Snježana Kodba
Dora Lolić

Mentor: Žaklin Lukša

zaklinluksa@gmail.com

# DJELOVANJE UV ZRAČENJA NA VODENU LEĆU I JAGODU

Čakovec

14. ožujka 2014.

Gimnazija Josipa Slavenskog Čakovec
V. Nazora 34, 40 000 Čakovec

# Sažetak

Ideja ovog istraživanja bila je utvrditi kako UV zračenje (UVA i UVB) djeluje na biljne organizme na primjeru vodene leće (*Lemna minor* L.) i jagode (*Fragaria sp*). U istraživanju su navedeni organizmi izloženi UVA, UVB zračenju, njihovoj kombinaciji UVA/UVB i uspoređeni s rezultatima kontrolne skupine koja nije zračena. U tri serije (replike) uzoraka praćene su morfološke promjene, prirast mase i broja članaka te je određivan sadržaj pigmenata (klorofila a i b, te karotenoida). Morfologija je praćena opisno, prirast brojanjem i vaganjem, dok je za analizu uzoraka pigmenata korištena metoda spektrofotometrije. Dokazano je da UV zračenje loše utječe na morfologiju, prirast i sadržaj pigmenata u ispitivanim biljkama. Rezultati analize potvrdili su da biljke zračene zajedničkim UVA i UVB zračenjem najviše odstupaju od kontrolne skupine po svojim morfološkim obilježjima i prirastu. Suprotno očekivanju, u zajedničkom UVA i UVB zračenju razvilo se najviše članaka vodene leće, ali je njihova masa bila najmanja, listovi i korijenje su bili najmanji, najtanji i najsvjetliji. Na fotosintetske pigmente vodene leće i jagoda najviše je utjecalo UVB zračenje, značajno smanjivši količine klorofila a, b i karotenoida. Usporedbom pojedinih skupina otopina unutar zračenja dokazano je da nedostatak hranjivih tvari ili njihov višak dodatno pospješuju djelovanje stresnih čimbenika na organizme smanjujući im prirast i količinu pigmenata te djelujući na njihov izgled i rast, tj. morfologiju. Iz tog su razloga na kraju istraživanja u najboljem stanju bile biljke uzgajane u optimalnoj otopini hranjivih tvari. Statistički značajno različiti rezultati sadržaj pigmenata i prirasta između starih i novih jedinki jagoda pokazuju da su mlađe biljke manje otporne na djelovanje UV zračenja. Također je uočeno da veće su posljedice UV zračenja na vodenu leću nego jagode.

# Sadržaj

1.Uvod ..... 4
1.1. UV zračenje na Zemlji ..... 4
1.2. Utjecaj UV zračenja na žive organizme ..... 5
1.2.1. Utjecaj UV zračenja na biljne organizme ..... 5
1.2.2. Vodena leća (*Lemna minor* L.) ..... 6
1.2.3. Jagoda (*Fragaria sp*.) ..... 7
1.3. Cilj i hipoteze istraživanja ..... 8
2.Eksperiment ..... 9
2.1. Priprema biljnog materijala i opis postupka ..... 9
2.2. Praćeni parametri tijekom istraživanja ..... 10
2.3. Spektrofotometrijska analiza količine pigmenata vodene leće i jagode ..... 10
2.4. Statističke metode analize rezultata ..... 11
3. Rezultati ..... 12
3.1. Vodena leća (*Lemna minor* L.) ..... 12
3.2. Jagoda (*Fragaria sp*.) ..... 15
4. Rasprava ..... 16
5. Zaključak ..... 18
*Zahvala* ..... 19
Popis literature ..... 20
Prilozi ..... 22

# 1. Uvod

UV zračenje čini oko 9% sunčevog zračenja koje dopire do površine Zemlje, ali ima brojne negativne učinke na stanice, tkiva, organizme i čitave ekosisteme. Istraživanja štetnosti UV zračenja započinju 80-ih godina prošlog stoljeća, kad je uočeno smanjenje debljine ozonskog omotača iznad Antarktike i stvaranje tzv. „ozonske rupe“ [6]. U tim istraživanjima, koja su uglavnom bila provođena izlaganjem biljaka povišenom UVB zračenju u laboratorijskim uvjetima, utvrđeni su izravni i posredni učinci UV zračenja na stanične strukture i fiziološke procese, odnosno identificirana su oštećenja i utvrđeni mehanizmi nastanka oštećenja [21]. Iako se u medijima najčešće spominje samo utjecaj UV zračenja na čovjeka jasno je da ono utječe na sve žive organizme uključujući i biljke koje su izuzetno važne za opstanak svih organizama.

## 1.1. UV zračenje na Zemlji

Sunčeva svjetlost biljkama omogućuje fotosintezu koja je nužna za opstanak svih organizama na Zemlji. Osim vidljivog dijela spektra Sunce generira čitav spektar elektromagnetskog zračenja, a jedno od njih je ultraljubičasto zračenje (UV zračenje) koje pripada neionizirajućem elektromagnetskom zračenju [22]. Valne duljine UV zračenja manje su od vidljive svjetlosti i kreću se u rasponu od 10 nm do 400 nm. Od postojećih deset kategorija UV zračenja prema međunarodnim standardima (ISI-DIS-21348) do Zemlje dopiru tri kategorije. To su ultraljubičasto A ili dugovalno (UVA), ultraljubičasto B ili srednjevalno (UVB) i ultraljubičasto C ili kratkovalno zračenje (UVC) [2]; [21] (tablica 1).

**Tablica 1.1** *Vrste UV zračenja koje dopiru do površine Zemlje [2]*

| **Naziv** | **Kratica** | **Valna duljina/nm** | **Energija fotona/eV** |
|---|---|---|---|
| Ultraljubičasto A (dugovalno područje) | UVA | 400-315 | 3,10-3,94 |
| Ultraljubičasto B (srednjevalno područje) | UVB | 315-280 | 3,94-4,43 |
| Ultraljubičasto C (kratkovalno područje) | UVC | 280-100 | 4,43-12,40 |

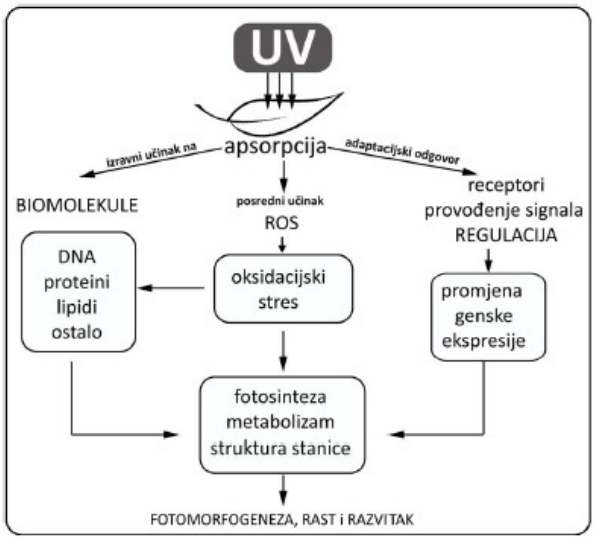
Od ukupne dolazne insolacije UVA zračenje čini 6,3 % , UVB zračenje oko 1,5 % dok UVC zračenje u normalnim okolnostima ne dopire do površine Zemlje [21]. Ozonski omotač Zemlje odbija ili apsorbira većinu UV zračenja koje dolazi do Zemlje, a od UV zračenja koje dolazi do njene površine 97% je UVA, 1-3% UVB, a UVC se u potpunosti apsorbira u donjim dijelovima stratosfere i utječe na stvaranje ozona [9].

