni krug ključni su za primjećivanje cvijeta s većih udaljenosti, dok su cvjetni uzorci s oznakama nektara i spolnih organa važni za orijentaciju na kraćim udaljenostima. Biljke koje nemaju razvijene UV oznake oprašuju druge vrste organizama, ili ih pčele pronalaze drugim osjetilima kao što su miris i dodir.



Osim u privlačenju pčela, apsorpcija UV zračenja predstavlja važnu zaštitu reproduktivnih organa. U svijetu u kojem broj pčela naglo opada, a izloženost povećanoj količini UV zračenja raste, sposobnost biljaka da stvaraju UV oznake koje osim što privlače oprašivače, štite i cvijet od štetnih utjecaja UV zračenja, može biti presudna u borbi za opstanak.

ZAHVALA

Zahvaljujemo se matičnoj školi OŠ Josip Kozarac, Josipovac Punitovački, posebno ravnateljici Sanji Kanisek Kuric te Regionalnom znanstvenom centru Panonske Hrvatske (RZC PAN) na osiguranoj podršci i prostoru u kojem smo obavili istraživački rad.

LITERATURA

- Allain L.K., Zavada M.S., Matthews D.G. 1999. The reproductive biology of *Magnolia grandiflora*. *Rhodora* 101(906): 143-162.
- Bisrat D., Jung C. 2022. Roles of flower scent in bee-flower mediations: a review. *Journal of Ecology and Environment* 46: 03. <https://doi.org/10.5141/jee.21.00075>
- Feng H-H., Wang X-Y., Luo Y-B., Huang S-Q. 2022. Floral scent emission is the highest at the second night of anthesis in *Lonicera japonica* (Caprifoliaceae). *Journal of Systematics & Evolution* 61(3): 530-537. <https://doi.org/10.1111/jse.12916>
- Gronquist M., Bezzerides A., Attygalle A., Meinwald J., Eisner M., Eisner T. 2001. Attractive and defensive functions of the ultraviolet pigments of a flower (*Hypericum calycinum*). *PNAS* 98 (24): 13745-13750, <https://doi.org/10.1073/pnas.231471698>
- Igoe D., Parisi A., Carter B. 2013. Characterization of a smartphone camera's response to ultraviolet A radiation. *Photochem Photobiol.* 89(1): 215-8. <https://doi.org/10.1111/j.1751-1097.2012.01216.x>
- Lunau K., Ren Z.X., Fan X.Q. i sur. 2020. Nectar mimicry: a new phenomenon. *Sci Rep* 10: 7039. <https://doi.org/10.1038/s41598-020-63997-3>
- Macgregor C.J., Scott-Brown A.S. 2020. Nocturnal pollination: an overlooked ecosystem service vulnerable to environmental change. *Emerging Topics in Life Sciences* 4 (1): 19-32. <https://doi.org/10.1042/ETLS20190134>
- Naturfotograf. Prikaz UV oznaka cvijeća, http://www.naturfotograf.com/UV_flowers_list.html#ASTERACX, pristupljeno 10.2.2024.
- Nikolić T., Topić J. 2005. Crvena knjiga vaskularne flore Hrvatske. Ministarstvo kulture, Državni zavod za zaštitu prirode, Zagreb.
- NN 57/11. Zakon o zaštiti prirode (NN 70/05, 139/08, 57/11). <https://www.zakon.hr/z/403/zakon-o-za%C5%A1titi-prirode>
- NN 99/09. Pravilnik o proglašavanju divljih svojti zaštićenim i strogo zaštićenim (NN 99/09). https://narodne-novine.nn.hr/clanci/sluzbeni/2009_08_99_2569.html
- Tunes P., Camargo M.G.G., Guimarães E. 2021. Floral UV Features of Plant Species From a Neotropical Savanna. *Front. Plant Sci.* 12: 618028. <https://doi.org/10.3389/fpls.2021.618028>
- Verhoeven C., Ren Z.-X., Lunau K. 2018. False-colour photography: a novel digital approach to visualize the bee view of flowers. *Journal of Pollination Ecology* 23 (12): 102-118.

PRILOG

Prilog 1. Popis istraživanih proljetnica okolice Punitovaca, s opisom boje cvijeta/cvata i UV oznakama.

Ime vrste	Hrvatsko ime	Porodica	Boja	UV oznake
<i>Viola tricolor</i> L.	Mačuhica	Violaceae	žuta, gornje dvije latice ljubičaste	tamno središte cvijeta
<i>Viola arvensis</i> Murr.	Poljska ljubica	Violaceae	žuta	nema
<i>Viola odorata</i> L.	Mirisava ljubica	Violaceae	ljubičasta	nema, tamno središte cvijeta
<i>Viola alba</i> Bess.	Bijela ljubica	Violaceae	bijela	nema, tamno središte cvijeta
<i>Primula vulgaris</i> Huds.	Rani jaglac	Primulaceae	žuta	tamno središte cvijeta
<i>Capsella bursa pastoris</i> (L.) Med.	Prava rusomača	Brassicaceae	bijela	tamno središte cvijeta
<i>Arabidopsis thaliana</i> L.	Talijin uročnjak	Brassicaceae	bijela	tamno središte cvijeta
<i>Draba praecox</i> Stev.	Rani gladuš	Brassicaceae	bijela	tamno središte cvijeta
<i>Taraxacum officinale</i> Web.	Ljekoviti maslačak	Asteraceae	žuta	tamno središte cvata
<i>Bellis perennis</i> L.	Obična tratinčica	Asteraceae	unutarnji cvjetovi žuti, vanjski jezičasti bijeli	tamno središte cvata
<i>Tussilago farfara</i> L.	Proljetni podbjel	Asteraceae	žuta	tamno središte cvata
<i>Senecio vulgaris</i> L.	Obični staračac	Asteraceae	žuta	taman cvat
<i>Galanthus nivalis</i> L.	Visibaba	Amaryllidaceae	bijela, unutarnji listovi perianta na vrhu zelenkasti	nema
<i>Scilla bifolia</i> L.	Dvolisni procjepak	Liliaceae	ljubičasta	tamni prašnici
<i>Iris reticulata</i> M. Bieb.	Proljetna perunika	Iridaceae	ljubičasta	nema



Ime vrste	Hrvatsko ime	Porodica	Boja	UV oznake
<i>Lamium purpureum</i> L.	Grimizna mrtva koprija	Lamiaceae	ružičasta	svijetle šare
<i>Veronica tornefortii</i> Gmel.	Perzijska čestoslavica	Scrophulariaceae	svijetlomodra	tamno središte
<i>Veronica arvensis</i> L.	Poljska čestoslavica	Scrophulariaceae	svijetlomodra	tamno središte
<i>Stellaria media</i> (L.) Vill.	Srednja mišjakinja	Caryophyllaceae	bijela	kontrast lapovi latice, tamno središte, svijetli prašnici
<i>Cerastium arvense</i> L.	Poljski rožac	Caryophyllaceae	bijela	tamno središte
<i>Helleborus odoratus</i> W.K.	Mirisavi kukurijek	Ranunculaceae	zelena	nema
<i>Crocus neapolitanus</i> (Ker-Gawl.) Mord. Et Lois.	Proljetni podlesak	Iridaceae	ružičasta, ždrijelo perianta bijelo	tamni prašnici
<i>Hyacinthus orientalis</i> L.	Istočnjački zumbul	Liliaceae	ružičasta	nema
<i>Muscari comosum</i> (L.) Mill.	Kitnjasta preslička	Liliaceae	plava	nema
<i>Rosmarinus officinalis</i> L.	Ružmarin	Lamiaceae	svijetlomodra	nema
<i>Prunus cerasifera</i> Ehrh.	Zerdelija	Rosaceae	bijela	svijetlo središte i prašnici
<i>Saxifraga x arendsii</i> Engl.	kamenika	Saxifragaceae	bijela	tamno središte
<i>Ranunculus ficaria</i> L.	Zlatica	Ranunculaceae	žuta	tamno središte
<i>Cornus mas</i> L.	Drijen	Cornaceae	žuta	taman, svijetli prašnici
<i>Narcissus pseudonarcissus</i> L.	Žuti sunovrat	Amaryllidaceae	žuta	taman, svijetli prašnici
<i>Tulipa praecox</i> Ten.	Rani tulipan	Liliaceae	crvena, baza crna pjega	svijetlo središte cvijeta
<i>Chaenomeles speciosa</i> (Sweet.) Nakai	Japanska dunja	Rosaceae	crvena	nema
<i>Forsythia europaea</i> Deg. Et. Bald.	Europska forsitijska	Oleaceae	žuta	nema
<i>Lonicera fragrantissima</i> Lindl. & Paxton	kozokrvina	Caprifoliaceae	bijela	nema
<i>Bergenia cordifolia</i> Moench.	Srčolista bergenija	Saxifragaceae	ružičasta	tamno središte
<i>Viburnum x bodnantense</i> Aberc. Ex Stearn.	Udikovina	Caprifoliaceae	bijela	tamni prašnici
<i>Erodium cicutarium</i> (L.) L'Her.	Kratkokljuni čapljan	Geraniaceae	ružičasta	tamno središte, oznake na dnu latice
<i>Veronica hederifolia</i> L.	Bršljenasta čestoslavica	Scrophulariaceae	bijela	tamno središte
<i>Mahonia aquifolium</i> (Pursh) Nutt.	Vazdazelena mahonija	Berberidaceae	žuta	nema
<i>Calepina irregularis</i> (Asso) Thell.	Nepravilna gorušika	Brassicaceae	bijela	svijetli prašnici
<i>Vinca minor</i> L.	Mali zimzelen	Apocynaceae	modroljubičast	nema
<i>Glechoma hederacea</i> L.	Puzava dobričica	Lamiaceae	modroljubičast	svijetle šare
<i>Gagea lutea</i> (L.) Ker.G.	Žuto baloče	Liliaceae	žuta	tamno središte, svijetli prašnici
<i>Jasminum nudiflorum</i> Lindl.	Zimski jasmin	Oleaceae	žuta	tamno središte
<i>Magnolia liliflora</i> Desr.	Ljiljanocvjetna magnolija	Magnoliaceae	ružičasta	nema

UTJECAJ PROMJENE TEMPERATURE OKOLIŠA NA DOZIVNU PJESMU JAMAJČANSKOG POLJSKOG ZRIKAVCA *Gryllus assimilis*

Sara Mandić, 1. razred

II. gimnazija, Zagreb

Mentor: Katarina Medić

SAŽETAK

Zrikavci ili dugoticalci su podred ravnokrilaca koji kao stridulacijski organ za oglašavanje koriste prednja krila. Glasaju se tarući nazubljena prednja krila jedno o drugo, dok su im timpanalni organi za primanje zvučnih valova smješteni na goljenicama prednjih nogu. Odnos između dinamike zrikanja i temperature opisan je kao Dolbearov zakon koji sugerira primjenu pjesme zrikavaca kao termometra jer brzina zrikanja raste linearno s temperaturom, što je bio cilj potvrditi ovim istraživanjem. Korišteno je 15 odraslih mužjaka vrste *Gryllus assimilis* s potpuno razvijenim krilima, čija je dozivna pjesma snimana pri različitim temperaturama. Pomoću uzročno posljedičnih veza mehanike zatvaranja i otvaranja krila razlučene su i povezane komponente zvuka dozivne pjesme zrikavaca koje su dovele do pojašnjavanja Dolbearovog zakona. Duljina trajanja "pulsa", "interpulsa", zrika kao i "intertrilla" skratila se povišenjem temperature okoliša što je rezultiralo povećanjem brzine dozivne pjesme, dok su broj zrikova i vršna frekvencija rasli s temperaturom. Broj pulsova po zriku ostao je nepromijenjen. Učinci temperature na dozivnu pjesmu manifestirali su se u finoj strukturi pjesme što postavlja pitanje o mogućoj promjeni interseksualne komunikacije kao prijedloga za daljnja proučavanja. Istraživanjem je također ponuđena ideja za jednostavnu metodologiju kojom bi se zrikavci mogli koristiti kao živi termometri, odnosno pokazatelji promjene temperature okoliša.

Ključne riječi: stridulacijski organ; zrik; intertrill; vršna frekvencija; Dolbearov zakon

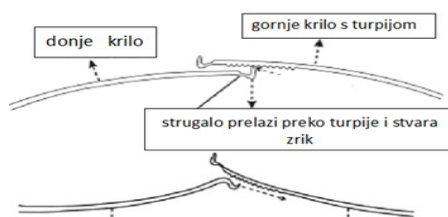
UVOD

Red Orthoptera (hrv. ravnokrilci), unutar razreda Insecta (hrv. kukci), obuhvaća 29 300 vrsta smještenih u podredove Caelifera (hrv. skakavci ili kratkoticalci) i Ensifera (hrv. zrikavci ili dugoticalci) (Cigliano i sur., 2022). Pripadnici reda različitih su oblika tijela, a sve ih karakterizira: kriptopleuron, treći par dugih nogu s jakim bedrom za skakanje (neke skupine ih koriste za glasanje, stridulaciju), dva para krila od kojih su prednja krila (tegmen) kožasta i imaju ulogu zaštite i koriste ih za glasanje te stražnja krila koja su membranozna i služe za letenje i naposljetku timpanalni organi za primanje zvuka (Skejo i sur., 2018; Habdija i sur., 2011). Ravnokrilci su hemimetabolni kukci, što znači da prolaze nepotpunu preobrazbu u kojoj mlada jedinka imenom nimfa nalikuje odrasloj jedinki, a postupnim presvlačenjem razvija funkcionalne spolne organe i krila (ako ih vrsta ima). Prisutan je spolni dimorfizam koji se prvenstveno očituje u tome da ženke posjeduju leglicu (izraženije kod zrikavaca), ali su često krupnije od mužjaka. Brojni ravnokrilci glasaju se stridulacijom, proizvode zvuk tarući jedan dio tijela o drugi. Stridulacija je karakteristična za pojedinu vrstu i ima važnu ulogu u životnim procesima - od komunikacije do obrane i označavanja teritorija, a većinom se glasaju mužjaci (Habdija i sur., 2011).

Zrikavci ili dugoticalci su podred ravnokrilaca, čiji su pripadnici karakteristični po dugim ticalima koja se sastoje od nekoliko stotina članka. Glasaju se tarući prednja krila jedno o drugo, a timpanalni organi za primanje zvučnih valova smješteni su na goljenicama prednjih nogu. Timpanalni organi mogu biti prilično različite građe, međutim njihovi osnovni dijelovi su vrlo slični. Sastoje se od čvrstog obruča preko kojeg je napeta opna, ispod koje je prošireni mjehur s osjetnim stanicama. Ženke imaju dugu leglicu (Habdija i sur., 2011; Skejo i sur., 2018). Za razliku od skakavaca, uglavnom su noćne vrste, odnosno vrste koje su aktivne noću. Imaju širi raspon prehrane od skakavaca pa su poznate herbivorne, omnivorne i karnivorne vrste koje love iz zasjede ili aktivno traže plijen. Podred Ensifera čine osam porodica od kojih je šest prisutno u Hrvatskoj: Tettigoniidae (konjici), Gryllidae (šturci, popci), Mogoplistidae (ljuskavi šturci), Myrmecophilidae (mravoljupci), Gryllotalpidae (rovci, mrmci) i

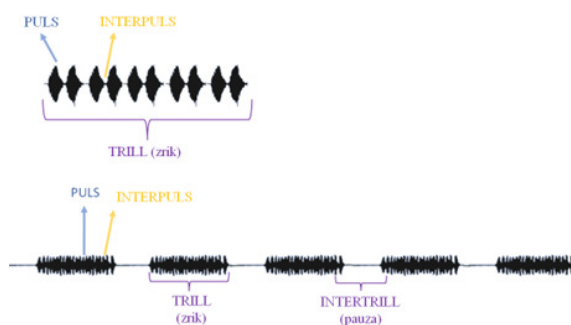
Rhaphidophoridae (spiljski konjici) (Skejo i sur., 2018). Vrsta korištena u ovom istraživanju je *Gryllus assimilis* poznat kao Jamajčanski poljski zrikavac, čija su prirodna staništa zapadna Indija, Meksiko i Južna Amerika, ali je danas, kao rezultat široko rasprostranjenih programa uzgoja insekata kao hrane za insektivorne i omnivorne vrste kućnih ljubimaca, postao komercijalno dostupan diljem svijeta.

Mužjaci zrikavaca proizvode dozivnu pjesmu kako bi privukli ženke za parenje (Boake, 1983). Pjesma dozivanja specifična je za vrstu i omogućuje ženka pouzdano prepoznavanje (identifikaciju) doziva mušjaka (Doherty i Storz, 1992). Iako je glavna uloga dozivne pjesme prepoznavanje vrste, ženke nekih vrsta pokazuju preferencije za određene varijante pjesama unutar, za vrstu, normalnog raspona varijacija (Wagner, 1996). Dozivna pjesma sastoji se od ponovljenih pulsova zvuka grupiranih u zrikove ("trillove"). Svaki puls zvuka se proizvodi zamahom zatvaranja modificiranih prednjih krila koja kod zrikavaca predstavljaju stridulacijski organ odnosno zrikalo. Kada se krila zatvore, "strugalo" na gornjoj površini donjih krila zahvaća "turpiju" sastavljenu od zubića na donjoj površini gornjeg krila (slika 1). Broj zubića na "turpiji" specifičan je za vrstu. Prolaz strugala duž turpije uzrokuje vibriranje krila na karakterističnoj frekvenciji, što rezultira u relativno čistim tonom karakterističnim za dozivnu pjesmu zrikavca (Bennett-Clark, 1989).



Slika 1 Građa modificiranih prednjih krila zrikavaca (stridulacijski organ – zrikalo) (ars.els-cdn.com, 2021)

Radi lakšeg razumijevanja izrađen je pojednostavljen prikaz komponenti dozivne pjesme (slika 2). Sastoji se od ponovljenih zrikova ("trillova") unutar kojih razlikujemo "puls" (tzv. strug), koji nastaje prilikom zatvaranja krila, odvojen tihim pokretima otvaranja krila - "interpuls" (tzv. odstrug).



Slika 2 Shematski prikaz dozivne pjesme zrikavca

Temperatura je ključni čimbenik okoliša koji osobito utječe na ektoterme, s obzirom na to da ne održavaju stalnu tjelesnu temperaturu te da je većina njihovih fizioloških funkcija regulirana temperaturom okoline, poput obrambenog ponašanja, ponašanja pri traženju hrane te ponašanja prilikom parenja (Brandt i sur., 2018). U kontekstu ponašanja pri parenju, temperatura utječe na različite parametre seksualnih signala kao što su amplituda i frekvencija zvuka. Učinak temperature okoliša na akustička svojstva dozivnog signala za parenje posebno je dobro proučeno kod akustički aktivnih kukaca (Martin i sur., 2000). Očekuje se da će zvuci zrikavaca varirati s temperaturom, budući



da varijacije u temperaturi utječu na neuromuskularni sustav koji je uključen u proizvodnju zvuka (Martin i sur., 2000).

Motivacija za provođenje ovog istraživanja zasniva se na interesu za razumijevanje učinka okoliša na organizme u prirodi. Interes za proučavanjem odabranog modelnog organizma potaknut je praćenjem kulture humoristične serije *Teorija velikog praska* u kojoj se u jednoj od epizoda spominje Dolbearov zakon, kojeg su brojni tinejdžeri, ljubitelji znanosti, na taj način upoznali i osvijestili te počeli obraćati pozornost na njegove postavke. Američki fizičar, Amos Dolbear (1897), utvrdio je spregu između dinamike zrikanja i temperature te izvijestio o primjeni pjesme zrikavaca kao termometra jer brzina zrikanja raste linearno s temperaturom. Dolbear u svojim zapisima nije precizirao vrstu zrikavca koju je promatrao, ali je kasnijim istraživanjima ustanovljeno da je riječ o vrsti šumskog zrikavca iz Sjeverne Amerike *Oecanthus fultoni*. Svrha ovog istraživanja je pomoću uzročno posljedičnih veza mehanike zatvaranja i otvaranja krila pokušati razlučiti, razumjeti i povezati elemente dozivne pjesme koje dovode do pojašnjavanja Dolbearovog zakona te provjeriti njegovu pouzdanost i validnost na primjeru vrste poljskog zrikavca *Gryllus assimilis*. Također je cilj istraživanja osmišljavanje jednostavne metodologije kojom bi se zrikavci mogli koristiti kao živi termometri, odnosno pokazatelji promjene temperature okoliša. Metoda bi se oslanjala na svima dostupnu tehnologiju kao što je snimač zvuka i javno dostupan audio program za analizu sastavnica zvučnog zapisa čijom primjenom bi se usporedile dozivne pjesme zrikavaca snimljene pri različitim temperaturama te uočile promjene njihovih komponenti. Osim razlučivanja različitih komponenti zvuka koje utječu na cjelokupnu izvedbu dozivne pjesme u ovisnosti o temperaturi želi se osvijestiti i pretpostavka (ideja za neko buduće istraživanje) da takva promjena atraktivnosti dozivne pjesme životinja zasigurno ostavlja posljedice u interseksualnoj komunikaciji promatrane vrste, kao i drugih srodnih vrsta, te njihovom reproduktivnom uspjehu, što se može kasnije reflektirati na odabir mikrostaništa, ekologiju, biogeografiju i evoluciju.

Ciljevi ovog rada su:

- Istražiti broj i duljinu trajanja "pulsova" i "interpulsova" unutar pojedinih zrikova u dozivnoj pjesmi u ovisnosti o promjeni okolišne temperature
- Istražiti utjecaj promjene temperature na broj i duljinu trajanja zrikova ("trillova") i "intertrillova" u dozivnoj pjesmi
- Utvrditi utjecaj promjene temperature okoliša na vršnu frekvenciju zvuka u dozivnoj pjesmi
- Utvrditi valjanost Dolbearovog zakona za vrstu *Gryllus assimilis*
- Otkriti možemo li pomoću jednostavne metodologije prikazane u ovom istraživanju koristiti zrikavce kao žive termometre.

Pretpostavka je da će se pri višim temperaturama povećati brzina micanja prednjih krila zrikavaca što će rezultirati smanjenjem duljine trajanja "pulsova" i "interpulsova", bez vidljive promjene u njihovom broju unutar pojedinog zrika. Smanjenje duljine trajanja "pulsova" i "interpulsova" neposredno dovodi do smanjenja duljine trajanja "trillova" (zrikova) i "intertrillova" (pauza), ali i do povećanja njihovog broja u dozivnoj pjesmi, kao rezultata bržeg struganja, što se očituje i višom vršnom frekvencijom zvuka. Navedene promjene komponenti dozivne pjesme odrazit će se na ubrzanje proizvodnje zvuka što potvrđuje valjanost Dolbearovog zakona za istraživanu vrstu. Također je pretpostavka da će jednostavna metodologija korištena u ovom istraživanju poslužiti kao primjer da je zrikavce vrste *Gryllus assimilis* moguće koristiti kao žive termometre.

METODE

Istraživanje je provedeno u razdoblju od studenog 2023. do veljače 2024. godine. Razvojna faza i veličina organizma utječu na veličinu krila tako da je u istraživanju korišteno 15 odraslih mužjaka vrste *Gryllus assimilis* veličine 3 cm s potpuno razvijenim krilima. Uzgoj do navedene veličine odvijao se u terariju koji je predstavljala velika i prozirna kutija s otvorima za ventilaciju (slika 3A). U njenu unutrašnjost položeni su kartoni za jaja tako da se zrikavcima osigura veća korisna površina po kojoj se mogu kretati i pronaći mjesto za skrivanje. Voda u terariju osigurana im je u obliku namočene pamučne vate (iz koje mogu piti, ali ne i utopiti se). Terarij je smješten u tihi prostoriju održavanu na sobnoj temperaturi od 20 °C. Hrana koju su dobivali jednom dnevno kroz cijelo istraživanje uključivala je suhu hranu za ribice i sitno rezane komadiće jabuke i mrkve.

Nakon prilagodbe na suživot u zajedničkom terariju, zrikavci su premješteni u individualne kutijice sličnog postava kao i zajednički terarij, s kartonima za jaja i vatom natopljenom vodom te otvorima za ventilaciju (slika 3B i 3C). Izolacija u individualni prostor uslijedila je prije odlaska na snimanje zvuka dozivne pjesme koji je proveden pojedinačno u jutarnjim satima (od 10 do 12 h) tijekom 10 dana snimanja. Prije snimanja zvuka zrikavci su jedan dan držani u svojim individualnim kutijicama tijekom kojeg je temperatura prostorije u kojoj su provođena mjerenja postupno tijekom dva sata snižavana prozračivanjem na 15 °C.



Slika 3 Zajednički terarij (A) i individualne kutijice zrikavaca (B i C)

Za potrebe snimanja glasanja zrikavaca konstruirana je posebna izolirana mjerna komora (slika 4).



Slika 4 Mjerna komora s pokusnim zrikavcem

Mjerna komora je izolirana stiroporom sa svih strana osim one na kojoj se nalazio otvor za smještaj individualne kutijice sa pokusnim zrikavcem. U komori se nalazio diktafon ([Kodak VRC 250](#)) pomoću kojeg je bilježena snimka zvuka. Neposredno ispred komore, usmjerena prema unutrašnjem prostoru komore, stavljena je grijaća žarulja ([infracrvena terarijska žarulja](#)) čijom je upotrebom održavana



željena temperatura unutar komore. Kroz stiropor na vrhu komore provučena je sonda povezana s digitalnim termometrom ([Trixie higrometar/termometar](#)) koji mjeri emitiranu temperaturu te ju očitava na zaslonu. Zajedničkom sinkronizacijom navedenih dijelova omogućeno je dobivanje stalne željene temperature komore.

Snimanja zvuka provedena su na četiri temperature, 15 °C, 20 °C, 25 °C i 30 °C. Svaki je zrikavac pojedinačno premješten u komoru za snimanje u kojoj je ostavljen do pola sata kako bi se privikao na okruženje. U pozadini je pušten zvuk zrikanja koji ih je potaknuo na glasanje. Prvo je snimljena izvedba pjesme pri 20 °C, nakon čega je manipulacijom infracrvene žarulje temperatura komore povišena na 25 °C te je nakon završetka snimanja pri toj temperaturi, uslijedilo povećanje temperature na 30 °C. Svaki zvučni zapis sniman je 60 sekundi. Po završetku na 30 °C, temperatura je ponovno snižena na 15 °C te je snimanje ponovljeno kako bi se utvrdilo hoće li se snižavanjem temperature promatrane komponente pjesme promijeniti.

Pjesme zrikavaca snimljene diktafonom memorirane su u obliku datoteka te su dobiveni podatci obrađeni u audio programu Audacity uz pomoć kojeg je moguće očitati elemente dozivne pjesme korištene kao zavisne varijable ovog istraživanja. Broj "pulsova" (i propuštenih "pulsova") po zriku izbrojan je vizualno, ostali elementi pjesme izmjereni su pomoću opcija softvera.

- ☞ Analizirane komponente su:
- ☞ broj "pulsova" po zriku ("trillu")
- ☞ duljina trajanja "pulsa" i "interpulsa"
- ☞ broj i duljina trajanja zrikova ("trillova") i pauza ("intertrillova")
- ☞ vršna frekvencija.

Statističkom obradom podataka izračunata je srednja vrijednost svih mjerenja s odstupanjem za svaku traženu varijablu (komponentu pjesme) te raspon vrijednosti za broj zrikavaca koji su proizveli određeni broj zrikova u dozivnoj pjesmi pri korištenim temperaturama.

REZULTATI

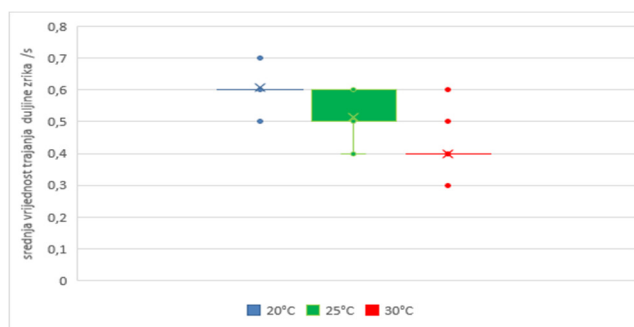
Zrikavci nisu proizvodili zvuk pri 15 °C tako da prikazani podatci obuhvaćaju mjerenja provedena pri 20, 25 i 30 °C.

Dobiveni podatci o broju "pulsa" unutar zrika, trajanju duljine "pulsa" i "interpulsa" u dozivnim pjesmama zrikavaca snimljenim pri različitim temperaturama prikazani su tablicom 1. Porastom temperature od 20 - 30 °C skraćuje se duljina trajanja "pulsa" (tzv. struga) kao i "interpulsa" (tzv. odstruga), dok se njihov broj unutar pojedinog zrika ne mijenja.

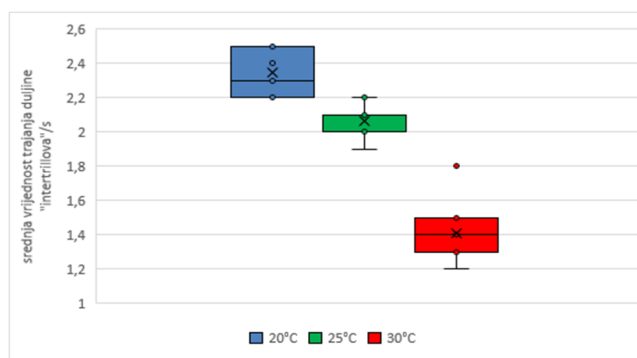
Tablica 1 Srednja vrijednost trajanja duljina "pulsa" i "interpulsa" te broja pulsa unutar pojedinog zrika u dozivnim pjesmama zrikavaca snimljenim pri različitim temperaturama

Temperatura / °C	Srednja vrijednost trajanja duljine "pulsa" / s ($\pm 0,01$)	Srednja vrijednost trajanja duljine "interpulsa" / s ($\pm 0,01$)	Broj pulsa unutar zrika (bez odstupanja)
20	0,07	0,07	2
25	0,05	0,05	2
30	0,04	0,04	2

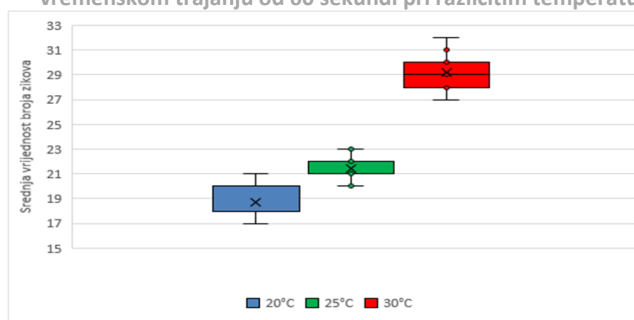
Podatci o srednjim vrijednostima duljine trajanja zrika ("trilla") i pauze ("intertrilla") te ukupnog broja zrikova u dozivnim pjesmama zrikavaca zabilježenim u vremenskom trajanju od 60 s pri različitim temperaturama prikazani su slikama 5, 6 i 7.



Slika 5 Srednja vrijednost trajanja duljine zrika ("trilla") u dozivnim pjesmama zrikavaca snimljenim u vremenskom trajanju od 60 sekundi pri različitim temperaturama



Slika 6 Srednja vrijednost trajanja duljine pauza ("intertrillova") u dozivnim pjesmama zrikavaca snimljenim u vremenskom trajanju od 60 sekundi pri različitim temperaturama

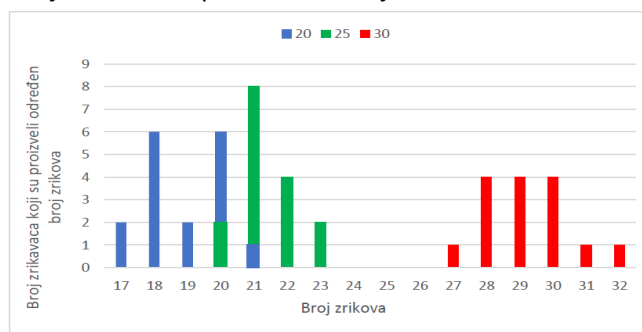


Slika 7 Srednja vrijednost broja zrikova u dozivnim pjesmama zrikavaca snimljenim u vremenskom trajanju od 60 sekundi pri različitim temperaturama

Analizom slike 5 vidljivo je da se duljina trajanja zrika smanjila sa srednje vrijednosti 0,6 s pri 20 °C na 0,4 s pri 30 °C. Porastom temperature zabilježeno je značajno smanjenje u duljini trajanja "intertrillova" (pauza između zrikova). Slika 6 pokazuje da se duljina trajanja "intertrillova" postupno smanjila s 2,3 s pri 20 °C na 2,1 s pri 25 °C, a porastom temperature na 30 °C uočeno je značajno smanjenje u duljini trajanja pauze između zrikova na 1,4 s. Usporednom analizom slika 6 i 7 vidljiva je korelacija između smanjenja trajanja duljina pauza između zrikova i povećanja broja zrikova u dozivnim pjesmama snimljenim u trajanju od 60 sekundi. Slika 7 prikazuje da se srednja vrijednost broja zrikova unutar dozivne pjesme od 60 s povećala s 19 pri 20 °C preko 21 pri 25 °C do porasta od 29 zrikova pri 30 °C.

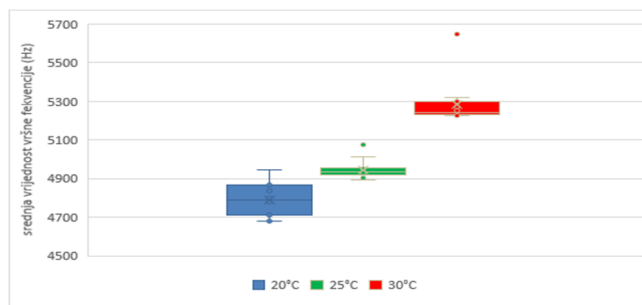
Slikom 8 prikazan je broj zrikavaca koji su proizveli određeni broj zrikova povezanih u dozivnu pjesmu u trajanju od 60 s.

Pri temperaturi od 20 °C najveći je broj mužjaka koji su povezali 18 ili 20 "trillova" u dozivnoj pjesmi (za svaku od vrijednosti po 6 zrikavaca), dok je samo jedan zrikao 21 put. Značajan je podatak da je pri temperaturi 25 °C čak više od polovice testiranih organizama (8 zrikavaca) proizvelo 21 zrik u dozivnoj pjesmi, dok su se preostali rasporedili na okolne vrijednosti od 20, 22 i 23 "trilla" unutar pjesme. Pri temperaturi od 30 °C ujednačeniji je broj životinja u dosegnutom broju zrikova, za po četiri testirana zrikavca snimljeno je po 28, 29 i 30 proizvedenih "trillova" unutar 60 sekundi dozivne pjesme, dok je maksimalno zabilježeni broj od 32 zrika proizveo samo jedan zrikavac.



Slika 8 Broj zrikavaca koji su proizveli određeni broj zrikova u dozivnim pjesmama zabilježenim u vremenskom trajanju od 60 sekundi pri različitim temperaturama

Iz slike 9 koja prikazuje srednje vrijednosti vršne frekvencije vidljiv je porast vršne frekvencije u dozivnim pjesmama snimljenim pri različitim temperaturama koje se kreću od 4800 Hz pri 20 °C, preko 4950 Hz pri 25 °C do 5295 Hz pri 30 °C. Značajnije odstupanje od srednje vrijednosti zabilježeno je na temperaturi 30 °C gdje je dosegnuta maksimalna vršna frekvencija od 5690 Hz.



Slika 9 Srednja vrijednost vršne frekvencije zvuka u dozivnim pjesmama zrikavaca zabilježenim u vremenskom trajanju od 60 s pri različitim temperaturama

RASPRAVA

Istraživanje pokazuje da neposredna temperatura okoline utječe na različite značajke dozivne pjesme Jamajčanskoj poljskog zrikavca, *Gryllus assimilis*. Rezultati su potvrdili pretpostavku te dokazali da se porastom temperature okoliša skraćuje duljina trajanja "pulsa" (prelaska strugala preko nazubljene turpije) kao i tihog "interpulsa" (povratka strugala u početni položaj) što direktno ukazuje na brže zatvaranje i otvaranje krila zrikavaca, odnosno na porast brzine proizvodnje pulsa, osnovnog elementa zrika. Iz navedenog rezultata razabire se teorija Dolbearovog zakona, zabilježena i kod vrsta



Teleogryllus oceanicus i *Gryllus bimaculatus*, brzina zrikanja raste proporcionalno s temperaturom (Walker i Cade, 2003; Doherty, 1985). Različiti signali drugih ektoterma također su pod utjecajem temperature. Na primjer, brzina kreketanja žabe krastače *Bufo americanus* povećavala se linearno s temperaturom (Zweifel, 1968), dok se brzina stridulacijskih struganja pauka *Habronattus clypeatus* povećala proporcionalno temperaturi do određene točke, a zatim se smanjila (Brandt i sur., 2018). Iz rezultata mjerenja uočljivo je da su duljine trajanja "pulsa" i "interpulsa" pri istoj temperaturi jednake što implicira da kod istraživane vrste ne postoji prevelika razlika u mehanizmu (mehaničkom ili živčanom) zatvaranja i otvaranja krila odnosno temperatura je pokazala jednak utjecaj na obje sastavnice pokreta. Navedeno nije u korelaciji s istraživanjem vrste *Gryllus integer* u kojem se duljina trajanja "interpulsa" promijenila s temperaturom u većoj mjeri od duljine trajanja "pulsa" što znači da je temperatura značajnije utjecala na mehanizam otvaranja krila (Martin i sur., 2000). Pretpostavka o nepromijenjenom broju pulsova po zriku ("trillu") u ovisnosti o promjeni temperature pokazala se ispravnom. S obzirom da je broj pulsova po zriku ostao jednak, a brzina pulsa se povećala, hipoteza o smanjenju duljine zrika povišenjem temperature također se pokazala valjanom, sugerirajući da središnji živčani generator Jamajčanskog poljskog zrikavca "očitava" svoje "trillove" u jedinicama impulsa, a ne u jedinicama vremena. Dobiveni rezultat u skladu je s istraživanjima vrste *Gryllus integer*, u kojima su osim temperature kontrolirane i varijacije među mužjacima (dob, masa), gdje su vidljive varijacije među mužjacima u broju impulsa po "trillu", ali ne u ovisnosti o temperaturi (Gray i Cade, 1999 a; Martin i sur., 2000). Ova dosljednost muškog poziva na različitim temperaturama može poboljšati odabir ženskog partnera. Kod vrste *Gryllus integer*, broj impulsa po "trillu" otkriven je kao važan faktor u izboru partnera za ženke, pri čemu ženke preferiraju prosječan broj impulsa po "trillu" (Gray i Cade, 1999 a). Istraživanje vrste *Teleogryllus oceanicus* koja ima vrlo složenu dozivnu pjesmu sastavljenu od dvije različite vrste zrikova, dugog, formiranog od tri do osam pojedinačnih impulsa te kratkog, formiranog od dva impulsa, pokazalo je zanimljive rezultate. Temperatura je smanjila broj impulsa u dugom zriku kod vrste *Teleogryllus oceanicus* što je dovelo i do smanjenja trajanja dugog zrika, dok nije pokazala utjecaj na broj impulsa u kratkom zriku (Walker i Cade, 2023).

Istraživanje je potvrdilo hipotezu o smanjenju duljine trajanja "trilla" (zrika) ali i "intertrilla" (pauze) s povećanjem temperature. Primijećeno je da se duljina trajanja "intertrilla" smanjuje u većoj mjeri od duljine trajanja "trilla", što nanovo govori o povećanju brzine proizvodnje zrika. Navedeno se reflektira na bogatstvo dozivne pjesme jer se broj "trillova" (zrikova) u dozivnoj pjesmi značajno povećao pri višim temperaturama. S obzirom na to da je poznato da ženke zrikavaca preferiraju glasove s višom brzinom zrikanja i duljim trajanjem (Wagner, 1996), očekuje se da su im zrici koje proizvode jedinke na višoj temperaturi draži od onih na nižoj temperaturi. Međutim, promjene u brzini zrika s temperaturom vjerojatno neće ostaviti posljedice u učinkovitosti seksualne komunikacije radi paralelne promjene osjetljivosti ženke na signal mužjaka (Gerhardt, 1978). Fenomen poznat kao temperaturno spajanje ukazuje na paralelnu promjenu muških signala i ženskih preferencija na kratkoročni i reverzibilni način kao odgovor na trenutnu temperaturu okoline, a zabilježen je u skupini insekata (Pires i Hoy, 1992) i žaba (Gerhardt, 1978).

Vršna frekvencija zrika rasla je s temperaturom čime je potvrđena početna pretpostavka istraživanja, ako se brzina zatvaranja krila povećava, brzina udara strugala o zube na turpiji također raste, što rezultira višom vršnom frekvencijom. Proučavanjem sličnih radova, dolazi se do saznanja da učinak temperature na vršnu frekvenciju ne slijedi opći trend među vrstama zrikavaca. Na primjer, vršna



frekvencija porasla je za 400 Hz u vrste *Gryllus integer* i 1500 Hz u vrste *Plebeiogryllus guttiventris* kao odgovor na povećanje od 12 °C odnosno 16 °C (Martin i sur., 2000). Međutim, studije o vrstama *Gryllus firmus* i *Gryllus bimaculatus* pokazale su da povećanje temperature ne utječe na vršnu frekvenciju (Pires i Hoy 1992). Nepostojanje općeg trenda moglo bi biti zbog individualnih razlika među mužjacima u brzini zatvaranja krila i masi krila koje utječu na vršnu frekvenciju i prikrivaju utjecaj temperature (Martin i sur., 2000). Učinak temperature na različite karakteristike poziva može se pripisati ograničenjima koja temperatura postavlja na fiziološke i biokemijske čimbenike uključene u funkciju mišića, što utječe na motoričke aktivnosti odgovorne za proizvodnju zvuka (Greenfield i Medlock, 2007). Vršna frekvencija može biti važan pokazatelj izbora partnera (Castellano i sur., 2000) pri čemu ženke preferiraju intenzivnije signale kada im se omogući izbor (Gerhardt, 1991). Na primjer, Arak (1988) otkrio je da ženke krastače *Bufo calamita* mogu primijetiti male razlike u razinama frekvencije kreketu mužjaka i obično preferiraju mužjake koji se glasaju na višim razinama frekvencije. Ženke voskovog moljca *Achroia grisella* također preferiraju mužjake koji proizvode ultrazvučne signale veće akustične energije i snage (Jang i Greenfield, 1996). Preferiranje zrika mužjaka određene vršne frekvencije od strane ženki kod Jamajčanskog poljskog zrikavca može se potkrijepiti i istražiti u nekom budućem projektu. Nadalje, budući da neposredna temperatura utječe na signalizaciju, životinje mogu pokazivati sklonosti prema temperaturi mjesta izlaganja, što može utjecati na odabir mikrostaništa. Na primjer, mužjaci vrste *Gryllus integer* pokazali su sklonost toplijim otvorenim pukotinama (Hedrick i sur., 2002). Sklonost temperaturi mjesta poziva kod Jamajčanskog poljskog zrikavca također se pruža kao ideja za buduće istraživanje.

Mjerenja pokazuju značajna odstupanja među individuama i djelomična preklapanja među mjerenjima na različitim temperaturama koja mogu prikriti učinak temperature. Analizom rezultata vidljivo je povećanje srednje vrijednosti broja zrikova unutar dozivne pjesme s temperaturom, međutim uočavaju se i individualne razlike među mužjacima u proizvedenom broju zrikova pri određenoj temperaturi kao i dosegnutoj vršnoj frekvenciji unutar dozivne pjesme. Individualne razlike mogu se pripisati genetici. Zrikavci korišteni u istraživanju su jednake razvojne faze i veličine, međutim veličina i masa krila pojedinog zrikavca, kao niti eventualna mehanička oštećenja stridulacijskog aparata, nisu prethodno kontrolirani. Adekvatna oprema kao potpuno izolirana mjerna komora, samostalni mikrofoni unutar komore, precizniji termometar te korištenje specificiranog programa za obradu glasanja životinja kao i ponavljanje mjerenja bi zasigurno jamčili preciznije rezultate te se također smatraju ograničenjima istraživanja. Međutim, analizom rezultata je vidljivo da se djelomična preklapanja ističu na temperaturama 20 i 25 °C, a povećanjem temperature na 30 °C izražen je kod svih individua porast u broju zrikova i dosegnutoj vršnoj frekvenciji bez preklapanja sa nižim temperaturama, što svakako potvrđuje da povećanje temperature kao čimbenika okoliša mijenja elemente dozivne pjesme zrikavaca.

Jednostavna metoda bazirana na korištenju javno dostupnog audio programa pokazala se učinkovitom i dostatnom za usporedbu dozivnih pjesama zrikavaca snimljenih pri različitim temperaturama s ciljem uočavanja promjena različitih parametara zvučnog signala koji ukazuju na povećanje brzine zrikanja u ovisnosti o temperaturi. Evidentirane promjene komponenti dozivne pjesme u ovisnosti o temperaturi analizirane u ovom istraživanju, koje osim iznesenom statističkom obradom podataka, jasno razaznaje i ljudski slušni organ, nedvosmisleno ukazuju da je pjesma zrikavaca indikator promjene temperature u okolišu, odnosno da se zrikavci mogu koristiti kao živi termometri.



ZAKLJUČCI

Na temelju dobivenih rezultata analize dozivne pjesme Jamajčanskog poljskog zrikavca možemo zaključiti:

- ☞ Broj zrikova ("trillova") i vršna frekvencija povećavaju se s temperaturom okoliša
- ☞ Individualne razlike među mužjacima utječu na komponente dozivne pjesme
- ☞ Duljina trajanja "pulsa", "interpulsa", zrika ("trilla") te pauze ("intertrilla") skraćuje se povišenjem temperature okoliša što se reflektira na povećanje brzine dozivne pjesme
- ☞ Postavke Dolbearovog zakona pouzdane su i valjane za vrstu *Gryllus assimilis*
- ☞ Temperatura nije pokazala utjecaj na broj "pulsova" unutar zrika
- ☞ Zbog proporcionalnog povećanja broja zrikova i vršne frekvencije te proporcionalnog skraćivanja "intertrilla", "pulsa" i "interpulsa" možemo konstatirati da se elementi dozivne pjesme zrikavaca kao i njezina brzina mijenjaju povišenjem temperature što ukazuje da se zrikavci vrste *Gryllus assimilis* mogu koristiti kao živi termometri.

ZAHVALA

Želim se zahvaliti svojoj mentorici profesorici Katarini Medić na ustrajnoj podršci i pomoći u izradi istraživanja, svim zaposlenicima škole na razumijevanju i strpljenju te obitelji koja je uvijek bila uz mene.

