UNIVERZITA KONŠTANTÍNA FILOZOFA V NITRE
FAKULTA PRÍRODNÝCH VIED A INFORMATIKY

FAKULTA PRÍRODNÝCH VIED UNIVERZITY MATEJA BELA

ÚCM FPV

ŠTUDENTSKÁ VEDECKÁ KONFERENCIA 2023

ZBORNÍK RECENZOVANÝCH PRÍSPEVKOV

Študentská vedecká konferencia 2023

Fakulta prírodných vied a informatiky Univerzity Konštantína Filozofa v Nitre

Fakulta prírodných vied Univerzity Mateja Bela v Banskej Bystrici

Fakulta prírodných vied Univerzity sv. Cyrila a Metoda v Trnave

Zborník recenzovaných príspevkov

Dátum konania:	4. apríl 2023
Editori:	Mgr. Kristián Fodor, PhD. prof. RNDr. Radoslav Omelka, PhD. doc. RNDr. Vladimíra Mondočková, PhD. RNDr. Veronika Kováčová, PhD. Mgr. Mária Pappová
Vydavateľ:	Fakulta prírodných vied a informatiky, Univerzita Konštantína Filozofa v Nitre Fakulta prírodných vied, Univerzita Mateja Bela v Banskej Bystrici Fakulta prírodných vied, Univerzita sv. Cyrila a Metoda v Trnave
Edícia:	Prírodovedec č. 811
Vydanie:	prvé
Rozsah strán:	666

ISBN 978-80-558-2024-8

Vedeckí garanti
doc. RNDr. Ingrid Turisová, PhD.
Mgr. Dominika Vešelényiová, PhD.
prof. RNDr. Radoslav Omelka, PhD.

Editori
Mgr. Kristián Fodor, PhD.
prof. RNDr. Radoslav Omelka, PhD.
doc. RNDr. Vladimíra Mondočková, PhD.
RNDr. Veronika Kováčová, PhD.
Mgr. Mária Pappová

Organizačný výbor konferencie na FPVaI UKF v Nitre:
prof. RNDr. Radoslav Omelka, PhD.
PaedDr. Ivana Boboňová, PhD.
RNDr. Gabriela Repaská, PhD.
PaedDr. Milan Maroš, PhD.
Mgr. Kristián Fodor
Bc. Mária Pappová
Mgr. Veronika Kubová
Mgr. Barbora Loncová
Mgr. Silvia Haringová
Mgr. Tibor Kovács
Mgr. Marcel Cvik
Mgr. Silvia Čajková

Organizačný výbor konferencie na FPV UMB v Banskej Bystrici:
doc. RNDr. Ingrid Turisová, PhD.
Ing. Slavka Račáková, PhD.
doc. RNDr. Zuzana Melichová, PhD.
doc. Ing. Ján Tomaškin, PhD.
doc. PaedDr. Ján Stebila, PhD.
RNDr. Miroslav Melicherčík, PhD.
prof. RNDr. Vladimír Janiš, CSc.
doc. Ing. Juraj Švajda, PhD.
prof. Dr. Boris Tomášik
Mgr. Lenka Balážovičová, PhD.
Mgr. Tomáš Valent

Organizačný výbor konferencie na FPV UCM v Trnave:
Mgr. Dominika Vešelényiová, PhD.
doc. Ing. Jozef Sokol, CSc.
doc. Mgr. Daniel Mihálik, PhD.
Mgr. Martin Valica, PhD.
Ing. Eva Ürgeová, PhD.
Ing. Jana Jurinová, PhD.

Recenzenti
RNDr. Vanda Adamcová, PhD.
RNDr. Michal Ambros, PhD.
RNDr. Ramona Babosová, PhD.
Mgr. Lenka Balážovičová, PhD.
RNDr. Terézia Beck, PhD.
RNDr. Michal Benc, PhD.
RNDr. Barbora Benická, PhD.
Mgr. Ľubomír Benko, Ph.D.
Ing. Eva Boszoradová, PhD.
doc. RNDr. Šimon Budzák, PhD.
Mgr. Juraj Butek, PhD.
RNDr. Štefan Csáki, PhD.
doc. Ing. Michal Čerňanský, PhD.
doc. PaedDr. Stanislav David, PhD.
doc. Mgr. Štefan Ferenc, PhD.
doc. RNDr. Alfonz Gajdoš, PhD.
RNDr. Zuzana Gerši, PhD.
doc. Mgr. Henrich Grežo, PhD.
Mgr. Marián Hosťovecký, PhD.
doc. RNDr. Roman Hric, PhD.
Mgr. Jarmila Hudáková, PhD., MBA
doc. RNDr. PaedDr. Ladislav Huraj, PhD.
prof. RNDr. Vladimír Janiš, CSc.
doc. Ing. Jana Jurinová, PhD.
doc. PaedDr. Jozef Kapusta, PhD.
Mgr. Richard Kopáčik
doc. Ing. Štefan Koprda, PhD.
Ing. Marcela Korenková, PhD.
RNDr. Veronika Kováčová, PhD.
prof. RNDr. Juraj Krajčovič, CSc.
doc. RNDr. Alfred Krogmann, PhD.
doc. Ing. Vladimír Kubovčík, PhD.
doc. RNDr. Roman Kuna, PhD.
RNDr. Elena Kupcová, PhD.
RNDr. Vladimír Langraf, PhD.
RNDr. Libuša Lengyelová, PhD.
doc. PaedDr. Martin Magdin, Ph.D.
doc. Ing. Tibor Maliar, PhD.
Mgr. Filip Mareček, PhD.
doc. Mgr. Ildikó Matušíková, PhD.
RNDr. Miroslav Melicherčík, PhD.

doc. RNDr. Zuzana Melichová, PhD.
Mgr. Michaela Mihóková, PhD.
RNDr. Alžbeta Michalíková, PhD.
doc. RNDr. Martin Morovič, PhD.
prof. RNDr. Daša Munková, PhD.
RNDr. Magdaléna Nemčíková, PhD.
doc. RNDr. Jana Némethová, PhD.
prof. RNDr. Radoslav Omelka, PhD.
RNDr. Daša Oremusová, PhD.
doc. Ing. Viera Papcunová, PhD.
RNDr. Lucia Petrikovičová, PhD.
doc. Ing. Ida Petrovičová, PhD.
Mgr. Veronika Piscová, PhD.
Mgr. Zuzana Pucherová, PhD.
PaedDr. Anna Sandanusová, Ph.D.
doc. RNDr. Milan Seman, CSc.
doc. Ing. Jozef Sokol, CSc.
doc. PaedDr. Ján Stebila, PhD.
prof. RNDr. František Strejček, PhD.
Mgr. Janka Ševčíková, PhD.
PaedDr. Ján Štubňa, PhD.
Mgr. Matej Šuránek
prof. RNDr. Ján Titiš, PhD.
RNDr. Miroslava Trembošová, PhD.
doc. RNDr. Ingrid Turisová, PhD.
Mgr. Michal Vagač, PhD.
Mgr. Martin Valica, PhD.
doc. Mgr. Matej Vesteg, PhD.
Mgr. Dominika Vešelényiová, PhD.
RNDr. Katarína Vilinová, PhD.
doc. RNDr. Matej Vojtek, PhD.
doc. RNDr. Jana Vojteková, PhD.

Rukopisy neprešli jazykovou korektúrou. Za jazykovú úpravu príspevkov zodpovedajú autori.

© Fakulta prírodných vied a informatiky, Univerzita Konštantína Filozofa v Nitre
© Fakulta prírodných vied, Univerzita Mateja Bela v Banskej Bystrici
© Fakulta prírodných vied, Univerzita sv. Cyrila a Metoda v Trnave

Sponzori konferencie:

ŽP Informatika s.r.o.

S.D.A. s.r.o.

Študentská vedecká konferencia bola podporená projektom KEGA 025UCM-4/2021.

Obsah

Biológia, ekológia a environmentalistika 10

Srdcová frekvencia, saturácia kyslíkom a parametre pľúcnych funkcii u pacientov s obštrukčným ochorením pľúc po prekonaní infekcie COVID-19 11

Pyrolýzne produkty ako nástroje sekvestrácie uhlíka 18

Asistovaný hatching a jeho praktické využitie 25

Vplyv polymorfizmu v géne pre parathormón (PTH) na anti-osteoporotickú terapiu ibandronátom 33

Vplyv kultivačných podmienok na produkciu polyhydroxybutyrátu baktériami druhu Cupriavidus necator 39

Vplyv exogénnej aplikácie antioxidantov na regeneráciu a transformáciu Brassica napus L. 45

Odkiaľ sa berú hybridné rastliny Solidago ×niederederi vo voľnej prírode? Analýza potomstva S. ×niederederi a rodičovských druhov S. canadensis a S. virgaurea 51

Taxonomické hodnotenie a variabilita veľkosti genómu v skupinách Erysimum odoratum a E. virgatum (Brassicaceae) 58

Potenciál lytickej aktivity endolyzínu EN534-C voči patogénnym bakteriálnym kmeňom 65

Štúdium enzýmu β -1,3-glukán syntáza u Euglena gracilis prostredníctvom in silico metód 72

Využitie rastlinných extraktov na inhibíciu rastu vybraných baktérií 77

Vplyv maturačného média na vývojový potenciál oocytov 83

Identifikácia fototrofných mikroorganizmov izolovaných z chladiacich veží 89

Chémia, fyzika a matematika 95

Organická syntéza v prospech fotodynamickej terapie 96

Vertex labellings of simple graphs 102

Štúdium mechanizmu Guerbetovej reakcie ako jednej z ciest valorizácie biomasy 115

Syntéza a biologická aktivita Schiffových báz odvodených od 4-aminoantipyrínu 121

Schiffove bázy – nové materiály pre optoelektronické aplikácie 127

Príspevok k zhodnoteniu kvality prírodných vôd v oblasti Mýta pod Ďumbierom 133

Optimalizácia podmienok preparatívnej chromatografickej separácie tyrozol □-D-fruktozidu z reakčnej zmesi 140

Vplyv prídavku zelených rozpúšťadiel na enzýmovú syntézu tyrozol β-D-galaktozidu 146

Využitie syntetickej modifikácie prírodných ílov s cieľom zlepšenia ich adsorpčných vlastností 153

Mobilita kovov v extenzívnych strešných substrátoch s prídavkom karbonizovaných čistiarenských kalov 160

Geografia, regionálny rozvoj a geológia 168

Potenciál využitia stojatých vodných plôch v MAS Cedron-Nitrava 169
Výskum Prosieckej jaskyne so zameraním sa na alochtónnu a autochtónnu vyplň a ich vplyv na morfológiu jaskynných priestorov 177
Poľnohospodárske brownfieldy v okrese Nitra – výsledky terénneho výskumu 185
Objektívna dimenzia chudoby v Nitrianskom samosprávnom kraji 193
Geologická stavba a štruktúrna analýza permských súvrství hronika (Západné Karpaty) 198
Terénny monitoring vodných tokov v meste Banská Bystrica: na príklade Tajovského potoka a Bystrice 206
Štatistická analýza znečisťujúcich látok v ovzduší v skúmaných územiach v rokoch 2019-2021 214
Charakteristika sulfidickej mineralizácie na ložisku HnúšťaMútnik s ohľadom na kritické suroviny Ni a Co 222
Informatika 228
Štatistická analýza rozmerných množín grafov 229
RL-Toolkit: Návrh a implementácia sady nástrojov pre učenie s posilňovaním v robotike 237
Bezpečnosť frameworku Laravel 243
Proces klasifikácie emocionálneho stavu podľa charakteristík správania sa používateľa 249
Implementácia SSH honeypot-u na nízko-energetickom zariadení 254
Užitočná aplikácia pre rozpoznávanie tvári 260
Spôsob jednoduchého a efektívneho testovania používateľského zážitku a používateľského rozhrania 268
Detekcia osôb v chemickom laboratóriu 273
Využitie technológie blockchain na odosielanie dát a ich spracovanie 279
Porovnanie komunikačných technológií v architecture mikroslužieb 284
Platforma pre výmenu NFT 291
Návrh a vývoj mobilnej aplikácie pre nahlasovanie nelegálnych skládok na Slovensku 298
Porovnanie výkonu vysokej dostupnosti v prostredí Linuxových kontajnerov 306
Zmiešaná realita pre priemyselnú robotiku 314
Návrh a realizácia meteostanice s komunikáciou v sieti IoT 319
Pripojenie hlasového asistenta od spoločností Google a Apple k mikrokontroléru Arduino 328
Odborová didaktika I. 334
Svojpomocné audiovizuálne nahrávanie vlastnej výučby 335
Návrh vzdelávacích aktivít s využitím botanického výskumu vo výučbe biológie žiakov 6. ročníka základných škôl 343
Tráviaca sústava- tvorba a overovanie podporných vzdelávacích materiálov pre žiakov gymnázií. ... 350
Didaktická tvorba modelových hodín a materiálov pre žiakov gymnázií na tému Hormonálna sústava človeka 358

Pracovné listy a didaktické hry s botanickou tématikou vo výučbe biológie 366
Didaktické spracovanie školských biologických pokusov zo zoológie stavovcov 372
Aplikácia environmentálnej výchovy do vyučovania geografie 380
Overovanie modelov hodín a úloh na rozvíjanie tvorivosti, čitateľskej gramotnosti a na rozvoj kritického a logického myslenia žiakov 388
Overovanie podporných vzdelávacích materiálov a analýza výsledkov pre tematický celok Dýchacia sústava človeka 395
Realizácia technologických postupov pri výrobe marionety 400
Vplyv pandémie Covid-19 na vzdelávanie 408
Zážitkové učenie z botaniky v školskom a mimoškolskom prostredí 415
Odborová didaktika II. 423
Návrh didaktických aktivít pre žiakov základných škôl vo vyučovaní geografie miestnej krajiny v MAS Miloj Spiš 424
Učebnica geografie miestnej krajiny mikroregiónu Bystrická dolina 432
Návrhy terénneho vyučovania geografie miestnej krajiny v Miestnej akčnej skupine Termál 440
Využitie vybraných didaktických prostriedkov NASA vo vyučovaní geografie 448
Analýza finančného stavu vybraného podniku 456
„Hore na Šarišský hrad“ – návrh geografickej vychádzky pomocou platformy Wherigo 462
Medzinárodná a vnútroštátna migrácia vo vybranom regióne SR 470
Komparácia a elektronické spracovanie učebníc matematiky 478
Tvorba študijných materiálov z geometrie pre budúcich učiteľov matematiky 484
Návrh a tvorba tematického atlasu ako kartografickej pomôcky na hodinách vied o Zemi 490
Spoločenská hra v geografickom vzdelávaní - „Cesty po hornom Gemeri“ 498
Návrh aktivít na rozvoj informatického a matematického myslenia v neformálnom vzdelávaní 506
Názory študentov stredných škôl na zmeny vo výučbe ekonomických predmetov spôsobené pandémiou 511
PhD. I. 519
In silico analýza α-amylázovej rodiny GH119 – sekvenčnoštruktúrne črty, evolúcia a príbuznosť s rodinou GH57 520
Formovanie jadierok v embryách hovädzieho dobytka po medzidruhovom nukleolotransfere z oocytov ošípaných 527
Výskum diverzity vyšších rastlín vo vysokohorskej krajine ako platforma na monitorovanie dôsledkov klimatickej zmeny 534
Detailná in silico analýza α-amylázovej rodiny GH126 s ohľadom na unikátne sekvenčno-štruktúrne črty 542
Výskyt Vibrio spp. v riekach Topľa a Ondava 547
Rozsiahle biotechnologické využitie bičíkovca Euglena gracilis 552

Vplyv liečiva cemtirestat na biochemické a štrukturálne charakteristiky kostného tkaniva na modeli diabetických potkanov 560

Štúdium asociácie zápalových markerov a paropatogénnych baktérií pri ochorení parodontitídy 565

Drobné cicavce areálu priemyselného parku v Nitre 570

Vplyv introdukcie rýb na subfosílne pakomáre, perloočky a rozsievky vo vysokohorskom jazere (Vyšné Račkovo pleso, Západné Tatry) 577

Využitie metódy CRISPR – Cas9 pri úpravách genómu bičíkovca Euglena gracilis 586

Časopriestorové zmeny výskytu a početnosti orchideí na území Tuhárskeho krasu (oblasť západokarpatskej flóry) 594

PhD. II. 602

Elektromagnetické pole bežného života a jeho vplyv na kvasinky 603

Participácia občianskej verejnosti pri plánovaní sídelného rozvoja a zlepšovaní životného prostredia v slovenských mestách 609

Vplyv veľkosti kontextového okna na slovné vektory pri klasifikačných úlohách 617

Percepcia efektívnosti odpadového hospodárstva na príklade Hrušovsko – Beňadického Mikroregiónu 625

Stanovenie vlhkosti stavebných materiálov pomocou časovej reflektometrie 634

Hexakoordinovaný supramolekulový Co(II) komplex a vplyv vzdialeného substituenta na pomalú magnetickú relaxáciu 641

Matematická analýza kriviek vlastností papiera 647

Benzimidazoly ako potenciálne chemosenzory pre vysoko reaktívne organické častice: Syntéza a zmeny fyzikálnochemických vlastností po reakcii s tionylchloridom 652

Získavanie Dát z Podniku pre Detekciu Únikov vo Vodovodných Distribučných Sieťach pomocou Metód Strojového a Hlbokého Učenia 658

Využitie NLP metód pri predikcii úrovne neurodegeneratívneho ochorenia 663

Predslov

Študentská vedecká konferencia (ŠVK) predstavuje významné podujatie pre študentov univerzít, na ktorom majú príležitosť prezentovať svoje originálne výsledky, získať nové skúsenosti s vystúpením na konferenciách, publikovať vedeckú prácu v zborníku, či spoznať nových ľudí v odbore a prípadne nadviazať nové spolupráce. Konferencia je určená pre študentov 1., 2. a 3. stupňa vysokoškolského štúdia. ŠVK spoločne a tradične organizujú Fakulta prírodných vied a informatiky UKF v Nitre s Fakultou prírodných vied UMB v Banskej Bystrici. Tento rok sa po prvýkrát k organizácii ŠVK a zapojení svojich študentov pripojila Fakulta prírodných vied UCM v Trnave, čím sa konferencia rozšírila o množstvo kvalitných príspevkov. Na konferencii bolo prezentovaných celkovo 86 prác, čo predstavuje najvyšší počet účastníkov konferencie za posledných sedem rokov.

Siedmy ročník ŠVK sa uskutočnil 4. apríla 2023 na Fakulte prírodných vied UMB v Banskej Bystrici. Študenti úspešne prezentovali výsledky svojho výskumu v 8 sekciách: Biológia, ekológia a environmentalistika; Chémia, Fyzika a Matematika; Geografia a regionálny rozvoj a Geológia; Informatika; Odborová didaktika I.; Odborová didaktika II.; PhD. študenti I.; PhD. študenti II. Hodnotiace komisie zložené z garantov všetkých troch fakúlt si pozorne vypočuli všetky prezentácie a vyhodnotili najlepšie práce v každej sekcii. Samostatné ocenenie získali dve práce v sekcii Informatika od sponzorov z firiem ŽP Informatika s.r.o. a S.D.A. s.r.o.

Všetky vedecké práce, ktoré sú súčasťou tohto zborníka, boli recenzované. Veľmi nás teší, že postupom rokov evidujeme čoraz kvalitnejšie práce a výsledky, získané pomocou náročnejších technológií a metodických postupov. Je to dôkaz, že naši študenti majú široké možnosti využívania moderných laboratórií, najnovšej techniky a sú schopní získať kvalitné vedecké výsledky, prezentovať ich pred komisiou, svojimi kolegami a širokou verejnosťou.

Dovoľte nám poďakovať sa všetkým garantom sekcií, recenzentom prác, školiteľom študentov a organizátorom za aktívny prístup, ktorý nesporne prispel k vysokej kvalite ŠVK. Autorom ocenených prác srdečne blahoželáme a všetkým študentom, ktorí sa ŠVK zúčastnili, želáme veľa úspechov do ďalšej vedeckej práce.

prof. RNDr. Radoslav Omelka, PhD.
prodekan pre vedu a výskum, FPVaI UKF v Nitre

doc. RNDr. Ingrid Turisová, PhD.
poverená prodekanka pre vedu a výskum, FPV UMB v Banskej Bystrici

Mgr. Dominika Vešelényiová, PhD.
prodekanka pre vedu a medzinárodné vzťahy, FPV UCM v Trnave

Sekcia

Biológia, ekológia a environmentalistika

Srdcová frekvencia, saturácia kyslíkom a parametre pľúcnych funkcii u pacientov s obštrukčným ochorením pľúc po prekonaní infekcie COVID-19.

Patients with obstructive pulmonary disease and their heart rate, oxygen saturation, and pulmonary function parameters after COVID-19 infection.

Mária Záhumenská[1]
Školiteľ: Branislav Kolena[1,2] ,
[1]Katedra zoológie a antropológie, FPVaI UKF, Nábrežie mládeže 91, 949 01 Nitra
[1] maria.zahumenska@student.ukf.sk, [2] bkolena@ukf.sk

Abstrakt
Po prekonaní infekcie vírusom SARS-CoV-2 sa v prípade cca 10-15% pacientov vyskytujú perzistujúce post-covidové príznaky. Medzi najčastejšie príznaky a symptómy patria dýchavičnosť, malátnosť, vysoká srdcová frekvencia, problémy s pamäťou a kognitívnymi funkciami. Zvýšená srdcová frekvencia je predikujúcim faktorom zhoršenia stavu pacientov s obštrukčným ochorením pľúc. V predkladanej štúdii sme sa zamerali na monitorovanie srdcovej frekvencie, saturácie kyslíkom a parametrov pľúcnych funkcii u probandov navštevujúcich pneumologicko-ftizeologickú ambulanciu v Seredi, s diagnostikovaným obštukčným ochorením pľúc. Zaznamenali sme zvýšenú srdcovú frekvenciu u probandov po prekonaní ochorenia COVID-19 (p= 0,02); a to predovšetkým u mužov (p= 0,006) a pacientov s chronickou obštukčnou chorobou pľúc (p= 0,033).Monitorovanie srdcovej frekvencie sa javí ako ľahko dostupný hemodynamický parameter, poukazujúci na prípadné zhoršenie kardiovaskulárnych funkcii po prekonaní infekcie COVID-19 v kontexte pacientov s obštrukčným ochorením pľúc.
Kľúčové slová: obštrukčné ochorenia pľúc, srdcová frekvencia, saturácia kyslíkom, parametre pľúcnych funkcii, COVID-19, ACE-2

Abstract
An estimated 10-15% of patients infected with SARS-CoV-2 have persistent post-covid symptoms. The most occurring post-covid signs and symptoms are shortness of breath, fatigue, high heart rate, memory, and cognitive dysfunction. Increased heart rate is a predicting factor of deterioration in the condition of patients with obstructive pulmonary disease. We focused on monitoring heart rate, oxygen saturation and pulmonary function parameters of patients visiting pneumology-phtisology clinic in Sereď, diagnosed with obstructive pulmonary disease. We observed a significant association in increased heart rate after COVID-19 infection (p= 0,02); especially in males (p= 0,006) and patients with chronic obstructive pulmonary disease (p= 0,033). Heart rate is an easily obtained hemodynamic parameter, indicating a posssible deterioration in cardiovascular functions after COVID-19 infection in patiens diagnosed with obstructive pulmonary disease.
Key Words: obstructive pulmonary disease, heart rate, oxygen saturation, pulmonary function parameters, COVID-19, ACE-2

Úvod

Dňa 30. januára 2020 vyhlásila Svetová zdravotnícka organizácia (WHO, *z angl. World Health* Organization) prepuknutie infekcie SARS-CoV-2 (*z angl. severe acute respiratory syndrome coronavirus* 2) za vec medzinárodného záujmu v prípade verejného zdravia [1]. Odo dňa (6.3.2020), kedy sme zaznamenali prvý potvrdený prípad ochorenia COVID-19 (spôsobeného vírusom SARS-CoV-2) sme na Slovensku pomocou laboratórnych testov do konca februára 2023 zaznamenali 1,86 miliónov prípadov infekcie potvrdených prostredníctvom PCR testov [2]. Hoci klinická manifestácia ochorenia zahŕňa prevažne respiračné symptómy, infekcia môže byť manifestovaná aj kardiovaskulárnymi, neurologickými, gastrointestinálnymi a dermatologickými komplikáciami a symptómami [3]. Infekcia SARS-CoV-2 je vyvolaná väzbou *spike* proteínu vírusu na ACE-2 (angiotenzín konvertujúci enzým 2), ktorý je vo vysokej miere exprimovaný v pľúcach a srdci [4]. Vekom

podmienená strata ACE2 v pľúcach vo výskumoch korelovala so zvýšenou mortalitou a zhoršením fenotypových prejavov u starších pacientov trpiacich na COVID-19 [5]. Vírus môže infikovať jedincov akéhokoľvek veku, avšak doteraz popísané infekcie s ťažkým priebehom boli zaznamenané predovšetkým u jedincov vo veku >55 rokov, s pridruženými komorbiditami, okrem iného tiež chronickou obštrukčnou chorobou pľúc (CHOCHP) [6]. Vo všeobecnosti, vývoj počtu dispenzarizovaných pacientov na obštrukčné ochorenia pľúc na Slovensku, od roku 2019 (CHOCHP – 79 189 pacientov, astma – 101 367) do roku 2021 (CHOCHP – 68 242, astma – 90 353) ukazuje klesajúcu tendenciu [7]. Zvýšenú expresiu ACE-2 v dolných dýchacích cestách tiež pozorujeme u fajčiarov a pacientov s diagnostikovanou CHOCHP, čo by mohlo čiastočne vysvetľovať zvýšené riziko ťažkého priebehu ochorenia COVID-19 [6].

Zvýšená srdcová frekvencia je ukazovateľom hemodynamickej funkcie, predikujúca kardiovaskulárnu mortalitu ako aj mortalitu vo všeobecnosti [8]. Srdcovú frekvenciu zaznamenávame v počte úderov za minútu (počet tepov/b.p.m. *z angl. beats per minute*) a u zdravého človeka by nemala presahovať hodnoty 60-70 tepov. V prípade ak sa pacient lieči na kardiovaskulárne ochorenie by sa jeho srdcová frekvencia mala pohybovať v rozmedzí 55-60 úderov za minútu [9]. Exitus pacientov s CHOCHP nastáva častejšie v dôsledku kardiovaskulárnej príčiny ako respiračnej [10,11,12]. V klinickej praxi je bežné, že pacienti s CHOCHP majú vysokú srdcovú frekvenciu počas odpočinku. Avšak vysoká srdcová frekvencia v pokoji je asociovaná so zhoršenou prognózou v iných ochoreniach ako napríklad pri srdcovom zlyhaní, ktoré zdieľa s CHOCHP niekoľko klinických symptómov, ako je znížený tepový objem, dyspnoe a malátnosť [13]. Podobne po ochorení COVID-19 u niektorých pacientov perzistujú príznaky ako dýchavičnosť, malátnosť, zvýšená srdcová frekvencia, dysfunkcia pamäte a kognitívnych funkcii [14]. Srdcová frekvencia by potencionálne mohla byť terapeutickým cieľom a markerom prognózy pacientov s CHOCHP aj s koronárnou chorobou srdca, či srdcovým zlyhaním [15,16]. Cieľom našej štúdie bolo analyzovať zmerané hodnoty (srdcovej frekvencie, saturácie kyslíkom a parametrov pľúcnych funkcii) u probandov s diagnostikovaným obštrukčným ochorením pľúc v závislosti od prekonania ochorenia COVID-19.

1 Metódy

V rámci diplomovej práce vedenej pod názvom „Biomonitoring ftalátov a pľúcnych funkcii v populácii dospelých a seniorov“ sme sa zamerali aj na snímanie srdcovej frekvencie. Výskumná skupina (n=50) pozostávala z dispenzarizovaných pacientov s obštrukčným ochorením dýchacích ciest navštevujúcich pneumologicko-ftizeologickú ambulanciu Polikliniky, ProCare Sereď, pod vedením lekárky MUDr. Marty Kristekovej a sestričky Dany Hančinovej. Súčasťou dotazníka probanda bol okrem monitorovania faktorov životného štýlu aj otázka monitorujúca prekonanie ochorenia COVID-19. Výskum prebiehal od 29.6.2022 do 15.11.2022 v oblasti Trnavského kraja, kedy v populácii dominoval variant vírusu *omicron*. Bližšiu informáciu o prekonanom subtype vírusu sme však k dispozícii nemali.

1.1 Snímanie klinicky významných parametrov

Srdcovú frekvenciu a saturáciu kyslíkom sme snímali pomocou oximetra značky Lk87. Počas merania bol proband v kľudovej pozícii, jeho telo bolo polohované do *basis sedens*. Srdcový tep (počet/ b.p.m) a saturáciu kyslíkom sme zaznamenali trikrát a výsledné hodnoty sme následne priemerovali.. Pľúcne parametre snímala zaškolená sestrička pomocou spirometra značky MIR Minispir a následne boli vyhodnocované príslušným softwarom Winspiro PRO. Zaznamenávali sme nasledovné parametre: FVC (L) – úsilná vitálna kapacita (maximálny objem vzduchu, ktorý sa dá po maximálnom nádychu vydýchnuť), FVC (%), FEV 1 (L) – úsilný výdychový objem za 1 sekundu, FEV 1%, FEV1/FVC % - Tiffeneauov-Pinelliho index, FEV1/FVC namerané % z predpokladanej predikčnej hodnoty (vzhľadom k veku, pohlaviu a etnickej príslušnosti pacienta), PEF (L/s) – vrcholový výdychový prietok (najvyššia rýchlosť na vrchole úsilného výdychu), PEF (%), FEF 50 (L/s) – úsilný expiračný prietok na úrovni 50% FVC, FEF 50 (%).

1.2 Všeobecná charakteristika súboru

Kohortu tvorilo 50 probandov s diagnostikovaným obštrukčným ochorením pľúc. Z hľadiska pohlavnej skladby bola kohorta relatívne vyvážená- tvorilo ju 54% žien (n=27) a 46% mužov (n=23). Z hľadiska miesta trvalého pobytu prevažoval vidiek (n=33; 66%) nad urbánnym prostredím (n=17; 34%). Z hľadiska ochorení respiračného systému kohortu tvorilo 37 pacientov s diagnostikovaným CHOCHP, 11 pacientov s diagnostikovanou astmou a 2 pacienti s kombináciou obidvoch ochorení (CHOCHP + astma). U pacientov

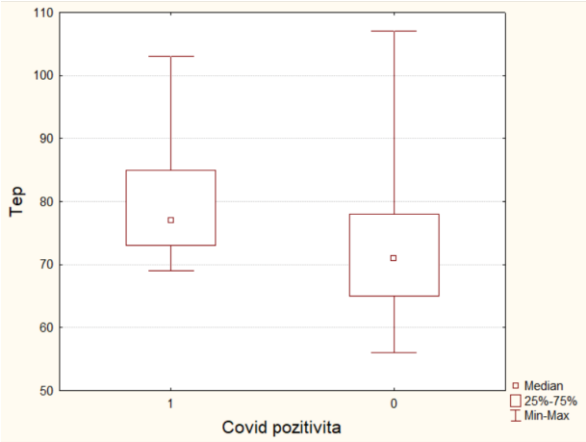
sme pomocou dotazníka zaznamenali informácie o diagnostikovaných kardiovaskulárnych ochoreniach. Srdcovo-cievne problémy vo všeobecnosti udávalo 16% pacientov (n=8), vysoký krvný tlak 10% pacientov (n=5) a súbeh oboch ochorení vykazovalo 46% pacientov (n=23). V 28% prípadov (n=14) sme nezaznamenali žiadne ochorenie kardiovaskulárneho systému. Ochorenie COVID-19 prekonalo 34% pacientov (n=17), z toho 8 žien a 9 mužov. Ochorenie COVID 19 prekonalo 28% pacientov (n=14) s diagnostikovanou CHOCHP a 6% pacientov s diagnostikovanou astmou (n=3).

Informácie o diagnostikovaných ochoreniach, srdcovej frekvencii, saturácii kyslíkom a parametroch pľúcnych funkcii sme testovali pomocou štatistického programu Statistica 7. Normalitu údajov sme overovali pomocou Shapiro-Wilkovho testu. Neparametrický Mann-Whitneyho test sme použili pri spracovaní údajov s dvomi možnosťami. Úroveň štatistickej významnosti sme si stanovili na p≤0.050.

2 Výsledky a diskusia

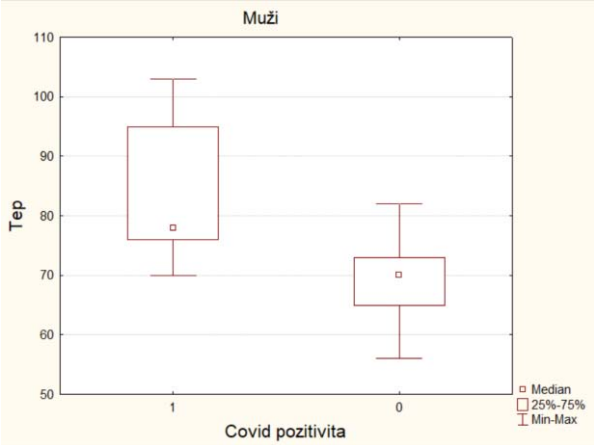
Aj keď saturácia kyslíkom u probandov s diagnostikovanou CHOCHP dosahovala mierne nižšie priemerné hodnoty (97,08±1,36) v porovnaní s pacientmi s diagnostikovanou astmou (98,09±1,22), v súbore sme nezaznamenali štatisticky významný rozdiel medzi saturáciou kyslíkom pri probandoch vzhľadom k prekonaniu ochorenia COVID-19. Zaznamenané pľúcne parametre rozdelené podľa diagnostikovaného ochorenia uvádzame v tabuľke č. 1, štatisticky významný rozdiel medzi probandmi, ktorí prekonali a neprekonali ochorenie COVID-19 sme nezaznamenali.

Probandi s diagnostikovanou morbiditou srdcovo-cievnej sústavy dosahovali nižšiu priemernú hodnotu srdcovej frekvencie (73,13±12,21 tepov/b.p.m.), v porovnaní s probandmi s diagnostikovanou hypertenziou (79,40±16,98 tepov/b.p.m). Pri súbehu týchto dvoch ochorení dosahoval priemer srdcovej frekvencie 75,61±11,42 tepov/b.p.m. V prípade probandov s diagnostikovanou CHOCHP sa priemerná hodnota srdcovej frekvencie blížila predchádzajúcej skupine (75,84±12,38 tepov/b.p.m). Pri probandoch s diagnostikovanou astmou sme zaznamenali pokles priemernej hodnoty srdcovej frekvencie (73,55±10,13 tepov/b.p.m). U pacientov so súbehom obidvoch respiračných ochorení sme zaznamenali priemernú srdcovú frekvenciu 76,00±7,07 tepov. Z hľadiska analýzy srdcovej frekvencie sme u pacientov, ktorí prekonali ochorenie COVID-19 zaznamenali zvýšené hodnoty srdcovej frekvencie (v priemere 80,00±10,34 tepov/b.p.m.). Zaznamenali sme tiež štatisticky významný rozdiel v kontexte prekonania ochorenia COVID-19 (graf č. 1, pozitívna anamnéza COVID-19: priemer 80,00 tepov; medián 77,00 tepov vs. negatívna anamnéza COVID-19: priemer 72,94 tepov; medián 71,00 tepov, p=0,02).



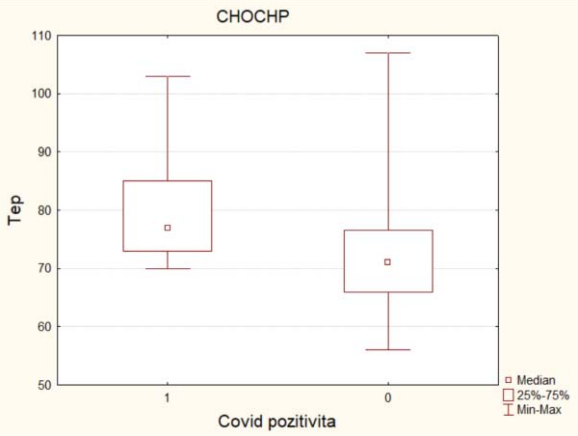
Graf 1 Hodnoty srdcovej frekvencie probandov (n=50) v závislosti od toho, či proband prekonal (1) alebo neprekonal (0) ochorenie COVID-19 (p=0,02).

V prípade rozdelenia probandov, ktorí prekonali ochorenie COVID-19 podľa pohlavia sme zaznamenali štatisticky významnú asociáciu len v prípade probandov mužského pohlavia (graf č. 2, pozitívna anamnéza COVID-19 (n=9): priemer 83,78 tepov; medián 78,00 tepov vs. negatívna anamnéza COVID-19 (n=14): priemer 69,79 tepov; medián 70,00 tepov, p=0,006).



Graf 2 Hodnoty srdcovej frekvencie mužov (n=23) v závislosti od toho, či prekonali (1) alebo neprekonali (0) ochorenie COVID-19 (p=0,006).

Pri pacientoch s diagnostikovanou CHOCHP, ktorí prekonali ochorenie COVID-19 (n=13) sme zaznamenali štatisticky významnú asociáciu so zvýšenou srdcovou frekvenciou, na rozdiel od pacientov s CHOCHP, ktorí ochorenie neprekonali (n=24) (graf č. 3, pozitívna anamnéza COVID-19: priemer 80,64 tepov; medián 77,50 vs. negatívna anamnéza COVID-19: priemer 73,16 tepov; medián 71,00 tepov, p=0,033)

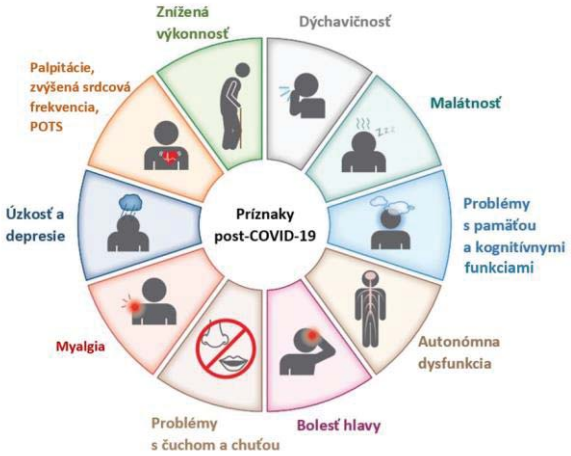


Graf 3 Hodnoty srdcovej frekvencie probandov s CHOCHP (n=37) v závislosti od toho, či prekonali (1) alebo neprekonali (0) ochorenie COVID-19 (p=0,033).

Rusinowicz et al. (2017) sa vo svojej štúdii na tému srdcovej arytmie pri exacerbáciách CHOCHP zamerali aj na srdcovú frekvenciu pacientov (n=152), kedy zaznamenali priemernú hodnotu 85±12 tepov [17]. Pokojovej srdcovej frekvencii, ako predikujúcemu faktoru mortality u pacientov s CHOCHP sa venovali Jensen et al. (2013), pričom u pacientov (n=375) zaznamenali priemerné hodnoty srdcovej frekvencie 77,4±13 tepov [13]. Mortalitou, krvným tlakom a srdcovou frekvenciou u pacientov s CHOCHP sa zaoberali Byrd et al. (2018), kedy u pacientov (n=16 481) pozorovali srdcovú frekvenciu v priemere 76±10 tepov [18]. Môžeme konštatovať, že naše merania sú viac-menej konzistentné s meraniami Jensen et al. (2013) a Byrd et al. (2018), na rozdiel od meraní Rusinowicz et al. (2017), ktorí v čase exacerbácii ochorenia zaznamenali vyššie hodnoty.

Garcia-Araújo et al. (2014) sa zaoberali zvýšenou moduláciou sympatika a zníženou odpoveďou variability srdcovej frekvencie u astmatikov, kedy pozorovali srdcovú frekvenciu v pokoji v ľahu u dospelých astmatikov (n=14) v priemere 77,1±9,9 tepov [19], čo je o niečo vyššia frekvencia od hodnoty uvádzanej v našom výskume (73,55±10,13).

V súvislosti s post-covidovými príznakmi (obrázok 1) sme zaznamenali zvýšenú srdcovú frekvenciu (80,00±10,34 tepov), a to predovšetkým u jedincov mužského pohlavia (83,78±11,82 tepov). Zvýšená srdcová frekvencia môže byť ukazovateľom rizika nerovnováhy autonómneho nervového systému, kedy zvyšuje pravdepodobnosť výskytu arytmie a náhlej smrti, alebo poškodenie a ischémiu myokardu [20]. Čo sa autonómnej dysfunkcie týka ďalším často sa vyskytujúcim príznakom je syndróm posturálnej ortostatickej tachykardie (POTS), a neprimeraná sínusová tachykardia [21, 22].



Obrázok 1 Perzistujúce príznaky po prekonaní ochorenia COVID-19. Medzi symptómy patrí dýchavičnosť, malátnosť, problémy s pamäťou a kognitívnymi funkciami, poruchy autonómnej regulácie, bolesť hlavy, problémy s čuchom a chuťou, myalgia, úzkosť a depresia, palpitácie, zvýšená srdcová frekvencia a POTS, znížená výkonnosť. Zdroj: [14]

Byrd et al. (2018) aj Jensen et al. (2013) vo svojich štúdiách poukazujú na to, že zvýšená srdcová frekvencia by mohla byť používaná ako predikujúci faktor mortality u pacientov s diagnostikovanou CHOCHOP [13, 18]. Zaujímavé však je, že v našej práci sa potvrdila zvýšená srdcová frekvencia najmä u pacientov s CHOCHP, ktorí prekonali ochorenie COVID-19. Pacienti s CHOCHP vykazujú chronicky zvýšenú expresiu ACE-2 v pľúcach, čo by mohlo byť dôvodom prečo je táto skupina ľudí náchylnejšia na infekciu vírusom SARS-CoV-2. Hoci úloha ACE-2 v kardiovaskulárnom systéme nie je do hĺbky preskúmaná, zohráva dôležitú úlohu v regulácii krvného tlaku a funkcie srdca [6]. Fyziologická funkcia ACE-2 v pľúcach je neznáma, hoci na animálnych

modeloch sa preukázala jeho ochranná funkcia pred poškodením pľúc súvisiacich s aspiráciou a sepsou [6, 23].

Výhody nášho výskumu sú v zaznamenaných pľúcnych parametroch a saturácii kyslíkom, ktoré by nám mohli odzrkadľovať zhoršenie zdravotného stavu pacienta. Nevýhody sú v zaznamenávaní kardiologických funkcii, kedy by bolo prospešné zaznamenať aj tlak krvi a srdcovú frekvenciu aj pri zmene do ortostatickej polohy, prípadne monitorovanie EKG holterom, čo nám náš prierezový výskum neumožnil. Ďalší výskum na reprezentatívnejšej vzorke je potrebný pre objasnenie vyššie uvedených zistení.

Záver

Zvýšená srdcová frekvencia u pacientov s obštrukčným ochorením pľúc je často sa vyskytujúcim javom. Považujeme za dôležité, aby lekári u pacientov s obštrukčným ochorením pľúc okrem pľúcnych funkcii monitorovali aj srdcovú frekvenciu pacientov po prekonaní ochorenia COVID-19 pravidelne. Prípadne ich poučili o monitorovaní sa v domácom prostredí, čo by lekárom ukázalo ucelenejší pohľad na zdravotný stav pacienta, nakoľko post-covidové príznaky by mohli tejto skupine pacientov znížiť kvalitu a dĺžku ich života.

Poďakovanie

Moja vďaka patrí lekárke MUDr. Marte Kristekovej a sestričke Dane Hančinovej za umožnenie výskumu a pomoc pri nábore probandov. Za vedecké usmernenie a cenné rady ďakujem môjmu školiteľovi RNDr. Branislavovi Kolenovi, PhD.

Použitá literatúra

[1] ZHENG, Ying-Ying et al., 2020. COVID-19 and the cardiovascular system. Nature reviews cardiology, may 2020, vol. 7, pp. 259-260.

[2] NCZI, Národné centrum zdravotníckych informácii, 2023[online]. [cit. 24.2.2023]. Dostupné z: https://covid-19.nczisk.sk/sk

[3] TSAI, Ping-Hsing, et al., 2021. Clinical manifestation and disease progression in COVID-19 infection. Journal of the Chinese Medical Association 84(1), p 3-8, January 2021.

[4] TURNER, A. J., HISCOX, J. A. & HOOPER, N. M., 2004. ACE2: from vasopeptidase to SARS virus receptor. Trends Pharmacol. Sci. 25, 291–294 (2004).

[5] XIE, X., et al., 2006. Age- and gender-related difference of ACE2 expression in rat lung.Life Sci. 2006; 78:2166–2171.

[6] LEUNG, Janice M., et al., 2020. ACE-2 expression in the small airway epithelia of smokers and COPD patients: implications for COVID-19. European Respiratory Journal 2020 55: 2000688.

[7] NCZI, Národné centrum zdravotníckych informácii, 2022. Choroby dýchacej sústavy v špecializovaných ambulanciách, Ročný výkaz o činnosti ambulancie pneumológie a ftizeológie za roky 2013 – 2021, 11.8.2022, [online] dostupné z: www.nczisk.sk

[8] ZHANG, D., SHEN, X., QI, X., 2016. Resting heart rate and all-cause and cardiovascular mortality in the general population: a meta-analysis. CMAJ 2016;188:E53–E63.

[9] ROHÁČ, Ľ., 2022. Čo je srdcová frekvencia, čo všetko ju ovplyvňuje a aká je jej optimálna hodnota?, [online]. Merck: [cit. 3.3.2023]. Dostupné z: www.medimerck.sk

[10] HANSELL, A.L., WALK, J.A., SORIANO, J.B., 2003. What do chronic obstructive pulmonary disease patients die from? A multiple cause coding analysis. Eur Respir J 2003;22:809–814.

[11] ROTHNIE, K.J, et al., 2015. Closing the mortality gap after a myocardial infarction in people with and without chronic obstructive pulmonary disease. Heart 2015;101:1103–1110.

[12] Rothnie KJ, Yan R, Smeeth L, Quint JK. Risk of myocardial infarction (MI) and death following MI in people with chronic obstructive pulmonary disease (COPD): a systematic review and meta-analysis. BMJ Open 2015;5:e007824.

[13] JENSEN, M.T., et al., 2013. Resting heart rate is a predictor of mortality in COPD. Eur Respir J 2013; 42: 341–349.

[14] NALBANDIAN, A., DESAI, A.D., WAN, E.Y., 2023. Post- COVID-19 Condition. Annu. Rev. Med. 2023. 74:55–64.

[15] FOX, K., BORER. J.S., CAMM, J.A, et al. 2007. Resting heart rate in cardiovascular disease. J Am Coll Cardiol 2007; 50: 823–830.

[16] MCKEE, P., et al., 1971. The natural history of congestive heart failure: the Framingham study. N Engl J Med 1971; 285: 1441–1446.

[17] RUSINOWICZ, T., ZIELONKA, T.M., ZYCINSKA, K., 2017. Cardiac Arrhythmias in Patients with Exacerbation of COPD. Advs Exp. Medicine, Biology - Neuroscience and Respiration (2017) 34: 53–62

[18] BYRD, J.B., et al., 2018. Blood pressure, heart rate, and mortality in chronic obstructive pulmonary disease: the SUMMIT trial, European Heart Journal (2018), 39, 3128-3134.

[19] GARCIA-ARAÚJO, A.S., et al., 2015. Increased sympathetic modulation and decreased response of the heart rate variability in controlled asthma, Journal of Asthma, 52:3, 246-253.

[20] DU, Q., et al., 2014. Beta-blockers reduced the risk of mortality and exacerbation in patients with COPD: a meta-analysis of observational studies. PLoS One 2014;9:e113048

[21] DANI, M., et al. 2021. Autonomic dysfunction in 'long COVID': rationale, physiology and management strategies. Clin. Med. 21(1):e63–67.

[22] LARSEN, N.W, STILES, L.E, MIGLIS, M.G. 2021. Preparing for the long-haul: autonomic complications of COVID-19. Auton. Neurosci. 235:102841

[23] IMAI, Y., et al. 2005. Angiotensin-converting enzyme 2 protects from severe acute lung failure. Nature 2005; 436: 112–116.

Tabuľka 1 Parametre pľúcnych funkcii rozdelené podľa diagnostikovaného ochorenia probandov a prekonania ochorenia COVID-19, hladina štatistickej významnosti p≤ 0,050.

	CHOCHP (COVID+) n=14	CHOCHP (COVID-) n=25		ASTMA (COVID+) n=3	ASTMA (COVID-) n=8	
	mean±SD	mean±SD	p-level	mean±SD	mean±SD	p-level
FVC (L)	2,61±0,80	2,63±1,10	0,68	3,04±1,07	2,81±1,12	0,84
FVC (%)	76±17,68	85,2±24,35	0,33	101,5±6,25	89,56±15,71	0,18
FEV 1 (L)	1,97±0,64	1,89±0,82	0,73	2,43±0,88	2,26±0,64	0,68
FEV 1 (%)	71,93±19,43	78,68±28,68	0,45	106,25±12,63	89,22±13,07	0,08
FEV1/FVC (%)	75,2±10,71	76,06±20,24	0,25	80,15±6,12	83,39±11,96	0,68
FEV1/FVC namerané % z PH	97,57±14,06	97,24±25,76	0,43	102,75±8,14	107,33±14,8	0,47
PEF (L/s)	3,89±1,65	4,07±1,40	0,33	5,56±3,05	4,85±1,36	0,54
PEF (%)	54±17,77	63,76±21,86	0,1	85±33,66	75,11±18,43	0,41
FEF 50 (L/s)	1,89±0,85	2,06±1,11	0,95	2,9±1,22	2,71±0,94	0,41
FEF 50 (%)	49,43±20,63	62,4±30,23	0,14	95,25±31,58	73,11±23,42	0,22

Pyrolýzne produkty ako nástroje sekvestrácie uhlíka

Pyrolysis products as a tools of carbon sequestration

Lucia Polťáková[1] – Gerhard Soja[2] – Vladimír Frišták[3]
Školiteľ: Vladimír Frišták[3]
[1,3]Katedra chémie, PdF TRUNI, Priemyselná 4, 917 01 Trnava,
[2]Institute of Chemical and Energy Engineering, BOKU, Muthgasse 107, 1190 Viedeň
[1]lucia.poltakova@tvu.sk, [2]gerhard.soja@boku.ac.at, [3]vladimir.fristak@truni.sk

Abstrakt

Využitie biouhlia ako pôdneho aditíva predstavuje možnosť stabilizácie pôdneho organického uhlíka.

Vzorky pripravené pomalou pyrolýzou z hnedých rias (BC_{BA}), listov pálky širokolistej (BC_{LF}) a stonky pálky širokolistej (BC_{ST}) pri teplote 500°C preukázali pH klesajúce v poradí BC_{BA} (9,72) >BC_{ST} (9,52) > BC_{LF} (7,84). RFS analýza vzoriek nám potvrdila zvýšené koncentrácie Cu 313 mg/kg vo vzorke BC_{ST} a As 67 mg/kg vo vzorke BC_{BA}. Stanovenie celkového uhlíka vo vzorkách klesalo v poradí BC_{ST} (74,24%) > BC_{LF} (69,97%) > BC_{BA} (47,94%), pričom tento výsledok koreluje so zastúpením organického uhlíka vo vzorkách. V prípade morfologickej charakterizácie BC_{BA}, BC_{ST}, BC_{LF} sme využili SEM-EDX analýzu, ktorá preukázala štruktúrne rozdiely a zastúpenie kyslíka a horčíka na povrchu vzoriek. Výsledky Boehmovej titrácie, ktorou sme stanovili zastúpenie kyslíkatých funkčných skupín s výrazným zastúpením skupín zásaditého charakteru, pričom výsledky korešpondujú s FTIR analýzou. Analýza ^{13}C NMR nám charakterizovala majoritné zastúpenie uhlíka v aromatických štruktúrach vo všetkých vzorkách.

Kľúčové slová: biouhlie, pyrolýza, sekvestrácia, uhlík, klimatické zmeny

Abstract

The use of biochar as a soil additive represents an opportunity to stabilise soil organic carbon.

Samples prepared by slow pyrolysis from brown seaweed (BC_{BA}), broadleaf bat leaves (BC_{LF}) and broadleaf bat stems (BC_{ST}) at 500°C showed pH decreasing in the order BC_{BA} (9.72) >BC_{ST} (9.52) > BC_{LF} (7.84). RFS analysis of the samples confirmed us elevated concentrations of Cu 313 mg/kg in BC_{ST} and As 67 mg/kg in BC_{BA} sample. The determination of total carbon in the samples decreased in the order of BC_{ST} (74.24%) > BC_{LF} (69.97%) > BC_{BA} (47.94%), and this result correlates with the representation of organic carbon in the samples. For the morphological characterization of BC_{BA}, BC_{ST}, BC_{LF}, we used SEM-EDX analysis, which showed structural differences and oxygen and magnesium abundance on the surface of the samples. The results of Boehm titration, which we used to determine the representation of oxygen functional groups with a significant representation of groups of basic character, the results correspond with FTIR analysis. ^{13}C NMR analysis characterized the majority carbon representation in the aromatic structures in all samples.

Key Words: biochar, pyrolysis, sequestration, carbon, climate change

Úvod

Zintenzívnenie priemyselných aktivít a následné antropogénne emisie skleníkových plynov so sebou prinášajú zmeny klímy preklápajúce sa do globálnych problémov našej spoločnosti. Úplné pochopenie toho ako bude pôdna organická hmota reagovať na tieto zmeny v klimatickom systéme je veľmi dôležité [1]. Organická hmota je totiž multifunkčnou zložkou pôdy, ktorá poskytuje podporu primárnej rastlinnej produkcie. Okrem toho pôdna organická hmota predstavuje jednu z najbohatších zásobární C na Zemi. Obsahuje viac ako trojnásobok množstva C, ktoré sa v súčasnosti nachádza v atmosfére vo forme CO_2 a má vplyv na zmiernenie alebo zhoršenie klimatických zmien [2]. Poľnohospodársku pôdu na celom svete ohrozuje úbytok organického uhlíka v dôsledku intenzívneho obrábania pôdy a nevhodných pestovateľských postupov. Približne 45% všetkých minerálnych pôd v Európe má nízky obsah organického uhlíka (0 - 2 %). To zvyšuje ich zraniteľnosť voči strate biodiverzity, erózii pôdy, zhutneniu, zníženej úrodnosti a nízkej schopnosti zadržiavať vodu.

Využívanie moderných technológií spracovania, ako je pyrolýza a karbonizácia biologických odpadových materiálov, má schopnosť poskytnúť riešenia problémov s organickým C [3]. Pyrolýza sa vzťahuje na techniku karbonizácie, pri ktorej sa biomasa alebo iné organické materiály termochemicky konvertujú na v

podstate stabilné uhlíkaté materiály. Tento proces si vyžaduje inertnú atmosféru s minimálnou koncentráciou kyslíka, pyrolýzne teploty v rozmedzí 300 - 1 000 °C a čas zotrvania vstupného prekurzora v pyrolýznom reaktore v rozmedzí od niekoľkých sekúnd do niekoľkých hodín. Fyzikálno-chemické vlastnosti výsledného biouhlia závisia nielen od spôsobu prípravy a zvolených technologických parametrov. Za dôležitý faktor, sa považuje charakter vstupného organického prekurzora [4]. Vstupným materiálom je odpadová biomasa, ktorú možno definovať ako organický materiál alebo biorezíduá pochádzajúce zo živej hmoty alebo komplexov organických/anorganických materiálov [5].Medzi najčastejšie využívané typy biomasy, ktoré slúžia ako prekurzory biouhlia patrí drevná štiepka, drevné pelety, kôra stromov, slama, orechové škrupiny, ryžové šupky, kukuričné oklasky, bagasa z cukrovej trstiny, organický odpad ako papierenský a splaškový kal, kuracia podstielka a maštaľný hnoj.

Pri výbere rastlinnej biomasy sa zohľadňuje podiel hemicelulózy, celulózy a lignínu nakoľko tieto zložky ovplyvňujú následne podiel stabilizovaného uhlíka v biouhlí a prchavého uhlíka v bio-oleji a pyrolýznom plyne [6]. Biomasa, v ktorej sú prítomné menované štruktúry sa označuje ako lignocelulózová. Lignocelulúzová biomasa pozostávajúca z tvrdého dreva ako je napr. kôra brezy a buku obsahuje 43 – 47 % celulózy, 25 – 35% hemicelulózy a 16 – 24 % lignínu, zatiaľ čo biomasa z mäkkého dreva ako aj biomasy kukuričných oklaskov a pšeničnej slamy obsahuje 40 – 44 % celulózy, 25 – 29 % hemicelulózy a 25 – 31 % lignínu [7]. Zväčša biomasa s vyšším podielom lignínu vedie k vyšším výťažkom biouhlia, pričom ostatné zložky biomasy vedú k vyšším výťažkom kvapalného a plynného produktu [6].

Pripravený tuhý pyrolýzny materiál (biouhlie) má zvýšený (dvoj- až trojnásobný) obsah celkového C a ďalších prvkov (P, Zn a Ca) v porovnaní so vstupnou surovinou. Tým silne prispieva k celkovej sekvestrácii C v životnom prostredí a môže slúžiť ako vhodný nástroj pri znižovaní dopadov klimatických zmien, pri stabilizácii organického uhlíka v pôde, pri podpore rastlinnej produkcie ako aj redukcii CO_2 emisií a tým dopadom klimatických zmien [8].

1 Materiály a metódy

1.1 Príprava pyrolýznych produktov

Pre prípravu pyrolýznych materiálov sme využili 3 typy vstupnej biomasy. Listy a vnútorná stonka pálky širokolistej (*Typha latifolia*) boli zozbierané vo vodohospodárskom obvode Južnej Floridy, USA (26°22'55.0"N 80°31'35.0"W). Biomasa hnedých morských rias (chaluhy) bola zozbieraná na pláži Fort Lauderdale, Florida, USA (26°06'46.0"N 80°06'15.2"W) v rovnakom časovom období. Po zbere bola biomasa všetkých troch typov viacnásobne detailne premytá vodovodnou a deionizovanou vodou. Biomasa sa premývala za účelom zníženia elektrickej vodivosti, salinity a odstránenia prítomných nečistôt. Po premytí sa listy a drevné stonky pálky širokolistej nasekali na časti o rozmeroch 2 cm × 0,5 cm × 5 cm a následne sa aj s hnedými riasami sušili 7 dní pri teplote 60°C v laboratórnej sušiarni. Spracovaná biomasa drevnej stonky a listov pálky širokolistej, ako aj hnedých rias, bola podrobená procesu termochemickej konverzie pri teplote 500°C pomocou pyrolýzneho reaktora o celkovom objeme 0,04 m^3 za striktne anoxických podmienok. Vzorky biomasy boli zabalené do inertnej fólie a vložené do vnútornej trubice reaktora s priemerom 5,5 cm a dĺžkou 50 cm. Pre zaistenie anoxickej atmosféry bol využitý plynný N_2 s prietokom 2,3 výmenného objemu reaktora/min. Proces pyrolýzy prebiehal pri rýchlosti ohrevu 26°C/min, po ktorej nasledovala 1 hodina udržiavania maximálnej teploty (doba zdržania biomasy v reaktore) a následne ochladzovanie pri rýchlosti chladenia 3°C/min. Po ochladení bolo pripravené biouhlie z biomasy vnútornej drevnej stonky pálky širokolistej (BC_{ST}), listov pálky širokolistej (BC_{LF}) a hnedých rias (BC_{BA}) jemne rozdrvené a preosiate na frakciu 0,25 – 1 mm pomocou normovaných sít. Zo získanej frakcie biouhlia boli odstránené zvyšky popola opakovaným premývaním v demineralizovanej a deionizovanej vode (<0,4 µS/cm). Premyté biouhlie bolo vysušené do konštantnej hmotnosti pri 55°C počas 4 dní a uložené do polypropylénových nádob. Pyrolýzne materiály BC_{ST}, BC_{LF} a BC_{BA} boli pred charakterizačnými experimentami opakovane homogenizované, sitované a frakciu 0,25 – 1 mm a kvartované pre zisk reprezentatívnej vzorky materiálu.

1.2 Fyzikálno-chemická charakterizácia pyrolýznych produktov

V rámci fyzikálno-chemickej charakterizácie boli vzorky BC_{ST}, BC_{LF}, BC_{BA} podrobené stanoveniu aktívneho a potencionálneho pH, konduktivity (EC), obsahu uhličitanov, obsahu popola a vlhkosti, katiónovej výmennej kapacity (CEC), aniónovej výmenej kapacity (AEC), bodu nulového náboja (pH_{PZC}) ako aj

koncentrácie a zastúpenia povrchových funkčných skupín. Zastúpenie povrchových funkčných skupín sme rovnako charakterizovali aj využitím molekulovej spektrometrie v infračervenej oblasti spektra (FTIR). Využitím röntgeno-fluorescenčnej analýzy (RFA) sme kvantifikovali celkovú koncentráciu As, Cd, Cr, Cu, Ni, Pb, Zn, Fe a Hg v pyrolýznych materiáloch. Charakterizácia povrchovej morfológie a štruktúry vzoriek bola uskutočnená pomocou skenovacieho elektrónového mikroskopu (SEM), pričom na mapovanie prvkov sa použila energeticky disperzná röntgenová spektroskopia (EDX). Spektrá ^{13}C (100,73 MHz) CPMAS NMR vzoriek sme získali pomocou spektrometra Bruker AV WB 400 pri teplote 300 K s použitím 4 mm trojkanálovej hlavice sondy.

2 Výsledky a diskusia

Na základe výsledkov sledovaných vlastností skúmaných vzoriek biouhlia (Tab. 1) môžeme usúdiť, že vzorka BC_{BA} má hodnotu aktívneho a aj potencionálneho pH najvyššiu zo všetkých troch analyzovaných vzoriek.

Tab. 1 Fyzikálno-chemická charakterizácia vzoriek biouhlia z hnedých rias (BC_{BA}), vnútornej stonky pálky širokolistej (BC_{ST}) a listov pálky širokolistej (BC_{LF})

	BC_{BA}	BC_{ST}	BC_{LF}
pH_{H2O}	9,72 ± 0,03	9,52 ± 0,03	7,84 ± 0,02
pH_{KCl}	9,32 ± 0,15	9,47 ± 0,03	8,23 ± 0,11
pH_{ZPC}	10,6	10,9	9,6
EC (mS/m)	6,59 ± 0,25	1,46 ± 0,16	5,14 ± 0,02
CEC (cmol/kg)	77,06 ± 0,69	58,78 ± 0,81	38,71 ± 0,41
AEC_{pH6} (cmol/kg)	4,02	4,84	3,86
AEC_{pH8} (cmol/kg)	3,94	3,95	3,89
C_{total} (%)	47,94	74,24	69,97
$C_{org.}$ (%)	36,94 ± 0,07	68,74 ± 0,04	68,47 ± 0,04
$C_{anorg.}$ (%)	11 ± 0,07	5,5 ± 0,04	1,5 ± 0,04
N (%)	1,11	0,63	2,27
H (%)	4,12	2,35	6,10
Obsah prchavých látok (%)	8,33 ± 0,84	5,89 ± 0,71	6,51 ± 0,19
Obsah popola (%)	33,51 ± 0,39	7,77 ± 0,51	27,47 ± 1,5

Hodnoty pH rástli v poradí $BC_{LF} < BC_{ST} < BC_{BA}$. Zistené hodnoty korelujú s výsledkami práce [9], ktorá porovnávala vlastnosti biouhlia z biomasy rôznych rias a iného lignocelulózneho materiálu. Okrem iného autori uvádzajú, že biouhlie z hnedých, červených a zelených morských rias má zvyčajne nižšie percentuálne zastúpenie C v porovnaní s inými lignocelulózovými materiálmi, čo taktiež korešponduje so stanovením C vo vzorkách BCLF , BCST , BCBA . Zastúpenie Corg v BCBA je < 50% a podľa EBC táto vzorka nemôže byť označená ako biouhlie základnej kvality. Roberts, a kol. [10] preukázali, že biouhlie z morských rias má síce nízku hodnotu Corg ale má vysoké zastúpenie nutrične dôležitých prvkov, čím sa stáva výhodným pôdnym aditívom. Pomerne vysoké zastúpenie N majú vzorky BCLF a BCBA. Nízky obsah N v BCST je podľa Pipíška a Frišták [8] spôsobený drevným charakterom biomasy, pretože N sa v rastlinnej biomase nachádza ako súčasť proteínov a drevná hmota má zvyčajne nízky obsah proteínov. Zastúpenie H vo vzorkách je charakteristické pre biouhlie pripravené pomalou pyrolýzou, pričom klesá v poradí BCLF > BCBA > BCST , rovnako ako aj zastúpenie N vo vzorkách. Hodnota pH_{PZC} predstavuje hodnotu pH, na ktorej sa celkový povrchový náboj biouhlia rovná nule. V prípade našich vzoriek boli hodnoty pH_{PZC} vysoké, pričom najvyššiu hodnotu dosahuje BC_{ST}. Podľa Tran a kol. [11] vyššia hodnota pH_{PZC} indikuje dominantné zastúpenie zásaditých funkčných skupín na povrchu bioulia, čo korešponduje aj s výsledkami Boehmovej titrácie pre naše vzorky. Vo všetkých troch vzorkách biouhlia, bolo zastúpenie zásaditých funkčných skupín výrazne vyššie na rozdiel od súčtu laktonových, fenolových a karboxylových skupín. Stanovenie elektrickej vodivosti jednotlivých vzoriek biouhlia nám ukazuje zaujímavý trend týkajúci sa vodivosti BC_{LF} a BC_{ST}. Vodivosť jednotlivých vzoriek sa od seba značne líši, aj keď biomasa pochádza z rovnakej materskej rastliny. Rehrah a kol. [12] vo svojej práci porovnávaním biouhlia z bavlny, arašidovej škrupiny, škrupiny pekanových orechov a popínavej trávy potvrdili, že elektrická vodivosť biouhlia je úzko spojená s obsahom popola. Obsah popola v našich vzorkách stúpal v poradí $BC_{ST} < BC_{LF} < BC_{BA}$ rovnako ako aj elektrická vodivosť. S poradím nárastu obsahu popola je zhodné aj poradie vlhkosti vzoriek biouhlia. Zo získaných hodnôt vyplýva, že BC_{BA} má zo všetkých vzoriek najvyššie zastúpenie popoloviny a súčasne aj vysokú vlhkosť. Vysoké percentuálne zastúpenie popola v BC_{BA} je typické pre biouhlie vyprodukované z morských rias pomalou pyrolýzou, o čom svedčia aj výsledky získané vo vedeckých prácach Yu a kol. [9] a Chaiwong a kol. [13]. Porovnateľný obsah popola s BC_{ST} a BC_{LF} pozorovali vo svojej práci Intani a kol. [14] pri biouhlí pripravenom z kukuričných stoniek a listov pri pyrolýznej teplote 450°C. Katiónová výmenná kapacita

(CEC) biouhlia podľa Sigh a kol. [15] úzko závisí od pH hodnoty biouhlia. Pri vysokom pH stúpa disociácia kyslíkatých funkčných skupín na povrchu, čím sa zvyšuje záporný náboj biouhlia, v dôsledku čoho sa zvyšuje aj CEC. Naše výsledky potvrdzujú túto závislosť, nakoľko hodnota CEC klesá v poradí $BC_{BA} > BC_{ST} > BC_{LF}$ rovnako ako hodnoty aktívneho pH. Aniónová výmenná kapacita (AEC) nemodifikovaného biouhlia je vo všeobecnosti nižšia než jeho CEC [16]. AEC výmenná kapacita je podľa Lawrinenko a Laird [16] zvyčajne veľmi málo rastúca s klesajúcou hodnotou pH, pri ktorej sa stanovuje. Z našich výsledkov stanovovania AEC pri pH 6 a 8 sme pozorovali menší nárast hodnoty AEC jednotlivých vzoriek pri pH 6. Lawrinenko a Laird [16] pozorovali pomerne vysoký rozdiel AEC vzoriek biouhlia pyrolizovanom pri 500°C z mletých kukuričných stoniek, lucernovej múčky a mikrocelulózy až pri pH 4. Pri pH hodnotách 6 a 8 autori dospeli k výsledkom, ktoré sú porovnateľné s hodnotami AEC našich vzoriek.