## 1.2. Utjecaj UV zračenja na žive organizme

Važno je naglasiti da se smatra kako UVA zračenje uglavnom nema štetnog učinka na žive organizme dok UVB ima niz negativnih učinaka, a UVC je izrazito štetno [21] pa se kao takvo koristi npr. za sterilizaciju u mikrobiološkim laboratorijima. UV zračenje koje dopire do površine Zemlje imalo je vrlo važnu ulogu u procesu evolucije ukupnog života. Smatra se da je mnogostruko veća količina UV zračenja u prošlosti utjecala na stvaranje ozona što je omogućilo početak života na kopnu [14]. Iako se debljina ozonskog sloja u atmosferi mijenjala tijekom razvoja Zemlje, krajem 20. stoljeća uočeno je da stvaranju ozonskih rupa i smanjenju ozonskog omotača značajno doprinosi povećana koncentracija freona u atmosferi zbog djelovanja čovjeka [6]. Povećana svijest o tome kako promjena količine ozona značajno mijenja količinu štetnih zračenja koje dopire do površine Zemlje doprinijela je donošenju međunarodne povelje o zaštiti ozonskog omotača - Montrealskog sporazuma 1987. godine [17], kao i sporazuma u Kyotu [13]. Iako se najčešće u široj javnosti govori samo o štetnom utjecaju UV zračenja na čovjeka jasno je da ono djeluje na sve žive organizme o čemu i govore rezultati različitih istraživanja znanstvenika.

### 1.2.1. Utjecaj UV zračenja na biljne organizme

Povećano UV zračenje kod biljaka uzrokuje niz izravnih i neizravnih oštećenja (slika 1.). Dokazano je da povećano UVB zračenje uzrokuje različite morfološke i kemijske promjene [19]. U provedenim istraživanjima u početku se najviše pozornosti obraćalo na štetno djelovanje UVB zračenja zbog njegove veće prisutnosti, no novija istraživanja dokazuju da i UVA zračenje ima značajan utjecaj na biljke. Tako npr. povisuje količinu fotosintetskih pigmenata i oštećuje biljni fotosintetski mehanizam [21].




**Slika 1.** *Učinci UV zračenja na biljni organizam [21]*

UVB zračenje također djeluje na biljke uništavajući pigmente i tilakoidne membrane [7]. Najmanji učinak UVB zračenja vidi se na klorofilu b gdje su razlike gotovo zanemarive [5]. Brojne promjene na staničnoj i ostalim razinama ipak ne moraju biti uzrokovane izravnim oštećenjima, nego i regulacijskim procesima u sklopu adaptacijskog odgovora biljke koji se javlja u uvjetima manjih doza zračenja [4]. Kod djelovanja UV zračenja dokazan je sporiji rast biljaka te manja veličina i slabija boja u odnosu na neozračene biljke [18]. Naglo izlaganje biljaka suncu koje nisu prilagođene UV zračenju može izazvati oksidacijski stres i oštećenja biomolekula poput proteina i lipida [4]. Zbog toga su mnogi biljni organizmi evolucijom razvili obrambene mehanizme koji ih štite od UV zračenja [3]. Kao odgovor na UV stres biljka može pojačati aktivnost enzimskih i neenzimskih mehanizama zaštite. Od njih su vrlo važni antioksidacijski enzimi i flavonoidi [21]. Na vodene biljke veliki utjecaj ima UVB zračenje čije je djelovanje ograničeno na gornje slojeve vode u kojima ima dovoljno svjetlosti. Velike količine UVB zračenja mogu usporiti i ograničiti rast i reprodukciju vodenih biljaka [23].

## 1.2.2. Vodena leća (*Lemna minor* L.)

Vodena leća je najmanja cvatuća, rasprostranjena jednosupnica. Nalazimo je u stajaćicama kao što su bare i jezera, ali i u rukavcima vodotoka s malom brzinom strujanja vode. Tijelo biljke sastoji se od 3 do 5 listića veličine 2-5 mm koji slobodno plutaju na vodi i

neprestano rastu, a kad ih je 4 do 5 na jednoj biljci, odvajaju se. Na članak se nastavlja nerazgranat korijen. Biljke-kćeri koje nastaju vegetativnim razmnožavanjem genetički su jednake i odvajaju se od matične biljke. Pri korištenju vodene leće kao testnog organizma može se pratiti cijeli niz učinka UV zračenja poput prirasta, duljine korjenčića, sadržaja fotosintetskih pigmenata te preživljavanje samih biljaka ovisno o zračenju. Brzi rast i genetička jednakost čine je pogodnim materijalom za različita istraživanja jer osigurava veću vjerodostojnost rezultata [8].

### 1.2.3. Jagoda (*Fragria sp.*)

Jagoda je višegodišnja zeljasta biljka, niskog rasta. Vrsta *Fragaria vesca L.* najrasprostranjenija je u Europi i Aziji. Jagoda se lako i brzo razmnožava i to na više načina: sjemenom, cijepljenjem, dijeljenjem grmova i vriježama. Za istraživanja je zanimljivo korištenje klonskih jedinki dobivenih razmnožavanjem vriježama [24].

# 1.3. Cilj i hipoteze istraživanja

Cilj ovog istraživanja bio je utvrditi kako UV zračenje (UVA i UVB) djeluje na vodenu leću (*Lemna minor* L.) i jagodu (*Fragaria sp.*). Pri tome se željelo utvrditi postoje li razlike između različitih vrsta biljaka, ovise li oštećenja o tome u kakvim uvjetima biljke rastu, tj. u kakvom se stanju nalazi biljni organizam, te koliko na rezultate utječe starost biljke. Ispitivano je i zajedničko i pojedinačno djelovanje UVA i UVB zračenja. Praćene su morfološke promjene na obje ispitivane vrste, te je određivana količina pigmenata; klorofila a, klorofila b i karotenoida. Kod vodene leće izmjeren je i prirast mase, te broj jedinki tijekom ispitivanog razdoblja, tj. brzina razmnožavanja. U skladu s postavljenim ciljevima istraživanja, hipoteze su sljedeće:

- ✓ UV zračenje uzrokovat će morfološke promjene na biljnim organizmima,
- ✓ učinak UV zračenja razlikovat će se kod vodene leće ovisno o otopini u kojoj su uzgajane pa će najveće promjene biti kod skupine u vodovodnoj vodi,
- ✓ kod dvogodišnjih jedinki jagoda UV zračenje uzrokovat će manje promjene nego kod mlađih jednogodišnjih jedinki,
- ✓ zajedničko djelovanje UVA i UVB zračenja uzrokovat će veće morfološke promjene od pojedinačnog zračenja na vodenu leću i jagodu,
- ✓ jedinke vodene leće će se najsporije razmnožavati i imati najmanji prirast mase pod utjecajem kombinacije UVA i UVB zračenja, sastav pigmenta klorofila a i b te karotenoida će se razlikovati s obzirom na izloženost biljaka UV zračenju.

# 2. Eksperiment

## 2.1. Priprema biljnog materijala i opis postupka

Jedinke vodene leće za ovo istraživanje dobivene su s Biološkog odsjeka PMF-a u Zagrebu, dok su jagode uzgojene u rasadniku „Iva“ u Štefancu.

Za potrebe istraživanja uzorci biljaka podijeljeni su u četiri skupine, tri eksperimentalne (A,B,C) i jednu kontrolnu (K). Svaka se skupina sastojala od pet uzoraka biljaka – tri uzorka vodene leće u otopinama s različitom koncentracijom hranjivih tvari (SO, JO, V), te dva uzorka jagoda, jedna jednogodišnja i jedna dvogodišnja biljka. Svaka skupina sadržavala je tri serije ponavljanja. Skupine su izložene različitim uvjetima zračenja dok su svi ostali uvjeti u prostorijama bili su jednaki za sve skupine biljaka.

Uvjeti izlaganja skupina uzoraka zračenju:

1. **skupina (A)**- izložena je **UVA** zračenju pod lampom Philips TLD Actinic 18W G13
2. **skupina (B)** - izložena **UVB** zračenju pod lampom Philips PL/S 9W/01 G23
3. **skupina (C)** - izložena zajedničkom djelovanju **UVA** (Philips TLD Actinic 18W G13) i **UVB** (Philips PL/S 9W/01 G23) zračenja
4. **kontrolna (K)** - uzorci iz te skupine izloženi su samo danjem svjetlu, ali preko prozorskog stakla preko kojeg ne prolazi UV zračenje.

U svakoj seriji za uzgoj vodene leće pripremljene su tri različite otopine. Prva otopina (SO) pripravljena je prema recepturi s deklaracije gnojiva (JBL Ferropol) u omjeru 0,25 dl gnojiva na 1 l vodovodne vode pa sadrži optimalnu količinu hranjivih tvari, druga otopina (JO) je u omjeru 0,50 dl na 1 l vode s povećanom količinom hranjivih tvari, a treća obična vodovodna voda bez dodataka hranjivih tvari. U sve ispitne posudice ulije se 0,20 dl pripremljene otopine, a nakon toga sa u nju stavlja 6, ranije izvaganih, članaka vodene leće.