LITERATURA

- Arak A. 1988. Female mate selection in the natterjack toad: active choice or passive attraction? *Behavioural Ecology and Sociobiology* 22: 317–327.
- Bennett-Clark H. 1989. Songs and the physics of sound production. In *Cricket behavior and neurobiology*. Cornell University Press, Ithaca, NY: 227–261.
- Boake C.R.B. 1983. Mating systems and signals in crickets. In *Orthopteran mating systems: sexual competition in a diverse group of insects*. Westview Press, Boulder, Colorado: 28–44.
- Brandt E.E., Kelley J.P., Elias D.O. 2018. Temperature alters multimodal signaling and mating success in an ectotherm. *Behavioral Ecology and Sociobiology* 72(12): 191.
- Castellano S., Ross A., Laoretti F., Doglio S., Giacomini C. 2000. Call intensity and female preferences in the European green toad. *Ethology* 106: 1129–1141.
- Cigliano M.M., Braun H., Eades D.C., Otte D. 2023. Orthoptera Species File. Version 5.0/5.0. Online URL: <http://Orthoptera.SpeciesFile.org> Pristupljeno 23.01.2024.
- Doherty J.A., Storz M.M. 1992. Calling song and selective phonotaxis in the field crickets, *Gryllus firmus* and *G. pennsylvanicus* (Orthoptera: Gryllidae). *Journal of Insect Behavior* 5: 555–569.
- Dolbear A.E. 1897. The cricket as a thermometer. *The American Naturalist* 31(371): 970–971.
- Duncan J., Soulsbury D.C., Montealegre F. 2021. Differentiation between left and right wing stridulatory files in the field cricket *Gryllus bimaculatus* (Orthoptera: Gryllidae). *Arthropod Structure & Development* 65. Online URL: <https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S1467803921000505>; <https://ars.els-cdn.com/content/image/1-s2.0-S1467803921000505-gr1.jpg> Pristupljeno 10.01.2024.
- Gerhardt H.C. 1978. Temperature coupling in the vocal communication system of the gray tree frog, *Hyla versicolor*. *Science*, 199(4332): 992–994.
- Gerhardt H.C. 1991. Female mate choice in treefrogs: static and dynamic acoustic criteria. *Animal Behaviour* 42:615–635.
- Gray D.A., Cade W.H. 1999. Quantitative genetics of sexual selection in the field cricket, *Gryllus integer*. *Evolution*, 53: 848–854.
- Greenfield M.D., Medlock C. 2007. Temperature coupling as an emergent property: parallel thermal effects on male song and female response do not contribute to species recognition in an acoustic moth. *Evolution*. 61(7): 1590–1599.
- Habdiija I., Primc-Habdiija 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. 388 – 432.
- Hedrick A., Perez D., Licht N., Yew J. 2002. Temperature preferences of male field crickets (*Gryllus integer*) alter their mating calls. *Journal of Comparative Physiology A*. 188(10): 799–805.
- Jang Y., Greenfield M.D. 1996. Ultrasonic communication and sexual selection in wax moths: female choice based on energy and asynchrony of male signals. *Animal Behaviour* 51: 1095–1106.
- Martin S.D., Gray D.A., Cade W.H. 2000. Fine-scale temperature effects on cricket calling song. *Canadian Journal of Zoology* 78(5): 706–712.



- Pires A., Hoy R.R. 1992. Temperature coupling in cricket acoustic communication. I. Field and laboratory studies of temperature effects on calling song production and recognition in *Gryllus firmus*. *Journal of Comparative Physiology A*. 171: 69-78.
- Skejo J., Rebrina F., Szövényi G., Puskás G., Tvrtković N. 2018. The first annotated checklist of Croatian crickets and grasshoppers (Orthoptera: Ensifera, Caelifera). *Zootaxa* 4533 (1): 1-95.
- Wagner W.E. Jr. 1996. Convergent song preferences between female field crickets and acoustically orienting parasitoid flies. *Behavioral Ecology* 7: 279-285.
- Walker S.E., Cade W.H. 2003. The effects of temperature and age on calling song in a field cricket with a complex calling song, *Teleogryllus oceanicus* (Orthoptera: Gryllidae). *Canadian Journal of Zoology* 81(8): 1414-1420.
- Zweifel R.G. 1968. Effects of temperature, body size, and hybridization on mating calls of toads, *Bufo a. americanus* and *Bufo woodhousii fowleri*. *Copeia*: 269-285.

KAKO RAZLIČITE VRSTE NAPITAKA UTJEČU NA BOJU I TEKSTURU LJUSKE JAJETA

Nela Šarić, 1. razred

Srednja škola Čakovec, Čakovec

Mentor: Denis Horvat

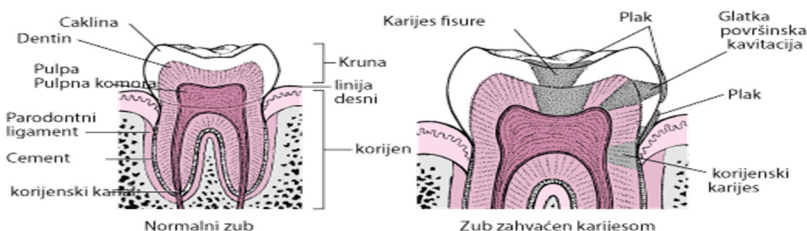
SAŽETAK

Cilj ovog istraživanja je utvrditi kako različite vrste napitaka utječu na zdravlje (boju, tvrdoću, teksturu) naših zubiju. Za istraživanje se koristilo četiri jaja, čija je ljuska ovisno o tekućini u kojoj se nalazila, promijenila boju, teksturu ili neko drugo svojstvo. Kada se jaje umoči u određenu tekućinu dolazi do nekoliko kemijskih i fizičkih reakcija zbog sastava tekućine. Istraživanje je provedeno sa četiri jaja, čija je ljuska ovisno o tekućini u kojoj se nalazila, promijenila boju, tvrdoću, ili neko drugo svojstvo. Korištene tekućine imaju različiti kemijski sastav i imaju različiti utjecaj na ljusku jajeta, odnosno na zubnu caklinu. Kroz određeno razdoblje od dva tjedna su se koristile četiri vrste tekućina: Coca-Cola, kava, sok od naranče i piće s 2 % alkohola. Promatranjem je utvrđeno da neke tekućine sa većim postotkom kiselosti ili šećera imaju negativan učinak na ljusku jajeta, dok tekućine koje sadrže veću količinu nutrijenata i prirodne šećere rade manje štete. Istraživanje doprinosi razumijevanju kemijskih reakcija između kiselina i kalcijeva karbonata te može poslužiti kao osnova za buduća istraživanja o učincima kiselih napitaka na biološke materijale. Zdravlje zubi uvelike utječe na kvalitetu našeg života i zato treba izbjegavati napitke i hranu koja sadrži velike količine šećera. Iz navedenog istraživanja možemo vidjeti poveznicu o utjecaju raznih kemijskih spojeva na zube i zubnu caklinu. Jer brigom o oralnom zdravlju brinemo za zdravlje cijelog organizma.

Ključne riječi: ljuska jajeta; zubi; tekućine; kiselina

UVOD

Zdravlje zubiju uvijek je bilo povezano sa kvalitetom i načinom naše prehrane. Brigom o oralnom zdravlju brinemo za zdravlje cijelog organizma. Potrebni su nam da pravilno jedemo, što je neophodno za dobru probavu i apsorpciju hranjivih sastojaka. Najbolji način sprječavanja pojave bolesti zuba, zubnog mesa i usne šupljine je razvijanje pravilnih navika zubne njege. Vrlo je važno stvoriti rutinu pranja zubi nakon svakog jela i međuobroka, te prije spavanja. Kod djece je potrebno od malih nogu razviti svijest o važnosti higijene zubiju. Zdravlje zubiju uvelike utječe na kvalitetu naših života, zato treba izbjegavati napitke i hranu koja sadržava velike količine šećera. Zub je vrlo kompleksan organ. Struktura zuba sastoji se od različitih tvrdih tkiva, koja okružuju meko tkivo (pulpa). Tvrdi tkiva su: caklina, dentin i cement.



Slika 1 Izgled, sastav i bolesti zuba (Izvor: <https://www.hemed.hr/Default.aspx?sid=14025>)

Caklina štiti zub od mehaničkog i kemijskog trošenja jer je otpornija od ostalog tkiva zuba. Bez obzira na strukturu, nije neuništiva i osjetljiva je na promjene pH vrijednosti (kiselost) u ustima, kao i na mehaničko trošenje. Dentin je također građen od minerala, ali u većem postotku od cakline, te ima i organskih komponenti. Takva struktura dentina daje zubu i čvrstoću i elastičnost. U strukturi zuba cement predstavlja tvrdo zubno tkivo koje oblaže korijenski dio zuba. Pijenje bezalkoholnih pića s visokim udjelom šećera najčešće je povezano sa bolestima zuba (karijes i erozija). Kada pijemo sokove,

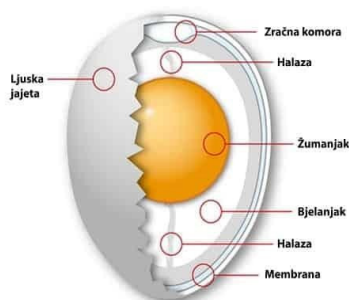


šećeri koji su u doticaju s bakterijama u ustima tvore kiselinu koja napada naše zube. Svi sokovi sadrže vlastite kiseline. Svakim gutljajem započinjemo štetnu reakciju koja traje oko 20 minuta. Ako pijemo sokove cijeli dan, zubi su nam pod stalnim „napadom” (Ubertalli, 2024).

Osvještavanje mladih o štetnosti gaziranih i slatkih pića zahtjeva kombinaciju edukacije, kreativnih kampanja i praktičnih pristupa. Tu također pomaže edukacija u školama. Škole i obrazovni programi igraju ključnu ulogu u poučavanju mladih i zdravlju i prehrambenim navikama. Mogu se organizirati predavanja i radionice kako bi mladi razumjeli negativne posljedice konzumiranja gaziranih i slatkih pića, uključujući rizik od pretilosti, dijabetesa tipa 2, bolesti srca i karijesa. Kampanje na društvenim mrežama također se smatraju dobrim oblikom komunikacije. Korištenje edukativnih videa, influencersa, YouTube-a, Instagrama i Tik-Toka-a može biti učinkoviti za širenje poruke o štetnosti slatkih pića. Kroz kreativne sadržaje i personalizirane poruke moguće je utjecati na ponašanje mladih. Promicanje zdravih navika kroz poznate osobe i sportaše koji se protive konzumaciji gaziranih pića također može imati snažan utjecaj. Korištenje pozitivnih uzora u kampanjama može pomoći mladima da se poistovjete s porukom i promjene vlastite navike, može im pomoći sa shvate ozbiljnost loših navika i donesu promjenu. Također moramo ponuditi neku alternativnu opciju, kao primjer, promociju voćnih sokova, voda s okusom, biljnih čajeva, smoothieja i drugih napitaka koji su zdraviji i prirodniji. Poučavanje mladih kako pripremiti jednostavne, zdrave napitke može pomoći da naprave bolje izbore. Trebalo bi pokrenuti inicijativu koja uključuju zabranu ili smanjenje prodaje gaziranih pića u školama, kao i ograničavanje njihovih reklama usmjerenih na djecu i mlade. Obitelj mora imati veliku ulogu u oblikovanju prehrambenih navika mladih, jer kako se često kaže u narodu: „sve proizlazi od kuće”. Edukacija roditelja o važnosti zdrave prehrane i smanjenja konzumacije gaziranih pića može imati pozitivan utjecaj na djecu. Kombinacija različitih pristupa može pomoći u stvaranju svijesti o štetnosti gaziranih i slatkih pića te u promicanju zdravih životnih navika među mladima.

Postoji nekoliko stvari kojima možemo smanjiti rizik od oštećenja zubiju. Potrebno je piti umjereno, ne konzumirati više od jednog soka dnevno, koristiti slamku (ako je to moguće) to bi trebalo pomoći zadržati štetne kiseline i šećere podalje od naših zubi. Potrebno je pričekati neko vrijeme prije pranja zubi - otprilike 30 do 60 minuta, jer četkanje odmah nakon što popijemo sok nije zdravo, budući da trenje na zube nedavno napadnute kiselinom može donijeti više štete nego koristi. Također, treba izbjegavati sokove prije spavanja - ne samo da će nas šećer držati budnima, već će imati cijelu noć da „napada” naše zube.

Cilj ovog istraživanja je utvrditi kako različite vrste napitaka (Coca-Cola, kava, sok od naranče i piće s 2 % alkohola) utječu na zdravlje (boju, tvrdoću, teksturu) naših zubiju, odnosno na karakteristike (boju, tvrdoću i teksturu) ljuske jajeta (slika 2).



Slika 2 Prikaz i izgled jajeta Izvor: <https://www.stemlittleexplorers.com/hr/jaje-u-octu/>



Težina kokošjeg jajeta može varirati ovisno o njegovoj veličini. Prosječne težine su: malo jaje = S (oko 40 – 45 g), srednje jaje = M (oko 45 – 55 g), veliko jaje = L (oko 55 – 65 g), jako veliko jaje = XL (oko 65 – 75 g).

Korištene tekućine imaju različiti kemijski sastav i imaju različiti utjecaj na ljusku jajeta, odnosno na zubnu caklinu. Hipoteza ovog istraživanja je da različite tekućine imaju različiti utjecaj na ljusku jajeta, odnosno zubnu caklinu. Za pretpostaviti je da napitci sa velikim udjelom šećera imaju štetniji utjecaj na zube, nego napitci sa manjim udjelom. Isto tako, razina kiselosti različito utječe na promjenu strukture zubne cakline. Kiseliji napitci (npr. sok od limuna, Coca Cola) imat će jači utjecaj na caklinu, u našem slučaju ljusku jajeta, nego napitci manje kiselosti (npr. kava, čaj, napitak sa 2% alkohola). Nezavisne varijable u ovom slučaju su korištene tekućine: Coca cola, kava, sok od naranče i piće sa 2% alkohola. Još jedna od nezavisnih varijabli u našem istraživanju je vrijeme trajanja istraživanja. Zavisne varijable su promjene na ljusci jajeta, a to su: boja, tvrdoća i tekstura. Kontrolne varijable u ovom istraživanju su veličina jajeta, količina napitka i temperatura okoline. Dosadašnja spoznaja je da limunada, poznata kao jednostavan i zdrav napitak pun C vitamina, nije prijatelj naših zubi. Voda sa citrusima nepovratno oštećuje zubnu caklinu, jer jaka kiselina u njima djeluje abrazivno na nju. Gazirana pića koja sadrže velike količine šećera ili fosforu kiselinu štete zubima tako što uzrokuju kiselinsku eroziju zuba. Kao posljedice su istanjeni, otopljeni, staklasti zubi, koji se više ne mogu vratiti u zdravo stanje. Kava sadrži kofein koji uzrokuje promjenu boje na zubima i može uzrokovati oštećenje cakline, tako da zubi postaju osjetljiviji i skloniji oštećenjima. Caklina sadrži mikroskopske pukotine kroz koje obojena pića mogu ući i, ako ne održavamo redovito čišćenje i četkanje zubi, može uzrokovati trajno obojenje zubi. Većina alkoholnih, gaziranih i voćnih pića je vrlo kisela (nizak pH), a znamo da kiselost ima štetan utjecaj na caklinu. Mnogi gazirani napitci sadrže visok udio šećera koji se hrane bakterijama u usnoj šupljini. Plinovi, odnosno ugljikov dioksid, u gaziranim napitcima također doprinose smanjenju pH usne šupljine i povećavaju rizik od erozije cakline. Alkoholna pića su diuretici i potiču izlučivanje tekućine iz tijela, te tako utječu na smanjenje proizvodnje sline koja je potrebna za čišćenje i neutralizaciju usne šupljine. Alkohol također može smanjiti količinu kalcija i drugih minerala u zubima i tako ih učiniti slabijima i sklonijima oštećenjima. Ovim istraživanjem provjerile su se ove otprije poznate spoznaje o utjecaju različitih tvari na zubnu caklinu.

METODE

Istraživanje je provedeno sa četiri jaja iste boje i otprilike iste težine. Odabrana su četiri svježa jaja približno iste veličine i boje (bije). Jaja su bila uronjena u četiri vrste različitih napitaka a to su:

1. Coca Cola
2. sok od naranče
3. turska kava
4. tekućina koja sadržava 2% alkohola.

Svaki napitak nalazi se u istoj količini od 200 mL uliven u zasebne čaše (slika 3). U svaku čašu uronjeno je po jedno jaje, tako da je bilo potpuno prekriveno tekućinom (slika 4). Čaše su bile smještene na stabilnoj površini i na stalnoj sobnoj temperaturi od otprilike 25°C. Zatim je uslijedilo opažanje u trajanju od otprilike dva tjedna. Svaki dan u određeno vrijeme (17 h), jaja su izvađena iz čaša pomoću jušne žlice, kako bi se zabilježile promjene na ljusci jaja. Potom su se jaja polako vratila natrag u čašu u kojoj su bila kako ljuska ne bi pukla i kako bi se nastavilo praćenje promjena. Tijekom istraživanja

zabilježene su promjene na ljusci jaja, uključujući boju, teksturu i degradaciju ljuske. U pokusu se nije dogodila samo promjena na ljusci jajeta, već se dogodila i promjena u tekućinama (npr. smanjenje razine tekućine u čašama). Nakon dva tjedna, uspoređeni su stupnjevi oštećenosti ljuske jajeta u svakom napitku. Rezultati su zabilježeni fotografiranjem i opisivanjem opaženih promjena. Na temelju opažanja donesen je zaključak o tome kako različiti napitci utječu na ljusku jajeta.



Slika 3 Početak i priprema pokusa



Slika 4 Urađanje jajeta u tekućine

REZULTATI

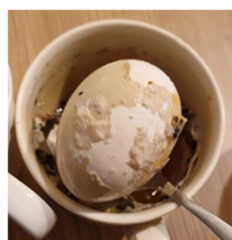
Ako uzmemo u obzir da ljuska čini samo 10 % težine jajeta, dok ostalo čini žumanjak (31 %) i bjelanjak (58 %) (slika 4), sama težina jaja u našem eksperimentu se nije vidno promijenila. Na slikama 5, 6, 7 i 8 je prikazan konačni rezultat eksperimenta. Jasno se vidi utjecaj svake tekućine na ljusku jajeta. Jaja koja su bila potopljena u Coca Colu su već nakon par dana poprimila smečkastu boju, a nakon dva tjedna, jaje je poprimilo potpuno smeđu boju. Jaje potopljeno u kavi je poprimilo jaku smeđu boju, ali je ljuska ostala čvrsta. Zaključujemo da kava nije dovoljno kisela da bi oštetila čvrstu ljusku jajeta, ali zato naglo i u kratkom razdoblju (od otprilike 1 do 2 dana) jajetu daje boju. Jaje potopljeno u soku od naranče je nakon nekoliko dana poprimilo žutu boju, a ljuska je zbog limunske kiseline iz soka postala tanja i mekša. Oko ljuske jaja uronjenog u sok od naranče, nastao je krupni sloj koji omeđuje jaje narančasto-žućkaste boje. Tekućina soka nije bila dovoljno jaka da bi naglo obojila jaje ili uništila ljusku. Jaje potopljeno u piću sa 2 % alkohola nije značajno utjecalo na ljusku. Najvjerojatnije zbog niske koncentracije alkohola. Taj pokus je imao minimalan efekt i jaje je ostalo gotovo isto kao i prvi dan. Ljuska jajeta bi poprimila veće promjene nakon dva tjedna ako bi u napitku bilo više alkohola. Razina tekućine u svakom napitku se smanjila za par milimetara (otprilike 3 – 7 mm). Nakon deset dana na površini svake tekućine nastale su i bakterije/gljivice, koje su bile zelenkasto-bijele boje i imale su neugodan miris. Na soku od naranče gotovo da nije bilo bakterija, dok se na površini napitka koji je sadržavao 2 % alkohola, nalazilo najviše bakterija te je imao najgori miris. Na Coca Coli se također nalazila velika količina gljivica. Kava je imala malu količinu bakterija na sebi te je i dalje imala miris kao obična turska kava.



Slika 5 Rezultati jajeta u Coca Coli



Slika 6 Rezultati jajeta u soku od naranče



Slika 7 Rezultati jajeta u alkoholu (2 %)



Slika 8 Rezultati u kavi



RASPRAVA

Istraživanje poput ovog može biti korisno za bolje razumijevanje osnovnih principa osmoze, kemije kiselina i baza. Vidljivo je da ovisno o vrsti i sastavu tekućine dobivamo različite rezultate. U istraživačkom radu koji je radio Husnjak (2021) vidljive su veće promjene na jajima koja su bila potopljena u ocat i u Coca Colu. Reakcije na ljusku jajeta su bile vidljive već nakon 24 sata, najviše na jajetu koje se nalazilo u octu. Promijenilo je teksturu iz tvrde ljuske u gumenu, no nije promijenilo boju, dok jaje u Coca Coli nije promijenilo teksturu već boju. Cilj ovog istraživačkog rada bio je kako pretvoriti tvrdo jaje obloženo ljuskom u gumenu teksturu. U radu nam je prikazana i tablica u kojoj možemo zaključiti da Coca Cola nema promjene u teksturi, dok ocat ima primjetljive promjene u razdoblju od 12 sati. Mnogi istraživački radovi pa i rad koji je napravila Vukelić (2018) koja radi u dječjem vrtiću u Zagrebu, isprobali su pokus o jajetu koje je uronjeno u ocat. Vukelić (2018) u svom radu opisuje postupak: jaje se položi u čašu u kojoj se nalazi dovoljna količina octa, kako bi jaje bilo potpuno uronjeno u tekućinu, tj., da prekrije cijelo jaje. Jaje mora ostati u čaši napunjeno tekućinom 24 sata. Nakon jednog dana jaje se izvadi iz čaše i opere se vodom. Rezultat prikazuje „gumeno jaje“, koje je zbog kemijskih reakcija (reakcija između kalcija koje sadržava ljuska jajeta i octene kiseline) postalo i prozirno. Primjećujem da većina radova koji se nalaze na internetu govore o pokusu „gumenog jajeta“, koje se može dobiti u kraćem vremenu ako se nalazi u octu ili u dužem vremenu ako se nalazi u Coca Coli, jer obje tekućine sadržavaju nagrizajuće kiseline koje na jaje reagiraju kemijskim reakcijama. Moj rezultat jajeta u Coca Coli je taj da prvih par sati nije poprimio nikakve promjene, a nakon 2–3 dana, jaje je počelo poprimati smečkastu boju. Nakon skoro 2 tjedna, ljuska je potpuno promijenila boju u smeđu, a tekstura joj je ostala ista. Dakle ako usporedim svoj rad s drugim istraživačkim radovima koje sam našla na internetu mogu zaključiti da su promjene vrlo slične.

Rezultati ovog istraživačkog rada potvrdili su rezultate od prije provedenih istraživanja. Utvrđeno je da pretjerana konzumacija kave stvara tame mrlje na ljuski jajeta, odnosno zubnoj caklini. Nadalje Coca Cola, zbog visokog udjela šećera i visoke količine ugljikovog dioksida, štetno djeluju na ljusku jajeta, odnosno zubnu caklinu. Zapravo, vjerojatno stvara eroziju zubne cakline zbog kiselosti tekućine. I sok od naranče je vjerojatno štetan za zubnu caklinu zbog visokog udjela šećera. Također mijenja razinu pH u ustima i smanjuje tvrdoću i povećava hrapavost zubne cakline, ako napravimo poveznicu između ljuske jajeta i zubne cakline. Najmanji utjecaj na ljusku jajeta imalo je slabo alkoholno piće, vrlo vjerojatno zbog niske razine alkohola.

ZAKLJUČCI

Provedeno istraživanje potvrđuje hipotezu postavljenu na početku rada da visoke razine šećera i kiseline štetno djeluju na ljusku jajeta, odnosno zubnu caklinu, kao i pića s niskim udjelom alkohola. Cilj istraživanja je bio utvrditi sve ono što je hipotezom utvrđeno, a to je štetan utjecaj predmetnih tekućina na zube dokazan na primjerima ljuske jajeta.

LITERATURA

Husnjak V. 2021. Istraživački rad – Gumeno jaje. On-line URL:

<https://www.scribd.com/document/548182466/Istra%C5%BEiva%C4%8Dki-rad-gumeno-jaje> Pristupljeno 19. 12. 2021.

Margeta J., Inić U. A. 2023. Utjecaj načina držanja i hranidbe kokoši na kvalitetu jaja i proizvoda od jaja. Bioznanac 9: 1-7.

Ubertalli J.T. 2024. Karijes. On-line URL: <https://www.hemed.hr/Default.aspx?sid=14025> Pristupljeno 16. 6. 2023.

Vukelić M. 2018. Eksperiment jaje u octu. On-line URL: [https://vrtic-](https://vrtic-vedridani.zagreb.hr/UserDocsImages/Dokumenti/VRTI%C4%86%20NA%20DALJINU/EKSPERIMENT%20JAJE%20U%20OCTU_Marija%20Vukelic.pdf)

[vedridani.zagreb.hr/UserDocsImages/Dokumenti/VRTI%C4%86%20NA%20DALJINU/EKSPERIMENT%20JAJE%20U%20OCTU_Marija%20Vukelic.pdf](https://vrtic-vedridani.zagreb.hr/UserDocsImages/Dokumenti/VRTI%C4%86%20NA%20DALJINU/EKSPERIMENT%20JAJE%20U%20OCTU_Marija%20Vukelic.pdf) Pristupljeno 16. 6. 2023.

OD BILJKE DO ANTISEPTIKA – POTRAGA ZA ANTIBAKTERIJSKIM SPOJEVIMA U BILJKAMA

Sara Polašek, 2. razred

Prirodoslovna škola Vladimira Preloga, Zagreb

Mentor: Klara Peter

SAŽETAK

Antimikrobna rezistencija postaje značajan problem za ljudsko zdravlje. Zbog sve veće potrebe za pronalaskom i razvojem novih antibakterijskih spojeva, cilj ovog istraživanja bio je identificirati u kojim se od prikupljenih biljaka iz močvarnog i priobalnog staništa nalaze antibakterijski spojevi te u kojem su organskom otapalu oni najbolje topivi. Pretpostavljeno je kako će biljke ubrane na močvarnom staništu imati veću mjeru antibakterijske sposobnosti u odnosu na biljke prikupljene iz priobalnog staništa. Također je pretpostavljeno kako će najučinkovitije organsko otapalo biti diklormetan, a najmanje učinkovito dietil-eter. Rezultati su dobiveni mjerenjem inhibicijskih zona biljnih otopina u odnosu na bakterije mikrobioma kože, iz zraka i mikrofilma spužvice. Najveća prosječna zona inhibicije izmjerena je za biljke ubrane na priobalnom staništu koristeći destiliranu vodu kao otapalo, ali rezultat nije statistički značajan u usporedbi s prosječnom zonom inhibicije za biljke prikupljene s močvarnog staništa. Jedine statistički značajne razlike kod promatranih otapala zabilježene su između destilirane vode i dietil-etera i diklormetana i dietil-etera. Zaključeno je kako je destilirana voda najučinkovitije otapalo, diklormetan najučinkovitije organsko otapalo, a dietil-eter najmanje učinkovito organsko otapalo. Stanište u ovom istraživanju nije bilo ograničavajući čimbenik za postojanje antibakterijskih spojeva, odnosno nije zabilježena značajna razlika između inhibicijskih zona uzoraka biljaka prikupljenih s močvarnog i priobalnog staništa.

Ključne riječi: antibakterijsko djelovanje; sekundarni metaboliti; organska otapala

UVOD

U borbi protiv patogenih bakterija antibiotici pružaju sve slabiju zaštitu za ljudski organizam. U prošlih nekoliko desetljeća, zbog neodgovornog korištenja i pretjeranog propisivanja antibiotika, otpornost na lijek namijenjen sprječavanju bakterijskih zaraza postala je značajan problem (Annunziato, 2019). Antimikrobna rezistencija (AMR) opisuje sposobnost bakterija i drugih mikroorganizama da se odupiru učincima antibiotika, čineći ih manje učinkovitima ili potpuno neučinkovitima u liječenju zaraza i zaraznih bolesti (Annunziato, 2019). Bakterije ovu rezistenciju mogu posjedovati intrinzično (antibiotik prirodno nema svojstvo kojim bi inhibirao rast bakterije) ili je mogu steći. Stečena rezistencija više je zabrinjavajuća za ljudsko zdravlje jer se odnosi na otpornost koju bakterije razviju nakon izloženosti antibiotiku, a može se razviti na nekoliko načina. U procesu razmnožavanja, bakterije stvaraju milijarde kopija. Neki od novonastalih organizama mutirat će i spontano steći antimikrobnu rezistenciju (Annunziato, 2019). Te mutirane bakterije sada posjeduju zaštitne mehanizme prema antibioticima i daljnjim razmnožavanjem stvaraju nove generacije bakterija s urođenom antimikrobnom rezistencijom. Drugi način na koji bakterija može dobiti rezistenciju jest horizontalnim prijenosom gena. Tri su načina horizontalnog prijenosa gena. Transformacijom, gdje bakterija u sebe ugrađuje slobodne molekule DNA iz okruženja, konjugacijom ili direktnim prijenosom genskog materijala od jedne bakterije drugoj i konačno, prijenosom gena od jedne do druge stanice putem bakteriofaga (Burmeister, 2015). Zbog rastućeg problema kojeg predstavlja antimikrobna rezistencija, važno je ulagati u otkrivanje i razvoj novih antibakterijskih spojeva kako bi se umanjile infekcije i zaštitili ljudski životi. Moguće rješenje ovog problema nalazi se u biljkama (Annunziato, 2019).



Kako bi uspjele preživjeti, mnoge su biljke razvile različite prilagodbe kojima se štite od utjecaja okoliša i drugih organizama. Neki od načina obrane su stanična stijenka i membrana, razvoj kutikule i kemijska obrana fitokemikalijama. Fitokemikalije se mogu razvrstati u dvije skupine, primarni i sekundarni metaboliti (Rabizadeh i sur., 2022). Primarni metaboliti neophodni su za život biljaka, a to su ugljikohidrati, proteini i lipidi. Sekundarni metaboliti preostale su biljne kemikalije koje posjeduju antivirusne, antifungalne i antibiotske sposobnosti koje su odgovorne za zaštitu biljaka od patogena, ali za razliku od primarnih metabolita nisu nužni za preživljavanje biljke. Moguće ih je pronaći u svim dijelovima biljke, uključujući list, koru drveta, cvijet, sjeme, itd. (Al-Rifai i sur., 2017). Sekundarni metaboliti dijele se u tri skupine: (1) spojevi koji sadrže dušik, primjerice alkaloidi, (2) fenolni spojevi, kao što su flavonoidi ili tanini i (3) terpeni (Rabizadeh i sur., 2022). Liu (2004) istražuje temu sinergije, odnosno pojačavanja djelovanja cjeline u odnosu na pojedine sastavnice. U istraživanju je zaključeno kako se zajedničkim djelovanjem sekundarnih metabolita može postići još snažniji učinak, nego da su korišteni izolirani spojevi. Zbog snažnijeg zajedničkog djelovanja sekundarnih metabolita koji posjeduju antikancerogena i antioksidacijska svojstva, fitokemikalije se također preporučuju za ljudsku konzumaciju (Liu, 2004).

S obzirom na rastuću važnost sekundarnih metabolita u farmaceutskoj industriji, sve je više istraživanja kojima se utvrđuje antimikrobni učinak biljaka. U istraživanju provedenom u Armeniji testiran je antimikrobni učinak pet vrsta biljaka i pet različitih otapala (destilirana voda, metanol, kloroform, aceton i heksan) (Ginovyan i sur., 2017). U tom istraživanju je u nekih biljaka izmjerena vrlo niska minimalna inhibitorna koncentracija (MIK), odnosno najmanja koncentracija antibaktericida potrebna za inhibiciju rasta bakterija. Od prethodno navedenih pet otapala najmanja MIK zamijećena je za gotovo sve testirane biljke dok je kao otapalo korišten aceton (Ginovyan i sur., 2017). U drugom istraživanju provedenom na dvije vrste roda *Convolvulus* pronađeno je kako je ekstrakt dietil-etera imao manji broj prisutnih fenola i flavonoida za obje vrste u odnosu na ekstrakt kloroforma (Al-Rifai i sur., 2017).

Sve je veći broj znanstvenih istraživanja koji proučavaju antibakterijsko djelovanje močvarnih biljaka (Ozbay i Alim, 2009; Abeyasinghe, 2010; Umesh, 2013). Istraživanje provedeno 2013. godine uz korištenje *agar well diffusion* metode, odnosno varijacije antibiograma načinjene bušenjem pora u čvrstoj podlozi od agara, bilo je usmjereno na antibakterijski učinak uskolisnog rogoza (*Typha angustifolia* L.) (Umesh, 2013). Zaključeno je kako su metanolski i vodeni ekstrakti imali najjače djelovanje na uzorak bakterija. Također je zaključeno kako se uskolisni rogoz može koristiti kao antibakterijsko sredstvo. Zbog svojeg karakterističnog izgleda te stalne ili sezonske izloženosti plitkoj vodi koja se brzo može zagrijati, močvare pružaju pogodno mjesto razvoju velike raznolikosti vrsta, uključujući saprofitske patogene i nepatogene bakterije (Martin-Smith, 2004). Usporedbom bakterijskih kolonija prisutnih u sedimentu slanog i slatkog vodenog staništa, zaključeno je kako je najveća raznolikost bakterijskog uzorka prisutna u slatkovodnom okolišu, zatim u međuplimnim močvarama, a najmanja u slanom vodenom okolišu (Wang i sur., 2012). Osim u močvarama i morima, bakterije i drugi mikroorganizmi sveprisutni su i u našem životu. Jednim istraživanjem provedenim na korištenim kuhinjskim spužvicama zaključeno je kako spužvice pružaju idealne uvjete za razvoj velike raznolikosti bakterija (Cardinale i sur., 2017). Između ostalog, autori navode kako je dio bakterija na spužvicama prisutan i na ljudskim rukama.



U istraživanju provedenom na Balkanskom poluotoku, autori su istražili antibakterijska i antioksidacijska svojstva biljaka koje se koriste u tradicionalnoj medicini (Stanković i sur., 2016). Osim zapaženog antibakterijskog učinka, autori navode i vrlo izraženi antioksidacijski učinak ovih biljaka, odnosno njihovih spojeva. Također se navodi kako trenutni antibiotici nisu dovoljno učinkoviti u inhibiranju rasta bakterija, stoga je potrebno ulagati u otkrivanje i stvaranje novih antibakterijskih spojeva (Stanković i sur., 2016).

Kako bi se sekundarni metaboliti pogodni pravljenju antibiotika mogli iskoristiti, potrebno je prvo identificirati u kojim se biljkama oni nalaze. Analizom velikog broja biljaka za antibakterijska svojstva može se dobiti bolji uvid u to koje biljke posjeduju sekundarne metabolite. Na ovaj način, iako vrsta i količina sekundarnih metabolita u trenutku prvobitne analize nisu poznati, područje istraživanja može se suziti na biljke koje su demonstrirale antibakterijska svojstva. Tako se mogu uštedjeti vrijeme i resursi potrebni za identifikaciju i kvantifikaciju antibakterijskih spojeva iz biljaka koje ih možda ne posjeduju. Stoga je brzi test probira većeg broja biljaka za antibakterijska svojstva koji je proveden u ovom istraživanju vrlo zanimljiv korak prema daljnjem razvoju i napretku u području suzbijanja antibakterijske rezistencije.

Cilj ovog istraživanja bio je otkriti koji od prikupljenih uzoraka biljaka iz močvarnog i priobalnog staništa sadrže antibakterijske spojeve i pomoću antibiograma odrediti njihov antibakterijski učinak na bakterije prikupljene iz sintetičke spužvice kontaminirane bakterijama ruku, zraka i mikrofilma spužvice. Uspoređivanjem antibakterijskog djelovanja biljaka prikupljenih s močvarnog i priobalnog staništa cilj je bio utvrditi utječe li stanište na mjeru antibakterijskog djelovanja. Koristeći bakterije prikupljene s ljudskih ruku, cilj je bio istražiti mogu li se biljni antibakterijski spojevi koristiti kao prirodni antiseptik. Dodatni cilj bio je usporediti učinkovitost organskih otapala diklormetan, dietil-eter i acetona kako bi se utvrdilo u kojem su antibakterijski spojevi najbolje topivi. Sukladno navedenom, pretpostavlja se da će biljke iz močvarnog staništa imati jači antibakterijski učinak na bakterije iz sintetičke spužvice u odnosu na biljke iz priobalnog staništa. Također, pretpostavlja se da će prosječna vrijednost zona inhibicija biljnih otopina organskih otapala biti najveća koristeći diklormetan, a najmanja koristeći dietil-eter u odnosu na bakterije prikupljene iz sintetičke spužvice nasade bakterijama s ruku.

METODE

U istraživanju je analiziran antibakterijski učinak 60 vrsta biljaka (tablica 1) s pet različitih lokacija (slika 1).



Slika 1 Staništa s kojih su prikupljeni biljni uzorci korišteni u istraživanju



Lokacije su zatim podijeljene u dvije kategorije: močvarno stanište i priobalno stanište. Močvarno stanište (Virovitički ribnjaci i Radmanove mlinice) karakterizira vlažno tlo i zrak te blizina voda stajaća (Ribnjaci) i tekućica (Radmanove mlinice), a s tih staništa analizirano je 35 uzoraka biljaka. Priobalno stanište (Sabunike, Nin, Zaton) karakterizira neposredna blizina moru, a s tih staništa analizirano je 25 uzoraka biljaka.

Tablica 1 Popis biljaka korištenih u istraživanju, lokacija na kojima su ubrane i dio biljke čiji je antibakterijski učinak istražen (ako uz biljku ništa ne piše, korišten je samo list)

UZORAK	VRSTA
Močvara (RM – Radmanove mlinice, VT – Ribnjaci Virovitica)	
S001	<i>Asplenium adiantum-nigrum</i> L., RM
S002	<i>Carex pendula</i> H., RM
S003	<i>Equisetum hyemale</i> L., RM
S004	<i>Equisetum telmateia</i> E., RM
S005	<i>Juglans regia</i> L., RM
S006	<i>Laurus nobilis</i> L., RM
S007	<i>Origanum vulgare</i> L., RM
S008	<i>Rosa canina</i> L., RM
S009	<i>Smilax aspera</i> L., RM
S010	<i>Succisa pratensis</i> M., RM
S011	<i>Ulmus canescens</i> M., RM
S012	<i>Equisetum telmateia</i> E., VT
S013	<i>Passiflora caerulea</i> L., VT
S014	<i>Achillea millefolium</i> L., cvat, VT
S015	<i>Angelica sylvestris</i> L., VT
S016	<i>Asarum europaeum</i> L., VT
S017	<i>Athyrium filix-femina</i> (L.) R., VT
S018	<i>Equisetum palustre</i> L., VT
S019	<i>Hedera helix</i> L., VT
S020	<i>Humulus lupulus</i> L., VT
S021	<i>Lythrum salicaria</i> L., VT
S022	<i>Lythrum salicaria</i> L., cvat, VT
S023	<i>Myriophyllum</i> sp., VT
S024	<i>Nuphar lutea</i> (L.) S., VT
S025	<i>Phragmites australis</i> (C.) S., VT
S026	<i>Plantago major-folia</i> L., VT
S027	<i>Polygonum</i> sp. L., VT
S028	<i>Pulmonaria officinalis</i> L., VT
S029	<i>Robinia pseudoacacia</i> L., VT

UZORAK	VRSTA
S030	<i>Salix purpurea</i> L., VT
S031	<i>Sambucus nigra</i> L., VT
S032	<i>Symphytum officinale</i> L., VT
S033	<i>Trapa natans</i> L., VT
S034	<i>Tussilago farfara</i> L., VT
S035	<i>Typha angustifolia</i> L., VT
Priobalje (S – Sabunike, N – Nin, Z – Zaton)	
S036	<i>Convolvulus arvensis</i> L., S
S037	<i>Elytrigia juncea</i> L., S
S038	<i>Juncus acutus</i> L., S
S039	<i>Morus alba</i> L., S
S040	<i>Paliurus spina-christi</i> M., S
S041	<i>Polypodium vulgare</i> L., S
S042	<i>Populus nigra</i> L., S
S043	<i>Rhus typhina</i> L., S
S044	<i>Scirpoides holoschoenus</i> L., S
S045	<i>Tamarix gallica</i> L., S
S046	<i>Vitis vinifera</i> L., S
S047	<i>Allium</i> sp. L., S
S048	<i>Salicornia perennans</i> W., S
S049	<i>Equisetum palustre</i> L., N
S050	<i>Limonium virgatum</i> (W.) F., N
S051	<i>Euphorbia paralias</i> L., N
S052	<i>Phragmites australis</i> (C.) S., N
S053	<i>Quercus pubescens</i> W., Z
S054	<i>Quercus pubescens</i> W., kora, Z
S055	<i>Acer campestre</i> L., Z
S056	<i>Iris germanica</i> L., Z
S057	<i>Prunus dulcis</i> (M.) W., Z
S058	<i>Crataegus calycina</i> P., Z
S059	<i>Hypericum perforatum</i> L., Z
S060	<i>Quercus ilex</i> L., Z

Skupljanje i sušenje uzoraka

Sve biljke korištene u ovom istraživanju prikupljene su tijekom ljeta 2023. godine od strane autora učeničkog istraživačkog projekta. Biljke su identificirane koristeći priručnike za identifikaciju hrvatske flore Flora Croatica 2 (Nikolić, 2020), Flora Croatica 3 (Nikolić, 2020) i Flora Croatica 4 (Nikolić, 2019) i provjerene koristeći ključ za determinaciju vrsta Flora Hrvatske (Domac, 2002). Nakon što su bile ubrane, biljke su temeljito isprane destiliranom vodom kako bi se odstranio površinski sloj nečistoće te su zatim osušene na sobnoj temperaturi izbjegavajući izloženost direktnim sunčevim zrakama. Biljke su bile sušene dva do četiri tjedna, što je ovisilo o samoj biljci. Nakon toga potrebni dijelovi biljke (tablica 1), najčešće listovi, bili su odvojeni i od njih je pomoću tarionika s tučkom napravljen prah. Prahovi svih biljaka čuvani su u sterilnim plastičnim epruvetama s poklopcem na kojima je pisala šifra uzorka.



Priprema podloge od hranjivog agara i bakterijske otopine

Čvrsta podloga od općeg hranjivog agara sastava goveđeg ekstrakta (3 g/L), peptona (5 g/L) i agara (15 g/L) korištena je za *in vitro* dokazivanje antibakterijskog učinka biljnih sekundarnih metabolita. Podloga je napravljena tako da je 5,75 g *Nutrient agara* proizvođača Biolife Italiana bilo pomiješano s 250 mL vode. Podloga od hranjivog agara zatim je autoklavirana u CV-EL 12L/18L autoklavu proizvođača CertoClav. Nakon autoklavliranja podloga je bila ulivena u Petrijeve zdjelice prethodno sterilizirane u suhom sterilizatoru ST-01/02 proizvođača Instrumentaria. Bakterijska otopina kojom su sve podloge od hranjivog agara prelivene načinjena je od bakterija prikupljenih iz kuhinjskih spužvica u biološkom laboratoriju autorove škole. Četiri čiste sintetičke kuhinjske spužvice proizvođača Vileda bile su otvorene i postavljene na plastičnu podlogu u laboratoriju. Pedeset učenika bilo je zamoljeno da temeljito protrljaju namočene spužvice u rukama i da ih polože nazad na plastičnu podlogu. Svim je učenicima zatim bila izmjerena temperatura dlanova digitalnim termometrom. Računanje srednje vrijednosti temperature dlanova služilo je određivanju temperature na kojoj su Petrijeve zdjelice čuvane u inkubatoru. Nakon tjedan dana stajanja na sobnoj temperaturi na plastičnoj podlozi u laboratoriju, spužvice koje su se svakodnevno održavale mokrima bile su prikupljene i uronjene u 2 L destilirane vode. Smjesa je bila ostavljena tri dana na sobnoj temperaturi. Nakon tri dana, spužvice su bile izvađene iz smjese i nastala bakterijska otopina bila je postavljena u frižider na temperaturu od 4 °C (de Paoli, 2005) na kratkotrajnu pričuvu. Na ovaj je način osigurana konstanta bakterijska koncentracija bakterija s ruku, iz zraka i od mikrofilma spužvice. Ova bakterijska otopina bila je korištena u svim etapama istraživanja.

Priprema testne otopine biljnih prahova za određivanje masene koncentracije i priprema biljnih otopina za antibiogram

Kako bi se utvrdila koncentracija biljne otopine korištena u istraživanju, testirane su tri proizvoljno odabrane masene koncentracije (tablica 2): (1) 0,25 g praha pojedine tri vrste: *Robinia pseudoacacia* L., *Laurus nobilis* L. i *Populus nigra* L. pomiješano s 2 mL destilirane vode, (2) 0,5 g praha pojedinog uzorka pomiješano s 2 mL destilirane vode i (3) 1g pojedinog uzorka pomiješan s 2 mL vode, čineći ukupno devet otopina. Biljni su uzorci bili nasumično odabrani da predstavljaju različita staništa. Uzorci su bili testirani u djelovanju na bakterijsku otopinu koristeći isti postupak kojim su napravljeni ostali antibiogrami.

Tablica 2 Masene koncentracija otopina biljnih uzoraka korištene u određivanju konačne koncentracije

UZORAK	KOLIČINA BILJNOG PRAHA/g	VOLUMEN DESTILIRANE VODE/mL	MASENA KONCENTRACIJA g mL ⁻¹
<i>Robinia pseudoacacia</i>	0,25	2,00	0,125
<i>R. pseudoacacia</i>	0,50	2,00	0,250
<i>R. pseudoacacia</i>	1,00	2,00	0,500
<i>Laurus nobilis</i>	0,25	2,00	0,125
<i>L. nobilis</i>	0,50	2,00	0,250
<i>L. nobilis</i>	1,00	2,00	0,500
<i>Populus nigra</i>	0,25	2,00	0,125
<i>P. nigra</i>	0,50	2,00	0,250
<i>P. nigra</i>	1,00	2,00	0,500

Masena koncentracija biljnih otopina korištena u istraživanju je 0,125 g mL⁻¹. Otopine su pripravljene tako da je 0,25 g pojedinog biljnog praha bilo izvagano analitičkom vagom i pomiješano s 2 mL destilirane vode. Na ovaj je način napravljeno ukupno 60 otopina, jedna za svaki uzorak. Otopine su



bile čuvane u Falcon epruvetama do početka sljedeće etape kad su mikropipetom bile ulivene u pore u čvrstoj podlozi od hranjivog agara.

Određivanje antibiograma svih uzoraka biljaka

U istraživanju je korištena *agar well diffusion* metoda (Balouiri i sur., 2016), odnosno varijacija antibiograma načinjena bušenjem pora u čvrstoj podlozi od hranjivog agara (metoda difuzije). Svi su dijelovi istraživanja, uključujući pripremu otopina, naciepljivanja podloge i vizualne analize rezultata, bili provedeni u digestoru. Nakon što je u svaku malu steriliziranu Petrijevu zdjelicu promjera 9,5 cm bilo uliveno 20 mL autoklavirane podloge od hranjivog agara, zdjelice su položene u frižider na 24 sata kako bi se spriječilo nastajanje kondenzata. Nakon 24 sata, prije nego što su u podlozi načinjene pore, svaka je hranjiva podloga mikropipetom bila prelivena sa 100 μL bakterijske otopine koja je Drigalski spatulom bila razmazana i utrljana u podlogu. Pore su napravljene tako da je sterilnim otvorom epruvete promjera 11 mm ocrтана kružnica u podlozi od hranjivog agara koja je zatim sterilnom pincetom izvađena. U svakoj Petrijevoj zdjelici načinjene su tri pore, jedna koja je bila napunjena s 200 μL otopine pojedinog biljnog praha koncentracije 0,125 g mL^{-1} , jedna napunjena s 200 μL destilirane vode i jedna napunjena s 200 μL komercijalnog antiseptika na bazi alkohola sastava 65 % den. etanol, glicerina, voda i mirisi (limonene, citronellol). Svih 60 Petrijevih zdjelica zatim je bilo položeno u Inkolabov inkubator na 24 sata na temperaturu od 30 °C koja je određena računanjem srednje vrijednosti temperature dlanova 50 učenika koji su nasadili spužvice bakterijama svojih ruku. Nakon prvog kruga testiranja, ponovno je ponovljen cijeli postupak sa svih 60 uzoraka kako bi se stvorili replikati za svaki uzorak. U ovom trenutku nisu mjerene zone inhibicije, već je napravljena vizualna analiza dobivenih rezultata i oni uzorci koji su u oba testiranja razvili zonu inhibicije korišteni su u sljedećoj etapi.