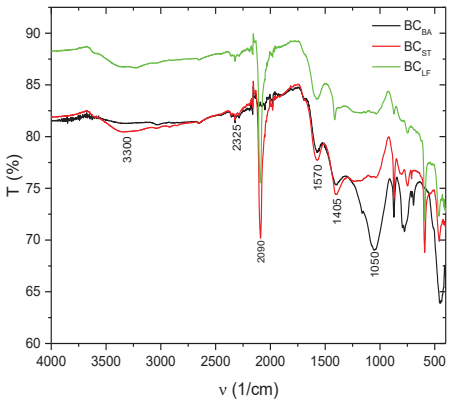
Tab. 2 Celkové koncentrácie As, Cd, Cr, Cu, Ni, Pb, Zn, Fe a Hg vo vzorkách BC_{LF}, BC_{ST} (B), BC_{BA} stanovené metódou RFS

	BC_{BA}	BC_{ST}	BC_{LF}
As (mg/kg)	67	< LOQ*	< LOQ*
Cd (mg/kg)	< LOQ*	< LOQ*	< LOQ*
Cr (mg/kg)	< LOQ*	< LOQ*	< LOQ*
Cu (mg/kg)	68	313	44
Ni (mg/kg)	13	25	10
Pb (mg/kg)	28	20	7
Zn (mg/kg)	70	47	43
Fe (mg/kg)	< LOQ*	591	< LOQ*
Hg (mg/kg)	3	< LOQ*	< LOQ*

* LOQ – medza stanovenia pre As- 1 mg/kg, Cd- 1 mg/kg, Cr- 5 mg/kg, Fe- 500 mg/kg, Hg- 2 mg/kg

Získané hodnoty (Tab. 2) zastúpenia ťažkých kovov vo vzorkách BC_{BA}, BC_{ST} a BC_{LF} naznačujú, že BC_{LF} spĺňa ako jediné kritériá kvality biouhlia základnej a aj prémiovej triedy podľa EBC [17]. Vysoké zastúpenie uvedených ťažkých kovov vo vzorkách, môže byť spojené s lokalitou zberu a charakterom vstupnej biomasy pálky širokolistej a morských rias.

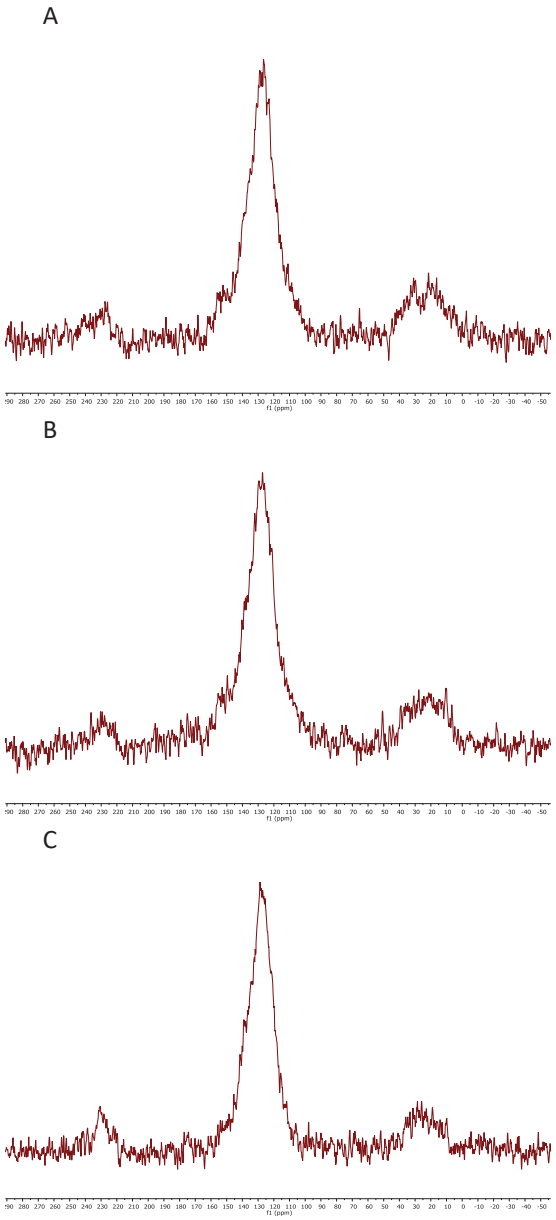
Spektrá vzoriek BCLF, BCST, BCBA (Obr. 1) získané pomocou spektrálnej analýzy v IČ oblasti sa od seba značne líšia.



Obr. 1 FTIR spektrá BC_{LF}, BC_{ST}, BC_{BA} v oblasti vlnočtov 400-4000 1/cm

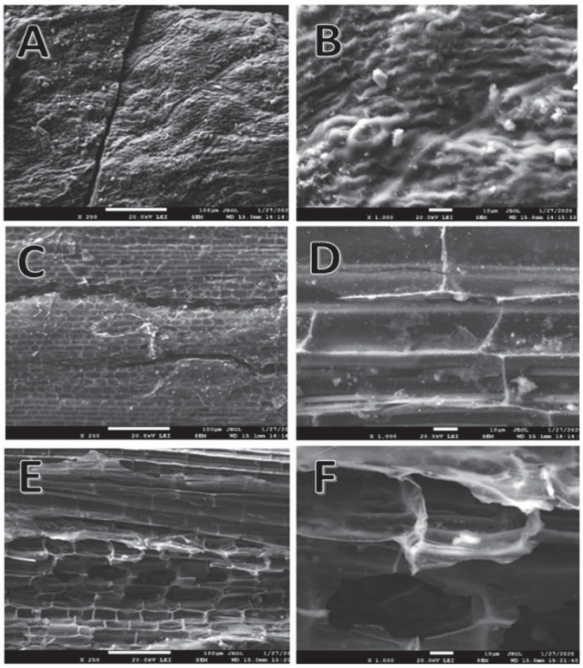
Kloss a kol. [18] uvádzajú, že pri teplote pyrolýzy nad 400°C dochádza k demetylácií, demetoxylácií a dehydratácii lignínu, čo má za následok absenciu absorpčných pásov v oblasti 3500 - 3200 1/cm charakteristických pre vibrácie alifatickej C-H skupiny a O-H skupiny. V prípade BC_{ST} môžeme vidieť intenzívny pík pri maxime 3300 1/cm, ktorý značí o čiastočnom zachovaní štruktúry lignínu v pyrolyzovanom produkte. Zachovanie lignínu v prípade vzorky BC_{ST} potvrdzuje aj NMR analýza (Obr. 11C) a pík pri maxime 1405 1/cm, v oblasti charakteristickej pre C=C a CH_2 väzby, typicky sa nachádzajúcich v štruktúre lignínu. V prípade vzoriek BC_{LF} a BC_{ST} môžeme v spektre identifikovať intenzívny pík pri 2030 1/cm, v charakteristickej oblasti vibrácií väzby v molekule CO_2. V prípade všetkých vzoriek biouhlia, vidíme silnú intenzitu píku v maxime 1570 1/cm, ktorý charakterizuje vysokú koncentráciu karboxylátových (aldehydových, karboxylových, esterových) aniónov a prítomnosť dvojitej väzby C=C, typickej pre aromatické zlúčeniny. V prípade FTIR spektra vzorky BC_{BA}, sme identifikovali výrazný pík v maxime 1060 1/cm, ktorý je charakteristický pre prítomnosť Si-O väzby asociovaných ílových minerálov s biouhlím. Parsa a kol. [19] odôvodňujú intenzitu píku charakteristickú pre prítomnosť Si-O väzby v biouhlí z červených a hnedých rias prítomnosťou oxidu kremičitého, resp. morského piesku v biomase, čo vedie aj väčšiemu obsahu popola v biouhlí. Ich výsledok

korešponduje s naším, nakoľko BC_{BA} malo najväčší obsah popola zo skúmaných vzoriek.



Obr. 2 ^{13}C NMR spektrá analyzovaných vzoriek, pričom BC_{LF} (A), BC_{BA} (B), BC_{ST} (C)

Výsledky jadrovej magnetickej rezonančnej spektroskopie ^{13}C v prípade všetkých troch vzoriek majú rovnaký charakter (Obr. 2). Dominantou spektier je intenzívny pík v oblasti chemického posunu okolo δ 130 ppm, ktorý hovorí o prítomnosti uhlíka viazaného v aromatických štruktúrach. Pri detailnom popise získaných NMR spektier je zrejmé, že majoritný pík BC_{ST} má na rozdiel od BC_{LF} a BC_{BA} hornú časť ľavého ramena priamkovú. Singh a kol. [20] preukázali, že tento fenomén môže nastať, ak sa vo vzorke zachová lignín a tanín, vytvorí sa arylová štruktúra substituovaná kyslíkom alebo nastala substitúcia aromatického C kyslíkom. Na spektrách pozorujeme ešte aj dva menšie píky. Prvý v oblasti δ 30 ppm, charakteristický pre prítomnosť alkylových štruktúr a druhý v oblasti δ 230 ppm typický pre prítomnosť karbonylových a karboxylových štruktúr. Uhlík prítomný v alkylových štruktúrach predstavuje degradovateľnú časť biouhlia, ktorá v pôde pôsobí ako substrát a súčasne je zdrojom C a energie pre mikroorganizmi. Podľa Jindo a kol. [21] je práve biouhlie pripravené pomalou pyrolýzou s obsahom degradovateľných alkylových štruktúr vhodné použiť ako pôdne aditívum, nakoľko značne zvyšuje úrodnosť pôdy.



Obr. 3 SEM mikrosnímky pri zväčšení 250x a 1000x, pričom BC_{BA} (A;B), BC_{ST} (C;D), BC_{LF} (E;F) pri zväčšení 250x a 1000x.

Na základe SEM mikrosnímok jednotlivých vzoriek BC, pri zväčšení 250× (Obr.3A,C,E) a 1000× (Obr. 3B,D,F) usudzujeme, že štruktúra BC_{ST} a BC_{LF} je značne makroporézna, zatiaľ čo BC_{BA} je skôr mikroporézneho charakteru. Porozita biouhlia je podľa Lu a Zong [22] ovplyvnená typom biomasy, teplotou pyrolýzy a dobou zdržania biomasy v reaktore. Nakoľko boli všetky skúmané vzorky pripravené pri rovnakej pyrolýznej teplote s rovnakou dobou zdržania usudzujeme, že

najväčší vplyv na ich štruktúru má práve charakter použitej vstupnej biomasy. Jednotlivé vzorky biouhlia boli podrobené aj energo-disperznej röntgenovej analýze (EDX) na detailné zmapovenie ich povrchu so zameraním sa na C, O a Mg. V prípade všetkých troch vzoriek možno usúdiť dominantné zastúpenie C. V prípade vzoriek BC_{BA} a BC_{LF} sme pozorovali pomerne vysoké zastúpenie Mg. Vo všetkých troch vzorkách bol O z vybraných prvkov zastúpený minoritne, pričom v prípade BC_{ST} sa nachádzal v najmenšom zastúpení. Na základe prekryvov Mg a O vo všetkých vzorkách možno usúdiť zastúpenie oxidov resp. oxohydroxidov Mg na ich povrchu.

Záver

Využitie pyrolýznych materiálov ako pôdnych aditív s cieľom zníženia emisií skleníkových plynov a zvýšenia podielu organického C v poľnohospodárskych pôdach predstavuje dôležitú oblasť výskumu aplikácie konvenčných technológií (napr. pyrolýza) pri spracovaní odpadovej biomasy. Na základe uvedeného bolo hlavným cieľom práce posúdenie 3 typov biouhlia vyprodukovaného z biomasy listov a stoniek pálky širokolistej a morských hnedých rias v procese pomalej pyrolýzy pri 500°C za anoxických podmienok ako nástrojov stabilizácie pôdnej organickej hmoty. Fyzikálno-chemická charakterizácia vzoriek biouhlia preukázala, že všetky vzorky majú vlastnosti typické pre biouhlie na báze rastlinnej biomasy, avšak v prípade BC_{BA} sme stanovili nižšie množstvo Corg, ktoré je typické pre biouhlie 2. triedy. Z výsledkov obsahu ťažkých kovov vo vzorkách ako jediné spĺňalo EBC normy BC_{LF} a možno ho označiť za biouhlie prémiovej kvality.

Poďakovanie

Práca bola podporená Agentúrou na podporu výskumu a vývoja na základe zmluvy č. SK-AT-20-0004.

Použitá literatúra

[1] RIEDY, C. (2016). Climate Change. In R. Chris, Blackwell Encyclopedia of Sociology. ISBN 978-1-4051-7768-9. Sydney: Blackwell. Cit. 10. 11 2021. Dostupné na Internete: https://www.researchgate.net/publication/311301385_Climate_Change

[2] RICE, C. (2005). CARBON CYCLE IN SOIL – Dynamics and Management. In Encyclopedia of Soils in the Environment. ISBN 978-0-12-348530-4. s. 164 - 170. doi:https://doi.org/10.1016/B0-12-348530-4/00183-1

[3] WEI, R. et al. (2020). Environmental Issues Related to Bioenergy. In Reference Module in Earth Systems and Environmental Sciences. Elsevier. doi:https://doi.org/10.1016/B978-0- 12-819727-1.00011-X

[4] CROMBIE, K. et al. (2013). The effect of pyrolysis conditions on biochar stability as determined by three methods. GCB Bioenergy. ISSN 1757-1693. vol. 5, zv. 2, s. 122-131. doi:10.1111/gcbb.12030

[5] SHALINI, S. et al. (2020). Biochar from biomass waste as a renewable carbon material for climate change mitigation in reducing greenhouse gas emissions—a review. Biomass Conversion and Biorefinery. ISSN 2190-6823. vol. 11, s. 2247-2267. doi:/https://doi.org/10.1007/s13399-020-00604-5

[6] SOHI, S.- BOL, R. (2009). Biochar, Climate Change and Soil: A Review to Guide Future Research. CSIRO Land and Water Science Report. ISSN 1834-6618. Dostupné na Internete: 65 https://www.researchgate.net/publication/228656328_Biochar_Climate_Change_and_Soil_A_Review_to_Guide_Future_Research

[7] LI, L. et al. (2013). An Introduction to Pyrolysis and Catalytic Pyrolysis: Versatile Techniques for Biomass Conversion. In New and Future Developments in Catalysis. ISBN 978-0-444-53876-5. s. 173-208. doi:https://doi.org/10.1016/B978-0-444-53878-9.00009-6

[8] PIPÍŠKA, M.- FRIŠTÁK, V. (2020). Produkcia biouhlia. In M. Pipíška, Biouhlie v manažmente životného prostredia. ISBN 978-80-568-0352-2. (s. 96). SAV.

[9] YU, a kol. (2017) Recent developments on algal biochar production and characterization. Bioresource Technology. ISSN 0960-8524. vol 246, s. 2-11. DOI: https://doi.org/10.1016/j.biortech.2017.08.009

[10] ROBERTS, D.A. a kol. (2015). Biochar from commercially cultivated seaweed for soil amelioration. Sci Rep. ISSN 2045-2322. vol.5: 9665 DOI: https://doi.org/10.1038/srep09665

[11] TRAN, H.N. et al. (2015) Effect of pyrolysis temperature and times on the adsorption of cadmium onto orange peel derived from biochar. Waste Management and Research. ISSN 1096-3669. Vol 34, zv. 2, s. 129-138. DOI: 10.1177/0734242X15615698

[12] REHRAH, D. et al. (2014) Production and characterization of biochars from agricultural by-products for use in soil quality enhancement. Journal of Analytical and Applied Pyrolysis. ISSN 0165-2370. vol. 108, s. 301-309. Dostupné na

internete: https://www.ars.usda.gov/ARSUserFiles/60820500/Manuscripts/2014/Man944.pdf
[13] CHAIWONG, K. et al. (2013) Study of bio-oil and bio-char production from algae by slow pyrolysis. Biomass and Bioenergy. ISSN 0961-9534. vol 56, s. 600-606. DOI: 0.1016/j.biombioe.2013.05.035
[14] INTANI, K. et al. (2018) Characterisation of biochar from maize residues produces in a self-purging pyrolysis rector. Bioresource Technology. ISSN 0960-8524. vol. 265, s.224-235 DOI: https://doi.org/10.1016/j.biortech.2018.05.103
[15] SIGHT, B. et. al. (2017) Biochar a guide to analytical methods. ISBN 978-1-498-76553-4. (s. 321) Dostupné na internete: https://b-ok.xyz/book/3651556/410787
[16] LAWRINENKO, M – LAID, D.A. (2015) Anion exchange capacity of biochar. Green Chemistry. vol 17., 4628. ISSN 14639262 DOI: 10.1039/C5GC00828J
[17] EBC (2015) European Biochar Certificate - Guidelines for a Sustainable Production of Biochar.' Carbon Standards International (CSI), Frick, Switzerland. (http://european-biochar.org). Verzia 10.2.
[18] KLOSS, S. et al. (2012). Characterization of Slow Pyrolysis Biochars: Effects of Feedstocks and Pyrolysis Temperature on Biochar Properties. Journal of Environmental Quality.ISSN 1537-2537. vol. 41, s.990-1000. DOI: 10.2134/jeq2011.0070
[19] PARSA,M. et al. (2019) Biochars derived from marine macroalgae as a mesoporous byproduct of hydrothermal liquefaction process: Characterization and application in wastewater treatment. Journal of Water Process Engineering. ISSN 2214-7144. vol.32:100942. DOI: https://doi.org/10.1016/j.jwpe.2019.100942
[20] SINGH, B. et al. (2012). Biochar Carbon Stability in a Clayey Soil As a Function of Feedstock and Pyrolysis Temperature. Environmental Science and Technology. ISSN 1520- 5851. vol. 46 zv. 21, s. 11770-11778. doi:https://doi.org/10.1021/es302545b
[21] JINDO, K. et. al. (2014) Physical and chemical characterization of biochars derived from different agricultural residues. Biogeosciences. ISSN 1726-4189. vol. 11, s. 6613 – 6621. DOI: 10.5194/bg-11-6613-2014
[22] LU, S. – ZONG, Y. (2018) Pore structure and environmental serves of biochars derived from different feedstocks and pyrolysis conditions. Environmental Science and Pollution Research. Vol 25 (30). DOI: 10.1007/s11356-018-3018-7

Asistovaný hatching a jeho praktické využitie

Assisted hatching and its practical application

Iveta Šulková[1]
Školiteľ: Michal Benc[2]
[1,2]Katedra botaniky a genetiky, FPVaI UKF, Nábrežie mládeže 91, 949 01 Nitra
[1] iveta.sulkova@student.ukf.sk, [2] mbenc@ukf.sk

Abstrakt

Významným momentom pre úspešné uhniezdenie embrya v maternici je jeho uvoľnenie zo svojho obalu, *zony pellucidy*, v procese tzv. hatchingu. Občas sa však stáva, že je vplyvom rôznych faktorov *zona pellucida* hrubšia a stvrdnutá, čo spôsobuje zníženú mieru implantácie embrya a s tým spojenú neplodnosť. Asistovaný hatching je dôležitou technikou v asistovanej reprodukcii, pretože pomocou rôznych techník narúšajúcich *zonu pellucidu*, dokáže pomôcť embryu sa ľahšie uvoľniť zo svojho obalu.

V predkladanej práci sme sa zaoberali asistovaným hatchingom a našim cieľom bolo primárne porovnať úspešnosť techník asistovaného hatchingu a to buď s použitím 2M HCl alebo pomocou piezo-elektrických impulzov. Zároveň bolo sledované, ktoré štádium (morula/blastocysta) je pre ktorú techniku vhodnejšie.

Kľúčové slová: asistovaný hatching, oocyt, *zona pellucida*, embryo

Abstract

Hatching from the zona pellucida is an important moment for the successful process of embryo implantation in the uterus. However, sometimes it happens that the zona pellucida is thicker and hardened due to various factors. It causes a reduced embryo implantation rate and associated infertility. Assisted hatching is an important technique in assisted reproduction. It can help the embryo to release from the zona pellucida more easily by disrupting it with the help of various techniques.

In this work we studied an assisted hatching, and our main goal was to compare the technique using 2M HCl and piezoelectric impulses. We also observed which embryonic stage (morula/blastocyst) is more suitable for these techniques.

Key Words: assisted hatching, oocyte, zona pellucida, embryo

Úvod

Technológia asistovanej reprodukcie sa v posledných desaťročiach neustále rozvíja a dosahuje významné úspechy v liečbe neplodnosti. Avšak, aj pri maximálnej snahe o to, aby sa na prenos vybrali embryá výbornej kvality, zostáva miera implantácie relatívne nízka. Úspech asistovanej reprodukcie závisí od mnohých faktorov. Jedným z nich je zložitý vzťah medzi preneseným embryom a endometriom príjemkyne. Úspešný výsledok implantácie závisí od mnohých faktorov, vrátane schopnosti embrya hatchovať zo *zony pellucidy*. Fyziologicky môže asistovaný hatching zvýšiť prepojenie medzi embryom a endometriom, čo vedie k zvýšeniu miery implantácie. Od roku 1988, keď Cohen a kol. oznámili prvé tehotenstvo po asistovanom hatchingu, bolo vyvinutých niekoľko techník asistovaného hatchingu, s cieľom zlepšiť úspešnosť implantácie embrya v maternici. [1]

Cohen a kol. boli priekopníkmi zavedenia asistovaného hatchingu do techník asistovanej reprodukcie. Predpokladali, že znížená schopnosť embryí hatchovať, môže byť spôsobená zvýšenou hrúbkou *zony pellucidy* alebo jej abnormálnou tvrdosťou. Tieto abnormality sa vo zvýšenej miere vyskytujú u embryí pacientok starších ako 37 rokov, pacientov so zvýšenými sérovými koncentráciami folikuly stimulujúceho hormónu a pri dlhodobom vystavení embryí suboptimálnym podmienkam kultivácie v *in vitro* podmienkach. [2]

Pod pojmom asistovaný hatching rozumieme postupy asistovanej reprodukcie, pri ktorých sa väčšinou za pomoci mikromanipulačných techník vytvorí malý otvor v *zone pellucide*, čím sa uľahčí uvoľnenie embrya z nej. Na účinný asistovaný hatching je potrebné úplné narušenie alebo dostatočné stenčenie *zony pellucidy*. [3]

Hoci sa vytvorenie otvoru v *zone pellucide* môže zdať ako jednoduchý úkon, je dôležité zvážiť potenciálne riziká tohto postupu. Hlavnými nevýhodami mechanického porušenia *zony pellucidy* sú relatívna technická náročnosť, nemožnosť vytvoriť

štandardizované, jednotné otvory a prípadná možnosť poškodenia embrya. V prípade postupov využívajúcich chemické narušenie *zony pellucidy* existujú riziká, že manipulácia so *zonou pellucidou* môže mať nepriaznivé účinky na budúci vývoj embrya. Nemenej významné obavy v prípade asistovaného hatchingu vyvoláva zvýšené riziko vzniku jednovaječných dvojčiat, s ktorým je spojené zvýšené riziko potratu, možný vznik vývojových komplikácií a zdravotné riziká pre matku. Tieto riziká sa môžu líšiť v závislosti od použitej techniky a najmä od veľkosti vytvoreného otvoru. Preto je potrebná presnosť a precíznosť vykonanej techniky. [4, 5]

Hoci sú k dispozícii rôzne metódy, účinok asistovaného hatchingu je stále diskutabilný a preto sme sa v našom výskume zamerali na mieru jeho úspešnosti pri využití dvoch rôznych techník, v rôznych štádiách vývoja embrya.

1 Materiál a metodika

Všetky chemikálie boli zakúpené od Sigma-Aldrich, spol. s.r.o. (Slovensko), pokiaľ nie je uvedené inak.

1.1 Odber vaječníkov a ich transport

Zdrojom biologického materiálu bol lokálny bitúnok. Prevoz vaječníkov bol realizovaný pri teplote približne 35 °C, vo fyziologickom roztoku. Následne prebiehala experimentálna časť práce. Prevoz bol robený bezprostredne po chirurgickom odbere vaječníkov z porazených zvierat – ošípaných.

1.2 Izolácia oocytov

Po prevoze vaječníkov, sa v laboratóriu vykonala izolácia oocytov v štádiu GV z vaječníkov, aspiráciou pomocou ihly a striekačky. Následne sa hľadali oocyty a vykonávala sa ich selekcia na základe ich morfológie. Vyhľadávanie a selekcia oocytov prebiehala v modifikovanom PBS (mPBS). [6] Morfologicky sa vyberali zrelé, kvalitatívne vyhovujúce oocyty a to na základe ich veľkosti, súvislých vrstiev kumulárnych buniek a s homologickou cytoplazmou.

1.3 *In vitro* zrenie oocytov

Po selekcii sa vybrané oocyty kultivovali v maturačnom FLI médiu. [7, 8] Zrenie do štádia metafázy II prebiehalo 44 hodín v *in vitro* podmienkach, pri teplote 38,5°C, s 5% CO_2, vo vlhkej atmosfére.

1.4 Partenogenetická aktivácia a *in vitro* kultivácia embryí

Po 44 hodinách zrenia sa odstránili kumulárne bunky v 0,3% roztoku hyaluronidázy a bola vykonaná chemická partenogenetická aktivácia. Na partenogenetickú aktiváciu boli použité oocyty s vylúčeným pólovým telieskom. Partenogenetická aktivácia prebiehala 5 minút v roztoku 1xPBS, doplnenom o 0,4% BSA a 10 µM ionomycin. [9] Následne boli oocyty opláchnuté a ďalších 5 hodín kultivované v kultivačnom médiu PZM-3, ktoré bolo doplnené o 2 mM 6-DMAP, pri teplote 38,5°C, s 5% CO_2, vo vlhkej atmosfére. Po piatich hodinách boli oocyty opláchnuté v čistom médiu PZM-3 a v ňom ďalej kultivované nasledujúcich niekoľko dní pri teplote 38,5°C, s 5% CO_2, vo vlhkej atmosfére, do podstúpenia niektorej z foriem asistovaného hatchingu. [10] Súbežne s experimentálnymi skupinami bola použitá aj kontrolná skupina, ktorá bola tvorená súborom embryí, ktoré neboli podrobené žiadnej forme asistovaného hatchingu.

1.5 Príprava kapilár

Pre asistovaný hatching boli použité mikromanipulačné techniky, ktoré si vyžadovali prípravu rôznych druhov kapilár. Použitá kapilára pre asistovaný hatching pomocou PIEZA mala vonkajší priemer približne 10 µm. Kapilára pre asistovaný hatching pomocou 2M HCl mala vonkajší priemer približne 2-3 µm. Holdingová kapilára mala vonkajší priemer približne 75 – 100 µm, pričom vnútorný priemer kapiláry bol približne 30 µm. Uhol zahnutia kapiláry bol 30°.

1.6 Asistovaný hatching

Asistovaný hatching bol realizovaný v mikromanipulačných kvapkách v ICSI miske (ThermoFisher). Objem kvapiek bol približne 10 µl. Pre mikromanipuláciu bolo zvolené médium M2, doplnené o 0,4% BSA. Pre oplachovanie kapilár bolo použité 12% PVP, rozpustené v MilliQ H_2O. V prípade použitia metodiky asistovaného hatchingu s použitím 2M HCl, bola vytvorená kvapka 2M HCl, doplnená o 0,1% PVA. Pre zaliatie mikromanipulačných kvapiek bol použitý minerálny olej.

Asistovaný hatching bol realizovaný dvoma technikami – narúšaním *zony pellucidy* prostredníctvom piezo-elektrických impulzov za použitia prístroja PiezoXpert (Eppendorf, Nemecko) alebo priamym vypúšťaním 2M HCl z kapiláry na *zonu pellucidu*. Na mikromanipuláciu bol použitý mikroskop

Zeiss LSM 710 microscope (Zeiss, Nemecko) s mikromanipulačnou jednotkou Eppendorf TransferMan 4r micromanipulator (Eppendorf, Nemecko). Asistovaný hatching bol realizovaný na embryonálnych štádiách moruly a blastocysty. Štádium moruly bolo získavané v čase 96 hodín a štádium blastocysty 120 hodín po partenogenetickej aktivácii.

Použité embryá boli pred mikromanipuláciou opláchnuté v mikromanipulačnom médiu. Po skončení mikromanipulácie sa embryá opäť opláchli a ďalej kultivovali za štandardných podmienok. Na druhý deň sa vyhodnocovala úspešnosť asistovaného hatchingu. Celkovo boli určené 4 klasifikačné stupne: „hatching" – predstavuje embryá bez *zony pellucidy*, „zaseknutie" – do tejto skupiny sme zaradili embryá s nedokončeným procesom hatchingu, „bez hatchingu" – takto boli označené embryá, ktoré nezahájili proces hatchovania a „kolaps vývoja" – predstavuje skupinu embryí, ktorých vývoj po zlyhal. Primárne sa porovnávala úspešnosť použitých metodík asistovaného hatchingu a zároveň, ktoré štádium (morula/blastocysta) pre ktorú techniku je vhodnejšie. Každý experiment s každou skupinou bol zopakovaný trikrát.

1.7 Štatistická analýza

Údaje boli analyzované použitím štatistického programu GraphPad Prism 8.0.1 (GraphPad Software Inc., San Diego, CA, USA). Test normality rozloženia a distribúcie dát bol robený pomocou Shapiro-Wilkovho a Kolmogorov-Smirnovho testovania. Následná štatistická analýza bola vykonaná pomocou bežnej jednosmernej ANOVY, s následným Tukeyho viacnásobným porovnávacím testovaním. P-hodnoty < 0,05 alebo P-hodnoty < 0,01, 0,001 a 0,0001 sa považovali za štatisticky významné a označené sú v grafoch prislúchajúcim počtom hviezdičiek (*), (**), (***) a (****). Hodnoty boli vyjadrené ako priemer ± štandardná chyba.

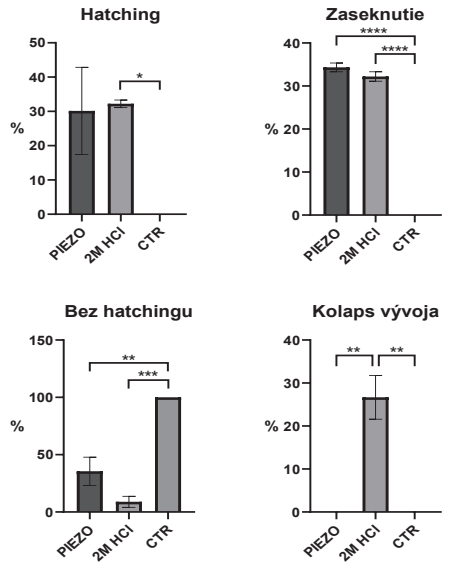
2 Výsledky a diskusia

V práci sa porovnávala úspešnosť techník asistovaného hatchingu a to buď s použitím 2M HCl alebo pomocou piezo-elektrických impulzov. Zároveň bolo sledované, ktoré štádium (morula/ blastocysta) je pre ktorú techniku vhodnejšie.

2.1 Asistovaný hatching v štádiu moruly

Nasledujúce výsledky prinášajú porovnanie úspešnosti aplikácie asistovaného hatchingu v štádiu moruly. Sledované boli tri skupiny. Prvou bola skupina, kde bola použitá mechanická technika asistovaného hatchingu, pomocou piezo-elektrických impulzov. Druhou skupinou sú embryá, u ktorých bola použitá chemická metodika s využitím 2M HCl a treťou skupinou je kontrolná skupina, u ktorej asistovaný hatching nebol realizovaný. Celkovo boli sledované 4 parametre možného správania sa následného vývoja – úspešný hatching, uviaznutie/zaseknutie embrya vo vzniknutom otvore v *zone pellucide*, neúspešný hatching a kolaps/zlyhanie vývoja s následnou degeneráciou embrya. Nasledovné snímky demonštrujú priebeh použitých metodík v štádiu moruly.

Obr. 1 Asistovaný hatching v štádiu moruly. A,B - s použitím 2M HCl. C,D - s použitím piezo-elektrických impulzov.



Graf 1 Vplyv rôznych metód asistovaného hatchingu v štádiu moruly. PIEZO – narušenie *zony pellucidy*

piezo-elektrickými impulzami. 2M HCl – narušenie *zony pellucidy* pôsobením kyseliny. Hatching – podiel morúl, ktoré úspešne hatchovali. Zaseknutie – podiel morúl, u ktorých došlo k zaškrteniu a uviaznutiu vo vytvorenom otvore. Bez hatchingu – podiel morúl, u ktorých k hatchingu nedošlo. Kolaps vývoja – podiel atrofujúcich embryí. CTR – kontrolná skupina.

Na základe výsledkov možno konštatovať, že aplikácia asistovaného hatchingu mala jednoznačný zmysel, nakoľko v porovnaní s kontrolnou skupinou vykázali obe metodiky značný posun v hatchovaní blastocýst. Je treba však dodať, že je evidentný rozdiel aj medzi použitými typmi metodík.

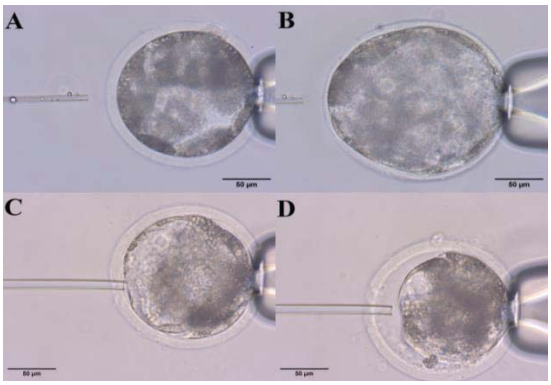
Výsledky naznačujú, že v štádiu moruly vyšiel štatisticky významný rozdiel v zaznamenanom hatchingu v prospech skupiny, kde sa použila 2M HCl. Táto skupina vykázala v porovnaní s kontrolnou skupinou štatisticky významnú odchýlku ($P<0,05$). Porovnanie metodík navzájom nevykázalo významný rozdiel a dokonca ani rozdiel medzi asistovaným hatchingom s použitím piezo-elektrických impulzov nevykázalo v kontexte kontrolnej skupiny významnejší rozdiel, hoci zlepšenie hatchovania je z grafu možné vyčítať. Dôvodom môže byť najmä vysoká variabilita úspešnosti pri použití metodiky s piezo-elektrickými impulzami. To je v grafe evidentné na základe hodnoty štandardnej chyby.

Z tohto pohľadu výsledky naznačujú pozitívny trend smerom k použitiu asistovaného hatchingu a to predovšetkým s použitím 2M HCl. V jej neprospech sú však výsledky zlyhania embryonálneho vývoja, kde u tejto skupiny vyšiel negatívny, signifikantný rozdiel ($P<0,01$) voči obom zvyšným skupinám. Ako vysvetlenie sa môže javiť zdôvodnenie, že je tomu tak na základe použitého embryonálneho štádia. V štádiu moruly je rozmer embrya pomerne malý a stále je možné nájsť dostatočne veľký perivitelinný priestor, ktorý je mimoriadne vhodný pre aplikáciu piezo-elektrických impulzov. Vďaka nemu nedôjde k bezprostrednému pôsobeniu týchto impulzov na embryo. Ide teda o veľmi šetrný spôsob narušenia *zony pellucidy*. Naproti tomu pri použití 2M HCl, kedy je v štádiu moruly *zona pellucida* ešte pomerne hrubá a pevná, si vyžaduje asistovaný hatching aplikáciu väčšieho množstva roztoku, čo môže mať za následok negatívny trend vo vývoji embrya. Toto sa nám výsledkami napokon pri štádiu moruly aj potvrdilo. Za zmienku teda stojí zamyslenie sa nad tým, akou formou by bolo možné vylepšiť techniku piezo-elektrických impulzov tak, aby dosiahli úroveň 2M HCl, pri zachovaní šetrnosti u daného embryonálneho štádia. Možným riešením sa zdá byť snaha o precíznejšie vytvorenie otvoru, kde by bolo vhodné na základe analýz, definovať minimálny a maximálny rozmer otvoru, ktorý je treba v *zone pellucide* vytvoriť. V stručnom zhrnutí možno konštatovať, že 2M HCl vykázala síce vyššiu úspešnosť hatchingu, ale zároveň mala aj negatívnejší vplyv na embryá, čo nie je žiaduce. Pri nižších štádiách preto na základe výsledkov odporúčame využitie piezo-elektrickej techniky s nižšou úspešnosťou, ale o to vyššou šetrnosťou.

2.2 Asistovaný hatching v štádiu blastocysty

Nasledujúce výsledky, rovnako ako v prípade moruly, prinášajú porovnanie úspešnosti aplikácie asistovaného hatchingu v štádiu blastocysty. Sledované boli opäť rovnaké tri skupiny, ako v predchádzajúcom prípade.

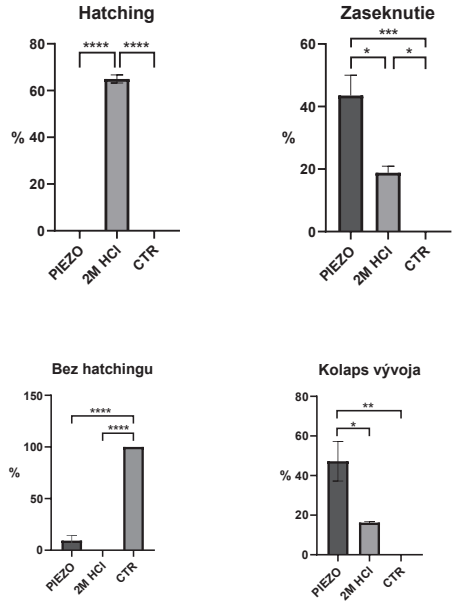
V štádiu blastocysty nám opäť lepšie výsledky dosiahla metodika s použitím 2M HCl. Štatisticky významný rozdiel nám vyšiel medzi 2M HCl a piezom ($P<0,001$) a aj medzi 2M HCl a kontrolnou skupinou ($P<0,001$). Je to evidentné, pretože kompletný hatching sme zaznamenali len u skupiny s použitím 2M HCl. Nasledovné snímky demonštrujú priebeh použitých metodík v štádiu blastocysty.



Obr. 2 Asistovaný hatching v štádiu blastocysty. A,B - s použitím 2M HCl. C,D - s použitím piezo-elektrických impulzov.

Použitie piezo-elektrických impulzov sa nejaví z tohto pohľadu u daného štádia prínosné. Pravdepodobne je to preto, že pri blastocyste sa embryo dotýka *zony pellucidy*, čo sťažuje aplikáciu piezo-elektrických impulzov bez dopadu na embryo. Tie môžu embryo poškodiť a zároveň nám takto zhoršený prístup pri manipulácii znemožní vytvorenie dostatočne veľkého otvoru. Zodpovedá tomu miera

embryí uviaznutých v otvore v *zone pellucide*, ktorých počet je u piezo skupiny negatívne štatisticky signifikantný oproti zvyšným skupinám. Následkom takéhoto zaseknutia by mohol byť vznik jednovaječných dvojčiat, pretože môže dôjsť k zaškrteniu embrya a k jeho rozdeleniu na dve. Negatívny trend poškodenia embrya vykázala aj analýza kolapsu embryonálneho vývoja, ktorá domnienku o škodlivosti piezo-elektrických impulzov, aplikovaných v štádiu blastocysty, potvrdila. Je však treba poznamenať, že aj keď sa pri pieze vyskytol efekt kolapsu blastocýst, tak napriek tomu sa niektoré blastocysty po približne jednom dni regenerovali. K ich hatchovaniu už však nedochádzalo.



Graf 2 Vplyv rôznych metód asistovaného hatchingu v štádiu blastocysty. PIEZO – narušenie *zony pellucidy* piezo-elektrickými impulzami. 2M HCl – narušenie *zony pellucidy* pôsobením kyseliny. Hatching – podiel blastocýst, ktoré úspešne hatchovali. Zaseknutie – podiel blastocýst, u ktorých došlo k zaškrteniu a uviaznutiu vo vytvorenom otvore. Bez hatchingu – podiel blastocýst, u ktorých k hatchingu nedošlo. Kolaps vývoja – podiel atrofujúcich embryí. CTR – kontrolná skupina.

Výsledok podielu blastocýst u ktorých nedošlo k hatchingu bol relatívne dobrý vo vzťahu ku kontrolnej skupine. Pri použití 2M HCl začali hatchovať všetky blastocysty. Pri skupine s použitím piezo-elektrickým impulzov bol výsledok tiež priaznivý, hatchovanie sme zaznamenali, avšak, ako už bolo spomenuté, nedošlo k jeho dokončeniu. Z tohto dôvodu jednoznačne odporúčame v prípade asistovaného hatchingu v štádiu blastocysty, siahnuť po chemickej metodike.

Nasledovná tabuľka zobrazuje súhrn nameraných dát u všetkých sledovaných parametrov a skupín.

Tab. 1 Vývoj embryí po asistovanom hatchingu. PIEZO – narušenie *zony pellucidy* piezo-elektrickými impulzami. 2M HCl – narušenie *zony pellucidy* pôsobením kyseliny. Hatching – podiel blastocýst, ktoré úspešne hatchovali. Zaseknutie – podiel blastocýst, u ktorých došlo k zaškrteniu a uviaznutiu vo vytvorenom otvore. Bez hatchingu – podiel blastocýst, u ktorých k hatchingu nedošlo. Kolaps vývoja – podiel atrofujúcich embryí

Skupina	Technika	Počet embryí	Hatching	%	Zaseknutie	%	Bez hatchingu	%	Kolaps vývoja	%
Štádium blastocysty	PIEZO	9	0	0,00%	5	55,56%	1	11,11%	3	33,33%
		6	0	0,00%	2	33,33%	0	0,00%	4	66,67%
		12	0	0,00%	5	41,67%	2	16,67%	5	41,67%
	2 M HCl	12	8	66,67%	2	16,67%	0	0,00%	2	16,67%
		6	4	66,67%	1	16,67%	0	0,00%	1	16,67%
		13	8	61,54%	3	23,08%	0	0,00%	2	15,38%
Skupina	**Technika**	**Počet embryí**	**Hatching**	**%**	**Zaseknutie**	**%**	**Bez hatchingu**	**%**	**Kolaps vývoja**	**%**
Štádium moruly	PIEZO	9	5	55,56%	3	33,33%	1	11,11%	0	0,00%
		6	1	16,67%	2	33,33%	3	50,00%	0	0,00%
		11	2	18,18%	4	36,36%	5	45,45%	0	0,00%
	2 M HCl	6	2	33,33%	2	33,33%	0	0,00%	2	33,33%
		6	2	33,33%	2	33,33%	1	16,67%	1	16,67%
		10	3	30,00%	3	30,00%	1	10,00%	3	30,00%
Skupina	**Technika**	**Počet embryí**	**Hatching**	**%**	**Zaseknutie**	**%**	**Bez hatchingu**	**%**	**Kolaps vývoja**	**%**
Kontrolná	-	12	0	0,00%	0	0,00%	12	100,00%	0	0,00%
		17	0	0,00%	0	0,00%	17	100,00%	0	0,00%
		15	0	0,00%	0	0,00%	15	100,00%	0	0,00%

2.3 Vzájomné porovnanie techník asistovaného hatchingu pri rôznych štádiách vývoja embrya

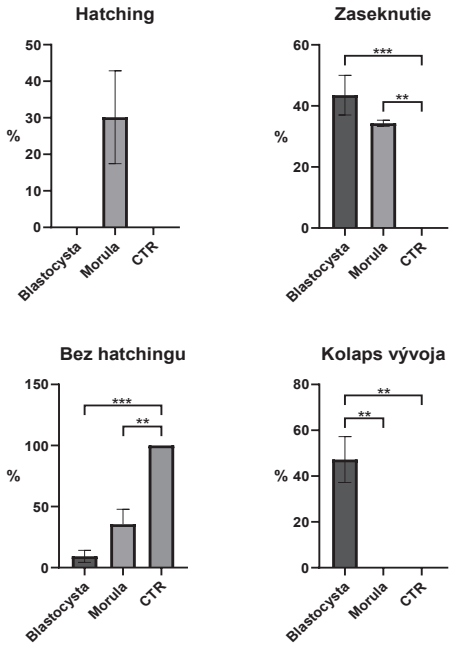
V tomto prípade nás zaujímalo porovnanie tých istých dát, avšak z pohľadu správania rozdielnych embryonálnych štádií vo vzťahu k jednej technike asistovaného hatchingu. Dané porovnanie umožňuje lepšie zhodnotiť dopad techniky na rozličné štádiá vývoja.

Z porovnania vyplýva, že v prípade použitia piezo-elektrických impulzov, je metodika jednoznačne vhodnejšia pre skoršie štádiá embryonálneho vývoja. Jej aplikácia v štádiu blastocysty nie je na základe výsledkov vhodná. Každý zo sledovaných parametrov vykázal pozitívny trend v použití u skorších štádií embryogenézy. To jednoznačne podporuje myšlienku potreby manipulačného priestoru, ktorý je u štádia blastocysty značne obmedzený. Príliš malý otvor môže spôsobiť zaseknutie embrya počas hatchingu, vytvorenie trofektodermálnych vezikúl alebo zaškrtnutie vnútrobunkovej matrix na dve časti. [2]

Aj v iných štúdiách bolo pozorované, že embryá u ktorých sa vytváral otvor v *zone pellucide* mechanicky, majú tendenciu uviaznuť v menších

otvoroch v *zone pellucide* počas procesu hatchovania, a preto sa nemusia uvoľniť. [11]

Za pravdu nám dáva aj štúdia, kde autori uvádzajú, že pri embryách v štádiu blastocysty sa v dôsledku zväčšenia objemu, bunky ICM a trofoblastu dostávajú do úzkeho kontaktu so *zonou pellucidou*. Preto akýkoľvek proces asistovaného hatchingu pravdepodobne spôsobuje poškodenie štruktúr embrya. [12]



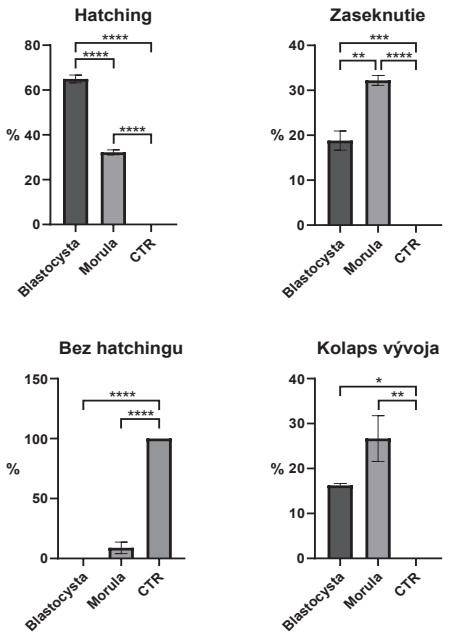
Graf 3 Porovnanie použitia techniky s využitím piezo-elektrických impulzov v procese asistovaného hatchingu u rôznych štádií. Hatching – podiel blastocýst/morúl, ktoré úspešne hatchovali. Zaseknutie – podiel blastocýst/morúl, u ktorých došlo k zaškrteniu a uviaznutiu vo vytvorenom otvore. Bez hatchingu – podiel blastocýst/morúl, u ktorých k hatchingu nedošlo. Kolaps vývoja – podiel atrofujúcich embryí. Štatistická významnosť bola testovaná tak, ako je opísané v metodickej časti. CTR – kontrolná skupina.

Tu sa naskytá otázka, aký dopad by malo využitie asistovaného hatchingu v ešte skorších štádiách. Čiastočnou odpoveďou nám môže byť nasledovné tvrdenie. Hoci sa na klinikách umelej reprodukcie štandardne používajú na asistovaný hatching embryá v osembunkovom štádiu, výskumy uvádzajú, že je jednoduchšie a bezpečnejšie, vykonať asistovaný hatching v štádiu moruly, u ktorej je lepšia tolerancia voči mechanickej manipulácii. Embryá v štádiu moruly vytvárajú rozsiahle bunkové spoje, ktoré tvoria kompaktnejšiu štruktúru v porovnaní s embryami v osembunkovom štádiu. Rozsiahle bunkové spojenie v embryách moruly vylučuje možnosť straty jednotlivých blastomér. Okrem toho kompaktná štruktúra v štádiu moruly vytvára väčší perivitellinový priestor, ktorý môže byť vhodnou bariérou voči mechanickému poškodeniu počas manipulácie. [12]

Uvedená interpretácia dát z opačného uhla pohľadu nás jednoznačne smeruje k použitiu asistovaného hatchingu technikou piezo-elektrických impulzov do štádia moruly.

Ešte lepšiu interpretáciu nám tento opačný prístup v pohľade na dáta priniesol v prípade využitia techniky asistovaného hatchingu s použitím 2M HCl. Pri použití metodiky založenej na chemickom narušení *zony pellucidy* nám výsledky naznačujú, že je vhodnejšie ju aplikovať práve v neskorších štádiách embryonálneho vývoja. V našom prípade v štádiu blastocysty. Hoci pri jej použití v štádiu moruly vykazovala vyššiu úspešnosť oproti metodike s použitím piezo-elektrických impulzov, v kontexte zvyšných dát ju v štádiu moruly absolútne neodporúčame. Rozdiel medzi morulou a blastocystou môže byť v konečnom dôsledku spôsobený najmä rozdielom v *zone pellucide*, pretože v prípade blastocysty je pnutím stenčená, čo mohlo uľahčiť jej rozrušenie vplyvom kyseliny. Pravdepodobne nám teda stačilo aj menšie množstvo roztoku 2M HCl na to, aby sme ju narušili, čím sme samotné embryo pravdepodobne vystavili menšiemu pôsobeniu kyseliny. To by bolo v zhode so štúdiou v ktorej sa uvádza, že použitie kyselín v procese asistovaného hatchingu môže vytvárať riziká nežiaducich účinkov. Embryá by mohli byť poškodené kyslými alebo enzymatickými roztokmi. Blastoméry by sa mohli počas delenia oddeliť od embryí a mohlo by neskôr dôjsť k bakteriálnej infekcii v dutine maternice. [12]

Tu je však treba poznamenať, že sme pri tomto porovnaní dát nezaznamenali štatisticky významnú odchýlku v zlyhaní vývoja medzi použitím 2M HCl u blastocysty a u moruly, hoci logicky sme pri morule pravdepodobne vypustili viacej roztoku kyseliny, ktorý keď došiel do kontaktu s embryom, mohol spôsobiť jeho poškodenie. Výsledky tento záver nepotvrdzujú, čím vyvracajú domnienku o vplyve rozdielneho množstva použitej kyseliny u rozličných štádií. Primárny rozdiel v použití 2M HCl tak bude vychádzať najmä v pohľade na mieru úspešnosti rozrušenia *zony pellucidy*.



Graf 4 Porovnanie použitia techniky s využitím 2 M HCl v procese asistovaného hatchingu u rôznych štádií. Hatching – podiel blastocýst/morúl, ktoré úspešne hatchovali. Zaseknutie – podiel blastocýst/morúl, u ktorých došlo k zaškrteniu a uviaznutiu vo vytvorenom otvore. Bez hatchingu – podiel blastocýst/morúl, u ktorých k hatchingu nedošlo. Kolaps vývoja – podiel atrofujúcich embryí. CTR – kontrolná skupina.

Môžeme konštatovať, že hatching blastocysty sa môže zvýšiť chemickým oslabením *zony pellucidy*, preto by v budúcnosti mohla stáť za zváženie, kombinácia oboch použitých techník, nakoľko obe majú svoje opodstatnenie a výhody.

V kontexte našich výsledkov možno vo všeobecnosti označiť asistovaný hatching za prínosný. Potvrdzujú to naše výsledky, ako aj dáta z iných štúdií. Netreba však opomínať ani oblasť možných negatív. Každá manipulácia alebo zásah do embrya predstavuje určité riziko. Jedným z rizík asistovaného hatchingu je možné poškodenie embrya. Ďalším nebezpečenstvom asistovaného hatchingu je, že sa naruší prirodzený proces hatchovania embrya a embryo sa úplne nevyliahne zo *zony pellucidy*. Ešte väčšou komplikáciou môže byť zaškrtenie a rozdelenie embrya, ktoré môže viesť k tvorbe jednovaječných dvojčiat. Aj samotné techniky IVF oplodnenia, predovšetkým metodika ICSI, zvyšuje riziko vzniku dvojčiat. Výskum naznačuje, že asistovaný hatching môže toto riziko ešte zvýšiť. Hoci všetky viacpočetné tehotenstvá sú rizikové, tehotenstvá s monozygotnými dvojčatami sú pre matku a deti výrazne rizikovejšie. [13]

Naše zistenia, ako aj výsledky iných štúdií naznačujú, že asistovaný hatching môže mať na následný vývoj embrya pozitívne, ale aj negatívne účinky, v závislosti od viacerých faktorov. Vo všeobecnosti možno konštatovať, že asistovaný hatching má svoj význam, zlepšuje šancu otehotnieť a zvyšuje mieru implantácie embrya u pacientok so zlou prognózou. Tieto sú odkázané na využitie asistovanej reprodukcie, čo na druhej strane môže viesť k vzniku iných komplikácií. Štúdie naznačujú, že u *in vitro* dozretých oocytov sa objavuje zhrubnutá alebo stvrdnutá *zona pellucida* a to v dôsledku vystavenia podmienkam kultivácie *in vitro*. *In vitro* kultivácia embryí cicavcov mení zloženie *zony pellucidy*. Embryá získané *in vitro* majú hrubšiu *zonu pellucidu*. Vysoký podiel morfologicky normálnych blastocýst má preto problémy s hatchingom a 54 % sa nevyliahne ani po 8. dňoch kultivácie *in vitro*. [2]

My sme u kontrolných vzoriek prirodzený hatching nezaznamenali. Mohlo to byť dôsledkom práve *in vitro* kultivácie, kde nami vytvorené podmienky prirodzenému hatchingu nepriali. Práve v takýchto prípadoch získava asistovaný hatching významné opodstatnenie. Viacero publikovaných správ o úlohe asistovaného hatchingu pri IVF naznačuje, že asistovaný hatching je klinicky užitočný a že jednotlivé kliniky asistovanej reprodukcie by mali vyhodnotiť vlastné populácie pacientov s cieľom určiť, ktoré podskupiny môžu mať z tohto postupu prospech. [2]

Jedným dychom treba tiež dodať, že význam asistovaného hatchingu nemusí byť prínosný len na klinikách umelej reprodukcie, ale môže byť zaujímavý aj v živočíšnej produkcii alebo v snahách o záchranu ohrozených druhov. Je treba si však uvedomiť značné medzidruhové rozdiely. Kvôli nim by bolo vhodné realizovať ďalšie štúdie, s cieľom optimalizovať dané metodiky pre konkrétny živočíšny druh.

Záver

Hlavnou témou našej práce bol asistovaný hatching. V dnešnej dobe je neplodnosť veľmi aktuálnou témou a stále sa vyvíjajú možnosti riešenia neplodnosti párov. Jedným z riešení zvýšenia miery implantácie embryí je práve asistovaný hatching.

Asistovanému hatchingu sme podrobili dve embryonálne štádiá – štádium moruly a štádium blastocysty. Asistovaný hatching bol realizovaný

dvoma technikami a to pomocou 2M HCl a pomocou piezo-elektrických impulzov.

Na základe našich výsledkov sme dospeli k záveru, že pri neskorších štádiách vývoja embrya – t.j. pri blastocyste, sme dosiahli lepšie výsledky pri používaní 2M HCl. Naopak, v prípade moruly, čiže v skorších štádiách vývoja, je výhodnejšie využiť techniku piezo-elektrických impulzov. Zároveň sme zistili, že piezo-elektrická technológia je šetrnejšia k štádiu moruly, naopak využitie 2M HCl je šetrnejšie k štádiu blastocysty.

Ako najpravdepodobnejšie vysvetlenie sa javí morfológia embrya, kedy v štádiu moruly majú embryá viac perivitelinného priestoru a tým sú viac prístupné mechanickým metódam, naopak pnutie *zony pellucidy* v štádiu blastocysty vytvára predpoklad pre použitie techník s využitím kyselín a enzýmov narúšajúcich *zonu pellucidu*.

Poďakovanie

Chcela by som sa veľmi pekne poďakovať môjmu školiteľovi RNDr. Michalovi Bencovi, PhD., za pomoc pri práci, odborné rady, konzultácie a za všetok venovaný čas a trpezlivosť.

Práca nadväzovala na nasledovné grantové projekty: VEGA-1/0167/20 - Vnútrojadrové molekulárne markery rastúcich a plne narastených oocytov – transkriptomická a proteomická štúdia. Danish Council for Independent Research/Natural Sciences (FNU) 8021-00048B

Použitá literatúra

[1] GREELY, Henry T. 2016. The end of sex and the future of human reproduction. First printing. Cambridge, Massachusetts: Harvard University Press, 392 s. ISBN 9780674728967

[2] ELHEW, Bassam et al. 2004. Assisted hatching: routine or selective application in IVF. In Middle East Fertility Society Journal, vol. 9, no. 3, pp. 198-201. ISSN 1110-5690.

[3] ALTERI, Alessandra et al. 2018. Revisiting embryo assisted hatching approaches: a systematic review of the current protocols. In J Assist Reprod Genet, vol. 35, pp. 367–391. ISSN 1573-7330

[4] AL-NUAIM, L. A., JENKINS, J. M. 2002. Assisted hatching in assisted reproduction. In BJOG: an International Journal of Obstetrics and Gynaecology, vol. 109, pp. 856–862. ISSN 1471-0528

[5] EBNER, T. et al. 2002. Prospective hatching of embryos developed from oocytes exhibiting difficult oolemma penetration during ICSI. In Human Reproduction, vol. 17, no. 5, pp. 1317-1320. ISSN 1460-2350

[6] SUN, Xing-Shen et al. 2004. Changes in germinal vesicle (GV) chromatin configurations during growth and maturation of porcine oocytes. In Mol Reprod Dev, vol. 69, pp. 228-234. ISSN 1098-2795

[7] YUAN, Ye et al. 2017. Quadrupling efficiency in production of genetically modified pigs through improved oocyte maturation. In Proc Natl Acad Sci, vol. 114, pp. 5796-5804. ISSN 1091-6490

[8] LUCAS-HAHN, Andrea et al. 2018. A New Maturation Medium Improves Porcine Embryo Production In Vitro. In Reproduction, Fertility, and Development, vol. 30, pp. 200-201. ISSN 1031-3613

[9] JÍLEK, František et al. 2001. Activation of pig oocytes using calcium ionophore: effect of the protein kinase inhibitor 6-dimethyl aminopurine. In Reprod Domest Anim, vol. 36, pp. 139–145. ISSN 1439-0531

[10] YOSHIOKA, Koji et al. 2002. Birth of piglets derived from porcine zygotes cultured in a chemically defined medium. In Biol Reprod, vol 66, pp. 112–119. ISSN 1529-7268

[11] NAKAYAMA, T. et al. 1998. A new assisted hatching technique using a piezo-micromanipulator. In Fertility and Sterility, vol. 69, no. 4, pp. 784-788. ISSN 0015-0282

[12] HAO, X. et al. 2021. Assisted Hatching Treatment of Piezo-Mediated Small Hole on Zona Pellucida in Morula Stage Embryos Improves Embryo Implantation and Litter Size in Mice. In Front. Cell Dev. Biol., vol. 9, article 746104, doi: 10.3389/fcell.2021.746104

[13] Assisted Hatching. [online]. Cloud Hospital, 2021. [cit. 13.3.2023]. Available at: https://icloudhospital.com/specialties/assisted-hatching?fbclid=IwAR3JjKh1FbN7YKNyB-NbtuRTYogK-lzgocpaxRxzXIeRoBz5O7IHSUgADFk

Vplyv polymorfizmu v géne pre parathormón (PTH) na anti-osteoporotickú terapiu ibandronátom

The effect of Parathyroid Hormone (PTH) Gene Polymorphism on the Response of Ibandronate Anti-osteoporotic Therapy

Lea Mária Žáková[1]
Školiteľ: Vladimíra Mondočková[2]
[1,2]Katedra botaniky a genetiky, FPVaI UKF, Nábrežie mládeže 91, 949 01 Nitra
[1] lea.maria.zakova@student.ukf.sk, [2] vmondockova@ukf.sk

Abstrakt

Parathormón (PTH) je hlavným endokrinným regulátorom extracelulárneho vápnika a má výrazné účinky na homeostázu skeletu prostredníctvom stimulácie kostného obratu a uvoľňovania vápnika z kosti.

Cieľom našej práce bolo analyzovať vplyv Bsp119I polymorfizmu v géne pre paratyroidný hormón (PTH) na účinnosť liečby ibandronátom. 74 postmenopauzálnych žien s diagnostikovanou osteoporózou absolvovalo 48 mesačnú liečbu ibandronátom, kde sme sledovali vplyv PTH polymorfizmu na hustotu kostnej hmoty (BMD) krčka stehnovej kosti (F-BMD), BMD lumbálnych stavcov (L-BMD), hladinu vápnika a fosfátov v krvnom sére a biochemické markery kostnej remodelácie (bALP, OC, CTx).

Tieto ukazovatele boli merané pred a po liečbe a následne vyhodnotené pomocou štatistického softvéru IBM SPSS verzie 28.010 (IBM, New York, USA) variančnou analýzou pre opakované merania pomocou GLM (General Linear Model).

Terapia ibandronátom mala signifikantne pozitívny efekt na ukazovatele osteoporózy. Vplyv genotypov PTH/Bsp119I však nebol štatisticky významný (P > 0,05) pri žiadnom zo zvolených parametrov.

Kľúčové slová: osteoporóza, ibandronát, BMD, markery kostnej remodelácie, polymorfizmus

Abstract

Parathyroid hormone (PTH) is the major endocrine regulator of extracellular calcium and has significant effects on skeletal homeostasis by stimulating bone turnover and releasing calcium from the bone.

The aim of our work was to analyse effect of Bsp119I polymorphism in the gene for parathyroid hormone (PTH) on the ibandronate anti-osteoporotic treatment efficiency. 74 postmenopausal women with diagnosed osteoporosis underwent 48 months ibandronate treatment, where the effects of BspB119I polymorphism in PTH on femoral neck BMD (bone mineral density), lumbar vertebrae BMD, blood serum calcium and phosphate levels, and biochemical markers of bone remodeling (bALP, OC, CTx) were observed.

These parameters were measured before and after the treatment and subsequently evaluated using the IBM SPSS statistical software version 28.010 (IBM, New York, USA) variant analysis for repeat measurements using the GLM (General Linear Model).

Ibandronate therapy had a significant positive effect on osteoporosis indicators. However, the effect of the PTH/Bsp119I genotypes was not statistically significant (P > 0,05) for any of the selected parameters.

Key Words: osteoporosis, ibandronate, BMD, markers of bone turnover, polymorphism

Úvod

Osteoporóza (OP) je systémové metabolické ochorenie skeletu, ktoré je zapríčinené zníženou hustotou kostnej hmoty a narušením mikroštruktúry kosti. Častejšie sa vyskytuje u žien ako u mužov, pričom veľkú úlohu hrá klimaktérium, počas ktorého ženy prechádzajú hormonálnymi zmenami a ich hladina estrogénov klesá. Nedostatok estrogénu má za následok zvýšené odbúravanie kostného tkaniva – rednutie kostí a zvýšené riziko fraktúr. Pričom hlavnou komplikáciu pri osteoporóze sú zlomeniny, ktoré sú spojené s vysokou morbiditou aj mortalitou [1, 2, 3].

