Učinak naringenina na simbiozu hidre i alge te mogućnost primjene predloženog pokusa u školi

Bartol, Valentina

Master's thesis / Diplomski rad

2017

Degree Grantor / Ustanova koja je dodijelila akademski / stručni stupanj: **University of Zagreb, Faculty of Science / Sveučilište u Zagrebu, Prirodoslovno-matematički fakultet**

Permanent link / Trajna poveznica: https://urn.nsk.hr/urn:nbn:hr:217:005831

Rights / Prava: In copyright / Zaštićeno autorskim pravom.

Download date / Datum preuzimanja: **2024-03-29**

Repository / Repozitorij:

Repository of the Faculty of Science - University of Zagreb

Sveučilište u Zagrebu

Prirodoslovno – matematički fakultet

Biološki odsjek

Valentina Bartol

UČINAK NARINGENINA NA SIMBIOZU HIDRE I ALGE TE MOGUĆNOST PRIMJENE PREDLOŽENOG POKUSA U ŠKOLI

DIPLOMSKI RAD

Zagreb, 2017.

Sveučilište u Zagrebu

Prirodoslovno – matematički fakultet

Biološki odsjek

Valentina Bartol

UČINAK NARINGENINA NA SIMBIOZU HIDRE I ALGE TE MOGUĆNOST PRIMJENE PREDLOŽENOG POKUSA U ŠKOLI

DIPLOMSKI RAD

Zagreb, 2017.

Ovaj diplomski rad je izrađen u Laboratoriju za evoluciju, simbioze i molekularnu filogenetiku u Zoologijskom zavodu Prirodoslovno – matematičkog fakulteta Sveučilišta u Zagrebu, pod vodstvom izv. prof. dr. sc. Gorana Kovačevića i dr. sc. Damira Sirovine, v. pred. Rad je predan na ocjenu Biološkom odsjeku Prirodoslovno – matematičkog fakulteta Sveučilišta u Zagrebu radi stjecanja zvanja magistra edukacije biologije i kemije.

Zahvala

Najljepše zahvaljujem svojim mentorima izv. prof. dr. sc. Goranu Kovačeviću i dr. sc. Damiru Sirovini, v. pred. na iskazanom povjerenju, pomoći, korisnim savjetima i podršci tijekom izrade diplomskog rada. Veliko im hvala na strpljenju i vremenu koje su izdvojili kako bi mi pomogli i bili na raspolaganju u svakome trenutku.

Posebno se zahvaljujem tehničarki Nadi Vincek koja mi je bila od velike pomoći u laboratoriju. Hvala joj na pomoći, strpljenju, susretljivosti i brojnim savjetima koji su pomogli u samoj izradi rada.

Veliko hvala dr. sc. Valeriji Vujčić koja mi je bila od velike pomoći u Laboratoriju za fiziologiju bilja. Hvala joj na strpljenju i susretljivosti.

Također, zahvaljujem svojoj prijateljici, kolegici Moniki Karin na velikoj podršci, nesebičnoj pomoći i velikom prijateljstvu tijekom izrade rada, što je doprinijelo pravom užitku rada.

Veliko hvala mojoj obitelji, posebice mojim roditeljima, bratu i sestri koji su mi bili podrška kroz sve godine studiranja i bodrili me u teškim trenucima. Hvala mojem dečku i najboljoj prijateljici na strpljenju, slušanju mojih „jadikovanja“, podršci kroz studiranje, pozitivnim mislima i beskrajnoj ljubavi te mojim divnim prijateljima.

TEMELJNA DOKUMENTACIJSKA KARTICA

Sveučilište u Zagrebu
Prirodoslovno – matematički fakultet
Biološki odsjek **Diplomski rad**

UČINAK NARINGENINA NA SIMBIOZU HIDRE I ALGE TE MOGUĆNOST PRIMJENE PREDLOŽENOG POKUSA U ŠKOLI

Valentina Bartol

Rooseveltov trg 6, 10 000 Zagreb, Hrvatska

Flavonoidi su biljni pigmenti koji su pronađeni u voću, povrću, čaju, cvijeću i vinu. Sve su više zastupljeni u svakodnevnom životu te je od važnosti i značaja istraživati njihovu ulogu za žive organizme. Jedan od flavonoida je i naringenin koji pripada skupini flavonona. Njegov učinak je praćen na simbiozu hidre i alge. U ovom radu kao test organizmi korišteni su: *Hydra viridissima* Pallas, 1766 i *Hydra oligactis* Pallas, 1766 te endosimbiotske alge izolirane iz domaćina zelene hidre *Mychonastes homosphaera* (Skuja) Kalina i Punčochářová, *Desmodesmus subspicatus* (Chodat) Hegewald i Schmidt i slobodnoživuća srodna vrsta *Chlorella vulgaris* Beij. Napravljena je morfološka i citološko – histološka analiza pri koncentracijama 0,2 gL^{-1}, 0,25 gL^{-1} i 0,3 gL^{-1} naringenina te je utvrđena koncentracija od 0,25 gL^{-1} naringenina pri kojoj zadani uvjeti posebice ne pogoduju rastu organizama. Praćena je smrtnost, pupanje, izlučivanje sluzi, migracija te podražljivost hidri, kao i vijabilnost algi. Zbog mogućnosti mijenjanja i prilagođavanja pokusa različitim vremenskim i prostornim uvjetima te dostupnosti potrebnog materijala i pribora, predloženo je njegovo izvođenje u školi u sklopu izvannastavnih aktivnosti ili školskog projekta. Kako bi se istražilo imaju li nastavnici odgovarajuće uvjete za takav način rada, nastavnicima iz područja biologije i kemije u različitim školama i županijama dodijeljena je anonimna anketa. Utvrđeno je da škole uglavnom nude izvannastavne aktivnosti i da imaju odgovarajući pribor za izvedbu predloženog pokusa.

(65 stranica, 36 slika, 9 tablica, 41 literaturni navod, jezik izvornika: hrvatski)

Rad je pohranjen u Središnjoj biološkoj knjižnici.

Ključne riječi: flavonoidi, *Hydra viridissima*, *Hydra oligactis*, *Chlorella*, anketiranje
Mentori: Dr. sc. Goran Kovačević, izv. prof.
Dr. sc. Damir Sirovina, v. pred.

Ocjenjivači: Dr. sc. Goran Kovačević, izv. prof.
Dr. sc. Damir Sirovina, v. pred.
Dr. sc. Vesna Petrović Peroković, izv. prof.

Rad prihvaćen: 16.02.2017.

BASIC DOCUMENTATION CARD

University of Zagreb
Faculty of Science
Department of Biology

Graduation Thesis

THE EFFECT OF NARINGENIN ON HYDRA – ALGA SYMBIOSIS AND POSSIBILITY OF IMPLEMENTATION OF THE GIVEN EXPERIMENT IN SCHOOL

Valentina Bartol

Rooseveltov trg 6, 10 000 Zagreb, Hrvatska

Flavonoids are plant pigments found in fruits, vegetables, tea, flowers and wine. They are even more present in everyday life and it is of importance and significance to investigate their roleup on organisms. Naringenin is a flavonoid that belongs to the group of flavanones. Its effect was monitored on a hyda – algasymbiosis. As test organisms were used: *Hydra viridissima* Pallas, 1766 and *Hydra oligactis* Pallas, 1766 as well as endosymbiotic algae isolated from the hydra host *Mychonastes homosphaera* (Skuja) Kalina and Punčochářová, *Desmodesmus subspicatus* (Chodat) Hegewald and Schmidtand, related free – living species *Chlorella vulgaris* Beij. Morphological and cyto – hystological analysis was made using concentrations of 0,2 gL^{-1}, 0,25gL^{-1} and 0,3 gL^{-1} of naringenin and it was determined that the concentration of 0,25 gL^{-1} does not favor the growth of organisms. Mortality, budding, mucus secretion, migration and contractions of hydra as well as viability of algal cells were monitored. Because of the possibility of changing and adapting the experiment in different temporal and spatial conditions and the availability of materials and accessories, its performance was suggested in school as a part of extra – curricular activities or school project. In order to investigate, if teachers would have proper pre - conditions for this kind of work, teachers of biology and chemistry in different schools and counties, were assigned an anonymous survey. Schools generally offer extra – curricular activities and they have appropriate tools to perform the proposed experiment.

(65 pages, 36 figures, 9 tables, 41 references, original in: Croatian)

Thesis deposited in the Central Biological Library.

Key words: flavonoids, *Hydra viridissima*, *Hydra oligactis*, *Chlorella*, survey
Supervisors: Dr. sc. Goran Kovačević, Assoc. Prof
Dr. sc. Damir Sirovina, Senior lecturer

Reviewers: Dr. sc. Goran Kovačević, Assoc. Prof.
Dr. sc. Damir Sirovina, Senior lecturer
Dr. sc. Vesna Petrović Peroković, Assoc. Prof

Thesis acepted: 16.02.2017.

SADRŽAJ

1. UVOD 1
   1.1. Zelena i smeđa hidra – morfološka građa 1
   1.2. Zelena i smeđa hidra – citološko – histološka građa 3
   1.3. Alge roda *Chlorella* 4
   1.4. Simbioza hidre i alge 5
   1.5. Chlorella test 6
   1.6. Naringenin 6
   1.7. Praktičan rad u školi 7
      1.7.1. Opremljenost škola 8
2. CILJ ISTRAŽIVANJA 10
3. MATERIJALI I METODE 11
   3.1. Pokusni organizmi 11
      3.1.1. Kulture smeđih i zelenih hidri 11
      3.1.2. Kulture algi u uvjetima *in vitro* i Chlorella test 12
   3.2. Prikupljanje podataka za opremljenost škola 15
4. REZULTATI 16
   4.1. Morfološka analiza 16
      4.1.1. *Hydra viridissima* 16
         4.1.1.1. Morfološke promjene u vrste *Hydra viridissima* – kontrolni uzorak 16
         4.1.1.2. Morfološke promjene u vrste *Hydra viridissima* tretirane s 0,2 gL^{-1} naringenina 16
         4.1.1.3. Morfološke promjene u vrste *Hydra viridissima* tretirane s 0,25 gL^{-1} naringenina 17
         4.1.1.3. Morfološke promjene u vrste *Hydra viridissima* tretirane s 0,3 gL^{-1} naringenina 17
      4.1.2. *Hydra oligactis* 19
         4.1.2.1. Morfološke promjene u vrste *Hydra oligactis* – kontrolni uzorak 19
         4.1.2.2. Morfološke promjene u vrste *Hydra oligactis* tretirane s 0,2 gL^{-1} naringenina 19
         4.1.2.3. Morfološke promjene u vrste *Hydra oligactis* tretirane s 0,25 gL^{-1} naringenina 20

4.1.2.4. Morfološke promjene u vrste *Hydra oligactis* tretirane s 0,3 gL^{-1} naringenina 20
4.1.3. *Mychonastes homosphaera* 22
4.1.3.1. Morfološke promjene u izolatima endosimbiotske alge *Mychonastes homosphaera* 22
4.1.4. *Desmodesmus subspicatus* 24
4.1.4.1. Morfološke promjene u izolatima endosimbiotske alge *Desmodesmus subspicatus* 24
4.1.5. *Chlorella vulgaris* 26
4.1.5.1. Morfološke promjene u izolatima slobodnoživuće alge *Chlorella vulgaris* 26
4.2. Citološka analiza 28
4.2.2. *Hydra viridissima* 28
4.2.2.1. Citološke promjene u vrste *Hydra viridissima* 28
4.2.1. *Hydra oligactis* 30
4.2.1.1. Citološke promjene u vrste *Hydra oligactis* 30
4.2.3. *Mychonastes homosphaera* 33
4.2.3.2. Citološke promjene izolata u endosimbiotske alge *Mychonastes homosphaera* 33
4.2.4. *Desmodesmus subspicatus* 36
4.2.4.1. Citološke promjene izolata u endosimbiotkse alge *Desmodesmus subspicatus* 36
4.2.5. *Chlorella vulgaris* 39
4.2.5.1. Citološke promjene izolata u slobodno živućealge *Chlorella vulgaris* 39
4.3. Mogućnost primjene predloženog pokusa u školi 43
4.3.1. Ponuda izvannastavnih aktivnosti u školama 43
4.3.2. Raspoloživost prostora za izvođenje eksperimentalnog rada 43
4.3.3. Raspoloživost vremena za izvođenje eksperimentalnog rada 44
4.3.4. Raspoloživost pribora potrebnog za izvođenje predloženog pokusa 44
4.3.5. Raspoloživost svega potrebnog za izvođenje pokusa 45
5. RASPRAVA 46
6. ZAKLJUČAK 51
7. LITERATURA 52
8. ŽIVOTOPIS 56

1. UVOD

Hidra je vodeni beskralježnjak iz skupine žarnjaka. Obitava na dnu voda tekućica i stajaćica. Sjedilački je organizam te živi pričvršćena za suho lišće, kamenje i submerznu vegetaciju. U Hrvatskoj se učestalo javljaju dvije vrste hidri: zelena (*Hydra viridissima* Pallas, 1766) i smeđa hidra (*Hydra oligactis* Pallas, 1766). Zelena hidra živi u endosimbiozi s jednostaničnom zelenom algom (rod *Chlorella*). Smeđa hidra samostalni je organizam koji ne živi u simbiotskom odnosu.

Na simbiotskom sustavu hidra – alga mogu se pratiti različite promjene na organizmima te uspoređivati učinak toksikanata na vijabilnost organizama (Kalafatić i sur. 2001). Hidra je pogodan organizam u ekotoksikološkim i evolucijskim istraživanjima zbog svoje jednostavne građe, pa se kao eksperimentalna životinja proučava već više od 250 godina te je koristan objekt istraživanja za utvrđivanje letalne i subletalne doze toksikanata (Beach i Pascoe 1998).

Mikroalge su primarni producenti u vodenim ekosustavima. One su pogodan test organizam za ekotoksikološka istraživanja zbog svoje male veličine, velike brzine rasta i lakog održavanja u kulturi. Budući da su zelene alge osnova mnogih prehrambenih lanaca, nužno je poznavanje učinka toksikanta na alge i ostale komponente prehrambenog lanca.

Endosimbioza je oblik simbioze u kojoj najmanje dva različita genoma različitog evolucijskog postanka postoje unutar iste citoplazme (Ebringer i Krajčovič 1994).

1.1. Zelena i smeđa hidra – morfološka građa

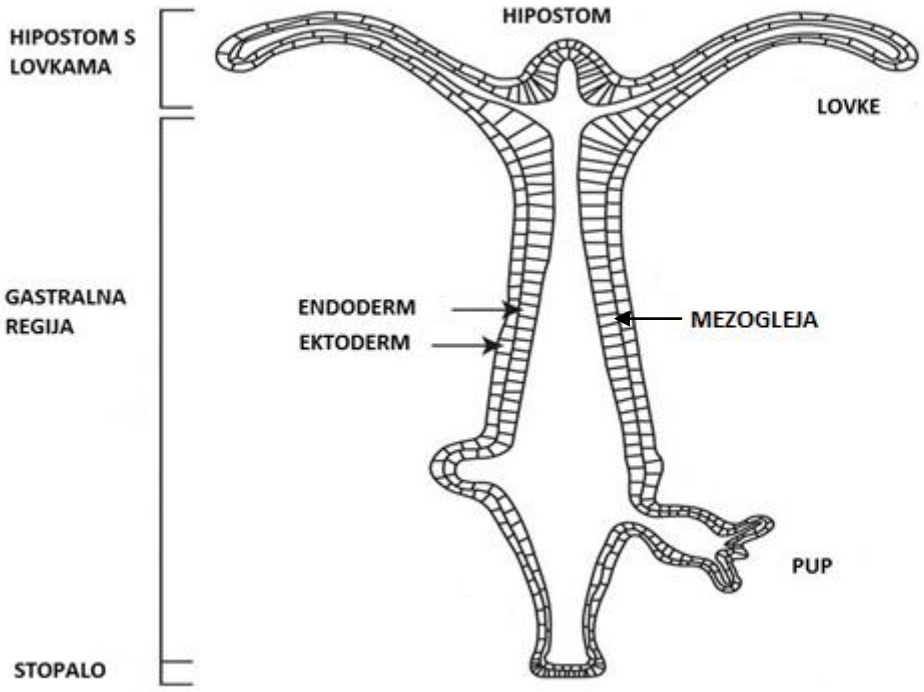
Hidra ima cilindričan oblik tijela (polip) na čijem se vršnom dijelu nalazi 5 – 7 zrakasto raspoređenih lovki. Ima radijalnu simetriju te se na njenom tijelu mogu uočiti tri regije: gastralni dio s pupnom regijom, stopalo s bazalnom pločom i vršni dio hipostom s lovkama (Slika 1). Na vrhu usnog polja (hipostoma) se nalaze usta koja vode u gastrovaskularnu šupljinu u kojoj se odvija probava. Stopalo hidri služi za pričvršćivanje tijela za podlogu uz pomoć ljepljive sluzi koju izlučuju žljezdane stanice bazalne ploče. U gastralnom dijelu razvijaju se pupovi, što predstavlja nespolni oblik razmnožavanja hidri. Pup nastaje evaginacijom tjelesne stjenke matične jedinke te nakon što se razviju lovke, pup se

odvaja i započinje samostalni život. Do pupanja može doći i uslijed djelovanja vanjskih čimbenika, kemijskih spojeva ili stresa. U hidri je prisutan i spolni način razmnožavanja prilikom čega na polipu u gastralnoj regiji nastaju jednostavne, privremene epidermalne gonade koje stvaraju gamete. U gonadama se diferenciraju spermiji i jajašca. Ličinka koja se razvije iz oplođenih jajašca nekoliko sati slobodno pliva te se u konačnici prihvati za podlogu i razvije u polip. Formiranje gonada stimuliraju čimbenici iz okoliša poput temperature, pH, koncentracije O_2, CO_2 i gladovanje (Burnett 1973). Zelena hidra je hermafrodit, dok je smeđa hidra odvojena spola (Karntarnut i Pascoe 2002).

Iako su hidre sesilni organizmi, mogu se pokretati pomoću lovki i stopala na četiri načina: koračanjem, prebacivanjem tijela, puzanjem ili plutanjem. Pomoću mjehurića plina kojeg izlučuje bazalna ploča, hidra se može dizati na površinu vode i lebdjeti, odnosno migrirati tako da je bazalna ploča okrenuta prema površini. Na svaki podražaj, poput svjetlosti, promjene temperature, pH ili nekog mehaničkog podražaja, hidre reagiraju kontrakcijom tijela ili relaksacijom.