Priprema novih biljnih otopina od uzoraka koji su prethodno demonstrirali antibakterijski učinak

Svi uzorci koji su prethodno razvili zonu inhibicije koristeći destiliranu vodu kao otapalo, korišteni su u ovoj etapi istraživanja. Osim destilirane vode, korištena su još tri organska otapala: diklormetan u zamjeni za kloroform, dietil-eter i aceton. Za svaki su uzorak napravljene četiri otopine, svaka načinjena miješanjem 0,25 g pojedinog biljnog praha s 2 mL pojedinog otapala. Četvrta otopina za svaki biljni prah napravljena je s destiliranom vodom u funkciji otapala kako bi se rezultati ponovno replicirali, odnosno kako bi se dokazala njihova vjerodostojnost.

Ponovljeni antibiogram svih uzoraka koji su prethodno razvili zonu inhibicije uz korištenje i različitih otapala

Ponovno su napravljene podloge od hranjivog agara istim postupkom. Ovaj put su pojedine velike Petrijeve zdjelice promjera 11,5 cm bile napunjene svaka s 40 mL podloge od hranjivog agara. 100 μL iste bakterijske otopine mikropipetom je nanoseno na čvrstu hranjivu podlogu i razmazano Drigalski spatulom. U svakoj je zdjelici zatim napravljeno pet pora, četiri koje su bile napunjene s 200 μL otopina biljnog uzorka koristeći različita otapala i jedna napunjena s 200 μL destilirane vode. Osim njih, načinjeno je još 25 pora koje su sadržavale različite kontrolne uzorke. Pet pora bilo je napunjeno 70 % alkoholom etanolom, pet istim antiseptikom kao u prethodnoj etapi, pet čistim diklormetanom, pet čistim dietil-eterom i pet čistim acetonom. Sve su zdjelice s kontrolnim uzorcima također sadržavale jednu poru napunjenu uzorkom destilirane vode (u analizi rezultata korištene su srednje vrijednosti pojedinih kontrolnih uzoraka za usporedbu). Uzorci su zatim bili položeni u inkubator na 24 sata na temperaturu od 30°C. Nakon 24 sata, svakom su uzorku izmjerene zone inhibicije koristeći ravnalo od



rubu pore do ruba zone inhibicije. Kao i u prethodnoj etapi, ponovljena su mjerenja za svaki uzorak koristeći sve otopine u svrhu stvaranja replikata. Napravljene su nove otopine odabranih biljnih prahova i nove podloge od hranjivog agara. U analizi rezultata su za vrijednost inhibicijske zone svakog uzorka korištene srednje vrijednosti dvije izmjerene zone inhibicije kako bi rezultat bio precizniji.

Nakon što su svi rezultati bili zabilježeni, provedena je statistička analiza računajući srednju vrijednost, standardnu devijaciju i provođenjem t-testa. Podatci su analizirani u programu MS Excel koristeći funkcije *average*, *stdev* i *ttest* (neovisni uzorci) uz razinu statističke značajnosti od $p < 0,05$.

REZULTATI

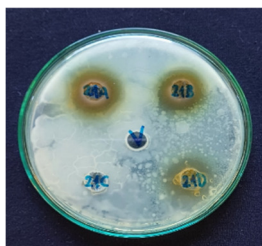
Ovo istraživanje temelji se na analizi antibakterijskog učinka 60 uzoraka biljaka prikupljenih iz močvarnog i priobalnog staništa Republike Hrvatske koristeći različita otapala (tablica 3). Analiza podataka pokazala je da razlika antibakterijskog utjecaja biljaka ubranih u močvarnom i priobalnom staništu nije statistički značajna koristeći destiliranu vodu kao otapalo ($p = 0,861$). Prosječna zona inhibicije za biljke ubrane na močvarnom staništu koristeći destiliranu vodu kao otapalo iznosila je $3,67 \pm 1,63$ mm, a za biljke ubrane u priobalnom staništu koristeći destiliranu vodu kao otapalo prosječna zona inhibicije iznosila je $3,86 \pm 2,12$ mm.

U trećoj etapi istraživanja korišten je 21 uzorak biljaka (slika 2; primjer zone inhibicije) čije su otopine osim s destiliranom vodom pripravljene koristeći organska otapala diklormetan, dietil-eter i aceton. Zone inhibicije koristeći destiliranu vodu kao otapalo iznosile su od 0 do 9 mm, za diklormetan od 0 do 6 mm, za dietil-eter od 0 do 5 mm i za aceton od 0 do 6 mm (prilog 1, prilog 2). Najveća prosječna zona inhibicije zabilježena je za biljke ubrane na priobalnom staništu koristeći destiliranu vodu, a najmanja prosječna zona inhibicije zabilježena je za priobalne biljke koristeći dietil-eter (tablica 3). Najveća prosječna zona inhibicije koristeći organsko otapalo zabilježena je kod biljaka ubranih na močvarnom staništu uz aceton kao otapalo.

Tablica 3 Prosječne vrijednosti zona inhibicija za uzorke biljaka prikupljenih na močvarnom i priobalnom staništu uz korištenje četiri vrste otapala

LOKACIJA / STANIŠTE	OTAPALO	PROSJEČNA VRIJEDNOST ZONE INHIBICIJE $\pm$ STANDARDNA DEVIJACIJA
močvara	destilirana voda	$3,67 \pm 1,63$
priobalje	destilirana voda	$3,86 \pm 2,12$
močvara	diklormetan	$3,43 \pm 1,62$
priobalje	diklormetan	$3,40 \pm 1,08$
močvara	dietil-eter	$2,83 \pm 1,47$
priobalje	dietil-eter	$1,67 \pm 0,52$
močvara	aceton	$3,63 \pm 1,77$
priobalje	aceton	$2,44 \pm 0,86$

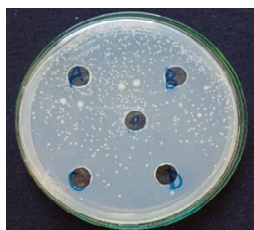
Statistička značajnost razlike u zoni inhibicije pri usporedbi otapala iznosila je $p = 0,973$ za diklormetan, $p = 0,097$ za dietil-eter i $p = 0,110$ za aceton. U usporedbi učinkovitosti organskih otapala jedini statistički značajni rezultat bio je između diklormetana i dietil-etera ($p = 0,038$). Drugi statistički značajan rezultat zabilježen je pri usporedbi destilirane vode i dietil-etera ($p = 0,024$).



Slika 2 Inhibicijske zone uzorka *Lythrum salicaria* L., list, koristeći otapalo A (destilirana voda), B (diklormetan), C (dietil-eter) i D (acetona); V (kontrolni uzorak – destilirana voda)

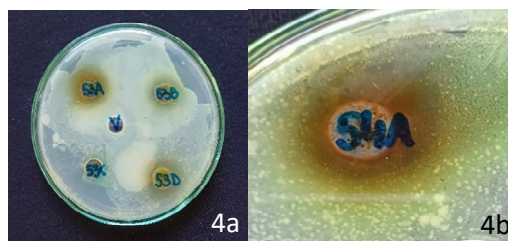
Četiri uzorka od 21 testiranog uz korištenje različitih otapala razvila su inhibicijsku zonu prilikom uporabe sva četiri otapala (vrste: *Lythrum salicaria*, cvat; *Nuphar lutea*; *Rhus typhina*; *Euphorbia paralias*). Sedam uzoraka razvilo je inhibicijsku zonu prilikom uporabe tri različita otapala (vrste: *Rosa canina*; *Lythrum salicaria*, list (slika 2); *Tamarix gallica*; *Vitis vinifera*; *Limonium virgatum*; *Quercus pubescens*, list; *Quercus ilex*). Šest uzoraka razvilo je zonu inhibicije prilikom korištenja dva otapala (vrste: *Juglans regia*; *Laurus nobilis*; *Poligonum japonicum*; *Robinia pseudoacacia*; *Typha angustifolia*; *Juncus acutus*). Četiri uzorka razvila su inhibicijsku zonu koristeći samo jedno otapalo (vrste: *Asarum europaeum*; *Hedera helix*; *Salix purpurea*; *Populus nigra*).

Analizom kontrolnih uzoraka antiseptiku je izmjerena prosječna zona inhibicije od 8 mm. Prosječna zona inhibicije za 70 % alkohol etanol iznosi 10 mm. Vizualnom analizom rezultata ostalih kontrolnih uzoraka (slika 3) zamijećeno je kako čisti aceton najučinkovitije zaustavlja rast bakterija, zatim dietil-eter, zatim diklormetan, a najslabije, odnosno nikako, destilirana voda.



Slika 3 Zone inhibicija kontrolnih uzoraka; A (destilirana voda); B (diklormetan); C (dietil-eter); D (acetona)

Također su uspoređene inhibicijske zone listova hrasta medunca (*Quercus pubescens*) (slika 4a) i crnog hrasta (*Quercus ilex*). Oba uzorka razvila su inhibicijsku zonu uz destiliranu vodu i aceton kao otapalo. Hrast medunac *Q. pubescens* razvio je zonu inhibicije uz diklormetan kao otapalo, a crni hrast *Q. ilex* uz dietil-eter kao otapalo. Uz destiliranu vodu kao otapalo, uzorak lista *Q. pubescens* imao je zonu inhibicije od 8 mm, a uzorak lista *Q. ilex* 3 mm. Prosječna zona inhibicije za sva otapala uzorka lista *Q. pubescens* iznosila je 4,66 mm, dok je prosječna zona inhibicije uzorka lista *Q. ilex* za sva otapala iznosila 2,5 mm. Najveća zona inhibicije zabilježena je za uzorak kore *Q. pubescens*, a za destiliranu vodu kao otapalo ona je iznosila 9 mm (slika 4b). Zbog nedostatka dovoljne količine uzorka kora *Q. pubescens* testirana je samo uz destiliranu vodu kao otapalo zbog čega ovaj uzorak nije bio uzet u obzir prilikom računanja standardnih devijacija i provedbe t-testa.



Slika 4a) Zone inhibicije uzorka lista *Q. pubescens* koristeći otapalo A (destilirana voda); B (diklormetan); C (dietil-eter); D (acetone); 4b) Zona inhibicije uzorka kore *Q. pubescens* koristeći otapalo A (destilirana voda)

RASPRAVA

Rezultati ovog učeničkog istraživačkog projekta ukazuju na to kako stanište nije bitno utjecalo na antibakterijsko djelovanje biljaka prikupljenih iz močvarnog i priobalnog staništa. Prosječna vrijednost zona inhibicije bila je nešto veća za biljke prikupljene iz priobalnog staništa, no ta razlika nije bila statistički značajna u odnosu na prosječnu vrijednost zona inhibicije za biljke ubrane na močvarnom staništu uz korištenje destilirane vode kao otapalo. Time je prva hipoteza odbačena, odnosno može se zaključiti kako različiti okolišni uvjeti nisu značajno utjecali na postojanje sekundarnih metabolita kod promatranih biljaka. Ovaj se rezultat može objasniti širokom prisutnošću mikroorganizama te je za točno određivanje njihovog učinka na razvoj sekundarnih metabolita potrebno biljke u kontroliranim uvjetima izlagati različitim bakterijama. Iako takvo opsežno istraživanje nije provedeno u ovom projektu, kod 21 od testiranih 60 biljaka zabilježena su antibakterijska svojstva. Ovo potvrđuje potrebu za nastavkom proučavanja biljnih antibakterijskih spojeva i načina na koji oni mogu biti korišteni u budućnosti.

Analizom rezultata dobivenih koristeći različita otapala može se primijetiti kako je destilirana voda bila učinkovitije otapalo od dietil-etera. U usporedbi različitih organskih otapala jedina statistički značajna razlika bila je utvrđena pri usporedbi diklormetana i dietil-etera. Moguće je zaključiti kako je najmanje učinkovito otapalo dietil-eter koji je ujedno imao i najnižu prosječnu vrijednost zona inhibicije za biljke prikupljene i na močvarnom i na priobalnog staništu. Ovo je u skladu s istraživanjem provedenim na dvije vrste roda *Convolvulus* gdje je pronađeno kako je ekstrakt dietil-etera imao manji broj prisutnih fenola i flavonoida u obje vrste u odnosu na ekstrakt kloroforma (Al-Rifai i sur., 2017). Također je zabilježeno kako su zone inhibicije otopine dietil-etera bile manje od zona inhibicije otopina kloroforma. U ovom istraživanju korišten je diklormetan kao zamjena za kloroform, odnosno triklorometan. Rezultati ovog istraživanja pokazuju kako je čak i supstitucija za kloroform koja ima različitu kemijsku strukturu učinkovitije otapalo za antibakterijske spojeve od dietil-etera. Iako je najveća prosječna zona inhibicije zabilježena za biljke ubrane na močvarnom staništu uz korištenje acetona kao otapalo, prosječne zone inhibicije za dva staništa uz uporabu diklormetana kao otapalo bile su međusobno najbližije. Dodatno, promotre li se rezultati pojedinih čistih otapala, može se vidjeti kako je diklormetan drugo najmanje učinkovito samostalno sredstvo za zaustavljanje rasta bakterija. Zato je moguće zaključiti kako se u njemu u usporedbi sa svim drugim organskim otapalima najbolje otapaju i djeluju antibakterijski spojevi, s obzirom da su otopine biljnih antibakterijskih spojeva uz korištenje diklormetana kao otapalo bile gotovo najsnažnije. Ovime je potvrđena druga hipoteza, odnosno kao najučinkovitije organsko otapalo pokazalo se diklormetan, a najmanje učinkovito za bakterije prikupljene iz sintetičke spužvice nasađene bakterijama s ruku, iz zraka i mikrofilma spužvice bilo je dietil-eter. Aceton se ne može smatrati najučinkovitijim otapalom u istraživanju, iako je



korištenjem acetona zabilježena najveća prosječna zona inhibicije za biljnu otopinu uz aceton kao organsko otapalo. Razlog tome je što je za čisti uzorak acetona utvrđeno da najučinkovitije zaustavlja rast bakterija. Zbog sposobnosti acetona da samostalno zaustavlja razvoj bakterija, smatra se kako nije najučinkovitije otapalo za ekstrahiranje antibakterijskih spojeva jer i bez prisutnosti sekundarnih metabolita može ubiti bakterije. Najveća ukupna prosječna zona inhibicije bila je zabilježena uz korištenje destilirane vode, a s obzirom na to da čisti uzorak destilirane vode nije uzrokovao nikakvu zonu inhibicije, zaključeno je kako je najučinkovitije organsko otapalo diklormetan, a najučinkovitije od svih korištenih otapala destilirana voda.

Usporedbom antibakterijskog učinka dva uzorka lista roda *Quercus*, primijećeno je kako su antibakterijski spojevi oba uzorka topljivi u destiliranoj vodi i acetonu, a dodatno je utvrđeno da je uzorak *Q. pubescens* topljiv u diklormetanu, a uzorak *Q. ilex* u dietil-eteru. Ovo ukazuje na postojanje istih i različitih spojeva u njihovim listovima, odnosno na različitu topljivost njihovih spojeva koji se posljedično mogu koristiti u stagniranju razvoja različitih bakterija i pravljenju različitih antibiotika i antiseptika. Najveća zona inhibicije u ovom istraživanju zabilježena je za uzorak kore *Q. pubescens* uz destiliranu vodu kao otapalo. Postoje mnoga istraživanja koja potvrđuju ovaj rezultat, a jedan od njih navodi kako upravo kora biljaka roda *Quercus* posjeduje antibakterijska svojstva zbog čega se u tradicionalnoj medicini koristi kao antiseptik (Taib i sur., 2020). Ekstrakti biljaka roda *Quercus* također se mogu koristiti kao lijek za gastrointestinalne poteškoće, upale i opekline. Zaključeno je kako su fenoli, flavonoidi i tanini sveprisutni u ovim vrstama i kako su odgovorni za izvanredna antibakterijska, antioksidacijska, protuupalna i antikancerogena svojstva (Taib i sur., 2020). Zbog svih svojih benefita, spojeve u listovima i kori uzoraka roda *Quercus*, uključujući i vrste *Q. pubescens* i *Q. ilex* koji su analizirani u ovom istraživanju, treba nastaviti istraživati kako bi se još bolje iskoristilo njihovo antibakterijsko djelovanje.

Sve je više znanstvenih radova koji uspoređuju razliku u opsegu antibakterijskih svojstava uzoraka suhog biljnog praha i svježeg biljnog tkiva. U jednom takvom znanstvenom radu zabilježeno je kako otopine napravljene od sušenog biljnog praha imaju snažnije antibakterijsko djelovanje od otopina načinjenih od svježeg tkiva (Hussein, 2010). Antibakterijski učinak suhih dijelova biljaka potvrđen je u ovom istraživanju, no mogući nedostatak ovog istraživanja bio je to što nije testirano posjeduju li odabrane biljke snažnija antibakterijska svojstva ako se napravi otopina od svježeg biljnog materijala. Radi li se o lako hlapivim spojevima, bilo bi potrebno provesti istraživanje u kojem je za svaki uzorak određeno je li svježina biljnog materijala ograničavajući čimbenik. Tako biljku s potencijalnim antibakterijskim svojstvima ne bi bilo moguće previdjeti zato što otopina njezinog osušenog uzorka nema antibakterijska svojstva. Dodatno, potrebno je testirati otopine sekundarnih biljnih metabolita na različitim bakterijskim uzorcima. U ovom istraživanju korištena je miješana flora mikrobioma ljudske kože, zraka i mikrofilma spužvice. Moguće je da neki testirani biljni uzorci koji nisu pokazali antibakterijski učinak na navedene bakterije posjeduju spojeve letalne nekim drugim bakterijskim kolonijama. Zbog toga je potrebno nastaviti istraživati i pronalaziti biljne spojeve koji mogu suzbiti djelovanje bakterija. Izlaganje antibakterijskih spojeva specifičnim bakterijama sljedeći je korak nakon identifikacije biljaka koje posjeduju sekundarne metabolite. Identificiranjem i kvantificiranjem biljnih antibakterijskih spojeva može se dobiti bolji uvid u to koje se bakterije mogu tretirati pojedinim biljnim otopinama. Potrebno je provoditi dodatna istraživanja i razvijati nove načine za borbu protiv antimikrobne rezistencije kako bi se mogli proizvesti novi antiseptici i antibiotici.



ZAKLJUČCI

Temeljem ovog istraživanja moguće je zaključiti sljedeće:

- ☞ Neke biljke priobalnog i močvarnog staništa posjeduju antibakterijske spojeve koji bi mogli poslužiti kao sastavni dio potencijalnih antiseptika,
- ☞ nije zabilježena statistički značajna razlika u antibakterijskom djelovanju biljaka ubranih na močvarnom i priobalnom staništu,
- ☞ najučinkovitije otapalo biljnih antibakterijskih spojeva je destilirana voda,
- ☞ najučinkovitije organsko otapalo biljnih antibakterijskih spojeva je diklormetan, a najmanje učinkovito otapalo je dietil-eter.

LITERATURA

- Abeysinghe P.D. 2010. Antibacterial activity of some medicinal mangroves against antibiotic resistant pathogenic bacteria. *Indian journal of pharmaceutical sciences* 72: 167–172.
- Al-Rifai A., Aqel A., Al-Warhi T., Wabaidur S.M., Al-Othman Z.A., Badjah-Hadj-Ahmed A.Y. 2017. Antibacterial, antioxidant activity of ethanolic plant extracts of some *Convolvulus* species and their DART-ToF-MS profiling. Evidence-based complementary and alternative medicine: eCAM 2017: 5694305-9.
- Annunziato G. 2019. Strategies to overcome antimicrobial resistance (AMR) making use of non-essential target inhibitors: A review. *International journal of molecular sciences* 20: 5844-25.
- Balouiri M., Sadiki M., Ibsouda S.K. 2016. Methods for *in vitro* evaluating antimicrobial activity: A review. *Journal of pharmaceutical analysis* 6: 71–79.
- Burmeister A.R. 2015. Horizontal gene transfer. *Evolution, medicine, and public health* 2015: 193–194.
- Cardinale M., Kaiser D., Lueders T., Schnell S., Egeret M. 2017. Microbiome analysis and confocal microscopy of used kitchen sponges reveal massive colonization by *Acinetobacter*, *Moraxella* and *Chryseobacterium* species. *Sci Rep* 7: 5791-13.
- De Paoli P. 2005. Biobanking in microbiology: From sample collection to epidemiology, diagnosis and research. *FEMS Microbiology Reviews* 29: 897-910.
- Domac R. 2002. *Flora Hrvatske*. Školska knjiga, Zagreb.
- Ginovyann M., Petrosyan M., Trchounian A. 2017. Antimicrobial activity of some plant materials used in Armenian traditional medicine. *BMC complementary and alternative medicine* 17: 50.
- Hussein A.A.A. 2010. Comparison of fresh with dry extracts for antibacterial activity of *Vigna radiate* L. on pathogenic bacteria. *Pharmacognosy Journal* 2: 39-42.
- Liu R.H. 2004. Potential synergy of phytochemicals in cancer prevention: mechanism of action. *The Journal of nutrition* 134: 3479-3485.
- Martin-Smith K.M. 2004. Aquatic habitats in forest ecosystems. *Encyclopedia of Forest Sciences* 96-102.
- Nikolić T. 2020. *Flora Croatica 2: Vaskularna flora Republike Hrvatske*. Alfa, Zagreb.
- Nikolić T. 2020. *Flora Croatica 3: Vaskularna flora Republike Hrvatske*. Alfa, Zagreb.
- Nikolić T. 2019. *Flora Croatica 4: Vaskularna flora Republike Hrvatske*. Alfa, Zagreb.
- Ozbay H., Alim A. 2009. Antimicrobial activity of some water plants from the northeastern Anatolian region of Turkey. *Molecules* 14: 321-328.
- Rabizadeh F., Mirian M.S., Doosti R., Kiani-Anbouhi R., Eftekhari E. 2022. Phytochemical classification of medicinal plants used in the treatment of kidney disease based on traditional Persian medicine. Evidence-based complementary and alternative medicine eCAM 2022: 8022599-13.
- Stanković N., Mihajilov-Krstev T., Zlatković B., Stankov-Jovanović V., Mitić V., Jović J., Čomić Lj., Kocić B., Bernstein N. 2016. Antibacterial and antioxidant activity of traditional medicinal plants from the Balkan Peninsula, NJAS - Wageningen Journal of Life Sciences 78: 21-28.
- Taib M., Rezzak Y., Bouyazza L., Lyoussi B. 2020. Medicinal uses, phytochemistry, and pharmacological activities of *Quercus* species. Evidence-based complementary and alternative medicine: eCAM 2020: 1920683-20.
- Umesh M.K. 2013. Phytochemical screening and in vitro antimicrobial activity of *Typha angustifolia* Linn leaves extract against pathogenic gram negative micro organisms. *Journal of Pharmacy Research* 6: 280-283.
- Wang Y., Sheng H.F., He Y., Wu J.Y., Jiang Y.X., Tam N.F., Zhou H.W. 2012. Comparison of the levels of bacterial diversity in freshwater, intertidal wetland, and marine sediments by using millions of illumina tags. *Applied and environmental microbiology* 78: 8264–8271.



PRILOZI

Prilog 1 Zone inhibicije za 21 uzorak testiran uz korištenje destilirane vode i diklormetana kao otapala

UZORAK	ZONA INHIBICIJE (mm) UZ DESTILIRANU VODU	SREDNJA VRIJEDNOST ZONA INHIBICIJE (mm) UZ DESTILIRANU VODU	ZONA INHIBICIJE (mm) UZ DIKLORMETAN	SREDNJA VRIJEDNOST ZONA INHIBICIJE (mm) UZ DIKLORMETAN
<i>J. regia</i>	3	3	0	0
	3		0	
<i>L. nobilis</i>	0	0	0	0
	0		0	
<i>R. canina</i>	0	0	4,5	5
	0		5,5	
<i>A. europaeum</i>	0	0	0	0
	0		0	
<i>H. helix</i>	1	2	0	0
	3		0	
<i>L. salicaria</i>	5,5	6	5	5
	6,5		5	
<i>L. salicaria</i>	4	5	1	1
	6		1	
<i>N. lutea</i>	2	2	3,5	3
	2		2,5	
<i>P. iaponicum</i>	0	0	2	2
	0		2	
<i>R. pseudoacacia</i>	4	4	6	5
	4		4	
<i>S. purpurea</i>	0	0	0	0
	0		0	
<i>T. angustifolia</i>	0	0	3	3
	0		3	
<i>J. acutus</i>	0	0	0	0
	0		0	
<i>P. nigra</i>	3	3	0	0
	3		0	
<i>R. typhina</i>	4	4	5	4
	4		3	
<i>T. gallica</i>	5,5	5	0	0
	4,5		0	
<i>V. vinifera</i>	2	2	4	4
	2		4	
<i>L. virgatum</i>	0	0	2	1,5
	0		1	
<i>E. paralias</i>	3	3	3,5	4
	3		5,5	
<i>Q. pubescens</i>	9	8	4	3,5
	7		3	
<i>Q. ilex</i>	2	2	0	0
	2		0	



Prilog 2 Zone inhibicije za 21 uzorak testiran uz korištenje dietil-etera i acetona kao otapala

UZORAK	ZONA INHIBICIJE (mm) UZ DIETIL-ETER	SREDNJA VRIJEDNOST ZONA INHIBICIJE (mm) UZ DIETIL-ETER	ZONA INHIBICIJE (mm) UZ ACETON	SREDNJA VRIJEDNOST ZONA INHIBICIJE (mm) UZ ACETON
<i>J. regia</i>	0	0	5,5	5
	0		4,5	
<i>L. nobilis</i>	2	2	2	2
	2		2	
<i>R. canina</i>	6	5	5	5
	4		5	
<i>A. europaeum</i>	3	3	0	0
	3		0	
<i>H. helix</i>	0	0	0	0
	0		0	
<i>L. salicaria</i>	0	0	6	6
	0		6	
<i>L. salicaria</i>	3,5	4	5	4
	4,5		3	
<i>N. lutea</i>	1	1	1	1
	1		1	
<i>P. japonicum</i>	0	0	4,5	4
	0		3,5	
<i>R. pseudoacacia</i>	0	0	0	0
	0		0	
<i>S. purpurea</i>	0	0	2	2
	0		2	
<i>T. angustifolia</i>	2	2	0	0
	2		0	
<i>J. acutus</i>	1	1	1	1
	1		1	
<i>P. nigra</i>	0	0	0	0
	0		0	
<i>R. typhina</i>	1,5	1	3	3
	0,5		3	
<i>T. gallica</i>	3	2	4	3
	1		2	
<i>V. vinifera</i>	0	0	2	2
	0		2	
<i>L. virgatum</i>	2	2	2	1,5
	2		1	
<i>E. paralias</i>	1,5	2	4	3
	2,5		2	
<i>Q. pubescens</i>	0	0	3	2,5
	0		2	
<i>Q. ilex</i>	2	2	3,5	3,5
	2		3,5	

HOĆE LI VAŠA BILJKA PRIJE OZDRAVITI OD BAKTERIJSKE BOLESTI AKO KONZUMIRA WIIP?

Klara Orehovec, 3. razred
Paula Marija Petrić, 3. razred

Prirodoslovna škola Vladimira Preloga, Zagreb

Mentor: Klara Peter

SAŽETAK

Cilj ovog istraživanja bio je dokazati da sadržaj tekućine e-cigareta uzrokuje promjenu u rastu biljnih patogenih bakterija. Također, cilj je bio utvrditi postoji li korelacija između koncentracije nikotina u dimu i tekućini e-cigareta te površini naraslih bakterijskih kolonija. Pretpostavlja se da će izloženost bakterija tekućini e-cigareta u plinovitom ili tekućem agregacijskom stanju inhibirati njihov rast te da će se površina bakterija smanjiti povećanjem koncentracije nikotina. Istraživanje se temelji na analizi naraslih površina dvaju bakterijskih sojeva *Xanthomonas arboricola* pv. *corylina* i *Pseudomonas mediterranea* 24 i 48 sati nakon naciepljivanja na čvrste hranjive podloge koje su prethodno tretirane dimom i tekućinom e-cigareta različitih koncentracija nikotina. Istraživanje je izvedeno s pet ponavljanja po svakom bakterijskom soju i svakoj koncentraciji nikotina u dimu i tekućini. Dobiveni podaci obrađeni su u ImageJ, Microsoft Excelu te dodatno analizirani u IBM SPSS kako bi se izračunala korelacija. Rezultati istraživanja ukazuju da postoji negativna korelacija između površine naraslih bakterija *P. mediterranea* i koncentracije nikotina u tekućini za e-cigarete. S druge strane, uočeno je da ne postoji povezanost između koncentracije nikotina u dimu e-cigareta i površini bakterijskih kolonija sojeva *X. arboricola* pv. *corylina* i *P. mediterranea*. Temeljem navedenog može se zaključiti da sastojci tekućine i dima e-cigareta inhibiraju rast bakterija, odnosno da se potencijalno može koristiti kao alternativa za pesticide u poljoprivredi.

Ključne riječi: dim; tekućina; nikotin; *Pseudomonas mediterranea*; *Xanthomonas arboricola* pv. *corylina*

UVOD

Bakterijske bolesti su bolesti prouzročene djelovanjem bakterija. U prošlosti su bile jedan od glavnih uzročnika smrti, no poboljšanjem sanitarnih uvjeta, cijepljenjem i pojavom antibiotika njihov se utjecaj znatno smanjio. Naime, bakterije uzrokuju bolest lučenjem toksina, kao na primjer bakterija *Clostridium botulinum* koja uzrokuje botulizam (Labbe i Garcia, 2013); unutarnjom proizvodnjom toksina koji se oslobađaju kada se bakterije raspadnu, kao kod bakterije *Salmonella typhi*, uzročnika trbušnog tifusa (Kałużna, 2016) ili induciranjem osjetljivosti na njihova antigenska svojstva, kao bakterija *Mycobacterium tuberculosis* koja uzrokuje tuberkulozu (Rohde i sur., 2007). Nadalje, bakterije se mogu podijeliti na aerobne i anaerobne ovisno o njihovoj potrebi za kisikom. Imaju prokariotski tip stanice, dijele se na dvije domene i dva istoimena carstva: arheobakterije i eubakterije (Esko i sur., 2009). Eubakterije ili prave bakterije građene su od nukleoida, molekule DNA, i citoplazme u kojoj se nalaze ribosomi. Sadržaj stanice zajedno drže tri ili četiri ovojnice. S unutarnje strane nalazi se stanična membrana građena od fosfolipidnog dvosloja, nakon čega slijedi stanična stijenka građena od peptidoglikana. Prema vrsti stanične stijenke razlikuju se gram-pozitivne i gram-negativne bakterije što se određuje bojenjem po Gramu. Gram-negativne bakterije, za razliku od gram-pozitivnih bakterija, imaju tanji sloj peptidoglikana te kao dodatak imaju četvrtu, vanjsku ovojnicu (Costerton i sur., 1974). Posljednja ovojnica koja štiti stanicu je glikokaliks na kojem se nalaze pili i bičevi.

Kao što je ranije navedeno, u prošlosti su bolesti uzrokovane bakterijama bile glavni uzrok smrti sve do otkrića antibiotika, koji su u upotrebi tek od sredine prošlog stoljeća. Antibiotici su dobiveni kao produkt metabolizma bakterija, jednostaničnih gljiva (najčešće plijesni) ili su umjetno sintetizirani u laboratorijima (Hutchings i sur., 2019). Naime, antibiotici imaju različite mehanizme rada, stoga se



dijele na one koji inhibiraju sintezu stanične stijenke, proteina ili nukleinske kiseline, povećavaju propusnost stanične stijenke te remete metabolizam organizma kojeg napadaju (Reygaert, 2018). S obzirom na to da su antibiotici danas široko dostupni i korišteni, javlja se otpornost bakterija na antibiotike, što postaje sve veći problem liječenje bakterioza, stoga se traže alternativne metode za njihovo liječenje. Jedna od mogućih opcija je liječenje bakteriofagima (Sulakvelidze i sur., 2001), virusima koji će napasti i razoriti bakterijsku stanicu, dok je druga opcija inhibicija rasta bakterija.

Unazad 20 godina na tržištu su se pojavile e-cigarete, koje su u veoma kratkom vremenskom periodu integrirane u našu zajednicu jer su predstavljene kao zdravija alternativa cigareta. Iako se 20 godina čini mnogo za istraživanje štetnih posljedica takvog proizvoda, to nije tako. Postoje razne vrste e-cigareta, što ujedno otežava istraživanje štetnih posljedica, od kojih je jedna vrsta *vape*, sada sve popularnija među mladima. Sastoji se od baterije, grijača te rezervoara s tekućinom koja sadrži propilen glikol, glicerol u kojem je otopljen nikotin i razne arome koje tekućini daju mirise i okuse (Havel i sur., 2017). Nikotin kao jedan od glavnih sastojaka i običnih, ali i e-cigareta, ima štetan utjecaj te izaziva mutacije i ovisnost u organizmu (Omolaoye i sur., 2022). Ne može se direktno vezati za molekulu DNA, no njegovim razlaganjem nastaju produkti koji mogu uzrokovati štetu na genomu, u krajnjem slučaju uzrokovati razne bolesti (Lee i sur., 2018) ili inhibirati rast nekih bakterija (Bagale i Kulkarni, 2022). Corriden i sur. (2020) u svojem su istraživanju tretirali neutrofile, vrstu leukocita koja je zaslužna za borbu protiv raznih infekcija, dimom e-cigareta koji ih je učinio gotovo beskorisnim u borbi protiv bolesti. Također, Bagale i Kulkarni (2022) u svojem su radu koristili *Pseudomonas aeruginosa* kao modelni organizam, gram-negativnu, aerobnu štapičastu bakteriju koja ne stvara spore (Wilson i Pandey, 2023), te su dokazali da dim cigareta i e-cigareta inhibira njen rast. S obzirom na to da je navedeni modelni organizam humani patogen, u ovom istraživanju korištena je *Pseudomonas mediterranea* (Catara i sur., 2002) koja je za razliku od *P. aeruginosa* biljni patogen. *P. mediterranea* je gram-negativna, aerobna bakterija koja ne stvara spore, ali je pokretna zahvaljujući velikom broju bičeva (Trantas i sur., 2015). Uz nju u ovom istraživanju korištena je i vrsta *Xanthomonas arboricola* pv. *corylina* (Vauterin i sur., 1995), aerobna, gram-negativna bakterija koja uzrokuje infekciju lješnjaka (Kažužna i sur., 2021). Ako su sastojci navedenog dima štetno djelovali na ljudske stanice koje nam pomažu u borbi s bakterijama, zapitale smo se hoće li dim također djelovati i na patogene bakterije te hoće li postojati razlika u djelovanju ovisno o koncentraciji nikotina koji dim sadrži.

Sukladno navedenom, cilj ovog istraživanja jest dokazati da sadržaj tekućine e-cigareta uzrokuje promjenu u rastu biljnih patogenih bakterija. Također, cilj je utvrditi postoji li korelacija između koncentracije nikotina u dimu i tekućini e-cigareta te površini naraslih bakterijskih kolonija. Iako smo pronašle neke radove na ovu temu u nijednom radu nije promatrana površina izraslih kolonija u ovisnosti o različitim koncentracijama nikotina i različitim načinima izlaganja bakterija proizvodu, što pokazuje originalnost našeg rada. U skladu s postavljenim ciljevima istraživanja, pretpostavlja se da će izloženost bakterija tekućini e-cigareta u plinovitom ili tekućem agregacijskom stanju inhibirati njihov rast te da će se površina bakterija smanjiti povećanjem koncentracije nikotina.

METODE

Ovo istraživanje temelji se na dva bakterijska soja *X. arboricola* pv. *corylina* i *P. mediterranea* koja su nabavljena od Centra za istraživanje biljaka. Bakterije su dobivene na čvrstim hranjivim podlogama u Petrijevim zdjelicama. Čista bakterijska kultura nasađena je na hranjivu podlogu kako bi se dobila svjež

kultura za rad. Petrijeve zdjelice s nasađenim bakterijama držane se u hladnjaku kako bi im se usporilo razmnožavanje.

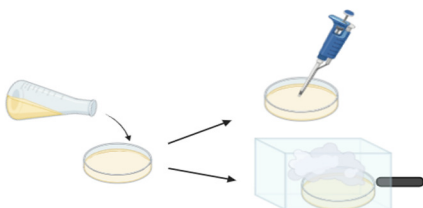
Priprema i razlijevanje krute hranjive podloge

Staklene Petrijeve zdjelice sterilizirane su u suhom sterilizatoru te je u njih izlivena autoklavirana hranjiva podloga koja je pripremljena otapanjem 5,75 g općeg hranjivog agara (5 g/L peptona, 3 g/L goveđeg ekstrakta i 15 g/L agara) u 250 mL destilirane vode. Po 10 mL hranjive podloge izliveno je u pojedinu Petrijevu zdjelicu. Šest Petrijevih zdjelica s krutom hranjivom podlogom iskorišten je kao kontrolna skupina (po tri Petrijeve zdjelice za svaki bakterijski soj), dok su eksperimentalne skupine pripremljene na dva različita načina.

Tretiranje krutih hranjivih podloga tekućinom ili dimom e-cigareta

Prilikom izlijevanja, u 10 mL autoklavirane hranjive podloge, mikropipetom je dodano 180 μ L tekućine za e-cigaretu (*wiipod* okus jagode) raznih koncentracija nikotina (0, 10 i 18 mg/mL) (slika 1). Volumen tekućine određen je na način da je na kutiji od tekućine za e-cigarete pronađena informacija koliko se nikotina unese u organizam prilikom jednog udisaja, što je u ovom slučaju 0,07 mg (u tekućini s koncentracijom nikotina 10 mg/mL) i 0,09 mg (u tekućini s koncentracijom nikotina 18 mg/mL). Pomoću navedenih podataka izračunato je da se prilikom udisaja potroši 0,005 - 0,007 mL tekućine od ukupnog volumena tekućine u kutijici (*wiipod*) koji iznosi 1,8 mL. Za istraživanje je korištena aritmetička sredina volumena koja iznosi 0,006 mL tekućine po udisaju kako bi se u obzir uzela oba volumena udisaja tekućine te tako smanjila mogućnost pogreške. Poznat volumen jednog udisaja pomnožen je sa željenim brojem udisaja, 30 (Corriden i sur., 2020) kako bi se dobio ukupni volumen tekućine potreban za 30 udisaja, no to podrazumijeva veliku aproksimaciju te mogućnost pogreške jer nisu svi udisaji jednaki. Naime, nastojano je da je jednaka količina tekućine potrošena na uzorke tretirane dimom i samom tekućinom.

Petrieve zdjelice s hranjivim podlogama namijenjene za tretiranje dimom stavljene su otklopljene u plitku plastičnu posudu s poklopcem, prethodno prilagođenu za upuhivanje dima (Jasper i sur., 2023) (slika 1 i slika 2).



Slika 1 Shematski prikaz tretiranja hranjivih podloga



Slika 2 Aparatura za tretiranje podlogama dimom e-cigareta

Posuda je izrađena na način da je tvrda plastika rastopljena i probušena tako da u nju stane *wiipod* koji je učvršćen vrućim ljepljivom. Pored otvora za *wiipod* probušena je još jedna mala rupa koja omogućuje upuhivanje dima u posudu. *Wiipod* je priključen na uređaj, a rubovi kutije oblijepljeni su ljepljivom trakom kako bi se spriječio izlazak dima iz posude. Dim je upuhan pomoću napuhanog balona koji se stavi na donji dio uređaja, odnosno na otvor za punjenje uređaja. Dim je upuhan svakih 15 sekundi 30 puta za svaku od koncentracija nikotina u tekućinama (Corriden i sur., 2020) na način da je opušteno grlo balona kako bi dim izašao na dvije sekunde i onda ponovno stisnuto kako bi se zaustavilo daljnje



ispuštanje dima. Ukupno je tretirano 60 Petrijevih zdjelica, 30 Petrijevih zdjelica dimom i 30 tekućinom za e-cigarete, pri čemu je za svaki bakterijski soj uzeto po pet Petrijevih zdjelica za svaku koncentracija nikotina.

Nasađivanje bakterija na tretirane hranjive podloge

Promatrani bakterijski sojevi nasađeni su na tretirane čvrste hranjive podloge i netretirane čvrste hranjive podloge, koje služe kao kontrolni uzorci. Nasađene podloge inkubirane su u inkubatoru na temperaturi od 23 °C. Nakon 24 i 48 sati promatrana je površina izraslih bakterijskih kolonija na tretiranim podlogama te je uspoređena s površinom bakterijskih kolonija kontrolnih uzoraka.

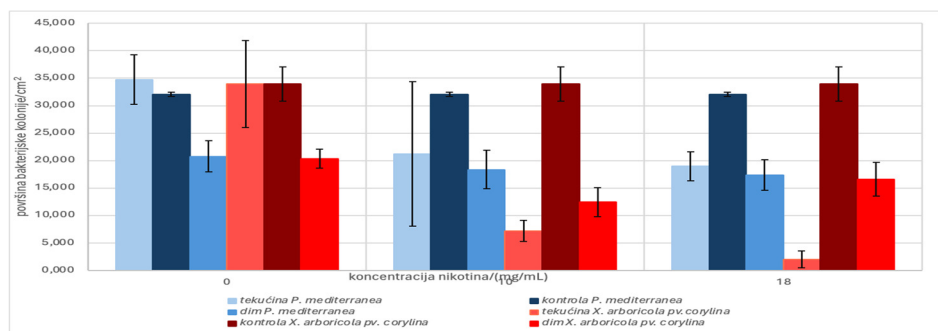
Analiza i obrada podataka

Površina bakterijskih kolonija izračunata je pomoću programa ImageJ (Abramoff i sur., 2004). Kako bi površina bakterija bila izmjerena, sve su Petrijeve zdjelice prethodno bile fotografirane. Zadašći programu referentnu vrijednost pomoću poznatog promjera te označivši bakterijsku površinu izmjerena je veličina bakterijskih kolonija, odnosno njihova površina. Za analiziranih pet Petrijevih zdjelica za pojedinu koncentraciju nikotina izračunata je aritmetička sredina pomoću programa Microsoft Excel. Dobiveni rezultati prikazani su grafički, pri čemu je promatrana ovisnost površine bakterijskih kolonija o koncentraciji nikotina u dimu i u tekućini te je potom uspoređena za oba bakterijska soja. Uz to, tablično je prikazan udio smanjenja bakterijske površine u odnosu na kontrolni uzorak. Također, analizom navedenih ovisnosti, pomoću javno dostupnog programa IBM SPSS Statistics (Version 26), napravljena je korelacija prikupljenih podataka, pri čemu je korištena Pearsonova korelacija. Korelacija je računata za pojedinačne vrijednosti površine *P. mediterranea*, i za srednje vrijednosti *X. arboricola* pv. *corylina*, uz stupanjsku razliku $p < 0,05$. Osim Pearsonove korelacije za statističku analizu podataka korišten je dvosmjerni t-test u programu MS Excel, p-vrijednost dobivena t-testom smatrana je statistički značajnom ako je manja od 0,05.

REZULTATI

Ovo istraživanje temelji se na analizi površina naraslih dvaju bakterijskih sojeva *X. arboricola* pv. *corylina* i *P. mediterranea*. Tijekom istraživanja analizirano je ukupno 66 Petrijevih zdjelica; od kojih je svaka bila analizirana dva puta, odnosno nakon 24 i 48 sati nakon naciepljivanja na čvrstu hranjivu podlogu.

Analizom prikupljenih podataka uočeno je da je nikotin u dimu, kao i nikotin u tekućini za *Wiip* inhibirao rast oba bakterijska soja, odnosno površina bakterijskih kolonija 48 sati nakon naciepljivanja bila je manja od kontrolne (slika 3).



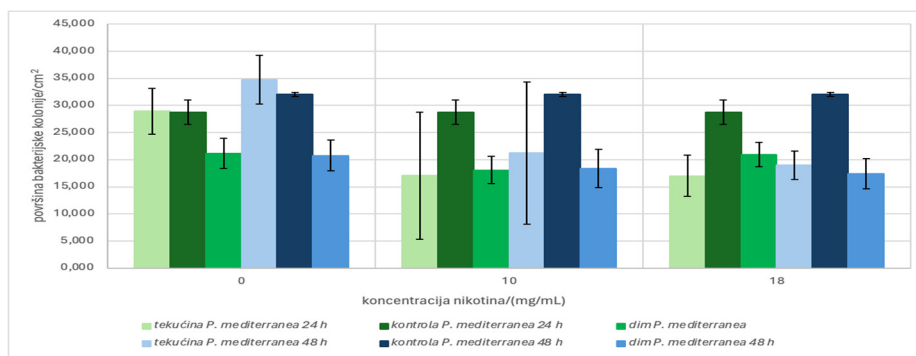
Slika 3 Prikaz ovisnosti površine kolonije bakterijskih sojeva *P. mediterranea* i *X. arboricola* pv. *corylina* o koncentraciji nikotina u čvrstoj hranjivoj podlozi prethodno tretiranoj dimom i tekućinom e-cigareta 48 sati nakon naciepljivanja



Također, vidljivo je da je dim, koji u sebi nije sadržavao nikotin (0 mg/mL), inhibirao rast oba bakterijska soja za razliku od tekućine bez nikotina (0 mg/mL) koja nije izazvala nikakve promjene u rastu kolonija u odnosu na kontrolnu skupinu (slika 3). Nadalje, vidljivo je kako se povećanjem koncentracije nikotina u dimu i u tekućini smanjuje površina bakterijskih kolonija oba soja. Iznimka od navedenog trenda uočena je kod soja *X. arboricola* pv. *corylina* tretiranog dimom e-cigarete u kojem je koncentracija nikotina 10 mg/mL uzrokovala jaču inhibiciju od dima koncentracije nikotina 18 mg/mL (slika 3).

Daljnjom analizom može se uočiti da su površine oba bakterijska soja bile veće 48 sati nakon nasađivanja u usporedbi s njihovim površinama 24 sata nakon nasađivanja. Također, može se uočiti se površina bakterijskih sojeva smanjuje povećanjem koncentracije nikotina (slike 4 i 5).

Međutim, odstupanje od navedenog trenda uočeno je kod bakterijskog soja *P. mediterranea* koji je bio tretiran dimom u kojem je koncentracija nikotina bila 18 mg/mL, pri čemu je površina bakterija bila veća nakon 24 sata, dok se nakon 48 sati smanjila (slika 4). Također, postoji odstupanje između podloga tretiranih dimom, koncentracije nikotina 10 i 18 mg/mL. Površina bakterijskih kolonija 24 sata nakon najepljivanja bila je manja na podlogama tretiranim dimom, koncentracije nikotina 10 mg/mL, odnosno površina je bila veća na podlogama tretiranim dimom, koncentracije nikotina 18 mg/mL. Uz to, tekućina koncentracije nikotina 10 mg/mL jednako je inhibirala rast kolonija soja *P. mediterranea* 24 sata nakon nasađivanja, kao i tekućina koncentracije nikotina 18 mg/mL također 24 sata nakon nasađivanja (slika 4).