Farmakoterapia patrí k základnej starostlivosti o osteoporotického pacienta. Terapia zahŕňa predovšetkým antiresorpčné (antikatabolické) lieky, ktoré tlmia vznik, dozrievanie a aktivitu osteoklastov a lieky osteoanabolické, ktoré zvyšujú novotvorbu kostnej hmoty. Medzi antiresorpčné lieky patrí aj ibandronát zo skupiny bisfosfonátov, ktoré sú v súčasnosti najpoužívanejšie a najúčinnejšie

antiresorpčné terapeutiká. Ibandronát sa viaže na minerálny povrch kosti a inhibuje osteoklasty, čím znižuje kostný obrat a zvyšuje kostnú hustotu [4, 5].

Osteoporóza sa zaraďuje medzi multifaktoriálne ochorenia, t.j. ochorenie zapríčiňuje spolupôsobenie genetických faktorov a faktorov prostredia. Vzťahom medzi genetickými predispozíciami a odpoveďou pacienta na liečbu sa zaoberá farmakogenetika, ktorá je významnou súčasťou štúdií patogenézy a liečby osteoporózy [6].

Polymorfizmus Bsp119I (BstBI; rs6254GA) sa nachádza v nekódujúcej oblasti na druhom intróne génu pre PTH. Pri tomto polymorfizme bola dokázaná asociácia s redukciou BMD u postmenopauzálnych žien [7]. Polymorfizmus DraII génu PTH vedie k substitúcii cytozínu za adenín na 3 exóne a bol označený za rizikový faktor nízkej hustoty kostnej hmoty u japonských dievčat [8]. Tieto pozitívne asociácie polymorfizmov PTH s hustotou kostnej hmoty potvrdzujú zaradenie génu pre PTH medzi kandidátske gény osteoporózy.

V našej práci sme sa zamerali na vplyv genetického polymorfizmu Bsp119I v géne pre parathormón na účinnosť liečby osteoporózy ibandronátom. Naše výsledky by mohli dopomôcť k účinnejšej personalizovanej liečbe osteoporotických pacientov na Slovensku.

1 Materiál a metodika

1.1 Analyzovaná populácia

Do našej štúdie bolo zaradených 74 postmenopauzálnych žien pochádzajúcich zo Slovenskej republiky vo veku od 44 do 78 (63,30 ± 0,87) rokov. Sledovaná skupina zahŕňala ženy s diagnostikovanou osteoporózou. Výber sa realizoval v spolupráci s Osteocentrom Nitra, špecializovanou nemocnicou sv. Svorada v Nitre a Súkromnou ortopedickou ambulanciou u Nitre v rámci základného diagnostického skríningu za prísnych inklúznych kritérií. Vylúčené boli pacientky so závažnými ochoreniami, predchádzajúcou anti-osteoporotickou liečbou, hormonálnou liečbou a obézne pacientky (BMI ≥ 30kg/m^2). Počas klinického výskumu boli rešpektované všetky vyžadované etické a právne normy [9].

1.2 Klinické parametre analyzovanej populácie

Pomocou dotazníka, ktorý preskúmal kvalifikovaný lekár, sa najskôr posudzovala rodinná a osobná anamnéza pacientiek, zisťoval sa vek, telesné proporcie, životospráva a informácie o iných diagnostikovaných ochoreniach. Zo získaných údajov sa následne vypočítala hodnota BMI ako hmotnosť v kilogramoch delená výškou v metroch na druhú.

Sledované ukazovatele spojené s osteoporózou boli získané zo zdravotnej dokumentácie, ktorá bola poskytnutá praktickým lekárom a anonymizovaná. Patria sem:

- BMD – hustota kostnej hmoty v oblasti krčka stehnovej kosti (F-BMD) a driekových stavcov chrbtice (L-BMD) pomocou denzitometrického merania (HOLOGIC Discovery DXA).

Biochemické markery kostnej remodelácie:

- kostný izoenzým alkalickej fosfatázy (bALP; µkat/l) - stanovený imunoenzymatickým testom (Beckman Coulter Access Ostase assay, Beckman Coulter),
- marker osteoformácie - sérový osteokalcín (OC; µg/l) - meraný elektrochemiluminiscenčným imunotestom cobas e411 (Roche Diagnostics),
- marker osteoresorpcie - sérový beta CrossLaps (CTx; ng/l) - meraný elektrochemiluminiscenčným imunotestom cobas e411 (Roche Diagnostics),
- koncentrácie vápnika (Ca) a fosfátov (P) v sére (mmol/l) – pomocou fotometrického testu systémom cobas c311 (Roche Diagnostics) [9].

1.3 Farmakogenetická analýza

Analýza genetických polymorfizmov bola uskutočnená v laboratóriu molekulárnej biológie FPVaI UKF v Nitre. DNA bola izolovaná z krvi, odobratá do roztoku EDTA. Následne, jednotlivé genotypy PTH/Bsp119I polymorfizmu boli detegované pomocou metódy PCR-RFLP [10].

Farmakogenetická analýza zahŕňala údaje osteoporotických a osteopenických pacientiek (N = 74) s anti-osteoporotickou terapiou, ktorá trvala 48 mesiacov. Všetky sledované ukazovatele a markery kostnej remodelácie boli merané pred aj po liečbe. Liečbu stanovil ošetrujúci lekár - podávaný ibandronát v dávke 150 mg/mesiac v tablete.

Všetky pacientky dostávali počas celej terapie aj suplementačnú dávku kalcia (1000 mg/deň) a vitamínu D (800 IU/deň) [10].

1.4 Štatistická analýza

Vplyv PTH/Bsp119I polymorfizmu na zmenu hodnotených klinických parametrov BMD, sérového vápnika a fosfátu, ALP, OC a CTx bol hodnotený variančnou analýzou pre opakované merania pomocou GLM (General Linear Model). Hodnotená BMD pred a po liečbe tu predstavovala závislú premennú od opakovania a jednotlivé genotypy boli fixné efekty. Korekcie pre viacnásobné testovanie genotypových účinkov boli vykonané Bonferroniho korekciou. Štatistická analýza sa uskutočnila softvérom IBM SPSS verzie 28.010 (IBM, New York, USA) [10].

2 Výsledky a diskusia

Nami analyzovaný súbor zahŕňal 74 postmenopauzálnych žien liečených ibandronátom. Základná charakteristika analyzovaného súboru je uvedená v tabuľke 1. V rámci farmakogenetickej analýzy bol analyzovaný vplyv jednotlivých genotypov na zmenu ukazovateľov pred a po liečbe, pričom dĺžka zvolenej terapie predstavovala 48 mesiacov.

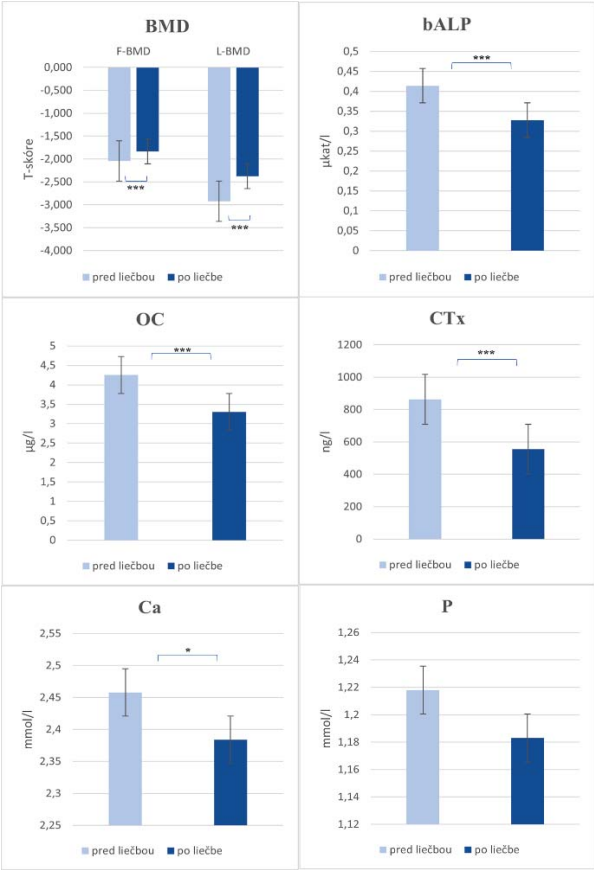
Tabuľka 1. Základná charakteristika analyzovaného súboru.

Ukazovateľ	Súbor žien liečených ibandronátom
vek	63,30 ± 0,873
BMI	28,16 ± 0,155
F-BMD	-2,03 ± 0,057
L-BMD	-2,91 ± 0,043
bALP	0,42 ± 0,049
OC	4,24 ± 0,109
CTx	853,62 ± 24,894
Ca	2,45 ± 0,023
P	1,21 ± 0,019

Hodnoty sú uvedené ako priemer ± štandardná chyba priemeru. BMI – body mass index; F-BMD – BMD krčka femuru; L-BMD – BMD lumbálnych stavcov (T-skóre); bALP – kostný izoenzým alkalickej fosfatázy (µkat/l); OC – osteokalcín (µg/l); CTx – beta-CrossLaps (ng/l); Ca – hladina vápnika v sére (mmol/l); P – hladina fosfátov v sére (mmol/l).

2.1 Účinok anti-osteoporotickej terapie

Zmeny hodnôt ukazovateľov osteoporózy pred a po liečbe sú zhrnuté v grafe 1. Pri sledovaní jednotlivých parametrov bez ohľadu na analyzovaný polymorfizmus, sme zistili, že terapia ibandronátom má po 4 rokoch liečby pozitívny efekt na sledované parametre osteoporózy. Zaznamenali sme signifikantné zvýšenie hodnôt T-skóre pri F-BMD aj L-BMD ako i pokles hodnôt všetkých sledovaných biochemických markerov – bALP, OC, CTx, Ca ($P < 0,001$ a $P < 0,05$) a P. Z vyššie uvedenej skutočnosti vyplýva, že antiresorpčná liečba ibandronátom je dôležitým nástrojom na zníženie rizikových parametrov osteoporózy.



Graf 1. Účinok terapie ibandronátom na ukazovatele osteoporózy. Hodnota P je zobrazená ako *, pričom *P ≤ 0,05; **P ≤ 0,01; ***P ≤ 0,001.

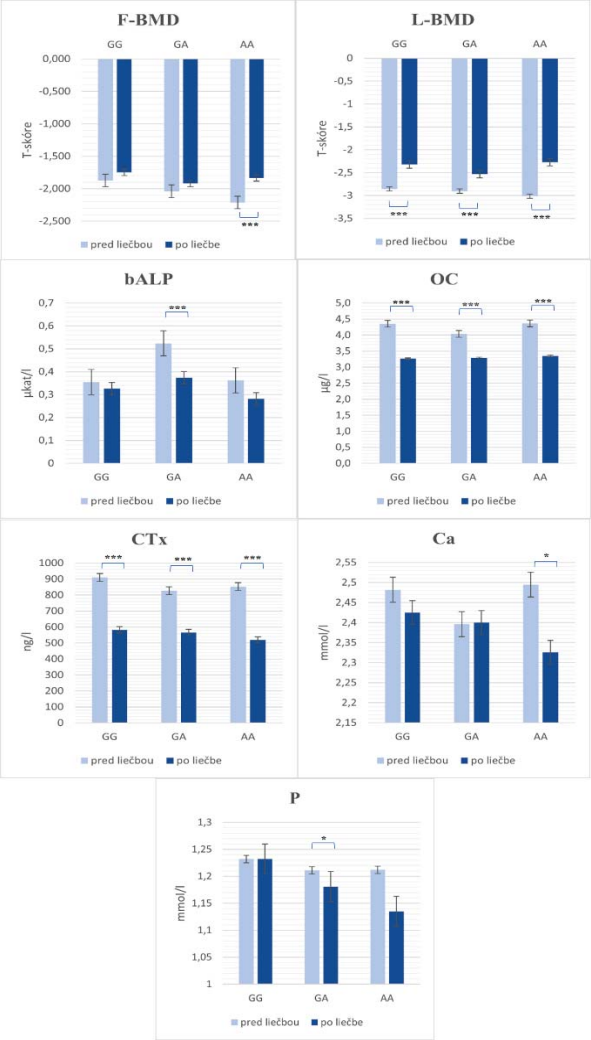
2.2 Vplyv polymorfizmu PTH/Bsp119I na účinok liečby ibandronátom

Liečbu ibandronátom trvajúcu 48 mesiacov podstúpilo 74 pacientiek s diagnostikovanou osteoporózou. Vplyv liečby ibandronátom na zmenu sledovaných ukazovateľov osteoporózy v rámci jednotlivých PTH/Bsp119I genotypov je zobrazený v grafe 2.

Po liečbe sme zaznamenali významne vyššie hodnoty T-skóre a znížené hladiny markerov kostného obratu. Najlepšie na liečbu reagovali pacientky

s genotypmi GG a AA, u ktorých sme pozorovali signifikantný pokles hodnôt osteoformačných markerov (bALP, OC), osteoresorpčného markera CTx ako i hladín sérového Ca a P. Signifikantné zlepšenie BMD (F-BMD, L-BMD) sa najvýraznejšie prejavilo u žien s genotypom AA (P < 0,001).

Farmakogenetická analýza ukázala, že terapia ibandronátom bola úspešná, nakoľko došlo k zlepšeniu všetkých ukazovateľov osteoporózy. Avšak pri analyzovaní rozdielov medzi genotypmi v rámci Bsp119I polymorfizmu sme nezaznamenali signifikantné rozdiely v sledovaných parametroch po terapií ibandronátom. Uvedená skutočnosť naznačuje, že BspB119I polymorfizmus v PTH géne významne neovplyvňuje účinnosť liečby ibandronátom.



Graf 2. Vplyv liečby ibandronátom na zmenu sledovaných ukazovateľov OP v rámci jednotlivých PTH/Bsp119I genotypov. Hodnota P je zobrazená ako *, pričom *P ≤ 0,05; **P ≤ 0,01; ***P ≤ 0,001.

Terapia ibandronátom u 74 pacientiek s osteoporózou nepriniesla štatisticky významné rozdiely medzi genotypmi. Môžeme však konštatovať, že celkový efekt terapie po 4 rokoch bol pozitívny, nakoľko došlo k signifikantným zníženiam hodnôt bALP, OC, CTx aj sCa a signifikantným zvýšeniam hodnôt T-skóre pri F-BMD a L-BMD. Podľa Hou et al. [11] liečba ibandronátom signifikantne zlepšila kostnú minerálnu hustotu lumbálnej chrbtice (P < 0,001). Podávanie ibandronátu tiež signifikantne znížilo sérové markery kostnej resorpcie CTx a bALP (P < 0,001) a to bez ohľadu nato, či bol podávaný perorálne alebo intravenózne. Ma et al. [12] dokázali, že liečba ibandronátom sa ukazuje ako účinnejšia pri závažnejších stavoch a pri dlhšom trvaní. Najmä dlhšie trvanie liečby od 1 do 5 rokov, zvyšujúci sa vek, nižšie východiskové T-skóre, nižšia telesná hmotnosť a vyššie východiskové hladiny CTx a bALP v sére predpovedali lepšiu účinnosť ibandronátu. Výskum Chiu et al. [13] dospel k záveru, že medzi-etnické rozdiely vo farmakokinetike liečiva, v tomto prípade perorálneho ibandronátu pri osteoporóze, môžu hrať dôležitú úlohu.

Farmakogenetická analýza nepotvrdila vplyvy genotypov polymorfizmu BspB119I v PTH géne na účinnosť liečby ibandronátom (tabuľka 2). Mondočková et al. [14] sledovali vplyv polymorfizmov v géne pre estrogénový receptor (ESR1) na hormonálnu terapiu a terapiu raloxifénom, pričom dokázali významné rozdiely v účinnosti liečby medzi jednotlivými genotypmi pri hodnotách BMD. Pacientky s genotypom GG rs9340799 polymorfizmu mali významne lepšiu odpoveď na terapiu ako pacientky s genotypom AA. Genotyp AA na terapiu reagoval slabšie aj v porovnaní s genotypom GA. Podobne v populácii slovenských postmenopauzálnych žien s diagnostikovanou osteoporózou, boli sledované polymorfizmy v géne pre receptor vitamínu D (VDR), kde bol zistený vplyv na liečbu ibandronátom a raloxifénom. Genotypy ApaI/aa, TaqI/TT a BsmI/bb vykazovali slabšiu alebo žiadnu odpoveď na liečbu ibandronátom pri femorálnej a spinálnej BMD. Vplyv vyššie uvedených polymorfizmov na markery obratu bol tiež závislý od genotypu. Naopak, iba polymorfizmy TaqI a BsmI ovplyvnili terapiu raloxifénom, aj to len pri BMD driekovej chrbtice. Tieto výsledky poukazujú na potenciál využitia génu VDR v personalizovanej farmakoterapii osteoporózy [15].

Našu analýzu môžeme považovať za prvotnú v rámci analýzy slovenských postmenopauzálnych žien s diagnostikovanou osteoporózou, avšak má určité limitácie. Veľkosť vzorky môže obmedzovať štatistickú

silu, a preto výsledky by sa mali potvrdiť vo väčších kohortách pacientov. Okrem iného je pravdepodobné, že okrem analyzovaného polymorfizmu, na ktorý sa poukazuje v tejto štúdii, niektoré ďalšie polymorfizmy či gény môžu ovplyvňovať odpoveď na antiresorpčné lieky. Navyše, nevieme, či niektorý z týchto alelických variantov nesúvisí skôr s odpoveďou na iné antiresorpčné terapeutiká.

Záver

Terapia ibandronátom bola úspešná a je dôležitým nástrojom pri znižovaní rizikových parametrov osteoporózy. V rámci farmakogenetickej analýzy sme zistili, že polymorfizmus PTH/BspB119I neovplyvňuje účinnosť anti-osteoporotickej terapie ibandronátom.

Hľadanie farmakogenetických asociácií má význam a potenciál využitia v personalizovanej farmakoterapií osteoporózy. Naša práca priniesla prvotné farmakogenetické výsledky, ktoré môžu byť odrazovým mostíkom pre ďalšie výskumy v tejto oblasti. Výsledky farmakogenetických analýz môžu tak prispieť k zlepšeniu individuálnej starostlivosti o osteoporotického pacienta. Tiež môžu byť podnetom pre nové výskumy podobného zamerania.

Poďakovanie

Moje poďakovanie patrí školiteľke práce doc. RNDr. Vladimíre Mondočkovej, PhD. za jej ochotu a cenné rady pri písaní.
Tento výskum bol uskutočnený s podporou projektu Ministerstva školstva, vedy, výskumu a športu Slovenskej republiky (KEGA 034UKF-4/2022).

Použitá literatúra

[1] NATIONAL INSTITUTE ON AGING (NIA). Osteoporosis [online]. NIA: 2022. [cit. 2023-03-07]. Dostupné z: https://www.nia.nih.gov/health/osteoporosis#:~:text=Osteoporosis%20weakens%20bones%20to%20the,are%20made%20of%20living%20tissue.

[2] FÖGER-SAMWALD, Ursula et al. 2020 Osteoporosis: Pathophysiology and therapeutic options. In EXCLI journal, vol. 19, pp. 1017-1037. ISSN 1611-2156.

[3] KUŽMA, Martin et al. 2018. Vyšetrovacie metódy v osteológií. Bratislava : Univerzita Komenského v Bratislave. 92s. ISBN 978-80-223-4520-0

[4] NUTI, Ranuccio et al. 2019. Guidelines for the management of osteoporosis and fragility fractures. In Internal and Emergency Medicine, vol. 14, issue 1, pp. 85-102. ISSN 1970-9366.

[5] ROSA, Jan - PALIČKA, Vladimír - BÝMA, Svatopluk. 2018. Osteoporóza: doporučené diagnostické a terapeutické postupy pro všeobecné praktické lékaře. Praha: Společnost všeobecného lékařství ČLS JEP. 12s. ISBN 978-80-86998-98-5

[6] NGUYEN, Tuan – EISMAN, John. 2018. Genetics of Bone Biology and Skeletal Disease. Chapter 9: Pharmacogenetics and Pharmacogenomics of Osteoporosis: Personalized Medicine Outlook. Second Edition. Academic Press. Elviser Science. 878pp. ISBN 978-0-12-804182-6

[7] LAAKSONEN, Marika. 2008. Associations of gene polymorphisms and nutrition with calcium homeostasis and bone mineral density. Academic disertation. Faculty of Agriculture and Forestry of the University of Helsinki. 116pp. ISBN 978-952-10-4924-8

[8] KATSUMATA, Kiyoe et al. 2002. Association of gene polymorphisms and bone density in Japanese girl. In Journal of Bone and Mineral Metabolism, vol. 20, pp. 164-169. ISSN 1435-5604.

[9] MONDOČKOVÁ, Vladimíra. 2021. Asociačná a farmakogenetická analýza genetických polymorfizmov vo vzťahu k osteoporotickým ukazovateľom : Habilitačná práca. Nitra : UKF, 138s.

[10] KRAJČOVIČOVÁ, Vladimíra et al. 2014. Vplyv genetickej variability na ukazovatele osteoporózy. Nitra: FPV UKF v Nitre. 151s. ISBN 978-80-558-0670-9.

[11] HOU, Yanjie et al. 2015. Dose-Effectiveness Relationships Determining the Efficacy of Ibandronate for Management of Osteoporosis. In Medicine (Baltimore), vol. 94, issue 26, e. 1007. ISSN 1536-5964.

[12] MA, Zeren. 2016. Predictors of Ibandronate Efficacy for the Management of Osteoporosis: A Meta-Regression Analysis. In Plos One, vol. 11, issue 3, article 0150203. ISSN 1932-6203.

[13] CHIU, Wei-You et al. 2019. Racial difference in bioavailability of oral ibandronate between Caucasian and Taiwanese postmenopausal women. In Osteoporosis International, vol. 31, pp. 193-201. ISSN 1433-2965.

[14] MONDOČKOVÁ, Vladimíra et al. 2018. The estrogen receptor 1 gene affects bone mineral density and osteoporosis treatment efficiency in Slovak postmenopausal women. In BMC Medical Genetics, vol. 19, no. 174. ISSN 1471-2350.

[15] MONDOČKOVÁ, Vladimíra et al. 2023. Vitamin D Receptor Gene Polymorphisms Affect Osteoporosis-Related Traits and Response to Antiresorptive Therapy. In Genes (Basel), vol. 14, issue 1, no. 193. ISSN 2073-4425.

Tabuľka 2. Vplyv genotypov PTH/Bsp119I na zmenu ukazovateľov OP po terapií ibandronátom.

Sledované ukazovatele	Genotypy	Rozdiel	SE	Sig. P hodnota
F-BMD	GG-GA	0,1691	0,11814	0,331
	GG-AA	0,2127	0,13634	0,270
	GA-AA	0,0435	0,12940	0,331
L-BMD	GG-GA	0,1292	0,12070	0,536
	GG-AA	0,0520	0,13930	0,926
	GA-AA	-0,0772	0,13221	0,829
bALP	GG-GA	-0,1082	0,9597	0,501
	GG-AA	0,0190	0,11076	0,984
	GA-AA	0,1272	0,10512	0,452
OC	GG-GA	0,1455	0,21861	0,784
	GG-AA	-0,0465	0,25229	0,981
	GA-AA	-0,1920	0,23946	0,703
CTx	GG-GA	49,6623	50,72562	0,593
	GG-AA	60,4309	58,54039	0,559
	GA-AA	10,7686	55,56199	0,980
Ca	GG-GA	0,0555	0,03970	0,349
	GG-AA	0,0426	0,04582	0,624
	GA-AA	-0,0129	0,04349	0,953
P	GG-GA	0,0357	0,03395	0,547
	GG-AA	0,0579	0,03918	0,308
	GA-AA	0,0222	0,03718	0,823

F-BMD – BMD krčka femuru; L-BMD – BMD lumbálnych stavcov (T-skóre); bALP – kostný izoenzým alkalickej fosfatázy (µkat/l); OC – osteokalcín (µg/l); CTx – beta-CrossLaps (ng/l); Ca – hladina sérového vápnika (mmol/l); P – hladina fosfátov v sére (mmol/l); Rozdiel – rozdiel medzi genotypmi pred a po liečbe; SE – štandardná chyba priemeru; Sig. – P hodnota, určujúca významnosť párových porovnaní.

Vplyv kultivačných podmienok na produkciu polyhydroxybutyrátu baktériami druhu *Cupriavidus necator*

The effect of cultivation conditions on polyhydroxybutyrate production by *Cupriavidus necator*

Ľubomíra Jurečková[1] – Daniela Chmelová[2] - Miroslav Ondrejovič[3]
Školiteľ: Miroslav Ondrejovič[3]
[1,2,3]Katedra biotechnológií, FPV UCM v Trnave, Nám. J. Herdu 2, 917 01 Trnava,
[1]jureckova1@ucm.sk, [2]daniela.chmelova@ucm.sk, [3]miroslav.ondrejovic@ucm.sk

Abstrakt

Cieľom tejto práce bolo hodnotenie vplyvu vybraných kultivačných podmienok na rast *C. necator* a akumuláciu polyhydroxybutyrátu (PHB) v produkčných bunkách. V prvej časti sme sa zamerali na optimalizáciu zloženia kultivačného média využívaného na kultiváciu baktérií druhu *C. necator* pomocou Plackett-Burmanovej metódy. Zistili sme, že na rast producenta a produkciu PHB má spomedzi zložiek kultivačného média najväčší vplyv absencia makroelementov $Na_2HPO_4.12\ H_2O$, síranu amónneho a glukózy. Pri výbere hraníc optimalizácie sme sa zamerali na hodnotenie vplyvu koncentrácie zdroja uhlíka (glukózy), zdroja dusíka (síran amónny), koncentrácie fosfátov, ako aj na výber vhodnej hodnoty pH. Na základe našich výsledkov sme stanovili pre glukózu koncentračný rozsah 20 – 40 g/l, pre síran amónny 0,75 – 1,50 g/l a pre koncentráciu fosfátov 22 – 88 mmol/l. Na základe dosiahnutých výsledkov je takisto zjavné, že pre rast baktérií druhu *C. necator* je vhodné mierne alkalické pH.

Kľúčové slová: bioplasty, *Cupriavidus necator*, polyhydroxybutyrát

Abstract

The aim of this study was evaluation of the influence of cultivation conditions on the growth of *C. necator* and their accumulation of PHB. Firstly, we focused on optimizing the composition of the medium, used for the cultivation of *C. necator*, by Plackett-Burman method. The absence of the macroelements $Na_2HPO_4.12\ H_2O$, ammonium sulphate and glucose has the greatest impact on the growth of the producer and the production of PHB. Then we focused on the search of optimization limits. We evaluated the influence of the concentration of glucose, ammonium sulphate and phosphates, as well as the selection of an appropriate pH value. Based on our results, we determined the concentration range of 20 – 40 g/l for glucose, 0.75 – 1.50 g/l for ammonium sulphate and 22 – 88 mmol/l for the concentration of phosphates. It is also obvious that the slightly alkaline pH value is suitable for growth of *C. necator*.

Key Words: bioplastics, *Cupriavidus necator*, polyhydroxybutyrate

Úvod

Syntetické plasty v súčasnosti predstavujú jednu z najviditeľnejších foriem znečistenia. Hlavnou príčinou je ich dlhodobá perzistencia v životnom prostredí, ktorá spôsobuje rôzne problémy negatívne ovplyvňujúce život človeka a iných živých organizmov. Táto skutočnosť je jedným z hlavných dôvodov, prečo sa súčasný výskum zameriava na hľadenie vhodných alternatív. Jednou z možných alternatív sú práve biologicky rozložiteľné polyhydroxyalkanoáty (PHA), medzi ktoré patrí aj PHB, vďaka svojim priaznivým technologickým a úžitkovým vlastnostiam.

Prekážkou však aj naďalej zostáva ich vysoká cena, ktorá vyplýva predovšetkým z ceny substrátu a izolačných a purifikačných krokov, preto sa výskum v tejto oblasti zameriava na zníženie nákladov na výrobu. Hlavné problémy predstavuje nízka intracelulárna akumulácia PHA a koncentrácia produkčných buniek v kultivačnom médiu, ako aj neefektívna utilizácia zdrojov používaných na výrobu.

Keďže prvým krokom k zušľachťovaniu tohto procesu je poznanie základných kultivačných podmienok, hlavným cieľom práce bolo zhodnotiť ich vplyv na rast *C. necator* a produkciu PHA.

1 Materiál a metódy

1.1 Produkčný organizmus

Bakteriálna kultúra *Cupriavidus necator* DSM 545 bola získaná z Nemeckej zbierky mikroorganizmov a bunkových kultúr GmbH (DSM, Nemecko). Baktérie

boli uchovávané na stužených MPA médiách s prídavkom 1% (w/v) agaru v Petriho miskách pri teplote 30℃, pričom každých 7 dní bola kultúra preočkovaná na nové médium.

1.2 Príprava produkčného média

Pri príprave produkčného média určeného na nárast biomasy producenta a sledovanie akumulácie PHA sme vychádzali zo zloženia minerálneho média, ktoré využil vo svojej experimentálnej práci Küng [1]. Makroelementy zastúpené v médiu boli: $Na_2HPO_4.12\ H_2O$ = 4,5 g/l (12,6 mmol/l), KH_2PO_4 = 1,5 g/l (11 mmol/l), $(NH_4)_2SO_4$ = 1,5 g/l, $MgSO_4.7\ H_2O$ = 0,2 g/l, $CaCl_2$ = 0,02 g/l, $NH_4Fe(III)$ citronan = 0,05 g/l. Roztok stopových prvkov ($ZnSO_4.7\ H_2O$ = 0,1 g/l, H_3BO_3 = 0,3 g/l, $CoSO_4.7\ H_2O$ = 0,2 g/l, $CuSO_4.5\ H_2O$ = 0,006 g/l, $NiCl_2.6\ H_2O$ = 0,02 g/l, $Na_2MoO_4.2\ H_2O$ = 0,03 g/l, $MnCl_2.4\ H_2O$ = 0,025 g/l) bol do minerálneho média pridávaný v objeme 1 ml na 1 l média. Ako zdroj uhlíka bola do minerálneho média pridaná glukóza v koncentrácii 10 g/l.

Pripravené kultivačné médiá boli sterilizované v autokláve 20 minút pri teplote 121℃, pričom zdroj uhlíka sa vždy sterilizoval oddelene a k ostatným zložkám média sa pridával až po sterilizácii. Po ochladení a pridaní glukózy sa minerálne média očkovali 500 µl suspenzie bakteriálnej kultúry *C. necator*, pripravenej rozmiešaním 3 mikrobiologických očiek biomasy v 10 ml sterilnej destilovanej vody, čím sme získali roztok s optickou hustotou 4,3 – 4,6 McFarlandových jednotiek (*z angl.* McFarland unit - MFU). Kultivácia baktérií prebiehala v 30 ml produkčného média počas 7 dní pri teplote 30℃ dynamickým spôsobom. Každý experiment sa realizoval v troch paralelných pokusoch.

1.3 Optimalizácia podľa Plackett-Burmana

V rámci optimalizácie podľa Plackett-Burmanovej metódy sme médium uvedené v Kapitole 1.2 rozdelili na 8 roztokov (Tabuľka 1), ktoré sme v rámci optimalizácie postupne eliminovali v jednotlivých experimentoch, čím sme dosiahli experimentálnu sadu 9 kultivačných médií, v rámci ktorých bolo jedno médium kompletné a ostatné boli vždy ochudobnené o jednu zo zložiek. Výsledok fermentácie bol hodnotený na základe výťažku biomasy *C. necator* a akumulovaného PHA (Kapitola 1.5).

1.4 Vplyv vybraných parametrov na kultiváciu *C. necator*

Vybrané faktory z Plackett-Burmanovej metódy boli hodnotené aj z pohľadu ich koncentračného vplyvu na výsledok fermentácie *C. necator*. Konkrétne sme preskúmali vplyv glukózy (2,5, 5, 10, 20 a 40 g/l), síranu amónneho (0,375, 0,75, 1,5, 3 a 6 g/l), fosfátov (5,5, 11, 22, 44 a 88 mmol/l) a pH (5,5; 6,5; 7; 7,5 a 8). Výsledok fermentácie bol hodnotený na základe výťažku biomasy *C. necator* a akumulovaného PHA (Kapitola 1.5).

1.5 Stanovenie výťažku biomasy *C. necator* a akumulovaného PHA

Po ukončení každej kultivácie boli médiá premiestnené do vopred odvážených centrifugačných skúmaviek s objemom 50 ml. Následne boli centrifugované pri 4000 rpm 20 minút. Po odstredení sme odstránili supernatant a mokrú biomasu sme následne sušili v teplovzdušnej sušiarni pri teplote 50℃ do konštantnej hmotnosti. Po ukončení sušenia sme sušinu odvážili na analytických váhach.

Suchú biomasu sme rozdrvili a pridali k nej chloroform v pomere 20 ml chloroformu na 1 g sušiny. Zmes sme následne umiestnili na orbitálnu miešačku a nechali miešať 24 hodín pri laboratórnej teplote, počas čoho dochádzalo k extrakcii PHA. Po 24 hodinách sme biomasu zachytili na filtračnom papieri. Z filtrátu sme odparili chloroform pomocou rotačnej vákuovej odparky vo vopred odvážených destilačných bankách, čím sme získali výsledný odparok, ktorý predstavoval hrubú frakciu PHA. Výťažok hrubého PHA sme následne gravimetricky zhodnotili pomocou analytických váh.

1.6 Štatistické vyhodnotenie výsledkov

Všetky výsledky sme spracovali a vyhodnotili pomocou programu Microsoft Excel 2019 (Microsoft Corporation, Redmont, WA, USA).

2 Výsledky a diskusia

2.1 Plackett-Burmanova metóda

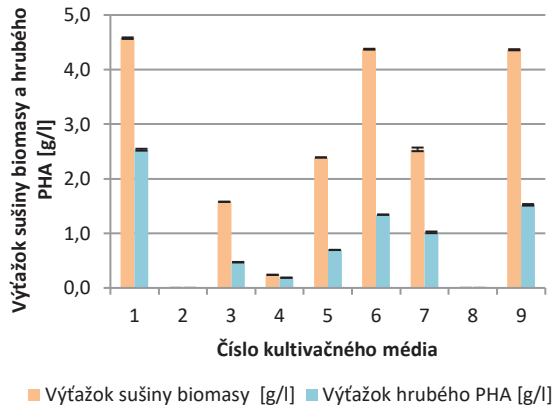
Na skríning zložiek kultivačného média esenciálnych pre kultiváciu *C. necator* sme použili Plackett-Burmanovu metódu, ktorá je založená na realizácii experimentu (v našom prípade kultivácia baktérií *C. necator*) pri absencii jednej z hodnotených zložiek reakčného prostredia (kultivačného média) (Tabuľka 1). Závisle premenné (nárast biomasy, produkcia PHA) boli porovnávané voči kontrole,

ktorou bolo médium (kultivačné médium č. 1) obsahujúce všetky hodnotené zložky.

Tabuľka 1: Prehľad zloženia jednotlivých kultivačných médií použitých na hodnotenie prítomnosti zložiek minerálneho média esenciálnych pre rast *C. necator* pomocou Plackett-Burmanovej metódy.
Zdroj: Autori

Zloženie minerálneho média	Číslo kultivačného média								
	1	2	3	4	5	6	7	8	9
$Na_2HPO_4.12\ H_2O$	+	-	+	+	+	+	+	+	+
KH_2PO_4	+	+	-	+	+	+	+	+	+
$(NH_4)_2SO_4$	+	+	+	-	+	+	+	+	+
$MgSO_4.7\ H_2O$	+	+	+	+	-	+	+	+	+
$CaCl_2$	+	+	+	+	+	-	+	+	+
$NH_4Fe(III)$ citronan	+	+	+	+	+	+	-	+	+
Glukóza	+	+	+	+	+	+	+	-	+
Stopové prvky	+	+	+	+	+	+	+	+	-

Zníženie nárastu biomasy v porovnaní s kontrolnou vzorkou poukazuje na nevyhnutnosť danej minerálnej zložky pre rast produkčného organizmu (Graf 1). Na základe našich výsledkov je zrejmé, že rast produkčného organizmu a produkcia PHA boli najviac negatívne ovplyvnené absenciou makroelementov $Na_2HPO_4.12\ H_2O$, síranu amónneho a glukózy. V prípade absencie $Na_2HPO_4.12\ H_2O$ a glukózy v minerálnom médiu sme zaznamenali len minimálny nárast biomasy a v prípade neprítomnosti síranu amónneho bol rast veľmi nízky, pričom výťažok sušiny biomasy sa pohyboval v rozmedzí 0,16 – 0,24 g/l.



Graf 1: Výťažok sušiny biomasy a hrubej frakcie PHA získané po kultivácii baktérie *C. necator* v jednotlivých kultivačných médiách, ktorých zloženie je uvedené v Tabuľke 1.
Zdroj: Autori

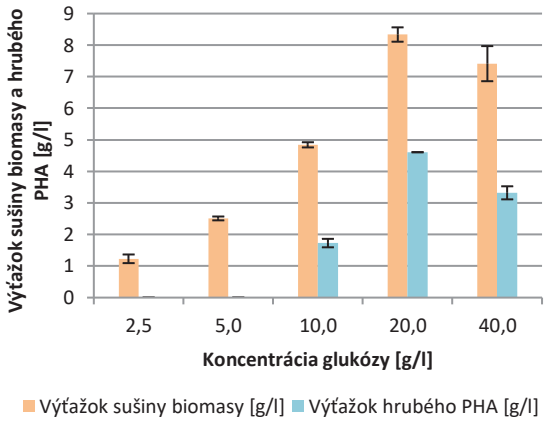
Najmenší dopad na rast producenta mala absencia $CaCl_2$ a roztoku stopových prvkov. V oboch prípadoch bola hmotnosť sušiny porovnateľná s hmotnosťou sušiny získanej z kontrolnej vzorky.

Na dôležitosť prítomnosti fosfátov ($Na_2HPO_4.12\ H_2O$ a KH_2PO_4), ktoré okrem zdroja fosforu spoločne determinujú aj pH prostredia, a glukózy ako zdroja uhlíka v kultivačnom médiu poukázali vo svojej experimentálnej práci aj Khanna a Srivastava [2].

2.2 Vplyv koncentrácie zdroja uhlíku

Zdroj uhlíka predstavuje jednu zo základných súčastí kultivačného média, ktorá je kľúčová pre rast producenta a produkciu PHA. V našom experimente sme zvolili koncentráciu uhlíka v rozmedzí 2,5 – 40 g/l. Na kultiváciu sme využili minerálne médium pripravené podľa výsledkov popísaných v predchádzajúcej kapitole, na základe ktorých je zjavné, že pre kultiváciu *C. necator* nie je potrebné používať tak $CaCl_2$, ako aj roztok stopových prvkov.

Výsledky experimentu sme hodnotili pomocou výťažku sušiny biomasy a výťažku hrubého PHA (Kapitola 1.5). Najvyššiu produktivitu biomasy a PHA sme dosiahli pri kultivačných médiách obsahujúcich glukózu v koncentrácii 20 g/l (Graf 2). Výťažok sušiny biomasy bol v tomto prípade 8,47 g/l. Na základe našich výsledkov môžeme potvrdiť, že koncentrácia glukózy vhodná pre rast *C. necator* v kultivačnom médiu je približne 20 g/l, pričom koncentrácia 40 g/l už spôsobuje zníženie výťažku biomasy.



Graf 2: Vplyv východiskovej koncentrácie glukózy v kultivačnom médiu na výťažok sušiny *C. necator* a hrubej frakcie PHA získanej po ukončení kultivácie.
Zdroj: Autori

Koncentrácie glukózy nižšie ako 20 g/l spôsobili zníženie výťažkov biomasy ekvivalentné zníženiu koncentrácie glukózy, pričom v kultivačnom médiu s koncentráciou glukózy 2,5 g/l sme dosiahli najnižší výťažok biomasy a PHA sa v tomto prípade neprodukovalo vôbec.

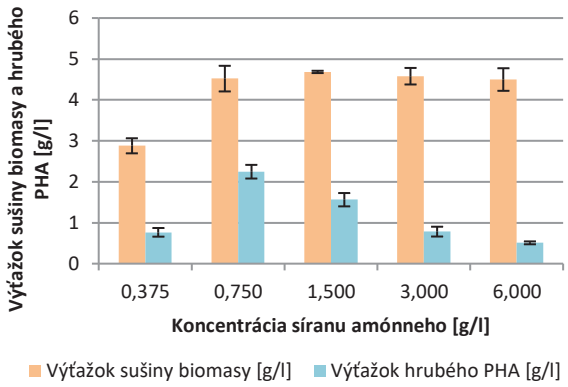
Na základe výsledkov nášho experimentu môžeme považovať za vhodný koncentračný rozsah pre glukózu 10 – 20 g/l, čo je porovnateľné s výsledkami v dostupnej literatúre. Khanna a Srivastava [2] vo svojej práci získali najvyššie výťažky biomasy pri koncentrácii uhlíka v rozmedzí 10 – 20 g/l.

2.3 Vplyv koncentrácie dusíka

Ďalším dôležitým faktorom vplývajúcim na produkciu PHA je koncentrácia dusíka v minerálnom médiu. V našom experimente sme zvolili koncentráciu síranu amónneho v koncentračnom rozmedzí 0,375 – 6 g/l, pričom ostatné zložky boli v rovnakej koncentrácii ako v predchádzajúcom experimente.

Výsledky experimentu sme hodnotili pomocou výťažku sušiny biomasy a výťažku hrubého PHA (Kapitola 1.5). Najnižší výťažok biomasy bol pozorovaný pri koncentrácii síranu amónneho 0,375 g/l. Najvyššiu produktivitu biomasy sme dosiahli v kultivačných médiách obsahujúcich síran amónny v koncentrácii 0,75 – 1,5 g/l (Graf 3). Priemerný výťažok sušiny biomasy bol v tomto prípade 4,57 g/l. Na základe našich výsledkov môžeme tvrdiť, že sa koncentrácia zdroja dusíka (v našom prípade síran amónny) vhodná pre rast baktérií druhu *C. necator* v kultivačnom médiu pohybuje v rozmedzí 0,75 – 1,5 g/l, keďže pri 3 a 6 g/l sme získali porovnateľné výťažky biomasy ako pri nižších koncentráciách. Najvyššie výťažky hrubého PHA sme získali pri koncentrácii síranu amónneho 0,75 g/l. Nižšie výťažky hrubého PHA boli pozorovateľné nielen pri koncentrácii síranu amónneho 0,375 g/l, ale aj pri koncentráciách 3 a 6 g/l.

Na základe výsledkov nášho experimentu môžeme považovať za koncentráciu síranu amónneho vhodnú pre kultiváciu *C. necator* hodnotu 0,75 až 1,5 g/l, čo je porovnateľné aj s výsledkami uvádzanými v odbornej literatúre. V nej prezentované výsledky potvrdzujú, že koncentrácia dusíka 1 g/l je používaná pre produkciu PHA daným druhom baktérií. Zvýšenie, ale aj zníženie koncentrácie dusíkového zdroja spravidla nebolo prospešné pre výslednú produkciu PHA nakoľko zdroj dusíka je jedným z limitujúcich faktorov produkcie PHA [3].



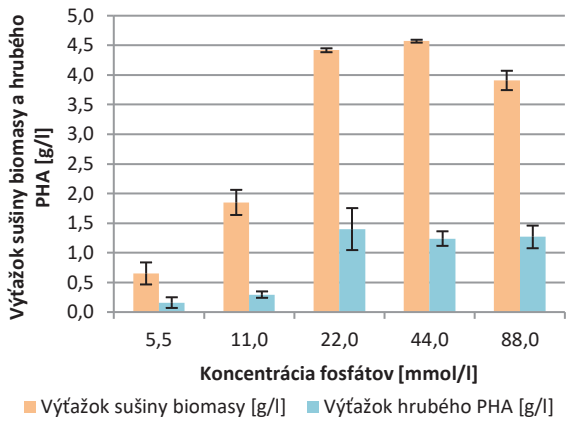
Graf 3: Vplyv východiskovej koncentrácie síranu amónneho prítomného v médiu na výťažok sušiny *C. necator* a hrubej frakcie PHA získanej po ukončení kultivácie.
Zdroj: Autori

2.4 Vplyv koncentrácie zdroja fosforu

Pri kultivácii *C. necator* zohráva dôležitú úlohu aj koncentrácia fosfátov prítomných v kultivačnom médiu, ako to vyplýva aj z našich predchádzajúcich zistení. V našom experimente sme sa zamerali na hodnotenie vplyvu tohto faktoru pri koncentráciách fosfátov 5,5, 11, 22, 44 a 88 mmol/l, pričom ostatné zložky boli v rovnakej koncentrácii ako pri prvom experimente hľadania hraníc optimalizácie produkcie PHA baktériami druhu *C. necator*.

Po ukončení kultivácie sme výsledky experimentu hodnotili pomocou výťažku sušiny biomasy a výťažku hrubého PHA (Kapitola 1.5). Najnižší výťažok biomasy a hrubého PHA bol pozorovaný pri koncentrácii fosfátov 5,5 mmol/l (Graf 4). V kultivačných médiách s koncentráciou 11 mmol/l bol výťažok biomasy a hrubého PHA stále nižší v porovnaní s kultivačnými médiami s koncentráciami v rozsahu 22 – 88 mmol/l, v prípade ktorých bol výťažok biomasy a výťažok hrubého PHA porovnateľný. V týchto kultivačných médiách priemerný výťažok sušiny biomasy dosahoval hodnotu až 4,59 g/l. Na základe našich výsledkov je zjavné, že pre rast *C. necator* je vhodná koncentrácia 22 mmol/l fosfátov v kultivačnom médiu, keďže pri 44 a 88 mmol/l bola hmotnosť sušiny porovnateľná.

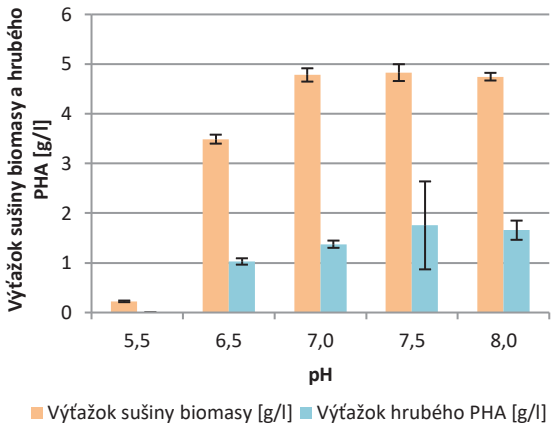
Výsledky nášho experimentu môžeme porovnať s výsledkami v dostupnej literatúre, v ktorej boli pri kultivácii *C. necator* využité minerálne médiá s koncentráciou fosfátov pohybujúcou sa v rozsahu 36 – 49 mmol/l [4-6].



Graf 4: Vplyv východiskovej koncentrácie fosfátov v kultivačnom médiu na výťažok sušiny *C. necator* a hrubej frakcie PHA získanej po ukončení kultivácie.
Zdroj: Autori

2.5 Vplyv pH

Fosforečnany KH_2PO_4 a $Na_2HPO_4.12\ H_2O$ prítomné v kultivačnom médiu vytvárajú spoločne tlmivý roztok, ktorý determinuje hodnotu pH kultivačného média. Zmenou koncentrácie jednej z týchto zložiek sa zmení hodnota pH, ktorá ovplyvňuje tak rast baktérií druhu *C. necator* ako aj akumuláciu PHA v ich bunkách. V našom experimente sme sa zamerali na hodnotenie vybraných závisle premenných pri pH 5,5, 6,5, 7,0, 7,5 a 8,0. Ostatné zložky média boli v rovnakej koncentrácii ako pri prvom experimente.



Graf 5: Vplyv hodnoty pH v minerálnom médiu na výťažok sušiny *C. necator* a hrubej frakcie PHA získanej po ukončení kultivácie.
Zdroj: Autori

Ako je vidieť na Grafe 5 najvyššiu produkciu biomasy a zároveň aj najvyššiu akumuláciu PHA sme dosiahli pri kultivačných médiách s mierne alkalickým pH, kde priemerný výťažok sušiny biomasy bol 4,98 g/l. Na základe našich výsledkov je zjavné, že pre rast baktérií druhu *C. necator* je vhodnejšie mierne alkalické pH, čo korešponduje aj s pôvodným označením rodu daných baktérií *Alcaligenes*. Nižšie výťažky biomasy a hrubého PHA boli pozorovateľné už pri pH 6,5, pričom kultivačné médium s pH 5,5 malo najnižšiu výťažnosť a nedochádzalo ani k produkcii PHA.

Výsledky nášho experimentu sú porovnateľné s výsledkami v odbornej literatúre. Väčšina autorov vo svojich vedeckých prácach využíva pri kultivácii baktérií *C. necator* hodnoty pH v rozmedzí 6,5 – 7,5 [2,3].

Záver

Na rast produkčného organizmu a produkciu PHA má spomedzi zložiek kultivačného média najväčší vplyv absencia makroelementov $Na_2HPO_4.12\ H_2O$, síranu amónneho a glukózy. Najmenší vplyv mala absencia $CaCl_2$ a roztoku stopových prvkov. Pre kultiváciu baktérií druhu *C. necator* je vhodné mierne alkalické pH. Na základe našich výsledkov sme stanovili pre glukózu koncentračný rozsah 20 – 40 g/l. V prípade síranu amónneho je to koncentračné rozmedzie 0,75 až 1,5 g/l a pre koncentráciu fosfátov 22 - 88 mmol/l. Pri týchto koncentračných rozsahoch sme dosiahli najvyššiu produkciu biomasy a pozorovali sme aj najvyššie výťažky hrubého PHA.

Poďakovanie

Táto práca bola vypracovaná s podporou projektu APVV-18-0420 Biotechnologická príprava bioplastov na báze PHA s programovaným uvoľňovaním biopolyméru a možnosti jeho využitia.

Použitá literatúra

[1] KÜNG, Wen. 1982. Wachstum und poly-D-(-)-3-hydroxybuttersäure – akkumulation bei *Alcaligenes latus*: master thesis. Graz: Graz University of Technology.

[2] KHANNA, Shilpi – SRIVASTAVA, Ashok K. 2005. Recent advances in microbial polyhydroxyalkanoates. In Process Biochemistry, vol. 40, no. 2, pp. 607-619. ISSN 1359-5113.

[3] WANG, Junting et al. 2022. Improved polyhydroxybutyrate production by *Cupriavidus necator* and the photocatalyst graphitic carbon nitride from fructose under low light intensity. In International Journal of Biological

Macromolecules, vol. 203, pp. 526-534. ISSN 0141-8130.

[4] MARUDKLA, Jaruwan et al. 2018. Optimization of poly(3-hydroxybutyrate) extraction from *Cupriavidus necator* DSM 545 using sodium dodecyl sulfate and sodium hypochlorite. In Agriculture and Natural Resources, vol. 52, no. 3, pp. 1-22. ISSN 2383-238X.

[5] TRIGUEROS, Daniela E. G. et al. 2017. Statistical evaluation and discrimination of competing kinetic models and hypothesis for the mathematical description of poly-3(hydroxybutyrate) synthesis by *Cupriavidus necator* DSM 545. In Chemical Engineering Science, vol. 160, no. 1, pp. 20-33. ISSN 0009-2509.

[6] BEREZINA, Nathalie – YADA, Bopha. 2016. Improvement of the poly(3-hydroxybutyrate-co-3-hydroxyvalerate) (PHBV) production by dual feeding with levulinic acid and sodium propionate in *Cupriavidus necator*. In New Biotechnology, vol. 33, no. 1, pp. 231-236. ISSN 1871-6784.

Vplyv exogénnej aplikácie antioxidantov na regeneráciu a transformáciu *Brassica napus* L.

Effect of exogenous application of antioxidants on regeneration and transformation of *Brassica napus* L.

Dominika Dronzeková[1], Milan Karas[2], Jana Moravčíková[3]
Školiteľ: Jana Moravčíková
[1,2,3] Katedra Biotechnológií, FPV UCM v Trnave, Nám. J. Herdu 2, 917 01 Trnava,
[1]dronzekova1@ucm.sk, [2]karas2@ucm.sk,[3]jana.moravcikova@ucm.sk

Abstrakt

Repka olejná (*Brassica napus* L.) je komerčne významná plodina. Jej produktivita je však čoraz častejšie ohrozená a/biotickými stresmi. Jednou z možností ako zlepšiť odolnosť repky olejnej je genetická modifikácia pomocou *Agrobacterium tumefaciens.* Prekážkou úspešnej aplikácie génového inžinierstva u repky olejnej je *in vitro* genotypová rekalcitrantnosť. Cieľom práce bolo zhodnotiť vplyv exogénnych antioxidantov ditiotreitolu a kyseliny askorbovej na transformačnú a regeneračnú účinnosť u odrôd Ability a Lancia. Ako zdroj explantátov sme použili hypokotyly 5-6 dňových klíčencov repky olejnej odrody Ability a Lancia, ktoré sme použili na transformáciu pomocou *A. tumefaciens* GV3101, ktorý niesol expresnú kazetu obsahujúcu reportérový beta glukuronidázový gén a dehydrínový gén At3g50970. Naše výsledky ukázali, že prítomnosť 1 mg/dm^3 ditiotreitolu (DTT) v regeneračnom médiu prispela k zvýšenej frekvencii výhonov u oboch odrôd, avšak jeho vplyv na tvorbu potenciálne transgénnych výhonov sa nepreukázal. Kyselina askorbová (AAS) o koncentrácii 100 mg/dm^3 mala negatívny vplyv na tvorbu netransgénnych aj transgénnych výhonov u oboch odrôd.

Kľúčové slová: *Agrobacterium tumefaciens*, ditiotreitol, *in vitro*, kyselina askorbová, repka olejná

Abstract

Oilseed rape (*Brassica napus L.*) is a commercially important crop, but its productivity is increasingly threatened by a/biotic stresses. One way to improve the resilience of oilseed rape is through genetic modification using *Agrobacterium tumefaciens*. However, an obstacle to the successful application of genetic engineering in oilseed rape is *in vitro* genotype recalcitrance. The aim of this study was to evaluate the effects of exogenous antioxidants dithiothreitol and ascorbic acid on transformation and regeneration efficiency in the Ability and Lancia varieties. Hypocotyls from 5–6-day old oilseed rape seedlings of the Ability and Lancia varieties were used as explants for transformation using *A. tumefaciens* GV3101, which carried an expression cassette containing the reporter beta-glucuronidase gene and the dehydrin gene At3g50970. Our results showed that the presence of 1 mg/dm^3 dithiothreitol in the regeneration medium contributed to an increased frequency of shoots in both varieties, but its effect on the formation of potentially transgenic shoots was not demonstrated. Ascorbic acid at a concentration of 100 mg/dm^3 had a negative effect on the formation of both non-transgenic and transgenic shoots in both varieties.

Key Words: *Agrobacterium tumefaciens*, ascorbic acid, dithiothreitol, *in vitro*, oilseed rape

Úvod

Genetická transformácia rastlín pozostáva z dvoch hlavných krokov a to i) z transformácie a ii) regenerácie transformovaných buniek v intaktné rastliny. Bez regenerácie transformovaných buniek by nebolo možné dokončenie procesu transformácie. Samotný transformačný proces predstavuje pre rastlinu stres, ktorý môže viesť k zvýšenej tvorbe reaktívnych foriem kyslíka (ROS) až k oxidačnému stresu [1]. Dôsledkom toho vzniká problém s regeneráciou v intaktné rastliny. Problém predstavuje aj fakt, že nie každá bunka je schopná prijať cudziu DNA a byť transformovaná.

Rastlinná bunka vyrovnáva zvýšenú hladinu ROS pomocou antioxidačného systému, ktorý pozostáva z enzymatických a neenzymatických antioxidantov [2, 3, 4]. K neenzymatickým antioxidantom patria predovšetkým nízkomolekulové metabolity ako prolín, AAS, glutatión a fenolové zlúčeniny [3, 4]. Antioxidanty je možné využiť pri transformácii rastlín, z dôvodu lepšej stability, redukcie frekvencie nekróz a celkovej podpory pri regenerácii transformovaných buniek [5]. Pozitívny efekt antioxidantov ako DTT, AAS,

polyvinylpolypyrolidón (PVPP) alebo L- cysteín na transformačnú a regeneračnú účinnosť bol popísaný viacerými autormi [1, 5, 6].

Repka olejná (*Brassica napus* L.) predstavuje významnú olejnatú plodinu na trhu, ktorej vlastnosti je možné vylepšiť nielen konvenčnými metódami šľachtenia, ale aj prostredníctvom genetickej modifikácie. Navyše, jej produktivita je čoraz častejšie ohrozená a/biotickými stresmi. Jednou z možností ako zlepšiť odolnosť repky olejnej je genetická modifikácia pomocou *Agrobacterium tumefaciens.* Hlavným problémom je však jej vysoko genotypovo závislá *in vitro* regeneračná schopnosť [7, 8, 9].

Cieľom práce bolo otestovať vplyv exogénnych antioxidantov DTT a AAS na transformačnú a regeneračnú účinnosť vybraných odrôd repky olejnej.

1 Materiál a metódy

1.1 Rastlinný materiál

Pre experimenty sme zvolili semená repky olejnej (*Brassica napus* L.) odrody Lancia a Ability, dodané firmou Norddeutsche Pflanzenzucht a semená tabaku virgínskeho (*Nicotiana tabacum* L.) odroda Petit Havana. Semená sme povrchovo vysterilizovali [10] a nechali klíčiť na klíčiacom KM médiu [MS médium s vitamínmi [11], 1% (w/v) sacharóza a 0,8% (w/v) agar, pH 5,7] v kultivačnej miestnosti po dobu 5-6 dní.

Semená tabaku sme nechali klíčiť 2-3 týždne na KM médiu. Získané rastlinky sme preniesli na multiplikačné médium [MS médium s vitamínmi [11], 2% (w/v) sacharóza a 0,8% (w/v) agar, pH 5,7].

1.2 Baktérie a plazmidy

Na transformáciu sme použili *Agrobacterium tumefaciens* kmeň GV3101, ktorý niesol binárny vektor pZM4 [12]. T-DNA oblasť vektora pZM4 pozostávala z reportérového beta-glukuronidázového *gus* génu pod kontrolou svetlo-citlivého promótora *Lhca3St.1* [13], dehydrínového génu At3g50970 pod kontrolou *dCAMV* 35S promótora a selekčného neomycín fosfotransferázového *npt*II génu pod kontrolou *nos* promótora.

Kultivácia *A. tumefaciens* GV3101/ZM4 prebiehala v kvapalnom Luria-Bertani (LB) médiu [1% (w/v) peptón; 0,5% (w/v) kvasničný autolyzát; 1,5% (w/v) NaCl; pH 7] v prítomnosti antibiotík rifampicín (20 mg/dm^3) a kanamycín (100 mg/dm^3) na trepačke pri 120 rpm a teplote 27°C.

1.3 Transformácia a regenerácia tabaku pomocou *A. tumefaciens*

Príprava bakteriálneho inokula pozostávala z rozsuspendovania bunkovej kultúry nariedenej na OD (620 nm) 0,6 s kvapalným CIM-T médiom na výsledný objem 100 cm^3. Transformáciu 4-6 týždňových listových segmentov tabaku sme uskutočnili podľa postupu Polóniovej a kol. [14]. Transformované pletivo sme regenerovali na pevnom SIM-T médiu pre podporu tvorby výhonkov [MS médium s vitamínmi [11], sacharóza 3% (w/v), agar 0,8% (w/v), pH 5,7; NAA 0,1 mg/dm^3; BAP 1 mg/dm^3, kanamycín 50 mg/dm^3, cefotaxím 500 mg/dm^3].

1.4 Transformácia a regenerácia repky olejnej pomocou *A. tumefaciens*

Z pripravenej nočnej kultúry sme po centrifugácii (4 000 rpm, 10 min, 4°C) odstránili supernatant a bunky baktérie sme rozsuspendovali v 20 cm^3 kvapalného kalus-indukčného CIM-R média [Gamborg B5 médium s vitamínmi [15] (Duchefa), 2% (w/v) sacharóza, 250 mg/dm^3 NH_4NO_3, 750 mg/dm^3 $CaCl_2.2H_2O$, 250 mg/dm^3 xylóza, 1 mg/dm^3 2.4D, 0,1 mg/dm^3 IAA, pH 5,8]. Nariedením na OD 0,6 (620 nm) s CIM-R médiom sme pripravili bakteriálne inokulum na objem 100 cm^3.

Proces transformácie sme vykonali podľa postupu Boszorádovej a kol. [16] pričom 5-6 dňové hypokotyly sme vopred kultivovali 24 hodín v tme v kvapalnom CIM-R médiu. Pred-kultivované hypokotyly sme narezali na krátke segmenty a ko-kultivovali s bakteriálnym inokulom. Ko-kultivované segmenty (48 hodín) sme preniesli na pevné CIM-R médium s obsahom antibiotík geneticín (G418) (5 mg/dm^3) a cefotaxím (200 mg/dm^3) v 3 variantoch: s prídavkom antioxidantu 1 mg/dm^3 DTT, 100 mg/dm^3 AAS alebo bez prítomnosti antioxidantov. Po 2 týždňoch sme segmenty preniesli na čerstvé SIM-R médium [Gamborg B5 médium s vitamínmi [15], 2% (w/v) sacharóza, 250 mg/dm^3 NH_4NO_3, 750 mg/dm^3 $CaCl_2.2H_2O$, 0,6% (w/v) agar, pH 5,8], ktoré sme po sterilizácii obohatili rastovými regulátormi [250 mg/dm^3 xylózy, 5 mg/dm^3 $AgNO_3$, 2 mg/dm^3 BAP a 1 mg/dm^3 zeatínu], antibiotikami G418 o zvýšenej koncentrácii 10 mg/dm^3 a cefotaxím (200 mg/dm^3) a antioxidantmi v troch variantoch. Po každých 2 týždňoch sme explantáty preniesli na čerstvé médium (SIM-R), po vznik prvých výhonkov. Výhonky sme následne preniesli do pohárov na médium pre podporu elongácie výhonkov (SEM-R)

[1/2 Gamborg B5 médium s vitamínmi [15], 1% (w/v) sacharóza, 0,5 g/dm^3 MES, 0,6% (w/v) agar, pH 5,8]. Kontrolnú skupinu predstavovala regenerácia netransformovaných segmentov repky olejnej na médiách bez obsahu antibiotík v rovnakých 3 variantov prídavku antioxidantov.

Účinnosť tvorby kalusov (%) sme vyhodnotili ako počet explantátov tvoriacich aspoň 1 kalus pripadajúcich na celkový počet explantátov použitých v experimentoch. Účinnosť tvorby výhonov (%) sme vyhodnotili ako počet explantátov tvoriacich aspoň 1 výhon.

1.5 Histochemické stanovenie GUS

Do mikroskúmaviek s 50 mmol/dm^3 fosfátovým tlmivým roztokom (pH 7,0) a 2 mmol/dm^3 5-bromo-4-chloro-3-indolyl glukuronidu (X-GlcA, Duchefa) sme pridali rastlinný materiál. Reakcia prebiehala v termostate počas 24 hodín pri 37°C. Následne sme tlmivý roztok odstránili a nahradili ho 70% (v/v) etanolom. GUS aktivitu sme detegovali ako modré sfarbenie.

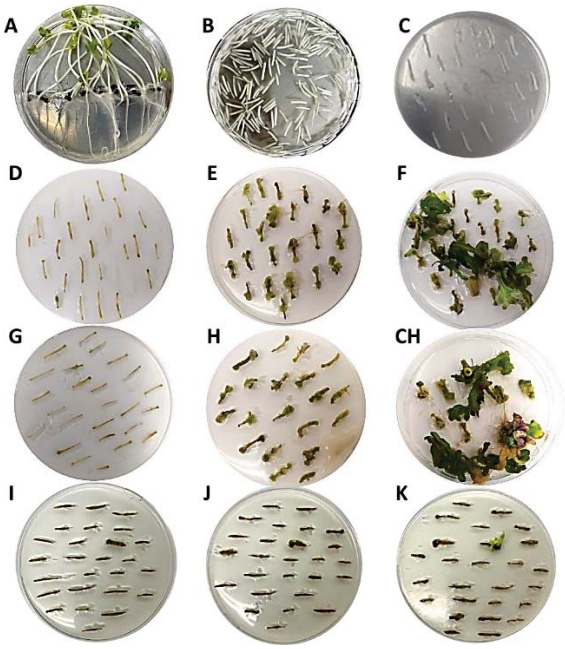
2 Výsledky a diskusia

Repka olejná je jedna z najvýznamnejších olejnatých plodín. Predstavuje aj významný objekt pre šľachtiteľov. Genetická modifikácia je jednou z možností ako modifikovať repku olejnú či už s cieľom modifikovať obsah mastných kyselín alebo zvýšiť jej toleranciu voči a/biotickému stresu. Mnohé odrody repky olejnej sú však rekalcitrantné v *in vitro* podmienkach, čo sa ukazuje ako problém pri jej genetickej modifikácii.

V práci sme použili jarné odrody repky olejnej Ability a Lancia, z dôvodu vhodného *in vitro* regeneračného potenciálu a vysokej klíčivosti (92,8-94,2%) [10]. Na transformáciu sme použili rastlinný transformačný vektor pZM4, ktorý obsahoval expresnú kazetu pozostávajúcu z reportérového génu *gus* riadeného svetlocitlivým *Lhca3St.1* promótorom, ktorý je aktívny v zelených častiach rastlinného pletiva [13].