Hidre se hrane ličinkama račića vrste *Artemia salina* ili malim račićima (*Daphnia pulex*). Uz pomoć lovki hvataju plijen koji ustima dospijeva u gastrovaskularnu šupljinu. U hvatanju plijena hidrama pomažu žarnice koje se nalaze u epidermi. Probava je ekstracelularna i intracelularna. Produkti metabolizma odbacuju se iz organizma procesom difuzije u okoliš, a i disanje se odvija difuzijom preko stjenke tijela.

Hidre imaju mrežasti živčani sustav prilikom čega su živčane stanice difuzno raspoređene s vanjske i unutarnje strane mezogleje, pa hidra na mehanički podražaj reagira reakcijom cijelog tijela.



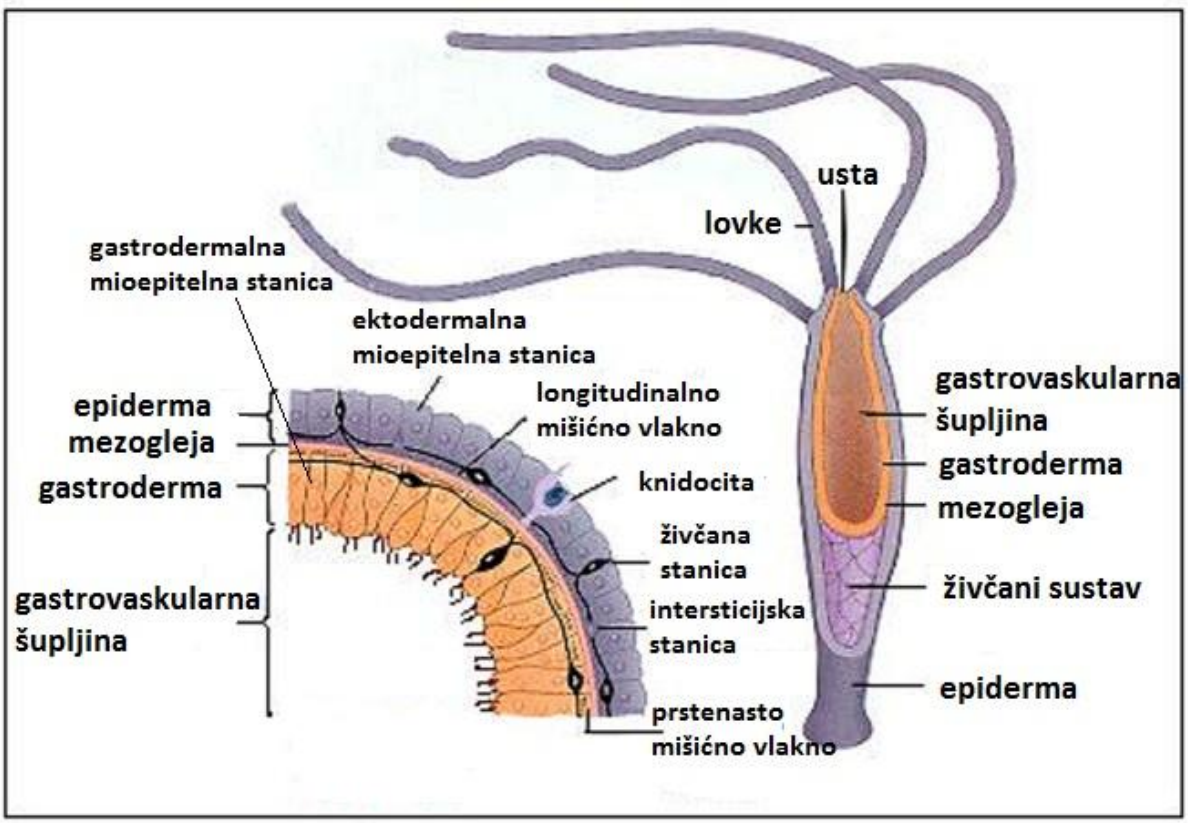
Slika 1. Shematski prikaz morfološke građe hidre (preuzeto s http://slideplayer.com/slide/4887108/)

1.2. Zelena i smeđa hidra – citološko – histološka građa

Tijelo hidre je sastavljeno od vanjskog jednostaničnog sloja, srednjeg nestaničnog sloja mezogleje te unutarnjeg jednostaničnog sloja gastroderma (Slika 2). Unutar tijela hidre nalazi se gastrodermalna šupljina. Ektoderm je građen od mioepitelnih, intersticijskih, živčanih stanica, knidoblasta i knida. Iz intersticijskih stanica mogu se diferencirati knidoblasti, žlijezdane, spolne i živčane stanice (Burnett 1973). Mioepitelne stanice ektoderma stvaraju mukozni omotač koji štiti tijelo hidre od mehaničkih oštećenja.

Mezogleja je središnji sloj tijela hidre koji se sastoji od želatinozne tvari. Građena je od vlakana, granula i staničnih uklopina. Mezogleja je sloj bogat ugljikohidratima i aminokiselinama. Sloj zaslužan za transport nutrijenata i migraciju stanica tijekom regeneracije (Žnidarić 1970).

Gastroderm oblaže gastrovaskularnu šupljinu te ga čine i mioepitelne stanice. Te stanice mogu sadržavati i jednostanične alge roda *Chlorella* koje su prisutne u zelene hidre. U gastrodermu se nalaze također i mišićna vlakna koja su smještena okomito na glavnu os polipa i tvore prstenasti mišićni sloj koji omogućuje širenje i sužavanje samog tijela jedinke, tj. kontrakciju i relaksaciju. Također ovdje se nalaze i zimogene stanice koje sudjeluju u rastu i regenereaciji i imaju sposobnost dediferencijacije i transformacije u gastrodermalne I – stanice koje sudjeluju u obnavljanju oštećenih dijelova tijela (Lui i Žnidarić 1973, Žnidarić 1971).



Slika 2. Prikaz citološko – histološke građe hidre (preuzeto shttp://www.cssforum.com.pk/css-optional-subjects/group-v/zoology/14536-notes-zoology-3.html)

1.3. Alge roda *Chlorella*

Alge su jednostanični, višestanični ili zadružni fotoautotrofni eukariotski organizmi. Uz pomoć procesa fotosinteze proizvode polovinu atmosferskog kisika na Zemlji, a time i ugljikohidrate koji su potrebni drugim organizmima za normalan rast i razvoj. Jednostanične

alge roda *Chlorella* dolaze pojedinačno kao samostalni organizmi na površini vlažnih objekata ili u vlažnom okruženju. Endosimbiotske alge pronalazimo u drugim protoktistima i beskralježnjacima (Douglas i Smith 1984) i to u gastrodermalnim mioepitelnim stanicama zelene hidre poredane jedna do druge u „stupiće“ blizu mezogleje (Pool i Muscatine 1980, Holstein i Emschermann 1995). Poredane su u nizovima jedna do druge te se u jednoj stanici hidre nalazi oko 10 algi. Takve endosimbiotske alge nazivaju se zooklorele i zelena hidra jest jedini primjer hidre kao njihovog domaćina. Neke izolirane endosimbiotske vrste algi kao npr. *Desmodesmus subspicatus* pojavljuju se u obliku cenobija. Cenobiji su kolonije jednostaničnih organizama koje može okruživati zajednička membrana ili se drže zajedno pomoću sluzi koju otpušta pojedini član kolonije. Također ova vrsta algi gradi karakteristične tetrade po 4 stanice kao oblik kolonije (Lürling 2003). Pojam zooklorela prvi je upotrijebio Brandt (1882) upravo kao naziv endosimbiotskih zelenih algi iz zelenih hidri. Nekoliko godina kasnije taj termin koristi Beijernick (1890) kao sinonim za rod *Chlorella* te ih je opisao kao „zelene lopte“. Danas pojam zooklorela podrazumijeva sve zelene alge koje su u endosimbiotskom odnosu sa slatkovodnim beskralježnjacima. Alge roda *Chlorella* osim u endosimbiotskom odnosu s protoktistima i beskralježnjacima, pojavljuju se i kao slobodnoživući organizmi (Douglas 1994). Alge koje žive u simbiozi razlikuju se od onih koje žive slobodno po količini tvari (npr. ugljikohidrata) koje otpuštaju u okolni medij (Rahat 1991).

Alge roda *Chlorella* okruglog su ili elipsoidnog oblika, veličine do 5μm. Pigmenti koji kod njih prevladavaju su klorofil *a* i klorofil *b*, karotenoidi α – i β – i ksantofil lutein. Jezgra im je smještena uz jedan jednostavan veliki vrčasti kloroplast obavijen s dvije membrane (Krajčovič 2001). Kloroplast sadrži mnogo tilakoida, koji tvore gusta grana te čvrstu celuloznu staničnu stjenku koja štiti jezgru od nepovoljnih uvjeta. Kloroplasti su bogati pirenoidima koji su središta stvaranja škroba u stanici. Alge se razmnožavaju nespolno diobom na više stanica kćeri ili stvaranjem 2 – 16 nepokretnih autospora unutar vegetativne stanice koje se oslobađaju pucanjem stanične stjenke.

1.4. Simbioza hidre i alge

Simbioza predstavlja odnos dvaju organizma koja pripadaju različitom rodu pod uvjetom da je jedan organizam eukariot (Margulis i Sagan 2002). U slučaju endosimbioze jedan organizam živi unutar stanica drugog. Često se simbioza opisuje kao mutualizam; odnos

pri kojem oba organizma imaju korist te se tako stvara nova ekološka niša (Douglas 1994).

U ovoj simbiozi alga koristi produkte metabolizma hidre, a hidra koristi kisik koji se oslobađa procesom fotosinteze koja se odvija u algi. Također postoje vrste hidra koje ne uspostavljaju simbiotski odnos s algama i nazivaju se aposimbiotskim hidrama. Takav primjer je smeđa hidra.

Kad jednom alga kolonizira hidru, uspostavlja se endosimbiotski odnos, a ukoliko dvije vrste algi pokušaju istovremeno kolonizirati hidru, endosimbiotski odnos se uspostavlja samo s jednom vrstom. Simbiotski odnosi imaju veliko značenje za evoluciju, jer se na taj način može ukazati na biološke prednosti te se tumačiti doprinos biološkoj raznolikosti (Kovačević i sur. 2009a).

1.5. Chlorella test

Alge i to posebice mikroalge zauzimaju vrlo važno mjesto kao primarni producenti u vodenim ekosustavima i osnova su mnogih prehrambenih lanaca. Zbog toga je važno poznavati učinke različitih toksikanata na alge i ostale komponente prehrambenog lanca (Anton i sur. 1993, Fairchild i sur. 1998). Zbog lakog održavanja kulture, male veličine i visoke stope reprodukcije, alge su prikladni test – organizmi (Horvatić i sur. 2000). Chlorella test toksičnosti omogućuje lako utvrđivanje subletalnih i letalnih učinaka primijenjenih toksikanata. Način izvedbe Chlorella testa jest da se umjesto dH_2O u stock otopinu stavlja ekvivalentna količina željenog toksikanta (Kovačević i sur. 2008). Toksikolozi, naravno raspolažu znanjem o normalnim fiziološkim procesima u organizmu i znaju kako toksični proces započinje i koje su posljedice njegovog učinka pa se kao pokazatelj toksičnog učinka u biotestu sve manje koriste smrt ili oboljenje životinje, a sve češće rane promjene na biokemijskoj razini (Goldberg i Fraizer 1989).

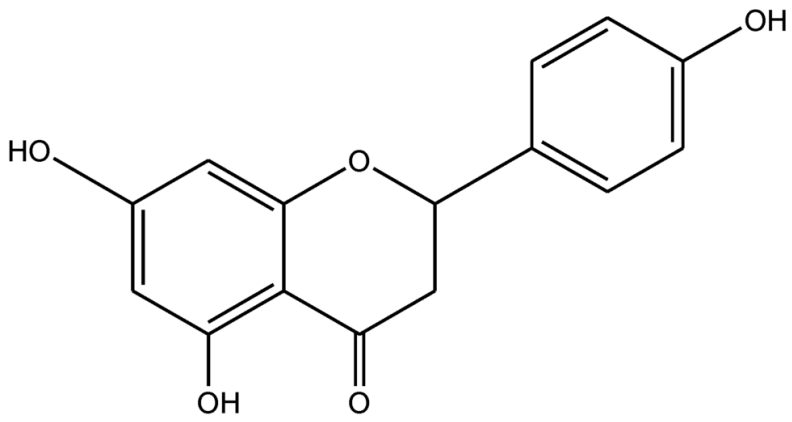
Cilj Chlorella testa je otkriti djeluje li primijenjeni toksikant na organizam te ako djeluje u kojoj mjeri i na koji način.

1.6. Naringenin

Flavonoidi su biljni pigmenti koji daju specifičnu boju mnogim biljkama. Osnovnu kemijsku građu čine tri aromatska prstena s hidroksilnim skupinama (– OH). To su prirodni

spojevi koji se nalazi u različitom voću i povrću, žitaricama, cvijeću, čaju i vinu. Flavonoidi imaju različita djelovanja, kao što su antibakterijsko, antigljivično i antivirusno djelovanje, te je njihova primjena bila poznata još prije nego su se počeli izolirati iz hrane (De Groot i Rauen 1998).

Naringenin (5,7 – dihydroxy – 2 – (4 – hydroxyphenyl) chroman – 4 – one) je flavonon s bioaktivnim djelovanjem, djeluje antioksidativno, imunomodulatorno i protuupalno. Naringenin se sastoji od dva benzenska prstena povezana preko pirinskog prstena, te se na R1 mjestu nalazi hidroksilna skupina (– OH) (Slika 3). Poznat je kao citrusni flavonon. Najveće koncentracije su pronađene u narančinom soku (Tomas – Barberan i Clifford 2000). Niske koncentracije naringenina su pronađene u rajčici, te proizvodima rajčice (Krause i Galensa 1992). Istraživano je njihovo antikancerogeno djelovanje, te je utvrđeno njihovo antioksidacijsko djelovanje. Dokazano je da naringenin pri 1mM koncentraciji potiče rast simbiotske bakterije *R. leguminosarum* i to na način da je bakterija u mogućnosti koristiti sluz domaćina za svoj rast kao i glukozu (Knee i sur. 2000). Također, istraživanja su pokazala da flavonon naringenin dobiven prirodnim putem iz biljki mahunarki izaziva stvaranje kvržica rizobiuma kod simbiotskog domaćina (Hartwig 1991).



Slika 3. Strukturna formula naringenina (preuzeto s http://www.mdpi.com/1422-0067/15/8/13624/htm)

1.7. Praktičan rad u školi

Vrlo je važno da učenici koncepte iz predmeta prirodoslovnog područja usvajaju kroz izvornu stvarnost i uz pomoć praktičnog rada jer to omogućava njihovo lakše i brže usvajanje

(Hofstein i Mamlok – Naaman 2007). Također, kako bi učenici mogli lakše iznositi vlastite zaključke i postali kritični prema onome što uče, vrlo je važno da nastava prirodnih znanosti bude koncipirana na aktivnom učenju te na promatranju prirodne stvarnosti jer na taj način učenici mogu povezati ono što promatraju sa stvarnim životom. Neke od dokazano uspješnih metoda aktivnog učenja, koje razvijaju kritičko mišljenje, komunikaciju, želju za spoznajom i učenjem i poštivanje svijeta koji ih okružuje, jesu razne aktivnosti učenika s ciljem rješavanja problemskih zadataka kroz rad u parovima, grupama i timski rad te nastava koja uključuje izravno proučavanje izvorne stvarnosti, osmišljeni učenički znanstveni projekti, nastavnikom navođena istraživanja i dr. (De Zan 2005). Unatoč očitim prednostima aktivnih metoda učenja istraživanjapokazuju da nastavnici preferiraju frontalni način rada zbog toga što im za aktivne metode rada nedostaje vremena, a frontalnim radom lakše drže učenike pod kontrolom. Osim toga, većina nastavnika voli predavati, što nije čudno, s obzirom na zanimanje koje su odabrali (Meyer 2002). Također nastavnici koji su navikli na način poučavanja u tradicionalnoj školi teško će napraviti iskorak prema novim i zahtjevnijim metodama rada bez pomoći i voditelja (Bognar 2011).

Budući da je gradivo iz predmeta prirodoslovnog područja opširno, neke pokuse nije moguće izvoditi u sklopu redovne nastave. Zato neke škole nude izvannastavne aktivnosti kojima privlače one učenike koji pokazuju interes za prirodne znanosti. Istraživanja su pokazala da učenici koji sudjeluju u izvannastavnim aktivnostima postižu bolje rezultate na ispitima te lakše razvijaju socijalne vještine i ostvaruju kvalitetniju komunikaciju (Diplomski rad, Terezija Matić, 2014).

Zelena hidra može biti vrlo korisna nastavnicima jer predstavlja odličan primjer simbiotskog odnosa, a zbog dostupnosti predstavlja organizam poželjan za praktični rad u školi. Osim toga, na sustavu alga – hidra mogu se usvojiti različiti koncepti, pa predstavlja vrijednu osnovu za mnoge nastavne jedinice.

1.7.1. Opremljenost škola

Ovisno o opremljenosti škole nastavnik može koristiti različite metode, od metode demonstracije pa do metode praktičnog rada, odnosno kompleksnog istraživanja u izvannastavnim aktivnostima. Budući da je rad u laboratoriju za nastavu predmeta iz područja prirodnih znanosti izuzetno važan, važna je i opremljenost škole koja bi trebala

pružitiosnovne uvijete za takav rad. Bitno je da škole posjeduju mikroskop, sitni pribor i stakleno posuđe kako bi izvođenje ovakvog i/ili sličnog pokusa bilo moguće. Dostupni podaci pokazuju da gotovo sve škole u Splitsko – dalmatinskoj županiji posjeduju barem jedan mikroskop (Diplomski rad, Antonio Vidović, 2015). Osim neophodnog materijala i pribora, nastavnici moraju imati na raspolaganju vrijeme i prostor.

2. CILJ ISTRAŽIVANJA

Pratit će se djelovanje toksikanta naringenina na zelenu i smeđu hidru te dvije vrste endosimbiotskih algi i to vrste *Mychonastes homosphaera* (Skuja) Kalina i Punčochářová i *Desmodesmus subspicatus* (Chodat) Hegewald i Schmidt i jednu slobodnoživuću vrstu i to *Chlorella vulgaris* Beij. s ekotoksikološkog i evolucijskog stajališta. Utvrdit će se koji od navedenih organizama, simbiotski ili oni izvan simbioze, ima veću sposobnost preživljavanja nepovoljnih uvjeta okoliša. Prisutnost endosimbionata u zelenoj hidri utječe na njezin odgovor na negativne učinke iz neposrednog okoliša (Karntanut i Pascoe 2002). Dosadašnja istraživanja su pokazala da simbiotska hidra bolje preživljava učinke iz mikro – okoliša od ostalih vrsta hidri.