Slika 4 Prikaz ovisnosti površine kolonije bakterijskog soja *P. mediterranea* o koncentraciji nikotina u čvrstoj hranjivoj podlozi prethodno tretiranoj dimom i tekućinom e-cigareta 24 i 48 sati nakon najepljivanja

Rezultati statističke obrade, odnosno provođenja dvosmjernog t-testa za bakterijski soj *P. mediterranea* pokazali su postojanje značajne statističke razlike ($p < 0,05$) (tablica 1).

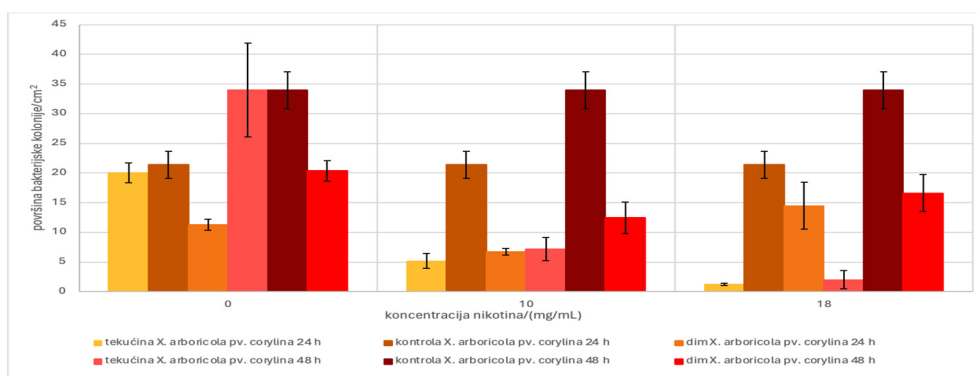
Tablica 1 Usporedbe p-vrijednosti pojedine skupine s obzirom na način tretiranja čvrste hranjive podloge na koji je bio nasađen bakterijski soj *P. mediterranea*

TEKUĆINA						
skupine	k-0	k-10	k-18	0-10	0-18	10-18
p vrijednost	0,2527	0,1393	0,004	0,0812	0,005	0,7240
DIM						
skupine	k-0	k-10	k-18	0-10	0-18	10-18
p vrijednost	0,0010	0,0009	0,0003	0,2761	0,0970	0,6379

Kontrolna skupina u tablici označena je slovom k. Brojevima 0, 10 i 18 označene su različite koncentracije nikotina (mg/mL).
Podebljana je značajna statistička razlika.

Test je proveden na srednjim vrijednostima površina bakterija 48h nakon nasađivanja na tretirane površine. Statistički značajna razlika postoji između skupina tretiranih tekućinom za e-cigarete k (kontrolna skupina) i 18 (koncentracija nikotina 18 mg/mL) te skupina 0 (koncentracija nikotina 0 mg/mL) i 18 (koncentracija nikotina 18 mg/mL). Nadalje, statistički značajna razlika postoji među skupinama tretiranih dimom k (kontrolna skupina) i 0, 10 te 18 (koncentracija nikotina 0, 10 i 18 mg/mL). Između ostalih skupina nije uočena značajna statistička razlika (tablica 1).

Isto kao i kod soja *P. mediterranea*, bakterije soja *X. arboricola pv. corylina* prate trend da se povećanjem koncentracije nikotina u tekućini i dimu e-cigareta smanjuje njihova površina. Iznimka su ovoga puta bakterije tretirane dimom koncentracije nikotina 18 mg/mL, koje imaju veću površinu od bakterija tretiranih dimom koncentracije 0 mg/mL i 10 mg/mL 24 i 48 sati nakon naciepljivanja (slika 5). Osim tog trenda, moguće je primijetiti kako su ovdje sve površine bakterijskih kolonija soja *X. arboricola pv. corylina* 24 sata nakon naciepljivanja manje od onih 48 sati nakon naciepljivanja (slika 5).



Slika 5 Prikaz ovisnosti površine kolonije bakterijskog soja *X. arboricola pv. corylina* o koncentraciji nikotina u čvrstoj hranjivoj podlozi prethodno tretiranoj dimom i tekućinom e-cigareta 24 i 48 sati nakon naciepljivanja

Rezultati statističke obrade, odnosno provođenja dvosmjernog t-testa za bakterijski soj *X. arboricola pv. corylina* pokazali su postojanje značajne statističke razlike ($p < 0,05$) (tablica 2).

Tablica 2 Usporedbe p-vrijednosti pojedine skupine s obzirom na način tretiranje čvrste hranjive podloge na koji je bio nasađen bakterijski soj *X. arboricola pv. corylina*

TEKUĆINA						
skupine	k-0	k-10	k-18	0-10	0-18	10-18
p vrijednost	0,9997	0,0016	0,0054	0,0028	0,0014	0,0108
DIM						
skupine	k-0	k-10	k-18	0-10	0-18	10-18
p vrijednost	0,01084	0,0037	0,0031	0,0015	0,0797	0,0760

Kontrolna skupina u tablici označena je slovom k. Brojevima 0, 10 i 18 označene su različite koncentracije nikotina (mg/mL). Podebljana je značajna statistička razlika.

Test je proveden na srednjim vrijednostima površina bakterija 48 sati nakon nasađivanja na tretirane površine. Statistički značajna razlika nije uočena među skupinama tretiranih tekućinom za e-cigarete k (kontrola) i 0 (koncentracija nikotina 0 mg/mL), dok je između svih ostalih skupina tretiranih tekućinom uočena statistički značajna razlika (tablica 2). Nadalje, statistički značajna razlika nije uočena između skupina tretiranih dimom 0 (koncentracija nikotina 0 mg/mL) i 18 (koncentracija nikotina 18 mg/mL) te skupina 10 (koncentracija nikotina 10 mg/mL) i 18 (koncentracija nikotina 18 mg/mL). Između ostalih skupina postoji značajna statistička razlika (tablica 2).



Uočeno je da su dim i tekućina u kojima je koncentracija nikotina 10 mg/mL, a kojima su prethodno tretirane čvrste hranjive podloge, nakon 24 i 48 sati jače utjecali na rast soja *X. arboricola pv. corylina* nego na soj *P. mediterranea* (tablica 4). Nadalje, uočeno je da je na rast bakterijskog soja *X. arboricola pv. corylina* 24 i 48 sati nakon nasađivanja i tretiranja čvrste hranjive podloge dimom i tekućinom e-cigareta najveći utjecaj imala tekućina u kojoj je koncentracija nikotina 18 mg/mL (tablice 3 i 4). Na rast soja *P. mediterranea* 24 sata nakon nasađivanja i tretiranja najviše je utjecala tekućina u kojoj je koncentracija nikotina 18 mg/mL, dok je nakon 48 sati najveći utjecaj imao dimu kojem je koncentracija nikotina 18 mg/mL i kojim je prethodno bila tretirana čvrsta hranjiva podloga (tablica 4).

Tablica 3 Udio inhibicije rasta kolonija bakterijskih sojeva *P. mediterranea* i *X. arboricola pv. corylina* 24 sata nakon nacepljivanja na čvrstu hranjivu podlogu koja je prethodno tretirana dimom i tekućinom e-cigareta

koncentracija nikotina (mg/mL)	udio inhibicije rasta bakterijskih kolonija (%)			
	TEKUĆINA		DIM	
	<i>P. mediterranea</i>	<i>X. arboricola pv. corylina</i>	<i>P. mediterranea</i>	<i>X. arboricola pv. corylina</i>
0	-0,556	6,351	26,437	47,192
10	40,682	75,813	37,143	68,564
18	40,894	94,107	27,344	32,386

Tablica 4 Udio inhibicije rasta kolonija bakterijskih sojeva *P. mediterranea* i *X. arboricola pv. corylina* 48 sati nakon nacepljivanja na čvrstu hranjivu podlogu koja je prethodno tretirana dimom i tekućinom e-cigareta

koncentracija nikotina (mg/mL)	udio inhibicije rasta bakterijskih kolonija (%)			
	TEKUĆINA		DIM	
	<i>P. mediterranea</i>	<i>X. arboricola pv. corylina</i>	<i>P. mediterranea</i>	<i>X. arboricola pv. corylina</i>
0	-8,456	0,000	35,245	51,074
10	33,738	78,837	42,630	63,325
18	40,810	94,107	45,707	40,005

Rezultati dobiveni statističkom analizom podataka, odnosno provođenjem Pearsonove korelacije, ukazali su na nekoliko postojećih korelacija. Između koncentracije nikotina u tekućini za *Wiip* i površine bakterijskih kolonija *P. mediterranea* 24 sata nakon nacepljivanja na tretiranu podlogu postoji negativna povezanost ($r=-0,537$; $p=0,039$), odnosno povećanjem koncentracije nikotina u tekućini površina kolonija se smanjila. Također, između koncentracije nikotina u tekućini za *Wiip* i površine bakterijskih kolonija *P. mediterranea* 48 sati nakon nacepljivanja na tretiranu podlogu postoji negativna povezanost ($r=-0,655$; $p=0,008$). S druge strane, između koncentracije nikotina u dimu i površine naraslih kolonija *P. mediterranea* i *X. arboricola pv. corylina* nema povezanosti, odnosno rezultat nije statistički značajan ($p>0,05$). Naposljetku, uočeno je da ne postoji povezanost između koncentracije nikotina u samoj tekućini i rastu bakterija *X. arboricola pv. corylina* 24 i 48 sati nakon nasađivanja jer je stupanjska razlika (p) veća od 0,05.

RASPRAVA

Istraživanje je pokazalo da sastojci tekućine za e-cigarete, bilo u tekućem ili plinovitom agregacijskom stanju, inhibiraju rast biljnih patogenih bakterija *X. arboricola pv. corylina* i *P. mediterranea*, čime se potvrđuje hipoteza. Dobiveni rezultati poklapaju se s nekim dosadašnjim istraživanjima, ali se i razlikuju od nekih. Bagale i Kulkarni (2022) dokazali su kako tretiranje čvrstih hranjivih podloga dimom običnih i e-cigareta inhibira rast nekih bakterijskih sojeva, poput *P. aeruginosa*, pri čemu je isti trend vidljiv i u našem istraživanju kod bakterijskih sojeva *P. mediterranea* i *X. arboricola pv. corylina*. S druge strane,



Glipin i sur. (2019) u svojem su istraživanju uočili da tretiranje samih podloga nema nikakvog utjecaja na rast bakterija, poput *P. aeruginosa*, što nije u skladu s našim rezultatima. Naime, oni su utvrdili da tretiranje podloge ima negativan utjecaj na formaciju biofilma, što nije bilo testirano u ovom radu. S obzirom na to da ne postoje istraživanja koja opisuju rast bakterijskih kolonija na podlogama tretiranim tekućinom i dimom e-cigareta različitih koncentracija nikotina, nije bilo moguće usporediti dobivene rezultate. Bagale i Kulkarni (2022) dokazali su samo kako nikotin inhibira rast bakterijskih kolonija, no ne i kako na inhibiciju utječe njegova koncentracija. Iz dobivenih korelacija za *P. mediterranea* jasno je vidljivo da se povećanjem udjela nikotina u tekućini za *Wiip* smanjuje površina naraslih bakterija što potvrđuje drugi dio naše hipoteze, odnosno obrnutu proporcionalnost koncentracije nikotina i površine bakterija. Potencijalni problem ovog istraživanja bila je nejednolika raspodjela tvari iz dima i tekućine e-cigareta u čvrstoj hranjivoj podlozi. Naime, preračunavanje volumena tekućine koji se potroši prilikom 30 udisaja podrazumijevalo je veliku aproksimaciju iz razloga što kod pušača, ali i kod našeg simuliranog pušenja nije bilo moguće osigurati potpunu jednakost svakog udisaja. Kako bi se smanjila aproksimacija oko količine potrebne tekućine bilo bi korisno provesti pokus u kojem bi se mjerio broj udisaja koji je potreban za trošenje 1,8 mL tekućine za e-cigaretu, pri čemu bi se iz dobivenih rezultata mogao izračunati potreban volumen tekućine. Nadalje, pri upuhivanju dima u posudu u kojoj su se nalazile otvorene Petrijeve zdjelice s čvrstom hranjivom podlogom količina dima nije uvijek bila jednaka iz više razloga. Jedan od njih je taj što se iz balona tijekom dvije sekunde nije uvijek mogla ispustiti jednaka količina zraka. Drugi razlog je nemogućnost potpunog sprječavanja propuštanje male količine dima iz same posude, stoga bi u ponovnom istraživanju poželjno bilo koristiti inkubatorsku komoru za hipoksiju (engl. *hypoxia incubator chamber*). Uz to, miješajući hranjivu podlogu s tekućinom iz *wiipoda* moguće je da tekućina nije bila jednoliko raspodijeljena u hranjivoj podlozi u cijeloj Petrijevoj zdjelici. Kakao bi se eliminirao navedeni problem, ukupna količina tekućine za e-cigarete trebala bi biti dodana direktno u Erlenmeyerovu tikvicu s hranjivom podlogom, čime bi se osiguralo da se u svim Petrijevim zdjelicama nalazi homogena smjesa hranjive podloge i tekućine za e-cigarete određene koncentracije. Sukladno navedenom moglo je doći do primjetnih razlika u površini kolonija među ponavljanjima. Također, potencijalnoj pogrešci pri analizi podataka doprinijela je nemogućnost preciznog ocrta vanjske površine u programu ImageJ. Zbog sveg navedenog dio korelacija morao se interpretirati kao da ne postoji povezanost među varijablama te ih se gledalo kao statistički neznčajne rezultate jer je postojala prevelika stupanjaska razlika ($p > 0,05$). Naposljetku, kako bi se dobile točnije korelacije istraživanje bi trebalo biti izvedeno na većem broju uzoraka.

Ovo istraživanje potencijalno se može iskoristiti kao podloga za daljnja istraživanja na ovu temu u kojima bi se moglo istražiti uzrokuje li izloženost tekućini za *Wiip* mutacije ne genomu bakterije te ima li to ikakav utjecaj na otpornost na antibiotike. Također, istraživanje bi se moglo primijeniti i na bakterije patogene za ljude dajući tako dublji uvid u same posljedice pušenja e-cigareta. S obzirom na to da se ovim istraživanjem utvrdio da izloženost dimu i tekućini e-cigareta u kojima postoji nikotin inhibira rast bakterija, ovo bi istraživanje moglo potaknuti promjenu u načinu na koji se tretiraju biljke zaražene bakterijama.

ZAKLJUČCI

Iz ovog istraživanja može se zaključiti sljedeće:

- ☞ sastojci tekućine i dima e-cigareta inhibiraju rast bakterija,



- postoji negativna povezanost između koncentracije nikotina u tekućini za e-cigarete i površine bakterijskih kolonija soja *P. mediterranea*,
- ne postoji povezanost između koncentracije nikotina u dimu e-cigareta i površini bakterijskih kolonija sojeva *X. arboricola* *pv. corylina* i *P. mediterranea*,
- dim e-cigareta neovisno o koncentraciji inhibira rast oba bakterijska soja
- tekućina za e-cigarete koncentracije nikotina 18 mg/mL inhibira rast oba bakterijska soja
- biljka bi prije ozdravila od bakterijske bolesti ako konzumira *Wiip*.

LITERATURA

- Abramoff M., Magalhães P., Ram S. 2004. Image Processing with ImageJ. *Biophotonics International* 11: 36-42.
- Bagale K., Kulkarni R. 2022. A systematic review of the literature examining the effects of cigarette smoke and e-cigarette vapor on the virulence of human pathogenic bacteria. *International Journal of Environmental Research and Public Health* 19: 12518.
- Catara V., Sutra L., Morineau A., Achouak W., Christen R., Gardan L. 2002. Phenotypic and genomic evidence for the revision of *Pseudomonas corrugata* and proposal of *Pseudomonas mediterranea* sp. nov. *Int J Syst Evol Microbiol* 52: 1749-1758.
- Corriden R., Moshensky A., Bojanowski C.M., Meier A., Chien J., Nelson R.K., Crotty Alexander L.E. 2020. E-cigarette use increases susceptibility to bacterial infection by impairment of human neutrophil chemotaxis, phagocytosis, and NET formation. *American Journal of Physiology-Cell Physiology* 318: C205-C214.
- Costerton J.W., Ingram J.M., Cheng K.J. 1974. Structure and function of the cell envelope of gram-negative bacteria. *Bacteriological reviews* 38: 87-110.
- Esko J.D., Doering T.L., Raetz C.R.H. 2009. *Eubacteria and Archea*. Varki A., Cummings R. D., Esko J. D., *Essentials of Glycobiology*. Second Edition. Cold Spring Harbor, New York, Chapter 20.
- Galán, J. E. 2016. Typhoid toxin provides a window into typhoid fever and the biology of *Salmonella typhi*. *Proceedings of the National Academy of Sciences* 113: 6338-6344.
- Glipin D.F., McGown K.A., Gallagher K., Bengoechea J., Dumigan A., Einarsson G., Elborn J.S., Tunney M.M., 2019. Electronic cigarette vapour increases virulence and inflammatory potential of respiratory pathogens. *Respiratory Research* 20: 267-277.
- Havel C.M., Benowitz N., Peyton Jacob P.L., St.Helen G. 2017. An electronic cigarette vaping machine for the characterization of aerosol delivery and composition. *Nicotine & Tobacco Research* 20: 1224-1231.
- Hutchings M.I., Truman A.W., Wilkinson B. 2019. Antibiotics: past, present and future. *Current Opinion in Microbiology* 51: 72-80.
- Jasper A.E., Faniyi A.A., Lauren C. Davis L.C., Frances S. Grudzinska F.S., Robyn Halston R., Jon Hazeldine J., Dhruv Parekh D., Elizabeth Sapey E., David R., Thickett D.R., Aaron Scott A. 2023. E-cigarette vapor renders neutrophils dysfunctional due to filamentous actin accumulation. *Environmental and Occupational Disease* 153: 320-329.
- Kałużna M., Fischer-Le Saux M., Pothier J.F., Jacques M.A., Obradović A., Tavares F., Stefani E. 2021. *Xanthomonas arboricola* *pv. juglandis* and *pv. corylina*: Brothers or distant relatives? Genetic clues, epidemiology, and insights for disease management. *Molecular Plant Pathology* 22: 1481-1499.
- Labbe R.G., Garcia S. 2013. *Clostridium botulinum*. Lund B. M. i Peck M. W., *Guide to Foodborne Pathogens*. Second edition. Wiley-Blackwell, Hoboken, str. 91-111.
- Lee H.W., Park S.H., Weng M., Wang H.T., Huang W.C., Lepor H., Wu X.R., Chen L.C., Tang M. 2018. E-cigarette smoke damages DNA and reduces repair activity in mouse lung, heart, and bladder as well as in human lung and bladder cells. *PANS* 155: E1560-E1569.
- Omolaoye T.S., El Shahawy O., Skosana B.T., Boillat T., Loney T., S du Plessis S. 2022. The mutagenic effect of tobacco smoke on male fertility. *Environ Sci Pollut Res Int* 29: 62055-62066.
- Reygaert W.C. 2018. An overview of the antimicrobial resistance mechanisms of bacteria. *AIMS Microbiol* 4: 482-501.
- Rohde, K., Yates, R. M., Purdy, G. E., & Russell, D. G. 2007. *Mycobacterium tuberculosis* and the environment within the phagosome. *Immunological Reviews* 219: 37-54.
- Sulakvelidze A., Alavidze Z., Morris J.G. 2001. Bacteriophage therapy. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy* 45: 649-659.
- Trantas E.A., Sarris P.F., Pentari M.G., Mpalantinak E.E., Ververidis F.N., Goumas D.E. 2015. Diversity among *Pseudomonas corrugata* and *Pseudomonas mediterranea* isolated from tomato and pepper showing symptoms of pith necrosis in Greece. *Plant Pathology* 64: 307-318.
- Vauterin L., Hoste B., Kersters K., Swings, J. 1995. Reclassification of *Xanthomonas*. *International Journal of Systematic Bacteriology* 45: 472-489.
- Wilson M.G., Pandey S. 2023. *Pseudomonas aeruginosa*. National Library of Medicine-National Center for Biotechnology Information. Online URL: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/32491763/> Pristupljeno 10.1.2024.

ISHRANA SIVOG ČUKA (*Athene noctua* SCOPOLI, 1769)

Luka Čus, 3.razred

Srednja škola Vrbovec, Vrbovec

Mentor: Sanja Lugarić

SAŽETAK

Cilj istraživanja odrediti je prehranu sivog čuka (*Athene noctua*), odnosno značaj pojedinih skupina plijena relativnom zastupljenošću vrsta plijena (% f), udio mase pojedine vrste u ukupnoj biomasi plijena (% w) i indeksu važnosti plijena (I) u njegovoj prehrani. Također, utvrditi razlike u prehrani s obzirom na godišnja doba te ju usporediti s prehranom dviju vrsta sova (male ušare i kukuvije drijemavice) čija je prehrana istraživana na istom području. Pretpostavka je da će u prehrani prevladavati mali sisavci, kukci i ptice, a manjim udjelom vodozemci, kolutičavci i biljni materijal. Podatci o prehrani sivog čuka dobiveni su analizom gvalica. One sadrže neprobavljene dijelove plijena kao što su dlaka, perje, kosti, kljun, hitinski ostaci i sl. Ukupno je očišćeno 138 gvalica, a broj izoliranih životinja iz svih gvalica je 297. Po jednoj su gvalici prosječno izolirane dvije životinje, a prosječna biomasa plijena iznosila je 45,05 g. U ishrani sivog čuka brojčano su podjednako zastupljeni mali sisavci i kukci, ali biomasom dominiraju sisavci. Sivi čuk konzumira 6 vrsta sisavaca od kojih je poljska voluharica (*Microtus arvalis*) najzastupljenija vrsta u prehrani. Od kukaca najzastupljeniji su trčci (rod *Abax*) i europski stršljeni (*Vespa crabro*). U proljeće i jesen u prehrani je veći značaj sisavaca u odnosu na ljeto i zimu, a kukaca je veći ljeti i zimi u odnosu na proljeće i jesen. Prehrana sivog čuka sličnija je prehrani male ušare nego kukuvije drijemavice.

Glavne riječi: gvalice; sove; mali sisavci

UVOD

Ptice (Aves) razred su carstva životinja (Animalia) koji broji oko 9000 vrsta. U Hrvatskoj je danas zabilježeno oko 400 vrsta ptica (Krnjeta, 2003). U razredu ptica postoje mnogobrojni redovi, a red koji je istraživ u projektu je red sova (Strigiformes) kojem pripadaju dvije porodice: prave sove (Strigidae) i kukuvije (Tytonidae). Dok u svijetu postoji 136 vrsta sova, u Hrvatskoj obitava 10 vrsta, a među njima je i sivi čuk koji pripada porodici pravih sova (Krnjeta, 2003) čija je prehrana predmet istraživanja.

Sivi čuk (*Athene noctua*) vrsta je malene sove (slika 1). Ima zdepasto tijelo, široku glavu s ravnim tjemenom i duge noge. Dug je 22 cm, perje mu je tamnosmeđe s bijeložutim pjegama, a oči su žute, duboko usađene. Ptica je stanarica. Stanovnik je parkova, vrtova i otvorenih prostora obraslih grmljem. Hrani se miševima, žabama, kukcima i manjim pticama (<https://www.enciklopedija.hr/clanak/cukovi>, 2013.-2024.).



Slika 1 Sivi čuk, *Athene noctua*
(https://en.wikipedia.org/wiki/Little_owl, 2024)



Slika 2 Mladi ptic sivog čuka (autor Čus L.)

Oznaka u obliku slova V na stražnjoj strani glave oponaša oči kako bi odvratila grabežljivce. Rado koristi stupove, krovove kuća i električne žice za promatranje. Pri letu se kreće valovito, s nekoliko zamaha

krila te klizanjem. Aktivan je predvečer i u zoru, a plijen lovi kljunom ili pandžama. Ove male sove također stvaraju rupe za držanje viška hrane. Često se glasaju glasnim i prodornim mijaukanjem, a znak za opasnost zvuk je koji podsjeća na vrištanje. Mladi ptici (slika 2) traže hranu proizvodeći zvuk šištanjem. Ova se vrsta povezuje s antropogenim staništima, uključujući poljoprivredne krajolike: oranice, livade, pašnjake, vrtove, voćnjake te urbana i suburbana staništa. Areal sivih čukova (slika 3) proteže se diljem Europe (osim krajnjeg sjevera), središnjom Azijom i Arapskim poluotokom te Sjevernom Afrikom (Hunt, 2011).



Slika 3 Areal sivog čuka (https://en.wikipedia.org/wiki/Little_owl, 2024)

Sivi čuk rasprostranjen je širom Hrvatske, no nema ga u planinskim područjima. Na jednom teritoriju uglavnom se zadržavaju po nekoliko godina iako neki primjerci zadržavaju stanište cijeli život (Hunt, 2011). Ovisno o okolnom području, može se gnijezditi u rupama u drveću, obalama rijeka, zidovima ili zgradama. Hrani se širokim spektrom malih životinja, kao što su mali sisavci, kukci, ličinke i sl. (Borm i Garms, 1981). Sove, kao i većina ptica grabljivica gutaju cijeli plijen, uključujući mnoge neprobavljive dijelove koje onda izbacuju kao gvalice. Gvalice su neprobavljeni ostaci plijena kao što su dlaka, perje, kosti, kljun, hitinske ostaci pokrila i sl. koje sove (jer nemaju volju) izbacuje kroz usta u obliku duguljastih ili okruglastih zbijenih tvorevina (<https://proleksis.lzmk.hr/1128/>, 2012).

Uz vrstu *A. noctua* na istraživanom području najčešće su sove mala ušara i kukuvija drijemavica čija je prehrana već istražena. U radu u kojem uspoređuju ishranu sove male ušare i kukuvije drijemavice Bencerić i Pavlović (2010) navode da se ishrana ovih sova temelji isključivo na malim sisavcima, voluharicama, miševima i rovkama. U ranijim radovima, Čulig (1987) i Lukić Strukan (1988) navedeni su slični podaci, a to je da kod ušare prevladava ishrana voluharicama, a kod kukuvije miševima i rovkama. Ti podatci također se mogu iskoristiti za postavljanje hipoteze.

Temu sam odabrao jer smo u školi radili istraživački projekt o prehrani sova, a kako sam prije osam godina spasio i odgojio malog čuka (slika 5) koji je ispao iz gnijezda i kako čukovi žive u mojoj blizini, želio sam saznati više o prehrani ove male sove. Pretraživanjem literature našao sam samo strane radove, a ni jedan rad o prehrani sivog čuka u Hrvatskoj pa je time moja zainteresiranost bila još veća.

Cilj istraživanja odrediti je prehranu sivog čuka, tj. relativnu zastupljenost vrsta plijena (% f) udio mase i indeks važnosti plijena (I) u prehrani. Utvrditi prosječan broj i masu plijena po gvalici, odnosno dnevnoj potrebi za hranom. Također, utvrditi razlike u prehrani s obzirom na period godine (godišnja doba) te ju usporediti s prehranom dviju vrsta sove (male ušare i kukuvije drijemavice) čija je ishrana istraživana na istom području (Bencerić i Pavlović, 2010). Utvrđivanjem sličnosti, odnosno razlike u prehrani tih vrsta sova mogu se izvesti i zaključci o kompeticiji za plijenom.

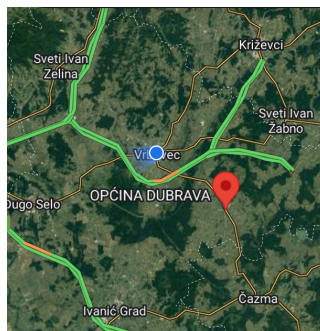
Na temelju dostupnih podataka o prehrani drugih vrsta sove na istraživanom području i sličnih istraživanja o ishrani sivog čuka provedenih u Poljskoj i Iranu (Kitowski i Pawłęga, 2010; Akhlamad i sur., 2022) pretpostavka je da će u prehrani prevladavati mali sisavci i kukci, a da se u prehrani mogu pronaći i ptice, kolutićavci, vodozemci, gmazovi te hrana biljnog podrijetla (sjemenke i sl.). Pretpostavka je da će se prehrana razlikovati tijekom godišnjih doba zbog dostupnost različitih vrsta plijena. U usporedbi s prehranom male ušare i kukuvije na istraživanom području pretpostavka je da će u prehrani biti zastupljene iste vrste malih sisavaca jer love na istim ruralnim staništima, ali će se zastupljenost plijena možda razlikovati zbog kompeticije za hranom.

METODE

Za proučavanje prehrane sova, gvalice (slika 4) su dragocjen nalaz iz kojeg se može saznati puno o njihovim prehranbenim navikama i količini određene vrste hrane koju konzumiraju. Razlikuju se po veličini, obliku i boji kod različitih vrsta sova. Isto tako gvalice omogućavaju i determinaciju plijena, najčešće malih sisavaca koji nastanjuju iste prostore kao i sove pa su važan izvor podataka i o vrsti i brojnosti populacija plijena.



Slika 4 Gvalica čuka (autor Čus L.)



Slika 5 Područje sakupljanja gvalica sivog čuka (Google karte, 2023)

Područje na kojem su sakupljane gvalice (slika 5) smješteno je u zapadnom dijelu peripanonskog prostora, na kontaktu Kalničko-bilogorskog pobrđa i Lonjsko-česmanske zavale. Najviši su brežuljci oko 160 m nadmorske visine. Rijeke Lonja, Česma i Glogovnica često stvaraju poplavna područja što odgovara hrastu lužnjaku. Česte su i grabove šume, a veliki dio prostora zauzimaju obradive površine. Ovo područje ima umjereno toplu klimu (Čulig, 1987).

Podatci o prehrani sivog čuka dobiveni su analizom gvalica sivog čuka čija se duljina kreće od 1,5 do 4,8 cm (slika 4). Sakupljeno je ukupno 138 gvalica tijekom proljeća, ljeta, jeseni i zime (tablica 1).

Tablica 1 Vremenik sakupljanja gvalica i broj sakupljenih gvalica sivog čuka

Godišnje doba / broj gvalica	JESEN 30	ZIMA 39		PROLJEĆE 38		LJETO 31		Ukupno
Datum sakupljanja	1.11. 2022.	27.1. 2023.	4.3. 2023.	2.4. 2023.	15.5. 2023.	30.6. 2023.	25.9. 2023.	
Broj gvalica	30	16	23	20	18	13	18	138

Područje obitavanja i lova sivog čuka prikazano je na slici 6, dok slika 7 prikazuje kuću u kojoj se nalaze gnijezda sivih čukova (tavan) i gdje su sakupljane gvalice.



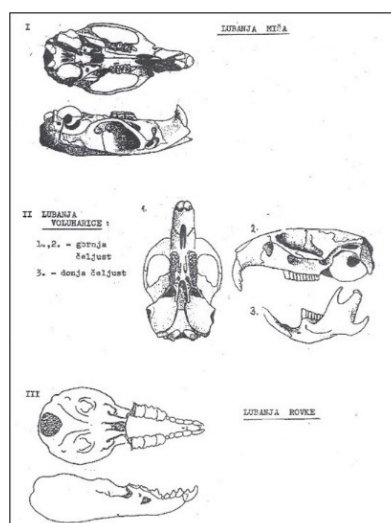
Slika 6 Područje obitavanja i lova sivog čuka (autor Čus L.)



Slika 7 Kuća obitavanja čukova (autor Čus L.)

Analiza gvalica sastoji se od *postupka čišćenja gvalica* u kojem se pažljivo izdvajaju kosti i ostali neprobavljeni ostaci od dlake i perja. U ovom istraživanju korištena je suha metoda čišćenja gvalica.

Na čistu bijelu podlogu stavi se gvalica. Pomoću histološke iglice i pincete odstrani se dlaka, perje i ostale kosti kako bi ostale samo kosti lubanje i pritom treba paziti da se sačuvaju i zubi. Važne su kosti gornje i donjih čeljusti sa zubima zbog determinacija plijena. Kosti lubanje čiste se četkicom te se nakon toga stavljaju u vrećice koje se označavaju (mjesec kad je gvalica skupljena i redni broj gvalice). U gvalicama je moguće pronaći veći broj životinja pa je važno numerirati gvalice što olakšava analizu podataka. U slučaju da je plijen ptica ili druga životinja treba sačuvati sve nađene dijelove koji pomažu u određivanju (npr. kljun, hitinski dijelovi kukca). Nakon izolacije ostataka plijena slijedi određivanje porodica, rodova i vrsta plijena. O starosti gvalica može ovisiti stanje ostataka koji se u njima nalaze. U svježim gvalicama kosti plijena su relativno dobro sačuvane, za razliku od starijih gvalica gdje kosti mogu biti poprilično uništene i necjelovite pa je zbog toga nemoguće odrediti vrstu, rod ili porodicu kojoj životinja pripada. Detaljno se proučava izgled i oblik lubanje, gornje i donje čeljusti kao i vrsta zuba malih sisavaca pomoću binokularne lupe (Optika microscopes Italy) s povećanjem od 10x. Prvo se odrede porodice sisavaca pomoću slike 8 (školski radni listić) i zubnih formula koje su za svaku porodicu drugačije (Borm i Garms, 1981).



Slika 8 Razlika u obliku lubanja miševa, voluharica i rovki (školski radni listić)



Voluharice (Muridae) i miševi (Muridae) imaju po 16 zuba s istom zubnom formulom 1003/1003, ali se uvelike razlikuju po obliku. Kutnjaci voluharica su s karakterističnim trokutastim ploham kao žvačnima površinama dok su kod miševa žvačne površine kutnjaka kvržičaste (slike 24 do 26. u prilogu). Porodica rovk (Soricidae) razlikuje se po broju zubi ovisno o rodu. Broj zubi kod vodenih rovk (*Neomys*) je 30 sa zubnom formulom 3123/1113, kod šumskih rovk (*Sorex*) 32 zuba s formulom 3133/1113, a poljske ili bjelozube rovke (*Crocidae*) imaju 28 zuba s formulom 3113/1113. Rovke se razlikuju i po boji zuba (crvenozube i bjelozube rovke). Nakon toga slijedi određivanje rodova i vrsta pomoću ključa za određivanje malih sisavaca (Kryštufek i Janžeković, 1999).

Dio sisavaca u plijenu nije bilo moguće odrediti jer u ostacima nije bilo lubanje i ti nalazi su označeni kao neodređeni sisavci. Ukoliko se radi o pticama lubanja je prepoznatljiva po kljunu ili po nekim karakterističnim kostima, npr. prsna kost, kosti krila ili križna kost. Za kukce je karakteristično hitinsko pokrivanje kornjaša, ostaci krila leptira, noge, čeljusti i sl. Slike od 15 do 21 u prilogu prikazuju neke od izoliranih ostataka kukaca. Pomoću slika iz knjige Borm i Garms (1981) i internetskog izvora (<http://www.bvo.zadweb.biz.hr/pages/kukci/kukci.htm>) neki su kukci determinirani do vrste ili roda. Dio ostataka kukaca nije bilo moguće odrediti zbog premalo sačuvanih dijelova pa su evidentirani kao neodređeni kukci. Biljni ostaci nisu determinirani pa su navedeni u rezultatima kao biljni materijal (slika 22 u prilogu) kao i ptice čiji su kljunovi nađeni u gvalicama (slika 23 u prilogu).

Rezultati su detaljno bilježeni u dnevniku istraživanja te prikazani tablično i grafički. Metode koje su korištene u analizi dobivenih podataka su relativna zastupljenost vrsta (% f) i udio mase pojedine vrste u ukupnoj biomasi plijena (% w). Pojedinačne prosječne mase malih sisavaca i ptica preuzete su iz radova o prehrani sova Tutiš (1986) i Lukić Strukan (1988). Sjemenke biljaka su izvagane (Ohaus vaga; točnost vage 0,01 g) pa je računana prosječna vrijednost jedne sjemenke. Za prosječne mase kukaca korišteni su strani radovi o prehrani ove vrste sove (Kitowski i Pawłęga, 2010; Akhlamad i sur., 2022). Potom je izračunan indeks važnosti plijena (I) u prehrani. Formula za izračun indeksa važnosti preuzeta je iz rada Tutiš (1986).

$$\text{Formula: } I = \% f + \% w / 2$$

(% f – relativna zastupljenost vrsta, % w – udio mase pojedine vrste u ukupnoj biomasi)

REZULTATI

Ukupno je očišćeno 138 gvalica, a izoliranih životinja iz svih gvalica bilo je 297. Po jednoj gvalici prosječno su izolirane dvije životinje. Prosječna biomasa plijena po gvalici iznosila je 45,05 g. Broj i relativna zastupljenost vrsta plijena (% f), udio mase pojedine vrste u ukupnoj biomasi plijena (% w) i indeks važnosti plijena (I) u prehrani svih pojedinih vrsta, rodova, porodice i razreda, ovisno o tome do koje su taksonomske razine određeni, prikazano je u tablici 2.

Tablica 2 Brojnost plijena po godišnjim dobima i ukupni brojčani udio (% f), udio mase (% w) i indeks važnosti plijena (I)

PORODICE/ RAZREDI	VRSTA/ROD	GODIŠNJE DOBA /broj (n)				UKUPNO (n)	% f	% w	I
		JESEN	ZIMA	PROLJEĆE	LJETO				
VOLUHARICE (Muridae)	<i>Microtus arvalis</i> Pallas, 1778	15	26	27	29	97	32,7	52,27	42,7
	<i>Arvicola terrestris</i> Linnaeus, 1758	0	1	0	0	1	0,33	0,53	0,43
	UKUPNO	15	27	27	29	98	33	52,8	43,05
ROVKE (Soricidae)	<i>Crocidae russula</i> Hermann, 1780	0	1	0	0	1	0,33	0,23	0,28
	UKUPNO	0	1	0	0	1	0,33	0,23	0,28
MIŠEVI (Muridae)	<i>Apodemus agrarius</i> Pallas, 1771	0	2	0	0	2	0,66	0,65	0,66
	<i>Mus musculus</i> Linnaeus, 1758	11	3	7	5	26	8,75	8,04	8,4



PORODICE/ RAZREDI	VRSTA/ROD	GODIŠNJE DOBA /broj (n)				UKUPNO (n)	% f	% w	I
		JESEN	ZIMA	PROLJEĆE	LJETO				
	<i>Rattus</i> sp. Fischer de Waldheim, 1803	1	0	2	2	5	1,68	24,13	12,9
	UKUPNO	12	5	9	7	33	11,11	33,2	22,15
	NEODREĐENI SISAVCI	6	7	8	4	25	8,42	10,6	9,51
SISAVCI (Mammalia)	UKUPNO	33	40	44	40	157	52,86	96,7	74,78
KUKCI (Insecta)	<i>Vespa crabro</i> Linnaeus, 1758	0	23	6	7	36	12,12	0,33	6,23
	<i>Gryllotalpa grylloytalpa</i> Linnaeus, 1758	2	0	0	0	1	0,33	0,06	0,2
	<i>Abax</i> sp. Bonelli, 1810	2	4	13	18	37	12,46	0,11	6,3
	<i>Cetonia aurata</i> Linnaeus, 1761	1	0	0	0	1	0,33	0,011	0,17
	<i>Ocypus olens</i> O.F.Müller, 1764	1	0	0	0	1	0,33	0,005	0,17
	<i>Musca domestica</i> Linnaeus, 1758	1	0	0	0	1	0,33	0,002	0,17
	<i>Neurotoma nemoralis</i> Linnaeus, 1758	0	1	0	0	1	0,33	0,002	0,17
	<i>Carabus</i> sp. Linnaeus, 1758	0	0	1	0	1	0,33	0,011	0,2
	<i>Apis mellifica</i> Linnaeus, 1758	0	0	0	1	1	0,33	0,002	0,17
	<i>Harmonia axyridis</i> Pallas, 1773	0	0	0	1	1	0,33	0,0003	0,17
	<i>Tettigonia</i> sp. Linnaeus, 1758	0	0	0	1	1	0,33	0,003	0,17
	<i>Forvicula auricularia</i> Linnaeus, 1758	0	0	0	2	2	0,66	0,006	0,33
	<i>Lucanus cervus</i> Linnaeus, 1758	0	0	1	0	1	0,33	0,06	0,2
	NEODREĐENI KUKCI	10	12	6	3	31	10,44	0,28	5,36
	UKUPNO	17	40	27	33	117	39,06	1,65	20,36
PTICE (Aves)	UKUPNO	1	1	1	2	5	1,68	1,6	1,64
BILJKE (Plantae)	UKUPNO	3	5	4	6	18	6,06	0,007	3,03
SVEUKUPNO		54	86	76	81	297	100	100	100

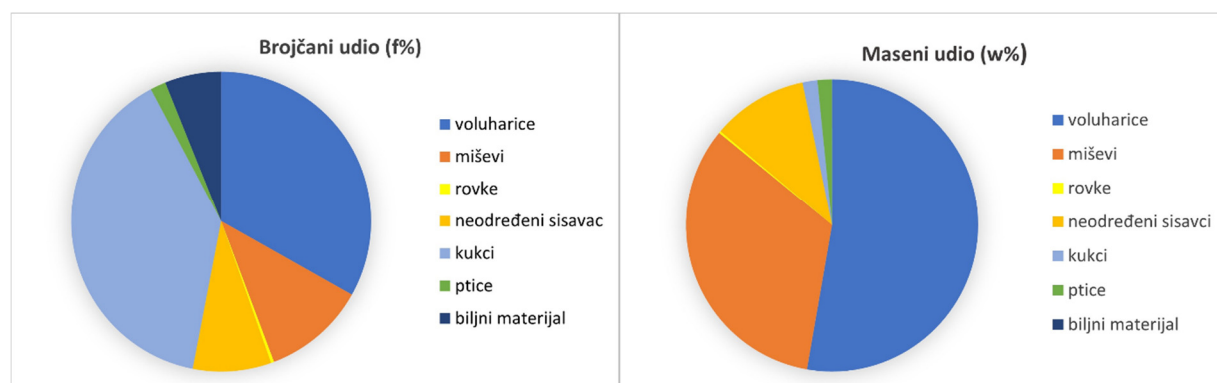
Sivi čuk hrani se malim sisavcima, kukcima, pticama i sjemenkama biljaka. U prehrani dominiraju sisavci i brojčano (52,86 %) i biomasom (96,7 %). Kukci su brojčano značajno zastupljeni (39,06 %), ali je udio u biomasi vrlo mali (1,65 %). Ptice i biljni materijal nemaju značajniji utjecaj u prehrani jer su i brojčanim udjelom i udjelom biomase malo zastupljeni.

Od sisavaca izolirano je 6 vrsta: *Microtus arvalis* (poljska voluharica), *Arvicola terrestris* (vodeni voluhar), *Apodemus agrarius* (prugasti poljski miš), *Mus musculus* (kućni miš), *Rattus* sp. (štakor) i *Crocicula russula* (vrtne rovka). Najzastupljenija po brojčanom udjelu porodica je voluharica (33,03 %) i to s vrstom *Microtus arvalis* s brojčanim udjelom od 32,7 %, a zatim slijedi porodica miševa (11,11 %) s vrstom *Mus musculus* s udjelom od 8,75 %. Od porodice rovki nađeni su ostaci samo jedne jedinice, vrtne rovke (*Crocicula russula*). Dio sisavaca ostao je nedeterminiran (8,4 %) jer nije bilo ostataka lubanja i donjih čeljusti važnih za određivanje porodice, roda ili vrste. Ostataka vodozemaca, gmazova i kolutičavaca nije bilo. Od beskraljnjaka nađeni su isključivo kukci. Kukci su u plijenu zastupljeni s 15 vrsta dok je oko 10,44 % kukaca ostalo neodređeno. Od kukaca u plijenu najviše ima europskog stršljena (*Vespa crabro*) i trčaka (*Abax* sp.) s brojčanim udjelom većim od polovice svih kukaca koje konzumira. Europski stršljen zastupljen je s 36 jedinki i indeksom važnosti u prehrani 6,23, a rod trčaka s 37 nađenih jedinki i indeksom važnosti od 6,29. Ostale vrste kukaca zanemarive su u prehrani jer im je indeks važnosti manji od 1.

Uspoređujući indeks važnosti za sisavce koji iznosi 74,78 što je puno više od brojčanog udjela, a kod kukaca je obrnuto, indeks važnost u prehrani 20,36 što je upola manje od udjela brojnosti. Objašnjenje takve razlike leži u biomasi koja se uključuje u izračun tako da je za prehrambene potrebe sova možda bolje usporediti indeks važnosti u prehrani nego brojčane udjele plijena.

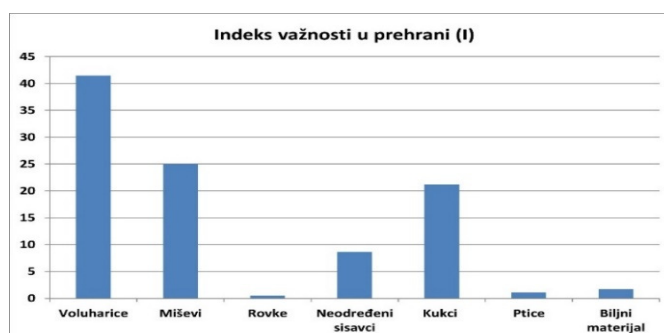
Biljni materijal, odnosno sjemenke koje su nađene neprobavljene mogle bi biti naknadno zalijepljene na gvalicu, ali s obzirom na to da su neke bile prekrivene zalijepljenim ostacima dlaka sa svih strana, morale su biti u probavnom sustavu čuka. Mogle bi biti i porijeklom iz probavila pojedenog sisavca, ali s obzirom na to da su nađene i u gvalici u kojoj je bila samo rovka, a ona je kukcojed, nije bilo logično to pretpostaviti.

Uspoređena je prehrana po brojčanim i masenim udjelima te indeksu važnosti u plijenu sivog čuka, ali nisu prikazane sve vrste nego više taksonomske kategorije kao porodice i razredi (slika 9, tablica 3 u prilogu).



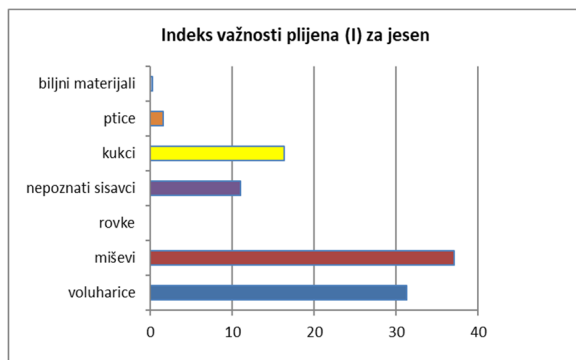
Slika 9 Usporedba brojčanih % f (lijevi prikaz) i masenih udjela % w (desni prikaz) plijena u ishrani sivog čuka

Porodica rovki zastupljena je samo s jednom jedinkom pa je na grafičkom prikazu masenog udjela gotovo nevidljiva kao i biljni materijal. S obzirom na veliku razliku u brojčanom i masenom udjelu plijena u prehrani, podatci su prikazani i indeksom važnosti plijena u prehrani (slika 10, tablica 3 u prilogu).