Osim vodenih leća, u istraživanju su korištene jagode pri čemu smo razlikovali jednogodišnje i dvogodišnje jedinke. Korištene jagode su iz domaćeg uzgoja u rasadniku, povezane vriježama da kako bi bilo sigurno da su u pokusu korištene i mlade i stare jedinke. Sve jedinke za potrebe istraživanja presađene su u jednake posudice s jednakom količinom istovjetne zemlje kako bismo imali što je više moguće jednake uvjete za njihov rast.

## 2.2. Praćeni parametri tijekom istraživanja

Korišten je Lemna-test u kojem je vodena leća u određenom vremenskom razdoblju od 3 tjedna izlaganja djelovanju UV zračenja u različitim otopinama, nakon čega se određeno vrijeme prate posljedice djelovanja tog čimbenika. Tijekom pokusa je vrlo važno da vodena leća bude u eksponencijalnoj fazi rasta, a pokazatelji toksičnosti koje se najčešće prate su prirast mase i broja biljaka, te koncentracija fotosintetskih pigmenata [1]. Nakon 3 tjedna ponovno su izvagani svi uzorci vodene leće analitičkom vagom, te je provedeno završno prebrojavanje članaka. Dobiveni podaci uvršteni su u sljedeće formule [1] za izračunavanje prirast biljaka:

$$\Delta N = \frac{F_n - F_1}{F_1}$$

$\Delta N$ = prirast broja biljaka

$F_n$ = broj članaka n-tog dana

Isto tako su i na jedinkama jagoda tijekom 3 tjedna praćene i bilježene sve morfološke promjene u dnevnik istraživanja.

## 2.3. Spektrofotometrijska analiza količine pigmenata vodene leće (*Lemna minor* L.) i jagode (*Fragaria sp.*)

Analiza svih uzoraka dalje je provedena u Bioinstitutu (Bioinstitut d.o.o. za usluge u zdravstvu i veterinarstvu, Čakovec). Analitičkom vagom odvagano je po 100 grama biljnog tkiva iz svakog uzorka i homogenirano je u 1,5 ml hladnog 80%-tnog acetona u hladnom tarioniku. Aceton je korišten jer on ne apsorbira UV/Vis zračenje. Cijeli postupak je obavljen na ledu, gdje su i držani uzorci do centrifuge zbog brzog isparavanja acetona. Nakon homogeniziranja u hladnom tarioniku uzorci su pipetom prebačeni u označene ependorfice koje su smještene u ledu (kako bi se spriječilo brzo ishlapljivanje acetona) i prebačene do centrifuge. Uzorci su centrifugirani 10 minuta na temperaturi od 4°C (Q-sep™ 3000 QuEChERS). Nakon završetka centrifugiranja supernatant je preliven u nove označene ependorfice u ledu. Nakon toga svaki uzorak je analiziran spektrofotometrom Perkin Elmer model Lambda 25 tako da je izmjerena apsorbcija na valnim duljinama od 470 nm, 646 nm i 663 nm. Sadržaj fotosintetskih pigmenata (mg/$g_{sv.t.}$) određen je prema sljedećim formulama [1].

Sadržaj klorofila a: $c_a = \frac{12{,}21 \cdot A_{663} - 2{,}81 \cdot A_{646}}{l \cdot 1000 \cdot m} \cdot V$

Sadržaj klorofila b: $c_b = \frac{20{,}13 \cdot A_{646} - 5{,}03 \cdot A_{663}}{l \cdot 1000 \cdot m} \cdot V$

Sadržaj ukupnih karotenoida: $c_{x+c} = \frac{(1000 \cdot A_{470} - 3{,}27 \cdot c_a - 104 \cdot c_\beta)/198}{l \cdot 1000 \cdot m} \cdot V$

$A_X$ - apsorpcija uzoraka pri određenim valnim duljinama

V - volumen uzorka (ml)

l - dužina optičkog puta = 1 cm

m - masa uzorka

# 2.4. Statističke metode analize rezultata

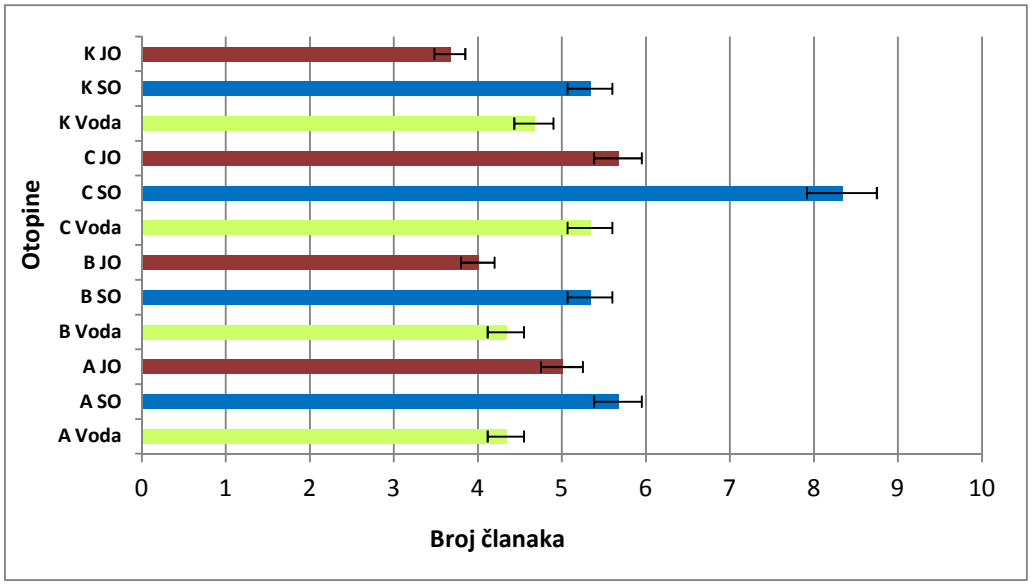
Svi rezultati u ovome radu predstavljaju srednju vrijednost tri zasebna mjerenja (replike). Usporedba tretmana s kontrolom i pojedinih tretmana međusobno provedena je analizom varijance (one-way ANOVA) koristeći program Microsoft Excel 2010. Za utvrđivanje statističkih razlika između parova podataka korišten je t-test. Kao statistički značajni rezultati smatraju se vrijednosti različite na razini $p \leq 0{,}05$.

# 3. Rezultati

Svi rezultati predstavljaju srednju vrijednost tri zasebne serije mjerenja (replike). Pojedinačni rezultati prirasta u broju članaka prikazani su u prilozima 1.- 4. na kraju rada.

## 3.1. Vodena leća (*Lemna minor* L.)

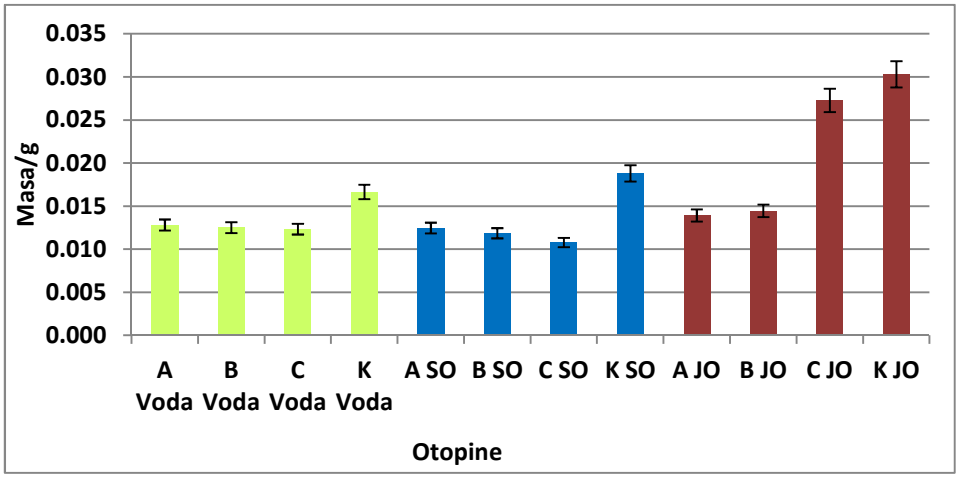
Prirast broja članaka vodene leće nakon ispitivanog razdoblja od 3 tjedna (slika 2.) pokazuje da se najveći broj novih članaka razvio u uzorku s optimalnom količinom hranjivih tvari (SO) uz kombinirano zračenje UVA/UVB (prosjek od 8,33 članka), a najmanji broj u kontrolnoj skupini u uzorku s povećanom količinom hranjivih tvari (JO) (prosjek od 3,67 članka). Primjenom ANOVA testa za usporedbu varijanci dobivena je statistički značajna razlika u vrijednosti prirasta broja članaka pojedinih otopina i vrsta zračenja ($F=4,585$; $p<0,05$).