Pred samotnou transformáciou repky olejnej sme vykonali overenie funkčnosti reportérového génu prostredníctvom transformácie modelovej rastliny tabaku [17]. Naše experimenty ukázali, že reportérový *gus* gén je funkčný v rastlinných pletivách, čo sa prejavilo modrým sfarbením v mieste enzýmovej reakcie (Obrázok 2B).

Transformáciu repky olejnej prostredníctvom *A. tumefaciens* sme uskutočnili s využitím hypokotylových segmentov klíčnych rastlín, ktoré klíčili na KM médiu v tme z dôvodu dosiahnutia zvýšenia citlivosti pletív voči baktérii [18]. Hypokotyly po 5-6 dňoch klíčenia (Obr. 1A), sme odrezali a kultivovali 24 hodín pred transformáciou v tekutom CIM-R médiu. Ko-kultivácia s bakteriálnym inokulom prebiehala počas 48 hodín v tme (Obrázok 1B). *In vitro* regenerácia prebiehala v prítomnosti antibiotík G418 a cefotaxímu a v/bez prítomnosti antioxidantov (1 mg/dm^3 DTT, 100 mg/dm^3 AAS) (Obr. 1 D-K).

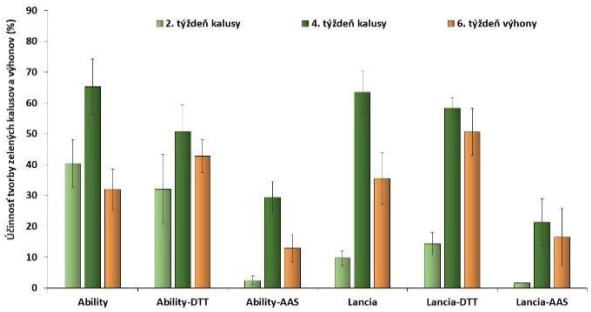


Obr. 1: Ukážka *In vitro* regenerácie transformovaného pletiva repky olejnej. (**A)** 5-6 dňové klíčence, **(B)** ko-kultivácia explantátov s bakteriálym inokulom, **(C)** explantáty po ko-kultivácii na regeneračnom médiu, **(D-F)** explantáty po 2, 4 a 6 týždňoch na regeneračnom médiu bez prítomnosti antioxidantov (respektíve), **(G-CH)** explantáty po 2, 4 a 6 týždňoch na regeneračnom médiu s 1 mg/dm^3 DTT, **(I-K)** explantáty po 2, 4 a 6 týždňoch na regeneračnom médiu so 100 mg/dm^3 AAS.
Zdroj: Autori

V rámci experimentov sme vykonali 3 biologické opakovania. Na experimenty sme celkovo použili 975 explantátov.

Kontrolu regeneračnej účinnosti predstavovali netransformované hypokotyly repky olejnej. Po 14 dňoch regenerácie kontrolných (netransformovaných) explantátov sa začali tvoriť prvé kalusy (Obr. 1). Účinnosť tvorby kalusov u odrody Ability sa zo 40,3% v 2. týždni zvýšila na 65,3%, zatiaľ čo

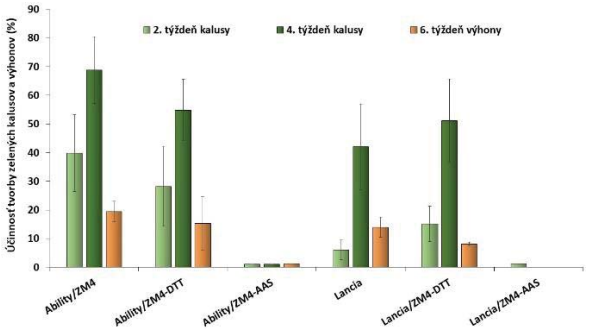
v prítomnosti DTT bol nárast z 32% na 50,7%. Efektívnosť tvorby kalusov v prítomnosti AAS bola v 2. týždni 2,4% a v 4. týždni 29,4%. Explantáty odrody Lancia bez prítomnosti antioxidantov v regeneračnom médiu tvorili v 2. týždni 9,7% a následne v 4. týždni 63,4% kalusov. Prítomnosť DTT spôsobila efektívnosť tvorby kalusov zo 14,3% na 58,4%. V prítomnosti AAS sa účinnosť tvorby kalusov zvýšila po 2. týždni z 1,6% na 29,5% po 4 týždňoch. Medzi 4. a 6. týždňom sa začali tvoriť prvé výhonky, ktoré sme následne preniesli na SEM-R médium. Prítomnosť DTT v regeneračnom médiu mala pozitívny vplyv na tvorbu výhonov, pričom počet výhonov stúpol minimálne 1,3 krát u oboch odrôd, zatiaľ čo prítomnosť AAS mala negatívny vplyv na tvorbu výhonov (Graf 1).



Graf 1: Účinnosť tvorby kalusov a výhonov odrôd Ability a Lancia, ktorých explantáty regenerovali v/bez prítomnosti antioxidantov 1 mg/dm^3 DTT a 100 mg/dm^{3}AAS v regeneračnom médiu. Uvedené sú priemerné hodnoty ± smerodajná odchýlka.
Zdroj: Autori

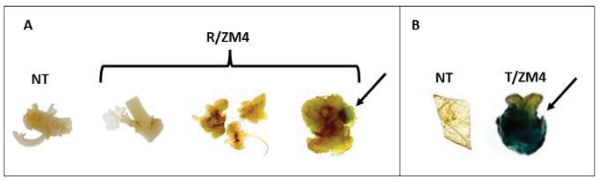
Pri transformačných experimentoch sme použili dvojkrokový selekčný systém. Explantáty regenerovali prvé 2 týždne po transformácii v prítomnosti selekčného antibiotika G418 o koncentrácii 5 mg/dm^3 a po potom sa selekčný tlak zvýšil na koncentráciu 10 mg/dm^3. U niektorých odrôd, citlivých na antibiotiká takáto dvojkroková selekcia môže zvýšiť transformačnú efektívnosť [16, 19]. U Ability/ZM4 sme pozorovali nárast vzniku zelených kalusov z 39,8% po 2 týždňoch na 68,8% po 4 týždňoch. Pri prídavku DTT do regeneračného média bola efektívnosť v 2. týždni 28,2%, v 4. týždni 54,8%. Antioxidant AAS nemal pozitívny vplyv na tvorbu kalusov (Graf 2). Lancia/ZM4 bez prídavku antioxidantov mala v 2. týždni 6,0% efektívnosť tvorby kalusov a v 4. týždni 42,0%. V prítomnosti DTT došlo k zvýšeniu tvorby kalusov z 15,1% na 51,2% v 4. týždni. Prítomnosť AAS v regeneračnom médiu inhibovala tvorbu potenciálne transgénnych kalusov (Graf 2).

Medzi 4. a 6. týždňom sa začali tvoriť prvé výhonky. Získali sme 34 (Ability/ZM4) a 32 (Lancia/ZM4) potenciálne transgénnych výhonkov. Účinnosť tvorby výhonov u Ability/ZM4 bola 19,4% (regenerácia bez antioxidantov), 15,3% (regenerácia v prítomnosti DTT) a 1,3% (regenerácia v prítomnosti AAS). Účinnosť tvorby výhonov Lancia/ZM4 bola 14% (regenerácia bez antioxidantov), 8,1% (regenerácia v prítomnosti DTT) a 0% (regenerácia v prítomnosti AAS).



Graf 2: Účinnosť tvorby potenciálne transgénnych kalusov a výhonov Ability/ZM4 a Lancia/ZM4, ktoré regenerovali pod dvojkrokovým selekčným tlakom a v/bez prítomnosti antioxidantov DTT a AAS v regeneračnom médiu. Uvedené sú priemerné hodnoty ± smerodajná odchýlka.
Zdroj: Autori

Prítomnosť transgénneho pletiva sme detegovali pomocou histochemického stanovenia GUS aktivity. Ako kontrolu sme použili netransgénne pletivo. U výhonkov oboch odrôd (Ability/ZM4 a Lancia/ZM4), ktoré regenerovali v prítomnosti DTT a AAS alebo bez ich prítomnosti, sme však nepotvrdili ich transgénny charakter (Obr. 2A). Mohlo to byť spôsobené koncentráciou antibiotika geneticín v regeneračnom médiu. Pre experimenty sme zvolili dvojkrokový selekčný tlak, ktorý je vhodný pre regeneráciu transformovaných explantátov repky olejnej [16]. Nižšia koncentrácia antibiotika v prvých dňoch po transformácii mohla na druhej strane umožniť vo väčšej miere regeneráciu aj netransformovaných buniek. To by aj potvrdzoval fakt, že analýzy kalusového pletiva repky olejnej ukázali, že len malá časť kalusových buniek vykazovala GUS aktivitu a bola transgénna (Obr. 4A). Príčinou mohol byť aj nedostatočný styk kalusov s regeneračným médiom a teda tým aj znížený selekčný tlak.



Obr. 2: Histochemické stanovenie GUS aktivity v transformovaných pletivách repky olejnej (R/ZM4) (**A**) a tabaku (T/ZM4) (**B**). Šípka označuje miesto modrého sfarbenia, teda GUS aktivitu. NT-netransgénne pletivo.
Zdroj: Autori

Záver

V práci sme študovali vplyv vybraných antioxidantov na transformačnú a regeneračnú účinnosť dvoch odrôd repky olejnej *Brassica napus* L. (Ability a Lancia). Transformáciu sme uskutočnili pomocou *A. tumefaciens* GV3101, ktorý niesol binárny vektor pZM4 v T-DNA oblasti s expresnou kazetou obsahujúcou reportérový *gus* gén pod kontrolou svetlocitlivého promótora. Regenerácia transformovaných buniek *in vitro* prebiehala pod dvojkrokovým selekčným tlakom a v/bez prítomnosti antioxidantov 1 mg/dm^3 DTT alebo 100 mg/dm^3 AAS. DTT v regeneračnom médiu zvýšil efektivitu tvorby výhonov, avšak jeho efekt na regeneráciu potenciálne transgénnych výhonov nebol významný. Regenerácia v prítomnosti AAS mala negatívny vplyv na tvorbu netransgénnych aj potenciálne transgénnych výhonov. Histochemické stanovenie GUS aktivity ukázalo, že len malá časť kalusových buniek bola transgénna, teda regenerovali aj netransgénne výhony. To sa potvrdilo aj tým, že sme nedetegovali GUS aktivitu u výhonov, u ktorých sme predpokladali, že mali byť transgénne.

Poďakovanie

Práca bola vypracovaná v rámci projektov VEGA 1/0525/20, KEGA 001UCM-4/2022 a vďaka podpore v rámci Operačného programu Integrovaná infraštruktúra pre projekt: Dlhodobý strategický výskum prevencie, intervencie a mechanizmov obezity a jej komorbidít, kód ITMS: 313011V344, spolufinancovaný zo zdrojov Európskeho fondu regionálneho rozvoja.

Použitá literatúra

[1] DE SAEGER, Jonas et al. 2021. *Agrobacterium* strains and strain improvement: Present and outlook. In Biotechnology advances, vol. 53, no. 107677, pp. 1-25. ISSN 0734-9750.

[2] CHIAPPERO, Julieta et al. 2021. Antioxidant status of medicinal and aromatic plants under the influence of growth-promoting rhizobacteria and osmotic stress. In Industrial Crops and Products, vol. 167, pp. 113541. ISSN 0926-6690.

[3] DAS, Kaushik & ROYCHOUDHURY, Aryadeep. 2014. Reactive oxygen species (ROS) and response of antioxidants as ROS-scavengers during environmental stress in plants. In Frontiers in Environmental Science, vol. 2. ISSN 2296-665X.

[4] SOARES, Cristiano et al. 2019. Plants facing oxidative challenges - A little help from the antioxidant networks. In Environmental and Experimental Botany, vol. 161, pp. 4-25. ISSN 0098-8472.

[5] DAN, Yinghui. 2008. Biological functions of antioxidants in plant transformation. In *In Vitro* Cellular & Developmental Biology-Plant, vol. 44, no.3, pp. 149-161. ISSN 1475-2689.

[6] BIDABADI, Siamak Shirani & JAIN, S. Mohan. 2020. Cellular, molecular, and physiological aspects of in vitro plant regeneration. In Plants (Basel, Switzerland). vol. 9, no. 6, pp. 702. ISSN 2223-7747.

[7] PARK, Jong-In et al. 2012. Advances in *in vitro* culture of the *Brassicaceae* crop plants. Journal of Plant Biotechnology. In The Korean Society for Plant Biotechnology, vol. 39, no. 1, pp. 13-22. ISSN 2384 1397.

[8] FAROOQ, Nisma et al. 2019. Investigating the In Vitro Regeneration Potential of Commercial Cultivars of *Brassica*. In Plants (Basel, Switzerland), vol. 8, no. 12, pp. 558. ISSN 2223-7747.

[9] HNATYUK, Iryna. S. et al. 2020. Development of an effective *in vitro* regeneration system for ukrainian breeding winter rape *Brassica napus* L. In Cytology and genetics., 2020, vol. 54, no. 4, pp. 341-346. ISSN 0095-4527.

[10] AL RAMADAN, Radovan. 2020. Regeneračná schopnosť vybraných genotypov repky olejnej v podmienkach *in vitro* : diplomová práca. Trnava : UCM, 77 s.

[11] MURASHIGE, Toshio & SKOOG, Folke. 1962. A Revised Medium for Rapid Growth and Bio Assays with Tobacco Tissue Cultures. In Physiologia Plantarum, vol. 15, no. 3, pp. 473-497. ISSN 1399-3054.

[12] ZIMOVÁ, Mária. 2019. Vplyv dehydrínového génu na zvýšenie tolerancie transgénnych rastlín tabaku voči abiotickému stresu : dizertačná práca. Nitra : UKF, 146s.

[13] NAP, Jan-Peter et al. 1993. Activity of the promoter of the Lhca3.St.1 gene, encoding the potato apoprotein 2 of the light-harvesting complex of Photosystem I, in transgenic potato and tobacco plants. In Plant Molecular Biology, vol. 23, no. 3, pp. 605-612. ISSN 1573-5028.

[14] POLÓNIOVÁ, Zuzana et al. 2014. The activity of *Arabidopsis* DLL promoter in transgenic tobacco plants under water stress conditions. In Journal of Microbiology, Biotechnology and Food Sciences, vol. 3, pp. 151-154. ISSN 1338-5178.

[15] GAMBORG, Oluf L., MILLER, Raymond A., & OJIMA, Kenichiro. 1968. Nutrient requirements of suspension cultures of soybean root cells. In Experimental Cell Research, vol. 50, no. 1, pp. 151-158. ISSN 1090-2422.

[16] BOSZORADOVA, Eva et al. 2011. *Agrobacterium*-mediated genetic transformation of economically important oilseed rape cultivars. In Plant Cell, Tissue and Organ Culture, vol. 107, pp. 317-323. ISSN 15735044.

[17] ROSALES-CAMPOS, Ana Lilia – GUTIÉRREZ-ORTEGA, Abel. 2019. *Agrobacterium-mediated* transformation of *Nicotiana tabacum* cv. Xanthi leaf explants. In Bio-Protocol, vol. 101, pp. 3150. ISSN 2331-8325.

[18] CARDOZA, Vinitha – STEWART, C. Neal 2003. Increased *Agrobacterium*-mediated transformation and rooting efficiencies in canola (*Brassica napus* L.) from hypocotyl explants. In Plant Cell Reports, vol. 21, pp. 599-604. ISSN 1432-203X.

[19] PANDIAN, Anand et al. 2006. *Agrobacterium*-mediated transformation protocol to overcome necrosis in elite Australian *Brassica juncea* lines. In Plant Molecular Biology Reporter, vol. 24, no. 1, pp. 103. ISSN 1556469X.

Odkiaľ sa berú hybridné rastliny *Solidago ×niederederi* vo voľnej prírode? Analýza potomstva *S. ×niederederi* a rodičovských druhov *S. canadensis* a *S. virgaurea*

Where do hybrid plants *Solidago ×niederederi* arise in nature? Analysis of a progeny of *S. ×niederederi* and parental species *S. canadensis* and *S. virgaurea*

Michaela Murgašová[1] – Katarína Skokanová[2] – Barbora Šingliarová[3]
Školiteľ: Katarína Skokanová
[1]Katedra biológie a ekológie, FPV UMB v Banskej Bystrici, Tajovského 40, 974 01 Banská Bystrica
[2,3]Botanický ústav CBRB SAV, Dúbravská cesta 9, 845 23 Bratislava
[1] mmurgasova@student.umb.sk, [2]katarina.skokanova@savba.sk, [3] barbora.singliarova@savba.sk

Abstrakt

Taxón *Solidago ×niederederi* vznikol dôsledkom homoploidnej hybridizácie pôvodného druhu *Solidago virgaurea* a invázneho severoamerického taxónu *Solidago canadensis*.

Predkladaná práca mala ako hlavný cieľ dôkladnú analýzu potomstva zmiešaných populácií rodičovských druhov spolu s krížencom prietokovou cytometriou s použitím fluorescenčného farbiva DAPI.

Materiál pochádzal z 15 materských rastlín z dvoch slovenských lokalít (Veľký Paklán a Jelšava).

Počas doby klíčiaceho experimentu vyklíčilo 769 jedincov. Výsledky preukázali najvyššiu rýchlosť klíčenia práve u hybridného taxónu v porovnaní s rodičovskými taxónmi.

Relatívnym obsahom DNA klíčencov sme determinovali pravdepodobný spôsob vzniku vrátane hybridizácie rodičovských druhov alebo spätného kríženia hybrida s rodičovskými druhmi. Zaznamenané hodnoty relatívneho obsahu DNA v cytometrických analýzach semenáčikov boli porovnávané s výsledkami jednotlivých materských rastlín.

Semenáčiky s pravdepodobným hybridným pôvodom sme našli v potomstve *S. canadensis* aj *S. virgaurea*. Pri *S. ×niederederi* sme zaznamenali jedince, ktoré by obsahom DNA zodpovedali spätným krížencom s oboma rodičovskými druhmi.

Výsledky preukázali aj prítomnosť triploidných a tetraploidných klíčencov.

Kľúčové slová: hybridizácia, invázne rastliny, klíčivosť, prietoková cytometria, spätné kríženie

Abstract

The taxon *Solidago ×niederederi* results from homoploid hybridization of the native species *Solidago virgaurea* and the invasive North American species *Solidago canadensis*.

The main objective of the present work was a thorough analysis of the progeny of the parental species together with the hybrid plants from the mixed populations by flow cytometry using the fluorescent dye DAPI.

The seed material was collected from 15 parent plants from two Slovak locations (Veľký Paklán and Jelšava). During the germination period of the experiment, 769 seeds germinated. The results showed the shortest germination time of the hybrid taxon compared to the parental taxa.

Using the relative DNA content of the seedlings, we determined possible ways of their origin, including whether emergence occurred by hybridising the parental species or by backcrossing the hybrid with the parental species. The recorded values of relative DNA content of seedlings in cytometric analyses were compared with the results of their maternal plants.

Seedlings with probable hybrid origin were found in the progeny of both *S. canadensis* and *S. virgaurea*. Within progeny of *S. ×niederederi*, we observed seedlings with relative DNA content corresponded to backcrosses with both parental species.

The results also showed the presence of triploid and tetraploid seedlings.

Key Words: hybridization, invasive plants, germination, flow cytometry, backcrossing

Úvod

Hybridizáciu možno definovať ako kríženie dvoch jedincov z odlišných populácií alebo ako kríženie medzi skupinami populácií, pričom jedince sú odlišné aspoň v jednom dedičnom znaku [1]. Interšpecifická, t.j. medzidruhová hybridizácia je dôležitá z hľadiska evolúcie, pretože umožňuje vznik nových ekotypov, variácií, a tým aj samotnú speciáciu. Homoploidným krížením sa zachováva konštantná ploidia, pretože vznikajú jedince s rovnakou ploidiou ako rodičia a častá je tu slabá reprodukčná izolácia. Preto pri homoploidných hybridných taxónoch veľmi často dochádza k spätnému kríženiu s rodičovskými druhmi. Následkom je vytvorenie stabilných, introgresných populácií, ktoré vo svojom fenotype odrážajú znaky oboch rodičov, alebo sa prejaví len extrémna forma jedného z nich [2].

V priebehu posledných desaťročí boli zaznamenané prípady kríženia inváznych rastlín s pôvodne sa vyskytujúcimi druhmi. Jedným z dôsledkov takého kríženia je, že novovzniknutý hybridný taxón nemusí zotrvať na jednom mieste, ale časom sa môže šíriť do okolitých ekosystémov vďaka kombinovaniu kolonizačných schopností invázneho druhu a prispôsobeniu sa na prostredie pôvodného druhu [3].

Hybridný taxón negatívne ovplyvňuje pôvodný rodičovský druh (napr. konkurencia o zdroje, opeľovače) a môže spôsobovať aj eróziu jeho genetického fondu. Najviac ovplyvnené bývajú spravidla malé populácie, ale z dlhšieho časového hľadiska sú ohrozené aj väčšie populácie. V najhoršom prípade tak dochádza k vyhynutiu populácií pôvodného druhu. Rovnako sa nevylučuje ani spätné kríženie hybridných rastlín s rodičovskými druhmi [3].

Hybrid *S. ×niederederi* (2n=2x=18) pochádza z homoploidnej hybridizácie invázneho severoamerického druhu *S. canadensis* a pôvodného európskeho druhu *S. virgaurea*.

Solidago ×niederederi bol prvýkrát zaznamenaný v Rakúsku na konci 19. storočia a doteraz bol hlásený z viac ako 400 lokalít v 17 krajinách Európy [4].

Solidago ×niederederi pravdepodobne vzniká prostredníctvom opakovanej hybridizácie na lokalitách, kde oba rodičovské druhy rastú v jeho blízkosti [4].

V predchádzajúcej štúdii sa potvrdilo, že relatívny obsahu DNA *S. ×niederederi* je intermediárny v porovnaní so *S. canadensis* a *S. virgaurea* a jednotlivé taxóny možno na jeho základe odlíšiť [3].

Toto zistenie sme využili v experimentálnej časti práce, ktorou bola analýza potomstva hybridného druhu *S. ×niederederi*, *S. canadensis* a *S. virgaurea*.

V rámci experimentu sme zaznamenávali aj rýchlosť klíčenia semien.

Práca pozostávala z naplnenia troch čiastkových cieľov. Prvým cieľom bolo nazbieranie reprezentatívneho rastlinného materiálu počas terénnych prác, druhým založenie klíčiaceho experimentu a tretím cieľom bola cytometrická analýza zmiešanej populácie s použitím fluorescenčného farbiva DAPI.

1 Materiál a metodika

Analytická časť práce bola vykonaná na detašovanom pracovisku Botanického ústavu CBRB SAV v Banskej Bystrici v laboratóriu prietokovej cytometrie.

1.1 Zber rastlinného materiálu

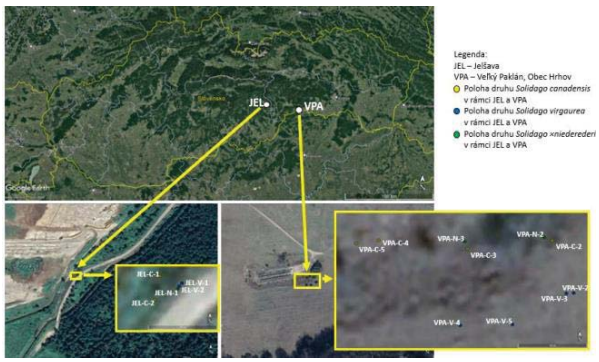
Zozbierané materské rastliny pochádzali z dvoch slovenských lokalít. Prvá lokalita sa nachádzala v blízkosti mesta Jelšava (Slovenský kras), druhú lokalitu predstavoval vrch Veľký Paklán (Rožňavská kotlina) (Obr. 1).

Poloha každej rastliny bola zaznamenaná pomocou GPS s presnosťou na 1-2 cm.

Záujmovým materiálom boli: 1. časť odkvitnutej byle s dozretými semenami, 2. čerstvý listový materiál.

Vzorky boli zbierané tak, že každá hybridná rastlina *S. ×niederederi* bola zozbieraná spolu s najbližšie rastúcimi rastlinami rodičovských druhov, ktoré predstavovali dve rastliny *S. canadensis* a dve rastliny *S. virgaurea*.

Sušenie semien prebiehalo pri izbovej teplote v papierových vrecúškach. Na chladovú stratifikáciu boli do chladničky umiestnené dobre vysušené semená v ZIP vrecúškach spolu so silikagélom na dobu 2 mesiacov.



Obr. 1 Poloha rozšírenia skúmaných jedincov troch druhov rodu *Solidago* (Zdroj: Skokanová K., Murgašová, M.)

1.2 Výsev semien

Každá z 15 materských rastlín mala vlastný kód, pričom prvé tri písmená tvorili skratku lokality zberu (napr. VPA – Veľký Paklán), písmeno uprostred vyjadrovalo druhovú príslušnosť (napr. C – *canadensis*) a číslo udávalo poradie zberu materskej rastliny z danej lokality.

V deň výsevu semien (9.2.2022) sa pripravilo celkom 45 plastových misiek, pretože z každej materskej rastliny sa výsev uskutočnil v troch opakovaniach. Misky boli umiestnené na tri veľké plastové podložky. Každá miska sa označila štítkami s kódom materskej rastliny čiernou fixkou a červenou fixkou sa doplnilo poradie opakovania (Obr. 2).

Vrstva pôdy (výsevný substrát zmiešaný s perlitom) vo všetkých kvetináčoch bola cca 1 cm. Semená z každej z 15 materských rastlín boli následne triedené a preosievané sitkom, aby sa odstránili suché časti súkvetí (Obr. 3).

Misky s vysiatymi semenami sa niekoľkokrát opatrne poprášili destilovanou vodou. Ďalej sa prikryli vrchnákmi s otvormi pre lepšie udržanie vlhkosti a semená boli ponechané na klíčenie (Obr. 4).

Po dvoch týždňoch klíčenia sa v približne týždňových intervaloch pristúpilo k počítaniu vyklíčených jedincov zlatobylí a ich počet sa zaznamenával do tabuľky (Tab. 1).

Obr. 2 Jedno z troch opakovaní so semenáčikmi z semien materskej rastliny JEL-N-1 (Zdroj: Murgašová, M.)

Obr. 3 Výsadba osievaných semien (Zdroj: Murgašová, M.)

Obr. 4 Vyklíčené semenáčiky (Zdroj: Murgašová, M.)

Obr. 5 Zoradené semenáčiky pred prípravou na cytometrickú analýzu (Zdroj: Murgašová, M.)

1.3 Analýza prietokovou cytometriou

Vyklíčené jedince boli pinzetou opatrne vytiahnuté z pôdy a umiestnené na vlhkú utierku a následne po odfotografovaní analyzované prietokovou cytometriou (Obr. 5).

Príprava vzorky na cytometrickú analýzu pozostávala z vnútornej štandardizácie [5,6].

Na Petriho misku sa vždy položil jeden semenáčik alebo cca 1 cm^2 listu materskej rastliny, ku ktorému bol priložený cca 1cm^2 *Solanum pseudocapsicum* L., ktorý fungoval ako referenčný štandard (2.59 pg DNA/2C) [7].

Pre izoláciu jadier a ich zafarbenie sa použil dvojkrokový protokol [5].

Rastlinný materiál bol spolu s referenčným štandardom nasekaný v ľadovom pufri OTTO I (500 µl semenáčiky, 1000 µl materské rastliny) (Obr. 6).

Následne bola suspenzia jadier prefiltrovaná cez 42-µm filter z nylonovej sieťoviny do čistej skúmavky (Obr. 7). Pred analýzou bol pridaných pufor OTTO II (500 µl semenáčiky, 1000 µl materské rastliny), na zafarbenie sa použilo farbivo DAPI (4´,6-diamidino-2-fenylindol) [5,6].

Takto pripravené filtráty boli použité na analýzu prietokovým cytometrom.

Analýzy prietokovej cytometrie sa vykonali použitím prístroja CyFlow Space (Partec, Münster, Nemecko), s vybavením UV-LED, ktorý slúžil ako zdroj excitačného žiarenia [3]. Abundancia analyzovaných častíc na vzorku predstavovala počet 5000 pre materské rastliny a 3000 pre semenáčiky.

Výsledky FCM merania boli vyhodnotené použitím softvéru FloMax v. 2.7d (Partec, Münster, Nemecko) a interpretované na základe spočítaných chromozómových počtov [3]. Relatívny obsah DNA bol vyjadrený ako pomer pozície G1 píku štandardu a meranej vzorky (RSS).

Obr. 6 Nasekaná vzorka s referenčným štandardom (Zdroj: Murgašová, M.)

Obr. 7 Filtrát pred analýzou prietokovou cytometriou (Zdroj: Murgašová, M.)

2 Výsledky a diskusia

Počas celého trvania klíčiaceho experimentu boli v práci zaznamenané značné rozdiely v počte vyklíčených jedincov medzi skúmanými druhmi. Za obidve skúmané lokality (Veľký Paklán a Jelšava) pri materských rastlinách *S. canadensis* vyklíčilo od 20 do 229 semien. Pri hybridnom taxóne *S. ×niederederi* počet semien varíroval od 37 do 127. Pri *S. virgaurea* bol počet vyklíčených semien najnižší, od 3 do 38.

Celkovo najslabšie klíčenie sme zaznamenali u dvoch materských rastlín druhu *S. virgaurea* z lokality Veľký Paklán, z ktorých vyklíčili len po 3 semená. Najrýchlejšie klíčili semená hybridného druhu *S. ×niederederi*. Z jednej materskej rastliny tohto druhu sme už v prvý týždeň po výseve získali 41 semenáčikov (VPA-N-2) (Tab. 1).

Tab. 1 Priebežný počet nových vyklíčených jedincov počas doby 3 mesiacov. Celkový počet semenáčikov pre každú materskú rastlinu uvádza stĺpec „Spolu“. (Zdroj: Murgašová, M.)

	15.2. Nové	23.2. Nové	2.3. Nové	9.3. Nové	16.3. Nové	21.3. Nové	31.3. Nové	5.4. Nové	13.4. Nové	Spolu
JEL-C-1	0	9	5	2	6	1	0	1	0	24
JEL-C-2	0	2	7	62	4	21	2	0	0	98
JEL-N-1	8	15	6	3	5	0	0	0	0	37
JEL-V-1	5	13	3	4	0	0	1	0	0	26
JEL-V-2	3	23	5	4	1	0	1	1	0	38
VPA-C-2	4	10	24	173	3	6	5	2	2	229
VPA-C-3	2	14	1	29	13	0	0	0	1	60
VPA-C-4	1	7	7	2	3	0	0	0	0	20
VPA-C-5	0	7	8	1	10	4	0	0	0	30
VPA-N-2	41	28	16	22	16	1	1	1	1	127
VPA-N-3	12	8	4	5	8	0	0	0	0	37
VPA-V-2	2	3	5	0	0	0	0	0	0	10
VPA-V-3	0	3	0	0	0	0	0	0	0	3
VPA-V-4	2	1	0	0	0	0	0	0	0	3
VPA-V-5	6	8	2	3	0	0	8	0	0	27

Celkovo bol zmeraný relatívny obsah DNA pomocou DAPI prietokovej cytometrie pre 769 semenáčikov pochádzajúcich z potomstva 15 materských rastlín.

Na základe meraní bolo možné materské rastliny a väčšinu semenáčikov priradiť k diploidnému ploidnému stupňu. RSS hodnoty materských rastlín boli v rozmedzí 0,809-0,913 a hodnoty semenáčikov 0,784-0,932 (Tab. 2).

Pri potomstve z materskej rastliny VPA-C-4 bola pri jednom jedincovi zaznamenaná hodnota RSS 1,161, ktorá by mohla zodpovedať triploidii. U hybridnej rastliny VPA-N-2 sme pri deviatich semenáčikoch namerali hodnoty v rozmedzí RSS 1,225-1,277, ktoré tiež pravdepodobne zodpovedajú triploidnému stupňu (Tab. 2).

Pri tej istej rastline VPA-N-2 sa pri troch semenáčikoch namerali hodnoty v rozmedzí RSS 1,63-1,721, ktoré by už zodpovedali tetraploidii [3].

Tab. 2 Hodnoty relatívneho obsahu DNA pre materské rastliny a ich vyklíčené semenáčiky (výsev 9.2.2022). Relatívny obsah DNA udávaný ako pomer pozície G1 píku štandardu a meranej vzorky (RSS). Hodnoty pre semenáčiky pre konkrétnu materskú rastlinu sú rozdelené na základe odhadovanej ploidie (2x, 3x, 4x), pre každú ploidiu bol udaný priemer, minimálne a maximálne hodnoty a v zátvorke počet vyklíčených jedincov (Zdroj: Murgašová, M.)

Materská rastlina		Semenáčiky		
Kód materskej rastliny	Relatívny obsah DNA (RSS)	Relatívny obsah DNA (RSS), priemer; min-max (počet)		
		2x	3x	4x
JEL-C-1	0,824	0,816; 0,801-0,833 (24)		
JEL-C-2	0,812	0,815; 0,779-0,848 (82)		
JEL-N-1	0,867	0,864; 0,828-0,916 (38)		
JEL-V-1	0,910	0,911; 0,864-0,932 (20)		
JEL-V-2	0,910	0,913; 0,865-0,934 (39)		
VPA-C-2	0,809	0,820; 0,792-0,875 (133)		
VPA-C-3	0,812	0,814; 0,784-0,828 (59)		
VPA-C-4	0,820	0,814; 0,791-0,836 (24)	1,161 (1)	
VPA-C-5	0,812	0,822; 0,809-0,863 (20)		
VPA-N-2	0,855	0,844; 0,812-0,932 (113)	1,258; 1,225-1,277 (9)	1,676; 1,630-1,721 (3)
VPA-N-3	0,857	0,838; 0,794-0,894 (38)		
VPA-V-2	0,900	0,909; 0,899-0,915 (5)		
VPA-V-3	0,902	0,914; 0,906-0,923 (4)		
VPA-V-4	0,913	0,910; 0,909-0,911 (3)		
VPA-V-5	0,905	0,907; 0,864-0,924 (26)		

Pri cytometrických analýzach sme zaznamenali prípady pravdepodobného vytvárania F1 hybridov, rovnako ako aj spätné kríženie *S. ×niederederi* a rodičovských taxónov.

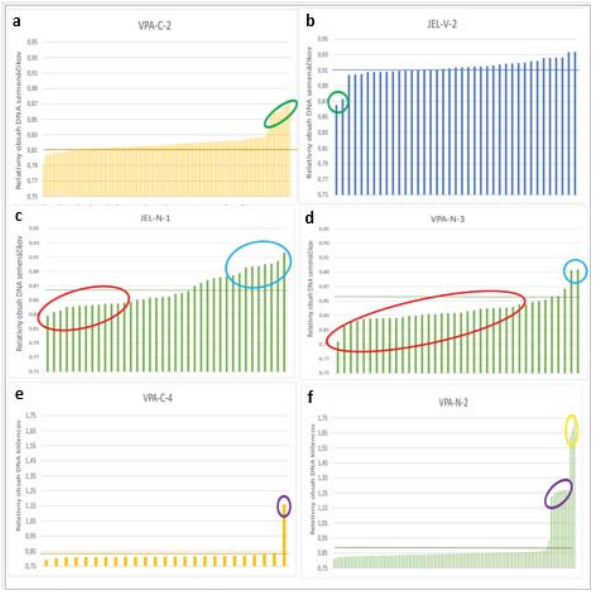
Pri VPA-C-2 bolo zaznamenaných 11 semenáčikov s pravdepodobne hybridným pôvodom (Obr. 8a).Pri JEL-V-2 boli nájdení dvaja hybridní potomkovia (Obr. 8b).

Pri hybridnom druhu *S. ×niederederi* sme počas analýz semenáčikov zaznamenali prípady, ktoré by svojím obsahom DNA zodpovedali spätným krížencom s oboma rodičovskými druhmi v potomstve všetkých troch hybridných rastlín.

Vo výsledkoch v tejto práci bola pri JEL-N-1 zaznamenaná rovnováha medzi spätným krížením so *S. virgaurea* a *S. canadensis* (Obr. 8c).

Pri semenáčikoch z materskej rastliny *S. ×niederederi* pôvodom z Veľkého Paklánu sa ukázala prevaha spätného kríženia so *S. canadensis* (Obr. 8d).

Pri meraniach sa v tejto práci vyskytli prípady triploidie a tetraploidie. Triploidní a tetraploidní potomkovia sa zistili pri dvoch rastlinách: VPA-C-4 a VPA-N-2 (Obr. 8e, f).



Obr. 8 Výsledky FCM analýzy (RSS hodnoty) potomstva jednotlivých materských rastlín. Horizontálna čiara predstavuje relatívny obsah DNA materskej rastliny.

a) VPA-C-2, zobrazené semenáčiky v počte 133. Zelenou farbou je vyznačených 11 hybridov F1 generácie, ktoré dosahovali podstatne vyššie hodnoty relatívneho obsahu DNA. **b)** JEL-V-2, zobrazené semenáčiky v počte 39. Zelenou farbou sú vyznačené 2 hybridy F1 generácie, ktorá dosahovali nižšie hodnoty relatívneho obsahu DNA.

c) JEL-N-1, zobrazené semenáčiky v počte 39. Červenou farbou sú vyznačené spätne krížené jedince (13) so *S. canadensis* a modrou farbou (9) so *S. virgaurea*. **d)** VPA-N-3, zobrazené semenáčiky v počte 38. Červenou farbou sú vyznačené spätné krížence (30) so *S. canadensis* a modrou (2) so *S. virgaurea*. **e)** VPA-C-4, zobrazené semenáčiky v počte 25. Fialovou farbou je vyznačený 1 triploidný jedinec. **f)** VPA-N-2, zobrazené semenáčiky v počte 125. Fialovou farbou je vyznačených 10 triploidných jedincov a žltou farbou 3 tetraploidné jedince. (Zdroj: Murgašová, M.)

V rámci klíčiaceho experimentu sa nevysádzali rovnaké množstvá plne vyvinutých semien. Na základe uvedenej skutočnosti nebolo možné určiť percento klíčivosti.

Vyhodnotili sa len celkové počty vyklíčených semien, pri každej rastline bolo vysadené relatívne veľké množstvo. Z celkového počtu 769 semenáčikov, ich vyklíčilo pri *S. canadensis* 461, pri *S. virgaurea* 107 a pri *S. ×niederederi* 201.

Výsledky klíčivosti rodičovských druhov v tejto práci sú v rozpore s pozorovaniami zistenými v prácach [8,9]. Výsledky v oboch prácach zaznamenali v rámci rodičovských druhov viac vyklíčených jedincov pri *S. virgaurea* než pri *S. canadensis*.

V tejto práci dosiahli väčšiu klíčivosť práve semená *S. canadensis*, pričom semená *S. virgaurea* klíčili slabšie.

Slabá klíčivosť *S. virgaurea* bola zaznamenaná pri jedincoch z lokality Veľký Paklán. Na tejto lokalite rastie v hojnom zastúpení aj tetraploidný druh *S. gigantea*. Z tohto dôvodu nie je možné vylúčiť, že výsledkom opelenia týmto druhom boli semená s triploidným embryom a mali tak zníženú klíčivosť.

Najvyššiu rýchlosť klíčenia dosahovali semená z materských rastlín *S. ×niederederi*, čo sa zhoduje s výsledkami predchádzajúcich prác [9,10].

V minulosti sa experimentálne potvrdilo, že hybridné potomstvo vzniká len so *S. virgaurea* [11]. Výsledky dosiahnuté v tejto práci dokázali, že materskou rastlinou je aj *S. canadensis*. Uvedené sa zhoduje s predpokladmi na základe genetických dát [3,12].

Výsledky dokazujú, že v zmiešaných populáciách dochádza k prenosu peľu medzi rastlinami rôznych druhov/taxónov a to vedie k opakovanému vzniku hybridov a aj spätných krížencov. Avšak doteraz nie je jasné, či spätné krížence zistené v našom experimente majú možnosť prežitia vo voľnej prírode alebo rýchlo odumierajú.

Doteraz neboli triploidné ani tetraploidné úrovne pri skúmaných druhoch známe a neboli zachytené ani pri podrobnom zbere karyologických dát v zmiešaných populáciách [3].

Preto je pravdepodobné, že vo voľnej prírode triploidné a tetraploidné semenáčiky neprežívajú dlho. Za primárny mechanizmus vzniku polyploidov sa považujú neredukované gaméty. Ich zvýšená tvorba môže byť následkom poruchy samčej gametogenézy pri hybridoch [13,14,15].

Záver

Krížením invázneho druhu *S. canadensis* s pôvodne sa vyskytujúcim druhom *S. virgaurea* vzniká ich hybrid *S. ×niederederi*. U hybridného taxónu sa uvádza vysoký potenciál k úspešnému šíreniu vo voľnej prírode.

V dôsledku spätného kríženia so *S. virgaurea* môže dôjsť k ohrozeniu tohto pôvodného druhu.

Hlavným cieľom práce bola analýza potomstva u jedincov z dvoch zmiešaných populácií prostredníctvom metódy DAPI prietokovej cytometrie.

Klíčiaci experiment trvajúci 3 mesiace poskytol celkový počet 769 klíčencov.

Počas doby trvania experimentu sme zaznamenávali rýchlosť klíčenia, práve u potomstva hybridných rastlín sme zaznamenali najrýchlejšie klíčenie.

V rámci práce sme potvrdili, že DAPI prietokovou cytometriou možno rozlíšiť jednotlivé druhy a pravdepodobné hybridy a spätné kríženc v potomstve.

Výsledky poukazujú na opakovaný vznik hybridov v zmiešaných populáciách, pravdepodobný vznik aj spätných krížencov a na to, že hybridy vznikajú z materských rastlín *S. canadensis* aj *S. virgaurea*.

Poďakovanie

Na tomto mieste by som sa veľmi rada poďakovala vedúcej svojej bakalárskej práce RNDr. Kataríne Skokanovej, PhD. a konzultantke RNDr. Barbore Šingliarovej, PhD. za možnosť realizácie praktickej časti v laboratóriu prietokovej cytometrie na SAV v Banskej Bystrici, za odbornú pomoc, cenné rady a informácie, ktoré ma pomohli usmerniť pri písaní práce, a v neposlednom rade za podporu a ochotu. Tento príspevok podporili granty: VEGA 2/0024/23 a APVV-19-0134.

Použitá literatúra:

[1] HARRISON, Richard – LARSON, Erica. 2014. Hybridization, introgression, and the nature of species boundaries. In The Journal of Heredity, vol. 105, no. 1, pp. 795-809. ISSN 1465-7333.

[2] ABBOTT, Richard John. 1992. Plant invasions, Interspecific Hybridization and the Evolution of New Plant Taxa. In Trends in Ecology and Evolution, vol. 7, no. 12, pp. 401-405. ISSN 1872-8383.

[3] SKOKANOVÁ, Katarína – ŠINGLIAROVÁ, Barbora – ŠPANIEL Stanislav et al. 2022. Relative DNA content dif ferences reliably identify *Solidago ×niederederi* hybrid between native and invasive alien species. In Preslia, vol. 94, no. 1, pp. 183-213. ISSN 2570-950X.

[4] SKOKANOVÁ, Katarína – ŠINGLIAROVÁ, Barbora – ŠPANIEL Stanislav et al. 2020. Tracking the expanding distribution of Solidago ×niederederi (Asteraceae) in Europe and first records from three countries within the Carpathian region. In BioInvasions Records, vol. 9, no. 4, pp. 670-684. ISSN 2242-1300.

[5] DOLEŽEL, Jaroslav – GREILHUBER, Johann – SUDA, Jan. 2007a. Flow Cytometry with Plant Cells. Weinheim: WILEY-VCH, pp. 480. ISBN 978-3-527-31487-4.

[6] DOLEŽEL, Jaroslav – GREILHUBER, Johann – SUDA, Jan. 2007b. Estimation of nuclear DNA content in plants using flow cytometry. In Nature Protocols, vol. 2, no. 9, pp. 2233-2244. ISSN 1754-2189.

[7] TEMSCH, Eva – GREILHUBER, Johann – KRISAI,Robert 2010. Genome size in liverworts. In Preslia, vol. 82, no. 1, pp. 63–80. ISSN 2570-950X.

[8] PLIZSKO, Artur – KOSTRAKIEWICZ-GIERAŁT, Kinga. 2017. Seed germination in *Solidago ×niederederi* (Asteraceae) and its parental species after two different fruit storage periods. In Biodiversity : Research and Conservation, vol. 48, no. 1, pp. 19. ISSN 2080-945X.

[9] PLIZSKO, Artur – KOSTRAKIEWICZ-GIERAŁT, Kinga. 2020. Effect of pappus removal on seed germination in *Solidago ×niederederi* (Asteraceae) and closely related species. In Biologia, vol. 76, no. 9, pp. 1241-1249. ISSN 1336-9563.

[10] PLIZSKO, Artur – KOSTRAKIEWICZ-GIERAŁT, Kinga. 2018. Effect of cold stratification on seed germination in Solidago × niederederi (Asteraceae) and its parental species. In Biologia, vol. 73, no. 10, pp. 945-950. ISSN 1336-9563.

[11] NILSSON, A. 1976. Spontana gullrishybrider (*Solidago canadensis* × *virgaurea*) i Sverige och Danmark. In Svensk Botanisk Tidskrift, vol. 70, pp. 7–16.

[12] PLIZSKO, Artur – ZALEWSKA-GAŁOSZ, Joanna.2016 Molecular evidence for hybridization between invasive Solidago canadensis and native S. virgaurea. In Biological Invasions. vol. 18, no. 11, pp. 3103-3108. ISSN 1573 -1464.

[13] KREINER, Julia – KRON, Paul – HUSBAND, Brain. 2017. Frequency and maintenance of unreduced gametes in natural plant populations : Association with reproductive, mode, life, history and genome size. In New Phytologist, vol. 214, no. 4, pp. 879-889. ISSN 1469-8137.

[14] TIÉBRÉ, Marie Solange – VANDERHOEVEN Sonia – SAAD, Layla – MÁHY, Gregory. 2007. Hybridization and Sexual Reproduction in The Invasive Alien Fallopia [Polygonaceae] Complex in Belgium. In Annals of Botany, vol. 91, no. 1, pp. 193-203. ISSN 1095-8290.

[15] MASON, Annaliese J. – PIRES, Chris J. 2015. Unreduced gametes: meiotic mishap or evolutionary mechanism?. In Trends in Genetics, vol. 31, no. 1. pp. 5-10. ISSN 0168-9525.

Taxonomické hodnotenie a variabilita veľkosti genómu v skupinách *Erysimum odoratum* a *E. virgatum* (Brassicaceae)

Taxonomic treatment and genome size variation in *Erysimum odoratum* a *E. virgatum* species complexes (Brassicaceae)

Richard Bačák[1]
Školiteľ: Judita Zozomová[2] a Ingrid Turisová[3]
[1]Katedra biológie a ekológie, FPV UMB v Banskej Bystrici, Tajovského 40, 974 01 Banská Bystrica
[2]Botanický ústav, Centrum biológie rastlín a biodiverzity SAV, Dúbravská cesta 9, 845 23 Bratislava
[3]Katedra biológie a ekológie, FPV UMB v Banskej Bystrici, Tajovského 40, 974 01 Banská Bystrica
[1]rbacak2@student.umb.sk, [2]judita.zozomova@savba.sk, [3]ingrid.turisová@umb.sk

Abstrakt

Erysimum je druhovo bohatý, taxonomicky komplikovaný rod so značným zastúpením endemitov a polyploidov. Naša pozornosť sa upriamila na dve skupiny druhov s centrom rozšírenia v strednej Európe a na Balkáne: *Erysimum odoratum* a *E. virgatum*. Cieľom štúdia bolo spracovať a porovnať taxonomické koncepty týchto skupín od rôznych autorov, zostaviť prehľad lokalít, sumarizovať výskyt druhov a tiež stanoviť karyologickú variabilitu pomocou merania obsahu DNA metódou prietokovej cytometrie. Vyexcerpovali sme celkovo 8 120 údajov o výskyte z viacerých elektronických a literárnych zdrojov. Analýza obsahu DNA v 112 populáciách a 266 jedincoch skupiny *E. odoratum* ukázala prítomnosť diploidov až hexaploidov a výskyt viacerých cytotypov v druhoch *E. odoratum, E. witmannii* s.l. a *E. carniolicum.* Analýza obsahu DNA v 29 populáciách a 85 jedincoch skupiny *E. virgatum* potvrdila hexaploidnú úroveň avšak s odlišnou veľkosťou genómu v niektorých druhoch. Naše výsledky potvrdzujú, že rod *Erysimum* je taxonomicky aj evolučne zložitý a zasluhuje si detailnejší výskum.

Kľúčové slová: *Erysimum*, prietoková cytometria, endemizmus, polyploidia, Karpaty

Abstract

Erysimum is a species-rich and taxonomically complex genus with a high proportion of endemics and polyploids. Our attention is focused on two groups distributed mainly in Central Europe and the Balkan Peninsula: the *Erysimum odoratum* and *E. virgatum* groups. Our aim was to compare taxonomic treatments of different authors, summarise distribution data, and determine karyological variation using flow cytometric measurements of DNA content. We extracted 8 120 occurrence data from several databases and literature sources. DNA content analyses in 112 populations and 266 individuals of the *E. odoratum* group revealed diploids to hexaploids and the presence of different cytotypes within *E. odoratum, E. witmannii* s.l. and *E. carniolicum.* Measurements of the DNA content in 29 populations and 85 individuals of the *E. virgatum* group confirmed the hexaploid level but also showed differences in genome size between some species. Our results confirm that the genus *Erysimum* is taxonomically and evolutionarily complicated and deserves further research.

Key Words: *Erysimum*, flow cytometry, endemism, polyploidy, Carpathians

Úvod

Rod horčičník (*Erysimum* L.) je jeden z druhovo najbohatších rodov čeľade kapustovité, ktorý zahŕňa približne 150 až 350 druhov rozšírených naprieč severnou hemisférou Zeme [1]. V Európe je rozlišovaných takmer 60 druhov, z ktorých sú mnohé endemické a viazané výskytom na malé územia [2]. Na základe molekulárneho datovania a biogeografických analýz sa predpokladá, že rod sa začal diverzifikovať v pliocéne až pleistocéne pred 5,2 až 2,33 miliónmi rokov v oblasti južnej Európy alebo juhozápadnej Ázie

[3]. Z taxonomického aj evolučného hľadiska je však zatiaľ málo preskúmaný. Jeho komplikovanosť súvisí s rýchlou a nedávnou radiáciou, výskytom kryptických druhov, vysokou cytologickou diverzitou na diploidnej, ale aj polyploidnej úrovni a v neposlednom rade aj medzidruhovou hybridizáciou [4]. Z hľadiska ekológie osídľujú horčičníky rôzne druhy biotopov, z čoho následne vyplýva ich rôznorodá morfológia a rastové typy [5].

V posledných rokoch boli podrobnejšie študované druhy na Iberskom polostrove s cieľom objasnenia ich častej spontánnej hybridizácie a polyploidizácie s použitím najnovších molekulárnych prístupov [4, 6, 7]. Chýba ucelená monografia rodu, hoci rakúsky botanik Polatschek publikoval viacero čiastkových, geograficky ohraničených taxonomických prác a revízií [8, 9]. Nebolo zatiaľ publikované ani vnútrorodové členenie do formálnych taxonomických jednotiek, avšak niektoré pravdepodobne príbuzné druhy autori zoskupujú do neformálnych skupín. Takýmito skupinami sú aj *E. odoratum* a *E. virgatum* s centrom rozšírenia v strednej Európe a na Balkáne a viacerými endemitmi Karpát a Panónie [10, 11, 12]. Uvedené skupiny sú centrom nášho výskumu (Tab. 1). Skupina *E. odoratum* pozostáva z deviatich druhov, a to *Erysimum odoratum* Ehr., *E. witmannii* Zaw., *E. carniolicum* Dolliner, *E. croaticum* Polatschek, *E. vitekii* Polatschek, *E. pallidiflorum* Szepl. ex Jáv., *E. transsilvanicum* Schur, *E. pectinatum* Bory & Chaub. a *E. kuemmerlei* Jáv. a zahŕňa diploidy aj polyploidy. Skupina *E. virgatum* sa skladá z nasledovných šiestich polyploidných druhov – *Erysimum virgatum* Roth, *E. hieracifolium* L., *E. wahlenbergii* (Asch. & Engl.) Simonk., *E. marschallianum* Andrz. ex M. Bieb., *E. hungaricum* Zapał. a *E. pieninicum* (Zapał.) Pawł. (Tab. 1). [10, 14]

Cieľom štúdia týchto dvoch skupín bude objasnenie ich taxonomického hodnotenia, štúdium morfologickej a karyologickej variability, rekonštrukcia fylogenetických vzťahov a evolúcia polyploidov. V rámci prezentovanej štúdie sú konkrétne ciele stanovené nasledovne: 1) spracovať a porovnať taxonomické koncepty rôznych autorov, identifikovať v nich taxonomické a nomenklatorické rozpory; 2) zostaviť prehľad lokalít a sumarizovať výskyt študovaných druhov z dostupných databáz a knižných publikácií; 3) stanoviť obsah DNA s využitím prietokovej cytometrie (FCM) a zistiť, aké ploidné stupne a cytotypy sa vyskytujú v študovaných druhoch a skupinách.

1 Materiál a metódy

1.1 Taxonomický prehľad skupín

Pri štúdiu taxonomického ponímania skupín a druhov porovnávame koncepty z celoeurópsky uznávaných diel Atlas Florae Europaea [10] a Flora Europaea [11], taktiež z elektronických databáz [15, 16] a z prác týkajúcich sa územia Slovenska [17, 18].

1.2 Excerpcia údajov o geografickom rozšírení

Pri sumarizácii údajov o geografickom rozšírení skúmaných druhov skupín *E. odoratum* a *E. virgatum* vychádzame zo siedmich elektronických zdrojov (databáz) [19, 13, 20, 21, 22, 23, 14] a ôsmich literárnych zdrojov [24, 25, 18, 17, 26, 12, 27, 28].

1.3 Zber rastlinného materiálu v teréne

Rastlinný materiál zástupcov študovaných skupín bol zbieraný v rokoch 2021 až 2022 tímom výskumných pracovníkov Centra biológie rastlín a biodiverzity (CBRB) SAV v Bratislave a Katedry biológie a ekológie Fakulty prírodných vied Univerzity Mateja Bela v Banskej Bystrici, pričom na zbere sa podieľal aj autor príspevku. Z populácií na navštívených lokalitách boli odobrané listy určené na cytometrickú analýzu obsahu DNA, ktoré boli bezprostredne po zbere usušené v silikagéli. Vyhotovené boli aj dokladové herbárové položky. Z vybraných populácií boli tiež zbierané semená.

1.4 Analýza obsahu DNA prietokovou cytometriou

Prietoková cytometria (FCM – flow cytometry) predstavuje presnú, nedeštruktívnu, efektívnu a spoľahlivú metódu na stanovenie obsahu DNA a ploidie študovaných rastlín [29]. Spracovanie vzoriek zahŕňalo mechanické narušenie pletiva a uvoľnenie jadier pomocou žiletky v roztoku Otto I, filtrácia suspenzie pomocou nylonového filtra (0,42 µm) a farbenie fluorescenčným farbivom DAPI (4´,6-diamino-2-fenylindol) v roztoku Otto II. Fluorescenčné farbivo DAPI sa naviaže na AT bázové páry zastúpené v DNA, ktoré po ožiarení laserovým lúčom emituje žiarenie viditeľné v optickej časti prietokového cytometra. Analýza vzoriek prebehla na prietokovom cytometri značky CyFlow Space (Partec Münster, Nemecko) na pracovisku Botanického ústavu CBRB SAV v Banskej Bystrici. Ako interný štandard bol použitý rajčiak jedlý (*Solanum lycopersicum* L., veľkosť genómu 2C = 1,96 pg) a ľuľok paprikový (*Solanum pseudocapsicum* L., 2C = 2,59 pg). Referenčný štandard

slúži na porovnanie a následne vypočítanie veľkosti genómu analyzovaných druhov [29].

Pre interpretáciu nameraných hodnôt fluorescencie (pomerov fluorescencie jadier vzoriek voči štandardu) a ich priradenie k ploidným úrovniam a cytotypom bol z vybraných populácií určený počet chromozómov pozorovaný v mitózach meristematických buniek, a tiež boli využité publikované chromozómové údaje z daných populácií [12, 17].

1.5 Stanovenie počtu chromozómov z roztlakových preparátov

Počet chromozómov bol stanovený z koreňových meristémov vyklíčených semien. Korienky boli ošetrené roztokom 8-hydroxychinolínu (0,002 M) v chlade, následne fixované v zmesi etanolu a kyseliny octovej (3:1), macerované v 1M HCl pri 60 °C a roztlačené na podložnom sklíčku v kvapke 5 % kyseliny octovej s použitím celofánu. Preparát sa ofarbil Giemsovým farbivom v 7 %-nom Sorensenovom fosfátovom pufri s pH 7 [30].

2 Výsledky a diskusia

2.1 Spracovanie taxonomického prehľadu a rozšírenia druhov

Porovnanie taxonomických konceptov skupín *Erysimum odoratum* a *E. virgatum* v študovaných dielach a databázach ukázalo taxonomický aj nomenklatorický nesúlad. Z uvedeného vyplýva, že chápanie niektorých druhov a používanie mien sa v rôznych zdrojoch líši. Ako príklad môžeme uviesť druh *E. pallidiflorum* zo skupiny *E. odoratum*, ktorého postavenie ako samostatného druhu akceptuje len Flóra Slovenska [18], Euro+Med PlantBase [16], avšak nie Atlas Florae Europaeae [10] ani Flora Europaea [11], kde je považovaný len za synonymum mena *E. witmannii*. Podobne je druh *E. transsilvanicum* akceptovaný v diele Atlas Florae Europaeae [10], ale v iných zdrojoch je toto meno považované za synonymum mena *E. witmannii*. Keďže nie je medzi týmito troma druhmi zatiaľ jednoznačné morfologické ani geografické ohraničenie, predbežne ich spájame v ďalšom texte ako *E. witmannii* s.l. Pre vyriešenie ich taxonomického hodnotenia budú potrebné detailné morfologické a molekulárne analýzy.

Zo skupiny *E. virgatum* môžeme ako príklad uviesť *E. hieracifolium*, ktorého samostatné taxonomické postavenie akceptovala väčšina publikácií a databáz, avšak práve Atlas Florae Europaeae [10] používa toto meno iba ako synonymum mena *E. strictum*. Atlas Florae Europaeae [10] ani Flora Europaea [11] tiež nerozlišujú západokarpatské endemity *E. wahlenbergii* a *E. pieninicum*, ale zaraďujú ich pod širšie chápaný druh *E. hungaricum*. Navyše, časť východoalpských údajov pre *E. virgatum* Melzer a Polatschek [24] priraďujú k východokarpatskému druhu *E. hungaricum*. Aj v tomto prípade bude potrebné detailnejšie morfologické a molekulárne štúdium na objasnenie taxonomickej príslušnosti alpských populácií.

Z literárnych aj elektronických zdrojov sme vyexcerpovali 8 120 údajov o výskyte, ktoré následne slúžili ako podklad pre terénne zbery vzoriek určených na analýzu prietokovou cytometriou. Lokality zberu analyzovaných jedincov vyobrazuje obrázok 1.

Obr. 1: Lokality zberu *Erysimum* vzoriek určených na analýzy obsahu DNA prietokovou cytometriou

2.2 Karyologická variabilita

Chromozómové počty druhov študovaných skupín boli publikované vo viacerých vedeckých prácach a článkoch. Tabuľka 1 predstavuje sumarizáciu zistení pre jednotlivé druhy. Z prehľadu je zjavné, že kým skupina *E. odoratum* zahŕňa ako diploidné druhy (s rôznym základným číslom x = 6 aj x = 7, prípadne aj x = 9), tak aj polyploidné druhy. Skupina *E. virgatum* obsahuje len polyploidy, s prevahou hexaploidov. Naše prvé výsledky analýzy počtu chromozómov potvrdzujú diploidnú úroveň s 2n = 14 pre *E. witmannii* s.l., diploidnú (2n = 14) aj tetraploidnú (2n = 32) úroveň pre *E. odoratum* (determinované z lokalít na Slovensku).

Tab. 1: Prehľad druhov rozlišovaných v skupinách *Erysimum odoratum* a *E. virgatum* s uvedením publikovaných počtov chromozómov a areálom.

Hviezdičkou sú označené druhy, ktoré v niektorých zdrojoch nie sú akceptované ako samostatné druhy. Zdroj: [10, 11, 12, 15, 17, 31, 32, 33]

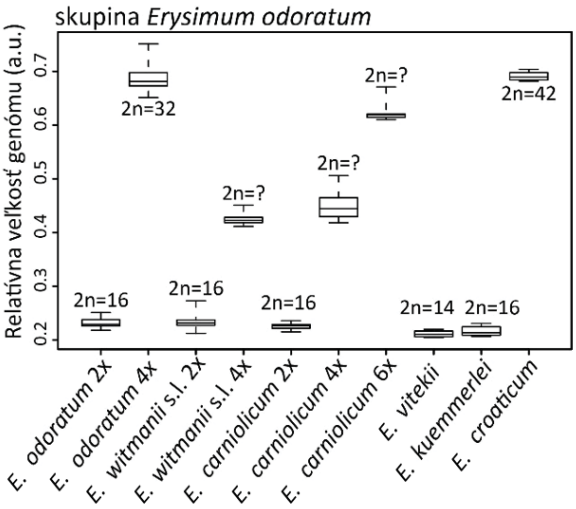
skupina *E. odoratum*		
Druh	**2n=**	**Areál**
E. odoratum	14,32	Európa
E. witmannii	14	Karpaty
E. carniolicum	14	Balkán
E. croaticum	42	Západný Balkán
E. vitekii	12	Západný Balkán
*E. pallidiflorum**	14	Predkarp. endemit
*E. transsilvanicum**	18	Vých. a Juž. Karpaty
E. pectinatum	12	Grécko
E. kuemmerlei	14	Západný Balkán
skupina *E. virgatum*		
Druh	**2n=**	**Areál**
E. virgatum	48	Európa
E. hieraciifolium	32, 48	Severná hemisféra
E. wahlenbergii *	48	Západné Karpaty
E. marschallianum	48	Euroázia
E. hungaricum	48	Východné Karpaty
*E. pieninicum**	-	Pieniny

2.3 Analýza veľkosti genómu stanovená prietokovou cytometriou

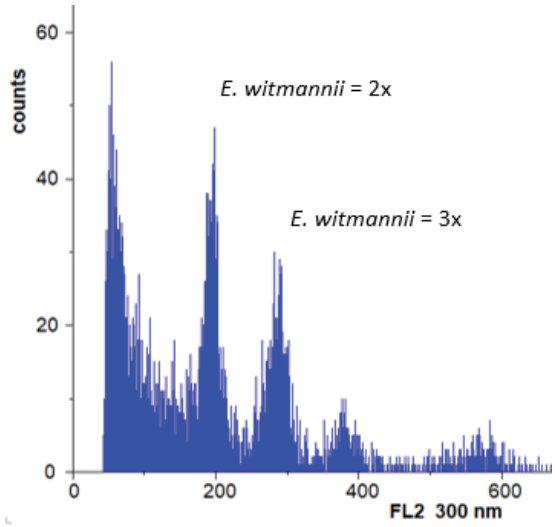
Namerané hodnoty relatívneho obsahu DNA pomocou prietokovej cytometrie ukázali značnú variabilitu vo veľkosti genómu študovaných druhov, ktorá bola sčasti v súlade s publikovanými počtami chromozómov a ploidnými stupňami, ale v mnohých prípadoch odhalila aj prítomnosť ďalších, doteraz neuvádzaných cytotypov.

V skupine *Erysimum odoratum* sme merali hodnoty relatívneho obsahu DNA u 7 druhov. Celkovo sa jedná o 112 populácií a 266 jedincov. Druh *E. odoratum* je jeden z mála druhov, pre ktorý boli udávane dva rôzne cytotypy, diploidy s 2n = 14 a tetraploidy s 2n = 32. Už tento poznatok, že tetraploidy majú viac než dvojnásobok počtu chromozómov diploidov, naznačuje, že nepredstavujú jednoduchú duplikáciu (autotetraploidiu) genómu voči diploidom. Cytometrické merania potvrdili existenciu dvoch cytotypov; časť populácií zodpovedala diploidnej úrovni, kým ostatné mali výrazne, až 3-násobne vyšší obsah DNA než diploidy. Na základe publikovaných aj nami overených počtov chromozómov tento vyšší obsah zodpovedá cytotypu 2n = 32 (obr. 2).