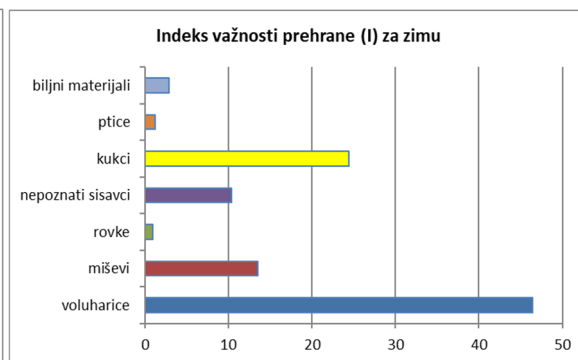


Slika 10 Indeks važnosti (I) u ishrani sivog čuka

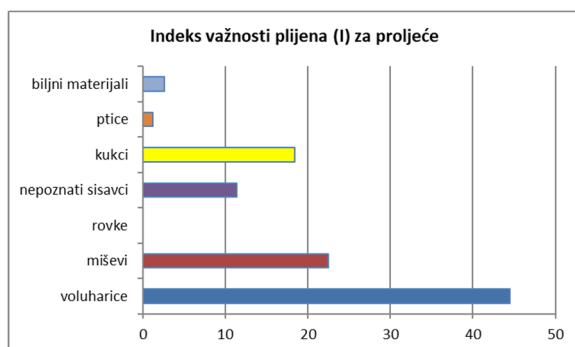
Slike 11, 12, 13 i 14 prikazuju prehranu po godišnjim dobima izraženu indeksom važnosti plijena. Najveća raznolikost u prehrani, s obzirom na godišnja doba, ljeti je kada je nešto manji indeks važnosti sisavaca, a veći broj vrsta kukaca. Tada je i malo povećan udio ptica i biljaka. Slična prehrana je i zimi. Isto tako se može uočiti veća sličnost prehrane u jesen i proljeće.



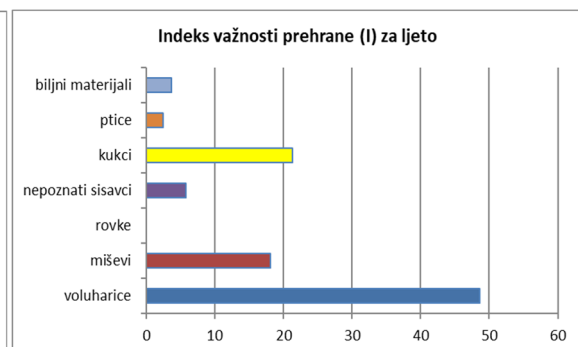
Slika 11 Indeks važnosti plijena (I) u jesen



Slika 12 Indeks važnosti plijena (I) u zimi



Slika 13 Indeks važnosti plijena (I) u proljeće



Slika 14 Indeks važnosti plijena (I) u ljeti

RASPRAVA

S obzirom na to da sivi čuk živi u naseljenim prostorima, očekivano je da će biti zastupljene vrste sisavaca koje žive na ruralnim i suburbanim (seoskim) staništama, što se pokazalo točnim. Najzastupljenija je porodica voluharica, a nađene su i vrste kao što su kućni miš, štakor i vrtno rovke. Ostaci samo jedne jedinke rovke govori u prilog da se ova vrsta rijetko hrani rovka što bi se moglo objasniti kompeticijom s drugim vrstama sova, prvenstveno kukuvijom kojoj su rovke čest plijen, a love na istom staništu (Lukić Strukan, 1988). Pronađen je i samo jedan vodeni voluhar (*Arvicola terrestris*) i niti jedan vodozemac iako ima dosta poplavnog terena i vodotokova. Također, prema hipotezi, postojala je i vjerojatnost nalaženja ostataka gmazova i kolutičavaca, ali ih u prehrani nije bilo pa je vjerojatno pretpostaviti da su mu dovoljan izvor hrane sisavci, kukci, poneka ptica i malo sjemenki.

Iako su u ishrani ove sove brojčano podjednako zastupljeni mali sisavci i kukci, biomasom dominiraju sisavci s udjelom od 96,7 %, a kukci s udjelom od samo 1,65 %. Kukci su vjerojatno važniji kao dodatak prehrani, nego kao izvor energije. To bi bilo zanimljivo dodatno istražiti jer većina drugih sova uopće ne konzumira kukce (Čulig, 1986; Lukić Strukan, 1988) ili vrlo rijetko (Tutiš, 1986).

Analizom prehrane prema godišnjim dobima može se uočiti veća sličnost prehrane u jesen i proljeće. U jesen i proljeće veću važnost u prehrani imaju sisavci u odnosu na ljeto i zimu, što ukazuje na veću dostupnost glodavaca u tim vremenskim periodima. Jesen je jedini period u kojem su miševi brojčano približno zastupljeni kao voluharice dok u svim ostalim godišnjim dobima dominiraju voluharice. U jesen je od miševa u prehrani najvažniji kućni miš što je moguće objasniti periodom kad ulaze u nastambe seoskih gospodarstava u potrazi za hranom, pa ih vjerojatno lakše love. Ljeti, zbog bujnije vegetacije koja ih skriva i dovoljno hrane na poljima, miševi su rjeđi plijen.



Znamo i da brojnost kukaca ovisi o vegetaciji, temperaturi i drugim ekološkim čimbenicima pa ih je ljeti puno više, a time su i čest plijen sivom ćuku. Izuzetak je zima po brojnosti kukaca što iznenađuje, s obzirom na to da vladaju nepovoljniji uvjeti za njih, pa nije bilo očekivano naći njihove ostatke. U zimi je od kukaca najzastupljeniji europski stršljen s 23 pojedena primjerka. S obzirom na to da u jesen nije nađen niti jedan ostatak stršljena, moguće je pretpostaviti da su u zimi našli neko odbačeno gnijezdo stršljena. U blizini je lovačka čeka s koje lovci već nekoliko zima za redom uklanjaju stršljenovo gnijezdo pa bi to mogao biti izvor njegove hrane. Također, nađeni su ostatci četiriju jedinki trčaka (*Abax*) i jedne osice (*Neurotoma nemoralis*), pa očito prehranom kukcima nadoknađuju manjak hrane u tom periodu jer je brojčani udio kukaca u zimi najveći (46,5 %) u odnosu na druga godišnja doba.

Kao što je u cilju istraživanja navedeno, rezultati o prehrani vrste *Athene noctua*, uspoređeni su s prehranom vrsta malom ušarom (*Asio otus*) i kukuvijom drijemavicom (*Tyto alba*) preuzetih iz literature jer su istraživanja ovih vrsta provedena na istom području (slika 27 u prilogu). Uspoređujući prehranu sivog ćuka prema brojčanim udjelima (% f) s prehranom male sove ušare i kukuvije drijemavice iz rada Bencerić i Pavlović (2010), bitna razlika je ta što se te druge dvije vrste sova uopće ne hrane kukcima dok se sivi ćuk pak ne hrani puhovima koji nisu čest plijen, ali se nalaze na jelovniku ušare i kukuvije. Kukuvija se uopće ne hrani pticama dok ih ušara konzumira u malom udjelu kao i ćuk. Uspoređujući ishranu po porodicama unutar razreda sisavaca (koje pojedine vrste sova konzumiraju) tada se u udjelu voluharica podudaraju ćukovi i kukuvije. Miševе konzumiraju sve tri vrste sova dok sivi ćuk rijetko jede rovke i to je velika sličnost s malom ušarom dok su važan dio plijena sove kukuvije. Ako se usporedi zastupljenost plijena u prehrani po razredima, tada je prehrana sivog ćuka sličnija prehrani male ušare nego kukuvije drijemavice. Moguće je da zbog kompeticije na lovištu kukuvije više preferiraju rovke koje su rijetke na jelovniku sivog ćuka i sove ušare, a ćuk često jede kukce koje drugim dvjema sovama uopće nisu plijen. Očito je i da miševa i voluharica na istraživanom području ima dovoljno za sve tri vrste sova jer su im redovna prehrana.

Uspoređujući podatke ovog istraživanja s podacima istraživanja ishrane sivog ćuka provedenog u jugoistočnoj Poljskoj (Kitowski i Pawlęga, 2010) i sjeveroistoku Irana (Akhlamad i sur., 2022), uočava se veća sličnost s prehranom ćuka u Poljskoj (slika 28 u prilogu). Podatci za sisavce gotovo su identični dok se u Poljskoj sivi ćuk nešto više hrani kukcima (43 %) nego u Hrvatskoj (39 %). U Poljskoj su sisavci i kukci sivom ćuku jedini izvor hrane, a u Hrvatskoj se hrani i pticama i biljnim materijalom. Objašnjenje sličnosti ishrane ćuka s ishranom u Poljskoj vjerojatno leži u sličnosti geografskih i klimatoloških obilježja pa time i ekoloških čimbenika u Hrvatskoj i Poljskoj dok je Iran klimatološki i geografski drugačiji. U Iranu se ćukovi više hrane sisavcima, s brojčanom zastupljenosti većom od 80 %, a manje s kukcima, samo oko 10 %. Za prehranu ćukova u Iranu značajni su i gmazovi kojih u ishrani ćuka u Poljskoj i kod nas nema. Biljni materijal prisutan je samo u gvalicama u Hrvatskoj.

Ovo istraživanje daje tek djelić prehrambenih navika sivog ćuka u Hrvatskoj i bila bi preporuka proširiti ga na druga područja Republike Hrvatske, ali i ponoviti ga na istraživanom području samo na većem broju gvalica. Bilo bi zanimljivo istražiti i značaj manje zastupljenog plijena (rovki, ptica i biljnog materijal), koliko je on slučajan s obzirom na mali uzorak, samo 138 istraženih gvalica.

ZAKLJUČCI

Na osnovu rezultata istraživanja mogu se donijeti sljedeći zaključci:

- vrsta sivi ćuk hrani se malim sisavcima, kukcima, pticama i biljnom hranom



- ☞ prosječno su po gvalici nađene dvije životinje, a prosječna biomasa je 45,05 g
- ☞ u ishrani ove sove brojčano su podjednako zastupljeni mali sisavci i kukci, ali su biomasom dominantni sisavci (96 %)
- ☞ prema indeksu važnosti u prehrani su dominantni sisavci (74,78) i kukci (20,36)
- ☞ konzumira 6 vrsta sisavaca: *Microtus arvalis*, *Arvicola terrestris*, *Apodemus agrarius*, *Mus musculus*, *Rattus* sp. i *Crocidura russula*
- ☞ *Microtus arvalis* (poljska voluharica) najvažnija je vrsta u prehrani sivog ćuka prema svim iskazanim vrijednostima (% f, % w i l)
- ☞ od kukaca brojčano su najzastupljeniji trčci (rod *Abax*) i europski stršljen (*Vespa crabro*)
- ☞ rove, ptice i biljke nemaju veće značenje u ishrani sivog ćuka
- ☞ prehrana sivog ćuka sličnija je prehrani male ušare nego kukuvije drijemavice
- ☞ sivi ćuk se hrani kukcima i biljnim materijalom što uopće nije zastupljeno u prehrani sova male ušare i kukuvije
- ☞ u proljeće i jesen u prehrani je veći značaj sisavaca u odnosu na ljeto i zimu, a kukaca je veći ljeti i zimi u odnosu na proljeće i jesen
- ☞ najveća raznolikost prehrane je ljeti zbog veće zastupljenosti kukaca, ptica i biljaka.

LITERATURA

- Akhlamad N.F., Khani A., Rey-Rodriguez I., Yazdi F. T., 2022., The seasonal diet and variation in the prey selection of the little owl (*Athene noctua*) in the North-east of Iran, <https://www.semanticscholar.org/author/Neqar-Fallahi-Akhlamad/2193834114>, pristupljeno 25.2.2023.
- Bencerić V. i Pavlović L., 2010., Usporedba ishrane sova male ušare (*Asio otus*) i kukuvije drijemavice (*Tyto alba*), istraživački rad za Državnu smotru iz Biologije 2010.
- Borm L., Garms H., 1981., Fauna Evrope, priručnik za raspoznavanje životinjskih vrsta, Mladinska knjiga, Ljubljana- Zagreb BVO, Kukci (Insecta), <http://www.bvo.zadweb.biz.hr/pages/kukci/kukci.htm>, pristupljeno 22.2.2023. i 12.2.2024.
- Ćukovi. Hrvatska enciklopedija, mrežno izdanje. Leksikografski zavod Miroslav Krleža, 2013 – 2024. pristupljeno 13.2.2024. <https://www.enciklopedija.hr/clanak/cukovi>
- Čulig S., 1987. Ishrana sove utine (*Asio otus*, Linne 1758) u zimskom periodu na području Vrbovca, Diplomski rad, PMF, Zagreb
- Google karte, 2023., <https://maps.app.goo.gl/9WFaSqJCQWXjZk1F6>, pristupljeno 2.3.2023.
- Gvalica, 2012, <https://proleksis.lzmk.hr/1128/>, pristupljeno 10.2.2024.
- Hunt, K. 2011. "Athene noctua" (On-line), Animal Diversity Web., https://animaldiversity.org/accounts/Athene_noctua/, pristupljeno 26. 12. 2022. i 13.2. 2024.
- Kitowski i Pawłęga, 2010, Food Composition of the Little Owl *Athene noctua* in Farmland Areas of South East Poland Belgian Journal of Zoology, http://biblio.naturalsciences.be/associated_publications/bjz/140-2/kitowski_pawlego_140_2.pdf, pristupljeno 24.2.2023.
- Krnjeta D., 2003., Ornitološki priručnik - Ptice Hrvatske, Meridijani, Zagreb
- Kryštufek B., Janžeković F., 1999., Ključ za določanje vretenčarjev Slovenije, DZS, Ljubljana
- Lukić Strukan Đ. 1988., Kvalitativna i kvantitativna analiza ishrane kukuvije drijemavice (*Tyto alba*, Scopoli, 1769) na području Vrbovca, Diplomski rad, PMF, Zagreb
- Tutiš V., 1986., Sisavci zapadnog dijela karlovačkog Pokuplja i njihova uloga u ishrani nekih sova, diplomski rad, PMF, Zagreb
- Wikipedia, Littleowl, https://en.wikipedia.org/wiki/Little_owl, pristupljeno 25.2.2023.

PRILOZI

Tablica 3 Prikaz brojčanog udjela, udjela biomase plijena i indeks važnosti plijena u prehrani sivog čuka

TAKSONOMSKA KATEGORIJA	n	% f	w/g/	% w	m.v.	I
VOLUHARICE	98	33,03	3282,5	52,8	33,5	43,05
MIŠEVI	33	11,11	2061	33,2	62,5	22,15
ROVKE	1	0,33	14	0,23	14	0,28
NEODREĐENI SISAVCI	25	8,42	656,25	10,6	26,25	9,51
SISAVCI UKUPNO	157	52,86	6013,25	96,7	543,25	74,78
KUKCI	116	39,06	102,69	1,65	0,89	20,36
PTICE	5	1,68	100	1,6	20	1,64
BILJNI MATERIJAL	18	6,06	0,45	0,007	0,025	3,03
UKUPNO	297	100	6216,39	100	564,15	100

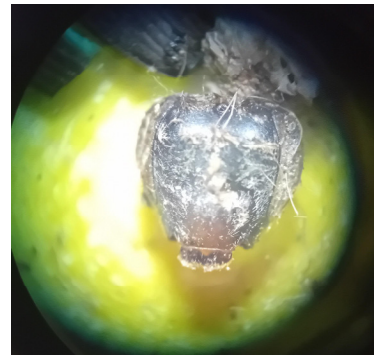
Legenda: n - broj jedinki, % f - brojčani udio (frekvencija), w/g/ - ukupna biomasa jedinki iste vrste, % w - maseni udio postotak, m.v. - pojedinačna prosječna masa vrste, I - indeks važnosti plijena u prehrani



Slika 15 Kliješta muža uholaze



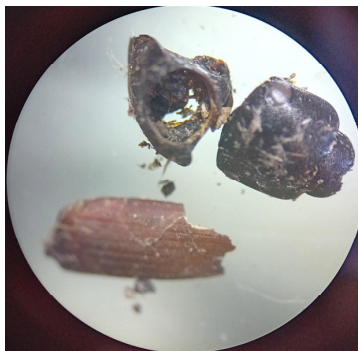
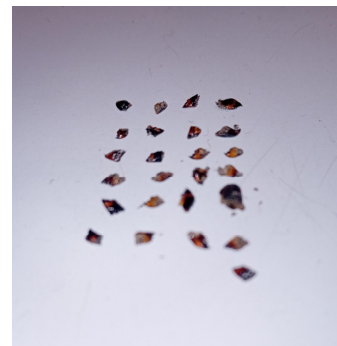
Slika 16 Kliješta ženke uholaze



Slika 17 Glava pčele



Slika 18 Krila kineske božice

Slika 19 Hitinski oklop *Abax* sp.

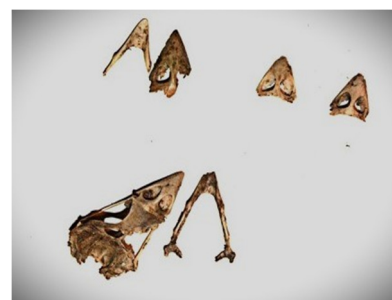
Slika 20 Čeljusti stršljena



Slika 21 Hitinski oklop glave jelenka



Slika 22 Biljni materijal (sjemenke)



Slika 23 Kljunovi ptica



Slika 24 Donja čeljust štakora

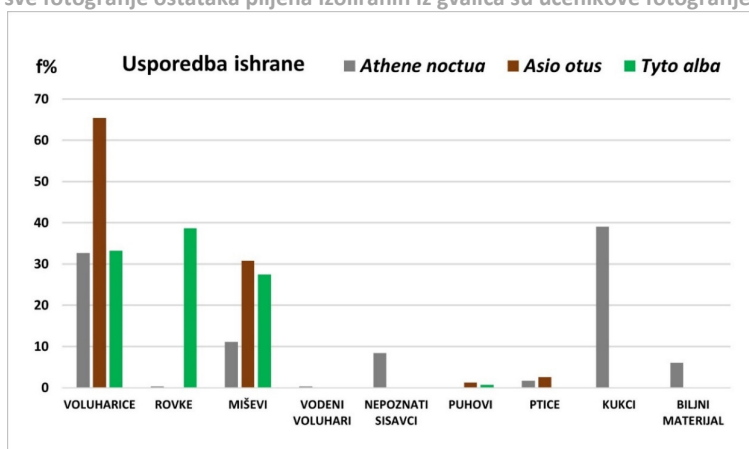
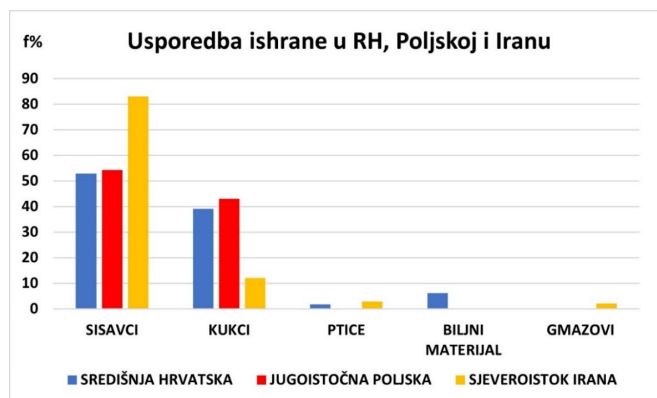


Slika 25 Zubi poljske voluharice



Slika 26 Zubi kućnog miša

(Napomena: sve fotografije ostataka plijena izoliranih iz gvalica su učenikove fotografije – autor Čus L)

Slika 27 Usporedba ishrane sivog ćuka (% f) (*Athene noctua*), male ušare (*Asio otus*) i kukuvijske (*Tyto alba*)

Slika 28 Usporedba ishrane sivog ćuka (% f) u Hrvatskoj, Poljskoj i Iranu

ISPITIVANJE UTJECAJA KREMA ZA SUNČANJE NA VODENE EKOSUSTAVE

Tončica Grubišić, 3. razred

Vita Medić, 3. razred

III. gimnazija, Split

Mentor: Ines Alujević

SAŽETAK

Intenzivna upotreba krema za sunčanje u cilju suzbijanja štetnog UV zračenja rezultira njihovim značajnim otpuštanjem u vodeni okoliš. Mineralne kreme za sunčanje sadrže anorganske okside metala različitih veličina čestica, dok kemijske kreme mogu sadržavati štetne spojeve poput oktokrilen. Otpuštanjem u vodeni okoliš, kreme za sunčanje mogu smanjiti ili blokirati proces fotosinteze te poremetiti ravnotežu vodenog ekosustava. Cilj ovog istraživanja bio je procijeniti i usporediti utjecaj krema za sunčanje koje su deklarirane kao ekološki prihvatljive i one koje to nisu prateći razlike u ponovnom rastu korijena na testnom organizmu, vodenoj leći u otopinama 0.1 mL/L, 0.2 mL/L i 0.4 mL/L. Rezultati su pokazali da su sve testirane kreme, osim Hawaiian tropic deklarirane kao „reef-friendly“ u manjim koncentracijama otopina, uzrokovale statistički značajan smanjen rast korjenčića u odnosu na kontrolnu skupinu. Istraživanjem je utvrđeno da kreme za sunčanje imaju toksičan učinak na vodene ekosustave.

Ključne riječi: UV zračenje; oktokrilen; titanijev dioksid; cinkov oksid; nanočestice; Lemna minor test

UVOD

Kreme za sunčanje su kozmetički proizvodi koji služe za zaštitu kože od štetnih UVA i UVB zračenja koja su glavni uzrok raka kože. Postoje dvije podjele krema za sunčanje: mineralne i kemijske te primarne i sekundarne. Kemijske kreme suzbijaju štetnost UVA i UVB zračenja kombinacijom sastojaka poput spojeva oksibenzon, oktokrilen, oktinoksat i homosalat. Mineralne kreme su sastavljene od anorganskih metalnih oksida, kao što su cinkov oksid i titanijev dioksid (<https://dermnetnz.org/>, 2023). Kemijske kreme se upijaju u kožu te apsorbiraju UV zračenja i oslobađaju upadnu energiju kao toplinu, dok mineralne kreme stvaraju sloj preko kože kroz koji štetne zrake ne mogu prodrijeti (Yamada i sur., 2020). Kod primarnih krema glavna funkcija je zaštita kože dok je kod sekundarnih to samo jedna od funkcija. Neki kemijski sastojci krema za sunčanje (oksibenzon, oktokrilen, oktinoksat, avobenzon) zabranjeni su na određenim lokacijama (npr. Havaji, Američki Djevičanski otoci i Palau) zbog negativnih učinaka na koraljne grebene. Na tim lokacijama preferira se upotreba mineralnih krema za sunčanje (<https://dermnetnz.org/>, 2023). Nedostatak mineralnih krema za sunčanje koje u sastavu sadrže titanijev dioksid (TiO₂) i/ili cinkov oksid (ZnO) je bijeli sloj koji takve kreme ostavljaju nakon nanošenja na kožu. Nepoželjni bijeli trag na koži posljedica je veličine čestica i indeksa loma; veličina čestica iznad 200 nm ne omogućuje refleksiju samo UV zračenja, već i vidljive svjetlosti. Iz tog razloga mnogi proizvođači proizvode mikronizirane ili submikronizirane anorganske UV filtre (čestice nano dimenzija) obzirom da oksidi nanometarskih dimenzija (15-50 nm) pokazuju najmanju refleksiju vidljivog zračenja, čime se smanjuje bijeli trag na koži i poboljšava izgled komercijalnih krema za sunčanje (Manaia i sur., 2013).

Fotosinteza je temeljni anabolički proces u ekosustavu. Fotoautotrofne biljke u procesu fotosinteze apsorbiraju svjetlosnu energiju i pretvaraju je u kemijsku koja se zatim pohranjuje u kemijskim vezama šećera i ostalih organskih molekula nastalih iz ugljikova dioksida i vode (Pevalek-Kozlina, 2003). Više od 90 % suhe tvari biljke potječe od fotosinteze. Grebenotvorni koralji, kao i brojne druge vrste organizama koje žive na grebenima (drugi žarnjaci, mekušci, mnogočetinaši, protisti), žive u simbiozi s dinoflagelatnim algama roda *Symbiodinium*. Ove alge, poznate još i pod nazivom zooxantele, opskrbljuju svoje domaćine asimilatima koje proizvode fotosintezom. Osim toga, alge ubrzavaju kalcifikaciju kod brojnih vrsta koje izgrađuju skelet (Muscatine i Porter, 1977). Stres iz okoliša može

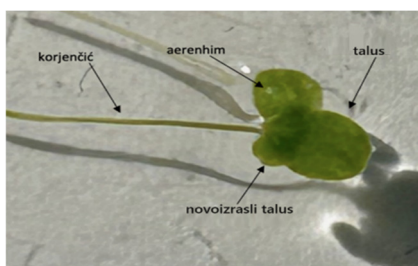


oštetiti fotosintetski sustav algi što rezultira prekomjernom produkcijom reaktivnih kisikovih vrsta (ROS, *engl. Reactive Oxygen Species*, reaktivne kisikove vrste) i eventualnim oštećenjima na razini stanice. Gubitak zooksantela (i/ili redukcija koncentracije njihovih pigmenata) kao rezultat navedenog procesa, naziva se izbjeljivanje koralja (Baker i sur., 2008). Smanjenje intenziteta fotosinteze kao rezultat izloženosti određenim tvarima ukazuje na štetno djelovanje tvari na fotosintetske organizme, a time i na cijeli ekosustav. Zhong i sur. (2019) dokazali su da oksibenzon koji je sastavni dio kemijskih krema za sunčanje inhibicijom transporta elektrona u fotosintezi i respiraciji ograničava metabolizam i rast krastavca te pojačava prekomjernu proizvodnju ROS. Ako oksibenzon može inhibirati fotosintezu biljaka, tada se oksibenzonom mogu oštetiti gotovo sve biljke, uključujući alge i niže i više biljke (Zhong i sur., 2019). Nanočestice mogu negativno utjecati na intenzitet fotosinteze smanjenjem sadržaja klorofila i brzine prijenosa elektrona te oštećenjem komponenti kloroplasta. Postoje *in vitro* istraživanja koja pokazuju da u prisutnosti UV svjetla, nanočestice TiO_2 i ZnO mogu inducirati ROS koje imaju sposobnost oštećenja staničnih komponenti (Šolčić, 2023). Zbog svojih dimenzija, nanočestice lako ulaze u biljnu stanicu preko stanične stijenke te na taj način ulaze u okoliš, te ujedno dolazi do njihove biomagnifikacije kroz hranidbeni lanac. Osim kroz staničnu stijenku, nanočestice mogu ući u stanicu i pomoću proteinskih nositelja ili kroz ionske kanale. Ulaskom u citoplazmu, nanočestice se mogu vezati na različite organele i/ili makromolekule te tako utjecati na metaboličke procese na tom mjestu u stanici (McShan i sur., 2014). Nakupljanje nanočestica na fotosintetski aktivnoj površini uzrokuje zagrijavanje listova, što može rezultirati modifikacijama u izmjeni plinova i zatvaranju puči (Nair i Chung, 2014). Glavaš Ljubomir (2021) je dokazala smanjenje stope rasta, funkcionalnosti fotosustava II i sadržaja fotosintetskih pigmenata u vodenoj leći tretirane nano srebrom. Sattler i suradnici (2021) su utvrdili negativan utjecaj kreme s oksibenzonom (Coppertone) kao i ekološki prihvatljive kreme (Hawaiian Tropic) na rast slatkovodne milifolie (*Myriophyllum heterophyllum* Michx.) čak i u koncentracijama manjim od standardne koncentracije pronađene na plažama, 0,2 mL/L.

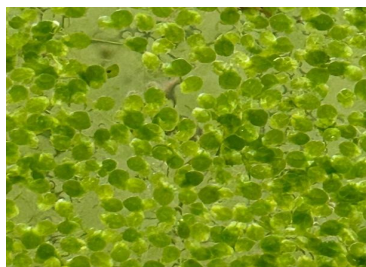
Razvijanje svijesti o negativnim posljedicama Sunčeva štetnog UV zračenja, rezultiralo je povećanom potrošnjom krema za sunčanje s različitim organskim i anorganskim UV filtrima. Kontinuiranom upotrebom navedenih proizvoda štetni spojevi koje oni sadrže izravno se ispuštaju u vodeni okoliš te u njemu uzrokuju promjene (Blažević i sur., 2023). Ostatci krema za sunčanje dospijevaju u vodeni okoliš i preko nepravilno odložene (odbačene) ambalaže izazivajući pritom višestruko onečišćenje. Procjenjuje se da u oceane diljem svijeta, svake godine, dospijeva 4.000 do 6.000 tona krema za sunčanje (NPS, 2022). Sve intenzivniji razvoj turizma bez pravih strategija održivosti narušava ravnotežu našeg podmorja i slatkovodnih staništa. U Jadranu su posebno ugrožene livade morske cvjetnice posidonije i koraljni grebeni. *Posidonia oceanica* (L.) Delile endemska je vrsta s brojnim posebnostima. Njena ukupna primarna proizvodnja i biomasa uspoređuju se sa najproduktivnijim kopnenim ekosustavima, sudjeluje u obogaćivanju kisikom, stabilizira obalu, te djeluje kao barijera koja smanjuje utjecaj valova i struja. No, prije svega, ona predstavlja hranu, dom i sklonište brojnim drugim biljnim i životinjskim vrstama (Pergent-Martini i sur., 2006). Naselja posidonije središta su bioraznolikosti te predstavljaju nutrijentima bogat okoliš kritično ugroženom i zaštićenom školjkašu plemenitoj periski (*Pinna nobilis* (Linnaeus, 1758)). U Republici Hrvatskoj posidonija ima status strogo zaštićene zavičajne divlje svojte (Narodne novine 99/2009)(Grbčić, 2012). Unutar područja Nacionalnog parka Kornati, u Velikom jezeru nalazi se najveći greben busenastog kamenog koralja (*Cladocora caespitosa* (Linnaeus, 1757)) na svijetu. Busenasti koralj ili granati zvijezdavac je zadružni

kameni koralj iz porodice Faviidae te endem Sredozemnog mora. Živi u simbiozi sa zooxantelama i upravo zbog toga kolonije mogu biti vrlo velike, te se ponekad razvijaju velike grebenaste tvorbe. Greben koralja *Cladocora caespitosa* u Velikom jezeru rasprostire se na površini od 650 m², na dubini između 4 i 18 metara ([NP Mljet](#), 2015).

Vodena leća je mali plutajući makrofit koji pripada porodici Lemnaceae. Do sada je utvrđeno 37 vrsta koje pripadaju rodovima: *Lemna*, *Spirodela*, *Wolffia* i *Wolffiella* (Cheng i Stomp, 2009). Jednostavna je biljka bez stabljike ili lišća. Veći dio biljke sastoji se od talusa koji se naziva „list“ sastavljenog od klorenhimskih stanica i zračnih džepova (aerenhima) zbog kojih pluta na vodi (slika 1). Vodena leća ne mora imati korijen ili može imati jedan ili više jednostavnih korijena. Korijenje je fotosintetski aktivno i sadrži kloroplaste. Korijeni vodene leće pomažu u unosu hranjivih tvari iz vode i stabiliziraju biljku (Dalu i Ndamba, 2003). Vrsta *Lemna minor* L., koja pripada rodu *Lemna*, najraširenija je vrsta vodene leće koja se opsežno proučava u pročišćavanju otpadnih voda uglavnom zbog brzog rasta i visoke učinkovitosti uklanjanja hranjivih tvari (slika 2). Pod povoljnim klimatskim uvjetima i ravnotežom hranjivih tvari u mediju za rast, vrsta *Lemna minor* može udvostručiti svoju biomasu unutar dva dana. Jednostavno se uzgaja i često se koristi kao testni organizam. Posebno je prikladna za ispitivanje onečišćenja otpadnih voda te za ispitivanje onečišćenja vodenog okoliša herbicidima, onečišćenja jezera i rijeka, toksičnosti sedimenta i slično (Wang, 1990).



Slika 1 Vodena leća - građa (foto: autor)



Slika 2 Vodena leća u kulturi (foto: autor)

Lemna test je jedan od najviše korištenih standardiziranih testova (OECD Lemna-test (2006) protokol i ISO protokol (ISO 20079, 2005)). Za testove vodene leće obično se preferiraju mjerenja lišća ili biomase uz standardno razdoblje izlaganja od najmanje 7 dana. Test ponovnog rasta korijena vodene leće razlikuje se od drugih međunarodno standardiziranih metoda u nekoliko važnih aspekata: test se može izvesti unutar 72 sata; jedinke rastu u posudici s jažicama; zahtijeva mali volumen testnih otopina; korijenje se reže prije izlaganja, a zatim mjere novorazvijeni korijeni. Testiranje ove nove znanstvene metode međulaboratorijskim usporednim testovima potvrdilo je da je biološki test ponovnog rasta korijena *Lemna* valjan i pouzdan (Park i sur., 2022). Zbog navedenih činjenica te obzirom da je brza, jeftina i lako izvediva u školskom laboratoriju, u ovom istraživanju korištena je metoda ponovnog rasta korijena.

Ovim istraživanjem želi se ukazati na ekološki problem s kojim hrvatska javnost nije dovoljno upoznata i potaknuti odgovorne na zaštitu posebno ugroženih staništa kao što su učinile države koje su shvatile važnost održivog turizma i zaštite svog prirodnog bogatstva. Cilj istraživanja je usporediti kreme za sunčanje koje su deklarirane kao ekološki prihvatljive i one koje to nisu prateći razlike u ponovnom rastu korijena na testnom organizmu, vodenoj leći.

Planiranim istraživanjem testirana je točnost sljedećih hipoteza:

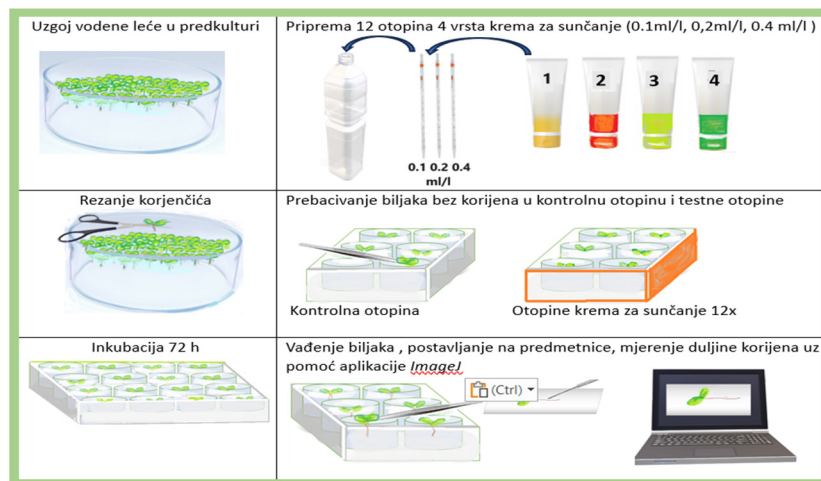
- 1) Novorazvijeni korjenčići testnih organizama tretiranih otopinama kemijskih kreme za sunčanje koje imaju štetne spojeve bit će kraći od novorazvijenih korjenčića testnih organizama tretiranih otopinama kreme za sunčanje koja se reklamira kao „reef-friendly“;
- 2) Smanjenje duljine korjenčića bit će uočeno na testnim organizmima tretiranim svim otopinama kremama za sunčanje u odnosu na one tretirane kontrolnom otopinom;
- 3) Mineralna krema za sunčanje koja sadrži nanočestice prouzročit će veće smanjenje prirasta korjenčića od one koja je reklamirana kao „reef-friendly“, bez nanočestica;
- 4) Veće smanjenje prirasta korjenčića prouzročit će otopine većih koncentracija kreme za sunčanje.

METODE

Testirani organizam u ovom istraživanju je vodena leća (*Lemna minor*). Korištene su 4 različite kreme za sunčanje. Dvije kreme za sunčanje s mineralnim filtrima, Hawaiian tropic spf 50 i Nivea sun spf 50, te dvije kemijske kreme za sunčanje, Esencija Adria spf 50 i Babylove sensitive spf 50. Hawaiian tropic, reklamirana kao „reef-friendly“ (sigurna za okoliš) ne sadrži nanočestice, ali uz mineralne filtre sadrži i kemijske filtre. Nivea sun mineralna krema ne sadrži kemijske filtre, ali sadrži nanočestice koje potencijalno mogu biti štetne. Dvije kemijske kreme za sunčanje koje se ne reklamiraju kao ekološki sigurne koriste kemijske spojeve u cilju zaštite od štetnih UV zraka. Esencija Adria sadrži oktokrilen kategoriziran kao štetan spoj dok Babylove sensitive ne sadrži ni oktokrilen ni nanočestice.

Plan istraživanja

Sažeti prikaz plana istraživanja prikazan je na slici 3.



Slika 3 Plan istraživanja

Lemna minor test ponovnog rasta korijena

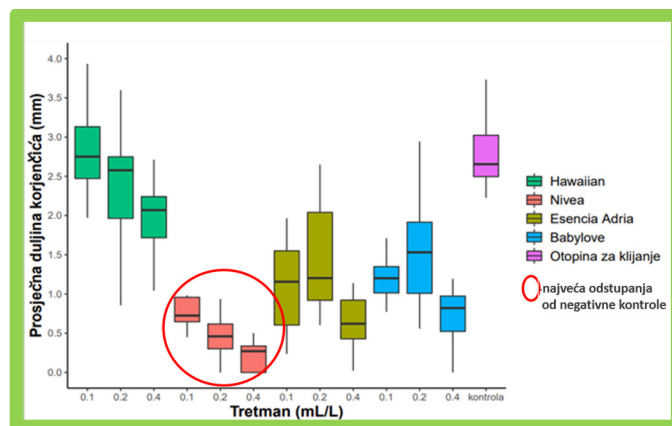
Korištena je standardizirana metoda mjerenja duljine korijena koja je u usporedbi s OECD i ISO testiranjem brža, jeftinija i lakša (Park i sur., 2022). Vodena leća je sakupljena u prirodi sa sjeverne strane Marjana (predio Bambina glavica) iz malog bazena koji se nekad koristio za navodnjavanje. Prije samog testiranja, rasla je 7 dana u otopini destilirane vode i gnojiva (na 5 L destilirane vode stavljeno je 0,5 mL tekućeg gnojiva). Korišteno je gnojivo Easy- Life Profito za vodene biljke. Tako je ostavljena na temperaturi od 25° C na osvijetljenom mjestu 7 dana. Izabrane su zdrave biljke koje su zelene boje i sastoje se od 2 do 3 identična listića. Korjenčići su im izrezani pomoću škarića i takvi listići bez

korjenčića su stavljeni u prozirne plastične jažice za kulturu stanica sa otopinama različitih krema za sunčanje pri čemu se pazilo da listići ne dodiruju stijenke posudice. Za svaku od 4 različite kreme za sunčanje pripremljene su 3 različite koncentracije otopina (0,1 mL/L, 0,2 mL/L i 0,4 mL/L) i otopina za klijanje (destilirana voda i gnojivo) koja je poslužila i kao kontrolna otopina. U svaku je jažicu stavljeno 10 mL otopine. U svakoj testnoj skupini bilo je 20 jedinki i 20 jedinki u kontrolnoj skupini (po 10 raspoređenih u 2 zasebne jažice). To čini ukupno 240 jedinki u testnim skupinama, po 60 za svaku vrstu kreme za sunčanje te 20 jedinki u kontrolnoj skupini. Tako pripremljene posudice su prekrivene da bi se spriječilo isparavanje vode. Listići su čuvani na sobnoj temperaturi od 22° C u osvijetljenom prostoru (bijelo svjetlo). Inhibicija rasta korjenčića je trajala 72 h. Nakon toga je svaka biljčica (listići s korjenčićem) stavljena na predmetno stakalce te fotografirana. Fotografije su naknadno obrađene u programu *ImageJ* u kojem je precizno određena duljina svakog korjenčića. Za rezanje korjenčića i fotografiranje novorazvijenih korjenčića, zbog malih dimenzija vodene leće korištena je binokularna lupa *Motic microscopes SMZ-168-BL* pri povećanju 6X.

Statistička značajnost utjecaja krema za sunčanje na rast vodene leće utvrđena je ANOVA testom uz pomoć mrežnog statističkog kalkulatora (<https://datatab.net>, 2023). Radi utvrđivanja statistički značajne razlike između svakog od parova tretmana korišten je Bonferroni 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 slučajna manja od 5 %. Ukoliko je P vrijednost veća od 0,05 rezultat se ne smatra statistički značajnim.

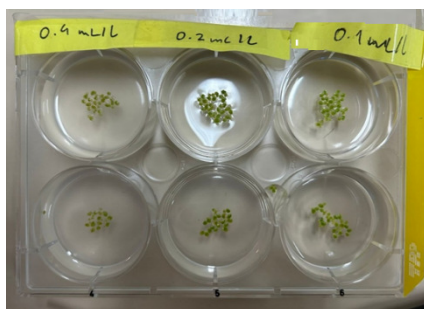
REZULTATI

Slikom 4 prikazane su prosječne duljine korjenčića jedinki vodene leće izmjerenih nakon tretmana otopinama krema za sunčanje u trajanju od 72 sata. Rezultati generalno ukazuju na očekivani trend smanjenog rasta korjenčića u otopinama s većim koncentracijama krema za sunčanje. Nadalje, zabilježeno je da su korjenčići u svim otopinama, izuzev otopina kreme Hawaiian deklarirane kao ekološki prihvatljive („reef-friendly“), značajno kraći od onih iz kontrolne otopine. Unatoč očekivanju da će Esencia Adria koja sadrži oktokrilen imati najveći negativni utjecaj na rast korjenčića, rezultati ukazuju da nema statistički značajne razlike u rastu korjenčića u otopinama koje sadrže Esencia Adria (oktokrilen) i Babylove kremu. U otopinama Nivea sun kreme koja sadrži nanočestice zabilježen je najmanji rast korjenčića. Statistička značajnost između svakog od parova tretmana prikazana je u Prilogu 2.

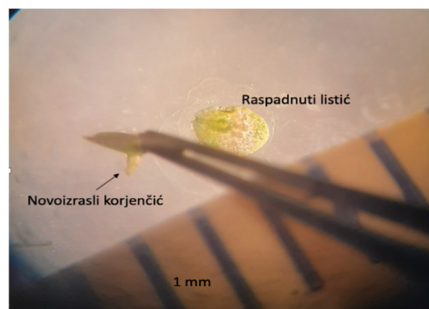


Slika 4 Prosječna duljina korjenčića (mm) u svih krema nakon 72h tretmana, prikazani su medijani (vodoravnim linijama unutar obojenog polja) i gornje i donje kvartile (rubovi obojenog polja) te najmanje i najveće vrijednosti (krajnje točke okomitih linija)

Uočeno je da su jedinke vodene leće u svim otopinama najveće koncentracije bile blijede, neki listići su se odvojili, a sami listići bili manje površine u odnosu na one u kontrolnoj otopini. Najizraženije morfološke promjene su uočene kod vodene leće tretirane otopinom 0,4 mL/L kreme Esencia Adria. Razlike u morfologiji jedinki tretiranih otopinama različitih koncentracija kreme Esencia Adria (sadrži oktokrilen) prikazane su Slikom 5., a morfologija jedinki nakon tretmana 0,4 mL/L Esencia Adria Slikom 6.



Slika 5 Jedinke u tretmanu različitim koncentracijama otopine kreme Esencia Adria (s oktokrilenom) (foto: autor)

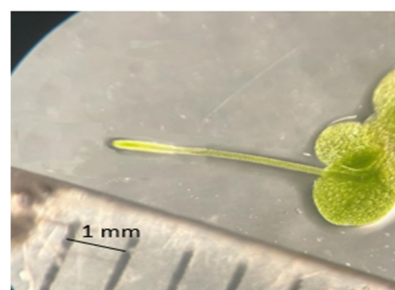


Slika 6 Jedinke vodene leće nakon tretmana 0,4 mL/L Esencia Adria promatrane binokularnom lupom (povećanje 6X) (foto: autor)

Jedinke vodene leće u kontrolnoj otopini (otopina za klijanje) bile su zelenije, veće površine listića, duljih korjenčića i čvršće od onih tretiranih otopinama krema za sunčanje (slike 7 i 8). U kontrolnoj otopini nisu uočeni odvojeni i raspadnuti listići.



Slika 7 Jedinke u kontrolnoj otopini (otopina za klijanje) (foto: autor)



Slika 8 Jedinke iz kontrolne otopini promatrane binokularnom lupom (povećanje 6X) (foto: autor)

RASPRAVA

Cilj ovog istraživanja bio je utvrditi utjecaj mineralnih i kemijskih krema za sunčanje na vodenu leću. Vodena leća korištena u ovom istraživanju prikupljena u prirodi u zimskom periodu bila je malih dimenzija te prosječna duljina novorazvijenih korjenčića (2,84 mm) u kontrolnoj otopini značajno odstupa u odnosu na duljine novorazvijenih korjenčića u kontrolnoj otopini ($28,93 \pm 20,28$ mm) izmjerenih u istraživanju koje su proveli Park i sur. (2021).

Istražen je učinak krema za sunčanje u različitim koncentracijama vodenih otopina. Postavljene su hipoteze bile da će novorazvijeni korjenčići u otopinama kemijske kreme koja sadrži štetni spoj oktokrilen biti kraći od onih iz otopina kreme reklamirane kao "reef-friendly" (hipoteza 1). Prosječna duljina korjenčića iz svih tretmana kremom Esencia Adria, koja sadrži oktokrilen (oko 1,17 mm), manja je od prosječne duljine korjenčića iz svih tretmana kremom Hawaiian (oko 2,34 mm) koja također u svom sastavu ima oktokrilen, ali sadrži i mineralne filtre bez nanočestica (Prilog 1). Statistički značajna



razlika utvrđena je kod leće tretirane otopinom 0,1 mL/L Hawaiian u odnosu na sve koncentracije kreme Esencia Adria u kojima su korjenčići bili znatno kraći (slika 4, prilog 2). Razlog može biti različita količina oktokrilena koje sadrže ove kreme. Sattler i sur. (2021) dokazali su da mineralna ne nano krema Hawaiian negativno utječe na slatkovodnu milfoliju (*Myriophyllum heterophyllum Michx.*) i u koncentracijama manjim od 0,2 mL/L. U ovom radu nisu utvrđene statistički značajne razlike u duljini korjenčića tretiranih kremom Hawaiian u odnosu na kontrolu izuzev koncentracije 0,4 mL/L, što se ne poklapa u potpunosti sa rezultatima koje su dobili Sattler i sur. U njihovom istraživanju testni organizam je bentonska biljka kojoj je mjerena biomasa nakon trinaestodnevnog tretmana. Otopine kreme za sunčanje su koloidne otopine čije se koloidne čestice mogu odstraniti iz vode povećanjem veličine čestica (flokulacijom) i taloženjem (Foschio, 2010). Istaložene čestice imati će veći utjecaj na pridnene organizme nego na plutajuću vegetaciju poput vodene leće što može biti razlog drugačijih rezultata dobivenih u ovim istraživanjem. Nakon 72 sata tretmana na dnu jažica kod otopina 0,2 mL/L i 0,4 mL/L svih kreme uočena je manja količina taloga koja je bila izraženija u otopinama Esencia Adria i Babylove kreme.

U skladu s hipotezom 2, smanjenje duljine korjenčića uočeno je na testnim organizmima tretiranim otopinama kremama za sunčanje u odnosu na one tretirane kontrolnom otopinom. Ipak, nisu utvrđene značajne statističke razlike u duljinama korjenčića tretiranim otopinama 0,1 i 0,2 mL/L ekološki prihvatljive kreme Hawaiian u odnosu na kontrolnu otopinu (slika 4, prilog 2). Moguće objašnjenje je flokulacija i taloženje koloidnih čestica kreme i manji utjecaj na sitnu plutajuću vodenu leću.