Budući da istraživanja pokazuju da nastavnici uviđaju prednosti aktivnih metoda učenja, ali ih slabo koriste, zbog nedostatka vremena ili tendencije da poučavaju onako kako su poučavani te da bi uz pomoć i voditelja češće izvodili praktičnu i/ili istraživačku nastavu (Bognar 2011), cilj ovog istraživanja bio je utvrditi i imaju li nastavnici u školama u kojima rade uvjete za izvođenje provedenog ili sličnog pokusa, a to su prvenstveno raspoloživost pribora i opreme, prostor te vrijeme za njegovo korištenje.

3. MATERIJALI I METODE

3.1. Pokusni organizmi

U istraživanju su korištene jedinke zelenih *Hydra viridissima* Pallas, 1766 i smeđih hidri *Hydra oigactis* Pallas, 1766 koje su prikupljene na terenu u Maksimiru i Botaničkom vrtu PMF-a te tri vrste algi: endosimbiotska *Mychonastes homosphaera* (Skuja) Kalina i Punčochářová i *Desmodesmus subspicatus* (Chodat) Hegewald i Schmidt te slobodnoživuća srodna vrsta *Chlorella vulgaris* Beij.

3.1.1. Kulture smeđih i zelenih hidri

Jedinke smeđih i zelenih hidra održavane su u akvarijskoj vodi, pri sobnoj temperaturi od 21,5° C. Jedinke su bile hranjene dva puta tjedno ličinkama račića *Artemia salina.* Nakon hranjenja hidre su bile prebačene u čistu akvarijsku vodu. Za pokus je uzeto 40 hidri koje su bile podijeljene u četiri grupe po 10 hidri. Hidre su bile u podjednakom razvojnom stadiju.

Prva skupina hidri od 10 jedinki je iz posuda za uzgoj hidri u kulturama prebačena u posudicu za kontrolu. Druga grupa hidri od 10 jedinki je prebačena u posudicu u kojoj je pripremljena koncentracija od 0,2 gL^{-1} naringenina, treća grupa od 10 jedinki je prebačena u posudicu u kojoj je pripremljena koncentracija od 0,25 gL^{-1} naringenina i četvrta grupa od 10 jedinki je prebačena u posudicu u kojoj je pripremljena koncentracija od 0,3 gL^{-1} naringenina. Tijekom 14 dana, koliko je trajao eksperiment, hidre nisu bile hranjene. Sve četiri posude s hidrama su bile držane na danjem svjetlu, ali ne na direktnoj Sunčevoj svjetlosti.

Kako bi se priredile spomenute koncentracije, praškasti flavonoid naringenin je otapan u 150 mL aerirane vode, te je u svaku staklenu posudu (visina: 3,9 cm, promjer: 6,9 cm, volumen: 60 ml) označene koncentracije dodano 50 mL pripremljenog toksikanta. Koncentracije za potrebe pokusa bile su 0,2 gL^{-1}, 0,25 gL^{-1}, 0,3 gL^{-1}. Otopine su pripremljene na sljedeći način: vodena otopina naringenina koncentracije 0,2 gL^{-1} dobivena je otapanjem 0,030 g naringenina u 150 mL destilirane vode, vodena otopina naringenina koncentracije 0,25 gL^{-1} dobivena je otapanjem 0,0375 g naringenina u 150 mL destilirane vode, a vodena otopina naringenina koncentracije 0,3 gL^{-1} dobivena je otapanjem 0,045 g nraingenina u 150 mL destilirane vode.

Na isti način je pripremljen pokus u duplikatu.

Praćen je učinak naringenina na smrtnost, morfološke te citološko – histološke promjene u građi i to pomoću sljedećih parametra: podražljivost, brojnost i izgled lovki, oblik tijela, pupanje, oštećenost staničnih slojeva ektoderma i gastroderma te nestaničnog sloja mezogleje i migracija jedinki. Morfološke i lokomotorne promjene su praćene makroskopski i pomoću lupe svaka 24 sata tijekom tri dana.

Za citološko – histološka promatranja hidre iz svih skupina su fiksirane u Bouinovom fiksativu nakon 72 sata tretmana. Fiksirani materijal je ispiran 70 % - tnim alkoholom tijekom 24 sata te u serijama dehidriran u 80 % - tnom, 96 % - tnom i 100 % - tnom alkoholu. Nakon toga fiksirani materijal je uklopljen u paraplast u plastične lađice. Paraplastni blokovi su rezani mikrotomom. Rezovi su bili debljine 7 μm. Nakon toga su rezovi deparafinirani te bojeni hemalaun – eozinom. Preparati su zatim uklopljeni u Canada – balzam te su ostavljeni na sušenju 14 dana kako bi se mogli koristiti za promatranje svjetlosnim mikroskopom.

3.1.2. Kulture algi u uvjetima *in vitro* i Chlorella test

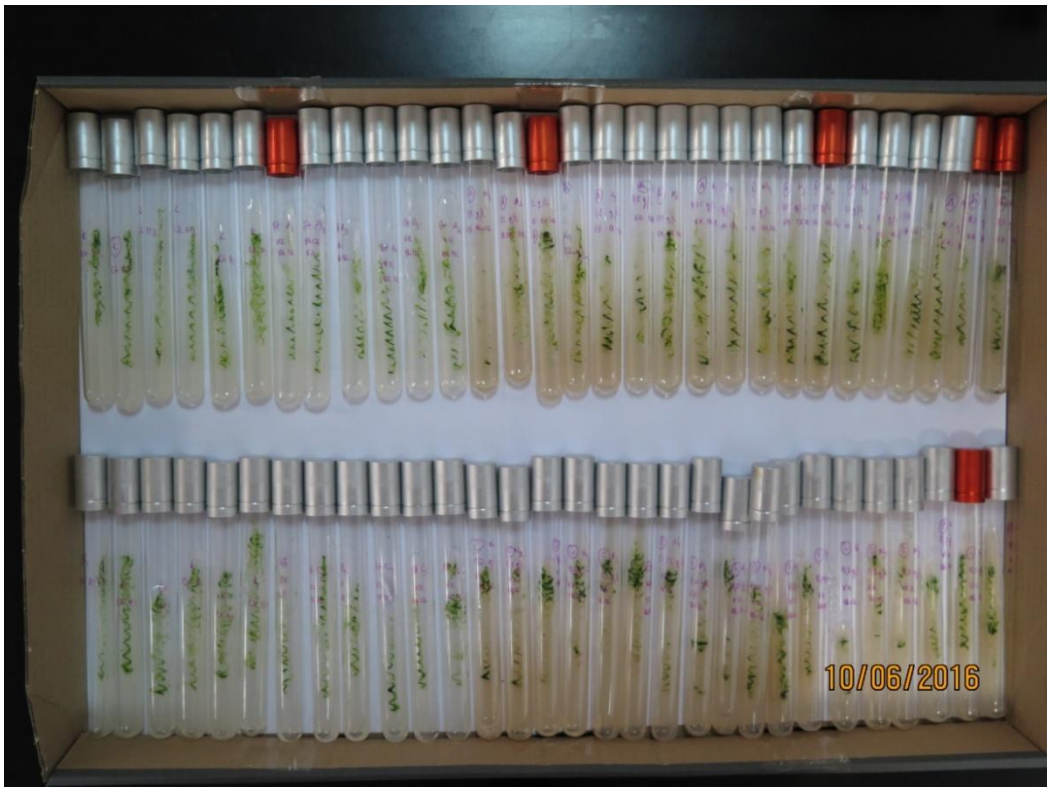
Endosimbiotske alge su izolirane iz zelene hidre i kultivirane na kosom hranjivom agaru u laboratoriju. To su vrste *Mychonastes homosphaera* (Skuja) Kalina i Punčochářová (u daljnjem tekstu označena s CZ 112) i *Desmodesmus subspicatus* (Chodat) Hegewald i Schmidt (u daljnjem tekstu označena s CZ 155). Pokus je također izvođen na slobodnoživućoj vrsti *Cholorella vulgaris* Beij. (u daljnjem tekstu označena s CV 117).

Sastav hranjive podloge bio je: 18 g agara, 0,9 g KNO_3, 9 mL $MgSO_4$ x 7 H_2O, 9 mL K_2HPO_4 i 0,9 mL $FeCl_3$, 100 mL dH_2O. Zelene alge su rasle u epruvetama dužine 16 cm, promjera 15 mm, u klima – komori u sterilnim uvjetima na 24 °C pri konstantnom osvjetljenju intenziteta 80 μmol/m^2 s (fluorescentne lampe Osram L36W/20, Cool/White/2850 lm Osram, Berlin, Njemačka). Svaka je epruveta sadržavala 5 mL agara, nagiba 15°. Uzgajane alge su nakon 14 dana nacjepljivane platinastom ušicom u sterilnim uvjetima u laminaru. Sadržaj algi iz svake kontrolne epruvete je nacijepljen na 6 nove kontrolne epruvete s kontrolnim kosim agarom. Alge su nacjepljivane cik –cak tehnikom ukupne dužine razmaza od 10 cm. Epruvete su zatvarane sterilnim metalnim čepovima (Slika 3). Na taj način održavanja kulture algi dobivena je konstantna količina klonskih kultura pogodnih za

izvođenje pokusa i u budućnosti. Ovako definirani uvjeti održavanje kulture preduvjet su za ekotoksikološku metodu Chlorella test te su njen sastavni dio.

Izvodio se test toksičnosti flavonoida naringenina na tri vrste fotoautotrofnih algi i to u tri različite koncentracije; 0,2 gL^{-1}, 0,25 gL^{-1}, 0,3 gL^{-1} te kontrolnu skupinu. Pokus je trajao 21 dan, te se radio u duplikatu. Alge su se promatrale treći, šesti i deseti dan nakon postavljanja pokusa. Za svaku koncentraciju i kontrolu je korišteno po 6 epruveta (Slika 4). Treći dan nakon postavljanja pokusa po dvije epruvete svake koncentracije i kontrole su uzete za mikroskopiranje, a preostale epruvete su ostavljene za makroskopska opažanja tijekom nastavka pokusa.

Sastav hranjive podloge bio je: 2 g agara, 100 mg KNO_3, 1 mL $MgSO_4$ x 7 H_2O, 1 mL K_2HPO_4 i 0,1 mL $FeCl_3$, 100 mL naringenina (0,2 gL^{-1}, 0,25 gL^{-1}, 0,3 gL^{-1}). Dodavanje ekvivalentne količine toksikanta, u ovom slučaju naringenina u agarsku podlogu umjesto dH_2O, osnova je Chlorella testa pomoću kojeg je moguće praćenje morfoloških promjena. Već kroz tjedan dana može se makroskopski uočiti učinak ispitivanog toksikanta. Chlorella testom može se već i makroskopski pratiti postoji li rast (indiciran zelenom bojom kultura), dali je inhibiran (promjena ili smanjen intenzitet zelene boje) ili ga nema (inhibicija rasta ili izbljeđivanje kultura) (Kovačević i sur. 2008). Metoda se može kombinirati i bila je kombinirana s mikroskopskim metodama kako bi se mogle pratiti detaljnije promjene nastale kao rezultat pojedinog toksikanta.



Slika 4. Prikaz Chlorella testa.



Slika 5. Prikaz Chlorella testa kontrolnih skupina. S lijeva na desno: *Mychonastes homosphaera* (CZ 112), *Desmodesmus subspicatus* (CZ 155), *Cholorella vulgaris*(CZ 117).

3.2. Prikupljanje podataka za opremljenost škola

Kako bi se ustanovilo odgovara li opremljenost škola potrebama izvođenja ovakvog eksperimenta korištena je metoda anonimnog anketiranja. Anonimno anketiranje je izvršeno na uzorku od 100 nastavnika osnovnih i srednjih škola. Od toga je 65 % nastavnika osnovnih, a 35 % nastavnika srednjih škola. Uzorak ispitanika je obuhvaćao nastavnike većine županija Hrvatske.

Anketa je sastavljena tako da se ispita nudi li određena škola izvannastavne aktivnosti; imaju li nastavnici vrijeme, prostor i pribor neophodan za izvedbu priloženog eksperimenta. Ispitanici su na pitanja odgovarali odabirom odgovora *da* ili *ne* te zaokruživanjem ponuđene opreme za laboratorijski rad koju imaju na raspolaganju.

Nastavnicima je ponuđeno rješavanje anketa ručno i dostavljanje na portu Prirodoslovno - matematičkog fakulteta u za to priloženu kutiju, ili preko on-line obrasca sastavljenog uz pomoć servisa QuestionPro. Svi ispitanici su odabrali on – line obrazac.

Dobiveni podaci su statistički obrađeni u programu Microsoft Office Excel 2013 iz kojeg su izvedeni priloženi rezultati.

4. REZULTATI

4.1. Morfološka analiza

4.1.1. *Hydra viridissima*

4.1.1.1. Morfološke promjene u vrste Hydra viridissima – kontrolni uzorak

Prvi dan nakon postavljanja pokusa sve su hidre dobro reagirale na mehanički podražaj iglicom. Tijelo svih hidri je bilo izduženo te se na podražaj kontrahiralo. Pedeset pet posto hidri je migriralo u stupcu vode. Kod svih hidri je bilo prisutno šest lovki koje su bile izdužene. Trideset šest posto hidri je pupalo. Drugi dan nakon postavljanja pokusa sve su hidre i dalje reagirale na mehanički podražaj kontrahirajući se. Tijelo svih hidri je bilo izduženo. Treći dan nakon postavljanja pokusa broj hidri se povećao za 25 % i 25 % hidri je pupalo. Sve hidre su na mehanički podražaj reagirale kontrakcijom. Pedeset posto hidri je bilo na površini vode (Tablica 3). Sve su hidre imale šest lovki koje su bile izdužene te podražljive (Tablica 2).

4.1.1.2. Morfološke promjene u vrste Hydra viridissima tretirane s 0,2 gL^{-1} naringenina

Prvi dan nakon tretiranja sve su hidre reagirale na mehanički podražaj. Tijelo svih hidri je bilo relaksirano te se na mehanički podražaj kontrahiralo. Reakcija na mehanički podražaj iglicom je bila sporija nego u kontroli. Petnaest posto hidri je migriralo u stupcu vode te je oko njih bila vidljiva sluz. Kod svih hidri je bilo prisutno šest lovki koje su bile duže nego samo tijelo hidre. Na mehanički podražaj lovke su se skraćivale. Vidljivo je da je 23 % hidri pupalo. Šezdeset posto hidri je bilo pričvršćeno za dno, a 25 % hidri za stijenke posudice. Ukupan broj hidri je bio 12. Drugi dan nakon tretiranja broj hidri je povećan na 13. Sve su reagirale na mehanički podražaj, no sporije nego u kontroli. Sve su hidre imale šest lovki, koje su bile izdužene i na podražaj su se kontrahirale. Hidre su bile relaksirane, a na mehanički podražaj su se kontrahirale. Sve su hidre bile pričvršćene za dno posudice. Sedam posto hidri je pupalo. Treći dan nakon tretiranja ukupan broj hidri bio je 14. Sve su hidre na mehanički podražaj

reagirale znatno sporije nego u kontrolnoj skupini. Hidre su bile kontrahiranije u odnosu na kontrolu te su se na mehanički podražaj još više kontrahirale. Petnaest posto hidri je migriralo u stupcu vode (Tablica 3) te se držalo zajedno pomoću sluzi. Ostatak hidri je bio pričvršćen za dno posudice. Čak je 20 % hidri pupalo (Tablica 2). Njihove lovke su bile duže nego u hidri koje nisu pupale. Kod svih hidri bilo je prisutno šest lovki koje su bile kontrahirane.

4.1.1.3. Morfološke promjene u vrste Hydra viridissima tretirane s 0,25 gL^{-1} naringenina

Prvi dan nakon tretiranja 90 % hidri je bilo pričvršćeno za dno posudice, a 10 % hidri za stjenku posudice (Tablica 3). Sve su hidre bile žive te su reagirale na mehanički podražaj, no sporije nego u kontroli i prethodnoj koncentraciji. Sve su hidre bile izdužene te su se na mehanički podražaj kontrahirale. Trideset pet posto hidri je pupalo te su kod njih lovke bile relaksirane. Sve hidre su imale šest lovki koje su kod 65 % hidri koje ne pupaju kontrahirane i slabo vidljive. Drugi dan nakon tretiranja ukupan broj hidri bio je devet. Na mehanički podražaj su reagirale jako sporo, 44 % hidra se malo relaksiralo na mehanički podražaj. Sve su hidre bile u kontrahiranom obliku. Samo je 22 % hidri pupalo (Tablica 2). Lovke nisu bile vidljive. Bila je prisutna velika količina sluzi. Treći dan nakon tretiranja na dnu posudice je bilo devet hidri, no one su bile u poluraspadnutom stanju te nisu reagirale na mehanički podražaj. Lovke nisu bile vidljive (Tablica 1).

4.1.1.3. Morfološke promjene u vrste Hydra viridissima tretirane s 0,3 gL^{-1} naringenina

Prvi dan nakon tretiranja ukupan broj hidri bio je 12. Od toga je 75 % hidri bilo pričvršćeno stopalom za dno posudice, a 25 % hidri je migriralo u stupcu vode. Sve su hidre reagirale na mehanički podražaj iglicom kontrahirajući se. Ta reakcija je bila sporija nego u kontroli i najnižoj koncentraciji (0,2 gL^{-1}). Sve hidre su imale šest lovki, koje su bile izdužene. Posebno su bile izdužene lovke onih hidri koje su pupale i to 25 % njih. Drugi dan nakon tretiranja ukupan broj hidri bio je 15. Sve su hidre reagirale na mehanički podražaj i prilikom toga su se kontrahirale. Treći dan nakon tretiranja ukupan broj hidri bio je 15. Od toga je 25 % hidri pupalo (Tablica 2) te je jedna hidra pupala na dva mjesta. Tijelo hidri je bilo kontrahirano te se na mehanički podražaj relaksiralo. Reagirale su na mehanički podražaj sporije nego u

kontroli. Šezdeset posto hidri je bilo stopalom pričvršćeno za dno posudice, a 40 % hidri je migriralo u stupcu vode. Sve hidre su imale šest lovki. Hidre koje su plutale po površini držale su se zajedno pomoću sluzi u području stopala (Tablica 3).