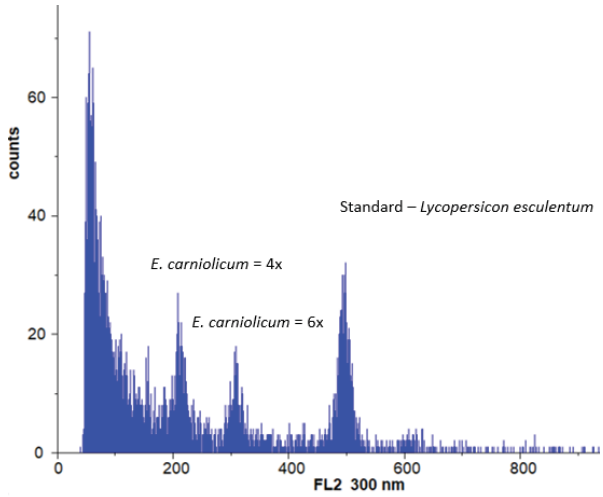
Pri analýzach populácií *E. witmannii* s.l. (t.j. *E. witmannii, E. pallidiflorum, E. transsilvanicum*) sme podľa očakávania zistili vo väčšine populácií diploidnú úroveň. Okrem toho sme v dvoch populáciách zo Slovenka zistili výskyt triploida. Zaujímavým a nečakaným zistením boli populácie z pohoria Piatra Craiului, v Južných Karpatoch, v ktorých boli namerané dvojnásobné hodnoty obsahu DNA ako v diploidoch, čo by mohli predstavovať autotetraploidy. Presný počet chromozómov bude potrebné ešte stanoviť (obr. 2, 3). V prípade druhu *E. carniolicum* sme namerali hodnoty relatívneho obsahu DNA zodpovedajúce až trom rôznym cytotypom. Okrem očakávaných diploidov sme zistili dvojnásobne aj trojnásobne vyšší obsah, ktorý by mal prislúchať tetraploidom a hexaploidom (obr. 2). Hodnoty relatívneho obsahu DNA v populáciách druhov *E. kuemmerlei* a *E. vitekii* zodpovedali predpokladanej diploidnej úrovni (obr. 2). V populáciách druhu *E. croaticum* namerané hodnoty zodpovedali publikovanej hexaploidnej úrovni (obr. 2).



Obr. 2: Variabilita nameraných hodnôt relatívneho obsahu DNA (veľkosti genómu) metódou prietokovej cytometrie v jednotlivých druhoch, respektíve cytotypoch skupiny *Erysimum odoratum*. Relatívny obsah DNA je uvedený ako pomer intenzity fluorescencie jadier meranej vzorky ku jadrám interného štandardu (*Solanum lycopersicum*) vo fáze G0/G1 (a.u., *arbitrary units*). *Box-and-whiskers* grafy (boxploty) zobrazujú 25. a 75. percentil (hranice obdĺžnika), medián (horizontálna čiara), minimálnu a maximálnu hodnotu. Uvedené sú počty chromozómov v prípadoch, kde sú známe, t.j. boli stanovené v rámci tejto práce alebo publikované inými autormi pre dané druhy, prípadne aj konkrétne analyzované populácie (Zozomová, J., a Bačák, R.)

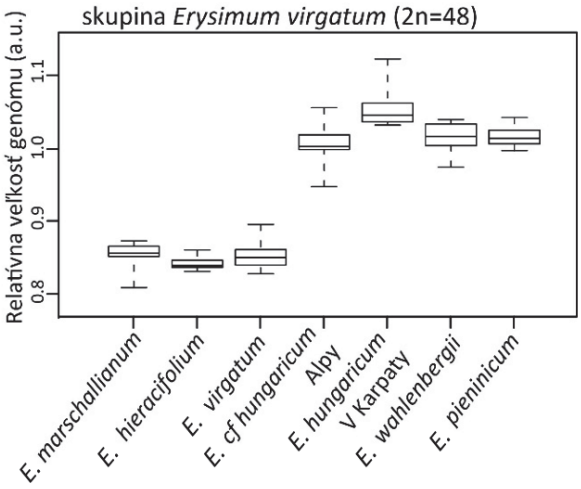


Obr. 3: FCM histogram znázorňujúci výskyt triploida v diploidnej populácii druhu *Erysimum witmannii* (Šingliarová, B. a Bačák, R.).



Obr. 4: FCM histogram znázorňujúci dvojnásobné a trojnásobné hodnoty diploidnej úrovne relatívneho obsahu DNA u *E. carniolicum* (Šingliarová, B. a Bačák, R.).

V skupine *Erysimum virgatum* sme merali hodnoty relatívneho obsahu DNA u 6 druhov. Celkovo sa jedná o 29 populácií a 85 jedincov. V prípade druhu *E. hieracifolium* boli už známe publikované tetraploidy aj hexaploidy, kým v ostatných druhoch boli doposiaľ zistené výlučne hexaploidy 2n = 48. Všetky namerané hodnoty relatívneho obsahu DNA zodpovedali hexaploidnej úrovni. Predsa sme však pozorovali rozdiely v obsahu DNA medzi študovanými druhmi: *E. marschallianum*, *E. hieracifolium* a *E. virgatum* mali o niečo menší genóm než karpatské endemity *E. hungaricum*, *E. wahlenbergii* a *E. pieninicum*. Časť východoalpských populácií druhu *E. virgatum* zaraďovaných podľa autorov Melzer & Polatschek [24] ku druhu *E. hungaricum*, mala obsah DNA odlišný od ostatných populácií z Álp a ich predhoria a v skutočnosti zodpovedali skôr karpatským endemitom (obr. 5, označené ako *E.* cf. *hungaricum* Alpy).



Obr. 5: Variabilita nameraných hodnôt relatívneho obsahu DNA (veľkosti genómu) metódou prietokovej cytometrie v jednotlivých druhoch skupiny *Erysimum virgatum*. Relatívny obsah DNA je uvedený ako pomer intenzity fluorescencie jadier meranej vzorky ku jadrám interného štandardu (*Solanum lycopersicum*) vo fáze G0/G1 (a.u., *arbitrary units*). *Box-and-whiskers* grafy (boxploty) zobrazujú 25. a 75. percentil (hranice obdĺžnika), medián (horizontálna čiara), minimálnu a maximálnu hodnotu (Zozomová, J. a Bačák, R.).

Záver

Pri štúdiu taxonomických konceptov skupín *Erysimum odoratum* a *E. virgatum* sa odhalil nomenklatorický a taxonomický nesúlad, teda chápanie niektorých druhov a používanie mien sa v rôznych či už elektronických alebo literárnych zdrojoch líši. Excerpcia údajov o geografickom rozšírení druhov priniesla množstvo dát, ktoré slúžia ako podklad pre terénne zbery a podrobnejšie štúdium druhov. Hodnoty relatívneho obsahu DNA zistené prietokovou cytometriou naznačujú veľkú karyologickú variabilitu študovaných druhov. Okrem potvrdenia už známych ploidných stupňov sme v skupine *E. odoratum* odhalili prítomnosť aj doposiaľ neuvádzaných cytotypov. Vyššie spomenuté výsledky naznačujú potrebu detailnejšieho výskumu tohto rodu, ktorého súčasťou sú aj viaceré

endemity strednej Európy, vrátane Slovenska. V budúcnosti plánujeme štúdium morfologickej variability a diferenciácie druhov a cytotypov v rámci uvedených skupín a tiež rekonštrukciu fylogenetických vzťahov a pôvodu polyploidov s použitím molekulárnych metód.

Poďakovanie

Tento príspevok bol vypracovaný s podporou projektu APPV-21-0044. Touto cestou by som sa rád poďakoval vedúcemu grantu a všetkým riešiteľom za začlenenie ma do projektu a za možnosť participovať na ňom. Veľká vďaka patrí mojím školiteľkám Mgr. Judite Zozomovej, PhD. a doc. RNDr. Ingrid Turisovej, PhD. za odborné rady a uvedenie ma do problematiky v oblasti prietokovej cytometrie, karyologických analýz a taxonómie rodu *Erysimum.* Taktiež moja vďaka patrí aj RNDr. Barbore Šingliarovej, PhD. a RNDr. Kataríne Skokanovej, PhD., ktoré mi boli tútorkami pri cytometrických meraniach a analýze dát na Botanickom ústave CBRB SAV, pracovisko Banská Bystrica.

Použitá literatúra

[1] ZÜST, Tobias et al. 2020. Independent evolution of ancestral and novel defenses in a genus of toxic plants (*Erysimum*, Brassicaceae) in eLife, 9, e51712.

[2] HEGI, Gustav. 1975. Illustrierte Flora von Mitteleuropa, Band 6, Teil 1, 2nd ed. In Parey, pp. 135-151.

[3] MOAZZENI, Hamid et al. 2014. Phylogenetic perspectives on diversification and character evolution in the species-rich genus *Erysimum* (Erysimeae; Brassicaeae) based on a densely sampled ITS approach in Botanical Journal of the Linnean Society, 175: 497-522.

[4] OSUNA-MASCARÓ, Carolina. 2020. Hybridization as an evolutionary drivers for speciation: a case in the Southern European *Erysimum* species : dizertačná práca. Granada : Universidad de Granada, 291 pp.

[5] *Erysimum* L. [online]. ZGIF: 2022 [cit. 11.3.2023] Dostupné z: https://www.gbif.org/species/113590882.

[6] OSUNA-MASCARÓ, Carolina et al. 2023. Hybridization and introgression are prevalent in Southern European *Erysimum* (Brassicaceae) species in Annals of Botany, 131: 171-183.

[7] OSUNA-MASCARÓ, Carolina et al. 2021. Genomic Resources for *Erysimum* spp. (Brassicaceae): Transcriptome and chloroplast genomes in Frontiers in Ecology and Evolution, 9: 620601.

[8] POLATSCHEK, Adolf. 2008. *Erysimum* (Brassicaceae): 15 neue Arten aus Europa, N-Afrika und Asien in Annalen des Naturhistorischen Museums in Wien, 109 B: 147-165.

[9] POLATSCHEK, Adolf. 2015. *Erysimum diffusum* Ehrh. (Cruciferae) new for Greece in Annalen des Naturhistorischen Museums in Wien, 117: 277-278.

[10] JALAS, Jaakko – SOUMINEN, Juha. 1994. Atlas Florae Europaeae. Distribution of Vascular Plants in Europe: 10 Cruciferae (Sisymbrium to Aubrieta) in 1st ed. Helsinky : The Committee for Mapping the Flora of Europe & Societas Biologica Fennica Vanamo. pp. 49-88.

[11] BALL, Peter William. 1993. *Erysimum* L. In TUTIN, Thomas Gaskell, et al. Flora Europaea, vol. 1: Psilotaceae to Platanaceae. Ed. 2. Cambridge : Cambridge University Press, 1993. pp. 325-335.

[12] POLATSCHEK, Adolf. 2013. Revision der Gattung *Erysimum* (Cruciferae): Teil 5. Nord-, West-, Zentraleuropa, Rumänien und westliche Balkan-Halbinsel bis Albanien in Annalen des Naturhistorischen Museums in Wien, 115: 75-218.

[13] VASSILEV, Kiril et al. 2012. Balkan Dry Grasslands Database. In DENGLER, Jurgen et al. Vegetation databases for the 21st century in Biodiversity & Ecology, 4: 330-330.

[14] Swiss National Databank of Vascular Plants. Verion 1.10. [online]. Swiss National Biodiversity Data and Information Centres: 2021 [cit. 11.3.2023]. Dostupné z: www.infospecies.ch

[15] KIEFER, Markus et al. 2014. BrassiBase: Introduction to novel knowledge database on Brassicaceae evolution in Plant and Cell Physiology, 55(1): 1- 9.

[16] Brassicaceae. In Euro+Med Plantbase – the information resource for Euro-Mediterranean plant diversity. [online]. The Euro+Med PlantBase: 2011 [cit. 11.2.2023]. Dostupné z: http://ww2.bgbm.org/EuroPlusMed/PTaxonDetail.asp?NameCache=Erysimum&PTRefFk=72%2000000

[17] MARHOLD, Karol et al. 2007. Chromosome number survey of the ferns and flowering plants of Slovakia. Bratislava : VEDA, 2007. 649 pp. ISBN 97-88022-409-803.

[18] MICHALKOVÁ, Eleonóra. 2002. *Erysimum* L. In GOLIAŠOVÁ, Kornélia & ŠÍPOŠOVÁ, Helena (eds) Flóra Slovenska V/4. Bratislava : Veda, vydavateľstvo SAV, 2002. pp.182-224.

[19] WILLNER, Wolfgang – BERG, Christian – HEILSELAMYER, Paul. 2012. Austrian Vegetation Database in Biodiversity & Ecology, 4: 333-333.

[20] Centrálna databáza fytocenologických záznamov (CDFZ) na Slovensku. [online]. Ibot.sav.sk: 2012 [cit. 11.3.2023]. Dostupné z: http://www.givd.info/ID/EU-SK-001
[21] VASSILEV, Kiril et al. 2016. Balkan Vegetation Database: historical background, current status and future perspectives in Phytocoenologia, 46(1): 89-95.
[22] VASSILEV, Kiril et al. 2018. The Romanian Grassland Database (RGD): historical background, current status and future perspectives in Phytocoenologia, 48(1): 91-100.
[23] CHYTRÝ, Milan et al. 2021. Pladias database of the Czech flora and vegetation in Česká botanická společnost, 93(1): 1-87.
[24] MELZER, Von Hulmet – POLATSCHEK, Adolf. 1971. *Erysimum hungaricum* Zapał. – auch in den Ostalpen in Annalen des Naturhistorischen Museums in Wien, 75: 103-109.
[25] MICHALKOVÁ, Eleonóra. 1999. *Erysimum pallidiflorum* Jáv. (Brassicaceae) na Slovensku in Ochrana prírody (Banská Bystrica), 17: 39-47.
[26] PECCENINI, Simonetta. 2012. The genus *Erysimum* (Brassicaceae) in Italy, part I. in Annalen des Naturhistorischen Museums in Wien, 114: 95-128.
[27] CZARNA, Aneta et al. 2016. Morphological and molecular variation in selected species of *Erysimum* (Brassicaceae) from Central Europe and their taxonomic significance in Flora, 222: 68-85.
[28] TURIS, Peter – TURISOVÁ, Ingrid. 2019. Does *Erysimum hungaricum* Zapal. (Brassicaceae) still grow in Romania? in Contributii Botanice, 54: 107-122.
[29] KOLARČIK, Vladislav. 2021. Základy prietokovej cytometrie v rastlinnej biológii, Praktická analýza obsahu DNA v bunkovom jadre. Košice : Univerzita P. J. Šafárika v Košiciach, Vydavateľstvo ŠafárikPress, 2021. 72 pp. ISBN 978-80-574-0047-9.
[30] MÁRTONFI, Pavol et al. 1999. *Hypericum dubium,* a new species for the Czech flora in Preslia, 233: 15-28.
[31] *Erysimum pallidiflorum* Jáv. – trýzel bledý / horčičník bledokvetý [online] in Botany.cz: 2017 [cit. 11.3.2023]. Dostupné z: https://botany.cz/cs/erysimum-pallidiflorum/.
[32] KLIMENT, Ján – TURIS, Peter – JANIŠOVÁ, Monika. 2016. Taxa of vascular plants endemic to the Carpathian Mts in Preslia, 88: 19-76.
[33] Plants of the World Online [online]. cit. 2023/02/25. Dostupné z: http://www.plantsoftheworldonline.org/

Potenciál lytickej aktivity endolyzínu EN534-C voči patogénnym bakteriálnym kmeňom

Potential lytic activity of endolysin EN534-C against pathogenic bacterial strains

Nikola Hirková[1] – Lucia Bocánová[2] – Gabriela Bukovská[3]
Školiteľ: Lucia Bocánová[2]
[1,2]Katedra biológie, FPV UCM, Námestie J. Herdu 577/2, 917 01 Trnava
[2,3]Ústav molekulárnej biológie SAV, v. v. i., Dúbravská cesta 5777/21, 841 04 Bratislava
[1] hirkova1@ucm.sk, [1,2] lucia.bocanova@ucm.sk, [3] gabriela.bukovska@savba.sk

Abstrakt

Bakteriálna rezistencia je kritickým faktorom pri liečení infekcií antibiotikami. Keďže počet bakteriálnych kmeňov rezistentných na antibiotiká sa v posledných rokoch výrazne zvýšil, hľadanie nových antimikrobiálnych látok je kľúčové pre zdravie verejnosti. V poslednej dobe sa výskum v tejto oblasti venuje aj antibakteriálnemu účinku fágových lytických enzýmov, predovšetkým endolyzínov. V predkladanej práci sme sa zamerali na stanovenie čo najširšieho antibakteriálneho spektra pre endolyzín EN534-C pochádzajúceho z profága A2 ľudského izolátu *Streptococcus agalactiae* KMB-534. Lytickú aktivitu endolyzínu sme testovali na bunkových substrátoch zbierky 42 bakteriálnych kmeňov, pozostávajúcej z klinických kmeňov *S. agalactiae, S. dysgalactiae, S. aureus, E. coli* a zo zbierkových kmeňov *S. agalactiae* a *S. aureus*, pričom sme sa zamerali predovšetkým na kmene *S. agalactiae*. Endolyzín prejavil svoju lytickú aktivitu u všetkých bakteriálnych kmeňov. Dvojmocné katióny vápnika zvýšili aktivitu enzýmu. Jeho výrazná antimikrobiálna aktivita na vybrané spektrum bakteriálnych zástupcov ho predurčuje pre praktické využitie v terapii ako vhodného antibakteriálneho systému.

Kľúčové slová: endolyzíny, lytická aktivita, peptidoglykán, *Streptococcus agalactiae*

Abstract

Bacterial resistance is a critical factor in the treatment of infections with antibiotics. As the number of antibiotic-resistant bacterial strains has increased significantly in recent years, the search for new antimicrobial agents is crucial for public health. Research in this area has recently focused on the antibacterial effect of phage lytic enzymes, especially endolysins. In the present work, we aimed to determine the broadest possible antibacterial spectrum for endolysin EN534-C derived from prophage A2 of human *Streptococcus agalactiae* isolate KMB-534. We tested the lytic activity of endolysin on cell substrates from a collection of 42 bacterial strains, consisting of clinical strains of *S. agalactiae*, *S. dysgalactiae*, *S. aureus*, *E. coli*, and from collection strains of *S. agalactiae and S. aureus*, focusing primarily on *S. agalactiae* strains. Lytic activity of endolysin shows in all bacterial strains. Bivalent calcium cations increased the lytic activity of the endolysin EN534-C. Its pronounced antimicrobial activity on a selected spectrum of bacterial representatives predisposes it for practical use in therapy as a suitable antibacterial system.

Key Words: endolysins, lytic activity, peptidoglycan, *Streptococcus agalactiae*

Úvod

Rezistencia baktérií voči antibiotikám je jedným zo závažných problémov pri liečení ochorení. Obzvlášť, v posledných desaťročiach sa tak vďaka nadbytočnému užívaniu antibiotík výrazne zvýšilo percento multirezistentných baktérií, ktoré spôsobujú ťažko liečiteľné infekcie, ktoré sú u starších ľudí, novorodencov a pacientov so zníženou imunitou, jednou z najčastejších príčin úmrtia [1][2]. Aj z tohto dôvodu je potrebné hľadanie nových zdrojov antimikrobiálnych systémov. Možným riešením tohto problému je práve využitie bakteriofágov a ich lytických enzýmov [3][4].

Bakteriofágy sú vírusy, ktoré využívajú prokaryotické organizmy na svoju reprodukciu. Na konci fágového lytického cyklu štiepia tieto vírusy bakteriálny peptidoglykán prostredníctvom nimi kódovaných enzýmov, nazývaných endolyzíny. Endolyzíny majú v porovnaní s antibiotikami niekoľko výhod, vrátane rýchleho usmrtenia hostiteľa, veľmi

úzkeho spektra hostiteľa, zachovania normálnej mikroflóry a nízkeho sklonu k vytvoreniu rezistencie [5][6][7].

Výsledky našej práce nadväzujú na výsledky publikované v článku [9] a prípravu endolyzínu EN534-C v patentovej prihláške PCT/SK2021/050016. Našim cieľom v tejto práci bolo rozšíriť antibakteriálne spektrum pre endolyzín EN534-C o ďalšie nebezpečné bakteriálne klinické kmene a zvýšiť jeho atraktivitu v aplikačnej praxi.

1 Metódy

1.1 Kultivácia bakteriálnych kmeňov

V experimente sme použili 42 bakteriálnych kmeňov uvedené v [Tab. 1]. Pri transformácii buniek rekombinantným plazmidom pET-EN534_CHis (PCT/SK2021/050016) sme použili bakteriálne kmene *E. coli* XL1 Blue (Novagen, USA) a *E. coli* BL21(DE3) (Novagen, USA).

Bakteriálne kmene sme kultivovali na tuhých a tekutých médiách THB (Biolife, Taliansko) a MHB (Sigma-Aldrich, USA) podľa odporúčania výrobcu. Kultivácia jednotlivých bakteriálnych kmeňov prebiehala pri teplote 37 °C. Priebeh kultivácie na tekutých médiách sa uskutočnil za stáleho trepania na rotačnej trepačke I26R (New Brunswick Scientific, USA) pri 200 ot.min^{-1}. Ak baktérie, ktoré sme v práci použili, niesli plazmid s génom rezistencie voči kanamycínu, do kultivačného média sme pridali kanamycín o koncentrácii 100 µg.ml^{-1}. Bakteriálne kmene sme uchovávali v 40 % glycerole (v/v) pri teplote -80 °C.

Tab. 1 Súbor testovaných bakteriálnych kmeňov: *S. agalactiae* KMB (SA KMB), *S. dysgalactiae* (SD), *E. coli* (EC) UPEC, *S. aureus* MRSA1, *S. agalactiae* CCM 6187 a *S. aureus* CCM 3953.

Zdroj: klinické kmene *S. agalactiae* KMB – Katedra molekulárnej biológie UK, Bratislava; klinické kmene *S. dysgalactiae* a *E. coli* UPEC – Vedecký park UK, Bratislava; klinický kmeň *S. aureus* MRSA1 – UMB SAV, v. v. i., zbierkový kmeň *S. agalactiae* CCM 6187 – Lehmann a Neumann 1896AL, Česká Republika; zbierkový kmeň *S. aureus* CCM 3953 – Rosenbach 1884AL, Česká Republika.

kmeň	sérotyp		povrchový proteín
SA KMB-875	I	a	Alp 2/3
SA KMB-835			Epsilon
SA KMB-651			Epsilon
SA KMB-657			Epsilon
SA KMB-642			Epsilon
SA KMB-554			Rib
SA KMB-555			Rib
SA KMB-797			Epsilon
SA KMB-842			Rib
SA KMB-639		b	Alpha C
SA KMB-866			Alpha C
SA KMB-867			Alpha C
SA KMB-659	II		Alpha C
SA KMB-680			Alpha C
SA KMB-864			Alpha C
SA KMB-881			Rib
SA KMB-534	III		Rib
SA KMB-548			Rib
SA KMB-828			Rib
SA KMB-876			Rib
SA KMB-884			Alpha C
SA KMB-583			Alp 2/3
SA KMB-643	IV		Rib
SA KMB-799			Alpha C
SA KMB-809	V		Alp 2/3
SA KMB-885			Alp 2/3
SA KMB-564			Alp 2/3
SA KMB-556			Alpha C
SA KMB-833			Alp 2/3
SA KMB-863			Epsilon
SA KMB-813	VI		Alpha C
SD 23855 B			
SD 21029 C			
SD 22347 B			
SD 27945 C			
SA CCM 6187			
EC 512			
EC 510			
EC 520			
EC 506			
S. aureus CCM 3953			
S. aureus MRSA1			

1.2 Nadexpresia a izolácia rekombinantného proteínu

Hostiteľský kmeň *E. coli* BL21(DE3) sme transformovali konštruktom pET-EN534_CHis (PCT/SK2021/050016) a kultivovali v TB médiu pripraveného podľa postupu [8] pri teplote 37°C do OD_{600} = 0,5.Expresiu a izoláciu endolyzínu EN534-C sme robili podľa [9].

1.3 Stanovenie exolytickej aktivity proteínov

V súčasnosti je v odbornej literatúre popísaných mnoho experimentov na stanovenie lytickej aktivity

endolyzínov na bunkových substrátoch v stacionárnej bunkovej fáze rastu [10][11]. V našej práci sme exolytickú aktivitu rekombinantného endolyzínu EN534-C stanovovali pomocou drop testu a optickej metódy podľa publikácie [9].

Drop test – Stanovenie aktivity kvapkovým testom na miske s vrchným agarom

Bakteriálne bunky vybraných kmeňov v stacionárnej fáze rastu sme pridali do 3 ml vrchného agaru THB alebo MHB. Suspenziu sme vyliali na misky s THB alebo MHB médiom. Pri sledovaní vplyvu vápenatých katiónov na lytickú aktivitu rekombinantného endolyzínu sme ku bakteriálnym bunkám pridali $CaCl_2$ do výslednej koncentrácie 10 mmol.l^{-1}. Na stuhnutý vrchný agar sme kvapkali 5 µl izolovaného endolyzínu EN534-C vo výsledných koncentráciách 10 µg.µl^{-1}; 5 µg.µl^{-1}; 2,5 µg.µl^{-1} a 1 µg.µl^{-1}. Exolytickú aktivitu endolyzínu EN534-C sme detegovali ako vzniknutú číru zónu v mieste aplikácie rekombinantného endolyzínu po 24 hodinovej inkubácii v termostate pri 37 °C. Vzniknuté zóny sme dokumentovali fotograficky.

Optická metóda

Metóda je založená na meraní poklesu optickej hustoty bakteriálneho substrátu pôsobením lytickej aktivity rekombinantného endolyzínu a používa sa na stanovenie lytickej aktivity enzýmov.

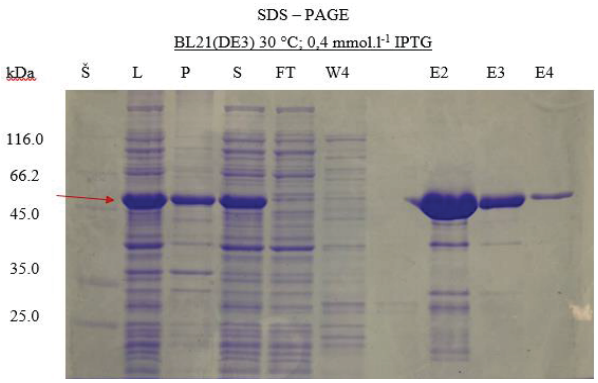
Vybrané bakteriálne kmene uvedené v tabuľke [Tab. 1] sme kultivovali v THB a MHB médiu na rotačnej trepačke I26R pri teplote 37 °C, do strednej exponenciálnej fázy rastu (OD_{600} ~ 0,5 – 0,6) a scentrifúgovali na centrifúge Eppendorf 5810R (2500 x g, 10 min, 4 °C). Sedimentované a premyté bunky sme rozsuspendovali do finálnej absorbancie OD_{600} ~ 0,6 – 0,7 v tlmivom roztoku (50 mmol.l^{-1} Tris-HCl, pH 8,0, 150 mmol.l^{-1} NaCl). Takto pripravený bunkový substrát sme použili na stanovenie lytickej aktivity endolyzínu v mikrotitračnej 96 jamkovej platničke. Do pripravenej mikrotitračnej 96 jamkovej platničky sme aplikovali proteín v objeme 2 µl do výslednej koncentrácie 0,1 µmol.ml^{-1}. Na prípravu negatívnej kontroly sme použili elučný roztok namiesto vzorky proteínu. Meranie absorbancie sme uskutočnili pri vlnovej dĺžke 600 nm a teplote 37 °C na mikroplatňovom spektrofotometri Synergy HT Multi-Mode Microplate Reader (BioTek Instruments, USA) každých 5 min po dobu 2 hodín. Výsledné namerané hodnoty sme vyhodnotili ako pokles absorbancie (OD_{600}) za daný čas (počas 120 min), resp. sme stanovili relatívnu lytickú aktivitu v % podľa [12]. Zároveň sme stanovili aj inhibičný účinok endolyzínu a počet životaschopných buniek sme vyjadrili ako CFU/ml.

2 Výsledky a diskusia

2.1 Nadexpresia a izolácia rekombinantného proteínu EN534-C

Pre každé meranie sme použili čerstvý exprimovaný a izolovaný endolyzín EN534-C na chromatografickom agarózovom nosiči s naviazaným kobaltom (Co-NTA). Nadprodukovaný proteín sme z Co^{2+} nosičov eluovali použitím imidazolu v 5 frakciách (5 x 600 µl).

Čiastočný priebeh izolácie EN534-C a jednotlivé vybrané frakcie sme analyzovali pomocou 12% SDS-PAGE [Obr. 1]. Koncentrácia rekombinantného endolyzínu EN534-C bola do 3 mg.ml^{-1}.



Obr. 1 12 % SDS-PAGE expresia a izolácia endolyzínu EN534-C v bunkách *E. coli* BL21(DE3) po indukcii s IPTG do výslednej koncentrácie 0,4 mmol.l^{-1}. Dráha 1. Štandard molekulovej hmotnosti Pierce™ Unstained Protein MW Marker 26610 (Š); Dráha 2. expresia – lyzát (L); Dráha 3. expresia – nerozpustná frakcia (P); Dráha 4. expresia – rozpustná frakcia (S); Dráha 5. izolácia – rozpustná frakcia po pretečení cez kobaltovú kolónku (FT); Dráha 6. izolácia – frakcia z premývania (W4); Dráha 7. prázdna; Dráha 8-10. izolácia – frakcia po elúcii (E2-E4). Šípka označuje rekombinantný endolyzín EN534-C o veľkosti 55.02 kDa.
Zdroj: [15].

2.2 Stanovenie lytickej aktivity rekombinantného endolyzínu EN534-C kvapkovým testom

Lytickú aktivitu EN534-C sme stanovili ako vzniknuté inhibičné zóny na bakteriálnych substrátoch 40 klinických kmeňov a 2 zbierkových kmeňov [Tab. 2] v stacionárnej fáze rastu, na mieste jeho aplikácie.

Tab. 2 Stanovenie lytickej aktivity rekombinantného endolyzínu EN534-C na súbore 42 vybraných kmeňov: 31 klinických kmeňov *S. agalactiae* (SA), 1 zbierkový kmeň *S. agalactiae* (SA), 4 kmene *S. dysgalactiae* (SD), 4 kmene *E. coli* (EC), 1 zbierkový kmeň *S. aureus* a 1 klinický kmeň *S. aureus*.

číslo	kmeň	koncentrácia proteínu [µg/µl] - $CaCl_2$				koncentrácia proteínu [µg/µl] + $CaCl_2$			
		1	2,5	5	10	1	2,5	5	10
1.	SA KMB-875	+	++	+++	+++	++	+++	+++	+++
2.	SA KMB-835	+	++	++	+++	+	++	+++	+++
3.	SA KMB-651	+	+	++	+++	+	++	+++	+++
4.	SA KMB-657	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++
5.	SA KMB-642	+	++	++	+++	+	++	+++	+++
6.	SA KMB-554	++	++	+++	+++	+++	+++	+++	+++
7.	SA KMB-555	-	+	++	++	+	+	++	+++
8.	SA KMB-797	+	+	++	+++	+	++	+++	+++
9.	SA KMB-842	+	++	++	+++	+	++	+++	+++
10.	SA KMB-639	+	+	+	++	+	++	++	+++
11.	SA KMB-866	+	++	++	+++	+	++	+++	+++
12.	SA KMB-867	+	+	++	++	+	++	++	+++
13.	SA KMB-659	+	++	+++	+++	+	++	+++	+++
14.	SA KMB-680	+	++	++	+++	+	++	+++	+++
15.	SA KMB-864	-	-	-	-	-	-	-	-
16.	SA KMB-881	+	++	++	+++	+	++	++	+++
17.	SA KMB-534	-	++	++	+++	+	++	++	+++
18.	SA KMB-548	+	++	++	+++	+	++	+++	+++
19.	SA KMB-828	-	+	++	+++	-	+	++	+++
20.	SA KMB-876	-	+	+	++	-	+	++	+++
21.	SA KMB-884	-	+	+	+	+	++	++	++
22.	SA KMB-583	-	+	++	+++	+	+	++	+++
23.	SA KMB-643	+	++	+++	+++	+	++	+++	+++
24.	SA KMB-799	+	+	++	++	+	++	++	+++
25.	SA KMB-809	+/-	+	++	+++	+	++	+++	+++
26.	SA KMB-885	++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++
27.	SA KMB-564	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++
28.	SA KMB-556	-	+	++	++	+	++	++	+++
29.	SA KMB-833	+	++	++	+++	+	++	+++	+++
30.	SA KMB-863	-	+/-	+	+	-	+	+	++
31.	SA KMB-813	+	+	++	+++	+	++	++	+++
32.	SA CCM 6187	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++
33.	SD 23855 B	-	+	+	++	+	+	++	++
34.	SD 21029 C	+	+	++	++	+	++	++	+++
35.	SD 22347 B	-	+	+	+	+	+	++	++
36.	SD 27945 C	+	+	++	++	+	++	++	+++
37.	EC 512	+	++	++	+++	++	++	+++	+++
38.	EC 510	+	+	++	++	+	++	++	+++
39.	EC 520	+	++	++	++	+	++	+++	+++
40.	EC 506	+	++	+++	+++	++	+++	+++	+++
41.	S. aureus CCM 3953	+/-	+	++	++	+	+	++	+++
42.	S. aureus MRSA1	+	+	++	+++	+	++	++	+++

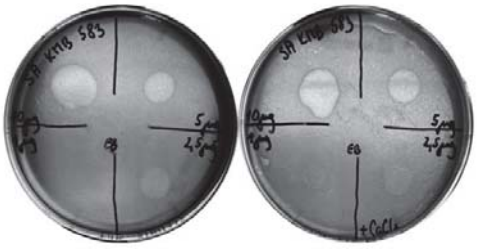
Zóny inhibície boli pozorované na platniach SA KMB-842, SA KMB-659 a *S. aureus* MRSA1 pri aplikácii 5 µl rekombinantného endolyzínu EN534-C vo výslednej koncentrácii 10 $\mu g.\mu l^{-1}$, 5 $\mu g.\mu l^{-1}$, 2,5 $\mu g.\mu l^{-1}$ a 1 $\mu g.\mu l^{-1}$ [Obr. 2]. Najväčšiu inhibičnú zónu (+++) sme pozorovali na platniach pri spotovanom endolyzíne vo výslednej koncentrácii 10 $\mu g.\mu l^{-1}$ a 5 $\mu g.\mu l^{-1}$. Pri spotovanom endolyzíne vo výslednej koncentrácii 2,5 $\mu g.\mu l^{-1}$ sme na platniach pozorovali slabšiu inhibičnú zónu (++). Vytvorenie najslabšej inhibičnej zóny (+) sme pozorovali na platni pri spotovanom endolyzíne vo výslednej koncentrácii 1 $\mu g.\mu l^{-1}$.

A) B) C)

Obr. 2 Stanovenie lytickej aktivity rekombinantného proteínu EN534-C kvapkovým testom (drop test). Na vybraných bakteriálnych substrátoch je spotovaný endolyzín EN534-C vo výsledných koncentráciách: 10 $\mu g.\mu l^{-1}$; 5 $\mu g.\mu l^{-1}$; 2,5 $\mu g.\mu l^{-1}$ a 1 $\mu g.\mu l^{-1}$. A) bakteriálny bunkový substrát *S. agalactiae* KMB-842, B) bakteriálny bunkový substrát *S. agalactiae* KMB-659 a C) bakteriálny bunkový substrát *S. aureus* MRSA1.
Zdroj: [15].

2.3 Vplyv $CaCl_2$ na lytickú aktivitu rekombinantného endolyzínu EN534-C

Z dostupnej odbornej literatúry sú známe informácie o pozitívnom vplyve katiónov vápnika na lytickú aktivitu CHAP domén [13], preto sme sa rozhodli vrchný agar THB a MHB obohatiť o Ca^{2+}. Na platniach s bakteriálnymi substrátmi 42 kmeňov obohatených 10 $mmol.l^{-1}$ $CaCl_2$ sme následne detegovali vytvorenie inhibičných zón, v mieste aplikácie endolyzínu v rôznych koncentráciách [Tab. 2].

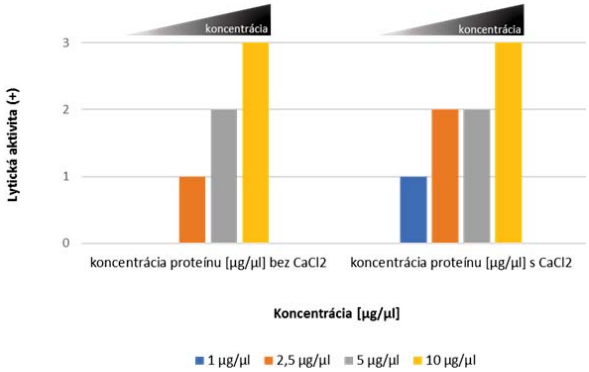


A) B)

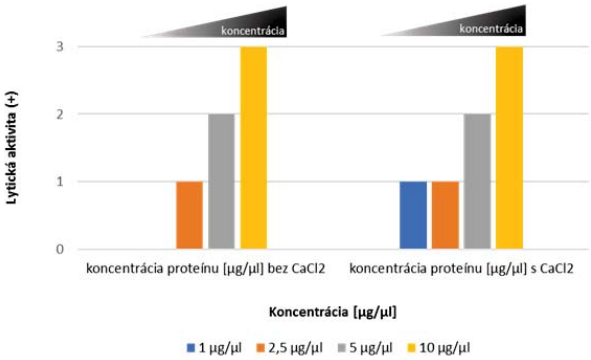
Obr. 3 Stanovenie lytickej aktivity rekombinantného proteínu EN534-C kvapkovým testom (drop test). Na vybraných bakteriálnych substrátoch je spotovaný endolyzín EN534-C vo výsledných koncentráciách: 10 $\mu g.\mu l^{-1}$; 5 $\mu g.\mu l^{-1}$; 2,5 $\mu g.\mu l^{-1}$ a 1 $\mu g.\mu l^{-1}$. A) bakteriálny bunkový substrát *S. agalactiae* KMB-583 bez prítomnosti $CaCl_2$ a B) bakteriálny bunkový substrát *S. agalactiae* KMB-583 s prítomným $CaCl_2$.
Zdroj: [15].

Porovnaním výsledkov lytickej aktivity endolyzínu EN534-C na bakteriálnych substrátoch bez prítomnosti a s prítomnosťou 10 $mmol.l^{-1}$ $CaCl_2$ sme zistili, že v prítomnosti dvojmocných katiónov vápnika dochádza

k zvýšeniu lytickej aktivity endolyzínu u väčšiny bakteriálnych kmeňov *S. agalactiae* [Tab. 2]. Najvyššiu lytickú aktivitu endolyzínu voči bakteriálnemu substrátu sme zaznamenali u kmeňov SA KMB-657, SA KMB-564, SA CCM 6187, SA KMB-554 a SA KMB-885. Lytickú aktivitu endolyzínu sme nezaznamenali voči kmeňu SA KMB-864 – na preukázanie účinku endolyzínu je potrebné niektoré kroky prípravy bakteriálneho substrátu optimalizovať. Signifikantnú zmenu lytickej aktivity endolyzínu EN534-C sme po pridaní vápnika k bakteriálnym bunkám nepozorovali u kmeňov SA KMB-642, SA KMB-659, SA KMB-881, SA KMB-828 a SA KMB-643.



Graf 1 Lytická aktivita rekombinantného endolyzínu EN534-C voči bakteriálnym bunkám kmeňa *S. agalactiae* KMB-534 bez pridania $CaCl_2$ (vľavo) a s pridaním $CaCl_2$ (vpravo).
Zdroj: [15].



Graf 2 Lytická aktivita rekombinantného endolyzínu EN534-C voči bakteriálnym bunkám kmeňa *S. agalactiae* KMB-583 bez pridania $CaCl_2$ (vľavo) a s pridaním $CaCl_2$ (vpravo).
Zdroj: [15].

2.4 Stanovenie lytickej aktivity endolyzínu EN534-C optickou metódou

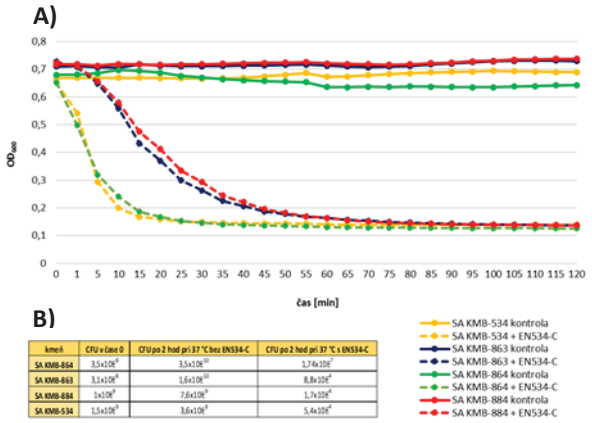
Jednou z vlastností lytických enzýmov bakteriofágov je ich vysoká špecificita voči bakteriálnym substrátom. Endolyzíny sú schopné preukázať široké spektrum pôsobenia voči gram pozitívnym baktériám [14]. Širšie lytické spektrum rekombinantného endolyzínu EN534-C by zvýšilo jeho potenciál ako moderného antimkrobiálneho systému.

Na stanovenie spektra lytickej aktivity endolyzínu EN534-C sme použili substráty buniek bakteriálnych kmeňov SA KMB-534, SA KMB-863, SA KMB-864 a SA KMB-884. Na všetkých klinických izolátoch vykazoval endolyzín potenciálne vysokú lytickú aktivitu v rozmedzí 73 – 85 %. Treba zobrať do úvahy, že endolyzín bol aktívny pri koncentrácii 0,1 $\mu mol.l^{-1}$, a zvyšovaním dávky či aplikáciou viacerých dávok je možné túto aktivitu zvýšiť.

Rýchlejší nástup lytickej aktivity endolyzínu EN534-C sme zaznamenali voči bakteriálnemu kmeňu SA KMB-534 a SA KMB-864. Pokles absorbancie bakteriálneho substrátu SA KMB-534 z OD_{600} ~ 0,653 na OD_{600} ~ 0,294 (lytická aktivita 53,9 %) a SA KMB-864 z OD_{600} ~ 0,652 na OD_{600} ~ 0,319 (lytická aktivita 49,9 %) sme zaznamenali už v prvých 5 minútach. V 30 minúte bol zaznamenaný pokles absorbancie substrátu SA KMB-534 na OD_{600} ~ 0,149 (lytická aktivita 75,15 %) a SA KMB-864 OD_{600} ~ 0,146 (lytická aktivita 72,16 %). Najväčší pokles sme zaznamenali po dvoch hodinách, pri SA KMB-534 (OD_{600} ~ 0,139; lytická aktivita 80,1 %) a SA KMB-864 (OD_{600} ~ 0,125; lytická aktivita 73,19 %). Pomalší nástup lytickej aktivity EN534-C sme zaznamenali voči kmeňu SA KMB-863 (po piatich minútach z OD_{600} ~ 0,727 na OD_{600} ~ 0,648, lytická aktivita 10,7 %) a SA KMB-884 (po piatich minútach z OD_{600} ~ 0,724 na OD_{600} ~ 0,656, lytická aktivita 9,1 %). Avšak po dvoch hodinách sme pri týchto kmeňoch zaznamenali približne rovnakú hodnotu lytickej aktivity ako pri kmeňoch SA KMB-534 a SA KMB-864. Pri SA KMB-863 sme zaznamenali pokles lytickej aktivity z OD_{600} ~ 0,727 na OD_{600} ~ 0,137 (lytická aktivita 85,7 %) a pri SA KMB-884 z OD_{600} ~ 0,724 na OD_{600} ~ 0,137 (lytická aktivita 84,9 %) [Obr. 4A), Graf 3].

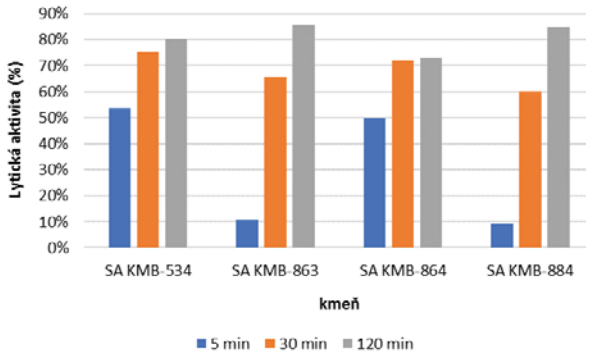
Inhibičný účinok endolyzínu EN534-C na vybrané bakteriálne kmene SA KMB-534, SA KMB-863, SA KMB-864 a SA KMB-884 sme zaznamenali ako pokles životaschopnosti buniek uvedený v [Obr. 4B)]. Najvyšší pokles CFU/ml sme zaznamenali pri kmeňoch SA KMB-884 kde došlo k zníženiu po 2h od aplikácie EN534-C z $1x10^9$ CFU/ml na $1,7x10^4$ CFU/ml Naopak najnižší pokles CFU/ml sme zaznamenali pri bakteriálnom

kmeni SA KMB-864 a to z $3{,}5 \times 10^8$ CFU/ml na $1{,}74 \times 10^7$ CFU/ml.



kmeň	CFU v čase 0	CFU po 2 hod pri 37 °C bez EN534-C	CFU po 2 hod pri 37 °C s EN534-C
SA KMB-864	$3{,}5 \times 10^8$	$3{,}5 \times 10^{10}$	$1{,}74 \times 10^7$
SA KMB-863	$3{,}1 \times 10^8$	$1{,}6 \times 10^{10}$	$8{,}8 \times 10^4$
SA KMB-884	1×10^8	$7{,}6 \times 10^9$	$1{,}7 \times 10^4$
SA KMB-534	$1{,}5 \times 10^8$	$3{,}6 \times 10^9$	$5{,}4 \times 10^4$

Obr. 4 Lytická aktivita rekombinantného endolyzínu EN534-C. A) je znázornený pokles absorbancie bakteriálneho substrátu vybraných klinických kmeňov *S. agalactiae* KMB-534, *S. agalactiae* KMB-863, *S. agalactiae* KMB-864 a *S. agalactiae* KMB-884 vplyvom EN534-C vo výslednej koncentrácii 0,1 µmol.l^{-1} a B) je uvedený inhibičný účinok EN534-C ako pokles životaschopnosti buniek (CFU/ml).
Zdroj: [15].



Graf 3 Lytická aktivita rekombinantného endolyzínu EN534-C (%) vo výslednej koncentrácii 0,1 µmol.l^{-1} voči bakteriálnym bunkám klinických kmeňov *S. agalactiae* KMB-534, *S. agalactiae* KMB-863, *S. agalactiae* KMB-864 a *S. agalactiae* KMB-884 stanovená v určitých časových intervaloch.
Zdroj: [15].

Záver

V predloženej práci sme sa zamerali na nadprodukciu, izoláciu a stanovenie lytickej aktivity rekombinantného endolyzínu EN534-C v *in vitro* podmienkach.

Antibakteriálnu aktivitu endolyzínu EN534-C sme testovali na zbierke 42 bakteriálnych kmeňov pozostávajúcu z: 31 klinických kmeňov *S. agalactiae*, 1 zbierkového kmeňa *S. agalactiae*, 4 kmeňov *S. dysgalactiae*, 4 kmeňov *E. coli*, 1 zbierkového kmeňa *S. aureus* a 1 klinického kmeňa *S. aureus*.

Potvrdili sme lytickú aktivitu rekombinantného endolyzínu EN534-C voči súboru 42 bakteriálnych kmeňov pomocou kvapkového testu. Endolyzín prejavil lytickú aktivitu u všetkých bakteriálnych kmeňov okrem *S. agalactiae* KMB-864, pri drop teste. Avšak pri optickej metóde vykazoval endolyzín lytickú aktivitu po 15 min pôsobenia na bakteriálny substrát.

Zároveň sme potvrdili pozitívny vplyv $CaCl_2$ na lytickú aktivitu rekombinantného endolyzínu EN534-C voči súboru 42 bakteriálnych kmeňov.

Dokázali sme, že rekombinantný endolyzín EN534-C vykazuje maximálnu ~ 73 – 85 %-nú lytickú aktivitu voči bakteriálnym bunkám kmeňov *S. agalactiae* KMB-534, *S. agalactiae* KMB-863, *S. agalactiae* KMB-864 a *S. agalactiae* KMB-884.

Poďakovanie

Predložená práca bola financovaná z projektov VEGA 2/0079/22 Príprava mutantných lytických a replikačných proteínov bakteriofágov a ich antibakteriálny potenciál.a APVV-16-0168 Príprava bakteriofágov na terapiu vaginálnych a močových infekcií.

Chcela by som tiež poďakovať mojej školiteľke RNDr. Lucii Bocánovej, PhD. za jej pomoc a podporu pri písaní práce a za ochotu, trpezlivosť a vytrvalosť naučiť ma všetky odborné a praktické vedomosti. Moja vďaka patrí Ústavu molekulárnej biológie SAV, že mi umožnil pracovať v laboratóriu.

Použitá literatúra

[1] BHARADWAJ, Alok a kol. 2022. Multidrug-resistant bacteria: Their mechanism of action and prophylaxis. In BioMed Research International, roč. 2022, s. e5419874. ISSN 2314-6133.

[2] RAHMAN, Mujeeb ur a kol. 2021. Endolysin, a promising solution against antimicrobial resistance. In Antibiotics, roč. 10, č. 11, s. 1277. ISSN 2079-6382.

[3] MURRAY, Ellen a kol. 2021. The advantages and challenges of using endolysins in a clinical setting. In Viruses, roč. 13, č. 4, s. 680. ISSN 1999-4915.

[4] VAŠINA, Daria V. a kol. 2021. Discovering the potentials of four phage endolysins to combat gram-negative infections. In Frontiers in Microbiology, roč. 12, s. 748718. ISSN 1664-302X.

[5] BROENDUM, Sebastian S. – BUCKLE, Ashley M. – MCGOWAN, Sheena. 2018. Catalytic diversity and

cell wall binding repeats in the phage-encoded endolysins. In Molecular Microbiology, roč. 110, č. 6, s. 879-896. ISSN 0950382X.

[6] D'ACCOLTI, Maria a kol. 2021. Bacteriophages as a potential 360-degree pathogen control strategy. In Microorganisms, roč. 9, č. 2, s. 261. ISSN 2076-2607.

[7] PODLACHA, Magdalena a kol. 2021. Interactions of bacteriophages with animal and human organisms—safety issues in the light of phage therapy. In International Journal of Molecular Sciences, roč. 22, č. 16, s. 8937. ISSN 1422-0067.

[8] SAMBROOK, Joseph – RUSSELL, David William. 2001. Molecular cloning: A laboratory manual. 3. vyd., zv. 1. New York : Cold Spring Harbor Laboratory Press, 2344 s. ISBN 978-0879695774.

[9] BOCANOVA, Lucia a kol. 2022. A novel phage-encoded endolysin EN534-C active against clinical strain *Streptococcus agalactiae* GBS. In Journal of biotechnology, roč. 359, s. 48-58. ISSN 01681656.

[10] RODRIGUEZ-RUBIO, Lorena a kol. 2016. 'Artilysation' of endolysin λSa2lys strongly improves its enzymatic and antibacterial activity against streptococci. In Scientific Reports, roč. 6, č. 1, s. 35382. ISSN 2045-2322.

[11] GILMER, Daniel B. a kol. 2013. Novel bacteriophage lysin with broad lytic activity protects against mixed infection by *Streptococcus pyogenes* and methicillin-resistant *Staphylococcus aureus.* In Antimicrobial Agents and Chemotherapy, roč. 57, č. 6, s. 2743-2750. ISSN 0066-4804.

[12] OLIVEIRA, Ana a kol. 2015. The first *Paenibacillus larvae* bacteriophage endolysin (PlyPl23) with high potential to control american foulbrood. In PLOS ONE, roč. 10, č. 7, s. e0132095. ISSN 1932-6203.

[13] SANZ-GAITERO, Marta a kol. 2014. Crystal structure of the lytic CHAP(K) domain of the endolysin LysK from *Staphylococcus aureus* bacteriophage K. In Virology Journal, roč. 11, s. 133. ISSN 1743-422X.

[14] KHAN, Fazal Mehmood a kol. 2021. A novel *Acinetobacter baumannii* bacteriophage endolysin LysAB54 with high antibacterial activity against multiple gram-negative microbes. In Frontiers in Cellular and Infection Microbiology, roč. 11, s. 637313. ISSN 2235-2988.

[15] HIRKOVÁ, Nikola. 2023. Potenciál lytickej aktivity endolyzínu EN534-C voči patogénnym bakteriálnym kmeňom (diplomová práca). Katedra biológie, FPV UCM, Trnava (nepublikované).

Štúdium enzýmu β -1,3-glukán syntáza u *Euglena gracilis* prostredníctvom *in silico* metód

Study of β -1,3-glucan synthase enzyme in *Euglena gracilis* by *in silico* methods

Petronela Gajdošová[1] – Zuzana Gerši[2]
Školiteľ: Dominika Vešelényiová[3]
[1,2]Katedra biológie, FPV, UCM, Nám. J. Herdu, 2, 917 01 Trnava,
[1] gajdosova8@ucm.sk,[2]zuzana.gersi@ucm.sk [3]dominika.veselenyiova@ucm.sk

Abstrakt
Euglena gracilis patrí k fotosyntetizujúcim jednobunkovcom a zaraďuje sa do skupiny Euglenida. Vyskytuje sa na celom svete a spolu s príbuznými druhmi predstavuje významnú zložku vodného ekosystému. Z hľadiska organizácie, morfológie, biochémie a bunkovej molekulárnej biológie predstavuje vhodný modelový organizmus pre rôzne experimenty. Ide predovšetkým o produkty jej syntézy, a to estery vosku a paramylon. Paramylon je zásobný polysacharid, ktorého biosyntéza je aktívna len v aeróbnych podmienkach a iniciovaná enzýmom β -1,3-glukán syntáza. Štúdium enzýmu β -1,3-glukán syntázy je kľúčové najmä pre pochopenie produkcie paramylonu kvôli jeho antimikrobiálnym, antivirálnym, protizápalovým, hepatoprotektívnym účinkom a aj vďaka jeho biotechnologickému potenciálu. Bioinformatickou analýzou sekvencií enzýmu β -1,3-glukán syntáza, ktoré sme identifikovali v transkriptóme *E. gracilis* sme popísali charakteristiky enzýmu β-1,3-glukán syntáza, ktoré sú kľúčové pre pochopenie i biosyntézy paramylonu a jeho následnej produkcie.

Kľúčové slová: *Euglena gracilis*, β-1,3-glukán syntáza, paramylon

Abstract
Euglena gracilis belongs to the unicellular and belongs to the Euglenida group. It occurs all over the world and, together with the corresponding species, represents an important component of the aquatic ecosystem. It belongs to free-living elements whose movement is mediated by a flagellum. This organism is characterized by the ability of photosynthesis. In terms of organization, morphology, biochemistry and cellular molecular biology, it represents a suitable model organism for various experiments. These are primarily products of its synthesis, namely wax and paramylon esters. Paramylon is a storage polysaccharide, the biosynthesis of which is active only in aerobic conditions and initiated by the β -1,3-glucan synthase system. The study of the technological group β -1,3-glucan synth is key especially for understanding the production of paramylon due to its antimicrobial, antiviral, anti-inflammatory, hepatoprotective effects and also due to its bio potential. By bioinformatic analysis of the sequence of β-1,3-glucan synthase, which we identified in the transcriptome of E. gracilis, we described the characteristics of β-1,3-glucan synthase in the biosynthesis of paramylon.

Key words: *Euglena gracilis*, β-1,3-glucan synthase, paramylon

Úvod
Bičíkovec *Euglena gracilis* patrí do monofyletickej skupiny Euglenida [1]. Vyskytuje sa predovšetkým vo vodných biotopoch a z hľadiska morfológie predstavuje modelový organizmus pre rôzne biologické experimenty. Zvlášť významnými sú produkty syntézy *E. gracilis*. Medzi tie patrí aj zásobný polysacharid paramylon, ktorý má významný komerčný potenciál. Syntéza paramylonu je u *E. gracilis* iniciovaná enzýmom β -1,3-glukán syntáza.

Tento enzým z dlhodobého hľadiska patrí k známym enzýmom, avšak u bičíkovca *E. gracilis* nebol doposiaľ detailne charakterizovaný. β-1,3-glukán syntáza je enzým, ktorý patrí do skupiny glykozyltransferáz a podieľa sa na tvorbe β -glukánu.
S β-glukánmi je spojených niekoľko priaznivých účinkov na zdravie človeka, vrátane imunostimulačných a antioxidačných účinkov. Pôsobia tiež ako potravinová vláknina a bolo preukázané, že znižujú hladinu

cholesterolu v krvi. Ukazuje sa, že paramylon môže byť tiež účinný pri liečbe rakoviny [2]. Okrem farmakologického, medicínskeho či potravinárskeho priemyslu, je paramylon významným produktom aj v ďalších odvetviach, napríklad v energetickom priemysle. Enzým β -1,3-glukán syntáza je možné študovať na základe rôznych bioinformatických a molekulárno-biologických metód, čo poskytuje nové možnosti pre lepšie pochopenie jeho funkcií a vlastností pri produkcii paramylonu.

1 Materiál a metódy

Bioinformatickú analýzu enzýmu β -1,3-glukán syntáza sme vykonávali na modelovom organizme *E. gracilis*. Na začiatku sme zostavili vstupný súbor kde sme zhromaždili už anotované aminokyselinové sekvencie β-1,3-glukán syntázy z rôznych organizmov z databázy UniProt KB (*Universal Protein Resource*). Do vstupného súboru sme celkovo zhromaždili 124 sekvencií. Tieto sekvencie sme následne zarovnali prostredníctvom programu MAFFT (*for multiple alignment using fast Fourier transform*), ktorý sa používa na vytvorenie viacnásobného zarovnania aminokyselinových alebo nukleotidových sekvencií [3]. Zarovnané sekvencie sme upravili prostredníctvom programu TRIMAL [4], ktorý sa používa na odstránenie najmenej podobných úsekov z viacnásobného zarovnania. Celkovo sme vykovali dve rôzne úpravy. V prvej časti sme prostredníctvom programu TRIMAL vykonali iba veľmi miernu úpravu sekvencií, pričom väčšina úsekov zostala zachovaná. V druhej úprave programom TRIMAL sme urobili prísnejšie zrovnanie, ktoré odstránilo všetky pozície, v ktorých bolo viac ako 40 % rozdielov.

Úpravy viacnásobného zarovnania sekvencií sme vykonali preto, aby sa zvýšila presnosť matematických modelov, ktoré sme vytvorili ako ďalší krok *in silico* analýzy, a to prostredníctvom programu HMMER – 3.2.1 [5] a jeho programovej nadstavby HMM*build*. Spolu sme vytvorili tri skryté Markove modely (Hidden Markov Model, HMM), pričom prvý HMM bol vytvorený pre súbor zarovnaných sekvencií bez ďalšej úpravy a ďalšie dva pre súbory upravených sekvencií pomocou programu TRIMAL. Celkovo sme tak získali tri HMM. Každý z týchto modelov sme použili pre vyhľadávanie potenciálnych sekvencií β-1,3-glukán syntázy v transkriptóme *E. gracilis* [6]. Na tento krok sme použili ďalšiu programovú nadstavbu programu HMMER – 3.2.1, HMM*search*. Takto sa nám podarilo identifikovať potenciálne sekvencie enzýmu β-1,3-glukán syntáza, za ktoré považujeme také sekvencie, ktoré sa nachádzajú v transkriptóme *E. gracilis* a zároveň vyhovujú niektorému z vytvorených modelov.

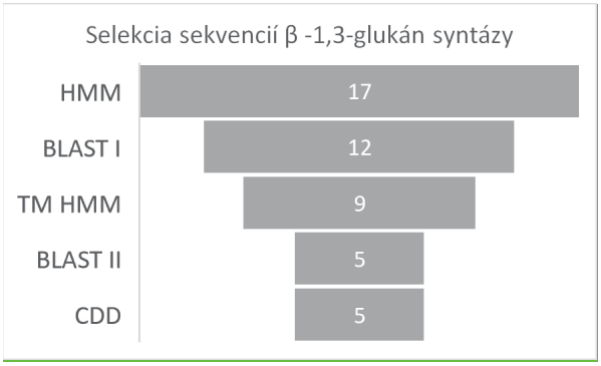
Sekvencie vyselektované programom HMM*search*, sme v ďalšom kroku podrobili detailnej bioinformatickej analýze, v ktorej sme porovnávali ich vlastnosti s doteraz charakterizovanými sekvenciami enzýmu β-1,3-glukán syntáza u iných eukaryotických organizmov. Medzi sledované parametre patrila prítomnosť konzervovanej domény, homológia s inými proteínmi a prítomnosť transmembránových úsekov. Na určenie tejto podobnosti s β-1,3-glukán syntázou sme použili niekoľko nástrojov. Prostredníctvom programu BLAST (*Bacic Local Alignment Search Tool*, zisťovali mieru homológie medzi proteínmi. Program PFAM [7] slúžil na analýzu prítomnosti, resp. neprítomnosti konzervovaných domén a program TM HMM, ktorý identifikoval prítomnosť transmembránových úsekov. Posledný nástroj použitý na *in silico* analýzu bola databáza CDD (*Conserved Domain Database*, pomocou ktorého sme zisťovali lokalizáciu domény *β-1,3-glucan synthase* v sekvencii študovaných enzýmov β-1, 3-glukán syntáza.

2 Výsledky a diskusia

Z celkového počtu 124 sekvencií β-1,3-glukán syntázy, zhromaždených z rôznych organizmov sme bioinformatickou analýzou prostredníctvom programu HMMER vytvorili tri skryté Markove modely.

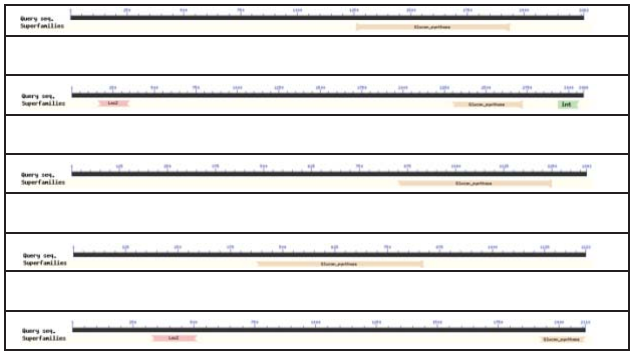
Aplikáciou týchto modelov na transkriptóm *E. gracilis* sme získali potenciálne sekvencie enzýmu β-1,3-glukán syntáza. Celkový počet potenciálnych sekvencií β-1,3-glukán syntázy vyselektovaných HMM bol 17. Tieto sekvencie sme následne podrobili detailnej bioinformatickej analýze. Najskôr sme použili program BLAST (BLAST I), ktorým sme vylúčili duplicitné sekvencie, teda také, ktorých identita s porovnávanou sekvenciu dosiahla podobnosť vyššiu ako 99 %. Zistili sme, že 5 sekvencií malo vysokú mieru podobnosti, na základe čoho sme z pôvodného počtu 17 sekvencií, získali 12 jedinečných sekvencií β -1,3-glukán syntázy. V týchto sekvenciách sme ďalej prostredníctvom programu TM HMM zisťovali prítomnosť transmembránových úsekov. Zistili sme, že tranmembránové úseky boli z celkového počtu sekvencií (12), prítomné v 9 sekvenciách a ich počet sa pohyboval od 1 do 17. Väčšina eukaryotických β-1,3-glukánov sú veľké membránové proteíny s približným počtom 16 transmembránových úsekov [8]. V ďalšom kroku sme získaných 9 potenciálnych sekvencií β-1,3-glukán syntázy opäť podrobili analýze programom

BLAST (BLAST II). Zistili sme, že medzi sekvenciami ešte existovala podobnosť a preto boli programom označené za duplicitné. Na základe toho sme získali 5 jedinečných sekvencií β-1,3-glukán syntázy (Graf 1).



Graf 1 Proces selekcie jedinečných sekvencií β-1,3-glukán syntázy u *E. gracilis*
Zdroj: Autori

Následne sme prostredníctvom programu CDD identifikovali prítomnosť domény *β-1,3-glucan synthase* v 5 vyslektovaných sekvenciách. Určili sme ich lokalizáciu aj veľkosť (Obr 1).



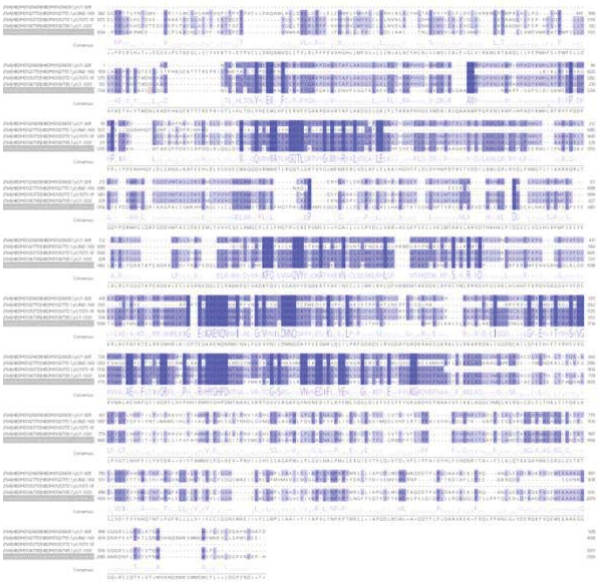
Obr. 1 Identifikácia domény *β-1,3-glucan synthase* vo vyselektovaných sekvenciách enzýmu β-1,3-glukán syntáza
Zdroj: Autori

Prostredníctvom programu CDD sme vo všetkých 5 vyselektovaných sekvenciách β-1,3-glukán syntázy identifikovali prítomnosť domény *β-1,3-glucan synthase*. Niektoré sekvencie však obsahovali aj iné domény, ktoré sme uviedli v Tab. 1. Tie sa vyskytovali predovšetkým v dlhých sekvenciách s veľkosťou 2000 bp a viac.