Izmjereno je da su korjenčići tretirani svim otopinama mineralne kreme s nanočesticama Nivea statistički značajno ($p < 0,00001$) manji od onih tretiranih kontrolnom otopinom (prilog 2, slika 4), što potvrđuje hipotezu 3 i slaže se s rezultatima koje je dobila Glavaš Ljubomir (2021) u ispitivanju utjecaja nanosrebra na vodenu leću utvrdivši morfološke promjene koje su se u uvjetima stresa očitovale u obliku inhibicije rasta, raspadanja kolonija, nekrozi listića i otpadanja korjenčića.

Rezultati tretmana otopinama kreme s mineralnim filtrima potvrđuju hipotezu 4 jer su povećanje koncentracija otopina i duljina korjenčića obrnuto proporcionalni (slika 4). Kod kemijske kreme Esencia Adria i Babylove nema statistički značajne razlike u duljini korjenčića iz tretmana otopinom 0,2 mL/L u odnosu na one iz otopine 0,1 mL/L (slika 4, prilog 2). Neobično je da su korjenčići iz tretmana otopinama 0,2 mL/L u odnosu na one iz otopina 0,1 mL/L nešto dulji. Moguće objašnjenje je flokulacija i taloženje koloidnih čestica kreme koja je izraženija kod otopine s većim brojem čestica.

Babylove krema za sunčanje deklarirana je kao proizvod siguran za osjetljivu dječju kožu koji ne sadrži alkohol, aluminijeve soli, bojila, konzervanse, nanočestice, paraben, mineralna ulja. Uspoređujući utjecaj te kreme na ponovni rast korijena vodene leće i rezultate dobivene nakon tretmana kremom za sunčanje Esencia Adria (sadrži oktokrilen) (slika 4), rezultati ukazuju da ove kreme u jednakoj mjeri negativno utječu na primarnu organsku proizvodnju vodenih ekosustava. Mogući razlog za uočeni negativni utjecaj kreme Babylove koja ne sadrži oktokrilen ni nanočestice je što sadrži dibutil adipat koji je toksičan za vodene organizme ([ICSC:1705](#), 2021).

Morfološke promjene poput male površine lista, blijedih, odvojenih listića, nedostatka korjenčića ili vrlo kratkih korjenčića te gubitka čvrstoće uočene su u skupinama tretiranim otopinama 0,4 mL/L svih kreme, a najizraženije su bile u tretmanu kremom Esencia Adria (slike 5 i 6). Slične promjene na slatkovodnoj biljci milifolij uočili su Sattler i sur. (2021) ispitujući utjecaj kreme s oksibenzonom



(Coppertone) kao i ekološki prihvatljive kreme (Hawaiian Tropic); biljke tretirane kremama su bile blijede boje i nižeg rasta. Promjene su bile izraženije u tretmanima kreme s oksibenzonom (Coppertone).

Sve četiri kreme za sunčanje pokazale su negativan utjecaj na ponovni rast korijena vodene leće. S obzirom da se koloidne čestice u otopinama kreme za sunčanje mogu taložiti veći će utjecaj imati na bentonske alge, morske cvjetnice poput posidonije te grebenotvorne koralje koje žive u simbiozi s fotosintetskim zooksantelama. Busenasti koralj i posidonija kao strogo zaštićene vrste već su ugrožene čitavim nizom negativnih antropogenih utjecaja, staništa su za brojne druge organizme i središta bioraznolikosti Sredozemnog mora. Iz tog razloga je ključno je podignuti svijest o održivoj upotrebi kreme za sunčanje kao i ostalih kozmetičkih proizvoda sličnog sastava i poticati ljude na korištenje ekološki prihvatljivih „reef-safe“ i „reef-friendly“ kreme za sunčanje koje ipak u znatno manjoj mjeri narušavaju ekološku ravnotežu vodenih staništa.

Radi poboljšanja istraživanja, zbog dobivenih rezultata koji ukazuju na različito ponašanje koloidnih otopina mineralnih i kemijskih kreme za sunčanje, trebalo bi istraživanje ponoviti na betonskoj vrsti poput milifolie kako bi se usporedio utjecaj na plutajuću vegetaciju poput vodene leće i bentonske fotosintetske organizme te ispitati utjecaj kreme deklarirane kao „reef-safe“ koja sadrži isključivo mineralne filtre bez nanočestica.

ZAKLJUČCI

Na osnovu provedenog istraživanja doneseni su zaključci:

- ☞ Kreme za sunčanje koje se ne reklamiraju kao „reef-friendly“ inhibiraju rast korjenčića jedinki vodene leće
- ☞ Krema Babylove deklarirana kao proizvod za osjetljivu dječju kožu bez nanočestica i oktokrilena također inhibira rast korjenčića (moguće jer sadrži štetan dibutil adipat)
- ☞ Krema za sunčanje koja sadrži nanočestice najviše je inhibirala rast korjenčića vodene leće
- ☞ Krema za sunčanje koja se reklamira kao „reef-friendly“ statistički značajno inhibira rast korjenčića samo u koncentraciji od 0,4 mL/L
- ☞ Prisutne su morfološke promjene kod svih jedinki tretiranih otopinama kreme za sunčanje, a najizraženije su kod jedinki tretiranih otopinom koncentracije 0,4 mL/L kreme Esencia Adria koja sadrži oktokrilen.

LITERATURA

- Baker A., Glynn P., Riegl B. 2008. Climate change and coral reef bleaching: An ecological assessment of long-term impacts, recovery trends and future outlook. *Estuarine, Coastal and Shelf Science* 80: 435-471.
- Blažević I., Kos K., Kovačević M., Marković T., Sović L. i Miloloža M. i sur. 2023. 'SPF – super problematična formula? Aktivni sastojci kreme za sunčanje u vodenom okolišu', *Kemija u industriji* 72(3-4): 257-267.
- Cheng J.J., Stomp A.M. 2009. Growing duckweed to recover nutrients from wastewaters and for production of fuel ethanol and animal feed. *Clean-Soil, Air, Water* 37(1): 17-26.
- Dalu J.M., Ndamba J. 2003. Duckweed based wastewater stabilization ponds for wastewater treatment (a low cost technology for small urban areas in Zimbabwe). *Physics and Chemistry of the Earth, Parts A/B/C* 28(20-27): 1147-60.
- DermNet 2023. Sunscreens, DermNet All about the skin, <https://dermnetnz.org/topics/topical-sunscreen-agents> pristupljeno: 20.11.2023.
- Foschio D. 2010. Postupci koagulacije i flokulacije kao važni tehnološki koraci u obradi otpadnih industrijskih voda (Završni rad). Zagreb: Sveučilište u Zagrebu, Fakultet strojarstva i brodogradnje. <https://urn.nsk.hr/urn:nbn:hr:235:620110>
- Glavaš Ljubomir K. 2021. Usporedba toksičnoga djelovanja nanočestica i ionskoga srebra na vodenu leću (*Lemna minor* L.), Doktorska disertacija, Prirodoslovno-matematički fakultet Sveučilišta u Zagrebu, Zagreb.



- Grbčić A. 2012. Osnovna obilježja naselja morske cvjetnice *Posidonia oceanica* (L.) Delile u plitkom moru, Diplomski rad Prirodoslovno-matematički fakultet Sveučilišta u Zagrebu, Zagreb.
- ICSC 2021. Dibutyl adipate, International Chemical Safety Cards https://www.ilo.org/dyn/icsc/showcard.display?p_version=2&p_card_id=1705, pristupljeno 19.2.2024.
- ISO 20079, 2005. Water quality – determination of the toxic effect of water constituents and waste water on duckweed (*Lemna minor*) – duckweed growth inhibition test
- Manaia E.B., Kiatkoski Kaminski R.K., Corrêa M.A., Chiavacci L.A. 2013. Inorganic UV filters. Brazilian Journal of Pharmaceutical Sciences 49: 201-209.
- McShan D., Ray P.C., Yu H. 2014. Molecular toxicity mechanism of nanosilver. Journal of Food and Drug Analysis 22: 116-127.
- Muscatine L., Porter J.W. 1977. Reef corals: mutualistic symbioses adapted to nutrient- poor environments. BioScience 27: 454-460.
- Nair P.M., Chung I.M. 2014. Impact of copper oxide nanoparticles exposure on *Arabidopsis thaliana* growth, root system development, root lignification, and molecular level changes. Environmental Science and Pollution Research 21: 12709-12022.
- NP Mljet 2015. Staništa i ekosustavi, Nacionalni park Mljet, <https://np-mljet.hr/stanista-i-ekosustavi/> pristupljeno 20.1 2024.
- NPS 2022. Ocean, Coasts and Seashores, Sunscreens, National Parks Services, U.S. Department of the Interior, <https://www.nps.gov/subjects/oceans/sunscreen.htm> pristupljeno: 20.1 2024.
- Park J., Yoo E.-J., Shin K., Depuydt S., Li W., Appenroth K.-J., Lillicrap A.D., Xie L., Lee H., Kim G. i sur. 2022. Interlaboratory Validation of Toxicity Testing Using the Duckweed *Lemna minor* Root-Regrowth Test. Biology (Basel) 11: 37.
- Pergent-Martini C. Pasqualini V., Ferrat L., Pergent G. 2006. Ecological Data in Integrated Coastal Zone Management: Case Study of *Posidonia oceanica* meadows Along the Corsican Coastline (Mediterranean Sea). Environmental Management 38: 889-895.
- Pevalek-Kozlina B. 2003. Fiziologija bilja. Profil International, Zagreb.
- Pevac L. 2015. Utjecaj temperature na brzinu rasta kućnog šturka (*Acheta domesticus*). Bioznanac 1: 216-227.
- Sattler L., Kistler C., Mortensen B. 2021. Effects of Sunscreen on Freshwater Plants Benedictine College, Atchinson, Kansas, 2023, <https://www.benedictine.edu/academics/special/discovery/virtual/sessions/sunscreen-plant-growth>, pristupljeno: 12. 1. 2024.
- Šolčić M. 2023. Analiza nanočestica titanijevog dioksida i cinkovog oksida u kremama za sunčanje, Prirodoslovno-matematički fakultet Sveučilišta u Zagrebu, Zagreb.
- Wang W. 1990. Literature review on duckweed toxicity testing. Environmental research 52(1): 7-22.
- Yamada M., Mohammed Y., Prow T. W. 2020. Advances and controversies in studying sunscreen delivery and toxicity, Advanced Drug Delivery Reviews 153: 72-86.
- Zhong X., Li Y., Che X., Zhang Z., Li Y., Liu B., Li Q., Gao H. 2019. Significant inhibition of photosynthesis and respiration in leaves of *Cucumis sativus* L. by oxybenzone, an active ingredient in sunscreen, Chemosphere 219: 456-462.

PRILOZI

Prilog 1 Sastav krema za sunčanje, žutom bojom istaknuti su štetni spojevi za vodene organizme

Krema za sunčanje	Sastav (prema deklaraciji na poledini proizvoda)
Hawaiian Tropic Silk Hydration spf50 (reef friendly)	aqua, homosalat, oktokrilen , etilheksil salicilat, butil metoksidibenzoilmetan butiloktil salicilat, C12-15 alkil benzoat, diizopropil adipat, hidroksietil akrilat/natrijev akriloidimetil taurat, kopolimer butilen glikol, cetearil alkohol, fenoksietanol, izohexadekan kapili glikol, akrilati/C12-22 alkil metakrilat, kopolimer benzil alkohol, parfem, klorfenezin, ceteth-10 fosfat, diacetil fosfat, polisorbitat 60, ksantanska guma, koko-glukozid, dinatrijev EDTA, aminometil propanol, liskun, linalool, tokoferil acetat, titanijev dioksid, pantenol, limun, sok lista Aloe barbadensis, Si aminokiseline, natrijev askorbil fosfat, ekstrakt cvijeta Plumeria acutifolia, ekstrakt ploda Psidium guajava, ekstrakt ploda Passiflora incarnata, ekstrakt ploda Mangifera indica, ekstrakt ploda Carica papaya. CI77492
Esencia Adria mlijeko za zaštitu od sunca spf50	aqua, octocrylene , homosalate, ethylhexyl salicylate, butyl methoxydibenzoylmethane, glyceryl stearate, cetareth-20, ethylhexyl methoxycinnamate, dicaprylyl carbonate, C12-15 alkyl benzoate, glycerin, phenoxyethanol, cetareth-12, cetearyl alcohol, cetyl palmitate, dimethicone, parfum, hydrogenated dimer dilinoleyl/dimethylcarbonate copolymer, butyrospermum parkii butter, dmdm hydantoin, bht, benzyl alcohol, coumarin, limonene.



Krema za sunčanje	Sastav (prema deklaraciji na poledini proizvoda)
Nivea Mineral krema za zaštitu lica SPF 50+	aqua, zinc oxide (nano) , isopropyl palmitate, c12-15 alkyl benzoate, dicaprylyl ether, titanium dioxide (nano) , alcohol denat., polyglyceryl-4diisostearate/polyhydroxystearate/sebacate, polyglyceryl-3 diisostearate, hydrogenated rapeseed oil, glycerin, ubiquinone, aloe barbadensis leaf juice powder, tocopherol, triethoxycaprylylsilane, silica, magnesium sulfate, hydroxyacetophenone, ethylhexylglycerin, dimethicone
Babylove sensitive krema za sunčanje, SPF 50+ (aluminijevih soli, bojila, konzervansa, nanočestica, parabena, bez mineralnih ulja)	aqua, dibutyl adipate , glycerin, diethylamino hydroxybenzoyl hexyl benzoate, C12-15 alkyl benzoate, ethylhexyl salicylate, ethylhexyl triazone, bisdiglycerol polyacryladipate-2, propylheptyl caprylate, potassium cetyl phosphate, bis-ethylhexyloxyphenol methoxyphenyl triazine, <i>Copernicia cerifera</i> cera, hydrogenated palm glycerides, tocopheryl acetate, phenylbenzimidazole sulfonic acid, hydroxyacetophenone, <i>Oryza sativa</i> bran cera, microcrystalline cellulose, potassium hydroxide, caprylyl glycol, decylene glycol, succinoglycan, tetrasodium iminodisuccinate , galactoarabian, cellulose gum, xanthan gum, caprylhydroxamic acid, tocopherol

Prilog 2 Statistički značajne razlike po parovima tretmana (p -vrijednosti) (označene žutom bojom)

Parovi tretmana		P vrijednost	statistička značajnost
Babylove_0.1	Babylove_0.2	0,889	ns
Babylove_0.1	Babylove_0.4	0,427	ns
Babylove_0.1	Hawaiian_0.1	2,18E-12	****
Babylove_0.1	Hawaiian_0.2	4,85E-06	****
Babylove_0.1	Hawaiian_0.4	0,0355	*
Babylove_0.1	Nivea_0.1	0,921	ns
Babylove_0.1	Nivea_0.2	0,0329	*
Babylove_0.1	Nivea_0.4	0,000236	***
Babylove_0.1	Esencia Adria_0.1	1	ns
Babylove_0.1	Esencia Adria_0.2	0,928	ns
Babylove_0.1	Esencia Adria_0.4	0,526	ns
Babylove_0.1	kontrola	3,07E-12	****
Babylove_0.2	Babylove_0.4	0,00214	**
Babylove_0.2	Hawaiian_0.1	4,29E-08	****
Babylove_0.2	Hawaiian_0.2	0,0063	**
Babylove_0.2	Hawaiian_0.4	0,885	ns
Babylove_0.2	Nivea_0.1	0,0599	ns
Babylove_0.2	Nivea_0.2	1,38E-05	****
Babylove_0.2	Nivea_0.4	2,32E-08	****
Babylove_0.2	Esencia Adria_0.1	0,955	ns
Babylove_0.2	Esencia Adria_0.2	1	ns
Babylove_0.2	Esencia Adria_0.4	0,0074	**
Babylove_0.2	kontrola	5,97E-08	****
Babylove_0.4	Hawaiian_0.1	1,11E-13	****
Babylove_0.4	Hawaiian_0.2	1,06E-12	****
Babylove_0.4	Hawaiian_0.4	2,15E-07	****
Babylove_0.4	Nivea_0.1	1	ns
Babylove_0.4	Nivea_0.2	0,998	ns
Babylove_0.4	Nivea_0.4	0,378	ns
Babylove_0.4	Esencia Adria_0.1	0,452	ns
Babylove_0.4	Esencia Adria_0.2	0,00712	**
Babylove_0.4	Esencia Adria_0.4	1	ns
Babylove_0.4	kontrola	1,16E-13	****
Hawaiian_0.1	Hawaiian_0.2	0,53	ns
Hawaiian_0.1	Hawaiian_0.4	9,53E-05	****
Hawaiian_0.1	Nivea_0.1	1,88E-13	****
Hawaiian_0.1	Nivea_0.2	6,38E-14	****
Hawaiian_0.1	Nivea_0.4	6,32E-14	****
Hawaiian_0.1	Esencia Adria_0.1	1,10E-10	****
Hawaiian_0.1	Esencia Adria_0.2	8,34E-07	****
Hawaiian_0.1	Esencia Adria_0.4	1,83E-13	****
Hawaiian_0.1	kontrola	1	ns
Hawaiian_0.2	Hawaiian_0.4	0,432	ns
Hawaiian_0.2	Nivea_0.1	2,13E-09	****
Hawaiian_0.2	Nivea_0.2	1,87E-13	****



Parovi tretmana		P vrijednost	statistička značajnost
Hawaiian_0.2	Nivea_0.4	1,59E-13	****
Hawaiian_0.2	Esencia Adria_0.1	4,07E-05	****
Hawaiian_0.2	Esencia Adria_0.2	0,0186	*
Hawaiian_0.2	Esencia Adria_0.4	8,09E-11	****
Hawaiian_0.2	kontrola	0,574	ns
Hawaiian_0.4	Nivea_0.1	7,88E-05	****
Hawaiian_0.4	Nivea_0.2	1,51E-10	****
Hawaiian_0.4	Nivea_0.4	3,07E-13	****
Hawaiian_0.4	Esencia Adria_0.1	0,0933	ns
Hawaiian_0.4	Esencia Adria_0.2	0,938	ns
Hawaiian_0.4	Esencia Adria_0.4	4,08E-06	****
Hawaiian_0.4	kontrola	0,000127	***
Nivea_0.1	Nivea_0.2	0,928	ns
Nivea_0.1	Nivea_0.4	0,154	ns
Nivea_0.1	Esencia Adria_0.1	0,914	ns
Nivea_0.1	Esencia Adria_0.2	0,106	ns
Nivea_0.1	Esencia Adria_0.4	1	ns
Nivea_0.1	kontrola	1,87E-13	****
Nivea_0.2	Nivea_0.4	0,933	ns
Nivea_0.2	Esencia Adria_0.1	0,0465	*
Nivea_0.2	Esencia Adria_0.2	0,000105	***
Nivea_0.2	Esencia Adria_0.4	1	ns
Nivea_0.2	kontrola	6,38E-14	****
Nivea_0.4	Esencia Adria_0.1	0,000508	***
Nivea_0.4	Esencia Adria_0.2	3,32E-07	****
Nivea_0.4	Esencia Adria_0.4	0,631	ns
Nivea_0.4	kontrola	6,32E-14	****
Esencia Adria_0.1	Esencia Adria_0.2	0,971	ns
Esencia Adria_0.1	Esencia Adria_0.4	0,536	ns
Esencia Adria_0.1	kontrola	1,53E-10	****
Esencia Adria_0.1	Esencia Adria_0.4	0,0172	*
Esencia Adria_0.2	kontrola	1,11E-06	****
Esencia Adria_0.4	kontrola	1,82E-13	****

UTJECAJ RAZLIČITIH ABIOTIČKIH ČIMBENIKA NA RAST GLJIVICE *ASPERGILLUS BRASILIENSIS* VARGA, FRISVAD I SAMSON

Alba Štifanić, 3. razred
Nikola Radman-Livaja, 3. razred

Prirodoslovna škola Vladimira Preloga, Zagreb

Mentor: Klara Peter

SAŽETAK

Cilj ovog istraživanja bio je pronaći što bolje uvjete za rast kolonija gljivice *Aspergillus brasiliensis* Varga, Frisvad i Samson pomoću induciranja abiotičkih čimbenika (pH-vrijednosti, temperature, izloženosti svjetlosti i dodatka hranjivih tvari u podlogu). Također, cilj je bio odrediti kakvi uvjeti (pH-vrijednost manja ili jednaka 1 te veća od 13, temperatura viša od 60 °C) mogu ubiti organizam. Uzgojeno je ukupno 100 kolonija gljivice. Korištene metode temelje se na manipuliranju okoline i medija u kojima se organizam nalazi s ciljem ostvarenja različitih abiotičkih čimbenika. Vijabilnost stanica provjerena je bojanjem stanica metilenskim modrilom. Rezultati istraživanja pokazali su da gljivica najbolje raste u uvjetima visoke koncentracije šećera glukoze i fruktoze; na temperaturi od 25 °C i 37 °C; u srednje kiseloj i blago lužnatoj pH-vrijednosti te na svjetlosti. Temeljem navedenog, može se zaključiti da je za najefikasniji rast i razvoj kolonija gljivice *A. brasiliensis* potrebna visoka koncentracija ugljikohidrata (1 mol/L ili viša), srednje kisela pH-vrijednost (pH ≈ 4,5), stalan izvor svjetlosti te temperatura između 25 °C i 37 °C. Za detekciju vijabilnosti bojanjem metilenskim modrilom može se zaključiti da gljivica ne može preživjeti na temperaturi od 65 °C te da umire nakon 7 dana stajanja u laboratoriju. Za uvjete vrlo niske i visoke pH-vrijednosti ne može se sa sigurnošću odrediti životno stanje gljivice jer metilensko modrilo ne funkcionira u otopinama klorovodične kiseline i natrijeve lužine zato što dolazi do reakcije između medija i bojila.

Glavne riječi: kolonija; uvjeti; medij; okolina; postotak prekrivenosti

UVOD

Gljivica *Aspergillus brasiliensis* Varga, Frisvad i Samson je eukariotski organizam građen od proteina, lipida, ugljikohidrata i nukleinskih kiselina, čija je stanična stijenka građena od hitina. Strukturu gljivice čine mikroskopske niti zvane hife koje tvore micelij (Vinck i sur., 2005). Razmnožava se konidijama, aseksualnim sporama nastalim mitozom koje se raspršuju vjetrom i stvaraju nove hife u povoljnim uvjetima (Osharov i May, 2001). Njemu je srodan organizam, *Aspergillus niger* Tiegh., sličan prema taksonomskoj kategorizaciji, pri čemu se razlikuju samo u vrsti, a ostale sistematske kategorije su im iste. Također, spore su im jednake, crne boje i kružna oblika grubih obrisnih crta. Nadalje, obje vrste proizvode enzime procesom ekstracelularne sekrecije enzima (Gouka i sur., 1997), pri čemu metabolizam gljivice sintetizira enzime, a zatim ih stanica izlučuje u okolinu kroz posebne strukture, konidiofore. Konidiofor je jednostavna ili razgranata hifa koja nosi konidiogene stanice ili sama djeluje kao konidiogena stanica (Anderson i Smith, 1971). *A. niger* primjenjuje se u biotehnologiji za proizvodnju enzima amilaze, pektinaze i celulaze koji su prijeko potrebni u prehrambenoj industriji za obradu hrane, konzerviranje i proizvodnju sokova (Mojsov, 2016). Također, može proizvesti enzime glukoamilaze koje razgrađuju škrob do jednostavnih šećera koji se fermentiraju u alkohol etanol (C₂H₅OH), stoga je koristan i u industriji proizvodnje alkoholnih pića. Uz to, *A. niger* stvara enzime koji su važni za proizvodnju bioplastike (Kumaravel i sur., 2010). Osim enzima, može proizvesti i organske kiseline kao što su vinska (C₄H₆O₆) i limunska kiselina (C₆H₈O₇), koja se široko koristi u prehrambenoj industriji i proizvodnji bezalkoholnih pića (Varga i sur., 2007).

U ovom istraživanju promatran je utjecaj abiotičkih čimbenika na *A. brasiliensis*. Abiotički čimbenici su fizikalni i kemijski utjecaji nežive prirode koji utječu na žive organizme i funkcioniranje ekosustava. Inducirani čimbenici su temperatura, prisutnost i deficit svjetlosti, pH-vrijednost medija u kojem se nalazi gljivica te zastupljenost i raznolikost hranjivih tvari u mediju. Abiotički čimbenici nezavisne su



varijable koje će utjecati na rast kolonija čije je širenje zavisna varijabla. Provedena istraživanja na gljivici *A. niger* pokazala su da srednje kiseli medij (pH: < 4 – 5,5 >) dobro utječe na rast kolonija, a lužnati i jako kiseli ne pospješuje širenje istih (Wang i sur., 2017). Temperatura u rasponu od 25 °C do 40 °C najpogodnija je za rast gljivice (Mohammed, 2019). S druge strane, niske temperature (5 °C) i visoke (40 °C – 60 °C) nepogodne su za rast gljivice (Mohammed, 2019). Uz hranjivu podlogu, otopina glukoze, otopina fruktoze i otopina alanina pospješuju rast kolonija, pri čemu su promjene u veličini kolonija brže pri višim koncentracijama, a sporije pri nižim (Ljadpanahsaravi i sur., 2021). Nadalje, svjetlost pogoduje rastu kolonija, pogotovo spektar plave boje od 455 nm i 390 nm (Fanelli i sur., 2012). Sukladno navedenom, proučavane su promjene u rastu gljivice promatranjem prekrivenosti površine hranjive podloge kolonijama. Uz to, promjene su proučavane promatranjem mrtvih jedinki nakon izlaganja ekstremnijim uvjetima (temperatura viša od 60 °C, pH < 2, pH > 13) koje promatrani modelni organizam ne može podnijeti (d'Halewyn i Chevalier, 2023). Naime, prethodna istraživanja navode da se životno stanje stanice može definirati bojenjem metilenskim modrilom (Domingues i sur., 2005): žive stanice se ne boje zato što pri ulasku boje u stanicu enzimi reagiraju s njom te dolazi do obezbojenja. S druge strane, mrtvi organizmi ne posjeduju navedene enzime, stoga se oni boje plavo (Karaghool, 2021).

Motivacija za ovo istraživanje zasnovana je na gljivici *A. niger* na kojoj je provedeno već mnogo istraživanja (Mohammed, 2019), koja su poslužila kao temelj za ovo istraživanje. Kao modelni organizam odabran je *A. brasiliensis* jer on za razliku od *A. niger* ne potiče alergijske reakcije u slučaju kontakta s dišnim putovima čovjeka, stoga je utjecaj abiotičkih čimbenika na *A. niger* testiran na gljivici *A. brasiliensis* čime bi se potencijalno unaprijedila iskoristivost ovog roda gljivice u biotehnologiji zbog svojih sposobnosti proizvodnje mnogobrojnih enzima i drugih važnih spojeva za industriju. Promatrajući *A. niger* kao obnovljivi izvor sirovine za što efikasniju proizvodnju enzima, nastojano je pronaći uvjete u kojima se povećanje količine njemu srodne gljivice *A. brasiliensis* dogodi u što kraćem vremenu što otvara putove novim istraživanjima koja bi mogla utvrditi ima li i *A. brasiliensis* dovoljno sličnih karakteristika koja mogu dodatno unaprijediti biotehnologiju. Drugi razlog za ovo istraživanje jest pronalazak nepogodnih abiotičkih čimbenika koji bi eliminirali prisutnost gljivice *A. brasiliensis* pod pretpostavkom da bi takvi uvjeti jednako djelovali i na *A. niger* koji je štetan za zdravlje ako se nalazi u kućanstvima ili na radnim mjestima (d'Halewyn i Chevalier, 2023). Ovim istraživanjem želi se pospješiti i olakšati uzgoj gljivice za daljnja biotehnološka istraživanja pronalaskom kombinacije svih čimbenika u kojima je gljivica najbolje rasla. S druge strane utvrđivanjem letalnih uvjeta nastoji se postići što efikasnija metoda odstranjivanja gljivica.

Cilj ovog istraživanja je pronaći optimalne uvjete za rast i razvoj kolonija *A. brasiliensis* uvjetovanjem kemijskog sastava otopine hranjivih podloga u kojima gljivica raste i mijenjanjem fizikalnih faktora unutar kojih se hranjiva podloga nalazi (temperatura zraka i prisutnost svjetlosti). Proučavanjem prethodno navedenih istraživanja uočeno je da određeni čimbenici pozitivno utječu na rast kolonija, stoga se pretpostavlja da će gljivica *A. brasiliensis* najuspješnije narasti pri temperaturi od oko 37 °C i u blago kiselom mediju te uz dodatke hranjivih tvari (šećera i aminokiselina). Očekuje se da će uvjeti previsoke i preniske pH-vrijednosti te temperature više od 60 °C eliminirati gljivicu. Sukladno navedenom, pretpostavlja se da će se gljivice izložene letalnim uvjetima obojiti metilenskim modrilom jer će biti mrtve.



METODE

Ovo istraživanje temelji se na gljivici *A. brasiliensis*, dobivenoj od Nastavnog zavoda za javno zdravstvo „Dr. Andrija Štampar“, kako bi točnost podataka bila osigurana, odnosno kako bi bilo sigurno da je uzgojen samo *A. brasiliensis*. Također, gljivica *A. brasiliensis* čuvana je u hladnjaku.

Priprema otopina i razlijevanje hranjivih podloga, nasađivanje gljivice na hranjive podloge

Nakon nabave modelnog organizma pripremljene su otopine različitih pH-vrijednosti i otopine hranjivih tvari koje će kasnije biti unesene u hranjive podloge. Korištene otopine su otopine HCl, CH₃COOH, NH₄Cl, Na₂CO₃ i NaOH čije koncentracije iznose 0,01 mol/L (tablica 1). Otopine soli pripremljene su otapanjem određenih masa soli u 25 mL destilirane vode (tablica 1). Pripravljene otopine prebačene su u sterilne epruvete s čepom iz kojih je sterilnom pipetom uziman uzorak od 1 mL pojedine otopine.

Kako bi podaci istraživanja bili točni posebna pozornost posvećena je sterilizaciji pribora. Priprema hranjivih podloga započeta je sterilizacijom Petrijevih zdjelica u suhom sterilizatoru (Instrumentaria ST - 01/02) i autoklavanjem hranjivih podloga u autoklavu (CV-EL 12L/18L). Kruta hranjiva podloga napravljena je otapanjem 5,75 g općeg hranjivog agra u 250 mL destilirane vode. Hranjivi agar sastoji se od goveđeg ekstrakta (3 g/L), peptona (5 g/L) i agra (15 g/L). Nakon sterilizacije markerom je označena pojedina Petrijeva zdjelica u koju je potom bila izlivena autoklavirana hranjiva podloga. Razlijevanje krute hranjive podloge obavljeno je u području sterilnog trokuta kako bi se smanjila mogućnost kontaminacije. Također, za izlijevanja autoklavirane hranjive podloge korištene su jednokratne sterilne pipete. Kako bi se dobile hranjive podloge specifičnog sastava u 10 mL hranjive podloge dodan je 1 mL određene otopine. Prilikom izlijevanja hranjive podloge posebna pozornost obraćena je na položaj poklopca Petrijevih zdjelica kako se ne bi izložili mikroorganizmima iz zraka. Kada se hranjiva podloga skrutila i ohladila sterilnom mikrobiološkom ušicom nasađen je modelni organizam, *A. brasiliensis*.

Izlaganje modelnog organizma određenim abiotičkim čimbenicima

Nakon nasađivanja Petrijeve zdjelice raspoređene su sukladno promatranim abiotičkim čimbenicima (tablica 1) na različite lokacije (inkubator (INKOLAB), sobna temperatura, hladnjak). Broj Petrijevih zdjelica koje su poslužile kao kontrolna skupina bio je pet. Kontrolna skupina sadrži isključivo hranjivu podlogu bez dodataka otopina i nalazi se na sobnoj temperaturi i dnevnoj količini svjetlosti (ni posebno osvijetljena, ni u mraku). Za svaku pojedinu vrijednost pojedinog čimbenika korišteno je pet replikata. Pet Petrijevih zdjelica idu u hladnjak, pet ostaju na sobnoj temperaturi, pet idu na temperaturu od 37 °C u inkubator, pet na temperaturu od 65 °C u inkubator, pet po svakoj otopini kiseline, baze i hranjivih tvari te pet na lokaciji bez prisutnosti svjetlosti i pet na lokaciji pod intenzivnijim osvjetljenjem. Ukupan broj Petrijevih zdjelica je 100 (5 replikata po svakoj od 20 metoda postizanja utjecaja čimbenika iz tablice 1).

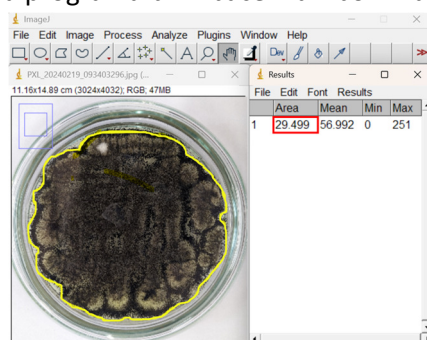
Tablica 1 Pregled induciranih čimbenika

ČIMBENIK	METODA POSTIZANJA ČIMBENIKA
pH-vrijednost	kiseline, baze, soli
≈2	HCl (aq), c = 0,01 mol/L, (V = 25 mL, m = 0,0091 g)
≈4	CH ₃ COOH (aq), c = 0,01 mol/L, (V = 25 mL, m = 0,0150 g)
≈6	NH ₄ Cl (aq), c = 0,01 mol/L, (V = 25 mL, m = 0,0134 g)
≈10	Na ₂ CO ₃ (aq), c = 0,01 mol/L, (V = 25 mL, m = 0,0265 g)
≈12	NaOH (aq), c = 0,01 mol/L, (V = 25 mL, m = 0,0099 g)

ČIMBENIK	METODA POSTIZANJA ČIMBENIKA
temperatura	lokacija koja ispunjava uvjete temperature
5 °C	hladnjak
≈25 °C	prostorija/soba na zraku
37 °C	inkubator
65 °C	inkubator
koncentracija hranjivih tvari	otopine šećera i aminokiselina
niska koncentracija	glukoza, c = 0,01 mol/L, (V = 25 mL, m = 0,0450 g) fruktoza, c = 0,01 mol/L, (V = 25 mL, m = 0,0450 g) alanin, c = 0,01 mol/L, (V = 25 mL, m = 0,0223 g)
srednja koncentracija	glukoza, c = 0,1 mol/L, (V = 25 mL, m = 0,4504 g) fruktoza, c = 0,1 mol/L, (V = 25 mL, m = 0,4504 g) alanin, c = 0,1 mol/L, (V = 25 mL, m = 0,2227 g)
visoka koncentracija	glukoza, c = 1 mol/L, (V = 25 mL, m = 4,5039 g) fruktoza, c = 1 mol/L, (V = 25 mL, m = 4,5039 g) alanin, c = 1 mol/L, (V = 25 mL, m = 2,2274 g)
svjetlost	lokacija koja ispunjava uvjete svjetlosti
prisutnost	stajanje pod stalnim izvorom svjetlosti
deficit	zatvorena kutija/posuda

Promatranje i analiza podataka

Promjena u uzorku promatrana je nakon 7 dana (168 sati) od trenutka nasađivanja te je dokumentirana fotografijama. Fotografije su analizirane javno dostupnim programom ImageJ (Abramoff i sur., 2004) koji funkcionira tako da je kolonija fotografirana mobilnim uređajem (uvijek s iste visine mora biti udaljen uređaj od Petrijeve zdjelice). Fotografija je potom prenesena na računalo putem gmail-a te je obrađena u navedenom programu. Obrada je funkcionirala na način da je postavljena vrijednost promjera Petrijeve zdjelice, koja je prethodno ručno izmjerena, kako bi program mogao usporediti piksele s unesenom vrijednošću promjera i naknadno računati površine kolonija. Oblik kolonija iscrtan je po obrisima (slika 1), a zatim je pritiskom na tipku "M" na tipkovnici u programu izračunata površina te kolonije u kvadriranoj mjernoj jedinici koju ima promjer zdjelice. Kako bi program dao vrijednost prethodno označenog oblika, u postavkama je kvačicom označena opcija da je tražena vrijednost površine (Area) kako bi rezultati u programu bili izbačeni u izborniku rezultati (slika 1).



Slika 1 Određivanje površine kolonije pomoću programa imageJ (žutom bojom je označena površina)

Osim mjerenja površine kolonija mjerena je površina Petrijeve zdjelice kako bi kasnije, izvan programa, džepnim računalom bila podijeljena ukupna površina kolonija s površinom Petrijeve zdjelice te navedeni omjer pomnožen sa 100 kako bi bio dobiven postotak prekrivenosti zdjelice kolonijama. Preko postotaka prekrivenosti dokumentirana je najveća razlika u rastu kolonija za svaku od 4 skupine čimbenika od dana nasađivanja do dana analize rezultata. Po svakoj metodi postizanja utjecaja čimbenika korišteno je pet Petrijevih zdjelica te je za svaku od njih određen postotak prekrivenosti, kao

i srednja vrijednost pojedine skupine tretiranih replikatnih uzoraka. Nakon dobivanja ukupno 20 srednjih vrijednosti, unutar svake od četiri skupine abiotičkih čimbenika određena je ona najveća čime je dobiven podatak o tome kojom metodom unutar svake od četiri skupine čimbenika su postignuti najpogodniji uvjeti za rast gljivice. Za analizu i tablični prikaz korišten je program Microsoft Office Excel 2019. Usporedba skupina s kontrolnom skupinom te skupina međusobno provedena je analizom varijance (one-way ANOVA) i F-testom.

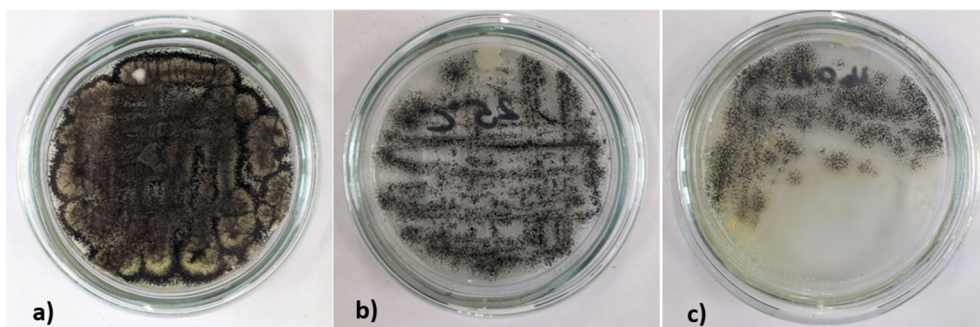
Izlaganje nepovoljnim uvjetima i detekcija vijabilnosti modelnog organizma

Nakon završenog uzgoja kolonije su izložene nepovoljnim uvjetima, visokoj i niskoj pH-vrijednosti (klorovodična kiselina množinske koncentracije 1 mol/L i natrijeva lužina 1 mol/L) te visokoj temperaturi (namještanje inkubatora na 65 °C). Kako bi nepovoljni uvjeti koji uništavaju gljivicu bili potvrđeni, izrađen je mikroskopski preparat koji je potom pogledan pod svjetlosnim mikroskopom. Preparat je napravljen na način da je mikrobiološkom ušicom u kapljicu vode, na predmetnom stakalcu, prenesen uzorak gljivice, koji je potom obojen metilenskim modrilom kako bi se utvrdilo je li stanica mrtva. Kap metilenskog modrila kapnuta je pored pokrovnice i sa suprotne strane je povučena pomoću filter papira da bi se uvukla pod pokrovnicu i prekrila organizam. Nakon izrade preparata mikroskopiranjem je utvrđeno jesu li abiotički čimbenici utjecali na životno stanje promatrane gljivice.

REZULTATI

U ovom istraživanju korišteno je 100 replikata, odnosno gljivica *A. brasiliensis* nasadena je na 100 Petrijevih zdjelica. Pet replikata činilo je kontrolnu skupinu koja nije sadržavala nikakve dodatke u čvrstoj hranjivoj podlozi te se nalazila na sobnoj temperaturi (25 °C). Ostalih 95 replikata bilo je tretirano nekom od metoda postizanja utjecaja četiri abiotička čimbenika – temperature, koncentracije otopljenih tvari, pH-vrijednosti i izloženosti svjetlosti.

Na Slici 1. prikazan je odličan, srednji i slabiji rast kolonija, odnosno prekrivenost Petrijevih zdjelica gljivicom *A. brasiliensis*. Uočeno je da je *A. brasiliensis* odlično narastao na podlozi u koju je prethodno bila dodana vodena otopina glukoze koncentracije 1 mol/L (slika 2a). Slabiji rast uočen je na podlozi koje je bila kontrolna skupina, odnosno podlozi u koju prethodno nije ništa dodavano, već je podloga bila na 25 °C (slika 2b). S druge strane, na podlozi u koju je prethodno bila dodana vodena otopina natrijeve lužine koncentracije 0,01 mol/L čija je pH-vrijednost 12, uočen je najslabiji rast gljivice (slika 2c).



Slika 2 *A. brasiliensis*, a) glukoza 1 mol/L, b) 25 °C (kontrolna skupina), c) NaOH

Analizom tablice 2 vidljivo je da je organizam najviše se proširio i narastao u uvjetima koje je pružila octena kiselina. Također, dobar utjecaj na rast imala je otopina natrijeva karbonata čiji je pripadni



postotak prekrivenosti drugi najveći i vrlo sličan onome od octene kiseline. U uvjetima s jačom kiselinom i bazom (HCl i NaOH) prekrivenost je bila slabija, a kod amonijeva klorida rezultati su skoro nepostojeći, uz postotak prekrivenosti manji od 1 %.

Tablica 2 Usporedba utjecaja pH-vrijednosti na postotak prekrivenosti površine Petrijeve zdjelice gljivicom *A. brasiliensis*

metoda postizanja čimbenika	srednja vrijednost
HCl	7,39 %
NaOH	19,60 %
CH ₃ COOH	25,40 %
Na ₂ CO ₃	24,37 %
NH ₄ Cl	0,73 %

Rezultati dobiveni statističkom obradom podataka, provođenjem ANOVA testa, pokazali su da postoji značajna statistička razlika između srednjih vrijednosti pet kiselina, baza i soli, koncentracije 0.01 mol/L, koje su bile prisutne u čvrstoj hranjivoj podlozi na koju je *A. brasiliensis* bio nasađen: HCl (klorovodična kiselina), NH₄Cl (amonijev klorid), Na₂CO₃ (natrijev karbonat), CH₃COOH (octena kiselina), NaOH (natrijeva lužina) i kontrola (25 °C), (F = 2,980; Fkrit = 2,621). Daljnjom statističkom obradom te provođenjem F-testa dobiveni su rezultati koji su pokazali da kod skupine HCl i NH₄Cl te skupine CH₃COOH i NaOH postoji značajna razlika u varijancama (tablica 3). U ostalim skupinama nije prisutna značajna razlika u utjecaju pH-vrijednosti na rast gljivice *A. brasiliensis* (tablica 3).

Tablica 3 Usporedba F-vrijednosti pojedine skupine s obzirom pH-vrijednost čvrste hranjive podloge na koju je *A. brasiliensis* bio nasađen

	uspoređene skupine s obzirom na pH-vrijednost				
	HCl - K	NH ₄ Cl - K	Na ₂ CO ₃ - K	CH ₃ COOH - K	NaOH - K
F	0,129	0,005	5,892	2,479	3,894
F critical	0,156	0,156	6,388	6,388	6,388
	uspoređene skupine s obzirom na pH-vrijednost				
	HCl - NH ₄ Cl	HCl - Na ₂ CO ₃	HCl - CH ₃ COOH	HCl - NaOH	NH ₄ Cl - Na ₂ CO ₃
F	25,378	0,022	0,052	0,033	0,001
F critical	6,388	0,156	0,156	0,156	0,156
	uspoređene skupine s obzirom na pH-vrijednost				
	NH ₄ Cl - CH ₃ COOH	NH ₄ Cl - NaOH	Na ₂ CO ₃ - CH ₃ COOH	Na ₂ CO ₃ - NaOH	CH ₃ COOH - NaOH
F	0,002	0,001	2,376	1,513	0,636
F critical	0,156	0,156	6,388	6,388	0,156

Kontrolna skupina u tablici označena je slovom K.

Analizom tablice 4 može se uočiti da su temperature od 5 °C i 65 °C potpuno nepogodne za rast i razvoj kolonija. Za razliku od njih, pogodnije temperature bile su 25 °C i 37 °C uz bolji postotak prekrivenosti pri 25 °C (tablica 4).

Tablica 4 Usporedba utjecaja temperature na postotak prekrivenosti površine Petrijeve zdjelice gljivicom *A. brasiliensis*

metoda postizanja čimbenika	srednja vrijednost
5 °C (hladnjak)	0,00%
25 °C (prostorija, na zraku)	26,68 %
37 °C (inkubator)	19,72 %
65 °C (inkubator)	0,00 %

Rezultati dobiveni statističkom obradom podataka, provođenjem F-testa, pokazali su da ne postoji značajna statistička razlika u varijancama dviju skupina s obzirom na temperaturu na kojoj je *A. brasiliensis* bio inkubiran, 25 °C i 37 °C (F = 1,492; Fkrit = 6,388).



Analizom podataka prikazanih u tablici 5 uočeno je da su najbolje uvjete za rast pružile otopine glukoze i fruktoze koncentracije 1 mol/L. Nešto lošiji rezultati postignuti su za niže koncentracije glukoze i fruktoze vrijednosti 0,01 mol/L i 0,1 mol/L, a vrlo loši za sve tri otopine alanina.

Tablica 5 Usporedba utjecaja hranjivih tvari na postotak prekrivenosti površine Petrijeve zdjelice gljivicom *A. brasiliensis*

metoda postizanja čimbenika	srednja vrijednost
glukoza 0,01mol/L	16,38 %
glukoza 0,1 mol/L	19,55 %
glukoza 1 mol/L	72,21 %
fruktoza 0,01 mol/L	15,39 %
fruktoza 0,1 mol/L	19,57 %
fruktoza 1 mol/L	68,52 %
alanin 0,01 mol/L	0,00 %
alanin 0,1 mol/L	0,00 %
alanin 1 mol/L	1,32 %

Rezultati dobiveni statističkom obradom podataka, provođenjem ANOVA testa, pokazali su da ne postoji značajna statistička razlika između srednjih vrijednosti promatranih hranjivih tvari, koncentracije 0,01 mol/L, koje su bile prisutne u čvrstoj hranjivoj podlozi na koju je *A. brasiliensis* bio nasađen: G0,01 (glukoza 0,01), F0,01 (fruktoza 0,01) i kontrola (25°C), ($F = 3,251$; $F_{krit} = 3,885$). Daljnjom statističkom obradom te provođenjem F-testa dobiveni su rezultati koji su pokazali kod svih promatranih skupina postoji značajna razlika u varijancama (tablica 6).

Tablica 6 Usporedba F-vrijednosti pojedine skupine s obzirom na vrstu i koncentraciju hranjivih tvari (0,01 mol/L) koje su bile prisutne u čvrstoj hranjivoj podlozi na koju je *A. brasiliensis* bio nasađen

	uspoređene skupine s obzirom na koncentraciju hranjivih tvari (0,01 mol/L)		
	G0,01 - K	F0,01 - K	G0,01 - F0,01
F	0,207	0,857	0,242
F critical	0,156	0,156	0,156

Kontrolna skupina u tablici označena je slovom K.

Rezultati dobiveni statističkom obradom podataka, provođenjem ANOVA testa, pokazali su da ne postoji značajna statistička razlika između srednjih vrijednosti promatranih hranjivih tvari, koncentracije 0,1 mol/L, koje su bile prisutne u čvrstoj hranjivoj podlozi na koju je *A. brasiliensis* bio nasađen: G0,1 (glukoza 0,1), F0,1 (fruktoza 0,1) i kontrola (25 °C), ($F = 0,581$; $F_{krit} = 3,885$). Daljnjom statističkom obradom te provođenjem F-testa dobiveni su rezultati koji su pokazali da kod skupine G0,1 (glukoza 0,1) i F0,1 (fruktoza 0,1) postoji značajna razlika u varijancama, a kod ostalih skupina ne postoji značajna razlika u varijancama (tablica 7).