Tablica 1. Smrtnost zelene hidre tijekom pokusa izražena u postocima (%)

KONCENTRACIJA NARINGENINA	**24 h**	**48 h**	**72 h**
KONTROLA	0	0	0
0,2 gL^{-1}	0	0	0
0,25 gL^{-1}	0	25	100
0,3 gL^{-1}	0	0	0

Tablica 2. Ukupno pupanje zelene hidre tijekom pokusa izraženo u postocima (%)

KONCENTRACIJA NARINGENINA	**24 h**	**48 h**	**72 h**
KONTROLA	36	36	25
0,2 gL^{-1}	23	7	20
0,25 gL^{-1}	44	22	0
0,3 gL^{-1}	25	0	25

Tablica 3. Migracija zelene hidreu stupcu vode tijekom pokusa izraženo u postocima (%)

KONCENTRACIJA NARINGENINA	**24 h**	**48 h**	**72 h**
KONTROLA	55	55	50
0,2 gL^{-1}	15	0	15
0,25 gL^{-1}	10	0	0
0,3 gL^{-1}	25	25	40

4.1.2. *Hydra oligactis*

4.1.2.1. Morfološke promjene u vrste Hydra oligactis – kontrolni uzorak

Prvi dan nakon postavljanja pokusa sve su hidre dobro reagirale na mehanički podražaj. Trideset posto hidri je migriralo u stupcu vode, a ostatak hidri je bio pričvršćen za dno posudice. Tijelo svih hidri bilo je izduženo. Kod svih hidri je bilo prisutno šest lovki koje su bile jako izdužene. Drugi dan nakon postavljanja pokusa sve su hidre dobro reagirale na mehanički podražaj te su se na dodir skraćivale u području stopala. Kod svih hidri i dalje je bilo prisutno šest lovki koje su bile jako izdužene (Tablica 6). Treći dan nakon postavljanja pokusa nisu uočene veće morfološke promjene. Deset posto više hidri je migriralo u stupcu vode. Sve su hidre dobro reagirale na mehanički podražaj (Tablica 5). Tijelo svih hidri je bilo relaksirano.

4.1.2.2. Morfološke promjene u vrste Hydra oligactis tretirane s 0,2 gL^{-1} naringenina

Prvi dan nakon tretiranja hidre nisu pokazale značajne morfološke promjene. Smrtnost nije bila prisutna. Sve su hidre reagirale na mehanički podražaj kontrakcijom tijela (Tablica 5). Primijećena je slaba kontrahiranost tijela u 100 % hidri u odnosu na kontrolu. Trideset pet posto hidri je migriralo u više područje posudice, a ostale su hidre bile pričvršćene za dno posudice. Lovke su im bile izdužene kao u kontroli. Devedeset posto hidri imalo je šest lovki, a 10 % hidri imalo je četiri lovke. Drugi dan nakon tretiranja smrtnost hidri bila je 10 % (Tablica 4). Sve su hidre reagirale na mehanički podražaj, no sporije nego u kontroli. Trideset tri posto hidri je migriralo u više područje posudice. Sve hidre imale su po šest lovki, a kod 45 % hidri one su bile izdužene. Treći dan nakon tretiranja 55 % hidri je migriralo u više područje posudice. Osamdeset pet posto hidri bilo je relaksirano kao u kontroli, no na mehanički podražaj su reagirale sporije nego u kontroli. Petnaest posto hidri bilo je kontrahirano u obliku kuglica. Kod 85 % hidra bilo je prisutno svih šest lovki, a kod 15 % hidri četiri lovke (Tablica 6). Lovke su bile izdužene kao u kontrolnoj skupini.

4.1.2.3. Morfološke promjene u vrste Hydra oligactis tretirane s 0,25 gL^{-1} naringenina

Prvi dan nakon tretiranja 50 % hidri slabo je reagiralo na mehanički podražaj, a 50 % hidri gotovo uopće nije reagiralo. Pedeset posto hidri bilo je kontrahirano u obliku kuglica, dok je 50 % hidri bilo u relaksiranijem obliku (Tablica 4). Hidre koje su bile u relaksiranijem obliku imale su jako skraćene lovke do same baze. Drugi dan nakon tretiranja 70 % hidri je bilo u obliku raspadnutih kuglica koje nisu pokazivale nikakvu reakciju na mehanički podražaj, dok je 30 % hidri jedva reagiralo na mehanički podražaj. Bila je prisutna sluz od raspada hidri. Lovke uopće nisu bile vidljive (Tablica 6). Trideset posto hidri bilo je kontrahirano i slabo je reagiralo na mehanički podražaj. Treći dan nakon tretiranja smrtnost hidri je bila 100 %.

Tijekom 72 sata promatranja, hidre su u ovoj koncentraciji pokazale značajne morfološke promjene. Smrtnost hidra je bila 100 %, što je u konačnici rezultiralo potpunim raspadom hidra. U kontroli su sve hidre bile žive te su reagirale na mehanički podražaj (Tablica 5).

4.1.2.4. Morfološke promjene u vrste Hydra oligactis tretirane s 0,3 gL^{-1} naringenina

Prvi dan nakon tretiranja sve su hidre bile žive i dobro su reagirale na mehanički podražaj. Trideset posto hidra bilo je pričvršćeno za dno posudice te relaksirano kao u kontroli. Pedeset posto hidri je migriralo u stupcu vode. Dvadeset posto hidri bilo je kontrahirano i pričvršćeno za dno posudice. Deset posto hidri imalo je pet lovki, a 90 % hidri šest lovki koje su u ovih 90 % hidri bile izdužene, dok su u ovih 10 % bile skraćene i oštećene. Reagirale su na mehanički podražaj i pomicale se (Tablica 5). Drugi dan nakon tretiranja smrtnost hidri bila je 10 %. Ostalih 90 % hidri bilo je kontrahirano, no na mehanički podražaj su se relaksirale. Na mehanički podražaj su reagirale sporije nego u kontrolnoj skupini i prvoj koncentraciji (0,2 gL^{-1}). Trideset posto hidri je migriralo u stupcu vode, dok je ostatak hidri bio pričvršćen stopalom za dno posudice. Četrdeset pet posto hidri imalo je šest lovki koje su se na mehanički podražaj izduživale, no reakcija je bila spora. Trideset pet posto hidri imalo je pet lovki koje su bile skraćene, a 20 % hidri imalo je četiri lovke koje su također bile skraćene i sporije su reagirale na mehanički podražaj. Treći dan nakon tretiranja 25 % hidri bilo je u obliku kontrahiranih kuglica. Pokazivale su slab odgovor na mehanički podražaj, što upućuje na skori mortalitet. Lovke nisu uopće bile vidljive (Tablica 6). Sedamdeset pet posto hidri bilo je potpuno raspadnuto te je oko njih bila velika količina sluzi.

Tijekom 72 sata promatranja, hidre su u ovoj koncentraciji pokazale morfološke promjene, no one su manje nego u prethodnoj koncentraciji. Smrtnost hidri bila je 75 %, a čak 100 % hidri pokazivalo je redukciju lovki u odnosu na kontrolnu skupinu (Tablica 4).

Tablica 4. Smrtnost smeđe hidre tijekom eksperimenta izražena u postocima (%).

KONCENTRACIJA NARINGENINA	**24 h**	**48 h**	**72 h**
KONTROLA	0	0	0
0,2 gL^{-1}	0	10	15
0,25 gL^{-1}	0	70	100
0,3 gL^{-1}	0	10	75

Tablica 5. Podražljivost smeđe hidre tijekom eksperimenta izražena u postocima (%).

KONCENTRACIJA NARINGENINA	**24 h**	**48 h**	**72 h**
KONTROLA	100	100	100
0,2 gL^{-1}	100	100	100
0,25 gL^{-1}	50	30	0
0,3 gL^{-1}	100	90	25

Tablica 6. Redukcija broja lovki smeđe hidre tijekom eksperimenta izražena u postocima (%)

KONCENTRACIJA NARINGENINA	**24 h**	**48 h**	**72 h**
KONTROLA	0	0	0
0,2 gL^{-1}	10	0	15
0,25 gL^{-1}	100	100	100
0,3 gL^{-1}	10	55	100

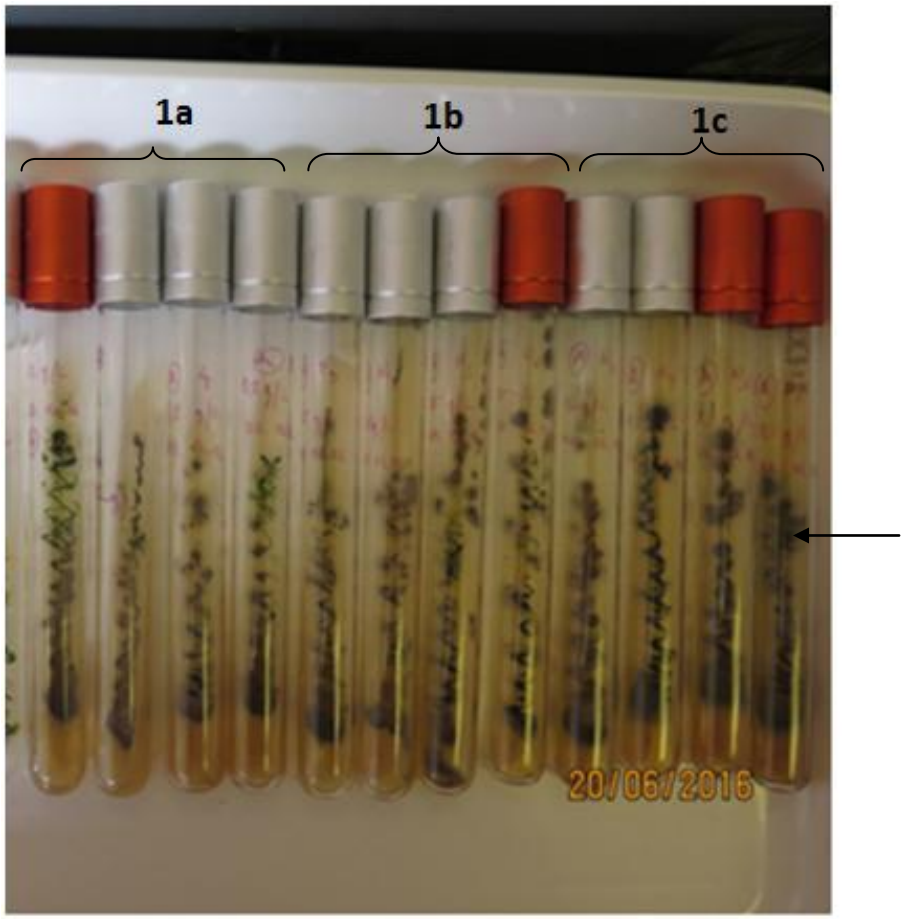
4.1.3. *Mychonastes homosphaera*

4.1.3.1. Morfološke promjene u izolatima endosimbiotske alge Mychonastes homosphaera

Alge su rasle u stabilnoj kulturi zelene boje (Slika 6.a). Treći dan nakon tretiranja u koncentraciji 0,2 gL^{-1} naringenina u odnosu na kontrolnu skupinu primijećen je jači intenzitet zelene boje, što upućuje na intenzivniji rast, u 50 % epruveta. Kod preostalih 50 % epruveta vidljivo je blijeđenje algi. U srednjoj koncentraciji (0,25 gL^{-1}) naringenina u 65 % epruveta alge su pokazale stabilan rast, a u 35 % epruveta bilo je prisutno izbljeđivanje. Pri najvišoj koncentraciji (0,3 gL^{-1}) naringenina uočeno je da su alge u 50 % epruveta bljeđe. Šesti dan nakon tretiranja pri najnižoj koncentraciji (0,2 gL^{-1}) naringenina u 35 % epruveta uočeno je blijeđenje. Pri koncentraciji 0,25 gL^{-1} naringenina uočeno je da se u 75 % epruveta pojavila plijesan, ali su alge bile zelene i vijabilne. Pri najvišoj koncentraciji (0,3 gL^{-1}) naringenina u 65 % epruveta se pojavila plijesan koja je nadrasla alge, ali su one bile zelene i vijabilne (Slika 6.b) (Tablica 7).



Slika 6.a. Vrsta *Mychonastes homosphaera* tijekom pokusa. Chlorella test. Kontrolni uzorak.



Slika 6.b. Vrste alga *Mychonastes homosphaera* tretirane s tri koncentracije naringenina tijekom pokusa. Chlorella test. **1a** – vrsta alge *Mychonastes homosphaera* tretirana koncentracijom 0,2 gL^{-1}naringenina, **1b** – vrsta alge *Mychonastes homosphaera* tretirana koncentracijom 0,25 gL^{-1} naringenina, **1c** – vrsta alge *Mychonastes homosphaera* tretirana koncentracijom 0,3 gL^{-1} naringenina. Prisutno onečišćenje (strelica).

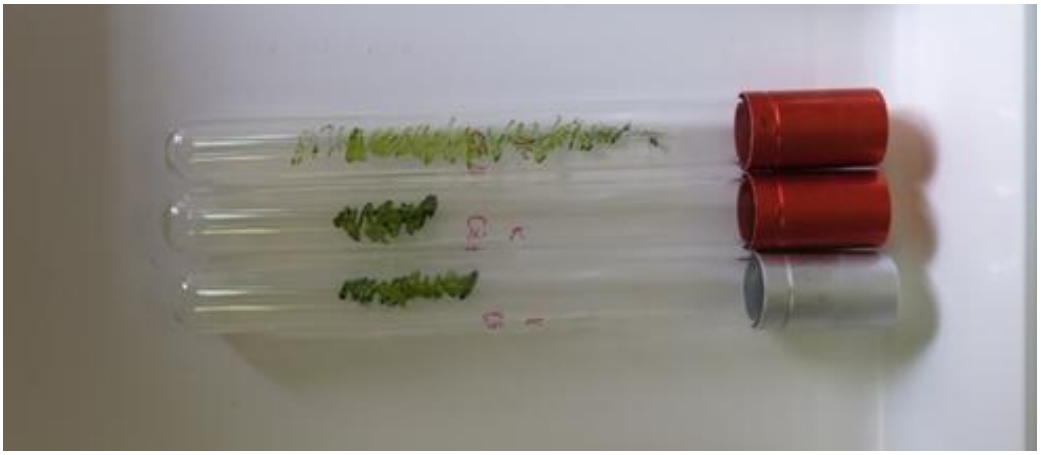
Tablica 7. Blijeđenje vrste *Mychonastes homosphaera (%)*

KONCENTRACIJA NARINGENINA	72 h	144 h
KONTROLA	0	0
0,2 gL^{-1}	50	35
0,25 gL^{-1}	35	25
0,3 gL^{-1}	50	50

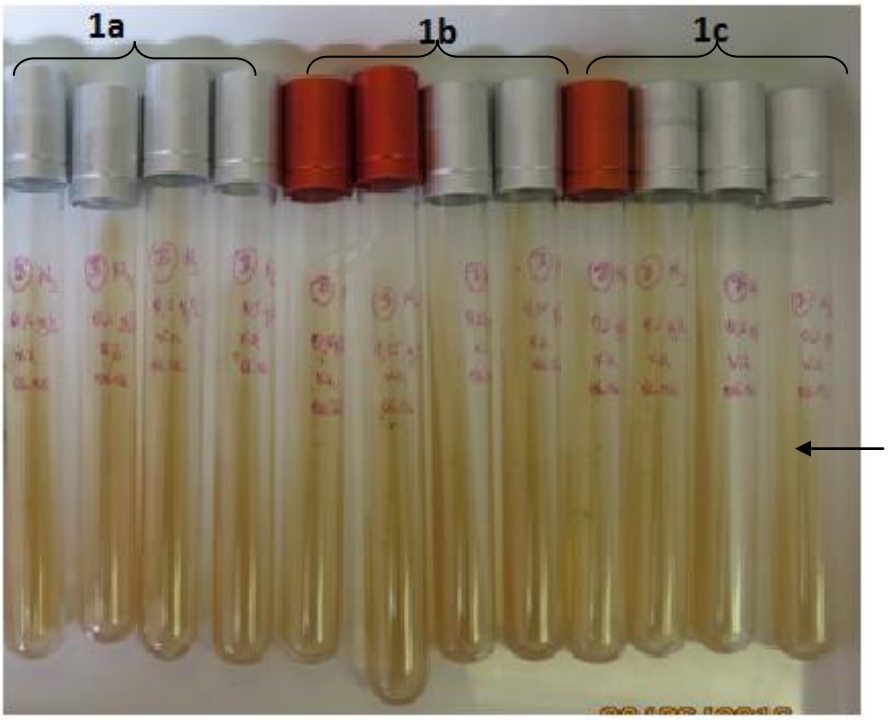
4.1.4. *Desmodesmus subspicatus*

4.1.4.1. Morfološke promjene u izolatima endosimbiotske alge Desmodesmus subspicatus

Treći dan nakon postavljanja pokusa sve alge su bile intenzivno zelene boje i pokazivale pravilan rast (Slika 7.a). Treći dan nakon tretiranja alge su pri najnižoj koncentraciji (0,2 gL^{-1}) naringenina u 50 % epruveta bljeđe nego u kontrolnoj skupini. Pri srednjoj koncentraciji (0,25 gL^{-1}) naringenina u svim se epruvetama pojavila plijesan, no u 35 % epruveta se uočava blago blijeđenje u odnosu na prethodnu koncentraciju i kontrolnu skupinu. Pri najvišoj koncentraciji (0,3 gL^{-1}) naringenina alge su u svim epruvetama bile znatno bljeđe nego u odnosu na prethodne koncentracije i kontrolnu skupinu. Šesti dan nakon tretiranja u najnižoj koncentraciji (0,2 gL^{-1}) naringenina u 50 % epruveta se pojavila plijesan koja je nadrasla alge. U preostalih 50 % epruveta alge su bile bljeđe nego u kontroli. U ostale dvije koncentracije (0,25 gL^{-1} i 0,3 gL^{-1}) naringenina uočeno je blijeđenje algi u svim epruvetama (Slika 7.b) (Tablica 8).



Slika 7.a. Vrsta *Desmodesmus subspicatus* tijekom pokusa. Chlorella test. Kontrolni uzorak.



Slika 7.b. Vrste alga *Desmodesmus subspicatus* tretirane s tri koncentracije naringenina tijekom pokusa. Chlorella test. **1a** – vrsta alge *Desmodesmus subspicatus* tretirana koncentracijom 0,2 gL^{-1} naringenina, **1b** – vrsta alge *Desmodesmus subspicatus* tretirana koncentracijom 0,25 gL^{-1} naringenina, **1c** – vrsta alge *Desmodesmus subspicatus* tretirana koncentracijom 0,3 gL^{-1} naringenina. Blijeđenje; inhibicija rasta (strelica).