Tab. 1 Charakteristiky domény *β-1,3-glucan synthase*, Zdroj: Autori

	Názov sekvencie	Dĺžka sekvencie	Doména	Interval domény
1.	HBDM01027751	2263	Glucan synthase	1259 - 1935
2.	HBDM01075702	3089	Glucan synthase	2296-2721
			lac Z	156 - 349
			Int	2936-3064
3.	HBDM01067185	1342	Glucan synthase	849-1249
4.	HBDM01026659	1224	Glucan synthase	437-835
5.	HBDM01053772	2111	Glucan synthase	1921-2109
			lac Z	327-513

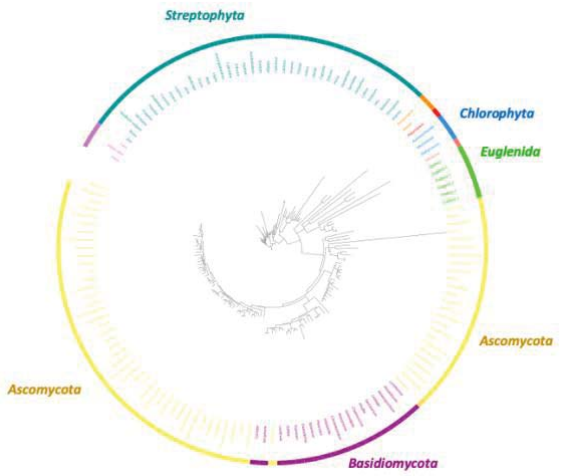
V ďalšom kroku sme použili program PFAM, ktorým sme zistili prítomnosť konzervovaných úsekov aminokyselín, resp. prítomnosť komponentu enzýmu β-1,3-glukán syntáza. Z výsledkov vyplýva, že z celkového počtu sekvencií (5), sme vo všetkých identifikovali komponent β-1,3-glukán syntázy.



Obr. 2 Identifikácia konzervovaných úsekov v sekvenciách β-1,3-glukán syntázy u *E. gracilis* (vizualizácia prostredníctvom programu JailView)
Zdroj: Autori

Ako vyplýva z Obr. 2, v 5 identifikovaných sekvenciách β-1,3-glukán syntázy u *E. gracilis* sa nachádzajú konzervované úseky aminokyselín. Na obrázku 2 sú aminokyseliny vyznačené farebne, čím tmavšou farbou sú dané aminokyseliny zafarbené, tým viac je táto pozícia konzervovaná.

Posledným krokom bioinformatickej analýzy bola tvorba fylogenetického stromu, kde sme zisťovali príbuznosť medzi enzýmami proteínovej rodiny glykozyltransferáz (GT48) na základe klasifikácie v databáze CAZy, do ktorej patrí aj nami študovaný enzým β-1,3-glukán syntáza a medzi nami identifikovanými sekvenciami β-1,3-glukán syntázy. Do fylogenetického stromu sme zaradili aj jednu sekvenciu β-1,3-glukán syntázy, ktorá bola u *E. gracilis* doteraz identifikovaná. Fylogenetický strom sme vytvorili celkovo zo 144 sekvencií.



Obr. 3 Fylogenetický strom evolučnej príbuznosti GT48 a identifikovaných sekvencií β-1,3-glukán syntázy
Zdroj: Autori

Na Obr. 3 je znázornená fylogenetická analýza proteínovej rodiny GT48 z databázy CAZy a 5 nami identifikovaných sekvencií β-1,3-glukán syntázy u *E. gracilis*. V databáze CAZy je anotovaná len jedna sekvencia β-1,3-glukán syntázy u *E. gracilis*, ktorá klastruje s nami vyselektovanými sekvenciami, čo potvrdzuje správnosť výsledkov. Fylogenetické začlenenie sekvencií β-1,3-glukán syntázy u *E. gracilis*, ktoré sme identifikovali v tejto práci, je na Obr. 2. zobrazené medzi taxónom *Ascomycota* a *Chlorophyta.* Toto začlenenie poukazuje na ich príbuznosť len z toho dôvodu, že v databáze CAZy nie sú anotované iné sekvencie pre *E. gracilis* alebo taxón *Euglenozoa*. Všeobecne sú však tieto taxóny evolučne vzdialenejšie od euglén.

Záver

Euglena gracilis patrí k modelovým mikroorganizmom najmä z hľadiska jej morfológie, biochémie a molekulárnej biológie. Biotechnologicky aj medicínsky významné látky, ktoré *E. gracilis* syntetizuje však poukazujú na ďalšie možnosti jej využitia.. Paramylon, na ktorého syntéze sa podieľa enzým β-1,3-glukán syntáza má významný biotechnologický aj komerčný potenciál, hlavne v priemyselnom, potravinárskom či medicínskom a farmaceutickom odvetví. V tejto práci sme identifikovali 12 potenciálnych sekvencií enzýmu β-1,3-glukán syntáza, ktoré sme podrobili detailnej bioinformatickej štúdii. Na jej základe sme z celkového počtu potvrdili prítomnosť 5 sekvencií, ktoré vykazujú sekvenčné charakteristiky podobné enzýmom β- 1,3-glukán syntáza u iných eukaryotických organizmov. Tieto výsledky nám poskytujú východisko pre *in vitro* štúdie expresie génov pre β-1,3-glukán syntázu v rôznych podmienkach. *In silico* analýza β-1,3-glukán syntázy pomocou rôznych pokročilých bioinformatických programov predstavuje významný nástroj pre detailnejšie pochopenie syntézy paramylonu, čo vedie k jeho komplexnejšiemu využitiu.

Poďakovanie

Táto práca vznikla s podporou grantu VEGA 1/0694/2021.

Použitá literatúra

[1] EBENEZER, T., 2019. Transcriptome, proteome and draft genome of *Euglena gracilis*. In *BMC Biology.* 2019. Vol. 17, Issue 11. Dostupné z: https://doi.org/10.1186/s12915-019-0626-8

[2] KATOH, KAZUTAKA *et al.* 2019. "*MAFFT online service: multiple sequence alignment, interactive sequence choice and visualization"* In *Briefings in bioinformatics* vol. 20,4 (2019): Dostupné z: 10.1093/bib/bbx108

[3] NAKASHIMA, A., 2018. Anti-fibrotic activity of *Euglena gracilis* and paramylon in a mouse model of non-alcoholic steatohepatitis. In *Food Sci Nutr*. 2018.

Vol. 7, Issue 1., p. 139-147. Dostupné z: 10.1002/fsn3.828

[4] CAPELLA-GUTIÉRREZ, S., SILLA-MARTÍNEZ, J.M., GABALDÓN, T. *trimAl: a tool for automated alignment trimming in large-scale phylogenetic analyses,* In *Bioinformatics*, Volume 25, Issue 15, 1 August 2009, Pages 1972–1973, Dostupné z: https://doi.org/10.1093/bioinformatics/btp348

[5] PRAKASH, A., JEFFRYES, M., BATEMAN, A, FINN, R. D. 2017. *The HMMER Web Server for Protein Sequence Similarity Search*. In *Current Protocols in Bioinformatics*. 2017. Dostupné z: https://doi.org/10.1002/cpbi.40

[6] O'NEILL, E., *et al*., 2015. *The transcriptome of Euglena gracilis reveals unexpected metabolic capabilities for carbohydrate and natural product biochemistry*. In *Molecular Biosystem.* 2017. Vol. 11. Isuue 12. p. 2808-2820. Dostupné z: https://pubs.rsc.org/en/content/articleanding/2015/MB/C5MB00319A

[7] MISTRY, J., *et al.,* 2020. *Pfam: The protein families database in 2021,* In *Nucleic Acids Research*, Volume 49, Issue D1, 8 January 2021, Pages D412–D419, Dostupné z: https://doi.org/10.1093/nar/gkaa913

[8] TANAKA, Y., *et al.,* 2017. *Glucan synthase-like 2 is indispensable for paramylon synthesis in Euglena gracilis.* In *FEBS Letters*. 2017. Vol. 591, Issue 10. p. 1360-1370. Dostupné z: https://febs.onlinelibrary.wiley.com/doi/10.1002/1873-3468.12659

Využitie rastlinných extraktov na inhibíciu rastu vybraných baktérií

The Use of Plant Extracts to Inhibit the Growth of Selected Bacteria

Patrik Mihala[1]
Školiteľ: Eva Ürgeová[2]
[1,2]Katedra biológie, FPV UCM, Nám. J. Herdu 2, 917 01 Trnava,
[1]mihala1@ucm.sk, [2]eva.urgeova@ucm.sk

Abstrakt

Extrakty rastlín sú zdrojom množstva bioaktívnych látok, z ktorých mnohé sa vyznačujú antibakteriálnou aktivitou. V našej práci sme sa zamerali na určenie antibakteriálnej efektivity trinástich rastlinných extraktov: propylénglykolové extrakty z brečtanu (*Hedera helix* L.), lopúcha (*Arctium lappa* L.), repíka (*Agrimonia eupatoria* L.), šalvie (*Salvia officinalis* L.), ginka (*Ginko giloba* L.), arniky (*Arnica montana* L.) a etanolových extraktov z repíku (*Agrimonia eupatoria* L.), lopúcha (*Arctium lappa* L.), arniky (*Arnica montana* L.), omanu (*Inula helenium* L.), ľuľkovca (*Atropa bella-donna* L.), nátržníka (*Potentilla erecta* L.) a ľalie (*Lilium candidum* L.). Antibakteriálna účinnosť týchto extraktov bola testovaná na gramnegatívne baktérie *E. coli* CCM 3954, *E. asburiae* CCM 8546 a grampozitívne baktérie *B. subtilis* DSM 5552 a *M. luteus* DSM 1790. Antibakteriálna aktivita extraktov bola stanovená metódou „drop-test“, ktorou sme orientačne stanovili minimálne inhibičné koncentrácie (MIC) na potlačenie rastu baktérií. Rovnako sme touto metódou určili čas expozície pôsobenia rastlinných extraktov pre dosiahnutie úplnej inhibície rastu bakteriálnych kmeňov. Najúčinnejšími boli propylénglykolové extrakty šalvie (MIC = 31,25 µl/ml) a ginka (MIC = 125 µl/ml) a etanolový extrakt ľuľkovca (MIC = 125 µl/ml). Všetky účinné extrakty inhibovali rast baktérií do 48 hodín.

Kľúčové slová: antibakteriálna aktivity, etanol, propylénglykol, rastlinné extrakty.

Abstract

Plant extracts are the source of a number of bioactive substances, many of which are characterized by antibacterial activity. In our work, we focused on determining the antibacterial effectiveness of thirteen plant extracts: propylene glycol extracts from ivy (*Hedera helix* L.), burdock (*Arctium lappa* L.), common agrimony (*Agrimonia eupatoria* L.), sage (*Salvia officinalis* L.), ginkgo (*Ginko giloba* L.), wolf's bane (*Arnica montana* L.), and ethanol extracts from agrimony (*Agrimonia eupatoria* L.), burdock (*Arctium lappa* L.), wolf's bane (*Arnica montana* L.), horse-heal (*Inula helenium* L.), deadly nightshade (*Atropa bella-donna* L.), tormentil (*Potentilla erecta* L.), and lily (*Lilium candidum* L.). The antibacterial activity of these extracts was tested against the gram-negative bacteria *E. coli* CCM 3954, *E. asburiae* CCM 8546 and the gram-positive bacteria *B. subtilis* DSM 5552 and *M. luteus* DSM 1790. The antibacterial activity of the extracts was determined by the "drop-test" method, by which we determined minimum inhibitory concentrations (MICs) to suppress bacterial growth. We also used this method to determine the time of exposure to the action of plant extracts to achieve complete inhibition of the growth of bacterial strains. The most effective were the propylene glycol extracts of sage (MIC = 31.25 µl/ml) and ginkgo (MIC = 125 µl/ml) and the ethanolic extract of oleander (MIC = 125 µl/ml). All effective extracts inhibited bacterial growth within 48 hours.

Key Words: antibacterial activity, ethanol, plant extracts, propylene glycol.

Úvod

Antibiotiká sú v dnešnej dobe neoddeliteľnou súčasťou medicíny, pričom pomáhajú v boji proti infekciám spôsobených baktériami. Moderné, často chemicky syntetizované antibiotiká, nie sú však vždy postačujúce na potlačenie rastu patogénnych baktérii, kvôli vynárajúcej sa hrozbe v podobe kmeňov baktérií, ktoré sú voči antibiotikám rezistentné. Cieľom mnohých štúdii je preto hľadanie nových antibakteriálne účinných látok. Potenciálnym zdrojom zatiaľ riadne dostatočne nepreskúmaných bioaktívnych látok sú rastliny. Rastliny produkujú široké spektrum sekundárnych metabolitov, ktoré sú využiteľné pri produkcii efektívnych liečiv. Častokrát teda hľadanie takýchto látok vedie výskumníkov k inšpirovaniu sa v ľudovom liečiteľstve, ktoré využíva liečivé rastliny pri terapii rôznych ochorení a ich symptómov. Pri liečení rôznych ochorení sú rastlinné prípravky vhodné nielen kvôli ich antibakteriálnej aktivite, ale aj kvôli ich antioxidačným a protizápalovým účinkom, ktoré napomáhajú liečenie

množstva ochorení. Na stanovenie antibakteriálnej aktivity bolo vyvinutých a štandardizovaných množstvo metód. Väčšina z nich má základ v stanovení minimálnej inhibičnej koncentrácie (MIC) látky, ktorá je potrebná na potlačenie rastu baktérií. Popri koncentráciách potrebných na potlačenie rastu alebo vitality baktérií môžeme stanoviť aj čas expozície, potrebný pre dosiahnutie tejto aktivity.

Sekundárne metabolity rastliny produkujú najmä pri vystavení rastliny stresovým faktorom. Zlúčeniny, ktoré sa takto v rastline vytvoria chránia potom rastlinu pred pôsobením patogénov alebo iných nepriaznivých vplyvov prostredia. Rastlinné sekundárne metabolity poskytujú nižšiu antibakteriálnu aktivitu ako syntetické, či semisyntetické, konvenčne používané antibiotiká. Objektom záujmu sú preto, lebo sú účinné aj proti rezistentným kmeňom baktérii a v niektorých prípadoch môžu zvrátiť bakteriálnu rezistenciu [1]. Medzi najčastejšie skupiny zlúčenín obsiahnutých v rastlinách a ich výťažkoch, ktoré disponujú antibakteriálnou aktivitou sú flavonoidy [2], terpény a terpenoidy [3], saponíny [4], taníny a alkaloidy [1].

1 Materiál a metódy

1.1 Použitý materiál

Testy antibakteriálnej aktivity sme vykonali kultiváciou baktérii v tekutých kultivačných médiách podľa Muellera a Hintonovej (SigmaAldrich, Nemecko).

Rastlinné extrakty, etanolové a propylénglykolové, sme zakúpili od výrobcu CALENDULA, a. s. so sídlom v Novej Ľubovni. Testovali sme propylénglykolové extrakty vňate šalvie lekárskej (*Salvia officinalis* L.), listov brečtanu popínavého (*Hedera helix* L.), listov ginka dvojlaločného (*Ginko giloba* L.), koreňov lopúcha väčšieho (*Arctium lappa* L.), kvetov arniky horskej (*Arnica montana* L.) a vňate repíka lekárskeho (*Agrimonia eupatoria* L.). Etanolové extrakty, ktoré sme použili, boli z koreňov nátržníka vzpriameného (*Potentilla erecta* L.), koreňov ľuľkovca zlomocného (*Atropa bella-donna* L.), kvetov ľalie bielej (*Lilium candidum* L.), koreňov lopúcha väčšieho (*Arctium lappa* L.), kvetov arniky horskej (*Arnica montana* L.), vňate repíka lekárskeho (*Agrimonia eupatoria* L.) a omanu pravého (*Inula helenium* L.).

Bakteriálne kmene pochádzali z Českej zbierky mikroorganizmov (CCM; Brno, Česká republika) a Nemeckej zbierky mikroorganizmov a bunkových kultúr (DSMZ, Braunschweig, Nemecko). Extrakty boli testované na dvoch gramnegatívnych baktériách *Escherichia coli* CCM 3954, *Enterobacter asburiae* CCM 8546 a dvoch grampozitívnych kmeňoch: *Micrococcus luteus* DSM 1790 a *Bacillus subtilis* DSM 5552. Baktérie boli uchovávané na mäsopeptónovm agare pri 4 °C. Pred testovaním sme pripravili nočné kultúry, ktoré sme kultivovali na trepačke pri teplote 30°C cca 18 hodín. Po kultivácii sme nočné kultúry nariedili na testovanie sterilným bujónom podľa Muellera a Hintonovej (MHB) na hustotou zákalu 0,5° McF.

1.2 „Drop-test“ metóda

Metóda „drop-test“ je semikvantitatívnou metódou na určenie miery antibakteriálneho účinku látok. Je to obmena metódy známej ako „time-kill“ test, pri ktorej sa stanovuje čas potrebný na usmrtenie všetkých bakteriálnych buniek pôsobením antibakteriálnych látok pri danej koncentrácii. Je to metóda, ktorá okrem stanovenia hodnoty MIC určí aj potrebnú dobu expozície extraktu na dosiahnutie inhibície baktérií.

Na testovanie sme použili čisté rastlinné extrakty (etanolové extrakty lopúchu, omanu a ľalie) a extrakty riedené MHB na koncentrácie 500 µl/ml, 125 µl/ml, 62,5 µl/ml a 31,3 µl/ml. Následne sme k 0,5 ml extraktu pridali 0,5 ml bakteriálnej suspenzie s hustotu zákalu 0,5° McF a kultivovali sme po dobu 48 hodín na trepačke pri 30°C. Počas prvých ôsmych hodín sme v hodinových intervaloch odobrali 10 µl suspenzie a kvapli na Petriho misku so sterilným pevným kultivačným médiom podľa Muellera a Hintonovej. Počas zvyšnej doby kultivácie sme odoberali 10 µl média v 12 hodinových intervaloch od začiatku kultivácie. Následne sme všetky Petriho misky kultivovali stacionárne pri teplote 30 °C po dobu 24 hodín. Výsledky sme zhodnotili vizuálne; sledovali sme, či došlo na mieste kvapnutia bakteriálnej suspenzie zmiešanej s nariedeným rastlinným extraktom k vytvoreniu kolónie a rastu baktérii.

2 Výsledky a diskusia

Propylénglykolový extrakt z brečtanu preukazoval inhibičný efekt na rast baktérií *E. coli*, *E. asburiae* a *M. luteus* pri koncentrácii 250 µl/ml s úplnou inhibíciou rastu baktérií po 48 hodinách. Pri baktérii *B. subtilis* sme pri tejto koncentrácii pozorovali potlačenie rastu, nie však úplnú inhibíciu. Antibakteriálnu aktivitu extraktov z listov *H. helix* popísal Pop a kol. [5], ktorý vo svojej práci stanovil hodnoty MIC etanolovoých extraktov z listov brečtanu na 2,5 mg/ml pre *E. coli* a 1,25 mg/ml pre baktérie rodu *Bacillus*. Vyššiu antibakteriálnu aktivitu vykazovali extrakty z iných

časti rastliny, najmä nezrelé plody a kvety brečtanu. Hlavnými bioaktívnymi komponentmi extraktov z brečtanu popínavého sú triterpenoidné saponíny, ktoré zodpovedajú za ich antibakteriálnu účinnosť [6].

Oba extrakty, propylénglykolový a etanolový, lopúchu mali slabé antibakteriálne účinky na rast všetkých baktérií. Baktéria *M. luteus* bola najviac citlivá na propylénglykolový lopúchový extrakt s MIC 250 µl/ml po 48 hodinách. V prípade vyššej koncentrácie – 500 µl/ml došlo k úplnému potlačeniu rastu už po 8 hodinách kultivácie. Baktérie *E. coli* a *E. asburiae* boli pri koncentrácii propylénglykolového extraktu lopúcha 500 µl/ml úplne inhibované do 48 hodín. Etanolový extrakt nemal na rast baktérií výrazný vplyv. K potlačeniu rastu baktérii došlo len v prípade *E. asburiae* a *M. luteus* pri použití čistého rastlinného extraktu po 48, resp. 36 hodinách. Oliveira a kol. [7] vo svojom výskume poukázal na schopnosť glykolových extraktov z listov lopúcha relatívne efektívne inhibovať rast biofilm tvoriacich baktérií pri vysokých koncentráciách použitých extraktov. Koncentrácia lopúchového extraktu 250 mg/ml eliminovala baktérie vo všetkých testoch. Biologickú a antimikrobiálnu aktivitu pripisujú látkam arktiín a arktigenín. Rovnakú schopnosť glykolových extraktov potláčať tvorbu biofilmov baktérií spôsobujúcich zubné kazy opísal aj Gentil a kol. [8].

Propylénglykolové, rovnako ako etanolové extrakty repíka mali pri testovaných koncentráciách slabú inhibičnú aktivitu na všetky testované kmene baktérií. Minimálna koncentrácia propylenglykolového extraktu, potrebného na úplné potlačenie rastu baktérií *E. asburiae* a *M. luteus* bola 250 µl/ml po 48 hodinách pre *E. asburiae* a 36 hodinách pre *M. luteus*. Etanolový extrakt repíka mal na baktérie *E. asburiae* a *M. luteus* inhibičný efekt pri koncentrácii 500 µl/ml po 48, resp. 24 hodinách v prípade *M. luteus*. Baktérie *E. coli* a *B. subtilis* nevykazovali citlivosť voči repíkovým extraktom. Propylénglykolové extrakty repíku vykazovali antibakteriálnu aktivitu aj v štúdii Nicu a kol. [9]. Minimálna koncentrácia potrebná na inhibíciou *E. coli* bola 1,25 mg/ml. Napriek pozorovaným rozdielom v efektivite, tieto extrakty obsahujú viaceré bioaktívne látky, ako sú zlúčeniny kvercetínu – rutín, hyperozid, kvercitrín, orientín, apigenín a kampferol a fenolové zlúčeniny, kyselina neochlorogénová a kávová. V porovnaní s týmito výsledkami Muruzović a kol. [10] v práci popísal rovnakú antibakteriálnu aktivitu etanolových extraktov repíka pri baktérii *E. coli*. Pri testovaní extraktov na *B. subtilis* sa hodnoty MIC pohybovali od 0,31 mg/ml do 0,62 mg/ml pre rôzne kmene. Rozdielna antibakteriálna aktivita medzi jednotlivými extraktmi môže byť spôsobená odlišným zložením propylénglykolových a etanolových extraktov. Etanolové extrakty repíka sú charakteristické vysokým obsahom tanínov (~10%), terpenoidov, flavonoidov a fenolových kyselín, ako sú luteolín a jeho deriváty, kyselina protokatechová, vanilínová a p-hydroxybenzoová [10].

Šalviový extrakt extrahovaný propylénglykolom sa ukázal v testoch antibakteriálnej aktivity ako najviac účinný pri všetkých testovaných druhoch baktérií. K úplnému potlačeniu rastu baktérií *E. asburiae* a *M. luteus* došlo po 48 hodinách pri koncentrácii 31,25 µl/ml a u *E. coli* a *B. subtilis* pri koncentrácii 62,5 µl/ml. Pri vyšších koncentráciách bol čas potrebný na inhibíciu baktérií týmto extraktom výrazne nižší, pričom pri koncentrácii 250 µl/ml došlo k inhibícii rastu už do 8 hodín pri všetkých druhoch baktérií (Tab. 1). Pri tomto teste sa baktéria *M. luteus* ukázala ako pomerne citlivá na pôsobenie propylénglykolového extraktu so šalvie. Rovnako sľubné výsledky boli dokázané aj v práci Císarová a kol. [11], v ktorej sa hodnoty MIC_{90} pre propylénglykolové extrakty šalvie pohybovali v rozmedzí 0,928 – 2,574 mg/ml; v prípade baktérie *E. coli* 1,662 mg/ml. Antibakteriálna aktivita bola v tejto štúdii pripísaná zlúčeninám α- a β-tujónu, 1,8-cineolu a borneolu. Výsledky štúdií ukazujú, že šalviové extrakty môžu nájsť využitie ako účinné prípravky pri eliminovaní baktérií zubného plaku. Koncentrácie 50 mg/ml sú pritom postačujúce na potlačenie väčšiny druhov baktérií [12].

Tab. 1 Antibakteriálna účinnosť propylénglykolového extraktu *S. officinalis* na rast baktérií

Baktéria	Koncentrácie [µl/ml]			
	31,25	62,5	125	250
M. luteus	+	+	++	+++
B. subtilis	-	+	+	+++
E. coli	-	+	+	+++
E. asburiae	+	+	+	+++

Legenda: - bez inhibičného účinku, + inhibícia rastu do 48 hodín, ++ inhibícia rastu do 24 hodín, +++ inhibícia rastu do 8 hodín

Propylénglykolový extrakt z ginka sa ukázal ako pomerne účinný antibakteriálny agens. V prípade testovaných baktérií, s výnimkou baktérie *B. subtilis*, došlo k inhibícii rastu pri koncentrácii 125 µl/ml do 36 hodín, resp. pri *M. luteus* do 48 hodín. Pri *B. subtilis*

došlo k úplnému potlačeniu rastu po 36 hodinách kultivácie pri koncentrácii 250 µl/ml. Koncentrácia 250 µl/ml bola veľmi účinná v prípade baktérie *E. coli*, kedy došlo k usmrteniu bakteriálnych buniek do 1 hodiny a v prípade *M. luteus* došlo k úplnej inhibícií do 8 hodín (Tab. 2). Medzi bioaktívne látky, ktoré ginko obsahuje patria hlavne terpénové trilaktóny a flavonoidové glykozidy, ktoré sú pravdepodobne zodpovedné aj za antibakteriálnu aktivitu ginkových extraktov. V práci Sati a kol. [13] testovali metanolové, chloroformové a etanolové extrakty. Najväčšiu antibakteriálnu aktivitu mali etanolové extrakty. Zaznamenali hodnoty MIC v rozmedzí 7,8 µg/ml až 31,25 µg/ml.

Tab. 2 Antibakteriálna účinnosť propylénglykolového extraktu *G. biloba* na rast baktérií

Baktéria	Koncentrácie [µl/ml]		
	62,5	125	250
M. luteus	-	+	+++
B. subtilis	-	-	+
E. coli	-	+	+++
E. asburiae	-	+	++

Legenda: - bez inhibičného účinku, + inhibícia rastu do 48 hodín, ++ inhibícia rastu do 24 hodín, +++ inhibícia rastu do 8 hodín

Gramnegatívne baktérie *E. asburiae* boli citlivé na oba, propylénglykolové aj etanolové, extrakty arniky. K ich inhibícii došlo po 48 hodinách pri koncentrácii 250 µl/ml Grampozitívne baktérie *M. luteus* boli inhibované pri rovnakej koncentrácii do 24 hodín. Baktérie *E. coli* a *B. subtilis* v experimente nevykazovali v rozsahu testovaných koncentrácií citlivosť na extrakty z arniky. Schopnosť extraktov z *Arnica montana* potláčať pri vyšších koncentráciách rast baktérií tvoriacich sa v ústnej dutine popísal vo svojej práci aj Iauk a kol. [14]

Etanolový extrakt omanu v našom experimente vykazoval veľmi slabú antibakteriálnu aktivitu. Antibakteriálna aktivita tohto extraktu sa prejavila až pri použití čistého rastlinného extraktu po kultivácií do 48 hodín v prípade baktérií *E. asburiae* a *M. luteus*. Ostatné baktérie boli voči pôsobeniu omanového extraktu rezistentné. Odlišné výsledky získali vo svojich prácach Diguţă a kol. [15] a O'Shea a kol. [16], ktorý pozorovali variabilnú antibakteriálnu aktivitu extraktov z koreňov *Inula helenium* voči rôznym druhom baktérií. Výsledky ukazujú koreláciu medzi zvyšujúcou sa koncentráciu etanolu, použitého pri extrakcii z rastlinného materiálu a antibakteriálnou aktivitou extraktov.

Jedným z najúčinnejších rastlinných extraktov, ktoré sme podrobili testom bol etanolový extrakt ľuľkovca. Jeho pôsobením došlo k úplnej inhibícii baktérie *B. subtilis* pri koncentrácii 62,5 µl/ml do 48 hodín. V prípade ostatných baktérií došlo k inhibícii pri koncentrácii 125 µl/ml do 24 hodín pre *M. luteus*, do 36 hodín pre *E. coli* a do 48 pre *E. asburiae*. Koncentrácia 250 µl/ml usmrtila bakteriálne bunky *M. luteus*, *E. coli* a *B. subtilis* do 1 hodiny, rast *E. asburie*, bol potlačený po 8 hodinách kultivácie (Tab. 3). Extrakty *A. belladonna* vykazovali silnú antibakteriálnu aktivitu aj v štúdii Azeema a kol. [17], s hodnotami MIC v rozmedzí 0,375 mg/ml až 1,25 mg/ml pre *E. coli*.

Tab. 3 Antibakteriálna účinnosť etanolového extraktu *A. belladonna* na rast baktérií.

Baktéria	Koncentrácie [µl/ml]		
	62,5	125	250
M. luteus	-	++	+++
B. subtilis	+	++	+++
E. coli	-	+	+++
E. asburiae	-	+	+++

Legenda: - bez inhibičného účinku, + inhibícia rastu do 48 hodín, ++ inhibícia rastu do 24 hodín, +++ inhibícia rastu do 8 hodín

Na pôsobenie etanolového extraktu z nátržníka bola najviac citlivá baktéria *E. asburiae*, k inhibícii rastu došlo pri koncentrácii 125 µl/ml do 48 hodín. Baktérie *M. luteus* boli týmto extraktom inhibované pri koncentrácii 250 µl/ml do 24 hodín. Ostatné baktérie boli proti pôsobeniu extraktu odolné. Antibakteriálnu aktivitu extraktov z koreňov *Potentilla erecta* popisujú aj iní autori [18]. Kaltalioglu a kol. [19] opísali antibakteriálnu aktivitu extraktov nátržníka na baktérie *B. subtilis* a *E. coli* s hodnotami MIC 0,625 mg/ml, resp. 1,25 mg/ml. Biologickú aktivitu extraktov pripisuje fenolovým zlúčeninám: kyseline galovej a protokatecholovej a rutínu.

Ľaliový extrakt extrahovaný do 90% etanolu sa v experimente ukázal ako málo účinná antibakteriálna látka. Jediné citlivé baktérie boli *E. asburiae* a *M. luteus*. Baktéria *M. luteus* bola inhibovaná ľaliovým extraktom do 24 hodín pri koncentrácii 500 µl/ml a pri použití čistého rastlinného extraktu došlo k okamžitému usmrteniu baktérií. *E. asburiae* bola inhibovaná do 48 hodín pri pôsobení čistého extraktu ľalie. Antibakteriálnu aktivitu *Lilium candidum*

testovali Kalaba a kol. [20] diskovou difúznou metódou. Vo výsledkoch uvádzali vytvorenie výrazných inhibičných zón s veľkosťou 18,3 mm v prípade baktérie *E. coli*. Biologickú aktivitu pripisujú tanínom obsiahnutých v pletivách rastlín.

Záver

Cieľom našej práce bolo testovanie antibakteriálnej aktivity 13 vybraných etanolových a propylénglykolových extraktov liečivých rastlín. Antibakteriálne najúčinnejšími extraktmi sa ukázali propylénglykolové extrakty šalvie, ktorá potlačila rast väčšiny baktérii pri koncentrácii 31,25 µl/ml do 48 hodín; a ginka, ktoré inhibovalo rast baktérii po 48 hodinách pri koncentrácii 125 µl/ml. Z etanolových extraktov bol najúčinnejší extrakt z ľuľkovca zlomocného, ktorý potlačil rast všetkých baktérii pri koncentrácii 125 µl/ml do 48 hodín a v prípade grampozitívnych baktérií už do 24 hodín. Okrem toho koncentrácia ľuľkovcového extraktu 62,5 µl/ml stačila na úplnú inhibíciu *B. subtilis* do 48 hodín.

Skúmanie antimikrobiálnej aktivity liečivých rastlín a ich extraktov môže v budúcnosti pomôcť pri vývoji nových liečiv účinných v boji proti bakteriálnym infekciám. Tieto prípravky sú používané najmä pri vonkajšom použití vo forme mastí a prípravkov ústnej hygieny. Takéto formy liečby sú aj v dnešnej dobe stále využiteľné, najmä pre ľudí, ktorý hľadajú alternatívne, ekologické formy liečby, ktoré majú nízky dopad na životné prostredie.

Poďakovanie

Táto publikácia vznikla vďaka podpore v rámci Operačného programu Integrovaná infraštruktúra pre projekt: Dlhodobý strategický výskum prevencie, intervencie a mechanizmov obezity a jej komorbidít, kód ITMS: 313011V344, spolufinancovaný zo zdrojov Európskeho fondu regionálneho rozvoja.

Použitá literatúra

[1] BITTNER FIALOVÁ, Silvia a kol. 2021. Antibacterial activity of medicinal plants and their constituents in the context of skin and wound infections, considering european legislation and folk medicine – a review. In International Journal of Molecular Sciences, roč. 22, č. 19, č. čl. 10746. ISSN 1422-0067.

[2] YUAN, Ganjun a kol. 2021. Antibacterial activity and mechanism of plant flavonoids to gram-positive bacteria predicted from their lipophilicities. In Scientific Reports, roč. 11, č. 1, č. čl. 10471. ISSN 2045-2322.

[3] GUIMARÃES, Aline Cristina a kol. 2019. Antibacterial Activity of Terpenes and Terpenoids Present in Essential Oils. In Molecules, roč. 24, č. 13, č. čl. 2471. ISSN 1420-3049.

[4] ARABSKI, Michał a kol. 2012. Effects of Saponins against Clinical *E. coli* Strains and Eukaryotic Cell Line. In Journal of Biomedicine and Biotechnology, 2012, roč. 2012, č. čl. 286216. ISSN 1110-7243.

[5] POP, Carmen Elena a kol. 2017. Investigation of antioxidant and antimicrobial potential of some extracts from *Hedera helix* L. In Farmacia, roč. 65, č. 4, s. 624-629. ISSN 0014-8237.

[6] SABRI, Nadjia – REBIHA, Mounia – MOULAI-MOSTEFA, Nadji. 2020. Formulation and rheological characterization of an antibacterial gel based on *Hedera helix* Algeriensis stabilized by xanthan gum. In Songklanakarin Journal of Science And Technology, roč. 42, č. 6, s. 1389-1396. ISSN 0125-3395.

[7] DE OLIVEIRA, Jonatas Rafael a kol. 2014. Control of microorganisms of oral health interest with *Arctium lappa* L. (burdock) extract non-cytotoxic to cell culture of macrophages (RAW 264.7). In Archives od Oral Biology, roč. 59, č. 8, s. 808-814. ISSN 0003-9969.

[8] GENTIL, Marcelo a kol. 2006. *In vitro* evaluation of the antibacterial activity of *Arctium lappa* as a phytotherapeutic agent used in intracanal dressings. In Phytotherapy Research, roč. 20, č. 3, s. 184-186. ISSN 0951-418X.

[9] NICU, Alina Ioana – PÎRVU, Lucia – VAMANU, Adrian. 2017. Antibacterial activity of ethanolic Extracts from *Agrimonia eupatoria* L. and *Epilobium hirsutum* L. herba. In Scientific Bulletin. Series F. Biotechnologies, roč. 21, s. 127-132. ISSN 2285-1364.

[10] MURUZOVIĆ, Mirjana Ž. a kol. 2016. Extracts of *Agrimonia eupatoria* L. as sources of biologically active compounds and evaluation of their antioxidant, antimicrobial, and antibiofilm activities. In Journal of Food and Drug Analysis, roč. 24, č. 3, s. 539-547. ISSN 1021-9498.

[11] CÍSAROVÁ, M. a kol. 2018. Inhibition Effects of Some Antimicrobial Agents from *Salvia officinalis* L. On The Growth of Selected Gram-Negative and Gram-Positive Bacterial Strains. In Journal of Microbiology, Biotechnology and Food Science, roč. 8, č. 3, s. 960-964. ISSN 1338-5178.

[12] DE OLIVEIRA, Jonatas Rafael a kol. 2019. Antimicrobial activity of noncytotoxic concentrations of *Salvia officinalis* extract against bacterial and fungal species from the oral cavity, In General dentistry, roč. 67, č. 1, s. 22-26. ISSN 0363-6771.

[13] SATI, S. C. – JOSHI, Savita. 2011. Antibacterial Activities of *Ginkgo biloba* L. Leaf Extracts. In The Scientific World Journal, roč. 11, č. 31, s. 2241-2246. ISSN 2356-6140.

[14] IAUK, L. a kol. 2003. Antibacterial activity of medicinal plant extracts against periodontopathic bacteria. In Phytotherapy research, roč. 17, č. 6, s. 599-604. ISSN 0951-418X.

[15] DIGUȚĂ, C. a kol. 2014. Studies on antimicrobial activity of *Inula helenium* L Romanian cultivar. In Romanian Biotechnological Letters, roč. 19, č. 5, s. 9699-9704. ISSN 1224-5984.

[16] O'SHEA, S. a kol. 2009. In vitro activity of *Inula helenium* against clinical *Staphylococcus aureus* strains including MRSA. In British Journal of Biomedical Science, roč. 66, č. 4, s. 186–189. ISSN 0967-4845.

[17] AZEEM, Mohammad a kol. 2021. Fatty acid composition, antibacterial and antioxidant potential of *Atropa belladonna* and *Thymus linearis* seeds grown in Kashmir. In SN Applied Sciences, roč. 3, č. 7, č. čl. 717. ISSN 2523-3963.

[18] GRUJIĆ-VASIĆ, Jela a kol. 2006. Antimicrobial Activity of Different Extracts from Rhizome and Root of *Potentilla erecta* L. Raeuschel and *Potentilla alba* L. Rosaceae*. In Acta Medica Academic, roč. 35, č. 1, s. 9-14. ISSN 1840-1848.

[19] KALTALIOGLU, Kaan – BALABANLI Barbaros – COSKUN-CEVHER Sule. 2020. Phenolic, Antioxidant, Antimicrobial, and *In-vivo* Wound Healing Properties of *Potentilla erecta* L. Root Extract in Diabetic Rats. In Iranian journal of pharmaceutical research, roč. 19, č. 4, s. 264-274. ISSN 1735-0328.

[20] KALABA, Vesna a kol. 2019. Antibacterial properties of White lily (*Lilium candidum*) extract. In Veterinary Journal of Republic of Srpska, roč. 19, č. 2, s. 274-282. ISSN 1840-2887.

Vplyv maturačného média na vývojový potenciál oocytov

The Impact of Maturation Media on Oocyte Developmental Potential

Dominika Martinčeková[1]
Školiteľ: Alexandra Bartková[2,3]
[1,2]Katedra Zoológie a antropológie, FPVaI UKF, Nábrežie mládeže 91, 949 01 Nitra,
[3] Ústav živočišné fyziologie a genetiky Akademie vied ČR, Rumburská 89, 277 21 Liběchov, Česká republika
[1] dominika.martincekova@student.ukf.sk, [2,3] abartkova2@ukf.sk

Abstrakt

Získanie vývojového potenciálu oocytov je veľmi citlivý prísne hormonálne regulovaný stav, počas ktorého oocyt získava svoju vývojovú kompetenciu, schopnosť oplodnenia a následného embryonálneho vývoja. Vzhľadom na alarmujúci rozmach neplodnosti dochádza k rozvoju a optimalizácií technológií a protokolov v rámci *in vitro* produkcie embryí. Nanešťastie, úspešnosť *in vitro* produkcie embryí je stále výrazne nižšia ako v *in vivo*. Jedným z dôvodov je práve vplyv kultivačného prostredia a zloženie maturačného média, ktoré simulujú prirodzené prostredie oocytárneho vývoja. Cieľom tejto štúdie je preto zameranie sa na vplyv maturačného média (TCM-199 vs. FLI) na vývojový potenciál oocytov izolovaných z malých (SF 1 - 2 mm) a veľkých folikulov (LF 3 – 6 mm).

Kľúčové slová: oocyt, vývojový potenciál, partenogenetická aktivácia, embryogenéza

Abstract

The acquisition of oocyte developmental potential is a very sensitive, highly hormonally regulated state during which the oocyte acquires its developmental competence, the capacity for fertilization and subsequent embryonic development. Due to the alarming rise in infertility, technologies and protocols within *in vitro* embryo production are being developed and optimized. Unfortunately, the success rate of *in vitro* embryo production is still significantly lower than *in vivo*. One of the reasons is the influence of the culture environment and the composition of the maturation medium, which simulate the natural environment of oocyte development. Therefore, the aim of this study is to focus on the effect of the maturation medium (TCM-199 vs. FLI) on the developmental potential of oocytes isolated from small (SF 1 - 2 mm) and large follicles (LF 3 - 6 mm).

Key Words: oocyte, developmental potential, parthenogenetic activation, embryogenesis

Úvod

Zvyšujúca sa neplodnosť sa v posledných rokoch stala celosvetovým problémom, ktorý postihuje 1 z 5 manželských párov (ženy vo veku 30 – 39 rokov) a 1 – 8 párov (ženy vo veku do 30 rokov). Aj napriek tomu, že sa v súčasnosti miera neplodnosti rapídne zvyšuje, pokroky v technikách asistovanej reprodukcie (ART) umožňujú dosiahnuť úspešné oplodnenie v *in vitro* podmienkach v humánnej medicíne aj v poľnohospodárstve [1, 2, 3].

Úspešnosť IVF však nie je 100% a práve preto sa výskum orientuje práve na optimalizáciu protokolov s cieľom maximalizovať úspešnosť *in vitro* produkcie embryí s konečným výsledkom a to narodením živého potomka. V rámci *in vitro* produkcie embryí je kľúčovým krokom maturácia oocytov. Táto metodika sa v rámci ART využíva výnimočne, hlavne v prípade PCOS reps. po chemoterapii a to z dôvodu nízkej úspešnosti maturácie ovulovaných oocytov *in vivo* [4, 5, 6].

Aj napriek dosiahnutým pokrokom si sledovanie maturácie a optimalizácia jednotlivých krokov vyžaduje zvýšenú pozornosť. Kritickými krokmi vplývajúcimi na nízke úspešnosti je suboptimálne prostredie počas dozrievania, schopnosti manipulátora a kvalita biologického materiálu [7,8].

V našich laboratórnych podmienkach využívame ako modelový organizmus ošípanú. Tá je vhodným modelovým organizmom pre zlepšenie IVP vzhľadom na blízku podobnosť v anatómii a fyziológii s človekom [9]. Jedným z hlavných parametrov pre zvýšenie vývojovej kompetencie oocytov, úspešného oplodnenia a následnej embryogenézy, ktorý sme sa rozhodli sledovať je kompozícia maturačného média. V našej štúdii sme sa zamerali na vplyv maturačného média na vývojový potenciál oocytov

ošípanej izolovaných z malých a veľkých folikulov (SF 1 - 2 mm vs. LF 3 - 6 mm).

1 Vývojový potenciál oocytov

Vývojová kompetencia spočíva v realizácii molekulárnych zmien na úrovni epigenetiky, cytoplazmy a jadra, vďaka ktorým je oocyt schopný oplodnenia. Túto definíciu je možné rozšíriť o schopnosť udržania skorého embryonálneho vývoja v štádiu blastocysty a následne udržania gravidity až do pôrodu [10, 11, 12, 13].

Súčasťou dozrievania oocytov je jadrové, cytoplazmatické a epigenetické dozrievanie, pričom kvalita oocytu odráža jeho vývojovú kompetenciu [7, 14]. V rámci jadrového dozrievania dochádza k dokončeniu prvého meiotického delenia s vylúčením prvého pólového telieska a pokračovaním do meiózy II. V metafáze II sa chromozómy usporiadajú do metafázovej platničky. Vtedy je oocyt pripravený na oplodnenie [15]. Cytoplazmatické dozrievanie je charakterizované remodelovaním a distribúciou organel v ooplazme. Zahŕňa dynamický pohyb filamentov v priebehu tvorby deliaceho vretienka a kumuláciu nutrientov a substrátov potrebných pre správny oocytárny vývoj [12, 16]. Epigenetické dozrievanie zahŕňa modifikácie na chromatíne, ktoré zasahujú do regulácie génovej expresie bez zmeny v sekvenciách DNA. Prebiehajú v celom genóme, na konkrétnych častiach chromozómov a objavuje sa aj na úrovni jedného génu [17].

1.1 Partenogenetická aktivácia oocytov

Partenogenetická aktivácia oocytov je jeden z druhov aktivácie kompetentných oocytov zameraný na navodenie ranej embryogenézy. Prostredníctvom externých stimulov dochádza k ukončeniu druhého meiotického delenia, vylúčeniu PBII s tým rozdielom, že vzniknuté embryo je haploidné . Na partenogenetickú aktiváciu sa využíva elektrický prúd alebo chemikálie ako ionomycín, stroncium, etanol a iné [18, 19]. Využitie externých stimulov vedie k intracelulárnemu zvýšeniu katiónov vápnika a zahájeniu ranej embryogenézy do štádia blastocysty [20].

2 Materiál a metodika

Všetky chemikálie, maturačné, kultivačné médiá aj doplnky boli zakúpené od Sigma Chemical Co., AppliChem ak nie je uvedené inak. Čerstvo pripravené médiá boli prefiltrované cez 0,22 µm membránový filter Whatman a vyhriate na 38,5°C.

2.1 Izolácia oocytov

Vaječníky boli odobrané po usmrtení jedincov prepubertálnych ošípaných na bitúnku Příbram, ČR a transportované v termoboxe pri teplote 37°C na pracovisko ÚŽFG AV ČR. Pred aspiráciou boli ovária premyté vyhriatym fyziologickým roztokom na 37,5°C. Aspirácia z malých folikulov SF (1 - 2 mm) a veľkých folikulov LF (3 - 6 mm) prebiehala pomocou ihly a 5 ml injekčnej striekačky.

2.2 Selekcia kumulus oocytárnych komplexov

Po odbere folikulárnej tekutiny sme sediment premyli vyhriatym PXM-HEPES médiom na 37,5°C a vyhľadávali kumulus-oocytárne komplexy (COCs) pod stereolupou (Zeiss, Stemi 508). Selekcia prebiehala na základe morfologického hodnotenia kvality t.j. 3 - 5 vrstiev kumulárnych buniek, neporušená *zona pellucida,* homogénna ooplazma.

2.3 Maturácia COCs *in vitro*

Najkvalitnejšie COCs sme roztriedili po 30 ks do experimentálnych skupín SF (1 - 2 mm) a LF (3 - 6 mm). Experimentálne skupiny boli navrhnuté s cieľom pozorovania vývojovej kompetencie SF vs. LF v rámci úspešnosti partenogenetickej aktivácie ovplyvnenej maturáciou v dvoch vybraných maturačných médiách. Jednotlivé skupiny sme dvakrát premyli v maturačnom médiu a vložili do 500 µl maturačného média TCM-199 (Tabuľka 1) a maturačného média FLI (obohatené o cytokíny IGF1, FGF2, LIF) (Tabuľka 2). Obe médiá boli pred použitím ekvilibrované min. 1h v inkubátore (5% CO_2; 38,5°C). *In vitro* maturácia (IVM) prebiehala 44h v inkubátore v rovnakých podmienkach.

Tab. 1: Zloženie maturačného média TCM-199 s pridanými hormónmi a rastovými faktormi

maturačné médium TCM-199	2 ml
TCM-199 pracovný stock	2 ml
EGF	10 ng/ml
PMSG	10 IU/ml
HCG	9,99 IU/ml

Tab. 2: Zloženie média FLI-final

FLI-final	Koncentrácia	2ml
TCM-199	-	2 ml
EGF	10 ng/ml	1 µl
FGF2	40 ng/ml	1,6 µl
IGF1	20 ng/ml	0,8 µl
LIF	-	4 µl
L-cysteín	0,57 nM	10 µl
PMSG	10 IU/ml	8 µl
HCG	9,99 IU/ml	6 µl

2.4 Partenogenetická aktivácia

Po 44h IVM boli mechanicky odstránené kumulárne bunky s pomocou 100 µl pipety. Skupiny oocytov sme dvakrát premyli v PXM-HEPES a aktivovali 5 min v PXM- HEPES s 10 µM Ionomycínu (IO).

Po aktivácii boli oocyty trikrát premyté v 500 µl PZM3 (Porcine zygote medium 3) (Tabuľka 3-5) s 2 mM 6DMAP (6- dimethylaminopurine) a inkubované 5h v inkubátore (5% CO_2 ; 38,5°C).

Po 5h boli oocyty dvakrát premyté v 500 µl PZM3- final a kultivované 7 dní v inkubátore (5% CO_2; 38,5°C).

Tab. 3: Príprava zásobných stockov na PMZ3

Zásobné stocky na PMZ3	50 ml
NaCl	3,155 g/50 ml deionizovanej H_2O
KCl	0,375 g/50 ml deionizovanej H_2O
KH_2PO_4	0,024 g/50 ml deionizovanej H_2O
$MgSO_4x7H_2O$	0,0495 g/50 ml deionizovanej H_2O

Tab. 4: Príprava PZM3 stocku

PZM3 stock	100 ml
NaCl	10 ml
KCl	10 ml
KH_2PO_4	10 ml
$MgSO_4x7H_20$	10 ml
$NaHCO_3$	0,21 g
Ca-lactatex$5H_2O$	0,0617 g
L-glutamine	0,0146g
Hypotaurine	0,055 g
BME amino acids	2 ml
MEM amino acids	1 ml
Gentamycin	0,001 g
Phenol red	0,001 g
doplniť do objemu 100 ml deionizovanou H_2O	

Tab. 5: Príprava PZM3 final

PZM3 final	10 ml
PZM3 stock	10 ml
BSA	0,03 g
Sodium pyruvate roztok	0,0022g/ml deionizovaná H_2O z toho 100 µl/10 ml na PZM3 final

3 Výsledky a diskusia

Pre štatistickú analýzu dát boli výsledky spracované pomocou dvojvýberového t-testu v programe Excel. Hodnoty „P“ menšie ako 0,05 boli považované za štatisticky významné. Experiment mal tri opakovania.

3.1 Maturácia oocytov v podmienkach *in vitro*

Dosiahnutie vývojovej kompetencie je kľúčovým aspektom pri *in vitro* maturácii oocytov a *in vitro* produkcii embryií.

V našich laboratórnych podmienkach sme zaznamenali dosiahnutie MII fázy v prípade oocytov

izolovaných z malých folikulov v médiu TCM v 42,2% a v médiu FLI 78,02%. V skupine oocytov izolovaných z veľkých folikulov sme sledovali úspešnosť maturácie v TCM médiu 52,2% a v médiu FLI 90% (Tabuľka 6). Porovnaním úspešnosti IVM oocytov boli detegované signifikantné rozdiely vrámci experimentálnych skupín SF vs. LF v prípade oboch maturačných médií TCM-199 aj FLI.

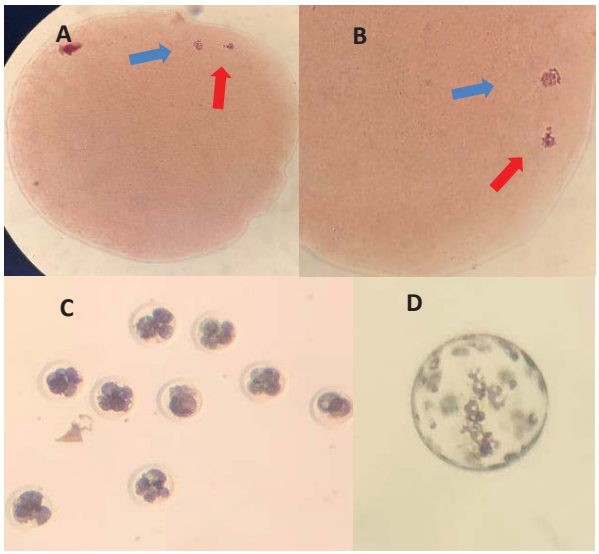
Pre pozorovanie raných embryonálnych štádií oocytov z SF vs. LF v rôznych maturačných médiách sme sa rozhodli využiť partenogenetickú aktiváciu v kombinácii ionomycínu a 6-dimetylaminopurínu. V skupine oocytov izolovaných z malých folikulov sme v médiu TCM dosiahli úspešnú delivosť embryií 50% a podiel blastocýst 17,7% . Vo FLI médiu bola delivosť 72,2% a podiel blastocýst 35,4%. V prípade oocytov izolovaných z veľkých folikulov sme v médiu TCM zaznamenali koreláciu medzi delivosťou a úspešne dozretými blastocystami v porovnaní so skupinou SF- FLI (70%; 34,9%), čo dokazuje, že FLI médium významne zvyšuje vývojový potenciál oocytov z malých folikulov. V LF-FLI sme sledovali delivosť 90% a podiel blastocýst 41,9% (Tabuľka 7).

Tab. 6: Úspešnosť maturácie oocytov in vitro

Experimentálna skupina	Celkový počet oocytov	Počet oocytov v MII (%)
SF-TCM	90	38 (42,2%)
LF-TCM	90	47 (52,2%)
SF-FLI	91	71 (78,02%)
LF-FLI	90	81 (90%)

Tab. 7: Úspešnosť delivosti a podiel blastocýst

Experimentálna skupina	Delivosť	Podiel blastocýst
SF-TCM	45 (50%)	8 (17,7%)
LF-TCM	63 (70%)	22 (34,9%)
SF-FLI	65 (72,2%)	23 (35,4%)
LF-FLI	81 (90%)	34 (41,9%)



Obr. 1 Skorý embryonálny vývoj; (A-B) Oocyt v MII (červená šípka označuje prvé pólové teliesko a modrá šípka označuje chromozómy); (C) delenie po partenogenetickej aktivácii; (D) blastocysta

In vitro maturácia oocytov predstavuje prvý krok k produkcii *in vitro* embryí. V prípade oocytov izolovaných z malých folikulov v TCM médiu Gad *et al*. 2019 sledovali rovnako ako my zníženie úspešnosti maturácie oocytov do MII fázy (51,73% vs. 42,2%). Pozoruhodné je, že naše výsledky zo skupiny SF-FLI dosahujú podobnú úspešnosť ako Dutta *et al.,* 2016 v základnom médiu v prípade oocytov z veľkých folikulov (78,02% vs. 79,9%). To naznačuje, že v prípade maturácie oocytov izolovaných z malých folikulov je využitie FLI maturačného média efektívnejšie. Vrámci oocytov zo skupiny veľkých folikulov maturovaných v TCM médiu sme pozorovali nižšiu úspešnosť dozretia do MII fázy ako aj Procházka *et al.,* 2021 (52,2% vs.69,9%). Naše výsledky v LF-FLI médiu korelujú s výsledkami Yuan *et al*., 2017, ktorí dosiahli 89% úspešnosť.

V rámci hodnotenia úspešnosti partenogentickej aktivácie sledovali Procházka *et al.,* 2011 vyššiu delivosť v experimentálnej skupine korelujúcej s našou LF-TCM (88,8% vs. 70%), no v našej štúdii sme v porovnaní s nimi dosiahli vyšší podiel blastocýst (22,25% vs. 34,9%). Gad *et al.,* 2020 pozorovali podobnú úspešnosť delivosti oocytov v LF-FLI v porovnaní s našimi výsledkami (82,15% vs. 90%), pričom podiel blastocýst dosahoval v ich prípade 28,12%. V prípade experimentálnej skupiny SF-FLI je možné porovnať dosiahnuté výsledky s kontrolnou skupinou s Bartkova *et al*., 2020. Na základe chemickej aktivácie v rámci

kontrolnej skupiny (LF) maturovanej v DMEM médiu sledovali delivosť v 79,83%, pričom v našom prípade podobné hodnoty dosiahla experimentálna skupina SF- FLI (72,2%). Podiel blastocýst bol 20,89%, pričom v našom prípade bol signifikantne vyšší (35,4%).

Záver

V našej štúdii sme sa zamerali na vplyv maturačného média na vývojový potenciál oocytov izolovaných z malých a veľkých folikulov detegovaný na úspešnosti delivosti a podielu blastocýst prostredníctvom partenogenetickej aktivácie. Na základe našich výsledkov možno potvrdiť, že vplyv maturačného média signifikantne vplýva na vývojový potenciál a embryogenézu. Taktiež môžeme potvrdiť, že zloženie maturačného média FLI má signifikantný vplyv na zvýšenie vývojového potenciálu kompetentnejších oocytov z veľkých folikulov, ale aj z malých folikulov, ktoré majú zníženú vývojovú schopnosť.

Výsledky v tejto oblasti predstavujú prvotné dáta spojené s optimalizáciou IVM, ktorá predstavuje jednu z možností zvýšenia produkcie embryí *in vitro*. Dané poznatky tvoria základ nášho ďalšieho výskumu spojeného s *in vitro* produkciou embryí v poľnohospodárskej výrobe a v ďalšom výskume fyziológie embryonálneho vývoja, reprodukčných techník a biomedicíne [28, 29].

Poďakovanie

Touto cestou by som sa chcela poďakovať svojej školiteľke RNDr. Alexandre Bartkovej, PhD. za trpezlivosť, cenné rady a informácie, ktoré mi vždy ochotne poskytla a za možnosť stáže v ÚŽFG AV ČR v Liběchove pod jej vedením. Súčasne sa chcem poďakovať aj UKF v Nitre za schválenie Erasmus + mobility.

Táto práca bola realizovaná s finančnou podporou projektu: „EXCELLENCE in molecular aspects of the early development of vertebrates“, CZ.02.1.01/0.0/0.0/15_003/0000460 from the Operational Programme Research, Development and Education, VEGA 1/0167/20, KEGA 039UKF-4/2021, ERASMUS+.

Použitá literatúra

[1] WU, Jin-Xiang et al. 2022. Stem Cell Therapies for Human Infertility: Advantages and Challenges. In Cell Transplantation, vol. 31, pp. 9636897221083252 / 1-14.

[2] NWOGA, Cornelius et al. 2021 Assisted Reproductive Technologies as Veritable Tools for Improving Production Efficiencies of N’dama and Muturu Cattle Breeds in Nigeria-A Review. London: Bovine science: Challenges and Advances., 205- ISBN 978-1-83969-508-7.

[3] Infertility FAQs. [online]. Miesto vydania: 1600 Clifton Road Atlanta, GA 30329-4027 USA, 10.3.2023. [cit. 19.3.2023]. Dostupné z: https://www.cdc.gov/reproductivehealth/infertility/index.htm.

[4] TEEDE, Helena J. et al. 2018. Recommendations from the international evidence-based guideline for the assessment and management of polycystic ovary syndrome. In Fertility and sterility, vol. 110, no. 3, pp. 364- 379.

[5] GINSBURG, Elizabeth S. et al. 2001. *In vitro* fertilization for cancer patients and survivors. In Fertility and sterility, vol. 75, no. 4, pp. 705-10.

[6] SIRISTATIDIS, Charalampos et al. 2021. Omics and Artificial Intelligence to Improve *In Vitro* Fertilization (IVF) Success: A Proposed Protocol. In Diagnostics (Basel), vol. 11, no.5, pp. 743.

[7] CHEN, Paula R. et al. 2021. Challenges and Considerations during *In Vitro* Production of Porcine Embryos. In Cells, vol. 10, no. 10, pp. 2770

[8] WRENZYCKI, Christine. 2018. *In Vitro* Production of (Farm) Animal Embryos. Cham, Switzerland. Animal Biotechnology 1: Reproductive Biotechnologies, 269- 304pp. ISBN 978-3-319-92327-7.

[9] WALTERS, Eric M. – PRATHER, Randall S. 2013. Advancing swine models for human health and diseases. In Mo Med, vol. 110, no. 3, pp. 212-215.

[10] SHARMA, Alka et al. 2018. Journey of oocyte from metaphase-I to metaphase-II stage in mammals. In Journal of Cellular Physiology, vol. 233, no. 8, pp. 5530-5536.

[11] ZHU, Linkai et al. 2021. The Epigenetics of Gametes and Early Embryos and Potential Long-Range Consequences in Livestock Species—Filling in the Picture With Epigenomic Analyses. In Frontiers in genetics, vol. 12, pp. 557934.

[12] GERMAN, Gustavo - CHILD, Tim. 2013. *In vitro* maturation of oocytes. Cambridge, United Kingdom: Cambridge University Press. Textbook of Clinical Embryology, 300–312pp. ISBN 978-0-521-16640-9

[13] TESFAYE, Dawit et al. 2009. Gene expression profile of cumulus cells derived from cumulus - oocyte complexes matured either *in vivo* or *in vitro*. In Reproduction, Fertility and Development, vol. 21, no. 3, pp. 451–461

[14] HE, Meina et al. 2021. Mechanisms of Oocyte Maturation and Related Epigenetic Regulation. In Front Cell Dev Biol, vol. 9, pp. 654028.
[15] LIU, Shuzhen et al. 2015. Effect of Acrylamide on Oocyte Nuclear Maturation and Cumulus Cells Apoptosis in Mouse *In Vitro*. In PLoS One, vol. 10, no. 8, pp. 1–13.
[16] FERREIRA, E.M. et al., 2009. Cytoplasmic maturation of bovine oocytes: Structural and biochemical modifications and acquisition of developmental competence. In Theriogenology, vol. 71, no. 5, pp. 836–848.
[17] VIVEIROS, Maria M. - DE LA FUENTE, Rabindranath, 2019. Epigenetic Control of Oocyte Development. *Human Reproductive and Prenatal Genetics.* Elsevier, 173–192pp. ISBN 9780128135709.
[18] PAFFONI, A. et al., 2008. Parthenogenetic Activation: Biology and Applications in the ART Laboratory. In *Placenta*, vol. 29, pp. 121–125.
[19] KHARCHE, Suresh Dinkar - BIRADE, Hemant Shankar, 2013. Parthenogenesis and activation of mammalian oocytes for *in vitro* embryo production: A review. In *Advances in Bioscience and Biotechnology*, vol. 4, no. 2, pp. 170–182.
[20] KOUAMO, Justin - KHARCHE, Suresh Dinkar. 2015. A comparative study of parthenogenetic activation and *in vitro* fertilization of *in vitro* matured caprine oocytes. In Iranian Journal of Veterinary Research, vol. 16, no. 1, pp. 20–24.
[21] GAD, Ahmed et al. 2019. MicroRNA expression profile in porcine oocytes with different developmental competence derived from large anf small follicles. In Molecular reproduction and development, vol. 86, no. 4, pp. 426-439.
[22] DUTTA, Rahul et al. 2016. Non-invasive assessment of porcine oocyte quality by supravital staining of cumulus-oocyte complexes with lissamine green B. In Zygote, vol. 24, no. 3, pp. 418-27.
[23] PROCHÁZKA, Radek et al. 2021. The Role of MAPK3/1 and AKT in the Acquisition of High Meiotic and Developmental Competence of Porcine Oocytes Cultured *In Vitro* in FLI Medium. In International journal of molecular sciences, vol. 22, no. 20, pp. 11148.
[24] YUAN, Ye et al. 2017. Quadrupling efficiency in production of genetically modified pigs through improved oocyte maturation. In Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America, vol. 114, no. 29, pp. E5796-E5804.
[25] PROCHÁZKA, Radek et al. 2011. Effect of epidermal growth factor-like peptides on pig cumulus cell expansion, oocyte maturation, and acquisition of developmental competence *in vitro*: comparison with gonadotropins. In Reproduction, vol. 141, no. 4, pp. 425-435.
[26] GAD, Ahmed et al. 2020. Inhibition of miR-152 during *In Vitro* Maturation Enhances the Developmental Potential of Porcine Embryos. In Animals (Basel), vol. 10, no. 12, pp. 2289.
[27] BARTKOVA, Alexandra et al. 2020. Characterization of porcine oocytes stained with Lissamine Green B and their developmental potential *in vitro*. In Animal Reproduction, vol. 17, no. 4, e20200533.
[28] PRATHER, R. et al. 2003. Transgenic Swine for Biomedicine and Agriculture. In Theriogenology, vol. 59, no. 1, pp 115–123.
[29] WU, G. Q. et al. 2011. L-Carnitine Enhances Oocyte Maturation and Development of Parthenogenetic Embryos in Pigs. In Theriogenology, vol. 76, no.5, pp. 785–793.

Identifikácia fototrofných mikroorganizmov izolovaných z chladiacich veží

Identification of isolates of phototrophic microorganisms from cooling towers

Vanessa Gelanová[1], Zuzana Gerši[2]
Školiteľ: Dominika Vešelényiová[3]
[1,2,3] Katedra biológie, Fakulta prírodných vied, Univerzita sv. Cyrila a Metoda v Trnave, Nám. J. Herdu 2, 917 01 Trnava
[1] gelanova1@ucm.sk, [2]zuzana.gersi@ucm.sk, [3]dominika.veselenyiova@ucm.sk

Abstrakt

Chladiace veže predstavujú z hľadiska teploty, vlhkosti či intenzity svetla a dostupnosti živín prostredie, ktoré poskytuje vhodné podmienky pre rast a rozmnožovanie mnohých druhov mikroorganizmov, od vláknitých húb cez patogénne baktérie až po fototrofné mikroorganizmy. V tejto práci sme sa zamerali na štúdium mikrobioty kolonizujúcej chladiace veže elektrárne Jaslovské Bohunice, so zameraním na fototrofné mikroorganizmy. Z troch chladiacich veží sme celkovo izolovali a na základe morfologických znakov identifikovali 9 rodov fototrofov, pričom 3 sa radia k zeleným riasam a 6 zaraďujeme medzi cyanobaktérie. Najviac zastúpenými radmi boli Sphaeropleales, Prasiolales, Chroococcales, Nostocales, Leptolyngbyales, Nodosilineales a Oscillatoriales. Z izolovaných jednodruhových kmeňov cyanobaktérií a zelených rias sme amplifikovali časť 16S, resp. 18S rDNA, ktoré budú sekvenované pre potreby nadchádzajúcej molekulárnej identifikácie.