**Slika 2**. *Prirast broja članaka vodene leće pod svim uvjetima zračenja (K- kontrola, C – UVA/UVB, B –UVB, A-UVA) i u svim ispitivanim otopinama (JO - povećana količina hranjivih tvari, SO – optimalna količina hranjivih tvari, V – voda bez dodatka hranjivih tvari)*

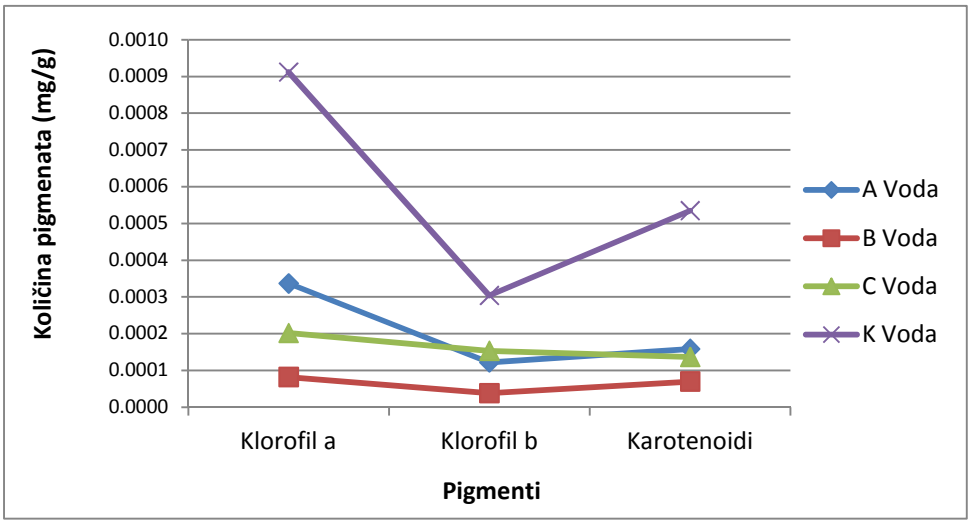
U nastavku je prikazan prirast mase pojedinih članaka vodene leće pod svim uvjetima zračenja u svim otopinama (slika 3). Najveći je prirast u kontrolnoj otopini s većom količinom hranjivih tvari (JO), a najmanji u otopini s optimalnom količinom hranjivih tvari (SO) pod

utjecajem kombiniranog UVA/UVB zračenja (slika 3). Razlika je statistički značajna (F=5,666; p<0,05).



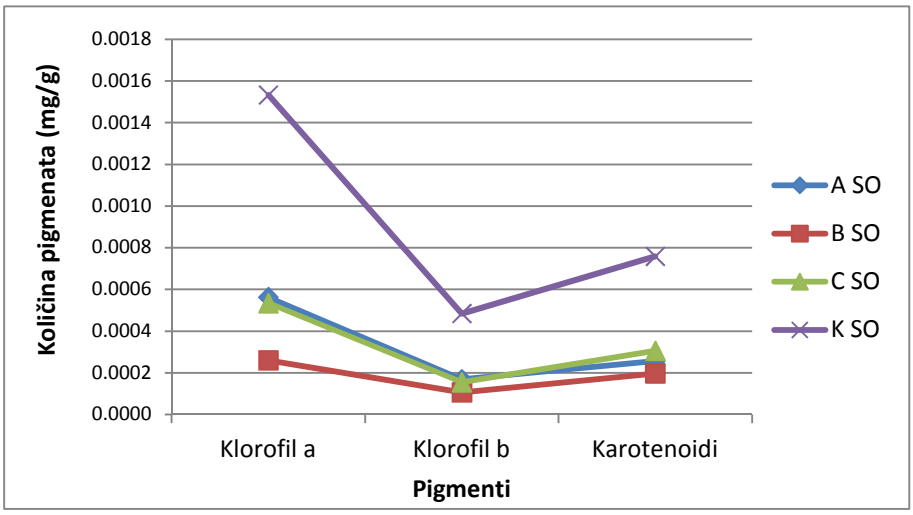

**Slika 3**. *Prirast mase pojedinih članaka kod vodene leće pod svim uvjetima zračenja (K - kontrola, C-UVA/UVB, B -UVB, A-UVA) i u svim ispitivanim otopinama (voda- bez dodatka hranjivih tvari, SO – optimalna količina hranjivih tvari, JO – povećana količina hranjivih tvari)*

Rezultati mjerenja pigmenata u uzorcima vodene leće u vodi razlikuju se ovisno o uvjetima UV zračenja (slika 4). Rezultati pokazuju najveći sadržaj svih pigmenata u kontrolnoj otopini bez UV zračenja dok je najmanji sadržaj svih triju pigmenata u uzorcima izloženim UVB zračenju. U sljedeće tri slike razlika između pojedinih zračenja, sve su razlike u odnosu na otopine statistički značajno različite, međutim samo je pojedinačna razlika između UVB zračenja i kontrole statistički značajno različita što je dokazano t-testom (t=2,935; p<0,05).



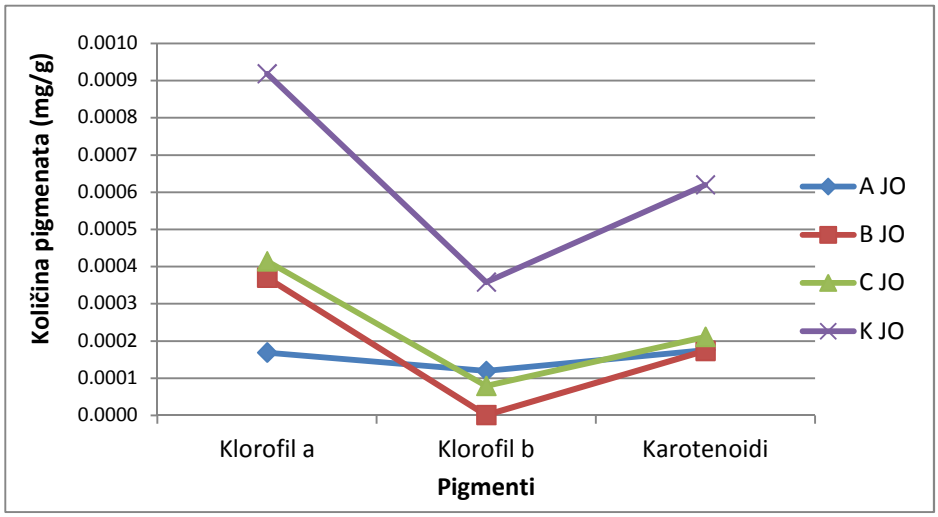

**Slika 4.** *Količine pigmenata kod vodene leće pod svim uvjetima zračenja (A-UVA, B -UVB, C-UVA/UVB, K - kontrola) u vodi bez dodatka hranjivih tvari*

Usporedba količine pigmenata pod svim uvjetima zračenja u otopini s optimalnom količinom hranjivih tvari (SO) pokazuje da su najveće količine svih pigmenata izmjerene u kontroli (slika 5.), a statistički se značajno razlikuju od pigmenata pod UVB zračenjem što se da naslutiti i prema razlikama na slici.