Tablica 8. Blijeđenje vrste *Desmodesmus subspicatus (%)*

KONCENTRACIJA NARINGENINA	72 h	144 h
KONTROLA	0	0
0,2 gL^{-1}	50	100
0,25 gL^{-1}	35	100
0,3 gL^{-1}	100	100

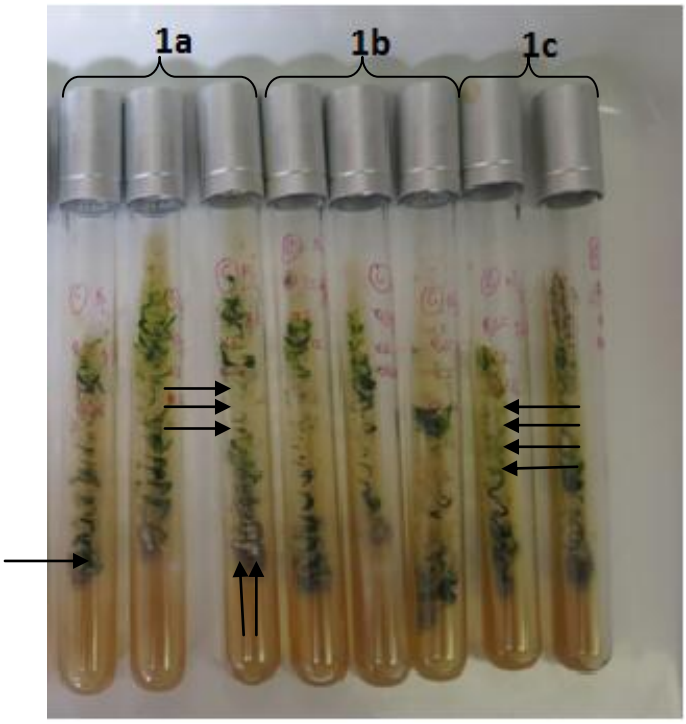
4.1.5. *Chlorella vulgaris*

4.1.5.1. Morfološke promjene u izolatima slobodnoživuće alge Chlorella vulgaris

Tijekom promatranja u kontrolnoj skupini nisu uočene morfološke promjene. Alge su rasle i bile vijabilne (Slika 8.a). Treći dan nakon tretiranja alge su u najnižoj koncentraciji (0,2 gL^{-1}) naringenina bile bljeđe nego u kontrolnoj skupini. U 50 % epruveta su se pri dnu algi pojavile bijelo – zelene mjehuraste tvorevine. U srednjoj koncentraciji (0,25gL^{-1}) naringenina uočeno je blijeđenje naspram kontrolne skupine te su se u 35 % epruveta pojavile mjehuraste tvorbe na algama i vidjela se bijela tvar. U najvišoj koncentraciji (0,3 gL^{-1}) naringenina uočeno je da su alge u svim epruvetama bljeđe u odnosu na prethodne koncentracije i kontrolu, te su se u svim epruvetama pojavile bijelo – zelene mjehuraste tvorbe (Tablica 9). Šesti dan nakon tretiranja u svim su se koncentracijama i epruvetama pojavile bijelo – zelene mjehuraste tvorevine i plijesan (Slika 8.b).



Slika 8.a. Vrsta *Chlorella vulgaris* tijekom pokusa. Chlorella test. Kontrolni uzorak.



Slika 8.b. Vrste alga *Chlorella vulgaris* tretirane s tri koncentracije naringenina tijekom pokusa. Chlorella test. **1a** – vrsta alge *Chlorella vulgaris* tretirana koncentracijom 0,2 gL^{-1} naringenina, **1b** – vrsta alge *Chlorella vulgaris* tretirana koncentracijom 0,25 gL^{-1} naringenina, **1c** – vrsta alge *Chlorella vulgaris* tretirana koncentracijom 0,3 gL^{-1} naringenina. Mjehuraste tvorbe (jedna strelica). Plijesan (dvije strelice). Blijeđenje (tri i četiri strelice).

Tablica 9. Blijeđenje vrste *Chlorella vulgaris (%)*

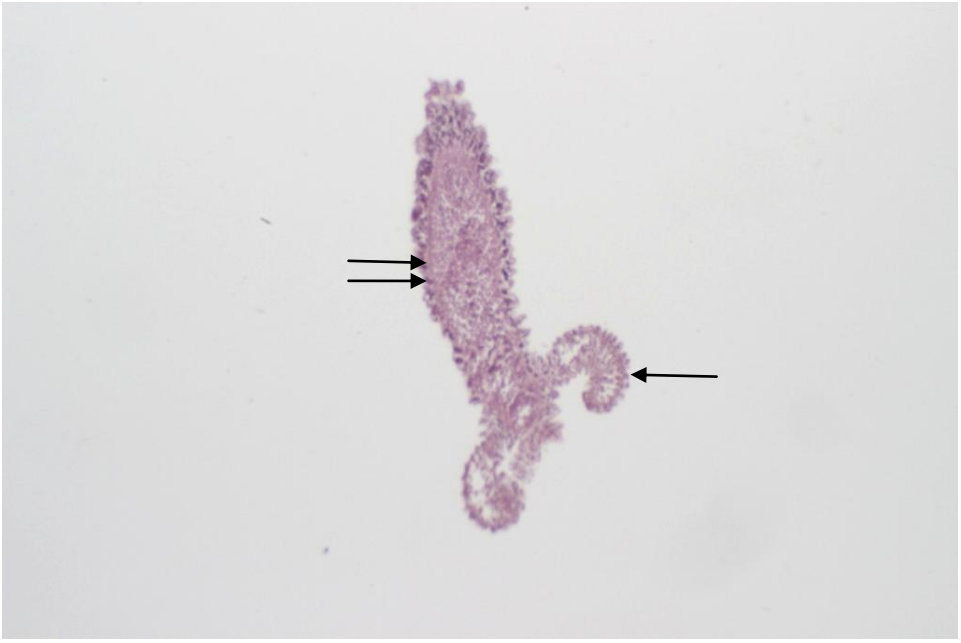
KONCENTRACIJA NARINGENINA	72 h	144 h
KONTROLA	0	0
0,2 gL^{-1}	30	30
0,25 gL^{-1}	50	50
0,3 gL^{-1}	60	60

4.2. Citološka analiza

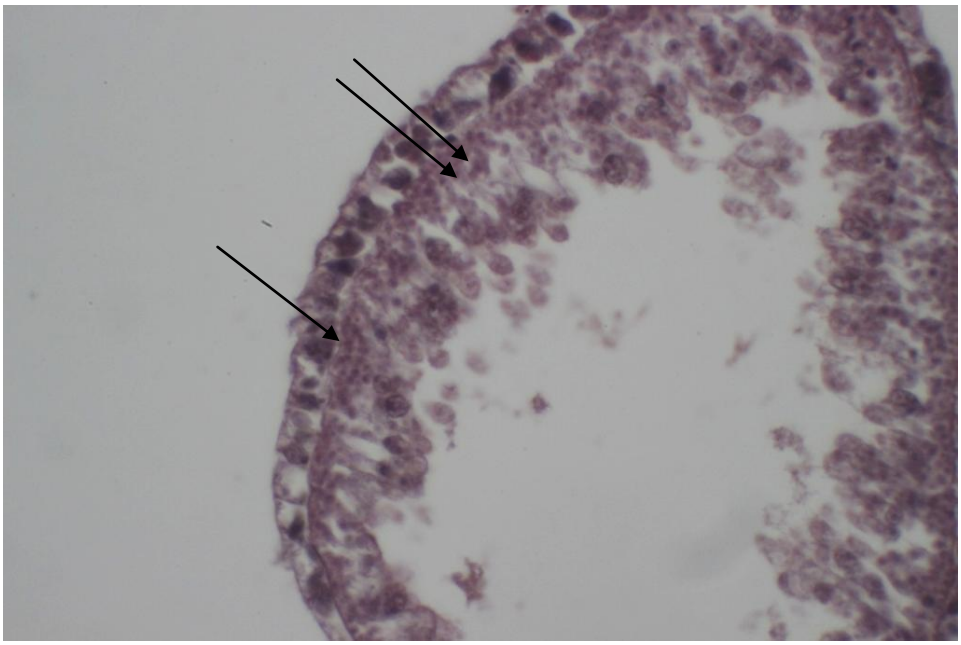
4.2.2. *Hydra viridissima*

4.2.2.1. Citološke promjene u vrste Hydra viridissima

U kontrolnoj skupini tijekom pokusa sva su tri sloja hidre bila neoštećena, a lovke dobro vidljive (Slika 9.a). U skupini hidri tretiranoj koncentracijom 0,3 gL^{-1} naringenina uočeno je da je mezogleja zadebljana. Također, vidi se nepravilan raspored algi u tijelu hidre, a ima ih velik broj u stoplanom dijelu te je manji broj intersticijskih stanica migrirao prema mezogleji (Slika 9.b).



Slika 9.a. *Hydra viridissima* kontrolni uzorak. Lovke (jedna strelica). Mezogleja ravna i neoštećena (dvije strelice). Povećanje 5x. Hemalaun – eozin.

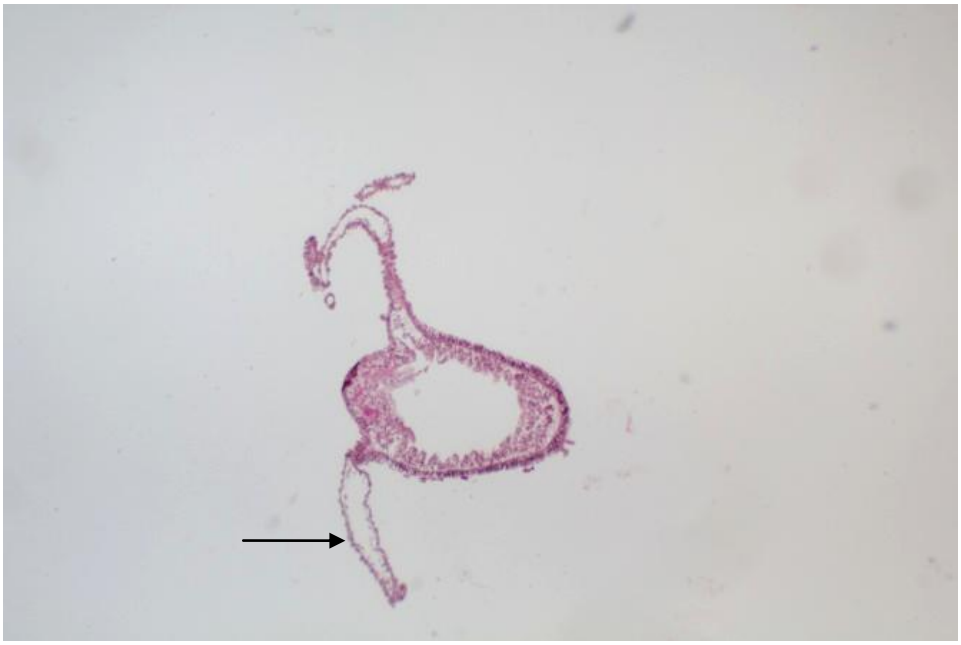


Slika 9.b. *Hydra viridissima* tretirana s koncentracijom 0,3 gL^{-1} naringenina. Mezogleja zadebljana (jedna strelica). Nepravilan raspored alga unutar tijela hidre (dvije strelice). Povećanje 40x. Hemalaun – eozin.

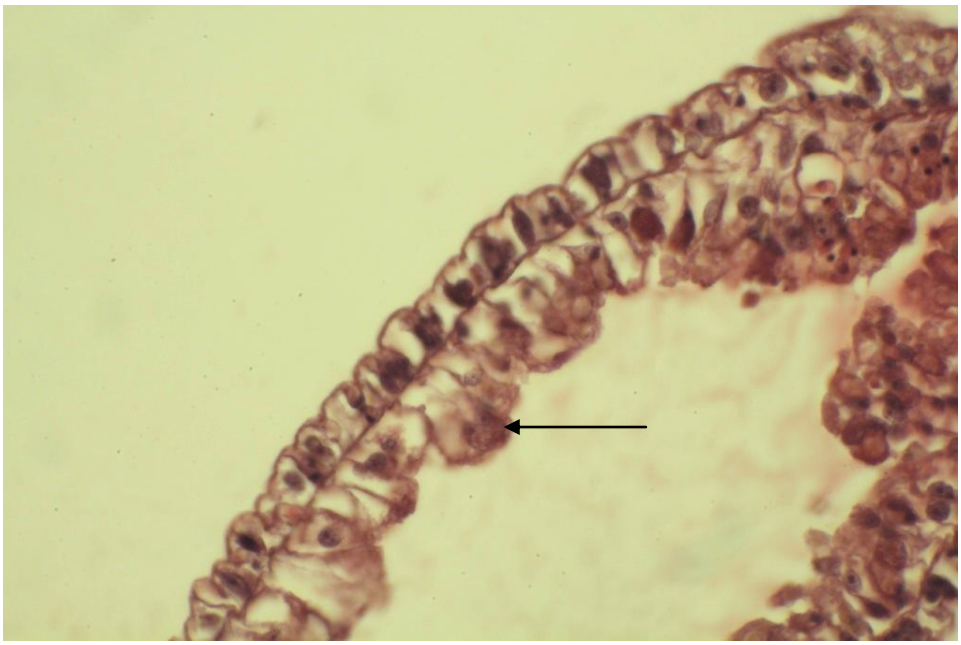
4.2.1. *Hydra oligactis*

4.2.1.1. Citološke promjene u vrste Hydra oligactis

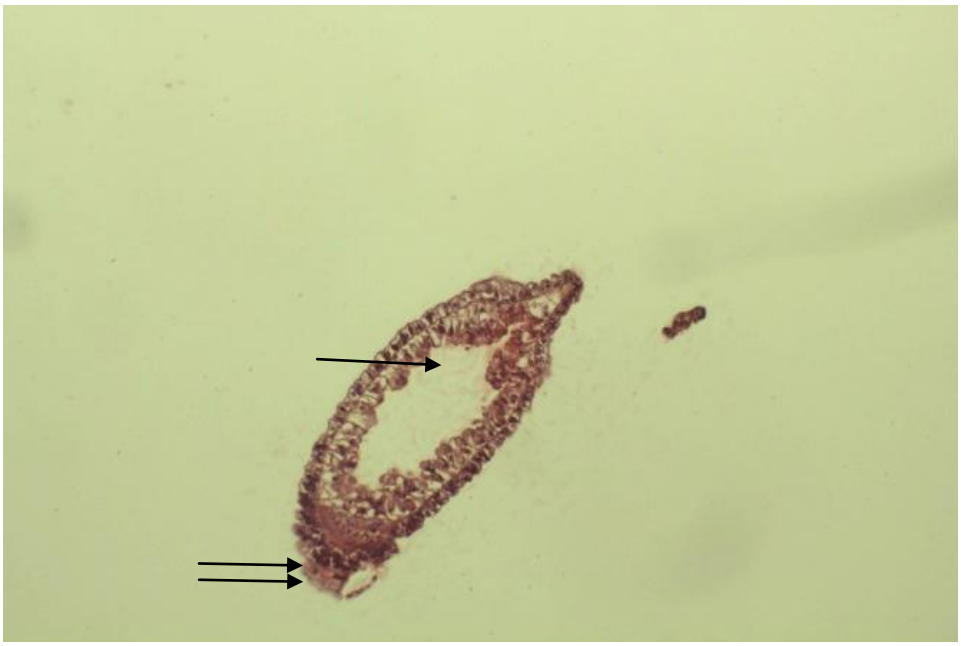
U kontrolnoj skupini tijekom pokusa sva su tri sloja hidre bila neoštećena, a lovke dobro vidljive. Gastrodermalna šupljina je bila prazna (Slika 10.a). Ni pri najnižoj koncentraciji (0,2 gL^{-1}) naringenina značajnija oštećenja nisu uočena. Zimogene stanice su migrirale prema mezogleji u svrhu regeneracije oštećenih dijelova tijela (Slika 10.b). Gastrodermalna šupljina je bila prazna (Slika 10.c). Također pri najvišoj koncentraciji (0,3 gL^{-1}) naringenina nisu uočena veća oštećenja. U gastrodermalnoj šupljini nalazila se manja količina oštećenih stanica (Slika 10.d). Mezogleja je bila nepravilna i prividno tanja. Intersticijske stanice su bile u procesu dediferencijacije (Slika 10.e).



Slika 10.a. *Hydra oligactis* iz kontrolne skupine. Dobro uočljive lovke (strelica). Povećanje 5 x. Hemalaun – eozin



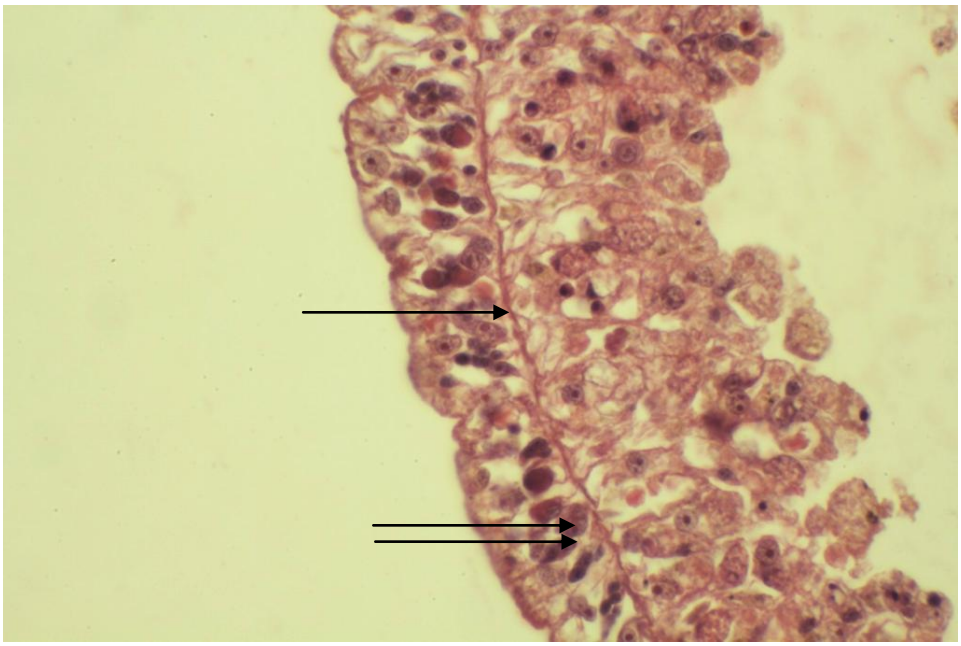
Slika 10.b. *Hydra oligactis* tretirana koncentracijom 0,2 gL^{-1} naringenina, 72 sata nakon tretiranja. Zimogene stanice u procesu dediferencijacije (strelica). Povećanje 40x. Hemalaun – eozin.



Slika 10.c. *Hydra oligactis* tretirana koncentracijom 0,2 gL^{-1} naringenina. Gastrodermalna šupljina prazna (jedna strelica). Stopalo s većim količinama sluzi (dvije strelice). Povećanje 10x. Hemalaun – eozin.



Slika 10.d. *Hydra oligactis* tretirana koncentracijom 0,3 gL^{-1} naringenina. Gastrodermalna šupljina djelomično ispunjena oštećenim stanicama (strelica). Povećanje 10x. Hemalaun – eozin.