Kľúčové slová: cyanobaktérie, chladiace veže, identifikácia, morfológia, zelené riasy

Abstract

In terms of temperature, humidity, light intensity and nutrient availability, cooling towers represent an environment that is suitable for the growth and reproduction of many species of microorganisms, from micromycetes to pathogenic bacteria to phototrophic microorganisms. In this paper, we focus on the study of the microbiota colonizing the cooling towers of the Jaslovské Bohunice power plant, especially the phototrophic microorganisms. Based on morphological characteristics, we isolated and identified a total of 9 genera of phototrophs from three cooling towers, while 3 belong to green algae and 6 belong to cyanobacteria. The most represented orders were Sphaeropleales, Prasiolales, Chroococcales, Nostocales, Leptolyngbyales, Nodosilineales and Oscillatoriales. From the pure cyanobacterial and algal cultures, we amplified parts of 16S and 18S rDNA, which will be sequenced for future molecular identification.

Key Words: cooling towers, cyanobacteria, green algae, identification, morphology

Úvod

Cyanobaktérie a mikroskopické riasy predstavujú skupinu fototrofných mikroorganizmov, ktorá si získala záujem vedeckej komunity aj vďaka ich schopnosti kolonizovať extrémne prostredia. Nachádzame ich nielen v sladkovodných jazerách a rybníkoch, ale aj na rôznych netradičných miestach, akými sú hypersalínne jazerá, polárne oblasti, termálne pramene či prostredia kontaminované ťažkými kovmi [1, 2]. Často tiež kolonizujú rôzne budovy a stavby, napríklad aj chladiace veže v továrňach alebo elektrárňach na výrobu energie [3].

Chladiace veže sa používajú na chladenie cirkulujúcej vody používanej v elektrárňach a rôznych závodoch. V nich dochádza k prenosu prebytočnej tepelnej energie. Rozstrekovaná horúca voda sa ochladzuje pomocou prúdu relatívne chladného a suchého vzduchu a zachytáva sa v zbernom bazéne. Teplý, vlhký vzduch tak prirodzene stúpa v dôsledku rozdielu hustoty vzhľadom na vonkajší vzduch, ktorý prúdi do chladiacej veže (Obr. 1) [4, 5].

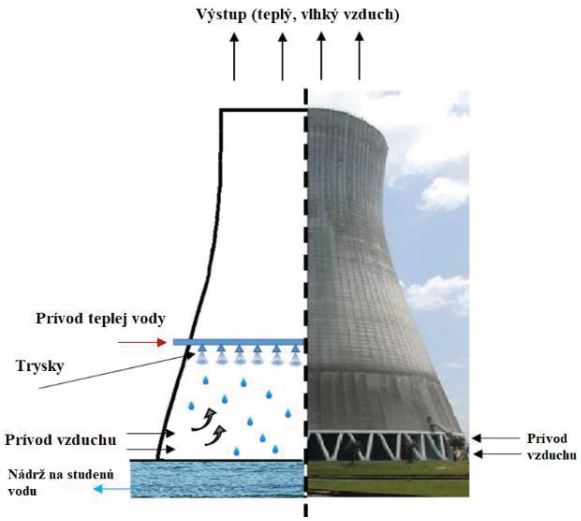
Pre väčšinu chladiacich veží je charakteristický ťahový železobetónový komín. Vnútorné steny sú naplnené obkladovým materiálom, cez ktorý preteká ochladená voda a eliminátormi úletu, ktoré zachytávajú kvapôčky vody unášané prúdiacim vzduchom [3, 6].

Vnútro chladiacej veže predstavuje z hľadiska teploty (približne 25 – 35 °C), vlhkosti a prúdenia

vzduchu pomerne stabilný systém, v ktorom sa darí veľkému množstvu rôznych mikroorganizmov. Vďaka vysokej vlhkosti a dostupnosti svetla bývajú betónové steny veží a ich súčasti pokryté biomasou fototrofných mikroorganizmov [6].

Avšak, niekedy sa môžu masívne nárasty s hrúbkou až niekoľkých milimetrov odlupovať a spôsobovať problémy v cirkulácií vody či dokonca poškodzovať chladiacu technológiu [7].

V tejto práci sme sa zaoberali identifikáciou fototrofných mikroorganizmov, ktoré boli izolované z chladiacich veží elektrárne Jaslovské Bohunice.



Obr. 1 Nákres chladiacej veže s prirodzeným ťahom
Zdroj: [4]

1 Materiál a metódy

1.1 Odber a kultivácia vzoriek

Vzorky fototrofných mikroorganizmov boli získané z troch chladiacich veží elektrárne Jaslovské Bohunice z rôznych materiálov (betón, kov, drevo, plast a voda zo zberných bazénov). Získaný materiál sme kultivovali v tekutom a na 2% agarom spevnenom médiu BG 11 [8] pri teplote 23 °C a konštantnom osvetlení (48,6 µmol (photon) m^{-2} s^{-1}) počas 3 – 4 týždňov. Čisté, jednodruhové kultúry cyanobaktérií a zelených rias sme získali pomocou tradičných mikrobiálnych metód.

1.2 Mikroskopické štúdium a identifikácia izolovaných kmeňov fototrofov

Izolované kultúry fototrofov sme študovali pri zväčšení 10x40, prípadne 10x100 v optickom mikroskope Olympus CX 23. Pomocou kamery Olympus U-CMAD3 sme v softvére Infinity zhotovili mikrofotografie izolovaných kultúr.

Na rodovú a druhovú identifikáciu izolovaných kmeňov zelených rias a cyanobaktérií sme použili identifikačné kľúče autorov Bellinger a Sigee [9], Janse van Vuuren [10], Kaštovský et al. [11], Komárek a Anagnostidis [12] a Komárek et al. [13]. Pri určovaní sme sa zamerali na cytomorfologické znaky jednotlivých izolátov, ako napríklad tvar a veľkosť buniek, vetvenie a forma, zafarbenie buniek, prítomnosť slizu a pošvy, spôsob rozmnožovania.

1.3. Izolácia DNA a PCR amplifikácia

Z čistých kultúr sme izolovali celkovú genomickú DNA pomocou extrakčných kitov Dneasy Power Biofilm Kit a Plant Mini Kit od firmy Qiagen.

Vyizolovanú DNA sme využili na amplifikáciu časti rRNA operónu, obsahujúceho fragment 16S, resp. 18S rRNA génu. Primery, ktoré sme použili na PCR amplifikáciu, sú uvedené v tabuľke 1. Amplifikácia fragmentov prebiehala pri teplotnom režime uvedenom v tabuľke 2. Vzniknuté produkty sme overili pomocou elektroforetickej separácie na 0,8% agarózovom géli s prídavkom etídium bromidu.

Tab. 1 rDNA primery pre PCR amplifikáciu.

Primer	5‘-Sekvencia-3‘	Zdroj
16S rDNA		
359F	GGGGAATYTTCCGCAATGGG	[14]
23S30R	CTTCGCCTCTGTGTGCCTAGGT	[15]
18S rDNA		
18 S-F	AACCTGGTTGATCCTGCCAGT	[16]
18 S-R	TGATCCTTCTGCAGGTTCACCTACG	
1650R vivi	GCGCGCTACACTGATGC	[17]
Al 1500af	TCACCAGCACACCCAAT	[18]

Tab. 2 Teplotný režim priebehu PCR amplifikácie.
Zdroj: Autor

	Teplota	Časový interval
Štartovací denaturačný krok	95 °C	5 min.
35 cyklov	95 °C	1 min.

Pokračovanie Tab. 2

35 cyklov	55 °C	2 min.
	72 °C	2 min.
Finálny krok	72 °C	10 min.
Ochladenie	4 °C	-

2 Výsledky a diskusia

Na základe morfologických znakov sme celkovo identifikovali 9 rodov fototrofov (Obr. 2), izolovaných z troch chladiacich veží elektrárne Jaslovské Bohunice, pričom 3 rody radíme medzi mikroskopické riasy a 6 z nich patrí medzi cyanobaktérie.

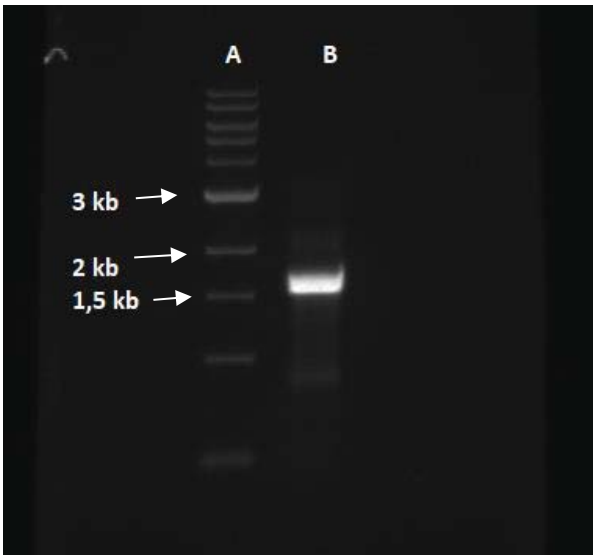
Z mikroskopických rias sme izolovali celkovo 3 druhy z radov Sphaeropleales – *Desmodesmus* sp. (Obr. 2A) a *Coelastrella* sp. (Obr. 2C), a Prasiolales – *Stichococcus bacillaris* (Obr. 2B). V rámci cyanobaktérií sme identifikovali zástupcov rodov *Calothrix* (Obr. 2E), *Phormidesmis* (Obr. 2F), *Nodosilinea* (Obr. 2G), *Leptolyngbya* (Obr. 2H), *Phormidium* (Obr. 2I) a jeden kokálny druh *Chroococcus* sp. (Obr. 2D). V tabuľke 3 sú uvedené identifikované rody a druhy spolu s taxonomickým zaradením do jednotlivých radov.

Vo všeobecnosti vo vzorkách prevládali vláknité a heterocytózne formy cyanobaktérií nad kokálnymi formami, čo súhlasí so zisteniami Hauera, Čapka a Böhmovej [6], ktorí sa venovali druhovému zloženiu chladiacich veží v Českej republike. Podľa ich štúdie sa v rôznych častiach chladiacej veže zloženie fototrofných mikroorganizmov líši, avšak heterocytózne druhy bývajú častejšie súčasťou tamojších biofilmov. Podľa Hauera [3] sa na zatienených miestach vyskytuje najmä rod *Phormidium*, čo je taktiež v súlade s našimi výsledkami. Tento rod sa vyskytoval prevažne vo vzorkách odobratých z drevených konštrukcií a spodných častí betónových stien, kde je intenzita slnečného žiarenia pomerne nízka. Ďalším často sa vyskytujúcim rodom bol rod *Nodosilinea*, ktorý sa vyskytoval prevažne vo vzorkách získaných z drevených stĺpikov. Tento rod je typický tvorením viacerých uzlov vo vláknach (Obr. 2G). V chladiacich vežiach v Poľsku, ktoré boli študované Hindákom, Wolowskim a Hindákovou [7], dominovala v aerofytných spoločenstvách heterocytózna cyanobaktéria druhu *Scytonema myochrous*, ktorá sa však v našich vzorkách nevyskytovala.

Tab. 3 Rody a druhy identifikovaných fototrofov vo vzorkách z chladiacich veží.
Zdroj: Autor

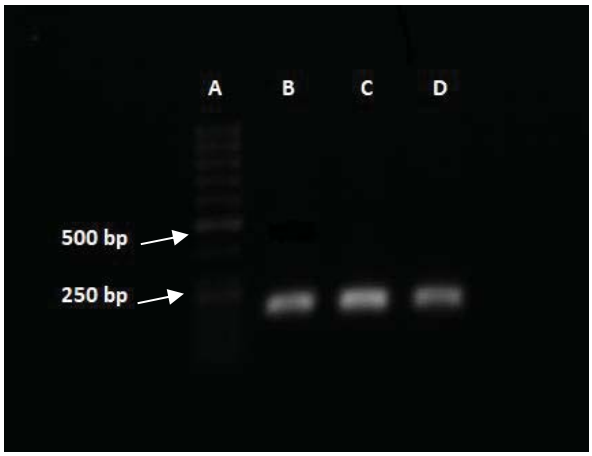
Rad	Rod	Druh
Sphaeropleales	*Desmodesmus*	*quadricauda*
	Coelastrella	sp.
Prasiolales	*Stichococcus*	*Bacillaris*
Chroococcales	*Chroococcus*	sp.
Nostocales	*Calothrix*	sp.
Nodosilineales	*Nodosilinea*	sp.
Oscillatoriales	*Phormidium*	sp.
Leptolyngbyales	*Leptolyngbya*	*boryana*
	Phormidesmis	sp.

Z čistých jednodruhových kultúr siníc a zelených rias sme izolovali genomickú DNA, v ktorej sme následne pomocou PCR amplifikovali časť operónu obsahujúceho gén pre 16S, resp. 18S rRNA. Amplifikáciou DNA izolovanej z *Chroococcus* sp. sme s použitím primerov 359F a 23S30R získali fragment o veľkosti približne 1600 bp (Obr.3).

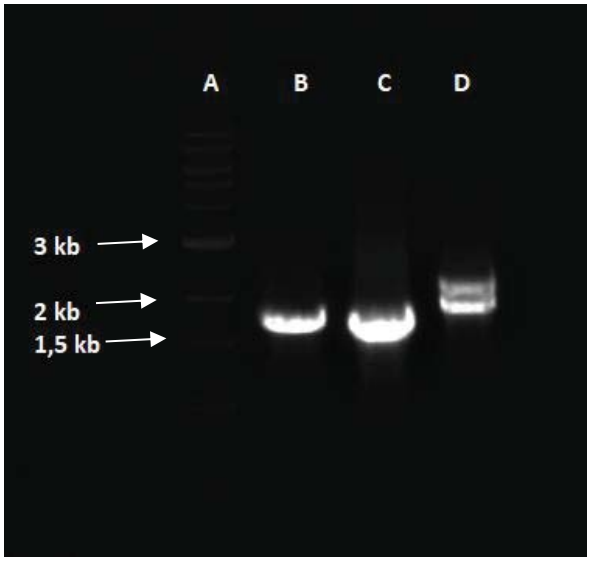


Obr. 3 Elektroforetogram produktov PCR s použitím primerov 359F [14] a 23S30R [15]. A – 1kb marker, B – vzorka 101/10B drevo.
Zdroj: Autor

Na PCR amplifikáciu DNA izolovanej z troch druhov zelených rias (*Coelastrella* sp., *Desmodesmus quadricauda* a *Stichococcus bacillaris*) sme využili dva páry primerov. Využitím primerov 1650R vivi a Al 1500af sme získali amplikóny o veľkosti približne 220 bp (Obr. 4). Pri využití primerov 18 S-F a 18 S-R sme na elektroforetograme (Obr. 5) potvrdili 2 z 3 amplikónov s očakávanou veľkosťou 1700 bp.



Obr. 4 Elektroforetogram produktov PCR s použitím primerov 1650R vivi [17] a Al 1500af [18]. A – 50bp marker, B – vzorka 102/C plast (*Coelastrella* sp.), C – vzorka Jas 101/V/1 (*Desmodesmus quadricauda*), D – vzorka V102/2A betón (*Sticococcus bacillaris*)
Zdroj: Autor



Obr. 5 Elektroforetogram produktov PCR s použitím primerov 18 S-F a 18 S-R [16]. A – 1kb marker, B – vzorka 102/C plast (*Coelastrella* sp.), C – vzorka Jas 101/V/1 (*Desmodesmus quadricauda*), D – vzorka V102/2A betón (*Sticococcus bacillaris*)
Zdroj: Autor

Záver

V našom projekte sme sa zaoberali identifikáciou fototrofných mikroorganizmov, ktoré kolonizujú chladiace veže elektrárne v Jaslovských Bohuniciach. Celkovo sme pomocou morfologických znakov identifikovali 6 druhov cyanobaktérií patriacich do rodov *Nodosilinea*, *Leptolyngbya*, *Phormidium*, *Phormidesmis*, *Calothrix* a *Chroococcus*, a 3 druhy zelených rias (*Coelastrella* sp., *Desmodesmus quadricauda* a *Stichococcus bacillaris*). Najčastejšie sa vyskytujúcimi druhmi boli *Phormidium* sp. a *Nodosilinea* sp., tvoriaca charakteristické uzly vo vláknach. Vo všeobecnosti prevažovali vláknité formy fototrofov nad kokálnymi. Chladiace veže teda predstavujú jedinečné prostredie, ktoré je kolonizované mnohými druhmi mikroorganizmov, vrátane fototrofov. Štúdium mikrobioty chladiacich veží však nie je prospešné len pre získanie prehľadu o jej diverzite a distribúcii. Niektoré cyanobaktérie a zelené riasy majú schopnosť viazať ióny ťažkých kovov vo vnútri bunky a teda môžu byť užitočné pri bioremediácii prostredí znečistených ťažkými kovmi.

Poďakovanie

Táto práca bola podporená z projektu FPV -12-2022 a Systematic research grant poskytnutého The Systematic Association.

Použitá literatúra

[1] CUI, J. et al. 2021. Decihering and engineering photosynthetic cyanobacteria for heavy metal bioremediation. In *Science of the Total Environment*. Roč. 761, č. článku 144111, s. 1-14. ISSN 0048-9697.

[2] CHAKDAR, H. 2022. Genomic and proteomic insights into the heavy metal bioremediation by cyanobacteria. In *Journal of Hazardous Materials.* Roč. 424, č. článku 127609, s. 1-17. ISSN 0304-3894.

[3] HAUER, Tomáš. 2010. Phototrophic biofilms on the interior walls of concrete Iterson-type cooling towers. In *Journal of Applied Phycology*. Roč. 22, s. 733-736. ISSN 1573-5176.

[4] AFSHARI, F. – DEHGHANPOUR, H. 2019. A Review Study On Cooling Towers; Types, Performance and Application. In *ALKÜ Fen Bilimleri Dergisi*. Roč. 1, č. NSP2018 Special Issue, s. 1-10. ISSN 2667-7814.

[5] JAVYS: Jadrová a vyraďovacia spoločnosť, a. s. [online]. © JAVYS. Dostupné na: <https://www.javys.sk/sk/informacny-servis/energeticky-slovnik/CH/chladiaca-veza>.

[6] HAUER, Tomáš – ČAPEK, Petr – BÖHMOVÁ, Petra. 2016. Main photoautotrophic components of biofilms in natural draft cooling towers. In *Folia Microbiologica*. Roč. 61, s. 255-260. ISSN 1874-9356.

[7] HINDÁK, František – WOLOWSKI, Konrad – HINDÁKOVÁ, Alica. 2011. The epilithon of a cooling tower of the power plant at Bełchatów, Poland. In

International Journal of Oceanography and Hydrobioogy. Roč. 40, č. 4, s. 38-43. ISSN 1897-3191.

[8] STANIER, R.Y. et al. 1971. Purification and Properties of Unicellular Blue-Green Algae (Order *Chroococcales*). In *Bacteriological Reviews*. Roč. 35, č. 2, s. 171-205. ISSN 0005-3678.

[9] BELLINGER, Edward G. – SIGEE, David C. 2010. Freshwater Algae. Identification and Use as Bioindicators. Veľká Británia : John Wiley &Sons, Ltd, 285 s. ISBN 978-0-470-05814-5.

[10] VAN VUUREN, Sanet J. et al. 2006. Easy identification of the most common Freshwater Algae. A guide for the identification of microscopic algae in South African freshwaters. Potchefstroom : DWAF and NWU, 211 s. ISBN 0-621-35471-6.

[11] KAŠTOVSKÝ, Jan et al. 2018. Atlas sinic a řas České republiky 1. Praha : powerprint s. r. o., 383 s. ISBN 978-80-7568-071-6.

[12] KOMÁREK, J. – ANAGNOSTIDIS, K. 1999. Cyanoprokaryota. 1. Chroococcales. In Ettl, H. et al. (ed.) *Süßwasserflora von Mitteleuropa.* Heidelberg & Berlin: Spektrum, Akademischer Verlag, 1999. s. 1-548. ISBN 978-3-827-40890-7.

[13] KOMÁREK, J. et al. 2014. Taxonomic classification of cyanoprokaryotes (cyanobacterial genera) 2014, using a polyphasic approach. In *Preslia*. Roč. 86, s. 295-335. ISSN 0032-7786.

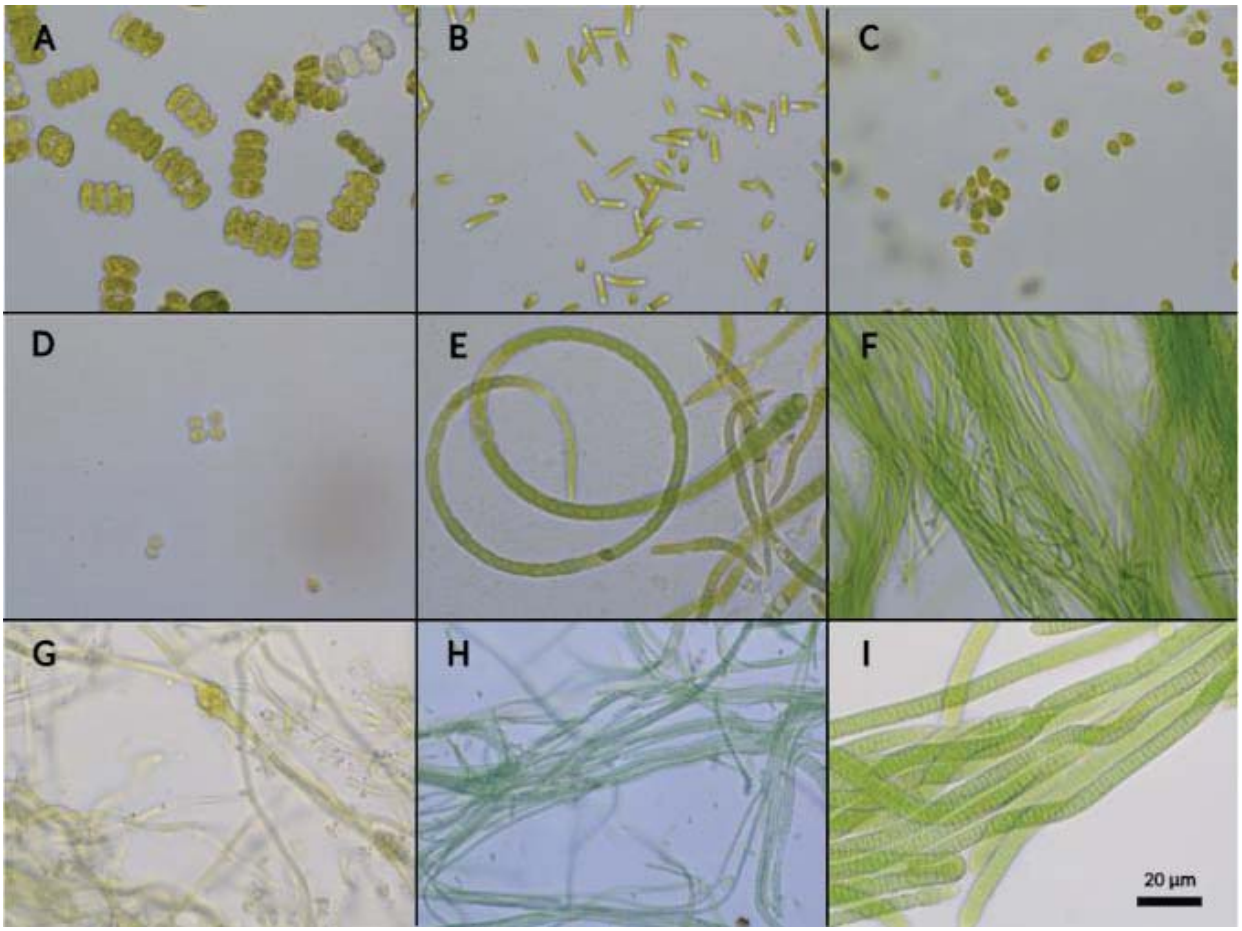
[14] NÜBEL, U. – GARCIA-PICHEL, F. – MUYZER, G. 1997. PCR primers to amplify 16S rRNA genes from cyanobacteria. In *Applied and Environmental Microbiology*. Roč. 63, s. 3327-3332. ISSN 0099-2240.

[15] TATON, A. – GRUBISIC, S. – BRAMBILLA, E. 2003. Cyanobacterial diversity in natural and artificial microbial mats of Lake Fryxell (McMurdo Dry Valleys, Antarctica): a morphological and molecular approach, In *Applied and Environmental Microbiology*. Roč. 69, s. 5157-5169. ISSN 0099-2240.

[16] KATANA, Agnieszka et al. 2001. Phylogenetic position of *Koliella* (Chlorophyta) as inferred from nuclear and chloroplast small subunit rDNA. In *Journal of Phycology*. Roč. 37, s. 443-451. ISSN 1529-8817.

[17] HELMS, G. et al. 2001. Identification of photobionts from the lichen family *Physciaceae* using algal-specific ITS rDNA sequencing. In *The Lichenologist*. Roč. 33, s. 73-86. ISSN 1096-1135.

[18] KIPP, Viviane. 2004. Biodiversität und phylogenetische Stellung eukaryotischer Algen in kalzifizierenden Biofilmen : diplomová práca. Depon : Universität Göttingen,



Obr. 2 Mikrofotografie izolátov cyanobaktérií a zelených rias získaných z chladiacich veží. A – *Desmodesmus quadricauda*, B – *Stichococcus bacillaris*, C - *Coelastrella* sp., D – *Chroococcus* sp., E – *Calothrix* sp., F – *Phormidesmis* sp., G – *Nodosilinea* sp., H – *Leptolyngbya boryana*, I – *Phormidium* sp.
Zdroj: Autor

Sekcia

Chémia, fyzika a matematika

Organická syntéza v prospech fotodynamickej terapie

Organic synthesis as a tool towards the photodynamic therapy

Dominika Kendrová[1] - Marcela Gašparová[2] – Zita Tokárová[3]
Školiteľ: Zita Tokárová[3]
[1,2,3]Katedra chémie, FPV UCM, Námestie Jozefa Herdu 2, 917 01 Trnava,
[1] kendrova1@ucm.sk, [2]gasparova2@ucm.sk, [3]zita.tokarova@ucm.sk

Abstrakt

Fotodynamická terapia (PDT) je v súčasnosti vysokoaktuálna problematika a vzbudzuje veľkú pozornosť z oblasti medicíny, chémie a nanomateriálov. Kľúčovou zlúčeninou je tzv. fotosenzibilátor (PS), ktorého základnou vlastnosťou pre potreby PDT je okrem cytotoxicity aj fotoaktivita, ktorá je základom pre fotoaktívny proces prebiehajúci v nádorových bunkách. Vďaka kombinácii PS a žiarenia sa však usmrtia len nádorové bunky a to je jednou z významných predností PDT oproti klasickej chemoterapii.

Aktuálne je práca zameraná na syntézu nových typov PS s potenciálom pre potreby PDT. Sú to zlúčeniny z kategórie azamakrocyklických derivátov, ktorých syntéza vychádza z relatívne dostupných substrátov avšak samotná realizácia syntézy dokáže poskytnúť neočakávané závery.

Kľúčové slová: fotodynamická terapia, fotosenzibilátor, ftalokyaníny, organická syntéza, spektrálne metódy

Abstract

Photodynamic therapy (PDT) is currently a highly topical issue and is attracting a lot of attention from the fields of medicine, chemistry and nanomaterials. The key compound is the so-called photosensitizer (PS), whose basic property for the needs of PDT is, in addition to cytotoxicity, photoactivity, which is the basis for the photoactive process taking place in tumor cells. Thanks to the combination of PS and radiation, only tumor cells are killed, and this is one of the significant advantages of PDT over classical chemotherapy.

Currently, the work is focused on synthesis of novel compounds as PS potential for PDT. They are compounds from the category of azamacrocyclic derivatives, the synthesis of which is based on relatively available substrates, but the very realization of the synthesis can provide unexpected conclusions.

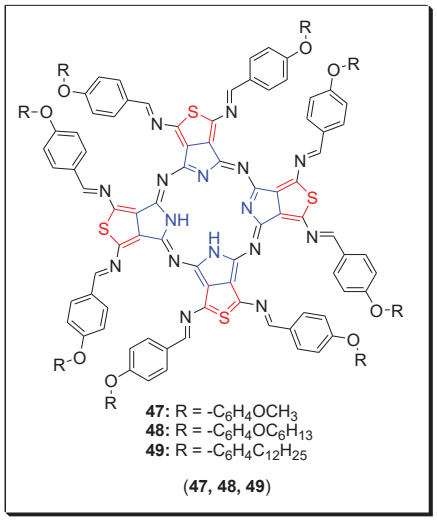
Key Words: photosensitizer, photodynamic therapy, phthalocyanines, organic synthesis, spectral methods

Úvod

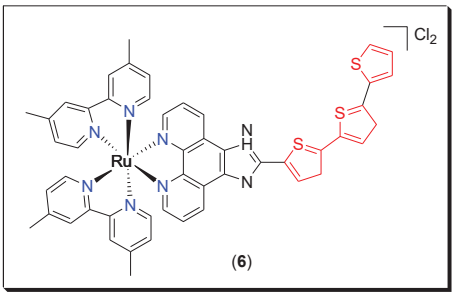
Fotodynamická terapia je nadstavba chemoterapie, ktorá sa opiera o najnovšie výskumy z oblasti organickej chémie. Na rozdiel od chemoterapie, pri ktorej bývajú usmrtené aj zdravé bunky, je fotodynamická terapia moderná a neinvazívna forma terapie [1, 2]. Je založená na lokálnej alebo systémovej aplikácii fotoaktívnej zlúčeniny - fotosenzibilátora, ktorý sa akumuluje len v bunkách patologických tkanív. Fotoaktívne deriváty absorbujú žiarenie pri vhodnej vlnovej dĺžke (UV/Vis), čím sa spúšťajú aktivačné procesy a tvorba ROS, čo v konečnom dôsledku vedie k selektívnej deštrukcii zhubných buniek [3]. Energia absorbovaného žiarenia slúži na premenu reaktívnej formy kyslíka – superoxidaniónového radikálu ($O_2^{-\cdot}$), ktorý je zodpovedný za usmrcovanie nežiaducich buniek. Funkcia PS spočíva jednak v absorbcii žiarenia, rovnako ako zabezpečuje transport ROS do miesta účinku tak, aby $O_2^{-\cdot}$ nepoškodzoval aj iné, zdravé bunky [4].

V príprave fotoaktívnych zlúčenín zohráva dôležitú rolu organická chémia, pretože cielený dizajn zlúčenín a návrh syntézy sa opiera o pravidlá syntézy vychádzajúcej z organickej chémie a príbuzných odborov. Je potrebné uviesť hneď na začiatku, že proces dizajnu a syntéza vhodných fotoaktívnych zlúčenín si vyžaduje určitý čas. Kokrétne v našich výskumných aktivitách sme sa v experimentálnej časti zamerali na syntézu a identifikáciu chemickej štruktúry navrhnutých azamakrocyklov – konkrétne ftalokyanínov s obsahom tiofénových jadier (Obr. 1) ktoré sú analogické so zlúčeninou TLD 1433 (Obr. 2) – prvým terapeutikom z radu PDT schváleným na klinické použitie v Kanade [5]. V tomto prípade sme však identifikovali zatiaľ len vznik medziproduktov syntézy a nie očakávaných ftalokyanínov (Obr. 3). Napriek tomu, sme sa rozhodli v našom výskumnom snažení pokračovať a využiť tieto prakticky medziprodukty na syntézu nesymetricky substituovaných ftalokyanínov,

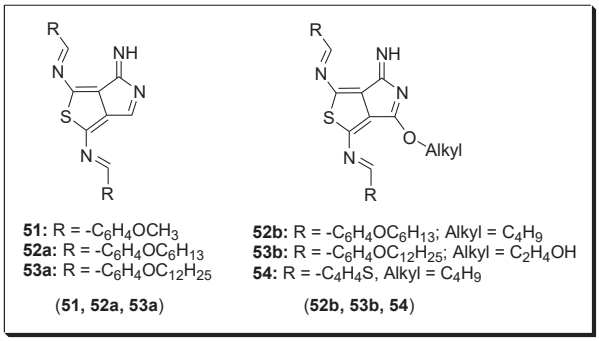
rovnako s cieľom prípravy nových typov PS pre potreby PDT.



Obr. 1 Všeobecná štruktúra nami nadizajnovaných derivátov (**47, 48, 49**).



Obr. 2 Chemická štruktúra zlúčeniny TLD 1433 (**6**).



Obr. 3 Chemická štruktúra izolovaných zlúčenín.

1 Materiály a metódy

1.1 Prístroje a metódy spracovania

Odparovanie rozpúšťadiel vákuovou rotačnou odparkou typu Heidolph, pracovisko Katedry chémie, FPV UCM v Trnave, pracovisko Špačince – laboratórium organickej chémie.

Stanovenie teploty topenia nasyntetizovaných látok prístrojom Biobase, pracovisko Katedry chémie, FPV UCM v Trnave, pracovisko Špačince – laboratórium organickej chémie.

Izolácia stĺpcovou kolónovou chromatografiiou využitím silikagélu Kiesegel 60 a zmesi eluentov rozpúšťadiel 30 % tetrahydrofuránu v *n*-hexáne alebo *n*-hexán : etyalcetát (6:4).

Tenkovrstvová chromatografia (TLC) použitím silufolových platničiek resp. aluminy pokrytej tenkou vrstvou silikagélu, za použitia eluentov 30 % tetrahydrofuránu v *n*-hexáne alebo *n*-hexán : etylacetát (6:4). Detekcia škvŕn prebiehala pod UV žiarením pri 254 nm a 356 nm.

Magnetická miešačka s ohrevom Heidolph použitím olejového kúpeľa.

Hmotnostná spektroskopia – MALDI-TOF
Merania boli realizované na prístroji typu Bruker Daltonics metódou nosičov (PEG – polyetylénglykol), čo znamená že vzorka sa do kolóny nanesie adsorbovaná na organickom nosiči a ionizuje sa laserovým lúčom (**M**atrix-**A**ssisted-**L**aser-..). Jednotlivé fragmenty následne desorbujú (...**D**esorption-...) a v ionizačnom prúde (...-**I**onization) fragmentujú a delia sa podľa „hmotnosti“ fragmentu – distribúcia ťažší / ľahší katión radikál. Výsledná grafická závislosť m/z (pomer hmotnosti náboja k náboju) je časová (**T**ime-**O**f-**F**light). Výsledky analýzy sme odbdržali ako surové spektrá v excell alebo notepad súbore. Z takto získaných údajov sme vygenerovali bežnými metódami príslušné čiarové grafy.

Nukleárna magnetická rezonancia (NMR)
Spektrá jadrovej magnetickej rezonancie pre nuklidy ^{1}H a ^{19}F boli merané na vysokofrekvenčnom NMR spektrometri typu Bruker s operačnou frekvenciou 400 MHz. Spektrá boli získané ako platený servis (podľa aktuálneho cenníka) Centrálnych laboratórií na FChPT STU v Bratislave (v súčasnosti na externom pracovisku FaF UK). Spektrá všetkých identifikovaných zlúčenín boli merané v deuterovanom chloroforme. Výsledky boli získané ako surové spektrá (FID) a spracované v programe Mestec Nova (Katedra Chémie, FPV UCM v Trnave, Analyticko-diagnostické centrum, pracovisko

Špačince) na finálne čiarové záznamy, ako časová závislosť. Škála signálov je uvedená ako chemický posun a je bezrozmerná (δ / ppm).

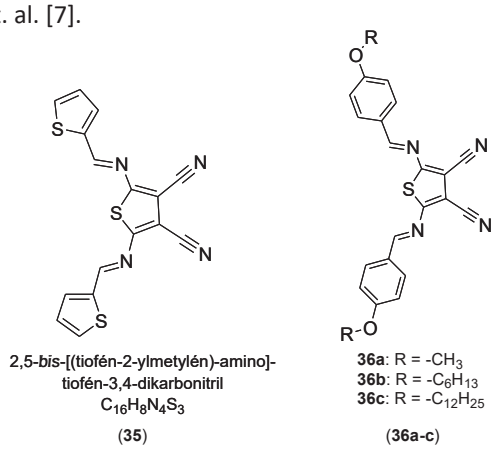
1.2 Substráty

$C_{16}H_8N_4S_3$ (**35,** Obr. 4) (M = 352,46 g.mol^{-1}, T_t = 176-180 °C)
Azometín 2,5-bis-[(tiofén-2-ylmetylén)-amino]-tiofén-3,4-dikarbonitril (**35**) bol pripravený v našej výskumnej skupine podľa Gašparová M. et. al [6].

$C_{22}H_{16}N_4O_2S$ - 2,5-bis-[(4-metoxy-benzylidén)-amino]-tiofén-3,4-dikarbonitril (**36a**, Obr. 4) (M = 400,24 g.mol^{-1}, T_t = 292 - 294 °C)

$C_{32}H_{36}N_4O_2S$ - 2,5-bis-[(4-hexyloxy-benzylidén)-amino]-tiofén-3,4-dikarbonitril (**36b**, Obr. 4) (M = 540,72 g.mol^{-1}, T_t = 224 - 226 °C)

$C_{44}H_{60}N_4O_2S$ - 2,5-bis-[(4-dodecyloxy-benzylidén)-amino]-tiofén-3,4-dikarbonitril (**36c**, Obr. 4) (M = 709,04 g.mol^{-1} ,T_t = 204 – 206 °C)
Azometíny (**36a-c**) pochádzajú z práce podľa Tokárová Z. et. al. [7].



Obr. 4 Chemická štruktúra substrátov použitých pri syntézach ftalokyanínov.

1.3 Chemikálie

1,8-diazabicyklo(5.4.0)undecen-7-én (DBU) – $C_9H_{16}N_2$ (≥ 98,0 %; CAS No. 6674-22-2; M = 152,241 g.mol^{-1}; T_t = -70 °C; T_v = 80 °C; d = 1,018 g.cm^{-3})

Cyklohexanol – $C_6H_{12}O$ (≥ 99,0 %; CAS No. 108-93-0; ≥ 99,0 %; M = 100,158 g.mol^{-1}; T_t = 25,93 °C; T_v = 160,84 °C; d = 0,962 g.cm^{-3})

1,2-Dichlóretán – $C_3H_4Cl_2$ (≥ 99,0 %; CAS No. 107-06-2; M = 98,96 g.mol^{-1}; T_t = -35,7 °C; T_v = 84,1 °C; d = 1,253 g.cm^{-3})

***n*-Butanol** – $C_4H_{10}O$ (≥ 99,4 %; CAS No. 71-36-3; M = 74,121 g.mol^{-1}; T_t = -88,6 °C; T_v = 117,73 °C; d = 0,8095 g.cm^{-3})

Dietylénglykol – $C_4H_{10}O_3$ (≥ 99,0 %; CAS No. 111-46-6; M = 106,12 g.mol^{-1}; T_t = – 10,45 °C; T_v = 244 °C; d = 1,118 g.cm^{-3})

Rozpúšťadlá použité pri tenkovrstvovej chromatografii a pri kolónovej chromatografii:
***n*-Hexán** – $CH_3(CH_2)_4CH_3$ (95,0 %; CAS No. 110-54-3; M = 86,13 g.mol^{-1}; T_t = -95 °C; T_v = 69 °C; d = 0,6548 g.cm^{-3})

Etylacetát – $CH_3COOCH_2CH_3$ (99,8 %; CAS No. 141-78-6; M = 88,11 g.mol^{-1}; T_t = -83,6 °C; T_v = 77,1 °C; d = 0,9245 g.cm^{-3})

Tetrahydrofurán – C_4H_8O (≥ 99,9 %; CAS No. 109-99-9; M = 72,11 g.mol^{-1}; T_t = -108,4 °C; T_v = 66 °C; d = 0,8892 g.cm^{-3})

Chemikálie použité pri syntetickej časti pochádzajú od dodávateľov Mikrochem spol. s.r.o., Merck Group a VWR International.

2 Výsledky a diskusia

Cieľom predloženej práce bola syntéza ftalokyanínov navrhnutých pre prípadné rozšírenie skupiny fotosenzibilátorov (PS) tretej generácie pre potreby fotodynamickej terapie (PDT). Štruktúra už spomínaného fotosenzibilátora TLD 1433 (**6**, Obr. 2), ktorý bol ako prvý schválený na klinické použitie v Kanade [5] sa stala našim tzv. „leading structure“ pre návrh nami nadizajnovaných zlúčenín (**47, 48, 49**; Obr. 1).

Štruktúra TLD 1433 (**6**, Obr. 2) obsahuje ako kľúčovú štruktúrnu jednotku súbor tiofénových jadier a súbor bipyridínových jadier s obsahom šiestich dusíkových atómov. Avšak nevýhodou použitia TLD 1433 ako fotosenzibilátora je prítomnosť centrálneho atómu ruténia. Napriek tomu, že komplexné zlúčeniny ruténia sa v súčastnosti skúmajú ako cytostatiká, izolácia koordinačných zlúčenín s obsahom Ru^{2+} ako centrálneho atómu náročná, a teda aj komerčná dostupnosť konkrétneho liečiva bude pravdepodobne súvisieť s vysokou cenou lieku. Chemickú štruktúru očakávaných zlúčenín sme navrhli tak, aby vykazovali

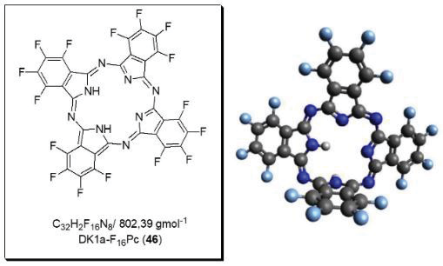
similaritu s TLD 1433 v počte donorových dusíkových atómov a obsahovali identický alebo podobný počet tiofénových jadier. Na rozdiel od TLD 1433 je v našich štruktúrach jeden ligand s rovnakým počtom donorových dusíkových atómov. Počas vypracovávania práce bolo uskutočnených 7 niekoľkokrát opakovaných syntéz riadených v prospech vzniku produktov s týmto konkrétnym zámerom.

2.1 Syntéza a pokusy o syntézu ftalokyanínov

Syntéza, izolácia a identifikácia chemickej štruktúry fluórovaného derivátu DK1a-F_{16}Pc (46)

Syntéza ftalokyanínu s obsahom štyroch perfluórofenylových jadier DK1a-F_{16}Pc (**46**) bola realizovaná podľa postupu publikovaného podľa Wesley M. S. et al. [8]. Syntéza prebiehala vo vyššie vrúcom alkohole. V našom prípade bol využitý cyklohexanol (t.v. 161 °C). Produkt sa následne izoloval pomocou stĺpcovej kolónovej chromatografie.

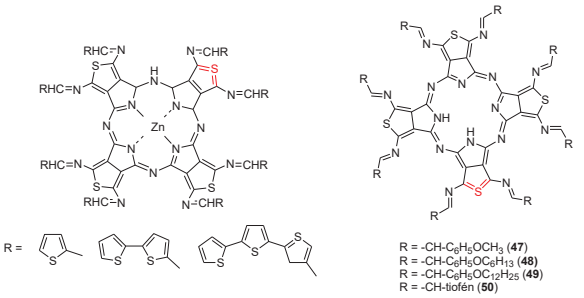
Táto syntéza nám poskytla aj nami očakávanú štruktúru produktu v 57 % výťažku. Na Obr. 5 vidieť chemickú štruktúru produktu DK1a-F_{16}Pc (**46**). Pre konkrétny derivát, ktorý slúžil skôr ako akýsi vzor vzhľadom na jeho popísanú syntézu a známu štruktúru, bola realizovaná aj geometrická optimalizácia štruktúry pomocou kvantovo-mechanických výpočtov (DFT).



Obr. 5 Štruktúra a geometrická optimalizácia ftalokyanínu DK1a-F_{16}Pc (**46**).

Pokusy syntézy ftalokyanínov s obsahom tiofénových jadier priamo v azamakrocykle

Cieľom syntézy zlúčeniny **46** bolo opäť odskúšanie si experimentálnej realizácie prípravy takého typu azamakrocyklov. V ďalšom pokračovaní sme ako substráty využili tiofénový derivát s obsahom kyano vicinálne substituovaných kyano skupín v β-polohách tiofénového jadra. V dôsledku nevyhnutnosti oxidácie minimálne jedného atómu síry v heteocykle sa nami navrhnuté deriváty DK4a-PcOCH_3 (**47**), DK4b-PcOC_6H_{13} (**48**), DK4c-Pc$OC_{12}H_{25}$ (**49**), DK4e-PcTiof (**50**) za daných reakčných podmienok nepodarilo izolovať.



Obr. 6 Chemická štruktúra ftalokyanínov s obsahom tetravalentnej síry publikovaných v literatúre [10] a návrh chemickej štruktúry nami očakávaných ftalokyanínov s vyznačením červeným tetravalentnej síry (S^{IV}).

Počas realizácie experimentov v prospech vzniku zlúčenín **47**-**50** sme narážali na problémy s rozpustnosťou substrátov, preto sme skúšali pre každý derivát iné rozpúšťadlo. Kým pre vznik pre prvý očakávaný derivát **47** z tejto série bol využitý cyklohexanol, náročnosť izolácie z hľadiska odparenia do sucha nás prinútila siahnuť po rozpúšťadle z nižšou teplotou varu – *n*-butanole. Tento sa ako vhodný javil pri syntéze očakávaných derivátov **48** a **50**. Avšak, pre zlúčeninu **49**, s obsahom dodecylového alkylového zvyšku bola potreba využiť rozpúšťadlo z ešte vyššou teplotou varu ako má cyklohexanol, nakoľko ani v *n*-butanole ani cyklohexanole na základe kontroly pomocou TLC nebola pozorovaná žiadna konverzia na produkty. Ani v jednom z týchto prípadov však nevznikol očakávaný produkt, ale izolovali sa produkty kondenzácie do 1. stupňa **51**-**54**.

Izolácia skutočne vzniknutých zlúčenín bola uskutočnená viacnásobným čistením pomocou kolónovej chromatografie, pričom sa izolovali čisté zlúčeniny, vhodné pre identifikáciu pomocou hmotnostnej spektroskopie (MALDI-TOF) a jadrovej magnetickej rezonancie (^{1}H a ^{19}F NMR). Vďaka využitiu týchto metód sme jednoznačne identifikovali štruktúru medziproduktov syntézy **51**-**54** (Schéma 1) .

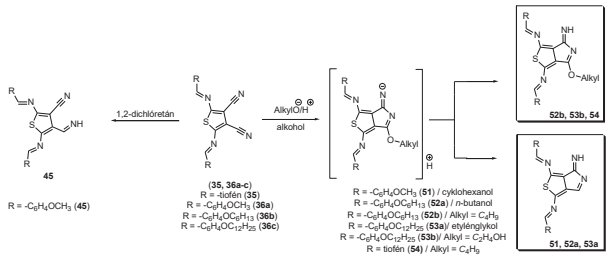


Schéma 1 Všeobecná schéma syntézy ftalokyanínov, využitím vicinálnych dikyano zlúčenín, ktorá prebieha ako postupná adícia.

Napriek neúspechu v izolácii očakávaných produktov, benefitom našich syntéz a identifikácie produktov je potvrdenie a ozrejmenie reakčného procesu vzniku subftalokyanínov a ftalokyanínov, tak ako je popísané v [9]. Vznik ftalokyanínov prebieha ako vzájomná a postupná adícia dinitrilových substrátov (Schéma 1). Rovnako ako v citovanej literatúre [9] aj v našom prípade bol vznik jednotlivých produktov vzájomnej adície potvrdený pomocou hmotnostných spektier avšak už v kombinácii so spektrami jadrovej magnetickej rezonancie pre ^{1}H. Pri využití nižšie vrúcich rozpúšťadiel sa dokonca nemusí docieliť ani vznik aduktu, ale reakciou sa získa iminometyl-substituovaný mononitril (Schéma 2). V našom prípade takáto situácia nastala počas syntézy očakávaného subftalokyanínového derivátu **44**, kedy využitím 1,2-dichlóretánu (t.v. = 85 °C) postačovala reakčná teplota len na čiastočnú redukciu kyano skupiny za vzniku derivátu **45**.

V prípade syntézy ftalokyanínov, častou súčasťou takéhoto postupného procesu je substitúcia rozpúšťadla vo voľnej polohe novovzniknutého pyrolového jadra. Schéma 2 je navrhnutá pre potreby vysvetlenia priebehu a vzniku nami identifikovaných produktov **45** a **51-54.**

2.2 Mechanizmus a príčiny vzniku produktov

Veľmi dôležitým v procese postupnej vzájomnej adície dinitrilov je alkoxidový anión z rozpúšťadla, ktorými sú protické vysokovrúce alkoholy. V našom prípade, ako už bolo spomínané, sme využili *n*-butanol, cyklohexanol a dietylénglykol. Ako vidno, v prípade využitia nižšie vrúceho a zároveň aprotického rozpúšťadla poskytlo vznik iba redukovanej forme substrátu **45.** V prípade ostatných derivátov, sme pozorovali aj vznik alkoxy substituovaných derivátov **52b**, **53b**, ktoré však vznikali v zmesi s derivátmi **52a** a **53a** s voľnou polohou na novovzniknutom pyrolovom jadre (Schéma 2). Avšak v prípade derivátu **51** sme získali čistý pyrol nesubstituovaný derivát, kým v prípade produktu zlúčeniny **54** sme izolovali len α-butyloxy substituovaný derivát. Tento fenomén ešte nevieme jednoznačne vysvetliť, avšak vznik derivátu s voľnou polohou na pyrolovom jadre jednoznačne dokazujú vodíkové NMR spektrá zlúčenín **51**, **52a** a **53a**, pre ktoré príslušný signál voľného protónu na pyrolovom jadre dokazuje signál pri 8.00 ppm. V spektrách zlúčeniny **54** takýto signál nie je.

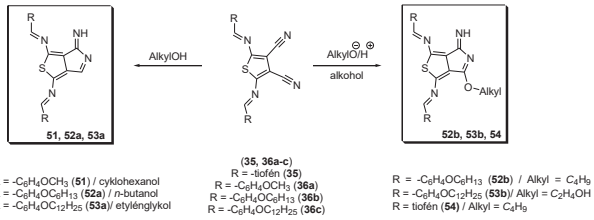


Schéma 2 Možnosti vzniku produktov vzájomnej kondenzácie do prvého stupňa.

Syntetická časť bola realizovaná na pracovisku Katedry chémie, FPV UCM v Špačinciach.

Záver

Predložená práca sa zaoberá štúdiom syntézy ftalokyanínov a subftalokynínov ako potenciálnych fotosenzibilátorov tretej generácie pre PDT. Napriek izolácii neočakávaných derivátov, ktoré sú prakticky medziproduktami syntézy ftalokyanínov, ako to vyplýva so štúdia mechanizmu. Takto izolované zlúčeniny sú však vhodnými substrátmi pre ďalšiu cyklokondenzáciu s vhodnými substrátmi, napr. izoindolmi v prospech nesymetrických ftalokyanínov. Takéto by mali mať aspoň jednu stavebnú podjednotku s obsahom tiofénového jadra a rovnako ako u zlúčenín **51-54** sa u výsledných ftalokyanínov očakávajú vhodné fotofyzikálne vlastnoti v prospech ich následného skúmania ako nových typov PS pre potreby PDT. Práca s týmto cieľom je aktuálne experimentálne zahájená a bude súčasťou záverečnej práce.

Poďakovanie

Za meranie hmotnostných spektier ďakujeme Dr. Falkovi Pippigovi z Chemického ústavu SAV v Bratislave**.**

Spektrá jadrovej magnetickej rezonancie pre nuklidy ^{1}H a ^{19}F boli získané ako platený servis (podľa aktuálneho cenníka) Centrálnych laboratórií na FChPT STU v Bratislave.

Práca vznikla z finančnou podporou grantovej úlohy VEGA 2/0055/21 a APVV 19-0087.

Touto cestou by som tiež chcela poďakovať svojej školiteľke RNDr. Zite Tokárovej, PhD. a konzultantke

Mgr. Marcele Gašparovej za odborné vedenie a užitočné rady.

Použitá literatúra

[1] PURCELL, M. G. et al. 2018. The Oncologic Emergency Medicine Fellowship. In Emergency Medicine Clinics of North America, vol. 36, no. 3, p. 637-643. ISSN 0733-8627.

[2] RAILKAR, R. et al. 2018. Photodynamic Therapy in the Treatment of Bladder Cancer: Past Challenges 3and Current Innovations. In European urology focus, vol. 4, no. 4, p. 509-511. ISSN 2405-4569.

[3] ZHOU, J. et al. 2020. ROS-boosted photodynamic therapy against metastatic melanoma by inhibiting the activity of antioxidase and oxygen-producing nano-dopants. In Pharmacological Research, vol.158. ISSN 1043-6618,.

[4] ALLISON, R. R. et al. 2004. Photosenzitizer in clinical PDT. In Photodiagnosis and Photodynamic Therapy, vol. 1, no. 1 p. 27 – 42. ISSN 1572 – 1000.

[5] MONRO, S. et al. 2019. Transition Metal Complexes and Photodynamic Therapy from a Tumor-Centered Approach: Challenges, Opportunities, and Highlights from the Development of TLD1433. In Chemical Reviews, vol. 119, no. 2, p. 797 – 828. ISSN 0009-2665.

[6] GAŠPAROVÁ, M. et al. 2022. Novel type of thiophene-based azomethine with combined effects of thiophene cores and cyano groups. In Monatshefte für Chemie. (V recenznom konaní, do času odovzdania práce nebol vydaný.)

[7] TOKÁROVÁ, Z. et al. 2020. Thiophene-centred azomethines: Structure, photophysical and electronic properties. In Journal of Molecular Structure, vol. 1204, p. 1-7. ISSN 0022-2860

[8] WESLEY, M. S. et al. 2005. Synthesis and Photodynamic Activity of Novel Asymmetrically Substituted Fluorinated Phthalocyanines. In Biocunjugate Chemistry, vol. 16, no. 5. ISSN 1617-3794.

[9] OLIVER, S. W. et al. 1987. Oligomeric Cyclization of Dinitriles in the Synthesis of Phthalocyanines and Related Compounds: the Role of the Alkoxide Anion. In Journal of the Chemical Society, Perkin Transactions 2, p. 1579-1582. ISSN 0300-9580.

[10] VÉGH, D. et al. 1995. Organic conductors based on 2,5-diamino-3,4- dicyanothiophene and diaminomaleonitrile and their transformation to new phthalocyanine analogues . In Chemistry of Heterocyclic Compounds, vol. 31, no. 10. ISSN 3110-1238.

Vertex labellings of simple graphs

Katarína Kotuľová[1]
Supervisor: Miroslav Haviar[2]
[1,2] Department of Mathematics, Faculty of Natural Sciences, Matej Bel University, Tajovského 40, 974 01 Banská Bystrica
[1]kvasekova@student.umb.sk, [2]miroslav.haviar@umb.sk

Abstrakt

Hlavným cieľom tejto práce je dosiahnuť vlastné výsledky v oblasti vrcholových ohodnotení grafov, špeciálne gracióznych grafov. Výsledky sú založené na použití nástrojov ako jednoduchá šachovnica grafu, ohodnocujúca postupnosť a ohodnocujúca relácia. Tieto nástroje sú užitočné na vizualizáciu a popis vlastností grafov. Použitím týchto nástrojov sú prezentované graciózne ohodnotenia štyroch tried grafov nazývaných šarkany. Šarkany sú grafy, kde cesta sa pripája na graf, ktorý "formuje" šarkana. V tejto práci sú prezentované výsledky pre šarkany hviezdy, trojuholníkové šarkany, štvoruholníkové šarkany a vejárové šarkany.

Kľúčové slová: graf, graciózne ohodnotenie, šachovnica grafu, ohodnocujúca postupnosť, relácia ohodnotenia

Abstract

The main aim of this article is to achieve own results in the area of vertex labellings of graphs, specially graceful graphs. Results are based on using tools such as simple graph chessboard, labelling sequence and labelling relation. These tools are good for visualization and description of properties of graphs. By using these tools graceful labellings of four classes of graphs called kites are presented. Kites are graphs where a path is joined with a graph "forming" a kite. In this work results for star kites, triangular kites, quadrangular kites and fan kites are presented.

Key words: graph, graceful labelling, simple chessboard, labelling relation, labelling sequence

Introduction

In graph theory important terms are vertex and edge labellings of graphs. These labellings assign some value to each vertex or edge. We will focus on graceful labellings of graphs. Graceful labelling labels vertices of graph of size m with different numbers from the set of $\{0, 1, ..., m\}$ such that no two edges have same "induced labels" (i.e. absolute values of differences of labels of vertices) and such that the induced labels cover all values of the set $\{1, 2, ..., m\}$.

This paper has three parts. The first part presents elementary concepts of graph theory and tools for visualization and description of graceful graphs such as simple chessboard, labelling sequence and labelling relation. The core of this paper is chapter about gracefuly labelled classes of kites. By a kite in this paper we mean a graph formed by a star, triangle, quadrangle or a fan graph, which is joined to a path. We formulate theorems which describe kites by equivalent conditions - simple chessboards, labelling sequences and labelling relations. Every case is presented by three visualizations - by the graph diagram, the simple chessboard and the labelling table.

1 Preliminaries

1.1 Graph Labellings

Definition 1 *([1, Definition 1.2.1]) A* ***vertex labelling*** *f of a graph G is a mapping of its vertex set*

*V_G into the set of non-negative integers (which are called **vertex labels**).*

In this paper by *labelling* we mean a *vertex labelling*. The number $|f(u)-f(v)|$, where $f(u), f(v)$ are the labels of the vertices u, v respectively, will be called the *induced label of the edge uv* in the labelling f.

Informally, a **graceful labelling** of a graph of size m is a labelling of its vertices with numbers from the set of $\{0, 1, \ldots, m\}$ such that no two vertices share the same label and such that the edges have different induced labels and cover all values of set $\{1, 2, \ldots, m\}$. If a graph is gracefuly labelled we say it is a *graceful graph*. A formal definition follows:

Definition 2 *([1, Definition 1.2.3]) Let G be a graph of size m and let f be its one-to-one labelling $f : V_G \to \mathbb{N}$. Then f is called a **graceful** labelling if*

1. *$f(V_G) \subseteq \{0, 1, \ldots, m\}$, and*
2. *$f(E_G) = \{1, 2, \ldots, m\}$.*

1.2 Simple Chessboards

Typically, graphs are visualized by a *graph diagram*, but now we present another way of visualization by a *simple chessboard*. This idea is due to M. Haviar from the 1990s and was developed in [1]. It says that every labelled graph of order n can be visualised by a simple chessboard.

A simple chessboard is a square table with n rows and n columns, and in the cells of the table are placed the dots which represent the edges of a graph. Every edge corresponds to the dots with coordinates $[u, v]$ and $[v, u]$ (the dot with coordinates $[u, v]$ means the dot in the i-th row and the j-th column of the table). Let the r-th diagonal be the set of all cells with the coordinates $[i, j]$ where $i - j = r$ and $i \geq j$. The main diagonal (also called 0-th diagonal) has no dots, because we consider simple graphs, so there exist no dots with coordinates $[i, i]$.

In practice we used to focus on the diagonals "below" the main diagonal, since the chessboard is symmetric about the main diagonal.

Definition 3 *([1, Section 2.2]) A **simple chessboard** of a graph of order n is a table $n \times n$ in which every edge uv (for vertices $u, v \in \{0, 1, \ldots, n-1\}$) is represented by a pair of dots with coordinates $[u, v]$ and $[v, u]$. Simple chessboard is called **graceful** if there is exactly one dot on each of its associate diagonals.*

The simple chessboard is a useful visualization of a graph because via it one can easily see some properties of the graph, for example, the size, degrees of vertices, gracefulness, etc.

1.3 Labelling tables

To study gracefully labelled graphs, we will use other two useful tools: labelling sequence and labelling relation. Each gracefully labelled graph can be represented by its simple chessboard (as defined above), labelling sequence and labelling relation. A concept of labelling sequence was introduced by Sheppard in [6]. He proved that there is unique correspondence between gracefully labelled graphs and labelling sequences. Later in [1] Haviar and Ivaška proved a correspondence between labelling sequences and labelling relations. Let us now define these terms:

Definition 4 *([6], [1, Definition 3.1.1]) For a positive integer m, the sequence of integers $(j_1, j_2, \ldots, j_m)$, denoted (j_i), is a **labelling sequence** if*

$$0 \leq j_i \leq m - i \quad \text{for all } i \in \{1, 2, \ldots, m\}.$$

Definition 5 *([1, Definition 3.5.1]) Let $L = (j_1, j_2, \ldots, j_m)$ be a labelling sequence. Then the relation $A(L) = \{[j_i, j_i + i], i \in \{1, 2, \ldots, m\}\}$ will be called a **labelling relation** assigned to the labelling sequence L.*

A *labelling table* displays the labelling sequence and the labelling relation. The labelling table contains a header and two rows. In the header are numbers $\{1, 2, \ldots, m\}$ and in the first row there is the labelling sequence j_i as defined in Definition 4. In the second row there are sums of numbers from the heading and

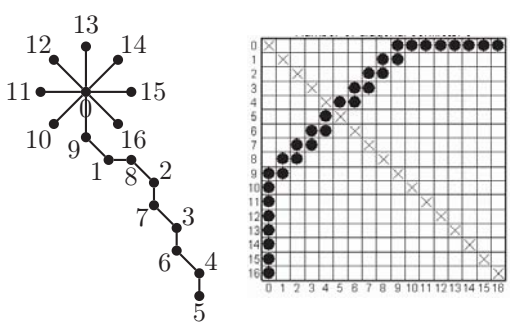
the first row. The pairs from the first and second rows in each column are the elements of the labelling relation. They also represent the edges of a graph.

2 Kites, their graceful labellings and characterizations

In this chapter we present four classes of gracefully labelled graphs, we call them *kites*. Star kites, triangular kites, quadrangular kites and fan kites are introduced. The basis of a kite is a graph G, which is joined to a path P_n. We denote such kite by $\boldsymbol{K_n(G)}$. We show these graphs are graceful and characterize them via labelling sequences, labelling relations and simple graph chessboards.

2.1 Star kites

By a *star kite* we mean a graph obtained by joining star S_m to end-point of a path P_n. We denote it $K_n(S_m)$. The size of star kite $K_n(S_m)$ is $s = m + (n-1)$, where m is size of the star S_m and $n-1$ is the length of the path P_n.



1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16
4	4	3	3	2	2	1	1	0	0	0	0	0	0	0	0
5	6	6	7	7	8	8	9	9	10	11	12	13	14	15	16

Fig. 1: Example of a graceful labelling of the star kite $K_9(S_8)$

Example 1 *Consider an example of the star kite $K_9(S_8)$ which is depicted in Figure 1. This kite is obtained by joining the star S_8 to the path P_9. The size of this star kite is $8+9-1 = 16$. We see a gracefuly labelled graph diagram and its corresponding simple chessboard. The labelling sequence (LS) is $(4,4,3,3,2,2,1,1,0,0,0,0,0,0,0,0)$ and we can recognize the LS of the path P_9, which is $(4,4,3,3,2,2,1,1)$ and LS of the star S_8, which is $(0,0,0,0,0,0,0,0)$.*

Now we describe *star kites* by the simple chessboards, the labelling sequences and the labelling relations:

Theorem 1 *Let G be a graph of size $s = m+n-1$ for some $m, n \in \mathbf{N}$. Then the following are equivalent:*

(1) G is the star kite $K_n(S_m)$.

(2) G has a graceful labelling and some chessboard of G has a pattern of dots analogous to chessboard in Figure 1.

(3) There exists a labelling sequence $L = (j_1, j_2, \ldots, j_s)$ of G such that

$$j_i = \begin{cases} \left\lceil \frac{s-m-i+1}{2} \right\rceil, & \text{if } i = 1, \ldots, n-1; \\ 0, & \text{if } i = n, n+1, \ldots, s. \end{cases} \qquad (LSSK)$$

(4) There exists a labelling sequence L of G with the labelling relation

$$A(L) = \left\{ \left[\left\lceil \frac{s-m-i+1}{2} \right\rceil, \left\lceil \frac{s-m-i+1}{2} \right\rceil + i \right] \mid i = 1, ..., n-1 \right\} \cup \{[\,0, i\,] \mid i = n, n+1, ..., s\}$$

Proof. (1) $\Longrightarrow$ (2) Let G be the star kite $K_n(S_m)$. We label it gracefully as follows: we first label vertices of the star clockwise by sequence $n, n+1, \ldots, s$. The vertex joining star S_m to end-point of the path is labelled by n. Now we label the main path from vertex n gradually by numbers $1, n-1, 2, \ldots$. We show this labelling is really graceful by using the corresponding simple chessboard of G (see Figure 1). The star S_m

of the kite is in the corresponding chessboard represented by the first column of dots. The main path P_n of the kite can be recognized in the simple chessboard by the "path pattern". It is easy to see that this star kite graph chessboard has exactly one dot on each diagonal, from which it follows that our labelling is graceful.

(2) $\Longrightarrow$ (3) Assume we have a graceful labelling of the graph G with a graph chessboard as in Figure 1. We show that the labelling sequence (LSSK) corresponds to this simple chessboard. The dots in the first column of the graph chessboard represent in the corresponding labelling sequence number $j_i = 0$ for $i = n, n+1, \ldots, s$. The dots of the "path pattern" represent numbers $\lceil \frac{s-m-i+1}{2} \rceil$ for $i = 1, \ldots, n-1$, forming the labelling sequence of the path P_n.