**Slika 5.** *Količine pigmenata kod vodene leće pod svim uvjetima zračenja (A-UVA, B -UVB, C-UVA/UVB, K - kontrola) u otopini s optimalnom količinom hranjivih tvari (SO)*

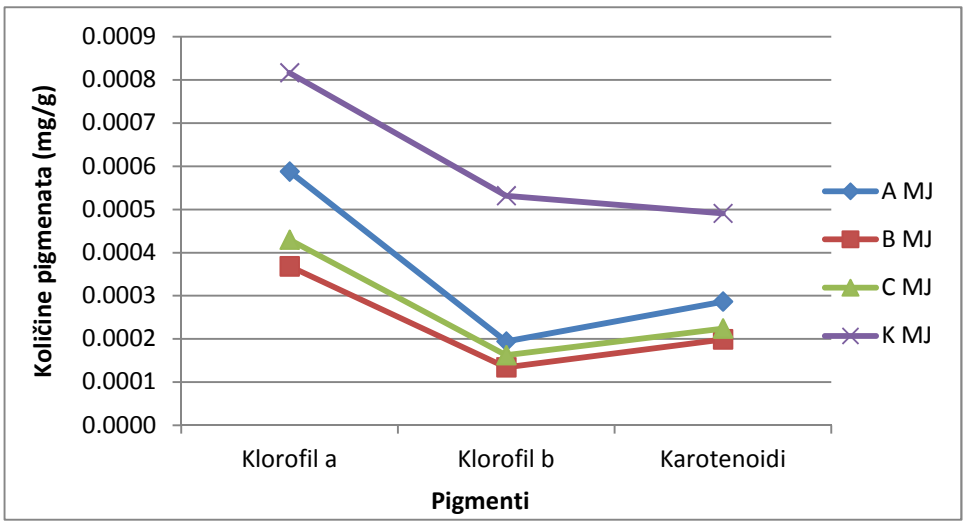
Na slici 6. prikazano je kako se količine pigmenata mijenjaju u otopini s povećanom koncentracijom hranjivih tvari (JO) pod svim uvjetima zračenja što je statistički vrlo značajno ($p<0,05$).




**Slika 6.** *Količine pigmenata kod vodene leće pod svim uvjetima zračenja (A-UVA, B -UVB, C-UVA/UVB, K - kontrola) u otopini s povećanom koncentracijom hranjivih tvari (JO)*

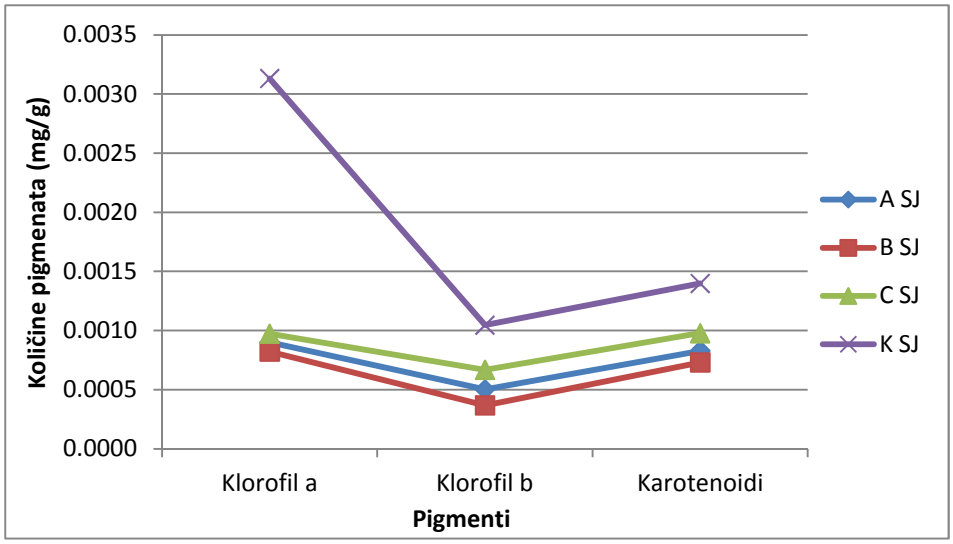
## 3.2. Jagode (*Fragaria sp.*)

Analizirajući sastav pigmenata mlađih, jednogodišnjih jagoda pod svim uvjetima zračenja dobiveni su rezultati prikazani na slici 7. Najveće vrijednosti svih pigmenata izmjerene su u kontrolnoj skupini, a najmanje pod UVB zračenjem što je statistički značajno.




**Slika 7.** *Količine pigmenata pod svim uvjetima zračenja (K - kontrola, C-UVA/UVB, B -UVB, A-UVA) kod jedinki jednogodišnjih jagoda*

Slijede rezultati količine pigmenata u starijim, dvogodišnjim jagodama pod svim uvjetima zračenja prikazani na slici 8. Ponovno su najveće vrijednosti svih pigmenata izmjerene u kontrolnoj skupini, a najmanje pod UVB zračenjem. Razlika između te dvije skupine je statistički značajna ($p<0,05$).




**Slika 8.** *Količine pigmenata pod svim uvjetima zračenja (K - kontrola, C-UVA/UVB, B -UVB, A-UVA) kod jedinki dvogodišnjih jagoda*

# 4. Rasprava

Usporedbom dobivenih rezultata mogu se uočiti velike morfološke razlike i razlike u količinama pigmenata između pojedinih skupina, ali i unutar njih.

Nakon tri tjedna istraživanja najveći prirast prema broju članaka (6 članaka) uočen je u kontrolnoj otopini s optimalnom količinom hranjiva koja odgovara deklaraciji korištenog hranjiva. Ovaj rezultat je statistički značajan i odgovara rezultatima koje u svom radu iznosi Nagara [18] koji navodi da su potrebni optimalni uvjeti uzgajane otopine kako bi se biljke najbolje razvile, a to je u ovom istraživanju otopina s koncentracijama tvari prema uputama proizvođača hranjiva.

Uspoređujući vodenu leću uzgajanu u sve tri ispitivane otopine pod različitim uvjetima zračenjima s kontrolom, vidljivo je da je prirast po broju članaka najmanji pod zasebnim UVA i UVB zračenjima, ali najveći pod kombiniranim UVA/UVB zračenjem. Ovaj rezultat možda je moguće objasniti različitim temperaturnim uvjetima, jer je kombinirano zračenje uzoraka provedeno zasebno nakon tri tjedna. No kako su zračenja provedena u uvjetima sobne temperature jedina razlika mogla bi biti u noćnoj temperaturi u prostoriji. Ovisnost prirasta o temperaturi u svom istraživanju navode Cicek i suradnici [5], no kako taj čimbenik nije uzet u obzir ranije i nisu prikupljeni podaci o temperaturi ovu bi pretpostavku trebalo ispitati u sljedećem istraživanju.

No zanimljivo je da je masa jednog članka najviša je u kontrolnim skupinama svih otopina dok je najmanja pod kombiniranim UVA/UVB zračenjem. U skladu s time su i morfološke promjene koje su najvidljivije u kombiniranom zračenju gdje su članci i korijenje bili najtanji i najsvjetliji kao i u istraživanju Nagara [18] i Mladenović [16]. Te su razlike u masama statistički značajne (prilog 5).

Međutim, količina klorofila a i b najveća je u kontrolnoj skupini, a najmanja pod UVB zračenjem što se slaže s rezultatima Mishre i suradnika [15] koji tvrde da su biljke najpodložnije stresnim čimbenicima UVB zračenja (prilog 6). Smanjenje mogućnosti fotosinteze klorofila direktan je rezultat UVB zračenja i smanjenja količine gena odgovornog za spajanje proteina za klorofil a/b, tj. zaustavljanje sinteze klorofila. Smanjenje količine klorofila je opisano i istraživanjima Joshija i suradnika [11]; Ibaneza i suradnika [10]; Singha i suradnika [20].