Tablica 7 Usporedba F-vrijednosti pojedine skupine s obzirom na vrstu i koncentraciju hranjivih tvari (0,1 mol/L) koje su bile prisutne u čvrstoj hranjivoj podlozi na koju je *A. brasiliensis* bio nasađen

	uspoređene skupine s obzirom na koncentraciju hranjivih tvari (0,1 mol/L)		
	G0,1 - K	F0,1 - K	G0,1 - F0,1
F	1,335	2,657	0,502
F critical	6,388	6,388	0,156

Kontrolna skupina u tablici označena je slovom K.

Rezultati dobiveni statističkom obradom podataka, provođenjem ANOVA testa, pokazali su da postoji značajna statistička razlika između srednjih vrijednosti triju hranjivih tvari, koncentracije 1 mol/L, koje su bile prisutne u čvrstoj hranjivoj podlozi na koju je *A. brasiliensis* bio nasađen: G1 (glukoza 1), F1 (fruktoza 1), A1 (alanin 1) i kontrola (25 °C), ($F = 129,6$; $F_{krit} = 3,239$). Daljnjom statističkom obradom

te provođenjem F-testa dobiveni su rezultati koji su pokazali da kod skupine A1 (alanin 1) i kontrole (25 °C) te skupine G1 (glukoza 1) i F1 (fruktoza 1) ne postoji značajna razlika u varijancama, dok kod ostalih skupina postoji značajna razlika u varijancama (tablica 8).

Tablica 8 Usporedba F-vrijednosti pojedine skupine s obzirom na vrstu i koncentraciju hranjivih tvari (1 mol/L) koje su bile prisutne u čvrstoj hranjivoj podlozi na koju je *A. brasiliensis* bio nasađen

	uspoređene skupine s obzirom na koncentraciju hranjivih tvari (1 mol/L)					
	G1 - K	F1 - K	A1 - K	G1 - F1	G1 - A1	F1 - A1
F	0,676	0,375	0,011	1,800	60,06	33,36
F critical	0,156	0,156	0,156	6,388	6,388	6,388

Kontrolna skupina u tablici označena je slovom K.

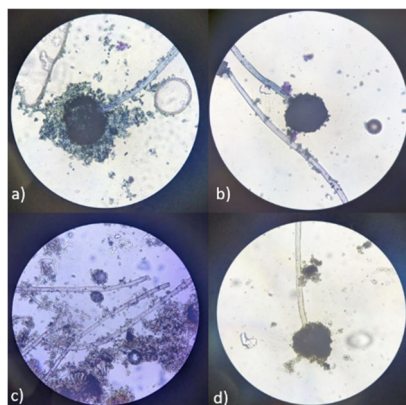
Analizom podataka prikazanih u tablici 9 uočeno je da svjetlost znatno više pogoduje rastu gljivica nego deficit svjetlosti što se može vidjeti iz značajno različitih postotaka prekrivenosti površina.

Tablica 9 Usporedba utjecaja svjetlosti na postotak prekrivenosti površine Petrijeve zdjelice gljivicom *A. brasiliensis*

metoda postizanja čimbenika	srednja vrijednost
svjetlost (osvijetljena lokacija)	47,08 %
deficit svjetlosti (zatvorena kutija)	7,5 %

Rezultati dobiveni statističkom obradom podataka, provođenjem F-testa, pokazali su da postoji značajna statistička razlika u varijancama dviju skupina prema količini dostupne svjetlosti kojoj je *A. brasiliensis* bio izložen DS (deficit svjetlosti) i kontrola (svjetlost), ($F = 13,76$; $F_{krit} = 6,388$).

Na slici 3 prikazani su rezultati bojanja gljivice metilenskim modrilom. Vidljivo je da su se stanice *A. brasiliensis* na preparatu koji je pripremljen iz kolonije kontrolne skupine (25 °C, bez dodataka u hranjivoj podlozi, nakon 7 dana) obojale (slika 3a). Također, vidi se da su se obojale i stanice gljivice na preparatu koji je pripremljen iz kolonije koja je bila inkubirana 24 sata na 65 °C (slika 3b). S druge strane, uočeno je da su se stanice gljivice na preparatu koji je pripremljen iz originalne kolonije koja je čuvana u hladnjaku, nisu obojale (slika 3c). Također, prikazana je nebojana spora gljivice *A. brasiliensis* na preparatu koji je pripremljen iz kolonije kontrolne skupine u kapljici vode (slika 3d).



Slika 3 *A. brasiliensis*, a) mrtva spora iznutra obojena metilenskim modrilom (kontrolna skupina 25 °C), b) mrtva spora iznutra obojena metilenskim modrilom (skupina inkubirana na 65 °C), c) živa spora nebojena iznutra metilenskim modrilom (originalna skupina čuvana u hladnjaku), d) *A. brasiliensis* - nebojana spora

RASPRAVA

Rezultati ovog istraživanja pokazali su da gljivica *A. brasiliensis* jako dobro raste u uvjetima visokih koncentracija šećera glukoze i fruktoze što je u skladu s prethodnim istraživanjima o utjecaju dodataka



hranjivih tvari, odnosno šećera na rast kolonija (Ijadpanahsaravi i sur., 2021). Ono što se kosi s istraživanjima je utjecaj dodatka aminokiseline alanina u hranjivu podlogu jer u ovome istraživanju alanin ne samo da nije imao pozitivan utjecaj na rast, već je imao lošije rezultate postotaka prekrivenosti od običnog kontrolnog uzorka. Naime Ijadpanahsaravi i sur. (2021) pokazali su da dodatak aminokiseline alanina ima pozitivan utjecaj na rast gljivice, što je u suprotnosti s rezultatima dobivenim ovim istraživanjem. Do navedenog odstupanja vjerojatno je došlo zbog starosti alanina pa je to mogući razlog dobivenih rezultata. Sukladno navedenom, pretpostavka o pozitivnom utjecaju hranjivih tvari, šećera i aminokiselina, djelomično je potvrđena.

Nadalje, ovo istraživanje pokazalo je da pri niskim temperaturama, poput 5 °C i visokim temperaturama, poput 65 °C *A. brasiliensis* ne može rasti i razvijati se, a da mu je optimalan raspon temperature od 25 °C do 40 °C, što je u skladu s dosadašnjim istraživanjima (Mohammed, 2019). Uz to bolji rezultati dobiveni su pri 25 °C što se ne poklapa s nekim istraživanjima (d'Halewyn i Chevalier, 2023) zato što se u tim istraživanjima navodi da je specifično 37 °C temperatura za dobru, odnosno poželjnu stopu rasta. Dakle, hipoteza je djelomično potvrđena. Također, pokazano je da gljivica na svjetlosti znatno bolje raste od one u području deficita svjetlosti što se poklapa s prethodnim istraživanjima (Fanelli i sur., 2012) te potvrđuje postavljenu hipotezu.

Rezultati o utjecaju pH-vrijednosti na rast organizma u ovome istraživanju pokazali su da *A. brasiliensis* dobro raste i u blago kiselom i u blago lužnatom području pH-vrijednosti što je u skladu s dosadašnjim istraživanjima (Rinu i Pandey, 2010). Jedina iznimka u istraživanju, gdje je došlo do pogreške, je slučaj dodatka amonijeva klorida gdje gotovo ništa nije naraslo u Petrijevoj zdjelici, što je potpuno neočekivano jer je amonijev klorid sol koja bi trebala zadovoljavati uvjete pH-vrijednosti koja odgovara rasponu za optimalan rast kolonija (Wang i sur., 2017). Razlog tomu je moguće neadekvatno nanošenje originalnog uzorka gljivice *A. brasiliensis* na čvrstu hranjivu podlogu. Sukladno navedenom postavljena hipoteza djelomično je potvrđena.

Analizom mikroskopskih preparata uočeno je da je došlo do pogreške pri bojenju metilenskim modrilom. Žive stanice imaju sposobnost obezbojenja metilenskog modrila, a mrtve nemaju (Karaghool, 2021), što je djelomično u suprotnosti s dobivenim rezultatima. Bojenjem kontrolne skupine došlo je do obojenja stanice što znači da je ona mrtva što se može objasniti činjenicom da je bojana tek tjedan dana nakon nasađivanja pa je u međuvremenu umrla. Također, uzorci nakon inkubiranja na 65 °C 24 sata bili su obojeni što implicira da ih je temperatura ubila, čime je hipoteza potvrđena. Do problema je došlo pri provjeri vijabilnosti uzorka gljivice uronjene u kap klorovodične kiseline ($c = 1 \text{ mol/L}$), čija pH-vrijednost iznosi 0, te drugog uzorka gljivice uronjenog u kap natrijeve lužine ($c = 1 \text{ mol/L}$), čija pH-vrijednost iznosi 14. Uzorci dobiveni mikroskopiranjem nisu bili obojani što implicira da je organizam živ jer nije obojen, međutim taj podatak ne može se uzeti kao validan. Zbog vjerojatne reakcije kiseline, odnosno lužine s metilenskim modrilom sam sastav molekula bojila se promijenio i izgubio svojstva prema kojima se dosad definirala vijabilnost organizama, stoga se sa sigurnošću ne može definirati životno stanje uzoraka umočenih u klorovodičnu kiselinu i natrijevu lužinu. Može se samo pretpostaviti da je uzorak gljivice ubijen zato što su pH-vrijednosti 0 i 14 izvan granice maksimuma i u kiselom i u lužnatome mediju, kako je navedeno u literaturi (d'Halewyn i sur., 2023).



Naposljetku, potencijalni načini za poboljšanje rezultata istraživanja bili bi sterilniji uvjeti, preciznija i pouzdanija aparatura, svježije kemikalije, primjerice alanin, te preciznije nanošenje uzorka na hranjivu podlogu, na primjer u slučaju amonijeva klorida. Pogreške pri mjerenjima uzrokovane su većinom zbog manjka resursa i sterilnih uvjeta krucijalnih za ovo istraživanje, no pogreška mjerenja bila je ključna za razumijevanje rezultata u ovom istraživanju, stoga je važan element planiranja i provedbe istraživanja. Također, kako bi se dobili precizniji statistički podaci istraživanje bi trebalo biti provedeno na većem broju uzoraka.

ZAKLJUČCI

Iz ovog istraživanja može se zaključiti sljedeće:

- rast gljivice *A. brasiliensis* najbolji je u srednje kiselom mediju, kao što je octena kiselina,
- visoke i niske temperature ne pogoduju rastu gljivice *A. brasiliensis*,
- hranjive tvari, fruktoza i glukoza u višim koncentracijama, pozitivno utječu na rast gljivice,
- deficit svjetlosti ne pogoduje stopi rasta gljivice, dok prisutnost svjetlosti pozitivno utječe na rast,
- dokazivanje vijabilnosti gljivice bojenjem metilenskim modrilom nije moguće u jako kiselom i lužnatom mediju.

LITERATURA

- Abramoff M., Magalhães P., Ram S. 2004. Image processing with ImageJ. *Biophotonics International* 11: 36-42.
- Anderson J. G., Smith J.E. 1971. The production of conidiophores and conidia by newly germinated conidia of *Aspergillus niger* (microcycle conidiation). *The Journal of General Microbiology* 69: 185-97.
- d'Halewyn M., Chevalier P. 2023. *Aspergillus niger*. Institut national de santé publique du Québec. Online URL: <https://www.inspq.qc.ca/en/moulds/fact-sheets/aspergillus-niger> Pristupljeno 21.1.2024.
- Domingues L., Lima N., Teixeira J. A. 2005. *Aspergillus niger* β -galactosidase production by yeast in a continuous high cell density reactor. *Process Biochemistry* 40: 1151-1154.
- Fanelli F., Schmidt-Heydt M., Haidukowski M., Geisen R., Logrieco A., Mulè G. 2012. Influence of light on growth, conidiation and the mutual regulation of fumonisin B2 and ochratoxin A biosynthesis by *Aspergillus niger*. *World Mycotoxin Journal* 5: 169-176.
- Gouka R., Punt P., van den Hondel C. 1997. Efficient production of secreted proteins by *Aspergillus*: progress, limitations and prospects. *Appl Microbiol Biotechnol* 47: 1-11.
- Ijadpanahsaravi M., Punt M., Wösten H.A.B., Teertstra W.R. 2021. Minimal nutrient requirements for induction of germination of *Aspergillus niger* conidia. *Fungal Biology* 125: 231-238.
- Karaghool H. 2021. Biodecolorization of methylene blue using *Aspergillus* consortium. *IOP Conference Series Earth and Environmental Science* 779: 012111-10.
- Kumaravel S., Hema R., Lakshmi R. 2010. Production of polyhydroxybutyrate (bioplastic) and its biodegradation by *Pseudomonas lemoignei* and *Aspergillus niger*. *Journal of Chemistry*, 7: 1-2.
- Mohammed H.D. 2019. Culturing and growth requirement of *Aspergillus niger*. *International Journal of Scientific & Engineering Research* 10: 1128-1137.
- Mojsov K.D. 2016. *Aspergillus* Enzymes for Food Industries. *New and Future Developments in Microbial Biotechnology and Bioengineering*, Chapter 16: 215-222.
- Oshero N., May G.S. 2001. The molecular mechanisms of conidial germination. *FEMS Microbiology Letters* 199: 153-160.
- Rinu K., Pandey A. 2010. Temperature-dependent phosphate solubilization by cold- and pH-tolerant species of *Aspergillus* isolated from Himalayan soil. *Mycoscience* 51: 263-271.
- Varga J., Kocsubé S., Tóth B., Frisvad J.C., Perrone G., Susca A., Meijer M., Samson R.A. 2007. *Aspergillus brasiliensis* sp. nov., a biseriate black *Aspergillus* species with world-wide distribution. *Int J Syst Evol Microbiol* 57: 1925-1932.
- Vinck A., Terlouw M., Pestman W.R., Martens E.P., Ram A.F., van den Hondel C.A., Wösten H.A. 2005. Hyphal differentiation in the exploring mycelium of *Aspergillus niger*. *Mol Microbiol* 58: 693-9.
- Wang B., Li H., Zhu L., Tan F., Li Y., Zhang L., Ding Z., Shi G. 2017. High-efficient production of citric acid by *Aspergillus niger* from high concentration of substrate based on the staged-addition glucoamylase strategy. *Bioprocess Biosyst* 40: 891-899.

ORNITOFAUNA U PERIVOJU VLADIMIRA NAZORA U ZADRU

Jakov Lisica, 4. razred

Gimnazija Vladimira Nazora, Zadar

Mentor: Marija Nižić

SAŽETAK

Zbog sve brže urbanizacije potreba za razumijevanjem odnosa između organizama i urbanih staništa postaje sve značajnija. Urbana staništa razlikuju se od prirodnih – klimom, razinom onečišćenja, sastavom vrsta, izvorima hrane. Urbanizacija favorizira vrste koje su generalisti, one se uspješnije prilagođavaju urbanoj sredini. Od svibnja 2023. do veljače 2024. provedeno je istraživanje ornitofaune u Perivoju Vladimira Nazora u Zadru. Cilj je bio utvrditi sastav i raznolikost ornitofaune i pratiti životne aktivnosti ptica kroz godišnja doba. Perivoj je posjećivan dva do tri puta mjesečno. Tijekom svakog posjeta običen je cijeli perivoj te su zabilježene vrste ptica, njihov broj i ponašanje. Zabilježeno je ukupno 29 vrsta ptica od čega je 15 gnjezdarica. Među gnjezdaricama dominantne su bile one koje se gnijezde u krošnjama. Dominantne gnjezdarice u parku su crnokapa grmuša, kos, zeba, velika sjenica i siva vrana, a ako se uzmu u obzir i ptice koje se gnijezde u bližjoj okolici onda i pitomi golub. Tijekom ljetnog razdoblja uslijed visokih temperatura zraka i turističkog pritiska smanjuje se aktivnost ptica. U sezoni gniježđenja, a također i zimi, prema tipu prehrane najzastupljeniji su omnivori. Jesensko i zimsko razdoblje obilježeno je povećanjem broja vrsta i ukupnim povećanjem broja jedinki. Dominantne vrste u zimskom periodu bile su gradski golub, siva vrana, crvendač, velika sjenica i čavka. Ornitofauna u Perivoju Vladimira Nazora svojim sastavom i raznolikošću ne odstupa značajnije od drugih parkova na području Republike Hrvatska, u Perivoju Vladimira Nazora prevladavaju široko rasprostranjene vrste uobičajene u urbanim staništima.

Ključne riječi: urbanizacija; gnjezdarice; omnivori

UVOD

Ornitofauna Hrvatske sastoji se od 385 vrsta ptica, od toga 285 vrsta redovito obitava u Hrvatskoj, a ostalo su rijetke, slučajne, neredovite ili izumrle vrste (Tutiš i sur., 2013). Samo su stanarice prisutne u Hrvatskoj tijekom cijele godine. Neke vrste u Hrvatsku dolaze u proljeće radi gniježđenja, a u jesen odlaze zimovati na jug. Druge ovdje dolaze svake jeseni iz sjevernih područja kako bi provele zimu u toplijem podneblju ili boljim hranilištima. Treće – preletnice, posjećuju Hrvatsku samo u proljeće i jesen na putu između sjevernih gnjezdilišta i južnih zimovališta (Heinzel i sur., 1997).

Ptice su socijalne životinje, komuniciraju pomoću vizualnih i zvučnih signala. U njihovom glasanju razlikujemo pjev i zov. Pjev je složeno i duže, melodično glasanje, povezano s označavanjem teritorija, udvaranjem i parenjem. Zov je kratko glasanje, predstavlja uobičajeni način ptičjeg govora, njime uzbuđuju, upozoravaju ili jednostavno održavaju kontakt (Heinzel i sur., 1997).

Sve vrste ptica nesu jaja. Sigurnost jajima i mladuncima daje gnijezdo. Neke se vrste kao npr. velika sjenica, vrabac i čvorak gnijezde u dupljama pa govorimo o pticama dupljašicama. Slavuj se gnijezdi na tlu, a kos na različitim visinama – blizu tla, u grmu, na stablu. Ptice koje žive uz ljude grade svoja gnijezda na zidovima zgrada, na gredama, crkvenim tornjevima i dr. (Dolenec, 2021).

Ptice su sposobne živjeti i hraniti se u većini kopnenih staništa. Let im omogućuje vrlo djelotvorno traženje različitih vrsta hrane. U odnosu na tip prehrane, ptice se dijele na generaliste, koji jedu raznoliku hranu (omnivori) i specijaliste, koji jedu samo određenu hranu. Među specijalistima razlikujemo insektivore – hrane se kukcima, granivore – hrane se plodovima i sjemenkama i karnivore koji se hrane mesom. U divljini, ptice pokazuju širok raspon fizičkih, fizioloških i bihevioralnih prilagodbi koje im omogućuju pronalaženje i iskorištavanje potencijalne hrane (Čulina, 2008).



Pod utjecajem čovjeka prirodna staništa danas ubrzano nestaju. Više od 50 % površine Zemlje pod utjecajem je ljudskog djelovanja, udio urbanog u ukupnom je stanovništvu svijeta 2018. godine iznosio 55,3 %, a predviđa se rast na 68 % do 2050. godine (Dadić i sur., 2020). Urbana staništa uvelike se razlikuju od prirodnih. Karakterizira ih fragmentiranost i jednoličnost, drukčija mikroklima, viša razina onečišćenja, posebno kemijskog, zvučnog i svjetlosnog. Sastav vrsta je drukčiji – broj vrsta je manji, a njihova je gustoća veća. Dominira nekoliko vrsta koje su se dobro prilagodile urbanom okolišu i postižu veliku gustoću populacije (Evans i sur., 2009). U urbanim područjima prisutan je manjak prirodne hrane, ali su zato prisutni antropogeni izvori hrane (otpad, hrana za kućne ljubimce). Urbane se vrste suočavaju s brojnim čimbenicima koji otežavaju njihovo preživljavanje. Neki od tih čimbenika su gradska buka, visoka gustoća populacija drugih vrsta, kemijsko onečišćenje, bolesti, gubitak staništa, nedostatak skloništa, velik broj pasa i mačaka. Takvi i slični čimbenici dovode do smanjenog reproduktivnog uspjeha, napuštanja gnijezda ili mladih, nemogućnosti hranjenja mladih u gnijezdu i stradavanja u sudarima (Chace i Walsh, 2004).

Većina ptica koje naseljavaju urbana područja imaju posebne značajke. Koliko će određene vrste ptica biti uspješne u urbanim sredinama ovisi o njihovoj prehrani, stupnju društvenosti i preferenciji mjesta za gniježđenje. Urbanizacija favorizira vrste koje su socijalne i gnijezde se u kolonijama, zatim stanarice, omnivorne ili granivorne vrste te vrste koje se gnijezde u šuplinama. Vrste koje se gnijezde na tlu uglavnom su odsutne. Vrste koje su generalisti mogu preživljavati i uspješno se razmnožavati u širokom spektru ekoloških čimbenika, zauzimati različita staništa te se tako prilagoditi životu u urbanoj sredini. Ovakve vrste često su bolji i spretniji kompetitori u zadržavanju mjesta za gniježđenje i pronalaženju izvora hrane, a također se bolje snalaze i u periodima kad hrane nema (Moller, 2015). Tri su se vrste osobito uspješno adaptirale na gradske ekosustave kolonizirajući ih diljem svijeta. To su vrabac, gradski golub i čvorak (Čulina, 2008).

Zbog sve brže urbanizacije potreba za razumijevanjem odnosa između organizama i urbanih staništa postaje sve značajnija. Osim toga, podaci o promjenama u brojnosti ptica i njihovoj rasprostranjenosti mogu se koristiti za praćenje promjena u okolišu koje uključuju onečišćenja, klimatske promjene, degradaciju staništa. Gradski parkovi – te zelene oaze, najheterogenije su površine urbanih ekosustava. Bogatstvo i raznolikost ptica u parkovima ovise o lokalnim obilježjima parka ali i o obilježjima šireg područja. Parkovi su važni kao staništa za ptice tj. prostor za život, zaklon, mjesto za prehranu i gniježđenje. S obzirom na to da se ptice nalaze pri vrhu hranidbenih lanaca, one su dobar indikator općeg stanja svijeta u kome živimo. Nestanak ptica siguran je znak da se nešto loše događa u našem okolišu i da smo dužni poduzeti različite aktivnosti kako bi to zaustavili (Tutiš i sur., 2013).

Ovim istraživanjem želio sam dati svoj doprinos očuvanju i zaštiti ptica - utvrditi stanje ornitofaune u Perivoju te putem prezentacije svojih rezultata zainteresirati i potaknuti učenike moje škole da kroz proučavanje bioraznolikosti ovog obližnjeg perivoja upoznaju osnovne biološke zakonitosti, posljedice različitih poremećaja u biosferi i važnost zaštite biološke raznolikosti na Zemlji.

Istraživanja gradskih parkova provedena su većinom na području kontinentalne Hrvatske. Čulina (2008) provodi istraživanje ornitofaune četiri zagrebačka parka – Park V. Majera, Park Ribnjak, Trg dr. F. Tuđmana i parkovi kompleksa Zrinjevac, a Kralj i sur. (2015) istražuju ptice gnjezdarice Vrbanićevog perivoja u Karlovcu.

Cilj rada bio je:

- ☞ utvrditi raznolikost ornitofaune u Perivoju Vladimira Nazora
- ☞ utvrditi brojnost ptica tijekom čitave godine, a osobito za gniježđenja i zimovanja
- ☞ pratiti životne aktivnosti ptica kroz sva godišnja doba.

U skladu s ciljevima istraživanja postavljene su hipoteze:

- ☞ U perivoju prevladavaju široko rasprostranjene vrste, uobičajene za urbane sredine.
- ☞ Među prisutnim vrstama najzastupljenije su omnivorne vrste i vrste koje se gnijezde u dupljama ili krošnjama.
- ☞ Najveći broj vrsta bit će prisutan u proljeće tj. tijekom razdoblja gniježđenja.

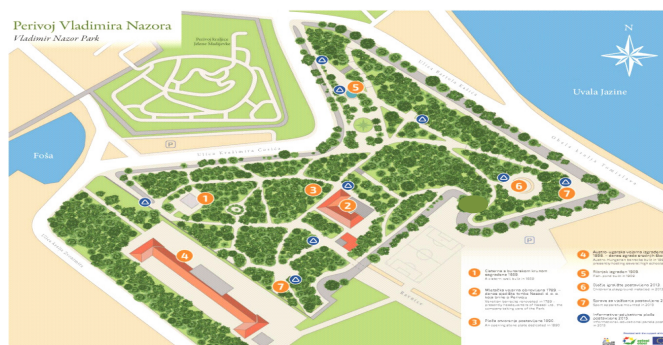
METODE

Područje istraživanja

Perivoj Vladimira Nazora smješten je neposredno uz staru gradsku jezgru na mjestu nekadašnjeg bastiona Forte (slika 1). Podigao ga je između 1888. i 1890. godine tadašnji vojni namjesnik za Dalmaciju Dragutin Blažeković. 1968. godine park dobiva status spomenika parkovne arhitekture (Petricioli, 2011).

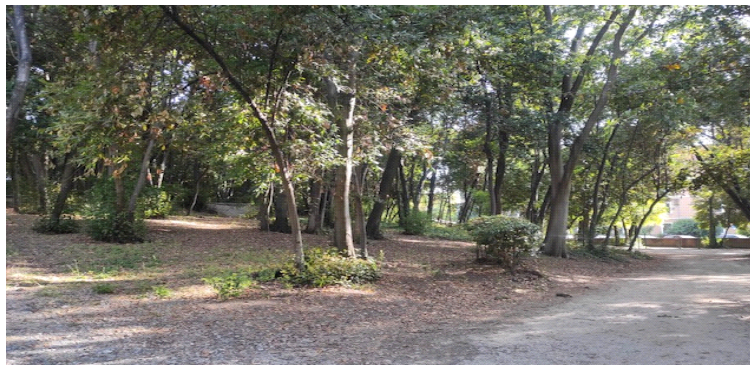
Ukupna površina perivoja iznosi 4,3 ha, od toga 3 ha čine zelene površine, a staze zauzimaju 1,3 ha.

Perivoj je pod utjecajem mediteranske klime koju karakteriziraju blage i kratke zime te suha i vruća ljeta. Srednje siječnjaške temperature iznose 7,2°C, a srednje srpanjske 25°C (DHMZ, 2021). Najviše padalina ima u jesenskom i zimskom razdoblju - tijekom 10., 11. i 12. mjeseca, a najmanje u ljetnom razdoblju. Dominantni vjetrovi za Zadar su jugo, bura i maestral.



Slika 1 Perivoj Vladimira Nazora (autor: Bačić M., 2015.)

Perivoj Vladimira Nazora postavljen je na staništu šume hrasta crnike i crnog jasena (as. *Orno-Quercetum ilicis*), te zadovoljava suvremene hortikulture trendove koji teže očuvati autohtono obilježje javnih prostora. Drugim riječima, temelj za postavu perivojnih sastojina čine autohtoni elementi kao što su crnika (*Quercus ilex* L.), lovor (*Laurus nobilis* L.), tršljika (*Rhamnus alaternus* L.), lemprika (*Viburnum tinus* L.) i dr. Osnovni ton čitavoj perivojnoj postavi daju stabla (slika 2). Uz spomenute vrste dolaze i čempres (*Cupressus sempervirens* L.), alepski bor (*Pinus halepensis* Mill.), pinija (*Pinus pinea* L.), koščela (*Celtis australis* L.) i dr. Egzotične biljke prisutne su samo mjestimično radi osvježenja i obogaćenja domaćih biljnih sastojina (Bautović, 1983). Perivoj je mjesto okupljanja i zadržavanja brojnih sportaša i rekreativaca te veoma frekventna pješačka komunikacija.



Slika 2 Dendroflora u Perivoju Vladimira Nazora (snimio J. Lisica, 2023)

Rad na terenu

Ptice su u Perivoju Vladimira Nazora istraživane u razdoblju od svibnja 2023. do veljače 2024. Perivoj je posjećivan dva do tri puta mjesečno, ukupno 20 puta (tablica 1).

Tablica 1. Terenski izlasci u perivoj u 2023. i 2024. godini

Mjesec	V.	VI.	VII.	VIII.	IX.	X.	XI.	XII.	I.	UKUPNO
Broj izlazaka	3	3	2	2	2	2	2	2	2	20

Terenski izlasci obavljani su češće u popodnevnim satima tijekom mirnog, sunčanog vremena, ali ponekad i tijekom oblačnih te vrlo rijetko i za kišovitih dana. Vrijeme trajanja svakog posjeta variralo je između 60 i 90 minuta. Tijekom svakog posjeta običen je cijeli perivoj te je na kartu ucrtan položaj ptica i zabilježeno je njihovo ponašanje. Ptice su bilježene audio-vizualnom metodom. Za promatranje ptica korišten je dalekozor (Swarovski 10x42), a vrste su determinirane pomoću Collinsovog džepnog vodiča – Ptice Hrvatske i Europe (Heinzel i sur., 1997) i priručnika za učenike – Ptice tu oko nas (Dolenec, 2021). Ovaj priručnik sadrži zvučne zapise glasanja ptica koji su bili od velike pomoći.

Ptice su klasificirane s obzirom na tip prehrane (omnivori, insektivori, granivori, karnivori), a određen je i status vrste s obzirom na zadržavanje na području parka. Ptice su podijeljene na gnjezdarice, zimovalice i preletnice.

Dominantnost vrsta izračunata je kao postotni udio pojedine vrste. Dominantnost neke vrste (ili skupine) na određenom staništu izračunava se tako da se ukupan broj jedinki jedne vrste (skupine) na nekom staništu podijeli sa ukupnim brojem jedinki na tom staništu, a kvocijent se pomnoži sa 100 (Durbešić, 1988):

$$D = n / N \times 100$$

D = dominantnost u %

n = broj jedinki jedne vrste (skupine)

N = ukupan broj jedinki

Raznolikost vrsta izračunata je pomoću Shannon-Wiener-ovog indeksa raznolikosti:

$$H' = -\sum (p_i) \times \ln(p_i)$$

H' = raznolikost vrsta

p_i = udio jedinki pojedine vrste u ukupnom broju jedinki svih vrsta

U praktičnim istraživanjima zajednica indeks varira od 0 do 5, pritom se vrijednosti najčešće kreću između 1,5 i 3,5. Veća vrijednost indeksa znači i veću raznolikost zajednice (Šolić, 2016).

Izračunata je i gustoća svih jedinki. Izračunata je kao zbroj gustoća svakog pojedinog posjeta podijeljen s brojem posjeta.



REZULTATI

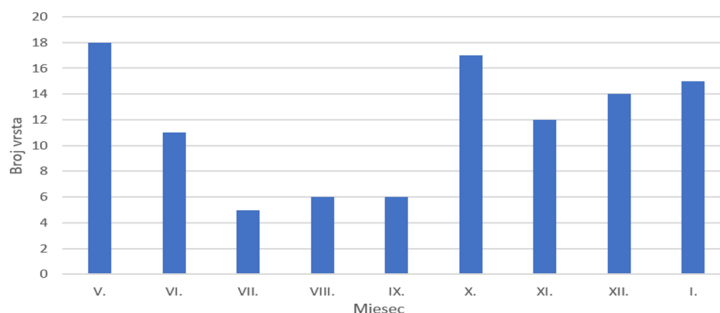
Na području Perivoja Vladimira Nazora od svibnja 2023. do veljače 2024. godine zabilježeno je ukupno 29 vrsta. Tablica 2 sadrži popis zabilježenih vrsta. Hrvatsko i latinsko nazivlje kao i redoslijed vrsta u popisu navedeni su prema Heinzel i sur (1997).

Tablica 2 Klasifikacija vrsta s obzirom na status, prehranu, supstrat na kojem dolaze do hrane te mjesto na kojem postavljaju gnijezdo (G – gnjezdarike, P – preletnice, Z – zimovalice // O – omnivor, I – insektivor, K – karnivor, S – granivor // T – tlo, Kr – krošnja, Gr – grmlje, D – duplja, Zg – zgrade)

LATINSKI NAZIV VRSTE	HRVATSKI NAZIV VRSTE	STATUS	HRANA	SUPSTRAT ZA GNIJEŽĐENJE
<i>Ardea cinerea</i> Linnaeus, 1758	siva čaplja	P	K	
<i>Accipiter nisus</i> (Linnaeus, 1758)	kobac	P	K	
<i>Falco tinnunculus</i> Linnaeus, 1758	vjetruša	G	K	Kr
<i>Larus michahellis</i> Naumann, 1840	galeb klaukavac	P	O	
<i>Larus ridibundus</i> Linnaeus, 1766	riječni galeb	P	O	
<i>Columba livia domestica</i> Gmelin, 1789	gradski golub	G	O	Zg
<i>Streptopelia decaocto</i> (Frivaldszky, 1838)	gugutka	G	S	Zg
<i>Otus scops</i> (Linnaeus, 1758)	ćuk	G	K	D
<i>Apus pallidus</i> (Shelley, 1870)	smeđa čiopa	P	I	
<i>Motacilla alba</i> Linnaeus, 1758	bijela pastirica	P	I	
<i>Erithacus rubecula</i> (Linnaeus, 1758)	crvendač	P,Z	I	
<i>Turdus merula</i> Linnaeus, 1758	kos	G	O	Gr
<i>Sylvia atricapilla</i> (Linnaeus, 1758)	crnokapa grmuša	G	I	Gr
<i>Hippolaris icterina</i> (Vieillot, 1817)	žuti voljić	P	I	
<i>Phylloscopus collybita</i> Vieillot, 1817	zviždak	P	I	
<i>Regulus regulus</i> (Linnaeus, 1758)	žutoglavi kraljić	P	I	
<i>Parus major</i> Linnaeus, 1758	velika sjenica	G	O	D
<i>Parus caeruleus</i> Linnaeus, 1758	plavetna sjenica	Z	O	
<i>Troglodytes troglodytes</i> (Linnaeus, 1758)	palčić	Z	I	
<i>Garrulus glandarius</i> (Linnaeus, 1758)	šojka	P	O	
<i>Corvus cornix</i> (Linnaeus, 1758)	siva vrana	G	O	Kr
<i>Corvus corax</i> Linnaeus, 1758	gavran	G	O	Kr
<i>Corvus monedula</i> Linnaeus, 1758	čavka	G	O	Kr
<i>Sturnus vulgaris</i> Linnaeus, 1758	čvorak	P	O	
<i>Passer domesticus</i> (Linnaeus, 1758)	vrabac	G	O	Zg
<i>Fringilla coelebs</i> Linnaeus, 1758	zeba	G	S	Kr
<i>Serinus serinus</i> (Linnaeus, 1766)	žutarica	G	S	Kr
<i>Carduelis carduelis</i> (Linnaeus, 1758)	češljugar	G	S	Kr
<i>Carduelis chloris</i> (Linnaeus, 1758)	zelendur	G	S	Gr

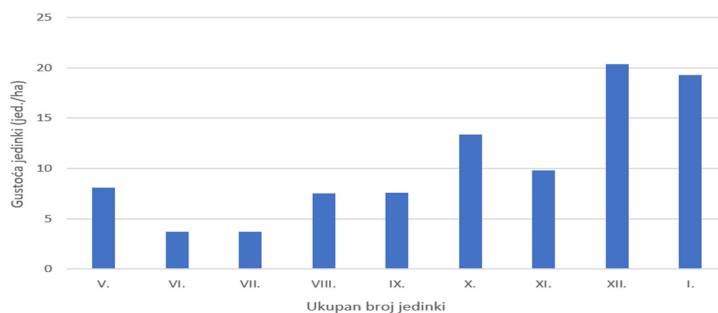
Prisutnost ptica tijekom različitih sezona

Najveći broj vrsta zabilježen je u svibnju i listopadu, a najmanji u srpnju i kolovozu (slika 3).



Slika 3 Broj vrsta uočenih u parku od svibnja 2023. do veljače 2024. godine

Prosječna gustoća svih jedinki bila je najveća u prosincu, a najmanja u lipnju i srpnju (slika 4).

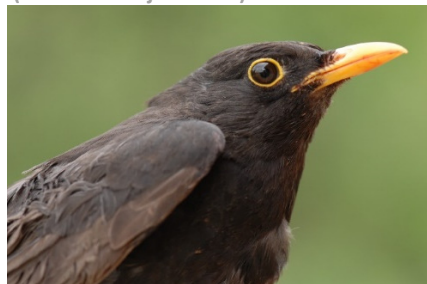
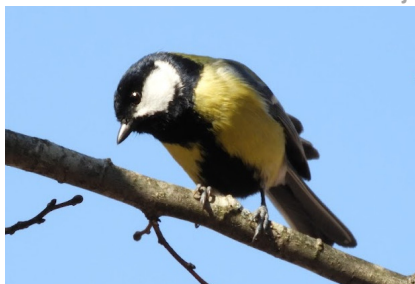


Slika 4 Gustoća ptica u parku od svibnja 2023. do veljače 2024. godine

U proljetnom razdoblju, tijekom svibnja i lipnja, zabilježeno je ukupno 18 vrsta. To su bile crnokapa grmuša (slika 5), čavka, smeđa čioipa, kos (slika 6), galeb klaukavac, pitomi golub, ćuk, gugutka, siva vrana, zeba, vrabac, lastavica, zelendur, crvendać, crnoglava muharica, velika sjenica (slika 6), žutarica i češljugar. Uočena su 3 gnijezda sive vrane u visokim krošnjama, a u grmlju 2 gnijezda kosa. Pojedine vrste su u preletu – galebovi (desetak jedinki) i čiope (15-20 jedinki), čuje se pjev mužjaka kosa, crnokape grmuše, gugutke, velike sjenice, zelendura, zebe.



Slika 5 Crnokapa grmuša, *Sylvia atricapilla* – gnjezdarija je grmlja i niskog drveća, 3. svibnja zabilježen je pjev trojice mužjaka (snimila S. Vujčić-Karlo)



Slika 6 Velika sjenica, *Parus major* (lijevo) i kos, *Turdus merula* (desno) – promatrani su tijekom cijele godine. Velika sjenica gnijezdi se u rupama i pukotinama starih stabala ili zidovima okolnih kuća, a kos u visokom grmlju ili niskom drveću. 3. svibnja pronađena su 2 gnijezda kosa i zabilježeno je glasanje mužjaka velike sjenice (snimio G. Lukač i S. Vujčić-Karlo)

Ljetno razdoblje obilježavaju visoke temperature i učestala prisutnost većeg broja ljudi u parku. Ptice su sada slabije aktivne, tijekom šetnje kroz park ne čuju se pjevovi i zovovi. Ptice se rashlađuju kraj fontane ili se skrivaju u krošnjama. Zabilježeno je svega 9 vrsta i to: ćuk, crnokapa grmuša, siva vrana, galeb klaukavac, kos, smeđa čioipa, crvendać, pitomi golub (slika 7) i velika sjenica. Čiope i galebovi redovito prelijeću park.



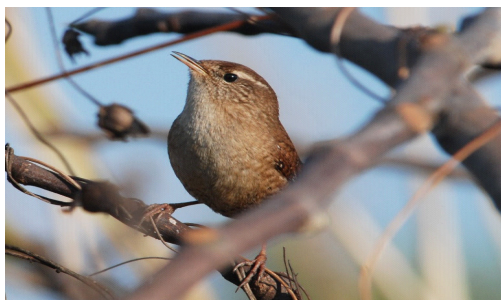
Slika 7. Pitomi golub, *Columba livia* f. *domestica* – sreće se redovito u parku kod vodoskoka gdje pije vodu ili traži hranu po okolnim stazama i putovima. Gnijezdi se na krovovima ili rupama i zidovima okolnih zgrada i kuća (snimio G. Lukač).

Tijekom jesenskog razdoblja zabilježeno je ukupno 17 vrsta. Uz vrste prisutne u proljetnom i ljetnom razdoblju uočene su još i ove: plavetna sjenica, zviždak, vjetruša, palčić, sivi popić, zeba (slika 8), čavka, bijela pastirica (slika 8), žutoglavi kraljić i krstokljun. 17. listopada uočena je siva čaplja na preletu iznad parka. Više desetaka sivih vrana okuplja se i noći na visokom drveću.



Slika 8 Bijela pastirica, *Motacilla alba* (lijevo) – preletnica, zabilježena je tijekom jesenske selidbe u listopadu i prosincu, a zeba, *Fringilla coelebs* (desno) se susreće tijekom cijele godine – u sezoni gniježđenja zabilježena su 3 para, zimi je prisutna u manjem broju (snimio N. Bušljeta).

Tijekom terenskih izlazaka u prosincu i siječnju zabilježeno je 16 vrsta – crnokapa grmuša, čavka (Slika 10), kos, galeb klaukavac, riječni galeb, pitomi golub, siva vrana (Slika 10), zeba (Slika 8), velika sjenica, šumski zviždak, crvendać, kobac, plavetna sjenica, palčić (slika 9), žutoglavi kraljić i bijela pastirica (Slika 8). 23. siječnja kobac je u preletu iznad parka, a u krošnjama pjevaju crvendaći.



Slika 9 Palčić, *Troglodytes troglodytes* – palčić je malobrojna zimovalica u gustom grmlju, zabilježen je u listopadu i prosincu. Jedna je od najmanjih europskih ptica pjevača (snimila D. Kitonić).



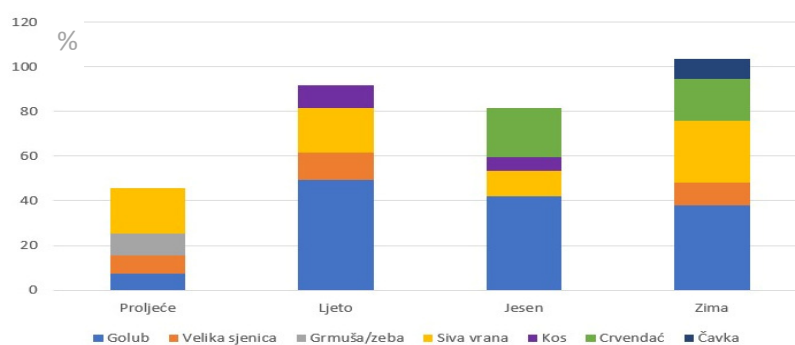
Slika 10 Čavka, *Corvus monedula* L. (lijevo) i siva vrana, *Corvus cornix* L. (desno). Siva vrana je gnjezdarica okolnog drveća u parku, ali i vrsta koja noći na visokom drveću. Posebno je to uočljivo tijekom jesenskih i zimskih mjeseci kada se okuplja po nekoliko stotina jedinki. Čavka je malobrojna gnjezdarica rupa i pukotina visokog drveća. Tijekom jeseni i zime s vranama noći na visokom drveću (snimio M. Kern).



Slika 11 Crvendać, *Erithacus rubecula* – preletnica je i zimovalica, od listopada do veljače čuje se pjev jedinki koje se zadržavaju u parku (snimio W. Stani).

Slike priložene ovom dijelu rada nisu snimljene u parku već su preuzete iz Priručnika o bogatstvu i raznolikosti ptičjih vrsta NP Paklenica - Ptice kanjona Velike i Male Paklenice (Lukač i sur., 2019).

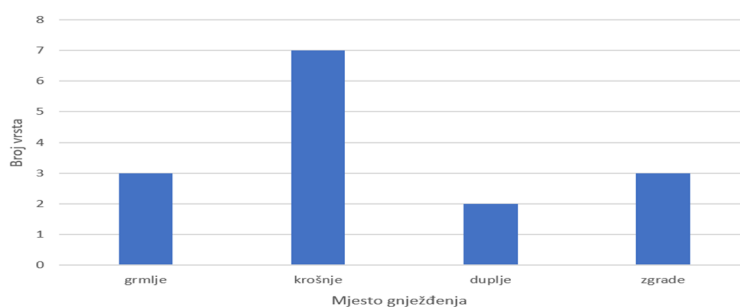
Prilikom izračunavanja dominantnosti pojedinih vrsta tijekom različitih sezona uzete su u obzir samo vrste koje se zadržavaju u parku dok su vrste zabilježene samo u preletu zanemarene. Dominantnost je izražena postotkom (slika 12).



Slika 12 Dominantnost vrsta u parku tijekom različitih sezona

Gnjezdarice u Perivoju Vladimira Nazora

Na području parka zabilježeno je 15 vrsta gnjezdarica pri čemu su uključene i vrste koje se gnijezde na objektima u neposrednoj blizini, a svojom prehranom vezane su uz park (pitomi golub, gugutka i vrabac). Većina se gnijezdi u krošnjama (slika 13). Gnjezdarice tla nisu zabilježene.

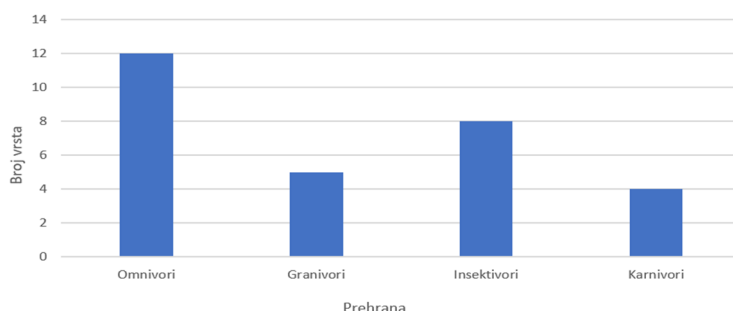


Slika 13. Broj vrsta gnjezdarica prema položaju gnijezda

Dominantne vrste među gnjezdaricama bile su siva vrana (22,22%), velika sjenica (9,60%), kos (7,72%), zeba (6,50%), crnokapa grmuša (5,60%) i čavka (5,40%), a kad se u analizu uključe i parovi koji se gnijezde u bliskoj okolini i gradski golub pokazao se dominantnom vrstom (40,67%). Raznolikost gnjezdarica iznosila je $H' = 2,18$.

Prehrana ptica u Perivoju

Među vrstama zabilježenim na području parka najviše je omnivornih. Nakon omnivora po zastupljenosti slijede insektivori, dok su karnivori i granivori pokazali manju zastupljenost (slika 14).



Slika 14 Broj vrsta prema načinu prehrane

RASPRAVA

Analizom podataka prikupljenih u razdoblju od svibnja 2023. do veljače 2024. vidljivo je da u Perivoju Vladimira Nazora i njegovoj bližoj okolini živi, gnijezdi se, zimuje ili preljeće 29 vrsta ptica.