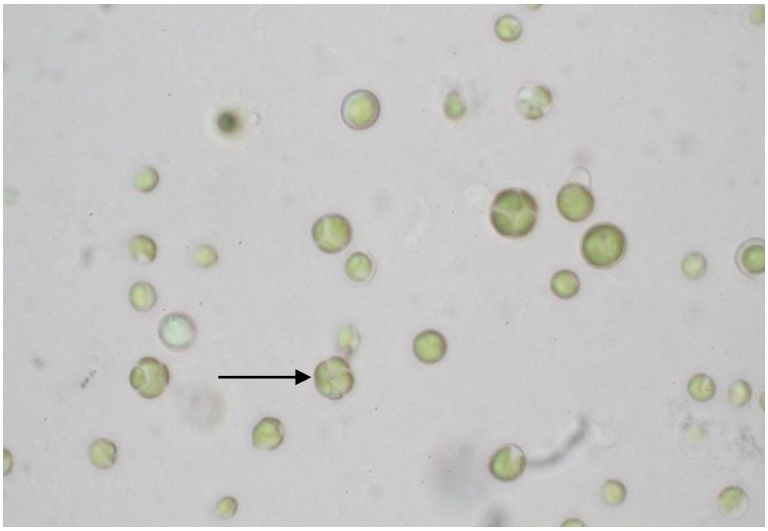


Slika 10.e. *Hydra oligactis* tretirana koncentracijom 0,3 gL^{-1} naringenina. Mezogleja utanjena (jedna strelica). Intersticijske stanice u procesu dediferencijacije (dvije strelice). Povećanje 40x. Hemalaun – eozin.

4.2.3. *Mychonastes homosphaera*

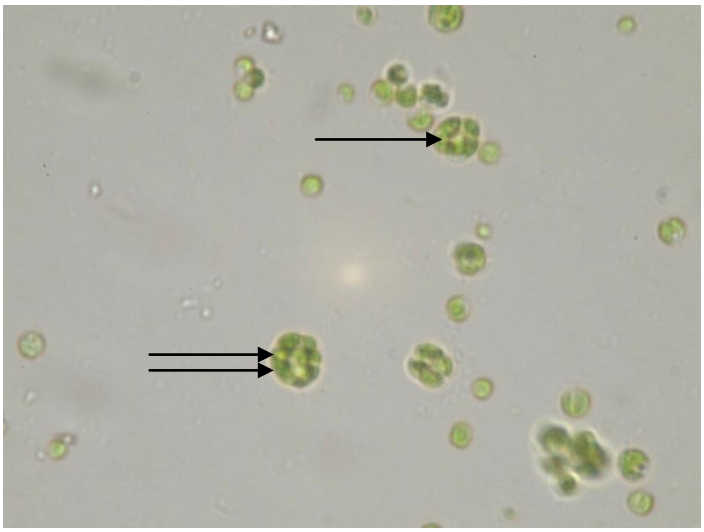
4.2.3.2. Citološke promjene izolata u endosimbiotske alge Mychonastes homosphaera

Treći dan nakon postavljanja pokusa u kontrolnoj skupini uočene su diobe na do pet stanica kćeri. Kloroplasti su bili pravilni i zeleni, a stanice praznih lumena nisu bile prisutne (Slika 11.a).



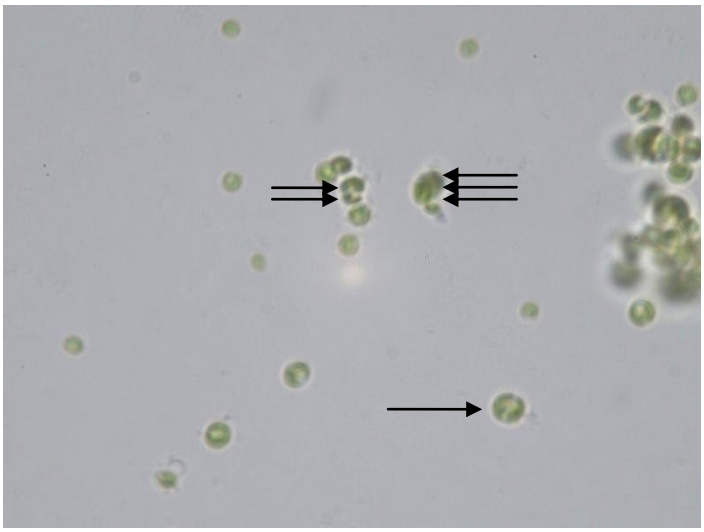
Slika 11.a. *Mychonastes homosphaera*, kontrolni uzorak. Dioba na do pet stanica kćeri (strelica). Povećanje 40x.

Treći dan nakon tretiranja pri najnižoj koncentraciji (0,2 gL^{-1}) naringenina uočeno je da se stanice drže u nakupinama kao posljedica diobe, ali se nisu odjeljivale (Slika 11.b). Kloroplasti su bili cjeloviti i pravilnog izgleda. Stanice su bile sitnije, različitih veličina, nepravilne forme, no zelene boje. Uočen je pokušaj diobe na do tri stanice kćeri, a kloroplasti su bili u fazi raspadanja, dok su jezgre bile dobro vidljive.



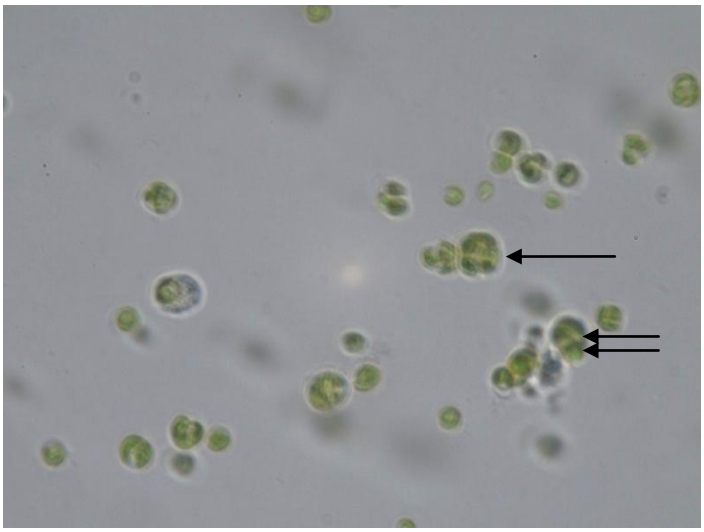
Slika 11.b. *Mychonastes homosphaera* tretirana s 0,2 gL^{-1} naringenina. Pokušaji diobe (jedna strelica). Kloroplasti u fazi raspadanja (dvije strelice). Povećanje 40x.

Treći dan nakon tretiranja pri srednjoj koncentraciji (0,25 gL^{-1}) naringenina uočeno je da su kloroplasti bili fragmentirani, stanice praznog lumena te da su se grupirale. Uočljiva su bila oštećenja kloroplasta koja su se manifestirala u obliku zelenih točki. Bio je manji broj dioba u odnosu na kontrolu, a stanice su se dijelile na dvije do četiri stanice kćeri. Bile su slabijeg intenziteta zelene boje. Također, bili su uočeni neuspješni pokušaji diobe na do pet stanica kćeri, jer se stanice nisu odjeljivale. Kloroplasti su bili nepravilni, fragmentirani na šest ili više dijelova ili su se raspadali u kuglaste tvorbe. Uočeni su djelomično prazni lumeni stanica (Slika 11.c).



Slika 11.c. *Mychonastes homosphaera* tretirana s 0,25 gL^{-1} naringenina. Neke stanice djelomično praznog lumena (jedna strelica). Neuspješni pokušaji diobe (dvije strelice). Zelene točke kao posljedice degradacije kloroplasta (tri strelice). Povećanje 40x.

Treći dan nakon tretiranja pri najvišoj koncentraciji (0,3 gL^{-1}) naringenina uočeni su neuspješni pokušaji diobe. Stanice su se držale u nakupinama do četiri stanice. Kloroplasti su imali oštećenja u obliku zelenih točki te su bili fragmentirani, amorfni i raspadali se. Uočene stanice su bile žućkaste i pravilnog oblika. Jasno su se vidjeli fragmentirani kloroplasti. Uočena je inhibicija rasta (Slika 11.d).

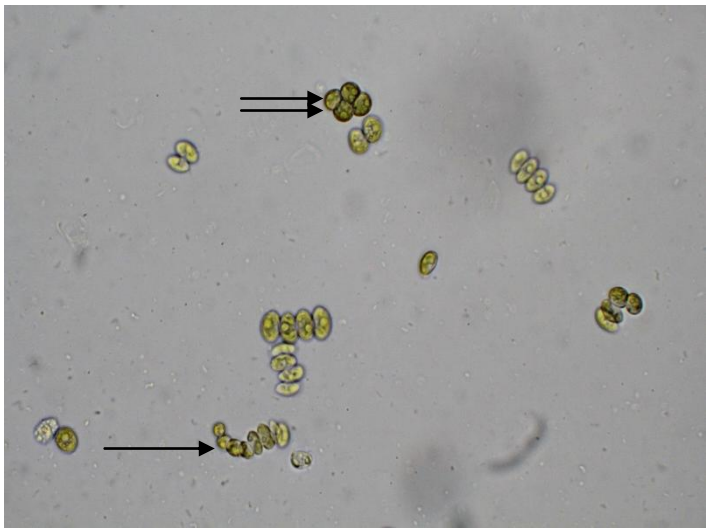


Slika 11.d. *Mychonastes homosphaera* tretirana s 0,3 gL^{-1} naringenina. Nakupine do četiri stanica (jedna strelica). Fragmentiranost kloroplasta (dvije strelice). Povećanje 40x.

4.2.4. *Desmodesmus subspicatus*

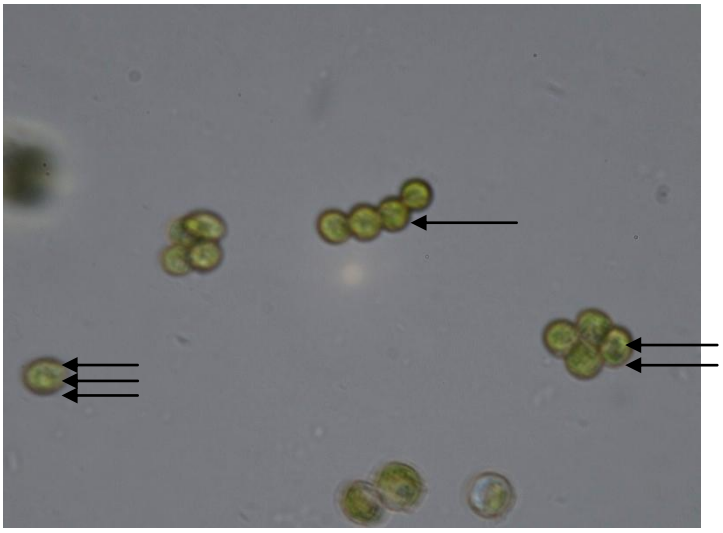
4.2.4.1. Citološke promjene izolata u endosimbiotkse alge Desmodesmus subspicatus

Treći dan nakon postavljanja pokusa u kontrolnoj skupini je vidljivo da su jezgre lijepo razlučive. Stanice su okrugle i spojene po četiri u cenobiju. Karakteristično se drže u tetradama. Prisutni su i prijelazni oblici (Slika 12.a).



Slika 12.a. *Desmodesmus subspicatus*, kontrolni uzorak. Osam stanica u cenobiju (jedna strelica). Karakteristične tetrade (dvije strelice). Povećanje 40x.

Treći dan nakon tretiranja pri najnižoj koncentraciji (0,2 gL^{-1}) naringenina uočene su zelene točke kloroplasta koji su bili fragmentirani (Slika 12.b). Stanice su bile izblijeđene. U kontrolnoj skupini stanice su bile okrugle i spojene po četiri u cenobiju. Neke stanice su se držale po četiri u nepravilnim cenobijima (Slika 12.c). Također, uočeno je da su tetrade bile djelomično izblijeđene. Neke su tetrade bile nevijabilne. Uočen je prazan lumen stanica. Stanice su općenito bile slabo vijabilne. Cenobij čine po tri stanice, a pojedinačne stanice su bile mrtve.



Slika 12.b. *Desmodesmus subspicatus* tretriana s 0,2 gL^{-1} naringenina. Stanice se drže po četiri u cenobijima (jedna strelica) i tetradama (dvije strelice). Diobe nisu uspješne. Fragmentiranost kloroplasta (tri strelice). Povećanje 40x.



Slika 12.c. *Desmodesmus subspicatus* tretirana s 0,2 gL^{-1} naringenina. Stanice po četiri u nepravilnim cenobijima (jedna strelica). Povećanje 40x.

Treći dan nakon tretiranja pri srednjoj koncentraciji (0,25 gL^{-1}) naringenina bili su uočeni cenobiji po četiri stanice. Vidjele su se tetrade s po četiri stanice kao i diobe unutar samih cenobija (Slika 12.d). Kloroplasti su bili amorfni. Vidjele su se nepravilnosti u prijelaznim oblicima. Neke stanice su bile prazne, što upućuje na smrtnost, a neke su bile žućkaste boje. Cenobiji su bili prazni.



Slika 12.d. *Desmodesmus subspicatus* tretriana s 0,25 gL^{-1} naringenina. Cenobij sastavljen od četiri stanice (jedna strelica). Nepravilan cenobij (dvije strelice). Nepravilna tetrada (tri strelice). Povećanje 40x.

Treći dan nakon tretiranja pri najvišoj koncentraciji (0,3 gL^{-1}) naringenina stanice su bile raspadnute, nevijabilne i nisu rasle. Kloroplasti su bili amorfni, a stanice praznog lumena (Slika 12.e).

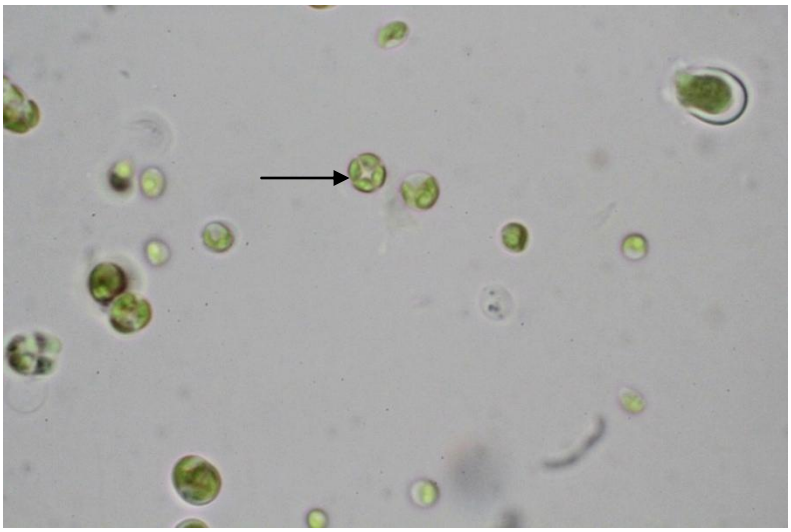


Slika 12.e. *Desmodesmus subspicatus* tretriana s 0,3 gL^{-1} naringenina. Mrtve stanice (strelica) i nevijabilna tetrada (dvije strelice). Povećanje 40x.

4.2.5. *Chlorella vulgaris*

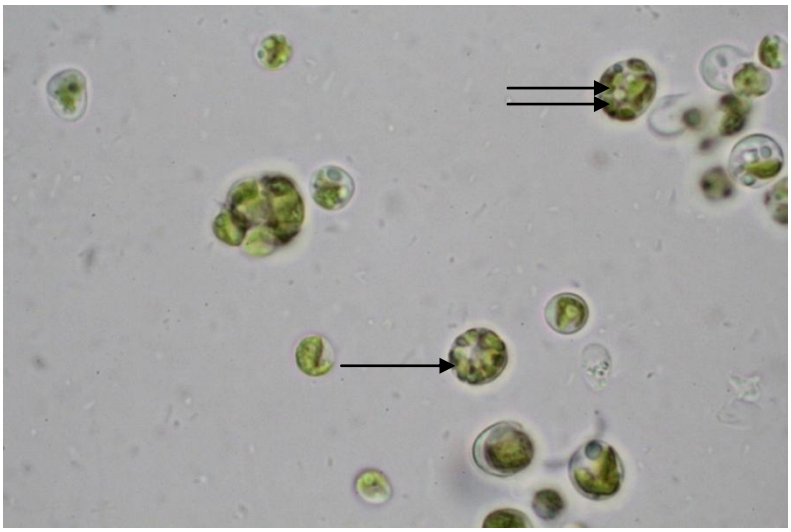
4.2.5.1. Citološke promjene u slobodnoživuće alge Chlorella vulgaris

Treći dan nakon postavljanja pokusa u kontrolnoj skupini nisu bile uočene citološke promjene. Sve stanice su bile pravilne. Dijelile su se na do četiri stanice kćeri (Slika 13.a). Kloroplasti su bili pravilni.



Slika 13.a. *Chlorella vulgaris*, kontrolni uzorak. Stanice se dijele na do četiri stanice kćeri (strelica). Povećanje 40x.

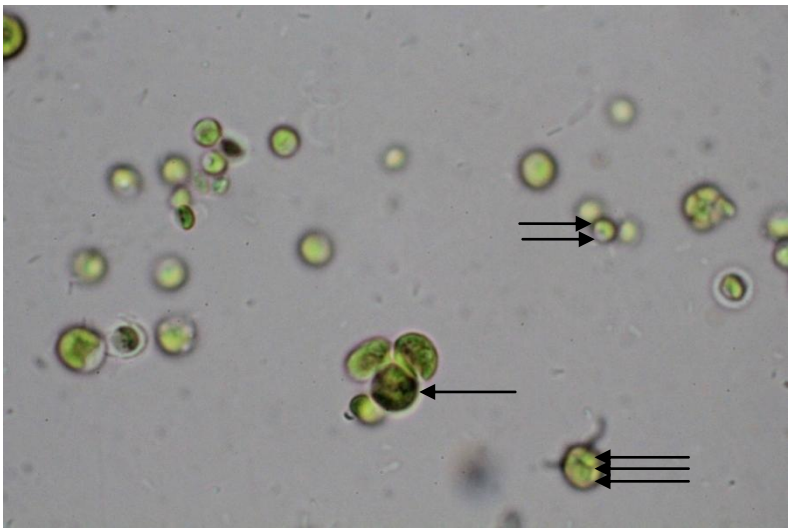
Treći dan nakon tretiranja pri najnižoj koncentraciji (0,2 gL^{-1}) naringenina bili su uočeni mnogi pokušaji dioba na dvije ili tri stanice kćeri. Stanice su se držale u nakupinama, a vijabilnost im je bila slaba. Prisutna je bila inhibicija rasta. Neke su stanice bile mrtve. Kloroplasti su bili u fazi raspadanja (Slika 13.b).