Količina karotenoida također je najveća u kontroli, a najmanja pod kombiniranim zračenjem što se slaže s rezultatima Ciceka i suradnika [5]. Karotenoidi zaštićuju klorofil od

uništenja fotooksidacijom, pa smanjenje karotenoida može imati ozbiljne posljedice kao efekt UVB zračenja na pigmente klorofila [1]; [15]. Ipak vidljivo je da su pod svim uvjetima zračenja najotpornije biljke uzgajane u optimalnoj otopini, nešto manje u jačoj otopini od optimalne, a najmanje otporne u vodi. Izračunavši količine pigmenata u jagodama kontrolne skupine vidljivo je da starije jagode imaju neznatno više svih pigmenata od mladih jagoda. Omjer klorofila a i b u svim serijama zračenja statistički je značajno manji nego u kontrolnoj skupini za mlade i stare jagode. To se poklapa jer se prema Stamenkoviću [21] kao prilagodba jakoj svjetlosti snižava koncentracije klorofila a. Količina karotenoida neznatno je veća kod starih jagoda jer su starije biljke bolje razvile otpornost na zračenje [18]. U ovom istraživanju količina klorofila b nije jako snižena jer prema Nagaru [18] primarna zadaća karotenoida je da zaštite klorofil b. Prilikom UVB zračenja najviše su se snizile razine klorofila a, b i karotenoida što je statistički vrlo značajno. Starije su jagode otpornije pa su se količine pigmenata manje smanjile nego kod mladih jagoda. Smanjenje karotenoida može biti rezultat ili zaustavljanja sinteze ili sloma pigmenata ili njihovih predaka [18]. U manjoj mjeri karotenoidi služe sakupljanju svjetlosne energije, budući da proširuju akcijski spektar fotosinteze [21]. Istovremeno, Joshi i suradnici [11] te Mishra i suradnici [15] su utvrdili da se odnos evolucije fotosintetskog kisika prilično smanjio kad su biljke bile izložene UVB zračenju. Prema gornjim rezultatima, UVB oštećenje fotosintetskog aparata vjerojatno se sastoji od mnogo različitih aspekata.

Kod kombiniranog zračenja vidljive su manje promjene na sastavu pigmenata nego kod UVB zračenja. Taj rezultat u svom istraživanju Cicek i suradnici [5] objašnjavaju činjenicom da su jagode i prije, na vanjskim uvjetima, bile ozračene kombiniranim zračenjima.

Usporedbom dobivenih rezultata kod jedinki vodene leće i jagoda vidljive su statistički značajnije promjene u sastavu pigmenata te morfologiji kod vodene leće. To bi moglo upućivati na slabije razvijene zaštitne mehanizme kod vodene leće u usporedbi s jagodama kao što to u svom radu navodi Nagara [18]. U literaturi, članci o utjecaju UVB zračenja na fotosintezu su kontradiktorni, vjerojatno zbog razlika između vrsta i kultivara iste vrste, razlika u stanju rasta i nejednakosti razina UVB zračenja tijekom izlaganja UVB zračenju [19]; [12]. Različit utjecaj istovjetnog UV zračenja utvrđen je i u ovom istraživanju jer UV zračenje nije jednako djelovalo na jagode i vodenu leću.

# 5. Zaključak

Cilj ovog istraživanja bio je utvrditi kako UV zračenje (UVA i UVB) djeluje na vodenu leću (*Lemna minor* L.) i jagodu (*Fragaria sp*). Rezultati istraživanja pokazali su da:

- ✓ UV zračenje utječe na morfologiju, te smanjuje prirast i sadržaj pigmenata u ispitivanim biljkama (vodena leća i jagoda),
- ✓ razina oštećenja vodene leće ovisi o uvjetima uzgoja, pa je oštećenje najmanje u optimalnim uvjetima, veće su posljedice UV zračenja na vodenu leću nego jagode,
- ✓ starije jedinke jagoda bolje podnose UV zračenje i oštećenja na biljnom tkivu su manja,
- ✓ UVB zračenje ima najštetniji učinak na prirast mase i količinu klorofila kod ispitivanih biljaka dok je količina karotenoida najmanja kod kombiniranog UVA/UVB zračenja,
- ✓ zajedničko djelovanje UVA i UVB zračenja uzrokovalo je najveće morfološke promjene od pojedinačnog zračenja na vodenu leću i smanjilo je značajno prirast mase, ali suprotno očekivanju nije smanjilo razmnožavanje i prirast po broju članaka.

# Zahvale

Izrada ovog rada osim našeg truda i vremena tražila je i pomoć drugih bez čijeg sudjelovanja ga ne bi bilo moguće izraditi. Stoga im svima želimo zahvaliti na njihovu različitom, ali uvijek važnom doprinosu:

- ✓ djelatnicima Bio-instituta u Čakovcu koji su nam omogućili da mjerenje obavimo u njihovim laboratorijima i uz mnogo povjerenja nam prepustili rad na svojoj opremi,
- ✓ dr. Vanji Stamenkoviću na savjetima i radovima koje nam je ustupio,
- ✓ dr. sc. Marija Babić s Biološkog odsjeka PMF-a u Zagrebu na preporučenoj literaturi i svojim savjetima u planiranju istraživačkog rada kao i uzorcima vodene leće za naše istraživanje,
- ✓ rasadniku IVA na uzorcima jagoda za istraživanje,
- ✓ razrednici i profesorici informatike i matematike Tamari Srnec za pomoć sa statističkom obradom podataka,
- ✓ ravnateljici naše škole koja nam je bila i moralna i financijska podrška,
- ✓ i na kraju, ali ne manje važno, svim profesorima koji su bili tolerantni prema našim povremenim izostancima s nastave zbog ovog istraživanja.

Zahvaljujemo svima!

# Popis literature

[1] Agrawal S.B., Rathore D. 2007. Changes in oxidative stress defense system in wheat (Triticum aestivum L.) and mung bean (Vigna radiata L.) cultivars grown with and without mineral nutrients and irradiated by supplemental ultraviolet-B. J Environ Exp Bot (59): 21-33.

[2] Antonijević N. 2006. Određivanje zaštitnog faktora preparata za zaštitu od sunce spektroskopskom metodom. Novi Sad, 1-9.

[3] Beckquer T., Quentin C., Siscot M., Baudot J.P. 2003. Chromium availability in ultramofic soils form. Sci Total Environ, New Caledonia, 12-18.

[4] Caldwell M.M., Björn L.O., Bornmann J.F., Flint S.D., Kuladaivelu G., Teramura A.H., Teveni M. 1998. Effects of increased solar ultraviolet radiation on terrestrial ecosystems. Photochem Photobiol, Washington DC, (101): 947-953.

[5] Cicek N., Fedina I., Cakirlar H., Velitchkova M., Georgieva K. 2011. The role of short-term high temperature pretreatment on the UV-B tolerance of barley cultivars, Ankara, 2-6.

[6] Farman J.C., Gardiner B.G., Shanklin J.D. 1985. Large losses of total ozone in Antarctica reveal seasonal ClOx/NOx interaction. Nature 315: 207-210.

[7] Frohnmeyer H., Staiger D. 2003. Ultraviolet-B Radiation-Mediated Responses in Plants. Balancing Damage and Protection, Freiburg, 2-4.

[8] Hillman D. 1961. The Uses of Duckweed, Los Angles, 442-444.

[9] Hockberger P.E. 2002. A history of ultraviolet photobiology for humans, animals and microorganizmus, Photochem Photobiol, (6): 561-579.

[10] Ibanez S., Rosa M., Hilal M., Gonzalez J.A., Prado F.E. 2008. Leaves of Citrus aurantifolia exhibit a diff erent sensibility to solar UV-B radiation according to development stage in relation to photosynthetic pigments and UV-B absorbing compounds production. J Photoch Photobio B (90): 163-169.

[11] Joshi P.N., Ramaswamy N.K., Iyer R.K., Nair J.S., Pradhan M.K., Gartia S., Biswal B., Biswal U.C. 2007. Partial protection of photosynthetic apparatus from UV-B-induced damage by UV-A radiation. Environ Exp Bot (59): 166-172.

[12] Kakani V.G., Reddy K.R., Zhao D., Sailaja K. 2003. Field crop responses to ultraviolet-B radiation: a review. Agr Forest Meteorol, (120): 191-218.

[13] Kyoto Protocol to the United nations framework convention on climate change 1997. On-line URL: http://unfccc.int/resource/docs/convkp/kpeng.html. Pristupljeno 1.2.2014.

[14] Lowry B., Lee D., Hebaut C. 1980. The origin od land plants: a new look at an old problem, Taxon, 2-5.

[15] Mishra V., Srivastava G., Prasad S.M., Abraham G. 2008. Growth, photosynthetic pigments and photosynthetic activity during seedling stage of cowpea (Vigna unguiculata) in response to UV-B and dimethoate. Pestic Biochem Phys (92): 30-37.

[16] Mladenović A. 2013. Utjecaj doze i intenziteta UV zračenja na sobnu ciklamu (Cyclamen persicum L). Garešnica, 5-17.