Najveći broj vrsta zabilježen je tijekom proljeća (18) i zime (17). Proljeće je razdoblje kada se većina ptica gnijezdi. U Perivoju Vladimira Nazora zabilježeno je ukupno 15 gnjezdarica. Čulina (2008) u 4 zagrebačka parka bilježi između 11 i 20 gnjezdarica. Među njima su vrste koje nisu zabilježene u Perivoju Vladimira Nazora, to su šumska sova, veliki i mali djetlić, brgljez, dugokljuni puzavac. Sve su to kontinentalne vrste koje u obalno područje ulaze samo mjestimično i to u staništa koja u svom sastavu imaju kontinentalne elemente vegetacije (Rucner, 1998). Tri vrste čije je gniježđenje zabilježeno u Perivoju Vladimira Nazora, Čulina (2008) u svom radu ne navodi kao gnjezdarice zagrebačkih parkova. To su vjetruša, čuk i gavrana. Gnijezda vjetruše i gavrana zabilježena su na visokim borovima. Slično tome, Rucner (1998) bilježi gniježđenje vjetruše i gavrana duž čitave naše obale većinom na stjenovitim biotopima ali i na crkvenim tornjevima, u pukotinama zgrada, pa i na stablima bora i to u okolini Zadra (Kožino, Bokanjac, Nin). Čuk je, također, čest u gradovima, posebno u priobalju, obično se gnijezdi u rupama i pukotinama starog drveća ili u pukotinama stijena te u krovovima starih kuća (Gordan Lukač, 2023., pers. comm.). Dominantne vrste gnjezdarica u našem parku bile su crnokapa grmuša, kos, zeba, velika sjenica i siva vrana, a ako se u obzir uzmu i vrste koje se gnijezde u bližoj



okolici onda i pitomi golub. Čulina (2008) u svom radu među dominantnim vrstama također bilježi kosa, sivu vranu, zebu, veliku sjenicu i pitomog goluba. Međutim, njoj se dominantnima pokazuju i vrabac, čvorak, žutarica i gaćac. U mome slučaju vrabac je gnjezdarica okolnih kuća, a u parku se susreće neredovito i povremeno na stazama prilikom traženja hrane i valjuškanja u prašini. Žutarica izbjegava topla sredozemna staništa tako da je rijetka u Dalmaciji (Rucner, 1998), a u našem je parku zabilježena s 2 para u sezoni gniježđenja. Čvorak je zabilježen u preletu. Gaćac nije zabilježen, Rucner (1998) ih smatra jako rijetkim vrstama u obalnom području.

Crnokapa grmuša je gnjezdarica grmlja i niskog drveća. Na ovom području sreće se u vrijeme proljetne selidbe od ožujka do svibnja i za vrijeme jesenske selidbe od kolovoza do listopada (Gordan Lukač, 2023, pers. comm.) tako da je zabilježena u parku tijekom cijele godine.

Kos kao ptica gnjezdarica rado ulazi u gradove i naselja te parkove i park-šume (Rucner, 1998). Kos je, među kralježnjacima, najbolje istražen primjer urbanizirane vrste. Urbanizirane populacije kosa većinom ne migriraju pokazala su istraživanja Luniaka (1994). U parku je kos zabilježen tijekom cijelog istraživačkog razdoblja. Zabilježeno je nekoliko parova koji su se gnijezdili u visokom grmlju ili niskom drveću.

Zeba je veoma brojna ptica u svim šumskim biotopima kopnenog područja. Dolinama rijeka probija se prema moru – Zrmanjom do Posedarja, Novigrada, a pojavljuje se fragmentarno i u visokim borovim šumama kraj Zadra (Musapstan). Zimi je vrlo česta, zadržava se po poljima, vrtovima, maslinicima, a obilaze i smetlišta (Rucner, 1998). U perivoju V. Nazora zabilježena su gnijezda na visokom drveću. Prisutna je u manjem broju i zimi.

Velika sjenica je u parku promatrana tijekom cijelog istraživačkog razdoblja, ona se inače gnijezdi u Hrvatskoj u svim našim šumama i raznim staništima uz obradivo zemljište, a nije rijetka ni u parkovima unutar naselja i gradova (Rab, Zadar) (Rucner, 1998). U parku su se gnijezdila dva para u rupama starih stabala.

Shannon-Wienerov indeks raznolikosti (H') za gnjezdarice iznosio je 2,18, što je nešto manja vrijednost od one koju bilježi Čulina (2008) u zagrebačkim parkovima (prosječno 2,35) i one koju Kralj i sur. (2015) bilježe u Vrbanićevom perivoju u Karlovcu (2,49). Svi navedeni parkovi, osim Vrbanićevog perivoja u Karlovcu, veće su površine od Perivoja Vladimira Nazora, a moguće je da imaju i bolje razvijen sloj grmlja. Naime, istraživanja su pokazala da s veličinom parka raste i raznolikost, a također i da parkovi bogatiji slojem grmlja imaju veću raznolikost (Kralj i sur., 2015).

Tipična za parkove je i dominacija vrsta koje se gnijezde u krošnji. Vrste koje se gnijezde u krošnji tako i u ovom parku čine 46,66% od ukupnog broja gnjezdarica, dok su vrste koje se gnijezde u grmlju slabije zastupljene. Razlog tome mogao bi biti uz slabije razvijen sloj grmlja i povećan broj predatora (najčešće su u pitanju mačke) na ove vrste i njihova gnijezda.

Dolaskom ljeta smanjuje se aktivnost ptica u perivoju. Let i pjev crpe velike količine energije, ujedno su i dodatni generatori toplinske energije unutar tijela. Ptice miruju i skrivaju se u krošnjama stabala ili se rashlađuju kraj fontane. Perivoj pruža zaštitu od gradskog toplinskog otoka - hladnije je područje u kojem ptice nalaze sklonište (Gordan Lukač, 2023, pers. comm). Osim toga, ljeti je znatno veći pritisak posjetitelja u perivoju pa vlada buka, nervoza, neprimjereno ponašanje - bacanje otpada, plašenje ptica i sl. To dodatno uznemiruje ptice i doprinosi smanjenju njihove aktivnosti.



Odlaskom turista i padom temperature zraka javlja se i veća aktivnost ptica. Od listopada pa nadalje, tijekom studenog, prosinca i siječnja bilježi se sve veći broj vrsta, a također i sve veći broj jedinki. Više puta je zabilježeno da ljudska naselja privlače ptice za vrijeme zime zbog dodatne hrane i viših temperatura u gradu (Jokimaki, 1999). Dodatne izvore hrane, uz one antropogene, predstavljaju u našem parku plodovi različitih biljaka koje rastu u parku. Tako plodovi lovora, mirte, lemprike, planike i dr. sazrijevaju tijekom kasne jeseni (Šilić, 1983). Dominantne vrste u tom razdoblju bile su gradski golub, siva vrana, crvendać, velika sjenica i čavka. Čulina (2008) u parkovima Zagreba dominantnima za zimski period nalazi sljedeće vrste: gradski golub, vrabac, kos, velika sjenica i siva vrana. Općenito se smatra da su vrabac, gradski golub, gugutka, čvorak, zelendur, velika sjenica i siva vrana u urbanim staništima Europe dominantne vrste kako zimovalica tako i gnjezdarica (Luniak, 1994). Sve navedene vrste (osim zelendura) su omnivori koji mogu u potpunosti iskoristiti veliku količinu hrane dostupne u gradu te biti uspješniji u kompeticiji sa ostalim vrstama (Čulina, 2008).

Gradski golub je vrsta koja se gnijezdi na zgradama koje okružuju parkove. Pokazala se dominantnom i tijekom ostalih godišnjih doba. Nekoliko je razloga za veliki broj golubova u gradovima – prirodno gnjezdilište golubova su stijene što je slično ljudskim građevinama, a također im je prednost i nedostatak straha od ljudi, prilagođenost raznovrsnom načinu prehrane i mogućnost iskorištavanja mnogobrojnih ostataka ljudske hrane (Jurelinac, 2020).

Čavka je u Perivoju Vladimira Nazora malobrojna gnjezdarica ali zimi postaje češća ptica, često u društvu sa sivom vranom (Rucner, 1998). Siva vrana je gnjezdarica okolnog drveća u parku, još jedan oportunist koji uspješno iskorištava promjene uslijed urbanizacije krajolika, što pokazuje i rast populacija ove vrste u raznim europskim gradovima. Grundler (2018) je dokazala da postoji porast populacije ove vrste i u Zagrebu, naročito u izrazito urbaniziranim područjima grada i u parkovima. Sjeverna Dalmacija također pruža povoljne uvjete za život sivoj vrani te je ona ovdje vrlo česta vrsta čija su nalazišta uvijek u blizini obradivih površina i naselja (Rucner, 1998).

Prisutnost crvendaća u parku poklapa se s podacima koje iznosi Rucner (1998) da je to zimi najbrojnija ptica hrvatskog obalnog područja. Pokriva cijelo područje pa ga se može susresti po svim grmovima uz cestu, naseljima i poljima, parkovima, borovim i drugim šumama, makiji, garizima. Kao da se cijela europska populacija spustila do naših obala – navodi Rucner. I u našem parku se čuje crvendaćev pjev od listopada do ožujka.

Udio omnivornih vrsta iznosio je 41,37%. Već je naglašeno da su omnivori zbog mogućnosti korištenja raznolike hrane antropogenog podrijetla uspješniji u kompeticiji s ostalim vrstama. Čulina (2008) navodi da bi ptice koje se hrane sjemenkama trebale u gradu biti zastupljenije od insektivornih vrsta. U Perivoju Vladimira Nazora to nije slučaj – 27, 58% je insektivornih u odnosu na 15% granivornih. Takav rezultat nije u skladu s očekivanjima s obzirom da u parku ima jestivih plodova u izobilju, međutim, nije uvijek lako definirati kojoj kategoriji pripadaju pojedine vrste, tako se crvendać ili crnokapa grmuša hrane insektima ali mogu se hraniti i sjemenkama ili plodovima (Dolenec, 2021).

Radi što potpunijeg utvrđivanja raznolikosti i brojnosti ptica u Perivoju Vladimira Nazora trebalo bi istraživanjem obuhvatiti dulje vremensko razdoblje, možda čak i nekoliko godina kako bi se utvrdile fluktuacije u brojnosti i strukturi.



ZAKLJUČCI

Na temelju istraživanja ornitofaune u Perivoju Vladimira Nazora zaključio sam sljedeće:

- ☞ Najveći broj vrsta prisutan je u sezoni gniježđenja.
- ☞ Dominantne gnjezdarice u parku su crnokapa grmuša, kos, zeba, velika sjenica i siva vrana, a ako se uzmu u obzir i ptice koje se gnijezde u bližoj okolini onda i pitomi golub.
- ☞ Među gnjezdaricama dominiraju one koje se gnijezde u krošnjama.
- ☞ Shannon – Wienerov-ov indeks raznolikosti za gnjezdarice iznosi 2,18.
- ☞ Tijekom sezone gniježđenja, a i zimi, prema tipu prehrane najzastupljeniji su omnivori.
- ☞ Ukupna gustoća jedinki najveća je u prosincu, a najmanja u lipnju i srpnju.
- ☞ Tijekom zimskog razdoblja dominiraju gradski golub, siva vrana, crvendač, velika sjenica i čavka.
- ☞ U Perivoju Vladimira Nazora prevladavaju široko rasprostranjene vrste uobičajene u urbanim staništima.

ZAHVALA

Zahvaljujem se dr. sc. Gordanu Lukaču čija mi je pomoć u raspoznavanju vrsta i interpretiranju njihovih prilagodbi bila od iznimne koristi.

LITERATURA

- Bautović S. 1983. Botanički taksoni parka Vladimir Nazor u Zadru, Diplomski rad, Fakultet poljoprivrednih znanosti, Zagreb
- Chace F., Walsh J. 2004. Urban effects on native avifauna: a review. *Landscape and Urban Planning* 74, 46–69.
<https://tinyurl.com/ykqaelz6> Pristupljeno 14.12.2023.
- Čulina A. 2008. Usporedna analiza ornitofaune četiri zagrebačka parka, Diplomski rad, Prirodoslovno-matematički fakultet, Zagreb.
- Dadić A., Nebeski Hostić S., Vuk R. 2020. Zemlja na dlanu – Geografija 2, Meridijani, Zagreb.
- Dolenec Z. 2021. Ptice tu oko nas, Školska knjiga, Zagreb.
- Evans K., Newson S., Gaston K. 2009. Habitat influences on urban avian assemblages, *Ibis – international journal of avian science* 151, 19–39. <https://tinyurl.com/yromuuc0> Pristupljeno 11.1.2024.
- Grundler D. 2018. Porast populacije sive vrane (*Corvus corone cornix*, Linnaeus, 1758) na području Zagreba od 2004. do 2017. godine, Diplomski rad, Prirodoslovno-matematički fakultet, Zagreb.
- Heinzel H., Fitter R., Parslow J. 1997. Collinsonov džepni vodič - Ptice Hrvatske i Europe: sa Sjevernom Afrikom i Srednjim Istokom, Hrvatsko ornitološko društvo, Zagreb.
- Jokimaki J. 1999. Occurrence of breeding bird species in urban parks: Effects of park structure and broad-scale variables, *Urban Ecosystems* 3, 21–34. <https://tinyurl.com/yv5qcxv> Pristupljeno 9.1.2024.
- Jurelinac V. 2020. Dinamika populacije goluba grivnjaša (*Columba palumbus* Linnaeus 1758) na području Zagreba, Diplomski rad, Prirodoslovno-matematički fakultet, Zagreb.
- Kovačić I. 2020. Promjena veličine populacije kosa (*Turdus merula*) u gradu Zagrebu u odnosu na strukturu staništa i brojnost sive vrane (*Corvus corone cornix*), Diplomski rad, Prirodoslovno-matematički fakultet, Zagreb.
- Kralj J., Čiković D., Tutiš V., Barišić S. 2015. Ptice gnjezdarice Vrbaničevog perivoja, Zavod za ornitologiju HAZU, Zagreb.
- Lukač G., Stani W., Milovac M., Adžić I., Bušljeta N., Vujčić Karlo S. 2019. Ptice kanjona Velike i Male Paklenice, Javna Ustanova Nacionalni Park Paklenica, Starigrad-Paklenica.
- Luniak M. 1994. The development of bird communities in new housing estates in Warsaw. *Memorabilia Zoologica* 49, str. 257–267. <https://tinyurl.com/ylyaqajj> Pristupljeno 8.2.2024.
- Moller A. 2015. Environmental Indicators of Biological Urbanization, *Environmental indicators*, 421–431.
<https://tinyurl.com/yv6mnf35> Pristupljeno 7.1.2024
- Petricioli M. 2011. Zadarski vrtovi i perivoji, Nasadi, Zadar, str. 29–39.
- Rucner D. 1998. Ptice hrvatske obale Jadrana, Hrvatski prirodoslovni muzej i Ministarstvo razvitka i obnove, Zagreb.
- Šilić Č. 1983. Atlas drveća i grmlja, Svjetlost, Sarajevo.
- Šolić M. 2016. Kvantitativne metode u ekologiji zajednica, Institut za oceanografiju i ribarstvo, Split.
- Tutiš V., Kralj J., Radović D., Čiković D., Barišić S. 2013. Crvena knjiga ugroženih ptica Hrvatske, Ministarstvo zaštite okoliša i prirode i Državni zavod za zaštitu prirode, Zagreb.

TREBAJU LI KIRURZI IGRATI VIDEOIGRE

Borna Sočev, 4. razred

Gimnazija „Fran Galović“, Koprivnica

Mentor: Miroslav Samardžić

SAŽETAK

Ovim istraživanjem željelo se utvrditi može li igranje videoigara utjecati na razvoj sposobnosti upravljanja laparoskopskom kirurškom opremom. Cilj je utvrditi utjecaj igranja videoigara i spola na laparoskopske sposobnosti pomoću jednog digitalnog i tri modificirana laparoskopska testa. U istraživanju je sudjelovalo 10 djevojaka i 34 mladića, srednjoškolskih učenika u dobi od 15 do 18 godina. Prilikom obrade podataka učenici su grupirani prema tjednom vremenu igranja videoigara u tri skupine i dvije skupine prema spolu. Statistička značajnost rezultata provjerena je ANOVA testom. Rezultati istraživanja nisu potvrdili pozitivan utjecaj igranja videoigara na sposobnost upravljanja laparoskopskom opremom. Ne postoje značajne razlike u rješavanju testova u ovisnosti o igranju videoigara. Djevojke su ostvarile znatno bolje rezultate na testovima koji traže preciznost, a nije utvrđena značajna razlika u brzini izvođenja testova među djevojkama i mladićima.

Cljučne riječi: laparoskopski testovi, koordinacija pokreta, preciznost, kirurgija

UVOD I OBRAZLOŽENJE TEME

Već 70-ih godina dvadesetog stoljeća tehnološke kompanije zapadnog svijeta krenule su s ponudom igračih konzola za zabavne parkove. Popularnost videoigara porasla je razvojem i dostupnošću informatičke tehnologije 80-ih godina te se već tada u javnosti javlja ozbiljna zabrinutost zbog njihova negativnog utjecaja na psihički i fizički razvoj djece i mladih (Funk, 1993). Postoje dokazi da ljudi koji su tek izašli iz puberteta zbog videoigara i previše vremena provedenog pred ekranom imaju loše zdravstvene navike kao što je konzumacija veće količine nezdrave hrane i manjak fizičke aktivnosti (Micallef i sur., 2022). Videoigre su danas izuzetno popularne, a broj igrača doseže 3,3 milijarde (Howarth, 2023). Mnogobrojna istraživanja bave se utjecajem videoigara na zdravlje. Granić i sur. (2014) svojim istraživanjem utvrdili su da videoigre osim negativnog utjecaja mogu imati pozitivan učinak na razvoj kognitivnih, motivacijskih, emocionalnih i socijalnih sposobnosti. Roesnberg i sur. (2005) su svojim istraživanjem dokazali da bi videoigre mogle pridonijeti i razvoju fine koordinacije pokreta ruku potrebne za provođenje laparoskopskih operacija.

U suvremenom svijetu sve se više koristimo uređajima za koje je potrebna vještina daljinskog upravljanja, primjerice dronovima koje upotrebljavamo za mnoge radnje, od snimanja, zabave do vojne namjene, a u medicini se sve više koriste robotski laparoskopski operacijski uređaji. Upravljanje suvremenim uređajima traži razvoj novih vještina potrebnih za njihovo upravljanje. Dronovi se koriste kontrolerima sličnima onim za moderne igraće konzole, dok su robotski operacijski uređaji upravljani s još kompleksnijim kontrolorskim uređajima (Yu-Jin, 2021). Oba sistema upravljanja zahtijevaju koordinaciju pokreta sličnu onima koji se razvijaju kod igrača videoigara.

Precizna je koordinacija sposobnost tijela da izvodi kompleksne pokrete s preciznošću i kontrolom. Velik mentalni kapacitet potreban je za upravljanje živčanim impulsima kojima kontroliramo mikrokontraksije skupina mišića koji surađuju kako bi proizveli precizan pokret. Precizna koordinacija razvija se praksom i ponavljanjem aktivnosti koje izazivaju tijelo i um (Basso i sur., 2020). Ključnu ulogu u koordinaciji pokreta ima mali mozak koji se koristi informacijama koje stižu iz senzornog sustava i



velikog mozga kako bi fino podešavao pokrete i održavao ravnotežu. On je odgovoran za pamćenje i kasniju primjenu naučenih uzoraka kretanja, što omogućava razvoj precizne koordinacije tijekom vremena (Wikipedia, Human Brain 2004).

Pretpostavka je da različiti tipovi videoigara ne zahtijevaju jednak razvoj vještine koordinacije. Neke igre kao šah ili igranje uloga (Role Playing Games - RPG) nemaju puno dinamičnih pokreta te je njihov utjecaj na razvoj koordinacije neznatan, dok igre koje pripadaju kategoriji borbenih igara (First Person Shooter - FPS) zahtijevaju veliku brzinu reakcije i prostorne orijentacije, ali manju preciznost koja je izuzetno značajna prilikom upravljanja kirurškim uređajima. Simulacijske igre kao „Farming Simulator 2022” mogle bi biti od najveće pomoći pri razvoju koordinacije potrebne za upravljanje kirurškim uređajima jer zahtijevaju razvoj pokreta kojima igrač u virtualnome svijetu upravlja uređajima iz stvarnosti, poput kontrole robotskim rukama. RTS (Real Time Strategy games) su igrice u kojima igrač ima kontrolu nad većim brojem elemenata poznatih kao „units”, za takve igrice potrebna je brzina i sposobnost brzog uzimanja podataka iz okoliša i pamćenje gdje se što nalazi (Pavlović, 2022).



Slika 1 a - miš i tipkovnica, b - Switch Joycons, c - Playstation/Xbox tip kontrolera (B. Sočev)

Videoigrama se može upravljati standardnim mišem i tipkovnicom, istovremeno s obje ruke za stolom ili posebnim kontrolerima koji se najčešće drže s obje ruke u zraku (slika 1). Upravljanje laparoskopskim priborom znatno se razlikuje od upravljanja videoigrama (slika 2), ali se u oba slučaja aktiviraju iste skupine mišića i razvija koordinacija pokreta šake zbog čega bi igranje videoigara trebalo doprinijeti vještini upravljanja laparoskopskom opremom.



Slika 2 Laparoskopske hvataljke korištene u ovome istraživanju (slika: autor rada)

Više je varijabli koje bi mogle utjecati na razvoj fine motorike ruku: bavljenje sportom i drugim vidovima fizičke aktivnosti, sviranje instrumenata i mnoge druge, a posebno je zanimljivo pitanje postoje li razlike među spolovima. Blohm i sur. (2023) istraživali su u Švedskoj razlike u ishodima kirurških zahvata odstranjivanja žučnog mjehura između kirurga muškog i ženskog spola te ustanovili da su se pacijenti koje su operirale žene brže oporavljali i imali znatno manje komplikacija. Muškarci su operacije provodili većom brzinom, ali uz više pogrešaka.



Ovim istraživanjem želimo ispitati utjecaj intenziteta igranja i vrsta videoigara na razvijenost preciznosti i vještine upravljanja laparoskopskom kirurškom opremom u srednjoškolskih učenika. Pretpostavka je da će učenici koji učestalije igraju videoigre ostvariti bolje rezultate u upravljanju laparoskopskom opremom, da će igranje simulacijskih igara najviše doprinijeti razvoju vještine upravljanja laparoskopskom opremom i da će djevojke zadatke provoditi sporije, ali s većom preciznošću.

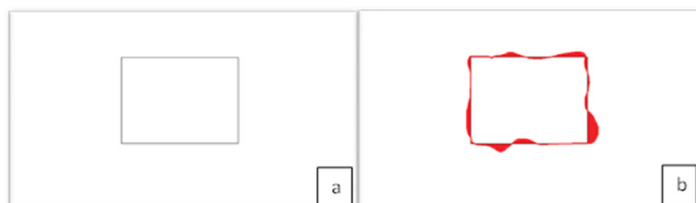
METODE RADA

Ispitivanje je provedeno tijekom siječnja i veljače 2024. godine na 44 učenika srednjoškolske dobi, 10 djevojaka i 34 mladića starosti od 14 do 18 godina. Ispitanici su prije početka istraživanja upoznati sa svim detaljima te dragovoljno pristupili ispitivanju.

Kako bismo pratili utjecaj različitih parametara na rezultate mjerenja, anketnim upitnikom prikupljeni su podatci o spolu, dobi, tjednom vremenu igranja igara, vrsti omiljenih igara, načinu upravljanja videoigrama i bavljenju sportom.

Digitalno ispitivanje preciznosti

Prvo ispitivanje preciznosti provedeno je u informatičkoj učionici pomoću crtaćeg tableta i besplatne *open-source* crtačke aplikacije Krita (Krita, 2004). Ovo je digitalno ispitivanje osmišljeno kako bi se dijelom podudaralo s laparoskopskim ispitivanjem preciznosti te nam omogućilo usporedbu digitalnih i manualnih rezultata ispitanika. Ispitanici će dobiti zadatak da na ekranu tableta povuku liniju preko pet zadanih oblika različite kompleksnosti (slika 3a).



Slika 3 a – reprezentacija kirurškog procesa na ekranu ispitanika; b – prikaz simulacije reza i područje pogreške označeno crvenom bojom

Zadani oblici su pravokutnik, elipsa, šesterokut i dva oblika nepravilnih linija. Za izvršenje ovog zadatka (iscrtavanje svih pet oblika) vrijeme je ograničeno na pet minuta. Nakon riješenog testa izračunato je odstupanje od zadanog oblika u obliku zbroja piksela površine koju omeđuje ocrтана linija izvan zadanog oblika (slika 3b). Odstupanje je izračunato pomoću skripte napisane u programskom jeziku Python (Python, 2008). Učenicima koji su imali odstupanje 100 % veće od prosjeka računat je pad na ovom testu.

Laparoskopski testovi

Drugi dio ispitivanja proveden je pomoću kirurške opreme za laparoskopiju prema preuzetom i prilagođenom testu „Fundamentals of laparoscopic surgery manual skills exam“ (FLS) (YouTube, 2021). Prema FLS programu, laparoskopski se testovi izvode uz upotrebu endoskopske kamere, uz veći broj ponavljanja i u kraćem vremenu u odnosu na testiranje planirano ovim istraživanjem.

Prvi test proveden pomoću laparoskopske opreme sastoji se od prenošenja gumenih obruča na stupiće pomoću dvije laparoskopske hvataljke (slika 4). Prema preliminarnom ispitivanju vještine nekolicine

ispitanika, vremensko ograničenje za ovaj test postavili smo na 70 sekundi. Ako ispitanik ispusti obruč koji se otkotrlja izvan vidnog polja, to se računa padom na testu. Tijekom testa zadatak je ispitanika prebaciti 5 obruča s jednog stupića na drugi. Ispitanici su svaki test ponavljali tri puta. U konačni rezultat zbraja se broj uspješnih prolaza testa i vrijeme uspješno riješenog testa.



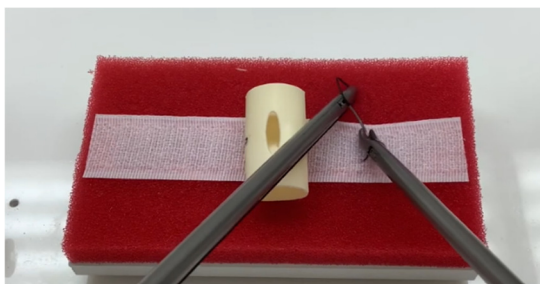
Slika 4 Prvi test FLS programa (YouTube, 2021)

U drugom laparoskopskom testu simulira se rezanje tkiva tijekom operacije. Ispitanici su iz tkanine koju su pridržavali hvataljkom izrezivali kružni oblik pomoću kirurških škara (slika 5). Vremensko ograničenje za izrezivanje je 120 sekundi, vrijeme se počinje mjeriti kad ispitanik dodirne tkaninu škarama i prestaje kad odloži škare. Prema preliminarnom ispitivanju vještine nekolicine ispitanika zaključeno je kako u navedenom vremenu niti jedan ispitanik u navedenom vremenu neće uspjeti izrezati zadani oblik bez odstupanja. Zbog toga je mjerena duljina reza i količina odstupanja izvan zadanog oblika.



Slika 5 Drugi test FLS programa (YouTube, 2021)

Treći test je simulacija šivanja pomoću laparoskopskih hvataljki i kirurške igle (slika 6).



Slika 6 Četvrti test FLS programa (YouTube, 2021)

Vremensko ograničenje za izvođenje ove radnje je 140 sekundi, a vrijeme se počinje mjeriti kad ispitanik dodirne gumenu cijev hvataljkama i prestaje kad odloži hvataljke. Da bi ispitanik prošao test, ubod igle mora se nalaziti unutar označenog polja promjera 1 mm, a konac dva puta mora biti zavezan u čvor. U završni rezultat ubraja se broj uspješnih pokušaja šivanja u zadanom roku.



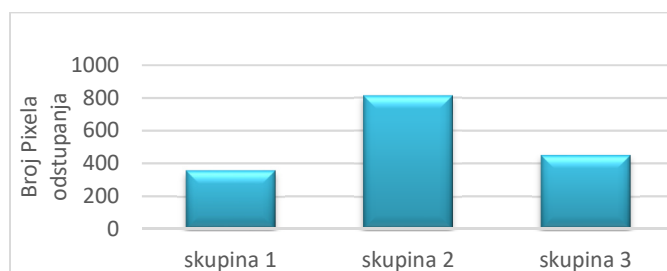
Učenici su ovisno o vlastitoj procjeni tjednog vremena igranja videoigara podijeljeni u tri skupine: u 1. skupinu smješteno je 17 ispitanika koji igraju videoigre manje od 3 sata tjedno, u 2. skupinu smješteno je 15 ispitanika koji igraju videoigre od 3 do 10 sati tjedno, a za ispitivanje se prijavilo samo 12 učenika koji igraju videoigre više od 10 sati tjedno i smješteni su u 3. skupinu.

Svakoj skupini izračunata je i prikazana grafički prosječna vrijednost rezultata na testovima, a zatim je pomoću ANOVA testa ispitana statistička značajnost razlika izmjerenih podataka među grupama. Ukoliko je p-vrijednost ANOVA testa manja od 0,1, možemo zaključiti da je vjerojatnost slučajnog preklapanja skupina manja od 10 % i može se smatrati da postoje statistički značajne razlike između barem dvije testirane skupine (Brereton, 2018). Porastom p-vrijednosti raste vjerojatnost slučajnog podudaranja rezultata među ispitivanim skupinama.

REZULTATI

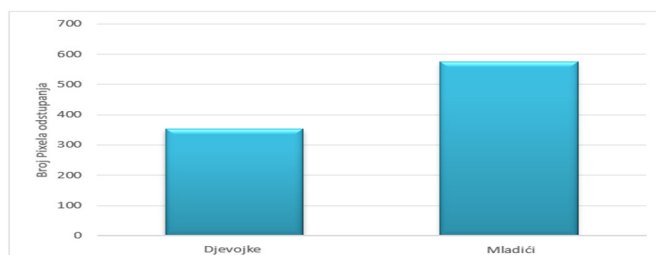
Ispitanici su podijeljeni u tri skupine: skupina 1 - igraju videoigre manje od 3 sata tjedno ili ne igraju uopće; skupina 2 - igraju videoigre od 3 do 10 sati tjedno i skupina 3 - igraju videoigre više od 10 sati tjedno.

Prvobitno na testu digitalnog ispitivanja preciznosti nije planirana granica za pad, međutim nakon uvida u rezultate uočena su jako velika odstupanja rezultata među ispitanicima, čak i kod individualnih ponavljanja pojedinaca. Iz tog razloga zaključeno je kako su određeni pojedinci u ovom testu pristupili nemotivirano i neozbiljno te su rezultati koji odstupaju preko 100 % od prosječnih vrijednosti računati kao pad na testu i kasnije nisu statistički obrađivani. Za rezultate digitalnog ispitivanja po skupinama (slika 7) ANOVA testom izračunato je da je $p = 0,0128$.



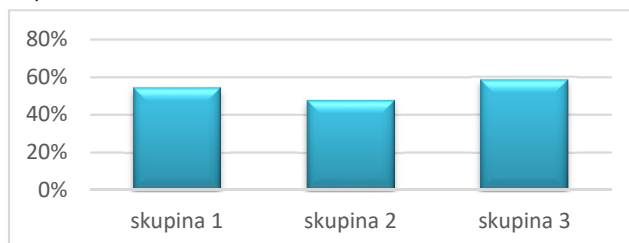
Slika 7 Rezultat digitalnog ispitivanja preciznosti - odstupanja po skupinama u pikselima, nakon izuzimanja učenika koji su pali na testu

Djevojke su ostvarile bolji prosječni rezultat od mladića, a ANOVA testom je izračunata vrlo velika vjerojatnost podudaranja skupina $p = 0,2499$ (slika 8).



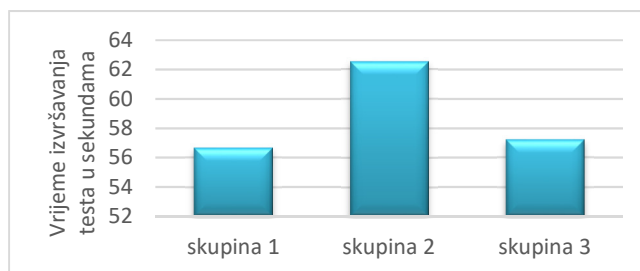
Slika 8 Rezultat digitalnog ispitivanja preciznosti - odstupanje po spolu u pikselima nakon izuzimanja ispitanika koji su pali na testu

Vrlo male su razlike među skupinama u postotku prolaznosti na laparoskopskom testu prenošenja gumenih obruča (slika 9) pa je, očekivano, ANOVA testom izračunata vrlo visoka vjerojatnost podudaranja skupina $p = 0,7543$.



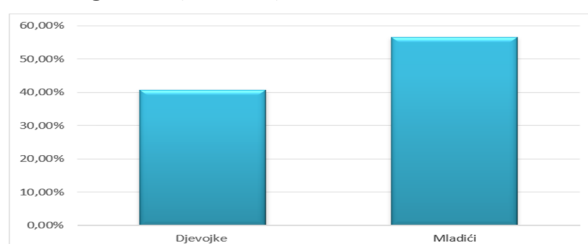
Slika 9 Rezultat laparoskopskog testa prenošenja gumenih obruča - postotak prolaznosti po skupinama

Iako je skupina 2 imala najsporije prosječno vrijeme izvođenja testa dok su ostale dvije skupine imale slična prosječna vremena (slika 10), ANOVA testom izračunata je vjerojatnost podudaranja skupina $p = 0,1422$.

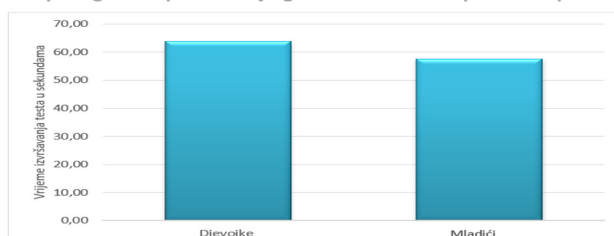


Slika 10 Rezultat laparoskopskog testa prenošenja gumenih obruča - prosječno vrijeme izvršavanja testa

Djevojke su imale manju prosječnu prolaznost u testu prenošenja obruča od mladića (slika 11) i trebalo im je više vremena za prolaz ovog testa (slika 12).



Slika 11 Rezultat laparoskopskog testa prenošenja gumenih obruča - postotak prolaznosti po spolu ispitanika

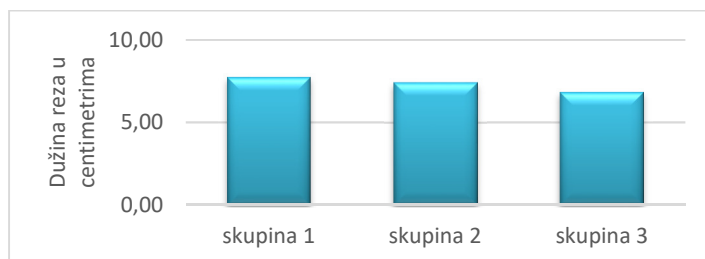


Slika 12 Rezultat laparoskopskog testa prenošenja gumenih obruča - prosječno vrijeme izvršavanja testa po spolu ispitanika

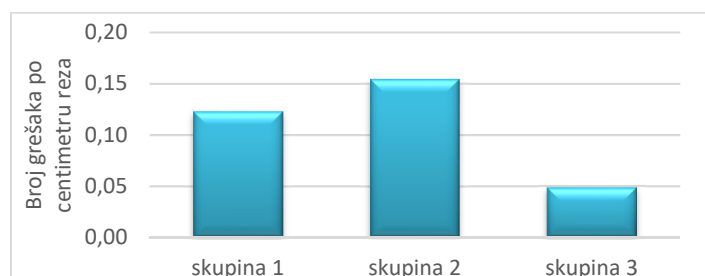
Za prosječnu prolaznost Anova testom izračunato je $p = 0,24869$, a za prosječno vrijeme prolaza $p = 0,065134$.

Opseg unutrašnjeg kruga iznosio je 15,7 cm, a to je maksimalna dužina reza koju u zadanom vremenu nije uspio ostvariti niti jedan ispitanik.

Vrlo male su razlike prosječne dužine reza među skupinama ispitanika (slika 13). ANOVA testom ovih rezultata izračunato je $p = 0,7954$. Najmanji prosječni broj grešaka po centimetru reza ostvarila je skupina tri (slika 14). ANOVA testom za ovo mjerenje izračunato je $p = 0,427025$.

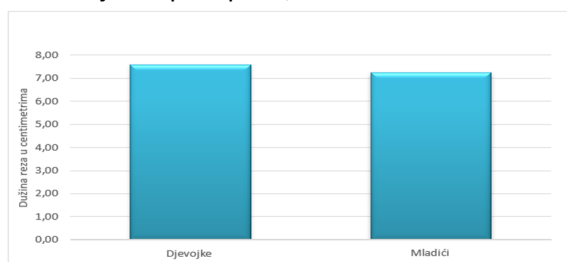


Slika 13 Rezultat laparoskopskog testa rezanja - dužina reza po skupinama



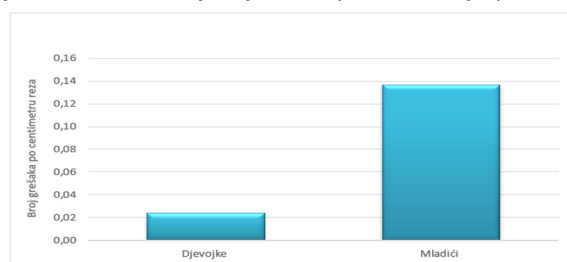
Slika 14. Rezultat laparoskopskog testa rezanja - broj grešaka po centimetru reza

Djevojke i mladići imali su vrlo sličnu prosječnu dužinu reza (slika 15). ANOVA testom izračunata je vrlo visoka vjerojatnost podudaranja skupina $p = 0,7968$.



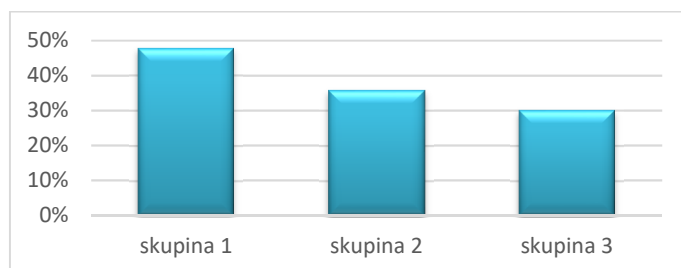
Slika 15 Rezultat laparoskopskog testa rezanja - prosječna dužina reza po spolu

Iako su djevojke imale znatno manje grešaka po duljini reza nego mladići (slika 16), i za ovo mjerenje ANOVA testom izračunata je dosta visoka vjerojatnost podudaranja $p = 0,151$.



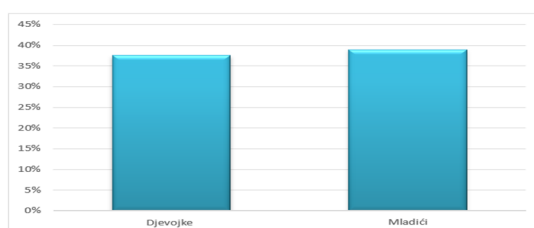
Slika 16 Rezultat laparoskopskog testa rezanja - broj grešaka po centimetru reza po spolu

Skupina 3 ostvarila je najgoru prolaznost od ostalih skupina (slika 17). Za ovo je mjerenje ANOVA testom izračunato da je $p = 0,5207$. Prosječna vremena potrebna za izvršavanje testa šivanja kod svih su skupina bila izuzetno slična i kreću se od 115 do 116 sekundi pa je ANOVA testom izračunato da je $p = 0,9929$.

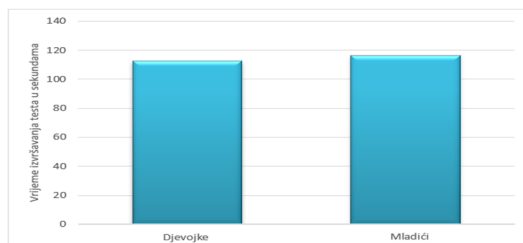


Slika 17 Rezultat laparoskopskog testa šivanja - postotak prolaznosti po skupinama

Na slikama 18 i 19 možemo vidjeti da ne postoje značajne razlike među spolovima u izvršavanju testa šivanja.



Slika 18 Rezultat laparoskopskog testa šivanja - postotak prolaznosti po spolu



Slika 19 Rezultat laparoskopskog testa šivanja - prosječno vrijeme potrebno za izvršavanje testa po spolu

RASPRAVA

Kako je ovo istraživanje provedeno među srednjoškolskim učenicima jedne škole, veliki problem bio je pronaći dovoljan broj ispitanika u različitim kategorijama, osobito djevojaka. Zbog tako malog broja ispitanika događaju se statistički značajna odstupanja rezultata pojedinaca od prosječnih vrijednosti pa su uspoređivanjem skupina Anova testom dobivene visoke p vrijednosti koje nam govore kako postoji velika vjerojatnost da su razlike uspoređivanih skupina produkt slučajnosti, odnosno da postoji velika vjerojatnost podudaranja skupina.

Znanstvenici najčešće ispitivane skupine ne smatraju različitim ako je vjerojatnost podudaranja veća od 5 %, odnosno p vrijednost Anova testa je veća od 0,05. Brereton (2018) ističe kako je moguće prihvatiti vjerodostojnost podataka i kada je p vrijednost do 0,1 (vjerojatnost podudaranja do 10 %), a u slučaju većih p vrijednosti interpretacija rezultata ovisi o tome jesu li podatci normalno raspoređeni. U slučaju ovog istraživanja, zbog malog broja ispitanika, detaljne statističke analize ne mogu značajnije



doprinijeti tumačenju rezultata pa značenje dobivenih rezultata treba tumačiti s obzirom na uvjete u kojima je istraživanje provedeno.

Temeljem rezultata digitalnog testa preciznosti nije moguće potvrditi utjecaj igranja videoigara na bolju izvedbu s obzirom na to da su ispitanici iz skupine 1 i skupine 3 ostvarili gotovo identičan prosječni rezultat.

Promatrajući rezultate laparoskopskih testova, razlike među skupinama uočavaju se u testovima rezanja i šivanja. Rezultati testa rezanja (slika 13 i 14) mogli bi poduprijeti početnu hipotezu o pozitivnom utjecaju videoigara na sposobnost upravljanja laparoskopskom opremom, ali je za ovaj test dobivena jako visoka p vrijednost, zbog čega ove rezultate ne možemo smatrati vjerodostojnima. Jednake zaključke možemo donijeti temeljem rezultata testa šivanja (slika 17).

Promatrajući razlike u preciznosti među spolovima, možemo uočiti da su djevojke na digitalnom testu preciznosti (slika 8) i testu rezanja (slika 16) ostvarile znatno bolji rezultat od mladića što potvrđuje hipotezu o većoj preciznosti djevojaka. Iako je p vrijednost dosta visoka ovaj rezultat možemo smatrati značajnim. Dobiveni rezultati podudaraju se s podacima švedskog istraživanja (Blohm i sur., 2013) u kojem su autori utvrdili veću preciznost kirurginja u odnosu na muške kolege.

Uspoređujući brzinu izvođenja testova među spolovima možemo vidjeti da su mladići ostvarili bolji rezultati na testu prenošenja obruča (slika 12) uz vrlo visoku statističku značajnost rezultata, međutim djevojke su malo brže izvodile zadatke na testu rezanja (slika 15) i šivanja (slika 19). Temeljem ovoga mogli bismo zaključiti da će mladići brže izvoditi testove samo ako se u njima ne traži visoka preciznost.

Na početku istraživanja, anketnim upitnikom za sve ispitanike prikupljeni su i podatci o fizičkoj aktivnosti, bavljenju sportom, sviranju instrumenata, vrsti omiljenih igara i upotrebi različitih kontrolera za igranje videoigara. S obzirom na vrlo mali broj ispitanika i vrlo nepravilnu veličinu skupina koje bismo korištenjem navedenih varijabli formirali, zaključeno je da analiza utjecaja navedenih varijabli neće donijeti statistički značajne rezultate.

Kolozsvari i sur. (2010) proveli su slične laparoskopske testove tražeći odgovor na pitanje kakav je utjecaj spola na vještinu upravljanja laparoskopskom opremom i koliki će utjecaj na rezultate imati interes ispitanika za kirurgiju. Njihovo istraživanje nije pokazalo značajne razlike među spolovima, ali su bolje rezultate ostvarili ispitanici zainteresirani za kirurgiju. Može se zaključiti da je motivacija ispitanika bitna varijabla koju je svakako trebalo uključiti u ovo istraživanje.

ZAKLJUČCI

Rezultati provedenih testova nisu potvrdili pozitivan utjecaj igranja videoigara na sposobnost upravljanja laparoskopskom opremom:

- Ne postoje značajne razlike u rješavanju testova u ovisnosti o igranju videoigara.
- Djevojke su ostvarile znatno bolje rezultate na testovima koji traže preciznost.
- Mladići će brže rješavati testove samo ako se u njima ne traži veća preciznost.



ZAHVALA

Puno hvala Dr. Nevenu Teufelu koji je školi poklonio korištenu laparoskopsku opremu pomoću koje je provedeno ovo istraživanje.

LITERATURA

- Basso C. J., Satyal K. M., Rugh R. 2020. Dance on the Brain: Enhancing Intra and Inter-Brain. Synchrony Cognitive Neuroscience 14
- Blohm M., Sandblom G., Enochsson L., Österberg J., 2023. Differences in Cholecystectomy Outcomes and Operating Time Between Male and Female Surgeons in Sweden. JAMA Surg 158 (11): 1168-1175.
- Brereton R.G. 2018. ANOVA tables and statistical significance of models, Journal of Chemometrics, 33 (3).
- FLS program, 2019. Fundamental of Laparoscopic surgery, Technical Skills Training Curriculum <https://www.flsprogram.org/technical-skills-training-curriculum/>, pristupljeno 20.1.2024.
- Funk J. B. 1993. Reevaluating the Impact of Video Games. Clinical Pediatrics 32(2): 86–90.
- Granić I., Lobel, A., Engels, R. C. M. E. 2014. The benefits of playing video games. American Psychologist 69 (1): 66–78.
- Howarth J., 2023. Exploding Topics How Many Gamers Are There? New 2023 Statistics <https://explodingtopics.com/blog/number-of-gamers>, pristupljeno 29.1.2023.
- Kolozsvari N. O., Andalib A., Kaneva P., Cao J., Vassiliou M. C., Fried G. M. i Feldman L. S. 2010. Sex is not everything: the role of gender in early performance of a fundamental laparoscopic skill. Surgical Endoscopy 25 (4): 1037–1042.
- Krita 2004. Krita is a professional FREE and open source painting program <https://krita.org/en/>, pristupljeno 29.1.2023.
- Cocks M., Moulton C.A., Luu S., Cil T. 2013. What Surgeons can Learn From Athletes: Mental Practice in Sports and Surgery. Journal of Surgical Education 71 (2): 262–269.
- Micallef D., Parker L., Brennan L., Schivinski B., Jackson M. 2022. Improving the Health of Emerging Adult Gamers—A Scoping Review of Influences. Nutrients 14 (11), pristupljeno 29.1.2023.
- Python 3 2008. programski jezik, <https://www.python.org/>, pristupljeno 1.9.2016.
- Roesnberg B., Landsittel M.D., Averch T.D. 2005. Can Video Games be Used to Predict or Improve Laparoscopic Skills? Journal of endourology 19(3): 372-376.
- Youtube 2021. Fundamentals of laparoscopic surgery (FLS) manual skills exam: Tips and tricks MDedge : news and insights for busy physicians 2021. https://www.youtube.com/watch?v=lwrNTRVXuJQ&list=PLBdZfp5TP6sCqPHo08u_x9kDNDUfe9Y2-&index=1&t=146s, pristupljeno 29.1.2023.
- Yu-Jin P. 2021. A Cylindrical Grip Type of Tactile Device Using Magneto-Responsive Materials Integrated with Surgical Robot Console: Design and Analysis Korea Initiative for Fostering University of Research and Innovation <https://www.mdpi.com/1424-8220/22/3/1085>, pristupljeno 21.1.2024.
- Wikipedia Human brain. 2004. https://en.wikipedia.org/wiki/Human_brain, pristupljeno 19.2.2024.