Slika 13.b. *Chlorella vulgaris* tretirana s 0,2 gL^{-1} naringenina. Pokušaji dioba na više stanica kćeri (jedna strelica). Nevijabilne stanice fragmentiranih kloroplasta (dvije strelice). Povećanje 40x.

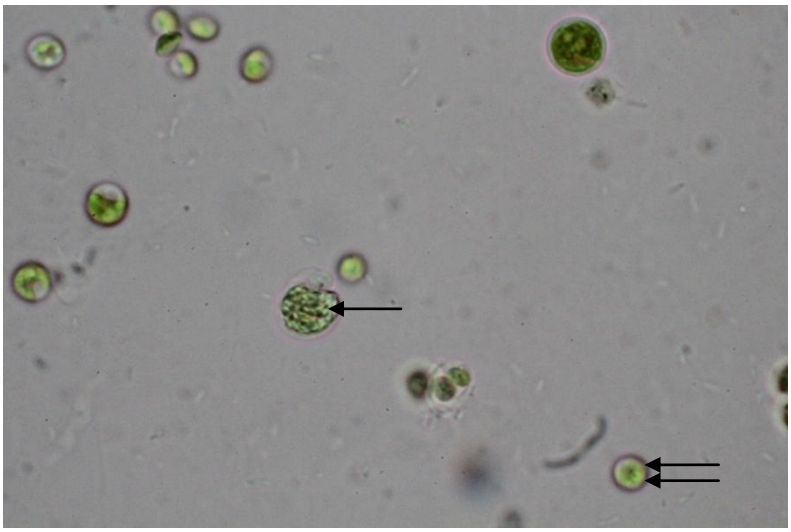
Treći dan nakon tretiranja pri srednjoj koncentraciji (0,25 gL^{-1}) naringenina uočeno je da se stanice još više nakupljaju. Pojedinačne stanice su bile dobro očuvane. Stanice su bile

žućkaste i slabo vijabilne. Uočeni su bili neuspješni pokušaji dioba. Kloroplasti su bili fragmentirani u obliku žutih točki (Slika 13.c).



Slika 13.c. *Chlorella vulgaris* tretirana s 0,25gL^{-1} naringenina. Zelene točke fragmentiranih kloroplasta (jedna strelica). Stanice žućkaste boje (dvije strelice). Neuspješni pokušaji diobe (tri strelice). Povećanje 40x.

Treći dan nakon tretiranja pri najvišoj koncentraciji (0,3 gL^{-1}) naringenina uočene su stanice bile različitih veličina i dijelom praznih i velikih lumena. Uočena je fragmentiranost kloroplasta. Neke stanice su bile oštećene i nepravilnog oblika (Slika 13.d). Bile su prisutne neuspješne diobe.

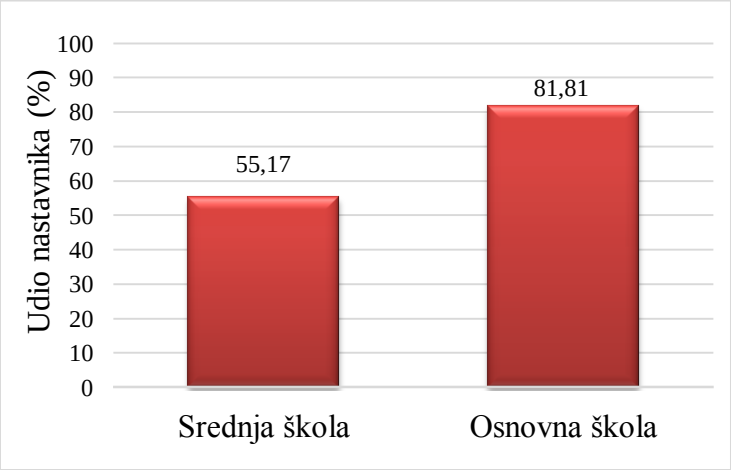


Slika 13.d. *Chlorella vulgaris* tretirana s 0,3gL^{-1} naringenina. Oštećene stanice nepravilnog oblika (jedna strelica). Neuspješne diobe (dvije strelice). Povećanje 40x.

4.3. Mogućnost primjene predloženog pokusa u školi

4.3.1. Ponuda izvannastavnih aktivnosti u školama

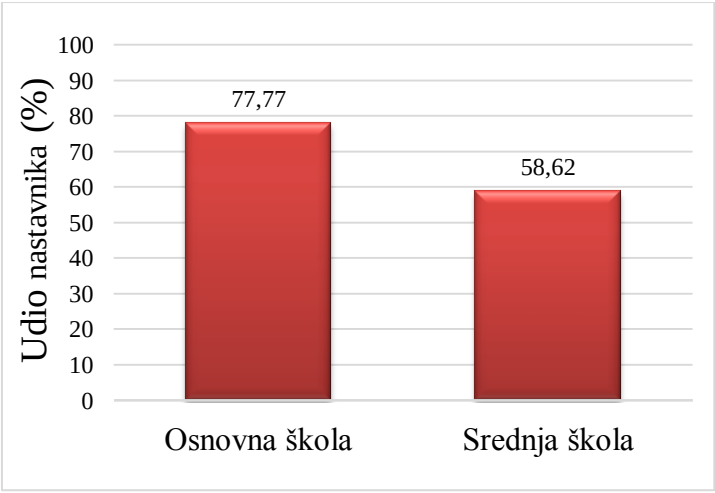
Većina osnovnih škola nudi izvannastavne aktivnosti i to 81,81 % , dok srednje škole u nešto manjoj mjeri s 55,17 % (Slika 14).



Slika 14. Ponuda izvannastavnih aktivnosti ovisno o školi

4.3.2. Raspoloživost prostora za izvođenje eksperimentalnog rada

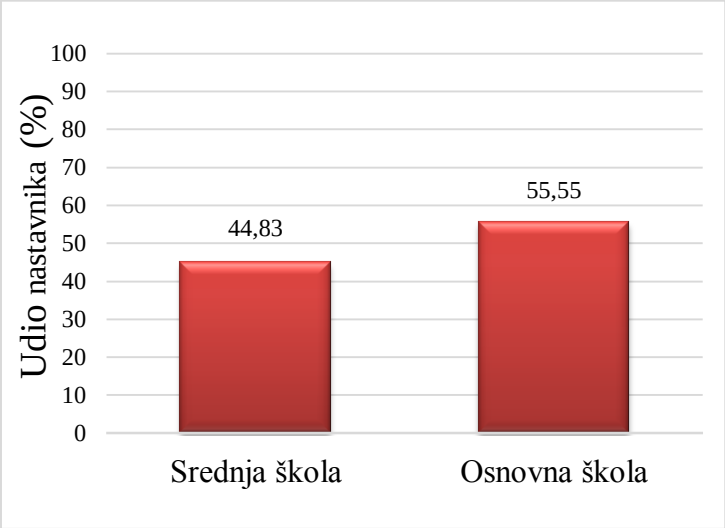
Ankete pokazuju da osnovne škole imaju više prostora za izvedbu izvannastavnih aktivnosti u odnosu na srednje škole. Sedamdeset sedam posto osnovnih škola ima prostor za izvedbu izvannastavnih aktivnosti, a 58,62 % srednjih škola (Slika 15).



Slika 15. Raspoloživost prostora za izvedbu izvannastavnih aktivnosti ovisno o školi

4.3.3. Raspoloživost vremena za izvođenje eksperimentalnog rada

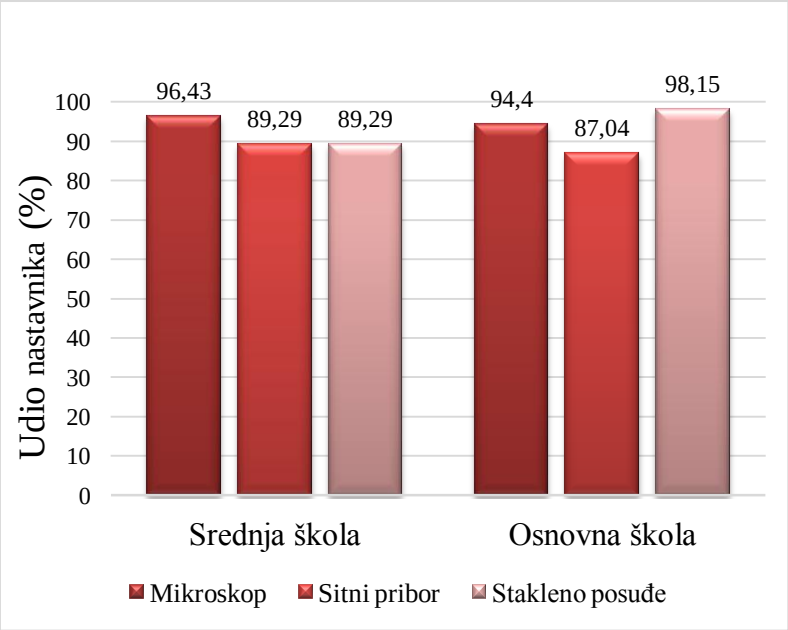
Više vremena u kojem bi bila moguća izvedba izvannastavnih aktivnosti imaju nastavnici u osnovnim školama i to 55,55 %. Nastavnici srednjih škola imaju nešto manje vremena za izvedbu izvannastavnih aktivnosti. Njih 44,83 % imaju to vrijeme (Slika 16).



Slika 16. Raspoloživost vremena za izvedbu izvannastavnih aktivnosti ovisno o školi

4.3.4. Raspoloživost pribora potrebnog za izvođenje predloženog pokusa

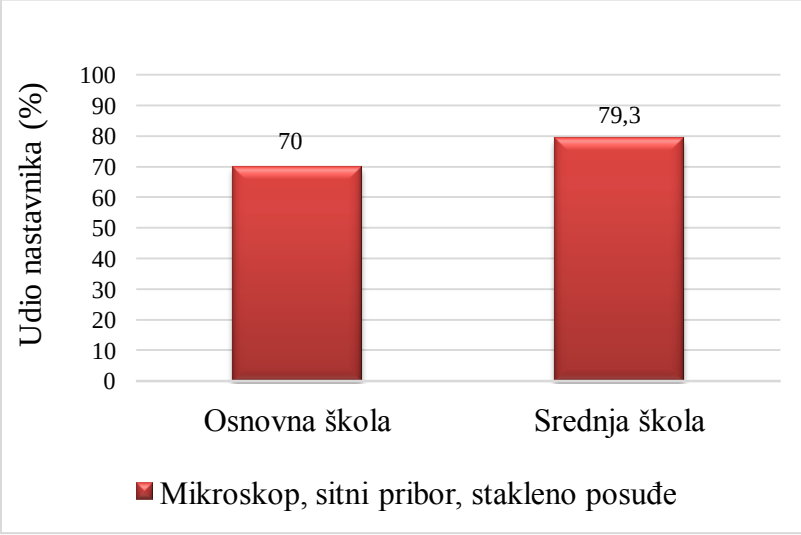
Ustanovljeno je da 96,43 % srednjih škola posjeduje mikroskop, dok osnovnih 94,04 %. Više sitnog pribora imaju srednje škole i to 89,29 %, a osnovne škole nešto manje, 87,04%. Stakleno posuđe koje je također važno za ovaj eksperiment u većoj mjeri posjeduju osnovne škole i to 98,15 % njih, dok srednje škole 89,29 % (Slika 17).



Slika 17. Raspoloživost pribora ovisno o školi

4.3.5. Raspoloživost svega potrebnog za izvođenje pokusa

Ustanovljeno je da 70 % nastavnika u osnovnim školama, a 79,3 % u srednjim školama posjeduje potreban pribor i opremu za izvođenje ovakvog i/ili sličnog pokusa.



Slika 18. Raspoloživost svega potrebnog za izvođenje pokusa

5. RASPRAVA

Zbog sve većeg utjecaja različitih toksikanata na svakodnevni život čovjeka, brojna su istraživanja provedena na slatkovodnim beskralježnjacima, poput plošnjaka *Polycelis felina* Daly (Kalafatić i sur. 2001), smeđih (*Hydra oligactis*) i zelenih hidri (*Hydra viridissima*) (Kovačević i sur. 2006, 2013) te endosimbiotskih algi izoliranih iz zelene hidre i slobodnožvućih algi. U ovom radu se po prvi puta istražio učinak flavonona naringenina na smeđe i zelene hidre te alga izolirane iz zelene hidre i srodne slobodnoživuće alge tj. po prvi puta se koristila ovakva serija simbiotskih i aposimbiotskih organizama i njihovih srodnika.

Rezultati istraživanja su pokazali da naringenin uzrokuje morfološke i citološko – histološke promjene na organizmima. Uočene su također i promjene u lokomociji hidri te promjene struktura mikroalgi pri svim koncentracijama. Zapažena je i smrtnost organizama.

Smrtnost je jedan od glavnih parametra prema kojima se može pratiti učinak određenog toksikanta (Zupan i Kalafatić 2003). Zanimljivo je da je najveća smrtnost uočena pri srednjoj korištenoj koncentraciji naringenina koja je iznosila 0,25 gL^{-1}, a ne u najvišoj korištenoj koncentraciji (0,3 gL^{-1}). U smeđih hidri je već drugi dan nakon početka pokusa smrtnost iznosila 70 %, dok je u zelenih hidri ona bila niža, 25 %. No, treći dan nakon postavljanja eksperimenta pri toj koncentraciji u obje vrste smrtnost je iznosila 100 %. Kod zelenih hidri nije uočena smrtnost pri najnižoj i najvišoj koncentraciji, jedino je bila kritična srednja koncentracija (0,25 gL^{-1}) pri kojoj je smrtnost treći dan nakon tretiranja dosegla 100 %. Zelena hidra je simbiotska vrsta i lakše se prilagođava nepovoljnim uvjetima u neposrednom okolišu, a poznato je da u eksperimentima s beskralježnjacima niže koncentracije nekog toksikanta mogu uzrokovati veće deformacije na test – organizmima (Pavlica i sur. 2000). Također, zelene hidre su se nespolno razmnožavale pupanjem te se njihov broj povećao, dok smeđe hidre nisu pokazale znakove pupanja. Količina sluzi u zelene hidre pri srednjoj koncentraciji je bila puno veća, nego u smeđe hidre. Sluz koju hidra ispušta predstavlja obrambeni mehanizam na djelovanje toksikanta (Burnett 1973). Također, uočeno je da su lovke kod zelene hidre kraće u odnosu na lovke smeđih hidri, jer predstavljaju vrlo nježni dio ove male životinje. Budući da su lovke u direktnom kontaktu s toksikantom te su građene od sitnih stanice epitela, toksikant u njih lako ulazi i uništava ih pa se na lovkama najlakše mogu uočiti morfološke promjene (Kalafatić i Kopjar 1994). Kod smeđih hidra je uočena redukcija broja lovki i to u 100 % hidri tijekom sva tri dana tretiranja pri srednjoj koncentraciji. Također, smeđe hidre su pri višim koncentracijama toksikanta bile sve manje

podražljive te su nakon trećeg dana pri najvišoj koncentraciji bile kontrahirane, dok su ostale bile mrtve. Srednja koncentracija je i u ovom parametru pokazala specifičnost. Već prvi dan nakon tretiranja, tek 50 % hidri je jedva reagiralo na podražaj, a već drugi dan taj se postotak smanjio na 30 % hidri. Kod zelenih hidri nije bila uočena tolika smanjena podražljivost pri zadanim koncentracijama. Zelene hidre su bile u relaksiranijem obliku nego smeđe hidre. Time možemo zaključiti da je naringenin više utjecao na smeđe, nego na zelene hidre, potvrđujući prednosti simbiotskog organizma, čemu ide u prilog i činjenica da su smeđe hidre ranije migrirale od zelenih hidri pod učinkom istog toksikanta. Migracija prema površini hidrama omogućuje izbjegavanje nepovoljnih okolišnih uvjeta (Burnett 1973).

Također su uočene promjene na svim promatranim vrstama algi. Učinak naringenina na algama je istražen pomoću testa toksičnosti Chlorella testa. Chlorella test je jeftina, brza i lako primjenjiva metoda za detekciju toksičnosti, pa se može široko primjenjivati u ekotoksikološkim istraživanjima (Kovačević i sur 2008) te sam mogla pratiti posljedice izlaganja toksikantu i kvantitativno i kvalitativno ih izraziti. Najveće blijeđenje je uočeno u vrste CZ 155 što je razumljivo jer je i u samom rastu u kulturi osjetljivija od CZ 112 i CV 117. Blijeđenje je u vrste CZ 155 u 100 % epruveta uočeno pri srednjoj i najvišoj koncentraciji. Sve vrste algi pokazale su reakciju na toksikant blijeđenjem kultura u epruvetama, a vrsta CZ 155 je u početku tretiranja naringeninom bila najbrže oslabljena. Također, uočene su zeleno – bijele mjehuraste tvorbe u vrste CV 117. Moguće je da su te mjehuraste tvorbe oblik izbacivanja toksikanta iz organizma alge. Poznato je kako hidra posjeduje mehanizme stanične detoksikacije pri čemu se toksikant izbacuje iz organizma uz pomoć sluzi (Kovačević i sur. 2009b). Također, bilo je vidljivo da su alge ispod mjehuraste tvorbe izrazito zelene boje. O samom sastavu te mjehuraste tvorbe može se za sada samo nagađati. Pretpostavljam da je sačinjena od vode i naringenina. Moguće da je sastavni dio i agar koji bi tu tvorbu držao kompaktnom, nabubrenom i nepomičnom. Bilo bi zanimljivo u daljnjem istraživanju analizirati ih. Takve mjehuraste tvorbe nisu uočene niti kod jedne izolirane endosimbiotske vrste algi. Moguće da je vrsta CV 117 kao slobodnoživuća ujedno i manje osjetljiva. Također, postoji mogućnost da vrste CZ 155 i CZ 112 posjeduju takve mehanizme detoksikacije, no nisu bile u mogućnosti iskoristiti ih zbog prevelikog oštećenja stanica. Upravo zbog toga jer su aposimbiotske vrste neprilagođenije nepovoljnim uvjetima okoliša, može se reći da obje vrste stiču korist stvaranjem simbiotskog odnosa s hidrom.

Najveće promjene su uočene pri srednjoj koncentraciji od 0,25 gL^{-1}. Aposimbiotske alge su pri toj koncentraciji pokazale veće promjene, što ukazuje na činjenicu da imaju

smanjenu mogućnost obrane od toksičnog naringenina. Preživljavanje simbionata izvan stanice domaćina otežano je jer su simbionti već predali svom domaćinu pojedine dijelove svog genetičkog materijala (Habetha i sur. 2003). Osim što su aposimbiotske alge osjetljivije od slobodnoživućih srodnika, istraživanja različitih toksikanata na simbiotskoj i aposimbiotskoj hidri pokazala su kako i aposimbiotska hidra pokazuje nižu granicu osjetljivosti u nepovoljnim uvjetima od endosimbiotske hidre (Karntanut i Pascoe 2002).