[17] Montreal Protocol on Substances that Deplete the Ozone Layer 1987. On-line URL: http://ozone.unep.org/new_site/en/Treaties/treaty_text.php?treatyID=2. Pristupljeno 1.2.2014.

[18]Nagar V. 2010. Supplemental UV-B radiation induced changes in growth, pigments and antioxidant pool of bean (*Dolichos lablab*) under field conditions. Lucknow, 3-7

[19] Rozema J., Staaij J., Björn L.O., Caldwell M. 1997. UV-B as an environmental factor in plant life: stress and regulation. Oklahoma City, (1): 22-28.

[20] Singh S.K., Surabhi G.K., Gao W., Reddy K.R. 2008. Assessing genotypic variability of cowpea (Vigna unguiculata [L.] Walp.) to current and projected ultraviolet-B radiation. J Photoch Photobio B (93):71-81.

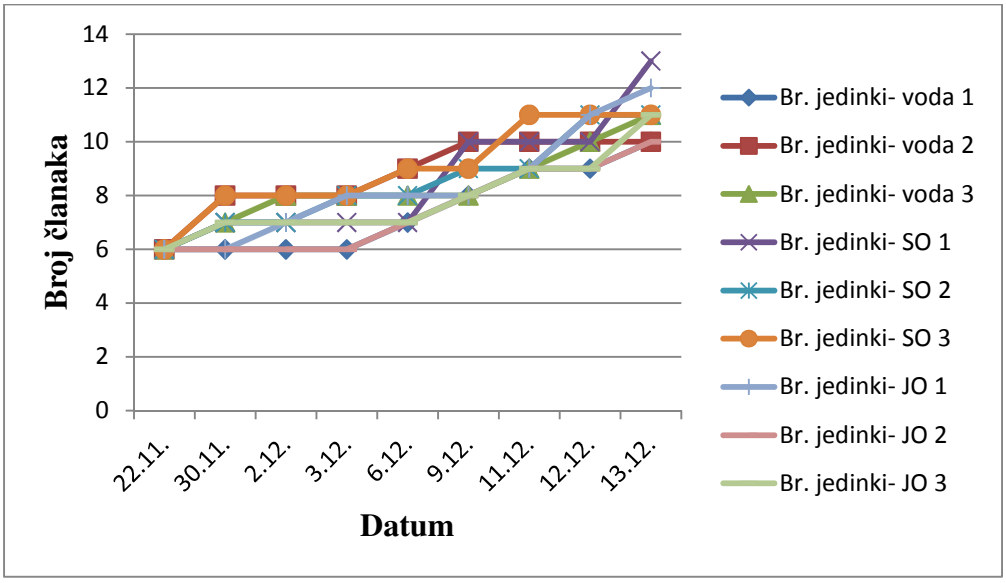
[21] Stamenković V. 2012. Fiziološki odgovori velebitske degenije *Degenia velebetica* (Degen) Hayek na UV zračenje. Zagreb, 14-26.

[22] Štimac T. 2012. Sunčanje i štetnost UV zračenja. On-line URL: http://www.astro.hr/ucionica/ostalo/suncanje/. Pristupljeno 22.12.2013.

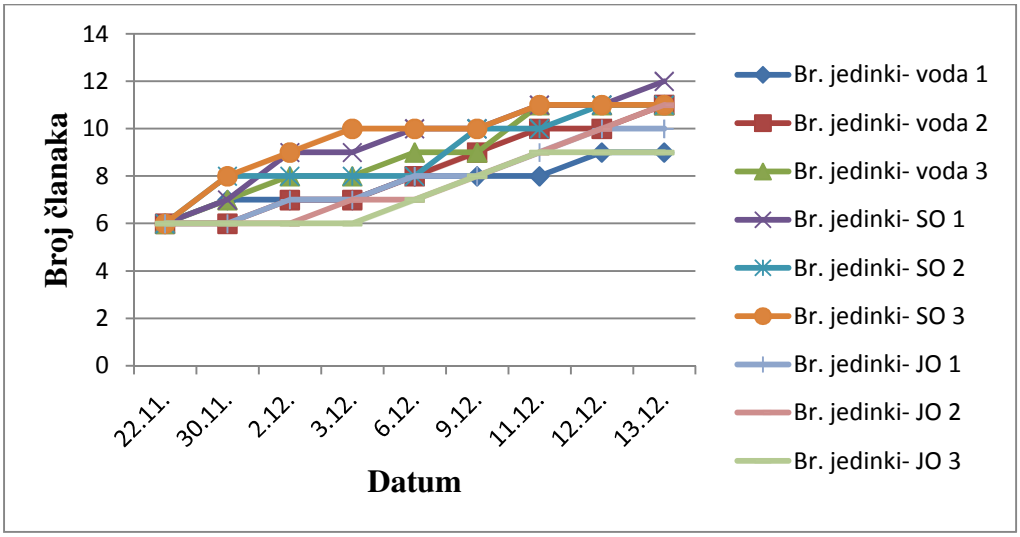
[23] UNEP 2007. Životni grafikon ozona, Ženeva, 6-11.

[24] Volčević B. 2005. Jagoda, malina, kupina. Neron, Bjelovar, 6-21.

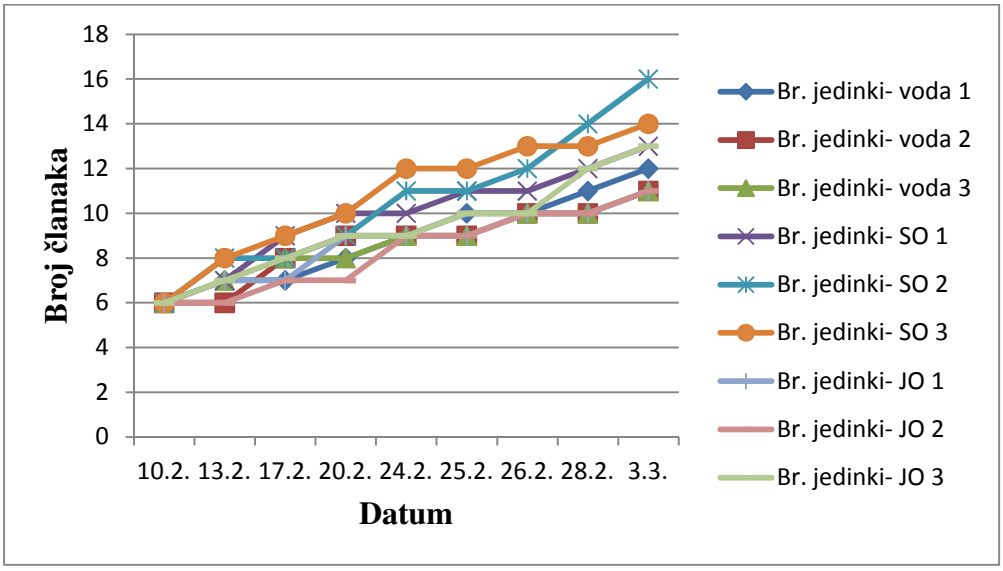
# Prilozi



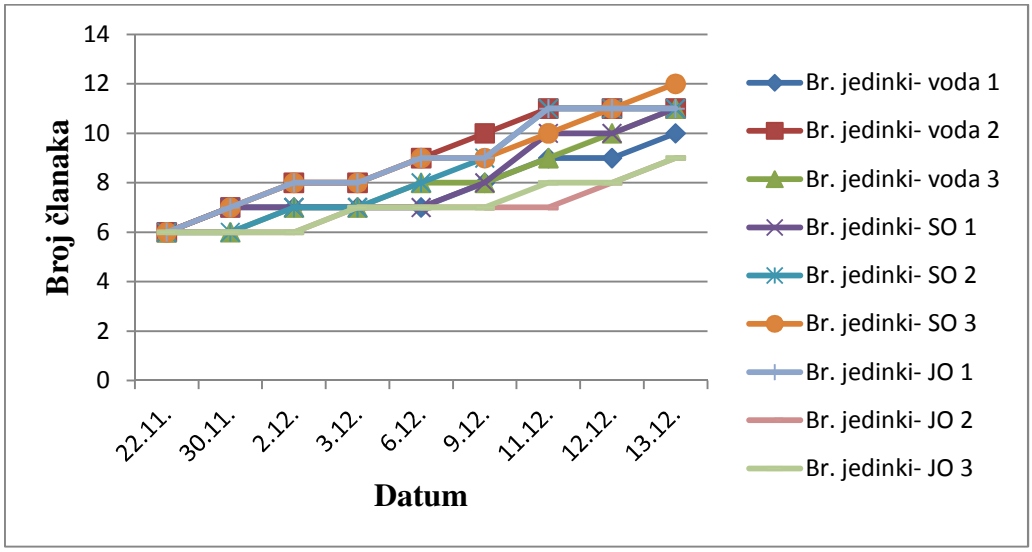

**Prilog 1.** *Rast broja članaka vodene leće u pojedinim otopinama pod UVA zračenjem*




**Prilog 2.** *Rast broja članaka vodene leće u pojedinim otopinama pod UVB zračenjem*




**Prilog 3.** *Rast broja članaka vodene leće u pojedinim otopinama pod UVA i UVB zračenjem*




**Prilog 4**. *Rast broja članaka vodene leće u pojedinim otopinama u kontrolnoj skupini*

**Prilog 5.** *Prikaz statističke analize razlika prirasta članaka u masi (ANOVA)*

*Anova: Single Factor*

SUMMARY

| *Groups* | *Count* | *Sum* | *Average* | *Variance* |
|---|---|---|---|---|
| A | 9 | 0,118246 | 0,013138 | 1,32E-06 |
| B | 9 | 0,117344 | 0,013038 | 2,64E-06 |
| C | 9 | 0,152074 | 0,016897 | 6,53E-05 |
| K | 9 | 0,198465 | 0,022052 | 4,53E-05 |

ANOVA

| *Source of Variation* | *SS* | *df* | *MS* | *F* | *P-value* | *F crit* |
|---|---|---|---|---|---|---|
| Between Groups | 0,000487 | 3 | 0,000162 | 5,666563 | 0,003135 | 2,90112 |
| Within Groups | 0,000916 | 32 | 2,86E-05 | | | |
| | | | | | | |
| Total | 0,001403 | 35 | | | | |

**Prilog 6.** *Prikaz statističke razlike količine klorofila a pod pojedinim uvjetima zračenja*

*Anova: Single Factor klorofil a*

SUMMARY

| *Groups* | *Count* | *Sum* | *Average* | *Variance* |
|---|---|---|---|---|
| UVA | 5 | 0,002346 | 0,0004693 | 4,49107E-08 |
| UVB | 5 | 0,002201 | 0,0004403 | 8,78997E-08 |
| UVAB | 5 | 0,002161 | 0,0004322 | 1,91736E-08 |
| Kontrolna | 5 | 0,007311 | 0,0014622 | 9,52167E-07 |

ANOVA

| *Source of Variation* | *SS* | *df* | *MS* | *F* | *P-value* | *F crit* |
|---|---|---|---|---|---|---|
| Between Groups | 3,86669E-06 | 3 | 1,289E-06 | 4,669272131 | 0,015799 | 3,2388715 |
| Within Groups | 4,4166E-06 | 16 | 2,76E-07 | | | |
| | | | | | | |
| Total | 8,28329E-06 | 19 | | | | |

**Prilog 7.** *Prikaz statističke razlike količine klorofila b pod pojedinim uvjetima zračenja*

*Anova: Single Factor klorofil b*

SUMMARY

| *Groups* | *Count* | *Sum* | *Average* | *Variance* |
|---|---|---|---|---|
| UVA | 5 | 0,002346 | 0,0004693 | 4,49107E-08 |
| UVB | 5 | 0,002201 | 0,0004403 | 8,78997E-08 |
| UVAB | 5 | 0,002161 | 0,0004322 | 1,91736E-08 |
| Kontrolna | 5 | 0,007311 | 0,0014622 | 9,52167E-07 |

ANOVA

| *Source of Variation* | *SS* | *df* | *MS* | *F* | *P-value* | *F crit* |
|---|---|---|---|---|---|---|
| Between Groups | 3,86669E-06 | 3 | 1,289E-06 | 4,669272131 | 0,015799 | 3,2388715 |
| Within Groups | 4,4166E-06 | 16 | 2,76E-07 | | | |
| | | | | | | |
| Total | 8,28329E-06 | 19 | | | | |

**Prilog 8.** *Prikaz statističke razlike količine karotenoida pod pojedinim uvjetima zračenja*

*Anova: Single Factor Karetonoidi*

SUMMARY

| *Groups* | *Count* | *Sum* | *Average* | *Variance* |
|---|---|---|---|---|
| UVA | 5 | 0,001289 | 0,000258 | 8,54E-09 |
| UVB | 5 | 0,00167 | 0,000334 | 6,8E-08 |
| UVAB | 5 | 0,001156 | 0,000231 | 4,31E-09 |
| Kontrolna | 5 | 0,003802 | 0,00076 | 1,38E-07 |

ANOVA

| *Source of Variation* | *SS* | *df* | *MS* | *F* | *P-value* | *F crit* |
|---|---|---|---|---|---|---|
| Between Groups | 9,14E-07 | 3 | 3,05E-07 | 5,58051 | 0,008158 | 3,238872 |
| Within Groups | 8,74E-07 | 16 | 5,46E-08 | | | |
| | | | | | | |
| Total | 1,79E-06 | 19 | | | | |

**Prilog 9**. *Prikaz statističke analize razlika u pigmentima kontrolne i UVB skupine (t -test)*

*t-test: Two-Sample Assuming Equal Variances*

| | *B* | *K* |
|---|---|---|
| Mean | 0,013038178 | 0,022051721 |
| Variance | 2,63618E-06 | 4,52688E-05 |
| Observations | 9 | 9 |
| Pooled Variance | 2,39525E-05 | |
| Hypothesized Mean Difference | 0 | |
| df | 16 | |
| t Stat | -3,90684619 | |
| P(T<=t) one-tail | 0,000627767 | |
| t Critical one-tail | 1,745883676 | |
| P(T<=t) two-tail | 0,001255534 | |
| t Critical two-tail | 2,119905299 | |

**Prilog 10**. *Prikaz statističke analize razlika u pigmentima kontrolne i UVA/UVB skupine (t-test)*

*t-Test: Two-Sample Assuming Equal Variances*

| | *A+B* | *K* |
|---|---|---|
| Mean | 0,016897154 | 0,022051721 |
| Variance | 6,52838E-05 | 4,52688E-05 |
| Observations | 9 | 9 |
| Pooled Variance | 5,52763E-05 | |
| Hypothesized Mean Difference | 0 | |
| df | 16 | |
| t Stat | -1,47071652 | |
| P(T<=t) one-tail | 0,080380084 | |
| t Critical one-tail | 1,745883676 | |
| P(T<=t) two-tail | 0,160760168 | |
| t Critical two-tail | 2,119905299 | |

**Prilog 11.** *Prikaz statističke analize razlike u pigmentima kontrolne i UVA skupine*

*t-test: Two-Sample Assuming Equal Variances*

| | *A* | *K* |
|---|---|---|
| Mean | 0,013138484 | 0,022051721 |
| Variance | 1,31907E-06 | 4,52688E-05 |
| Observations | 9 | 9 |
| Pooled Variance | 2,3294E-05 | |
| Hypothesized Mean Difference | 0 | |
| df | 16 | |
| t Stat | -3,917600226 | |
| P(T<=t) one-tail | 0,000613708 | |
| t Critical one-tail | 1,745883676 | |
| P(T<=t) two-tail | 0,001227416 | |
| t Critical two-tail | 2,119905299 | |

**Prilog 12.** *Prikaz statističke analize razlike u pigmentima UVA i UVB skupine (t-test)*

*t-test: Two-Sample Assuming Equal Variances*

| | *A* | *B* |
|---|---|---|
| Mean | 0,013138484 | 0,013038178 |
| Variance | 1,31907E-06 | 2,63618E-06 |
| Observations | 9 | 9 |
| Pooled Variance | 1,97763E-06 | |
| Hypothesized Mean Difference | 0 | |
| df | 16 | |
| t Stat | 0,151307788 | |
| P(T<=t) one-tail | 0,440812118 | |
| t Critical one-tail | 1,745883676 | |
| P(T<=t) two-tail | 0,881624235 | |
| t Critical two-tail | 2,119905299 | |