Iako je pri najvišoj koncentraciji toksikanta uočeno najveće blijeđenje, ukazujem na specifičnost srednje koncentracije. Također, pri srednjoj koncentraciji u vrste CV 117 bila je najveća pojavnost bijelo – zelenih mjehurastih tvorbi tijekom svih dana promatranja. I sama pojava plijesni je u toj koncentraciji bila izrazitija.

Mikroskopiranjem najveće promjene su uočene na kloroplastima u svih vrsta algi. Moguće je da su kloroplasti izgubili svoj tekući sadržaj i skupili se, što je dovelo do pojave zelenih točaka. Gubitak tekućeg sadržaja moguć je zbog intenzivne lipidne peroksidacije u biološkim membranama što dovodi do gubitka fluidnosti, opadanja vrijednosti membranskoga potencijala, povećanja permeabilnosti prema H_3O^+ i drugim ionima te do moguće rupture stanice i otpuštanja njena sadržaja. Ove mikroskopske promjene idu u prilog tome da srednja koncentracija toksikanta (0,25 gL^{-1}) smanjuje vijabilnost organizama. Tome u prilog govore i podaci o uočenim diobama. Diobe su se uočavale kao tvorbe tri ili više stanica na okupu odijeljene pregradom. Broj dioba u svim koncentracijama endosimbiotskih vrsta (CZ 112 i CZ 155) se smanjio u odnosu na kontrolu i to posebice u srednjoj koncentraciji. Kod slobodnoživuće vrste CV 117 broj dioba je u najnižoj i najvišoj koncentraciji bio približno jednak kao u kontroli, no u srednjoj koncentraciji bili su uočeni neuspješni pokušaji diobe. Najnepravilnije diobe uočene su kod vrste CZ 155, što je još jedan dokaz njihove visoke osjetljivosti na nepovoljne uvjete okoliša. Također, u ove vrste je već spomenuta njihova sposobnost formiranja cenobija i tetrada, kao i prijelaznih oblika. Pri srednjoj koncentraciji toksikanta uočena je smanjena mogućnost formiranja pravilnih cenobija od četiri stanice u ravnini. Također, stanice su pokazivale slabu vijabilnost i bile su žućkaste boje. Pri najvišoj koncentraciji toksikanta uočeno je da u pojedinim cenobijima samo jedna stanica vijabilna, a druga praznog lumena što znači da je dolazilo do izrazite smrtnosti stanica. Pri toj koncentraciji bilo je puno prijelaznih oblika i nedovršenih formi koje su bile deformirane.

Pošto naringenin ima antioksidacijsko djelovanje vjerojatno utječe na rast stanica i ima negativan učinak na organizme koji su pod njegovim djelovanjem. Mikroskopsko promatranje potvrdilo je rezultate makroskopskih opažanja tijekom pokusa.

Pojavnost onečišćenja u obliku plijesni tijekom tretiranja neočekivana je pojava prilikom eksperimentalnog rada u sterilnim uvjetima. Na što ukazuje ova neočekivana činjenica tek treba istražiti. Paraleleno izvođenje Chlorella testa u istom sterilnom prostoru i u isto vrijeme i na istim organizmima, ali koristeći drugi flavonoid nisu doveli do onečišćenja pa se postavlja pitanje potiče li naringenin rast plijesni.

Budući da praktičnim radom učenici uče na izvornoj stvarnosti, te lakše razumiju i savladavaju gradivo, u nastavu predmeta iz područja prirodnih znanosti nastoji se uvesti više praktičnog rada. Upravo nastava prirodnih znanosti, kako u osnovnim tako i u srednjim školama obiluje sadržajima koje je učenicima lakše usvojiti kroz aktivan rad. Naravno, u kolikoj će mjeri nastavnik aktivan rad uvrstiti u nastavu ovisi o više čimbenika. Da bi se ovakav pokus mogao implementirati u škole kroz izvannastavne aktivnosti, jedan od bitnijih čimbenika jest opremljenost škole. Osim toga, neophodno je vrijeme i prostor u kojem bi nastavnici mogli izvoditi predloženi pokus. Sve navedeno zahtijeva pojačani angažman škole koja nastavnicima mora osigurati uvjete za takav rad.

Rezultatima anketa koje su ispunili nastavnici osnovnih i srednjih škola većine županija Republike Hrvatske, ustanovljeno je da škole uglavnom nude izvannastavne aktivnosti, no unatoč tome, postoji problem nedostatka vremena i prostora. Nastavnici nemaju na raspolaganju vrijeme u kojem bi mogli izvesti ovakav pokus kroz izvannastavne aktivnosti ili projektnu nastavu u prostoru kojim raspolažu, ako ga imaju. Nadalje, mnogi nastavnici nemaju na raspolaganju odgovarajući prostor.

Analizom anketa utvrđeno je da osnovne škole prednjače nad srednjim školama, te imaju više vremena i prostora za izvedbu ovakvog pokusa. Osnovne škole u principu sadrže manje razrednih odjeljenja te postoji kabinetna nastava, odnosno prostor u kojem bi se laboratorijski pribor i oprema mogli čuvati. Nažalost srednje škole su često popunjenije, s više učenika i manjkom učionica te je nastavnicima teško posjedovati kabinet u kojem bi mogli čuvati pribor potreban za izvedbu pokusa. Utvrđeno je da nastavnicima i u osnovnim i u srednjim školama najveći problem predstavlja nedostatak vremena u kojem bi se mogli posvetiti ovakvom pokusu. Jedan od razloga je i dijeljenje prostora između dvije škole pa nije rijedak slučaj da isti prostor dijele dvije srednje ili srednja i osnovna škola, što nastavnicima

onemogućuje pronalazak vremena u kojem bi se mogle izvoditi izvannastavne aktivnosti ili projekt koji uključuje eksperimentalan način rada.

Većina nastavnika raspolaže priborom koji je neophodan za predloženi pokus te čak oko 95 % osnovnih i srednjih škola posjeduje mikroskop bez kojeg ovaj pokus nebi bilo moguće izvesti, što je u skladu s istraživanjem na području Splitsko-dalmatinske županije (Diplomski rad, Antonio Vidović, 2013). Škole posjeduju i stakleno posuđe, u nešto manjoj mjeri nego mikroskop, ali zadovoljavajućeg postotka. Osim toga, nastavnici smatraju da imaju dovoljno pribora za ovakav pokus što govori da opremljenost škola ne predstavlja prepreku. Analizom rezultata uočene su razlike u opremljenosti škola i raspoloživosti prostora i vremena, ovisno o županijama u kojima se nalaze. Naznake koje su uočene sugeriraju da bi bilo dobro provesti istraživanje o raspoloživosti opreme, prostora i vremena za rad u ovisnosti o gradovima i/ili županijama u kojima se škole nalaze.

Dobiveni rezultati te rezultati dobiveni istraživanjem motiviranosti nastavnika za izvođenje ovakvog pokusa u školi (Diplomski rad, Monika Karin, 2017), kao i istraživanja koja govore da nastavnici znaju prednosti aktivnog učenja i praktičnog rada u školi, ali ih nisu spremni primijeniti bez pomoći i voditelja (Bognar 2011) ukazuju na potrebu za prilagođavanjem ovog i sličnih pokusa za izvannastavne aktivnosti i nastavu biologije u školama, da bi se nastavnicima pružila bolja podrška u unaprjeđivanju nastave.

6. ZAKLJUČAK

- Morfološka i citološko – histološka građa hidri je bila izmijenjena nakon tretiranja naringeninom, a rezultati mikroskopskih opažanja potvrdili su makroskopska promatranja.
- Najizrazitije morfološke promjene uočene su pri srednjoj korištenoj koncentraciji 0,25 gL^{-1} naringenina prilikom čega je treći dan zabilježena smrtnost od 100 %, a ujedno su zelene hidre u najvećoj su mjeri pupale upravo pri srednjoj koncentraciji 0,25 gL^{-1} naringenina već prvi dan.
- Smeđa hidra bila je podložnija učinku naringenina od zelene hidre, potvrđujući prednost simbiotksog odnosa.
- Sve vrste algi su pokazale inhibiciju rasta i smanjenje intenziteta zelene boje pri povišenim koncentracijama naringenina, a najveći stupanj blijeđenja već treći dan nakon tretiranja je pokazala vrsta CZ 155 i to 100 %.
- Slobodnoživuća alga CV 117 pokazala je bolji rast od endosimbiotskih vrsta CZ 155 i CZ 112, a endosimbiotska vrsta CZ 112 je bolje prilagođena nepovoljnim uvjetima od endosimbiotske vrste CZ 155.
- Većina škola nudi izvannastavne aktivnosti, a škole uglavnom u većoj mjeri imaju potreban pribor i uređaje
- Većina nastavnika raspolaže odgovarajućim prostorom, oko polovice nastavnika raspolaže i potrebnim vremenom, ali ipak prostor i vrijeme predstavljaju ograničavajući čimbenik za izvođenje priloženog i/ili sličnih pokusa u školi.
- Učenje uz pomoć ovakvog pokusa koristilo bi učenicima, a u većini škola ne postoje prepreke za njegovo izvođenje pa bi ga svakako trebalo prilagoditi za uvjete rada u školama i pomoći nastavnicima u unaprjeđivanju nastave.

7. LITERATURA:

Antón F. A., Ariz M., Alia M. (1993): Ecotoxic effects of four herbicides (glyphosate, alachlor, chlorotoluron and isoproturon) on algae *Chlorella pyrenoidosa*Chick. Science of The Total Environment. **134**: 845 – 851.

Beach M. J., Pascoe D. (1998): The role of Hydra vulgaris (Pallas) in assessing the toxicity of freshwater pollutants. Water Research. **32**: 101 – 106.

Beijernick M. W. (1890): Culturversuche mit Zoochlorellen, Lichenen – goniden und anderen niederen Algen. Botanische Zeitung. **45**: 726 – 784.

Bognar B. (2011): Akcijsko istraživanje i profesionalni razvoj učitelja nastavnika. Agencija za odgoj i obrazovanje, Zagreb.

Brandt K. (1882): Uber die morphologische und physiologische Bedeutung des Chlorophylls bei Thieren. Archiv für Anatomie, Physiologie und Wissenschaftliche Medicin. 125 – 151.

Burnett A. L. (1973): Biology of hydra. Academic Press, New York and London.

De Groot H., Rauen U. (1998): Tissue injury by reactive oxygen species and the protective effects of flavonoids. Fundamental & Clinical Pharmacology. **12**: 55 – 249.

De Zan I. (2005): Metodika nastave prirode i društva. Školska knjiga, Zagreb.

Douglas A. E. (1994): Symbiotic Interactions. Oxford University Press Inc, Oxford and New York.

Douglas A. E., Smith D. C. (1984): The green hydra symbiosis. VIII. Mechanisms in symbiont regulation. The Royal Society London. **221**: 298 – 319.

Ebringer L., Krajčovič J. (1994): Cell origin and evolution. Publishing House VEDA, Bratislava.

Fairchild J. F., Russler D. S., Carlson A.R. (1998): Comparative sensitivity of five species of macrophyts and six species of algae to atrazine, metribuzin, alachlor and metachlor. Environmental Toxicology and Chemistry. **17**: 1830 – 1834.

Goldberg M., Fraizer M. (1989): Alternatives to animals in toxicity testing. Scientific American. **261**: 16 – 22.

Habetha M., Anton – Erksleben F., Neumann K., Bosch T.C.G. (2003): The Hydra Viridis/Chlorella symbiosis. Growth and sexual differentiation in polyps without symbionts. Zoology. **106**: 101 – 108.

Hartwig U. A., Joseph C. M. i Phillips D. A. (1991): Flavonoids released from alfaalfa seeds enchance growth rate of Rhizobium meliloti. Plant Physiology. **95**: 797 – 803.

Hofstein A., Mamlok – Naaman R. (2007): The laboratoy in science education: the state of the art. Chemistry Education Research and Practice. **8**: 105 – 107.

Holstein T., Emschermann P. (1995): Cnidaria: Hydrozoa, Kamptozoa. Gustav Fischer Verlag, Stuttgart.

Horvatić J., Vidaković – Cifrek Ž., Regula I. (2000): Trophic level, bioproduction and toxicity of the water of lake Sakadaš (Nature park Kopački rit, Croatia). Limnological Reports. **33**: 89 – 94.

Kalafatić M., Kovačević G., Ljubešić N., Šunjić H. (2001): Effects of ciprofloxacin on green hydra and endosymbiotic algae. Periodicum Biologorum. **103**:267 – 272.

Kalafatić M., Kopjar N. (1994): Response of green hydra to the treatment with different pesticides under laboratory conditions. Zeitschrift für Angewandte Zoologie. **2**: 213 – 223.

Karntanut W., Pascoe D. (2002): The toxicity of copper, cadmium and zinc to four different Hydra (Cnidaria: Hydrozoa). Chemosphere. **47**:1059 – 1064.

Knee E. M., Gong F. – C., Gao M., Teplitski M., Jones A. R., Foxworthy A., Mort A. J. i Bauer W. D. (2001.): Root Mucilage from Pea and Its Utilization by Rhizosphere Bacteria as a Sole Carbon Source. Molecular Plant – Microbe Interactions. **14**: 775 – 784.

Kovačević G., Matulić A. (2013): Effects of Quercetin on the Green Hydra (Hydra viridissima Pallas, 1766). International Journal of Biology. **5**: 57 – 62.

Kovačević G., Kalafatić M., Ljubešić N. (2009b): Effects of Norflurazon on Green and Brown Hydra. Folia Biologica (Kraków). **57**: 91 – 96.

Kovačević G., Gregorovič G., Kalafatić M. I Jaklinović I. (2009a): The Effect of Aluminium on the planarian Polycelis felina (Daly). Water, Air and Soil Pollution. **196**: 333 – 344.

Kovačević G., Jelenčić B., Kalafatić M. and Ljubešić N. (2008): Chlorella test. Periodicum biologorum. **110**: 373 – 374

Kovačević G., Želježić G., Kalafatić M., Horvatin K. (2007): Morphological features and comet assay of green and brown hydra treated with aluminium. Symbiosis. **44**: 145 – 152.

Kovačević G., Kalafatić M. i Horvatin K. (2006): Detection of aluminium depositions in green and brown hydra. Symbiosis. **42**: 175 – 176.

Krajčović J., Ebringer J., Schwartzbach S. D. (2001): Reversion of endosymbiosis. U: Symbiosis, Sechbach J. (ur). Kluwer Academic, Netherlands, str. 185 – 206.

Krause M., Galensa R. (1992): Determination of naringenin and naringenin – chalcone in tomato skins by reversed phase HPLC after solid phase extraction. Zeitschrift für Lebensmitteluntersuchung und Forschung. **194**: 29 – 32.

Lui A., Žnidarić D. (1973): The role of zymogen cells in Hydra exposed to extraviolet light. Zeitschrift für mikroskopisch – anatomische Forschung. **87**: 218 – 228.

Lürling M. (2003): Phenotypic plasticity in the green algae *Desmodesmus* and*Scenedesmus* with special reference to the induction of defensive morphology. Annales de Limnologie – International Journal of Limnology. **39**: 85 – 101.

Margulis L., Sagan D. (2002): Acquiring Genomes: A Theory of the Origin of Species. Basic Books, New York.

Meyer H. i Whitehead J. (2002): Didaktika razredne kvake: Rasprave o didaktici, metodici i razvoju škole. Educa, Zagreb.

Pavlica M., Klobučar G. I. V., Vetma N., Erben R., Papeš D. (2000): Detection of micronuclei in haemocytes of zebra mussel and great ramshorn snail exposed to pentachlorphenol. Mutation Research. **465**: 145 – 150.

Pool R. R. Jr., Muscatine L. (1980): Phagocytic recognition and the establishment of the Hydra viridis – Chlorella symbiosis. In Endocytobiology. Endosymbiosis and Cell Biology. A Synthesis of Recent Research. **1**: 223 – 238.

Rahat M. (1991): An ecological approach to hydra – cell colonization by algea – algea/hydra symbioses. Oikos. **62**: 381 – 388.

Tomas – Barberan F., Iniesta – Sanmartin E., Tomas – Lorente F. i Rumbero A. (1990): Phytochemistry. **29**: 1093.

Zupan I., Kalafatić M. (2003): Histological effects of low atrazine concentration on Zebra Mussel (Dreissena polymorpha Pallas). Bulletin of Environmental Contamination and Toxicology. **70**: 688 – 695.

Žnidarić D. (1970): Comparison of the regeneration of the hypostome with the budding process in Hydra littoralis. Wilhelm Roux' Archiv für Entwicklungsmechanik der Organisem. **166**: 45 – 53.

Žnidarić D. (1971): Regeneration of foot I. Hydra littoralis. Zeitschrift für mikroskopisch – anatomische Forschung. **84**: 503 – 510.

8. ŽIVOTOPIS

OSOBNE INFORMACIJE

Valentina Bartol
05.07.1992.
Varaždinska 14, Jalkovec, 42 000 Varaždin
mob. 099 691 32-18
val3ntina.bartol@gmail.com

RADNO ISKUSTVO

Rad u Zoološkom vrtu grada Zagreba

01 listopada 2013 – 01 ožujak 2017 Edukator

Sudjelovanje na manifestaciji Noć Biologije za Zoologijski zavod PMF – a

travanj 2013, travanj 2015, travanj 2016

Sudjelovanje na smotri Sveučilišta u Zagrebu za Kemijski odsjek PMF – a

2014

Sudjelovanje na e – školi Kemije

veljača 2016

Praksa u gimnaziji Marul

ožujak 2016 Predmet: Biologija, 2.srednje

Praksa u VI. osnovnoj školi Varaždin

listopad 2016 Predmet: Kemija, 7.razred

OBRAZOVANJE I OSPOSOBLJAVANJE

Integrirani sveučilišni studij biologije i kemije

1 listopada 2011 – 24 veljače 2017 Magistar edukacije biologije i kemije

Prirodoslovno – matematički fakultet Sveučilišta u Zagrebu
Nastavnički smjer biologije i kemije

Srednja škola

rujan 2007 – lipanj 2011
Prva gimnazija Varaždin

OSOBNE VJEŠTINE

Strani jezici
Engleski jezik

Čitanje	Izvrsno
Pisanje	Izvrsno
Govor	Izvrsno

Talijanski jezik

Čitanje	Izvrsno
Pisanje	Izvrsno
Govor	Izvrsno

Komunikacijske vještine Sklona timskom radu, komunikativna

Računalne vještine Osnove rada na računalu, poznavanje rada Microsoft Word-a, Microsoft PowerPointa-a, Microsoft Excel-a, Microsoft Outlook-a