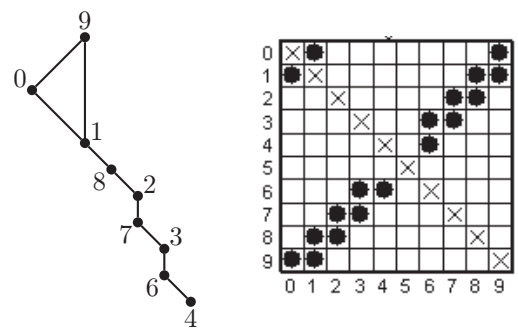
(3) $\Longrightarrow$ (4) Assume we have labelling sequence $L = (j_1, j_2, ..., j_s)$ of G, which satisfies the formula (LSSK) in (3). We show that this labelling sequence L has the labelling relation $A(L)$ as described in (4). The numbers 0 represent in $A(L)$ the pairs $[0, i]$ for $i = n, \ldots, s$. The numbers $\lceil \frac{s-m-i+1}{2} \rceil$ represent the pairs $[\ \lceil \frac{s-m-i+1}{2} \rceil, \lceil \frac{s-m-i+1}{2} \rceil + i\ ]$ for $i = 1, \ldots, n-1$, because the second coordinate in each of these pairs is obtained by adding to the first coordinate the number i from the head of table (see Figure 1).

(4) $\Longrightarrow$ (1) Let (4) hold, i.e. there exists a labelling sequence L of graph G with the labelling relation $A(L)$ as described in (4). We show that the pairs in $A(L)$ represent the edges of the star kite $K_n(S_m)$. The pairs $[0, i]$ for $i = n, n+1, \ldots, s$, clearly represent edges of the star S_m. The pairs $[\ \lceil \frac{s-m-i+1}{2} \rceil, \lceil \frac{s-m-i+1}{2} \rceil + i\ ]$ for $i = 1, \ldots, n-1$, represent the edges of the path P_n. Hence G is the star kite $K_n(S_m)$. □

2.2 Triangular kites

By a *triangular kite* we mean a graph obtained by identifying vertex of cycle C_3 to end-point of the path P_n. We denote it $K_n(C_3)$. The size of graph is $s = 3 + (n-1) = 2 + n$, where 3 is size of the cycle C_3 and $n-1$ is the length of the path P_n.

Example 2 *In Figure 2 we see the triangular kite $K_7(C_3)$ obtained by joining cycle C_3 to the path P_7. Its graceful labelling is depicted in the graph diagram. We also see the corresponding graph chessboard and the labelling relation. The labelling sequence (LS) is $(0, 4, 3, 3, 2, 2, 1, 1, 0)$ and we can recognize the LS of the path P_7 that is $(4, 3, 3, 2, 2, 1, 1)$ and LS of the cycle C_3 that is $(0, ..., 1, 0)$.*



1	2	3	4	5	6	7	8	9
0	4	3	3	2	2	1	1	0
1	6	6	7	7	8	8	9	9

Fig. 2: Example of a graceful labelling of the triangular kite $K_7(C_3)$

In the following theorem we describe *triangular kites* by the simple chessboards, the labelling sequences and the labelling relations. Within this characterization (see the 2nd condition) we show that these graphs are graceful:

Theorem 2 *Let G be a graph of size $s = 2 + n$ for some $n \in \mathbf{N}$. Then the following are equivalent:*

(1) G is the triangular kite $K_n(C_3)$.

(2) G has a graceful labelling and some chessboard of G has a pattern of dots analogous to chessboard in Figure 2.

(3) There exist a labelling sequence $L = (j_1, j_2, \ldots, j_s)$ of G such that

$$j_i = \begin{cases} 0, & \text{if } i = 1; \\ \lfloor \frac{s-i+1}{2} \rfloor, & \text{if } i = 2, \ldots s. \end{cases} \qquad (LSTK)$$

(4) *There exist a labelling sequence L of G with the labelling relation*

$$A(L) = \{[\ 0,1\ ]\} \cup \left\{ \left[\left\lfloor \frac{s-i+1}{2} \right\rfloor, \left\lfloor \frac{s-i+1}{2} \right\rfloor + i \right] \;\middle|\; i = 2 \ldots s \right\}.$$

Proof. (1) $\Longrightarrow$ (2) Let G be the triangular kite $K_n(C_3)$. We label it the following way: We start labelling the triangle - we label one vertex 0 and the second s, the vertex joining triangle C_3 to end-point of the path is labeled by 1. We label the path from the first end-vertex of the path labeled 1 gradually by numbers $s-1, 2, s-2, \ldots$ (see Figure 2). Now we show this labelling is graceful. For this we again use a visualization via the corresponding simple chessboard of G (see Figure 2). The C_3 cycle of the triangular kite is in the corresponding chessboard represented by one dot on the top with coordinates $[0,1]$ and two dots at the bottom with coordinates $[0,s], [1,s]$. The other dots have the "path pattern" and represent the path P_n in the graph. One can easily see that in the triangular kite graph chessboard there is exactly one dot on each diagonal, from which it follows that our labelling is graceful.
(2) $\Longrightarrow$ (3) Assume we have a graceful labelling of the graph G with a graph chessboard as in Figure 2. We show that the labelling sequence corresponding to it is given by the formula (LSTK). The dot on the top of graph chessboard (position $[0,1]$) represents in the corresponding labelling sequence number $j_1 = 0$. The other dots represent numbers $\lfloor \frac{s-i+1}{2} \rfloor$, so-called 2-linear labelling sequence (see [1, Definition 4.3.1]), so LS of the path P_n.
(3) $\Longrightarrow$ (4) Let (3) hold, i.e. there exists a labelling sequence $L = (j_1, j_2, ..., j_s)$ of G which satisfies the formula (LSTK). We show that this labelling sequence L has the labelling relation $A(L)$ as described in (4). The number 0 represents the pair $[0,1]$ in $A(L)$. The members $\lfloor \frac{s-i+1}{2} \rfloor$ clearly represent the pairs $[\ \lfloor \frac{s-i+1}{2} \rfloor, \lfloor \frac{s-i+1}{2} \rfloor + i\ ]$ for $i = 2, \ldots, s$ because the second coordinate in each of these pairs is obtained by adding to the first coordinate the number i from the head of table .
(4) $\Longrightarrow$ (1) Let (4) hold, i.e. there exists a labelling sequence L of graph G with the labelling relation $A(L)$ as described in (4). We show that the pairs in $A(L)$ represent the edges of the triangular kite $K_n(C_3)$. The pair $[0,1]$ represents one edge of the C_3 cycle. The pairs $[\ \lfloor \frac{s-i+1}{2} \rfloor, \lfloor \frac{s-i+1}{2} \rfloor + i\ ]$ for $i = 2, 3$ represent the other two edges of a cycle. The pairs for $i = 4, \ldots, s$ represent the path P_n. Hence G is the triangular kite $K_n(C_3)$. □

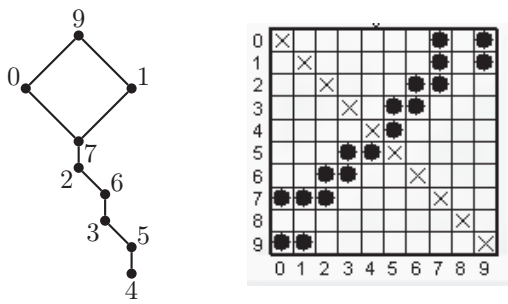
2.3 Quadrangular kites

By a *quadrangular kite* we mean a graph obtained by joining cycle C_4 to end-point of the path P_n. We denote it $K_n(C_4)$. The size of graph is $s = 4 + (n-1) = 3 + n$ where 4 is size of cycle C_4 and $n-1$ is the lengths of the path P_n.

Example 3 *We consider the quadrangular kite $K_6(C_4)$ formed by cycle C_4 joined to a path P_6. In Figure 3 we can see its graceful labelling and the corresponding graph chessboard. The labelling relation is seen in table under the chessboard. The labelling sequence (LS) is $(4,3,3,2,2,1,0,1,0)$ and it consists of two groups: the first is $(4,3,3,2,2)$, which is the LS of the path P_6 and the second is $(1,0,1,0)$, which is the LS of cycle C_4. These groups can be illustrated on the graph chessboard. One group consists of elements corresponding to the dots that form "path pattern", and the elements from second group correspond to the dots that form "square block" .*

In the following theorem we characterize quadrangular kites by their graph chessboard, labelling sequence and labelling relation. Within this characterization we show that these graphs are graceful. But firstly define a term of a *QK- (quadrangular kite)* graph chessboard in the next definition:

Definition 6 *By a **QK-graph chessboard** we mean a simple chessboard such as in Figure 3 described in the previous example. It starts in the lower left corner and consists of the square block of dots and continues with dots forming a "stairway" in the simple chessboard.*



1	2	3	4	5	6	7	8	9
4	3	3	2	2	1	0	1	0
5	5	6	6	7	7	7	9	9

Fig. 3: Example of a graceful labelling of the quadrangular kite $K_6(C_4)$

Theorem 3 *Let G be a graph of size $s = 3 + n$ for some $n \in \mathbf{N}$. Then the following are equivalent:*

(1) G is the quadrangular kite $K_n(C_4)$.

(2) G has a graceful labelling and a QK-graph chessboard.

(3) There exist a labelling sequence $L = (j_1, j_2, \ldots, j_s)$ of G such that

$$j_i = \begin{cases} 0, & \text{if } i = s-2, s; \\ 1, & \text{if } i = s-1, s-3; \\ \left\lfloor \frac{s-i}{2} \right\rfloor, & \text{if } i = 1, 2 \ldots, s-4. \end{cases} \qquad (LSQK)$$

(4) There exist a labelling sequence L of G with the labelling relation

$$\begin{aligned} A(L) = &\{[\,0, i\,] \mid i = s-2, s\} \cup \\ &\{[\,1, 1+i\,] \mid i = s-3, s-1\} \cup \\ &\left\{ \left[\left\lfloor \frac{s-i}{2} \right\rfloor, \left\lfloor \frac{s-i}{2} \right\rfloor + i \right] \right. \\ &\left. \mid i = 1, 2, \ldots, s-4 \right\} \end{aligned}$$

Proof. (1) $\Longrightarrow$ (2) Each quadrangular kite can be labelled in the pattern given as follows: The vertex joining cycle C_4 with the path P_n has number $(s-2)$. This vertex is on the first position in the cycle and other vertices in the clockwise direction from this vertex have numbers $0, s, 1$. Then the other vertices are labelled by numbers $2, s-3, 3, \ldots$ and they create the path P_n. Now we show that this labelling is graceful. The cycle C_4 is in the corresponding chessboard represented by four dots which form a "square block". Then the path P_n in the graph is represented by "path pattern". It is evident that each diagonal of the chessboard has exactly one dot, what means that the labelling is graceful.
(2) $\Longrightarrow$ (3) Let G be a gracefully labelled graph with a graph chessboard as in Figure 3. The dots in the first column of graph chessboard represent in the corresponding labelling sequence number 0. The dots in the second column of graph chessboard represent in the corresponding labelling sequence number 1. The other dots (path pattern) represent numbers $\left\lfloor \frac{s-i}{2} \right\rfloor$ forming the labelling sequence of the path P_n.
(3) $\Longrightarrow$ (4) Let (LSQK) hold for some labelling sequence L of G. We verify that the labelling relation $A(L)$ from this labelling sequence consists of the pairs as described in (4). The 0s from labelling sequence L correspond in $A(L)$ to the pairs $[0, i]$ for $i = s-2, s$. The 1s from labelling sequence L correspond in $A(L)$ to the pairs $[1, 1+i]$ for $i = s-3, s-1$. Finally, numbers of form $\left\lfloor \frac{s-i}{2} \right\rfloor$ from labelling sequence L correspond in $A(L)$ to the pairs $[\left\lfloor \frac{s-i}{2} \right\rfloor, \left\lfloor \frac{s-i}{2} \right\rfloor + i\,]$ for $i = 1, 2 \ldots, s-4$.
(4) $\Longrightarrow$ (1) Let $A(L)$ be labelling relation as in (4). From definition we know that the edges of G correspond to the pairs in $A(L)$. The edges $[0, i]$ for $i = s-2, s$ and $[1, 1+i]$ for $i = s-3, s-1$ correspond to C_4 cycle, and edges $[\left\lfloor \frac{s-i}{2} \right\rfloor, \left\lfloor \frac{s-i}{2} \right\rfloor + i\,]$ for $i = 1, 2, \ldots, s-4$ correspond to the path P_n. So G is the quadrangular kite $K_n(C_4)$.

□

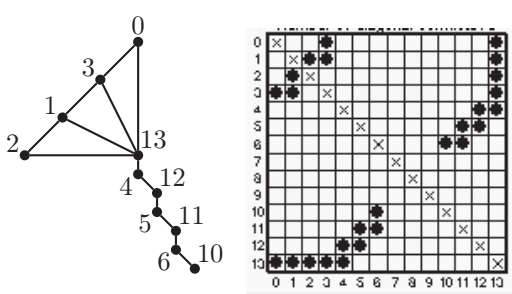
3 Fan kites

By a *fan kite* we mean a fan-graph kite, which is a graph obtained by joining fan-graph F_m (see Defini-

tion 7) with end-point of the path P_n (see Figure 4). We will call it shortly *fan kite* and denote $K_n(F_m)$. Fan kite is the graph of size $s = 2m - 1 + (n - 1) = 2m + n - 2$, where $2m - 1$ is size of fan graph F_m and $n - 1$ is length of the path P_n.

Definition 7 *([1, Section 4.4.7], [4, Section 4.1]) A* ***fan graph*** *F_m is a join of the path P_m and a single vertex K_1. The fan graph F_m has order $m + 1$ and size $2m - 1$ for $m \geq 2$.*

Example 4 *The fan kite $K_7(F_4)$ is obtained by joining fan-graph F_4 with the path P_7. In Figure 4 we see its graph diagram, where we can see a graceful labelling of the fan kite $K_7(F_4)$. We also see the corresponding graph chessboard where we can recognize a "fan-graph pattern" and "path pattern". The "fan graph pattern" is in the columns $0 - 3$ of the simple chessboard. A labelling sequence (LS) and labelling relation are below in the table. The LS is $(1, 1, 0, 6, 6, 5, 5, 4, 4, 3, 2, 1, 0)$, it consists of the LS of the fan-graph, which is $(1, 1, 0, \ldots, 3, 2, 1, 0)$, and the LS of the path, which is $(\ldots, 6, 6, 5, 5, 4, 4, \ldots)$. The pairs from the first and second rows of table form the labelling relation.*



1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13
1	1	0	6	6	5	5	4	4	3	2	1	0
2	3	3	10	11	11	12	12	13	13	13	13	13

Fig. 4: Example of a graceful labelling of the fan kite $K_7(F_4)$

Now we present the result where we show gracefulness of fan kites. We present their characterization by graph chessboard, labelling sequence and labelling relation.

Theorem 4 *Let G be a graph of size $s = 2m + n - 2$ for some $m \in \mathbb{N} - 1$ and $n \in \mathbf{N}$. Then the following are equivalent:*

(1) G is the fan kite $K_n(F_m)$.

(2) G has a graceful labelling and some graph chessboard has a pattern of dots analogous to chessboard in Figure 4.

(3) There exists a labelling sequence $L = (j_1, j_2, \ldots, j_s)$ of G such that

$$j_i = \begin{cases} \left\lceil \frac{m-1-i}{2} \right\rceil, & \text{if } i \leq m-1; \\ \left\lceil \frac{s-i+m-1}{2} \right\rceil, & \text{if } m \leq i < s-m+1; \\ s - i, & \text{if } i \geq s-m+1. \end{cases} \qquad (LSFK)$$

(4) There exists a labelling sequence L of G with the labelling relation

$$\begin{aligned} A(L) = & \left\{ \left[\left\lceil \frac{m-1-i}{2} \right\rceil, \left\lceil \frac{m-1-i}{2} \right\rceil + i \right] \right. \\ & \left. \Big| \; i \leq m-1 \right\} \cup \\ & \left\{ \left[\left\lceil \frac{s-i+m-1}{2} \right\rceil, \left\lceil \frac{s-i+m-1}{2} \right\rceil + i \right] \right. \\ & \left. \mid m \leq i < s-m+1 \right\} \cup \\ & \{ [\, s-i, s \,] \mid i \geq s-m+1 \} \end{aligned}$$

Proof. (1) $\Longrightarrow$ (2) Let G be the fan kite $K_n(F_m)$ of size s. There are two paths: the path P_m as the path of fan-graph F_m, and the second path is the main path of the kite denoted P_n. We label the fan kite: The vertex connecting the fan-graph F_m with the path P_n has number s. This vertex is connected by edge with every vertex of the path P_m of fan-graph. We label P_m gradually by: $0, m-1, 1, m-2, 2, \ldots \lceil \frac{m-1}{2} \rceil - 1, \lceil \frac{m-1}{2} \rceil$. Labelling of F_m is done and now we label the path P_n: we start from vertex denoted s and continue gradually:

$m, s-1, m+1, \ldots$. The labelling of $K_n(F_m)$ is done. Now we show it is graceful by using the corresponding chessboard. The dots in the left upper corner represent the path P_m of fan graph, the dots in the last row represent edges connecting vertex s with vertices of the path P_m. The other dots have the "path pattern" and they represent the path P_n. There is one dot on each diagonal, so it is evident that labelling is graceful.

(2) $\implies$ (3) Let G has a graceful labelling with a graph chessboard like in Figure 4. The dots in the left upper corner of graph chessboard represent in the corresponding labelling sequence numbers $\lceil \frac{m-1-i}{2} \rceil$ for $i \leq m-1$. The "path pattern" in the bottom of graph chessboard corresponds to numbers $\lceil \frac{s-i+m-1}{2} \rceil$ for $m \leq i < s-m+1$. The $m-1$ dots in the last row represent in the LS numbers $s-i$ for $i \geq s-m+1$.

(3) $\implies$ (4) Let (3) hold, we show that this labelling sequence has labelling relation $A(L)$ as in (4). Every member of labelling sequence L creates in the labelling relation the first coordinate. The second coordinate in each of the pairs is obtained by adding the number i to the first coordinate. So $A(L)$ satisfies(4).

(4) $\implies$ (1) Let (4) hold. We show that the pairs in $A(L)$ represent the edges of graph G. The pairs $[\ \lceil \frac{m-1-i}{2} \rceil, \lceil \frac{m-1-i}{2} \rceil + i\ ]$ for $i \leq m-1$ correspond to the path of fan-graph. The pairs $[\ \lceil \frac{s-i+m-1}{2} \rceil, \lceil \frac{s-i+m-1}{2} \rceil + i\ ]$ for $m \leq i < s-m+1$ correspond to the path P_n of kite. The pairs $[\ s-i, s\ ]$ for $i \geq s-m+1$ correspond to the edges connecting the vertex s with the path P_m of fan-graph. So G is the fan kite. $\square$

Conclusion and further possible directions of research

This paper introduces and describes graceful labellings of four classes of kite graphs by applying visualization tools like graph diagrams, simple chessboards and labelling tables. The characterization theorems also used labelling sequences and labelling relations. To help to understand each proof, an illustrating example to every class of kite graphs is presented.

We noticed that gracefulness of certain similar graphs was studied in [2], they call them *tadpoles*. But the jurnal with the paper is not accesible and so we do not know, which tadpoles exactly were studied there. We are certain they did not characterize them via simple chessboards, labelling sequences and labelling relations. So the supervisor of this paper thinks that the results presented here are original.

Hence the first further possible research direction is to obtain somehow the paper [2] and to characterize their tadpoles via simple chessboards, labelling sequences and labelling relations similarly as in this paper. The second possible research direction is to take some further classes of gracefully labelled graphs (like stars and fan graphs here) out of eleven classes of gracefully labelled graphs from Chapter 4 of [1] and to describe them in the manner similar to this paper.

References

[1] M. Haviar and M. Ivaška, *Vertex Labellings of Simple Graphs*. Research and Exposition in Mathematics, Vol. 34, Heldermann-Verlag, Lemgo, Germany, (2015).

[2] K. M. Koh, D. G. Rogers, H. K. Teo, and K. Y. Yap, Graceful graphs: some further results and problems, Congr. Numer., 29 (1980) 559-571.

[3] K. Kotuľová, "Recent research on graceful labellings of simple graphs", Bc. thesis, 59 pp., Department of Mathematics, M. Bel University, Banská Bystrica, 2020.

[4] S. Kurtulík, "Graceful labellings of graphs", MSc. thesis, 52 pp., Department of Mathematics, M. Bel University, Banská Bystrica, 2020.

[5] J. Matoušek and J. Nešetřil, *Invitation to Discrete Mathematics*. Oxford University Press, (2008).

[6] D. A. Sheppard, *The factorial representation of major balanced labelled graphs*. Discrete Math. 15 (1976), 379-388.

Pentafluórofenylpyrol a jeho deriváty ako potenciálne zlúčeniny v materiálovej chémii

Pentafluorophenylpyrrole and its derrivates as potential compounds with use in material chemistry

Simona Ilková[1] – Marcela Gašparová[2] – Zita Tokárová[3]
Školiteľ: Zita Tokárová[3]
[1,2,3]Katedra Chémie, FPV UCM, Námestie Jozefa Herdu 2, 917 01 Trnava
[1]ilkova1@ucm.sk, [2]gasparova2@ucm.sk, [3]zita.tokarova@ucm.sk

Abstrakt

Začiatkom rokov 1960 boli prvýkrát objavené a popísané pentafluórsubstituované zlúčeniny, ktoré vykazovali zaujímavé optické/elektronické vlastnosti. Ich význam nebol celkom známy do v roku 1977, kedy nastal objav prvého vodivého polyméru, a to *trans*-polyacetylénu [1]. Avšak *trans*-polyacetylén vykazoval niekoľko nevýhod, čo malo za následok presmerovanie záujmu na iné vodivé polyméry ako sú polypyroly a následne polytiofénové deriváty. Neskôr sa na zlúčeniny obsahujúce perfluórsubstituovanú jednotku pozabudlo a nepripisoval sa im hlbší význam. Záujem o perfluórsubstituované pyroly stúpa v poslednom desaťročí vzhľadom na ich vodivé, magnetické a fyzikálnochemické vlastnosti [2,3]. Hlavným cieľom samotného experimentu bolo optimalizovanie syntézy 1-pentafluórofenyl-1*H*-pyrolu (PFHP) a jeho následných substitučných elektrofilných reakcií ako sú Vilsmeyer-Haack-Arnoldove (VHA) formylácie a následná Wittigova reakcia, ktorá poskytne produkt v prospech jeho polymerizácie za vzniku produktu s aplikačným potenciálom. Ďalšie S_E reakcie boli zamerané na štúdium reaktivity formyl-substituovaného PFHP, ktorý je výrazne deaktivovaný.

Kľúčové slová: VHA formylácie, pyrol a jeho deriváty, konjugované organické polyméry.

Abstract

In the early 1960s, pentafluorosubstituted compounds were discovered and described, possessing interesting optical/electronic properties. Their importance was not well established until 1977, when the first conductive polymer *trans*-polyacetylene have been discovered [1]. However, *trans*-polyacetylene showed several disadvantages, which resulted in the redirection of interest to other conductive polymers such as polypyrroles and subsequently polythiophene derivatives. Later, the interest on compounds containing the perfluoro-substitution was significantly uderrated- In the last decade, compounds based on perfluorophenylpyrrole are gaining interest as a consequence of their valuable conductive, magnetic and physicochemical properties [2,3]. The main interest of our synthetic research is to optimize the synthesis of 1-pentafluorophenyl-1*H*-pyrrole (PFHP) and its subsequent electrophilic substitution reactions such as Vilsmeyer-Haack-Arnold (VHA) formylation or Wittig reactions. Wittig reduction of aldehydes offers the crucial product as substrate of polymerization representing material directly usable in organic semiconducting, magnetic or photovoltaic devices. Since the pyrrole ring is strongly deactivated upon introduction of carbonyl group, subsequent electrophilic substitutions of monoaldehyde are rather unknown.

Key words: VHA formylations, pyrrole and its derivates, conjugated organic polymers.

Úvod

Problematika pentafluóro-substituovaných aromatických zlúčenín je momentálne veľmi populárnou témou najmä pre potreby ich využitia v materiálovej chémii. V súčasnosti tieto zlúčeniny zažívajú renesanciu z hľadiska záujmu a využiteľnosti. Predovšetkým pyrol-substituované perfluórofenylové deriváty sú z hľadiska záujmu najperspektívnejšie. Pyrol, ako stavená podjednotka je súčasťou polypyrolu, jedného z najvýznamješích vodivých oligomérov po objave vodivého *trans*-polyacetylénu malo za následok. Deriváty obsahujúce pyrolové jadro v kombinácii s pentafluórfenylovou štruktúrnou jednotkou majú vylepšené magnetické ale aj optické vlastnosti [2,3] a je možné ich ďalej relatívne jednoducho modifikovať, nakoľko pyrolové jadro ochotne reaguje s elektrofilnými činidlami. Všeobecne, fluór-substituované zlúčeniny sú známe skôr pre ich využitie vo farmácii [4], prípadne s využitím

v agrochemikáliach [5], avšak nakoľko ich zaujímavé vlastnosti boli popísané už predtým, postupne nachádzajú svoje patričné uplatnenie aj v materiálovej chémii. Cieľom uvedenej práce je predovšetkým optimalizácia reakčných podmienok syntézy a nasledovných elektrofilných substitúcii na pyrolovom jadre pre derivát 1-pentafluórofenyl-1*H*-pyrol (PFHP). Tieto reakcie vykazujú niekoľko prekážok či už počas syntézy, ale aj počas samotnej izolácie aj napriek tomu, že sa jedná o jednokrokové syntézy. Nami realizované reakcie boli experimentálne študované za účelom možnej aplikácie 1-pentafluórofenyl-1*H*-pyrolu a jeho derivátov po SE reakcii ako stavebných jednotiek pre organické polovodiče pre potreby materiálovej chémie.

1 Materiál a metódy

Na syntézu, spracovanie a štúdium látok boli použité dostupné zariadenia na Katedre Chémie, FPV, UCM v Trnave, s pracoviskom v Špačinciach.

1.1 Prístroje a metódy spracovania

Na izoláciu jednotlivých derivátov pentafluórofenylpyrolu boli použité bežne zaužívané laboratórne postupy ako sú kryštalizácia, odsávanie za zníženého tlaku, odparovanie pomocou vákuovej rotačnej odparky typu Heidolph a i. Priebeh reakcií bol sledovaný pomocou tenkovrstvovej chromatografie s využitím silufolových platničiek a skúmaním rôznych elučných zmesí, resp. činidiel. Štruktúra všetkých derivátov bola potvrdená na základe ^{1}H spektroskopie s využitím stolového typu spektrometra v Špačinciach v kombinácii s vysokofrekvenčnými vodíkovými a fluórovanými spektrami, ktoré ale nie sú súčasťou tejto práce a boli získané ako platený servis.

2 Výsledky a diskusia

Syntéza 1-pentafluórofenyl-1*H*-pyrolu bola uskutočnená už podľa publikovaného postupu [6] (Schéma 1) reakciou pentafluóranilínu s 2,5-dimetoxytetrahydrofuránom. Tento derivát je taktiež aj komerčne ponúkaný spoločnosťou Merck KGaA, Darmstadt, Nemecko (CAS číslo 344452-95-5), avšak mnohokrát nedostupný. Pri práci s touto zlúčeninou bolo dôležitým zistením fakt, že sa jedná o pomerne nestabilnú zlúčeninu, ktorá sa pri dlhšej manipulácii pri laboratórnej teplote začína topiť a taktiež mnohokrát kryštalizuje na každom povrchu, ktorého sa dotkne.

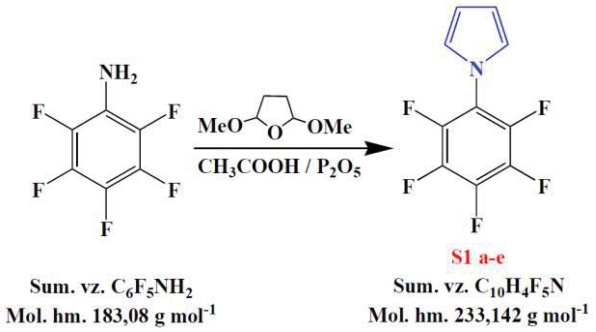


Schéma 1 Syntéza pentafluórofenylpyrolu (PFHP)

Štruktúra PFHP bola potvrdená pomocou NMR spektroskopie využitím stolového typu NMR spektrometra na Katedre Chémie v Špačinciach a následným vyriešením vodíkových spektier, kde bolo možné vidieť charakteristické posuny. Vzniknutý derivát pyrolu sme ďalej podrobili sérii predovšetkým substitučných elektrofilných reakcií (S_E), pričom jedna z kľúčových bola Vilsmeyerova-Haackova-Arnoldova (VHA) formylácia. Ide o substitučnú elektrofilnú reakciu, ktorá umožňuje zavedenie karbonylovej funkčnej skupiny na aromatický/heteroaromatický derivát. Čo sa týka pyrolového jadra, v tomto prípade je uprednostnené naviazanie do polohy C-α. Pri tomto type reakcií sme skúšali formyláciu pôsobením dvoch rôznych formylačných činidiel, pričom jedno z činidiel bola „klasická“ formylačná zmes $POCl_3$ (oxychlorid fosorečný) v kombinácii s DMF (*N*,*N*-dimetylformamid). Tento typ formylácie sme uskutočnili dvomi rôznymi syntetickými prístupmi (Schéma2). Prvým bol už publikovaný [6] (**S2 a-c**) a druhým bola naša vlastná modifikácia reakčných podmienok s cieľom zjednodušenia syntézy, nakoľko $POCl_3$ s DMF predstavuje silné formylačné činidlo (**S2 d-h**).

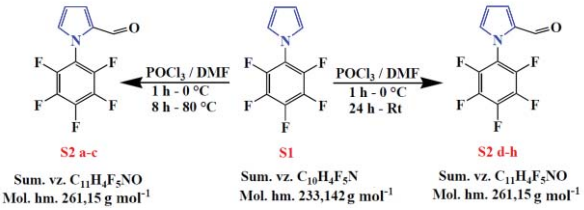


Schéma 2 VHA formylácie využitím $POCl_3$ a DMF

Taktiež je dôležité spomenúť, že pri riešení vodíkových spektier sme si mnohokrát neboli istý výslednou štruktúrou látky. Pozorovali sme štiepenie signálu vzniknutej karbonylovej skupiny, ktorý mohol indikovať

aj vznik dikarbaldehydu, avšak, pri nami modifikovanej reakcii, ktorá vychádzala z vyššieho množstva PFHP sme na základe vodíkového spektra vyhodnotili, že klasická VHA formylácia účinkom $POCl_3$ a DMF vedie vždy iba ku vzniku monoaldehydu. Taktiež sme zistili, že je možné tento typ reakcií označiť ako multigramové syntézy. Jedinou nevýhodou vychádzajúc z väčšieho množstva PFHP je fakt, že izolácia mnohokrát vyžaduje krok navyše, konkrétne filtráciu vzniknutej uhličitanovej soli, vzniknutej pri neutralizácii nasýteným roztokom K_2CO_3, ktorú nemožno rozpustiť organickými rozpúšťadlami. Treťou zo sérií reakcií bola VHA formylácia účinkom $(COCl)_2$ a DMF [7]. Pri tomto type formylácií sme skúmali možné naviazanie karbonylovej skupiny do polohy β. Aj napriek modifikácii postupu, a to zvýšením reakčného času sme zistili, že VHA formylácia účinkom takéhoto Vilsmeyerovho reagentu vedie iba k naviazaniu karbonylovej skupiny do polohy Cα (Schéma 3). Štruktúra derivátov **S2** a **S3** bola opäť potvrdená pomocou NMR spektroskopie a porovnávaním charakteristických posunov.

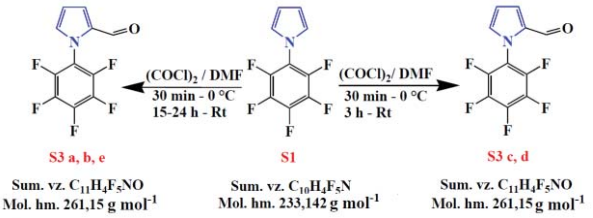


Schéma 3 VHA formylácia účinkom $(COCl)_2$ a DMF

Jednou z ďalších sérií reakcií bola Wittigova reakcia, ktorá je príkladom [2+2]cykloadičnej reakcie a jednou zo základných metód syntézy alkénov. Takže ide o príklad využitia produktu S_E-VHA v syntéze ďalších, nových typov derivátov PFHP. Pri tomto type rekcií je dôležité dodržať čo najlepšie inertné podmienky a rovnako aj všetky rozpúšťadlá musia byť bez obsahu vody. Princípom reakcie je vznik alkénu, respektíve reakcia karbonylovej skupiny (aldehydu) s trifenylfosfónium ylidoim za vzniku alkénu a trifenylfosfín oxidu (Schéma 3). Takýto typ derivátu **S4** je vhodným substrátom polymerizačných reakcií, ktoré budú sledované a realizované na spoluracujúcom pracovisku (Ústav Polymérov SAV, Bratislava).

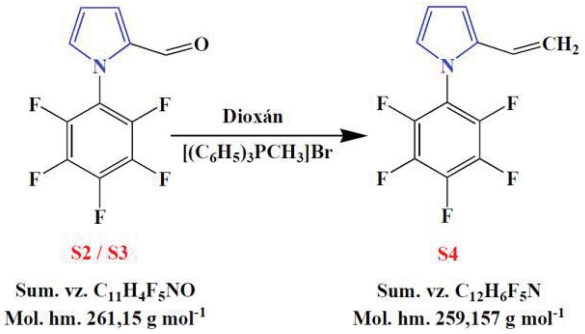


Schéma 3 Wittigova reakcia – premena CHO na $CHCH_2$.

Čo sa týka tejto reakcie, tak bola pomerne náročná nakoľko vyžadovala dlhý reakčný čas a rovnako aj izolácia bola komplikovaná. Pozorovali sme vznik olejovitého produktu a po zistení výslednej štruktúry sme zistili, že konverzia na očakávaný produkt nebola úplná. Po reakcii sme izolovali zmes 1-pentafluórofenyl-1*H*-pyrol-2-karbaldehydu **S2** (substrát) a 1-pentafluórofenyl-2-vinyl-1*H*-pyrolu **S4** (očakávaný produkt). Ďalšou zo sérií reakcií bola syntéza 1-pentafluórofenyl-1*H*-pyrol-2,4-dikarbaldehydu s pracovným označením **S5** (Schéma 4) pomocou nami modifikovaného postupu VHA formylácie. Pri uskutočnení formylácie do druhého stupňa bol hlavným zistením fakt, že druhá α poloha pyrolového jadra nie je reaktívna a tým pádom sa nám ďalšia karbonylová skupina substituuje do polohy C-β pyrolového jadra.

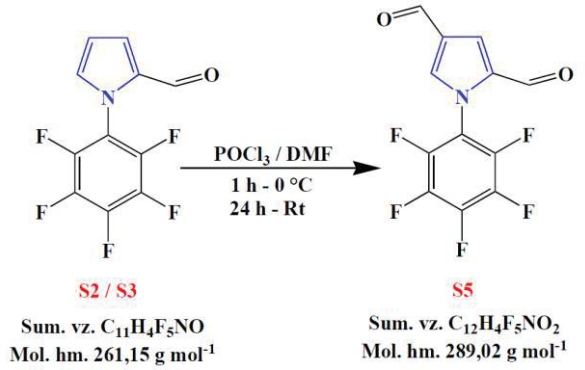
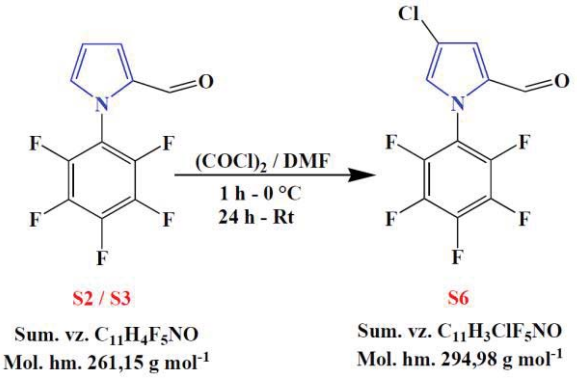


Schéma 4 Syntéza dialdehydu využitím $POCl_3$ a DMF

Šiestou reakciou bol pokus o VHA formyláciu účinkom $(COCl)_2$ a DMF do druhého stupňa – rovnako s očakávaním substitúcie do C-β pyrolu. V tomto prípade sme očakávali rovnako ako aj pri použití $POCl_3$ a DMF substitúciu karbonylovou skupinou. Avšak na základe obsiahlejších štúdií aktuálne je možné

predpokladať, že $(COCl)_2$ v kombinácii s DMF stráca po naviazaní jednej karbonylovej skupiny schopnosť VHA reagentu a namiesto toho sa správa ako chloračné činidlo vplyvom elektrónových efektov na pyrolovom jadre. (Schéma 5).



Záver

Práca sa zaoberá optimalizáciou syntézy PFHP a štúdium následným reakcií, predovšetkým elektrofilných substitúcií s cieľom zavedenia reaktívnej funkčnej skupiny CH=O. Samotný pentafluórofenylpyrol a jeho zlepšené magnetické vlastnosti boli popísané už predtým [2,3], avšak ako je spomínané vyššie, takéto deriváty sú stále aktuálnou témou. Pyrol je známy ako biologicky aktívny prekurzor Komerčne dostupné farmaceutické prípravky a lieky obsahujúce aktívne zlúčeniny so zabudovaným pyrolovým cyklom majú rad farmakologicky významných účinkom, napr. antibakteriálne, protiplesňové, antipsychotické (pri poruchách vnímania) a mnoho iných. [8] Tak ako je spomínané vyššie, vo všeobecnosti fluór-substituované zlúčeniny sú známe skôr pre ich využitie vo farmácii [4], prípadne ako súčasť agrochemikálií [5] My sme sa zamerali na syntézu základných stavebných jednotiek s možným využitím ako súčastí organických polovodičoch. Samotné syntézy mnohokrát vykazujú niekoľko obťažností, preto našim hlavným cieľom bolo predovšetkým optimalizovanie reakčných podmienok a navrhnutie/syntéza nových derivátov s potenciálnym využitím v materiálovej chémii a to najmä v organickej fotovoltaike. Čo sa týka VHA formylácie účinkom $POCl_3$ a DMF tu bolo našim hlavným cieľom zmiernenie reakčných podmienok. Zvýšením reakčného času ale zároveň znížením reakčnej teploty z publikovaných 80 °C na laboratórnu teplotu, sa nám podarilo izolovať produkty vo vyšších výťažkoch. Zároveň nahradením jedovatého dichlóretánu dichlórmetánom pre účely extrakcie sme pozorovali menej búrlivý priebeh tzv. quenčovania – tj uvoľnenia karbonylu so svojej soli. Pri realizovaní tejto série syntéz sme taktiež zistili, že syntézu 1-pentafluórofenyl-1*H*-pyrol-2-Karbaldehydu je možné označiť ako multigramovú. Pri VHA formylácii účinkom $(COCl)_2$ a DMF sme skúmali možné naviazanie karbonylovej skupiny do polohy C-β pyrolového jadra. Vychádzali sme z pôvodného konceptu [9], kedy bolo možné nasyntetizovať derivát, kde bol aj ako vedľajší produkt derivát pyrolu obsahujúci karbonylovú skupinu v C-β polohe. Na základe našich zistení a riešením vodíkových spektier sme zistili, že táto VHA formylácie vedie vždy iba ku vzniku 2-substituovaného pyrolu. Čo sa týka následnej Wittigovej reakcie, tá vyžadovala vysokú precíznosť a najmä inertné podmienky, nakoľko pyrol veľmi rýchlo samovoľne vplyvom svetla a tepla polymerizuje. Túto reakciu je taktiež možné označiť ako multigramovú reakciu. Piatou zo sérií reakcií bola formylácia účinkom $POCl_3$ a DMF do druhého stupňa. Predpokladali sme naviazanie druhej karbonylovej skupiny do ďalšej α polohy, avšak na základe NMR spektier sme zistili, že v konečnom dôsledku je preferovaná poloha C-β pyrolového jadra. Pokus o formyláciu účinkom $(COCl)_2$ a DMF do druhého stupňa nám poskytol neočakávaný a zaujímavý záver, a to že činidlo vznikajúce z oxalylchloridu a DMF stráca svoju schopnosť správať sa ako VHA činidlo a naopak sa správa ako chloračné činidlo [10]. Vplyvom elektrónových efektov na pyrolovom jadre prebieha naviazanie chlóru do C-β polohy pyrolového jadra. Tak ako je spomínané vyššie, štruktúra všetkých derivátov bola potvrdená pomocou NMR spektroskopie a následným vyriešením vodíkových spektier.

Poďakovanie

Prezentovaná práca bola realizovaná v rámci projektov:

-VEGA 2/0055/21: Štúdium π-konj. derivátov tioféna vhodných ako organické polovodiče.

-VEGA 1/0086/21: Nové zlúčeniny s využiteľnými magnetickými a optoelektronickými vlastnosťami.

ktorým za financovanie časti výskumu ďakujeme.

Poďakovanie taktiež patrí mojej školiteľke RNDr. Zite Tokárovej, PhD. za cenné rady a vedenie pri vypracovávaní tejto práce a konzultantke Mgr. Marcele Gašparovej za pomoc pri realizácii experimentov.

Použitá literatúra

[1] SHIRAKAWA, H. et al. 1977. Synthesis of electrically conducting organic polymers: halogen derivatives of polyacetylene, $(CH)_x$. *In: Journal of the Chemical*

Society, Chemical Communications, no. 16, pp. 578-580, ISSN 0022-4936

[2] ČÍK, G. et al. 2015. Ferromagnetism in poly(N-perfluorophenylpyrrole). In: *Journal of Magnetism and Magnetic Materials,* vol. 391, pp. 116-121, ISSN 0304-8853

[3] VARGOVÁ, K. et al. 2007. Intermolecular and intramolecular coupling in charged monosubstituted hexapyrrolylbenzenes. In: *Electrochimica Acta*, vol. 52, pp. 7885-7894, ISSN 0013-4686

[4] PURSER, S. et al. 2008. Fluorine in medicinal chemistry. In: *Chemical Society Rewiews*, vol. 37, no. 2, pp 320-330, ISSN 1460-4744

[5] CARTWRIGHT, D. Recent Developments in Fluorine-containing Agrochemicals, 237, In: Organofluorine Chemistry, Principles and Commercial Applications, Ed. R. E. Banks, B. E. Smart and J. C. Tatlow, Springer Sci New York (1994). ISBN 978-1-4899-1202-2

[6] HRNČARIKOVÁ, K., VÉGH, D. 2003. Synthesis and Reactivity of New 1-Pentafluorophenyl-*1H*pyrrole Derivatives. In: *Molecules,* vol. 8, no. 7, pp. 536-540, ISSN 1420-3049

[7] MIKHALEVA, I. A. et al. 2008. An efficient Route to 1-Vinylpyrrole-2-carbaldehydes. In: *Thieme synthesis,* vol. 4, pp. 587-590, ISSN 0939-2661

[8] BALME, G. 2004. Pyrrole synthesis by multicomponent coupling reactions. In: *Angewandte Chemie*, vol. 43, no. 46. pp-6238-6241. ISSN 1433-7851

[9] MARTYNOVSKAYA, S. V. et al. 2020. Expedient synthesis of a new class of organic building blocks: N-allenylpyrrole-2-carbaldehydes, In: *Tetrahedron letters*, vol. 61, no. 52, ISSN 0040-4039

[10] MOHAMMADKHANI, L. et al. 2019. Oxalyl Chloride: A Versatile Reagent inOrganic Transformations. In: *Chemistry Select,* vol. 4, no. 20, pp. 6309-6337, ISSN 2365-6549

Štúdium mechanizmu Guerbetovej reakcie ako jednej z ciest valorizácie biomasy

The mechanistic study of the Guerbet reaction as one of the ways of biomass valorization

Barbora Mekelová [1]
Školiteľ: Miroslav Medveď[2]
[1,2]Katedra chémie FPV UMB, Tajovského 40, 974 01 Banská Bystrica,
[1]bmekelova@student.umb.sk, [2]miroslav.medved@umb.sk

Abstrakt

Alternatívne spôsoby získavania energie priťahujú vďaka energetickej a klimatickej kríze stále väčšiu pozornosť. Vďaka svojím vlastnostiam predstavuje n-butanol zaujímavú možnosť efektívneho využívania energie z biomasy. Sú známe biologické a chemické spôsoby jeho prípravy. Jedným z chemických spôsobov je transformácia etanolu na n-butanol pomocou Guerbetovej reakcie. Tento proces je však náročný na realizáciu, nakoľko jednotlivé kroky predstavujú rôzne typy reakcií. Prvým krokom je oxidácia etanolu, ďalej nasleduje kondenzácia medziproduktov, a tie je potrebné na záver zredukovať. Z toho vyplýva potreba rôznych reakčných podmienok pre jednotlivé kroky reakcie, ako aj katalyzátorov. Nájdenie univerzálneho katalyzátora pre celú reakciu je veľkou výzvou. Dôležitým predpokladom takého dizajnu je pochopenie reakčného mechanizmu Guerbetovej reakcie bez prítomnosti katalyzátorov, čomu sme sa pomocou metód výpočtovej chémie venovali aj v tejto práci.

Kľúčové slová: Guerbetova reakcia, etanol, butanol, termodynamické aspekty, teória funkcionálu hustoty

Úvod

Energetická a klimatická kríza stále viac poháňa ľudstvo k hľadaniu nových obnoviteľných zdrojov energie. Tradičné spôsoby získavania energie spaľovaním dreva, uhlia a ropy sú zatlačované do úzadia. Jedným z dôvodov je stále väčší tlak na znižovanie emisií CO_2, ktorého sú hlavnými producentmi. Zároveň sa zdroje ropy a zemného plynu postupne vyčerpávajú. Slnko, vietor a voda sú síce environmentálne prijateľnejšie zdroje, no zatiaľ z nich nedokážeme získať dostatok energie na zabezpečenie súčasnej spotreby energie. Tieto skutočnosti nás nútia zamerať svoju pozornosť na vývoj alternatívnych metód, ktoré by boli ekonomicky nenáročné, nezaťažovali životné prostredie a produkovali pritom dostatočné množstvo energie.

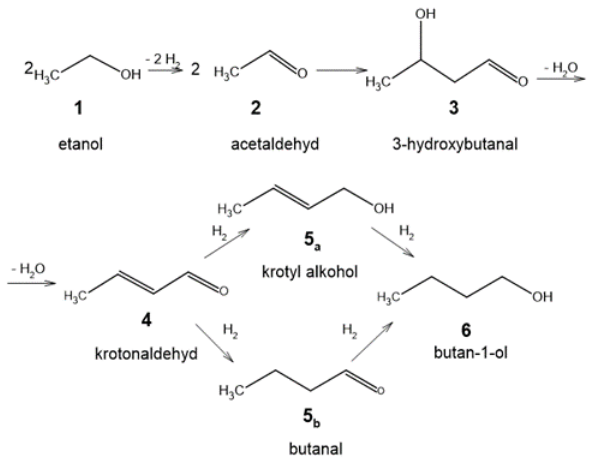
Jednou z energeticky zaujímavých alternatív je vývoj biotechnologickej produkcie bután-1-olu z biomasy. Bután-1-ol (n-butanol), C_4H_9OH je alifatický alkohol, ktorý je nehygroskopický, nekorozívny, s celkovo nízkou toxicitou[1], vďaka čomu sa jeho zloženie dlhodobo nemení. Ďalšou z jeho výhod je úplná kompatibilita s benzínovými motormi. Jeho energetická hustota predstavuje približne 86% energetickej hustoty benzínu, a teda by sa perspektívne mohol využívať ako biopalivo [1].

Biologickou cestou sa dá n-butanol pripraviť fermentáciou pomocou rôznych kmeňov baktérií. Napríklad kmeň TG57 baktérie *Thermoanaerobacterium thermosaccharolyticum* produkuje n-butanol kvasením celulózy [2], alebo pomocou Weizmannovho procesu, kde baktérie *Clostridium acetobutylicum* vytvárajú fermentáciou kukurice acetón a n-butanol [3]. Tento spôsob poskytuje výťažok približne 16 %, nakoľko vyššia koncentrácia je pre baktérie toxická, ale existujú existujú štúdie zamerané na zväčšovanie výťažku genetickou modifikáciou týchto baktérií [3,4].

Bután-1-ol sa dá pripraviť aj chemicky, napríklad kondenzačnou reakciou z etanolu. Je to ekonomicky aj environmentálne zaujímavý proces, keďže etanol je pomerne ľahko získateľná surovina z biomasy s minimálnou záťažou životného prostredia. Etanol sa tiež používa ako biopalivo [5], avšak oxidáciou n-butanolu možno získať oveľa väčšie množstvo energie.

Chemických spôsobov výroby bután-1-olu z etanolu je viacero. Jednou z možností je hydroformylácia propylénu na butyraldehyd katalyzovaná kobaltom/ródiom a následná hydrogenácia tohto aldehydu na 1-butanol niklom za 95% výťažku [1]. Tento proces je však ekonomicky aj energeticky náročný.

Alternatívnou cestou prípravy n-butanolu je Guerbetova reakcia. Vynašiel ju Marcel Guerbet v roku 1899, ktorý pripravil kondenzáciou butan-1-olu zlúčeninu 2-etylhexán-1-ol. Táto reakcia je z hľadiska produkcie biopalív zaujímavá práve preto, že ju vieme použiť na konverziu dvoch molekúl etanolu na butanol. Guerbetova reakcia pozostáva z viacerých krokov (obr. 1). Najprv sa molekuly etanolu dehydratujú za vzniku molekúl acetaldehydu, ktorý následne podlieha aldolovej kondenzácii a redukciou medziproduktov vzniká výsledný produkt, bután-1-ol (obr. 1) [5]. Tento postup však zďaleka nie je ideálny, nakoľko už prvý krok reakcie je výrazne endotermický.



Obr. 1: Guerbetova reakcia prípravy bután-1-olu z etanolu (upravený obrázok z práce [5]).

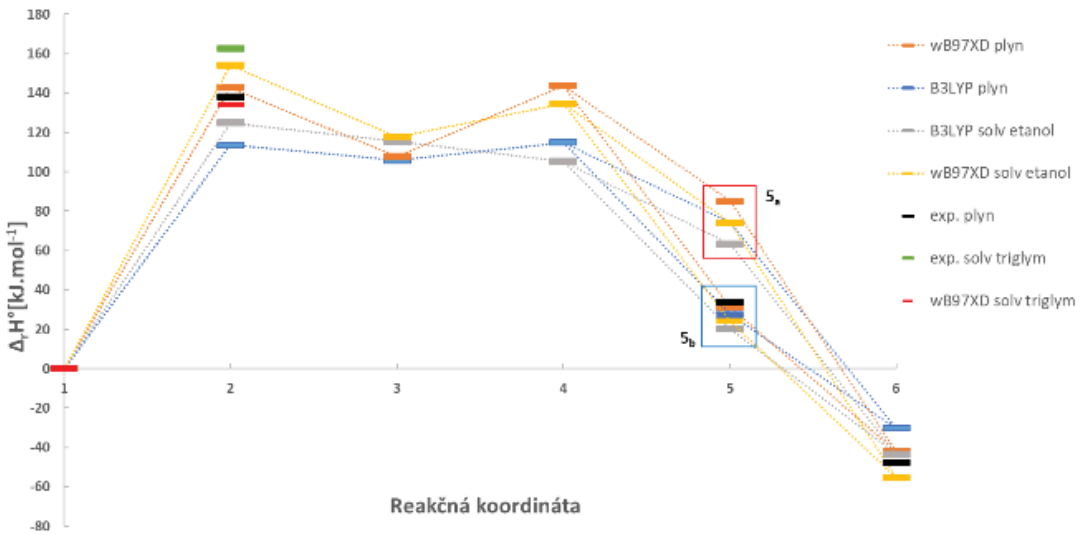
V tejto práci sa zaoberáme štúdiom mechanizmu Guerbetovej reakcie transformácie etanolu na bután-1-ol. Pri výpočtoch sme vychádzali zo štúdie [5], ktorá sa zaoberala (okrem iného) zmenami entalpie v priebehu Guerbetovej reakcie. V uvedenej štúdii boli vypočítané hodnoty reakčnej entalpie len pre niektoré kroky, konkrétne pre aldolizáciu acetaldehydu na 3-hydroxybutanal pomocou teórie funkcionálu hustoty (angl. density functional theory, DFT) [9] na úrovni B3LYP/6-311+G(2d,p) [6,7,8] z dôvodu nedostatku experimentálnych údajov pre aldolový produkt. V práci nebolo uvedené, či bol pri výpočtoch zahrnutý vplyv rozpúšťadla. Pokiaľ je nám známe, neexistuje žiadna štúdia zaoberajúca sa termodynamickými výpočtami všetkých krokov Guerbetovej reakcie. Z tohto dôvodu sme sa rozhodli preskúmať termodynamické aspekty tejto reakcie.

1 Metódy

Jednotlivé reakčné kroky (obr. 1) boli analyzované pomocou DFT výpočtov s použitím výmenno-korelačných funkcionálov B3LYP [10] a ωB97X-D [11], v kombinácii s atómovou bázou 6-311+G(2d,p) [6,7,8]. Štruktúry reaktantov a (medzi)produktov v základnom stave boli optimalizované na uvedenej úrovni. Následne bola vykonaná frekvenčná analýza, kde nebola pozorovaná žiadna imaginárna frekvencia. Na základe tejto analýzy sme získali termodynamické charakteristiky jednotlivých látok a vypočítali reakčné entalpie, entropie a Gibbsove energie pre jednotlivé reakčné kroky. Výpočty sme uskutočnili pre reakciu v plynnej fáze aj rozpúšťadlách (etanol a 2,5,8,11-tetraoxadodekán (triglym)). Vplyv rozpúšťadla bol zahrnutý aplikáciou univerzálneho modelu solvatácie kontinua založeného na hustote elektrónov rozpustenej látky (SMD) [12]. Všetky výpočty boli vykonané pomocou programu Gaussian16 [13].

2 Výsledky a diskusia

Energeticky najnáročnejším krokom Guerbetovej reakcie je tvorba acetaldehydu (obr. 1, krok 1-2). Pre tento krok sme vypočítali reakčnú entalpiu $\Delta_r H°_{(1–2)}$ v rôznych podmienkach (obr. 2). Výsledky výpočtov ukázali, že ide o endotermický proces. Na základe experimentálnych údajov je reakčná entalpia premeny etanolu na acetaldehyd v plynnej fáze 69,1 kJ·mol^{-1} [14]. Hodnota získaná použitím metódy ωB97X-D (71,4 kJ·mol^{-1}) je pre plynnú fázu vo výbornej zhode s experimentálnou hodnotou (obr. 2), odchýlka predstavuje približne 3 %. V prípade použitia metódy B3LYP je to takmer 18 %, čo je pomerne veľká odchýlka. Nakoľko etanol je za normálnych podmienok kvapalná látka, uvažovali sme aj o reakcii prebiehajúcej v etanole. Rozdiel medzi hodnotami $\Delta_r H°_{(1–2)}$ použitím funkcionálov ωB97X-D a B3LYP v tomto prostredí bol okolo 18%. Väčšiu hodnotu sme získali pomocou ωB97X-D, konkrétne 77,6 kJ·mol^{-1}, čo je v dobrej zhode s experimentálna hodnotou pre túto reakciu v solvente triglym je $\Delta_r H°_{(1–2)}$ = 81,3 kJ·mol^{-1} [14]. Etanol je však polárnejšie rozpúšťadlo ako triglym, preto sme



Obr. 2: Zmeny štandardnej entalpie pre konverziu etanolu na bután-1-ol cez viackrokovú Guerbetovu reakciu podľa stechiometrie uvedenej na obr. 1.

uskutočnili výpočty aj pre reakciu v triglyme. Získaná hodnota $\Delta_r H°_{(1–2)}$ bola výrazne nižšia ako v etanole, dokonca bola nižšia ako pre plynnú fázu. Treba však podotknúť, že triglym nie je v databáze rozpúšťadiel v programe Gaussian16, a preto použité parametre získané z literatúry (ε_r = 7,63 [15], n = 1,4209 [16]) pre toto rozpúšťadlo nemusia byť postačujúce, pretože zohľadňujú len elektrostatické interakcie. Molekulová štruktúra triglymu pritom ponúka viacero možností tvorby vodíkových väzieb s reagujúcimi molekulami, ktoré v našom modeli neboli zahrnuté (parametre hydrogen bond acidity/basicity boli nulové). Rovnako boli zanedbané aj disperzné sily (molar volume= 0.0 cm^3.mol^{-1}), pričom môžu v prípade triglymu zohrávať významnú úlohu. Tieto skutočnosti môžu skresľovať hodnoty vypočítané pomocou implicitného modelu SMD.

Vzhľadom na nedostatok experimentálnych údajov pre aldolizáciu acetaldehydu na 3-hydroxybutanal nemôžeme porovnávať naše výsledky s experimentom. Teoretická hodnota reakčnej entalpie získaná pomocou DFT prístupu (B3LYP/6-311+G(2d,p)) je $\Delta_r H°_{(2–3)}$ = –36,6 kJ·mol^{-1} [5]. Na rovnakej úrovni v plynnej fáze sme výpočtom získali hodnotu -7,9 kJ·mol^{-1}, čo nesúhlasí s výsledkami uvedenej štúdie. Vzhľadom na nedostatočný opis použitej metodológie v práci [5] túto nezrovnalosť vysvetliť nevieme. Nami vypočítané hodnoty $\Delta_r H°_{(2–3)}$ sú pri použití rovnakých funkcionálov v plynnej fáze a etanole podobné, avšak použitím rôznych funkcionálov za rovnakých podmienok sa značne líšia (pozri tabuľka 1), čo poukazuje na značný vplyv funkcionálu na hodnoty $\Delta_r H°_{(2–3)}$. Celkovo je reakcia exotermická (obr. 2) a je spojená s veľkým poklesom entropie, $\Delta_r S°_{(2–3)}$ = -166 J·mol^{-1}·K^{-1}, pre ωB97X-D v etanole (tabuľka 2).

Tabuľka 1 : Hodnoty reakčných entalpií ($\Delta_r H°$) získané na úrovni ωB97X-D/6-311+G(2d,p) a B3LYP/6-311+G(2d,p) a experimentálne pre reakciu v plynnej fáze, etanole a triglyme. Zdroj:[14,15,16]

skupenstvo a funkcionál / $\Delta_r H°$ [Kj.mol^{-1}]		$\Delta_r H°_{(1-2)}$	$\Delta_r H°_{(2-3)}$	$\Delta_r H°_{(3-4)}$	$\Delta_r H°_{(4-5a)}$	$\Delta_r H°_{(4-5b)}$	$\Delta_r H°_{(5b-6)}$	$\Delta_r H°_{(5a-6)}$
plynná fáza	B3LYP	56.8	-7.8	9.1	-40.8	-87.3	-57.8	-104.4
	wB97XD	71.4	-35.0	36.1	-58.5	-112.5	-73.4	-127.4
SMD rozpúšťadlo (et)	B3LYP	62.5	-9.4	-10.2	-42.0	-85.0	-63.6	-106.6
	wB97XD	77.1	-36.3	16.9	-60.6	-110.6	-79.5	-129.5
SMD rozpúšťadlo (triglym)	wB97XD	67.1	x	x	x	x	x	x
experiment	rozpúšťadlo (triglym)	81.3	x	x	x	x	x	x
	plynná fáza	69.1	x	x	x	-104.2	-81.6	x
1 - etanol, 2 - acetaldehyd, 3 - (3-hydroxybutanal), 4 - krotonaldehyd, 5 - krotyl alkohol, 6 - butanal, 7 - butanol								

Tabuľka 2 : Hodnoty reakčných entalpií ($\Delta_r H°$), elektrónových energií (ΔE), entropií ($\Delta_r S°$) a Gibbsových energií ($\Delta_r G°$) získané metódou ωB97X-D/6-311+G (2d, p) pre reakciu v etanole.

krok	$\Delta_r H°$ [kJ.mol^{-1}]	$\Delta_r E°$ [kJ.mol^{-1}]	$\Delta_r S°$ [kJ.mol^{-1} K^{-1}]	$\Delta_r G°$ [kJ.mol^{-1}] pri T [K]					
				50	100	298.15	400	600	800
1-2	154.2	214.7	0.2444	142.0	129.7	81.3	56.4	7.6	-41.3
2-3	-36.3	-49.6	-0.1660	-28.0	-19.7	13.2	30.1	63.3	96.5
3-4	16.9	28.1	0.1429	9.7	2.6	-25.7	-40.3	-68.9	-97.4
4-5_a	-60.6	-89.6	-0.1175	-54.7	-48.8	-25.5	-13.6	10.0	33.5
4-5_b	-110.6	-138.3	-0.1132	-105.0	-99.3	-76.9	-65.3	-42.7	-20.1
5_a-6	-157.4	-129.5	-0.1180	-151.5	-145.6	-122.2	-110.2	-86.6	-63.0
5_b-6	-79.5	-108.8	-0.1224	-73.3	-67.2	-43.0	-30.5	-6.0	18.5

Krok 3-4 predstavuje dehydratáciu. Hodnoty $\Delta_r H°_{(3-4)}$ počítané v plynnej fáze, a pomocou ωB97X-D v etanole sú kladné, avšak pre reakciu v etanole počítanú pomocou B3LYP sme dostali zápornú $\Delta_r H°_{(3-4)}$. Nakoľko sme nenašli experimentálne informácie o $\Delta_r H°_{(3-4)}$, porovnávame naše výsledky s hodnotou nájdenou v citovanej práci, $\Delta_r H°_{(3-4)}$ = 19 kJ·mol^{-1} [5]. Porovnateľne menší rozdiel vypočítaných hodnôt rôznymi metódami sme zaznamenali v plynnej fáze. Dehydratácia 3-hydroxybutanalu na krotonaldehyd je na základe výpočtov pomocou ωB97X-D v etanole entropicky výhodná (tabuľka 2), $\Delta_r S°_{(3-4)}$ = 143 J·mol^{-1}·K^{-1}. Spontánnosť tejto reakcie je však značne ovplyvňovaná zmenou teploty (obr. 3). Efektívnu aldolovú kondenzáciu aldehydu na krotonaldehyd je možné realizovať pri teplote nižšej ako 100 °C [5].

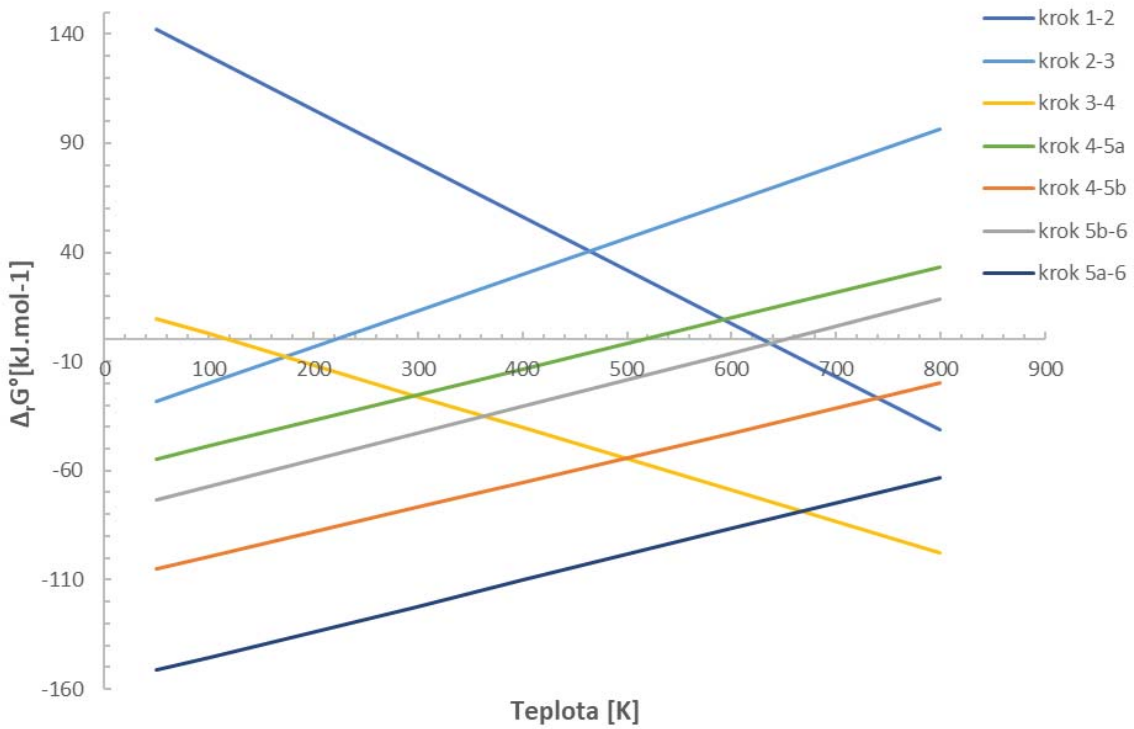
Hydrogenácia krotonaldehydu na bután-1-ol do prvého stupňa (krok 4-5) je vysoko exotermická, a môže prebiehať dvomi spôsobmi. Buď hydrogenáciou na krotylalkohol, krok 4-5_a (obr. 1), alebo hydrogenáciou na butanal, krok 4-5_b, a následne na bután-1-ol. Hodnota $\Delta_r H°_{(4–5b)}$ je približne dvojnásobne zápornejšia ako $\Delta_r H°_{(4–5a)}$, a preto je z hľadiska entalpie výhodnejšia. Vo vzťahu k entrópii je o niečo menej výhodná, $\Delta_r S°_{(4-5b)}$ = -113,2 J·mol^{-1}·K^{-1}, ako pre krok 4-5_a, $\Delta_r S°_{(4-5a)}$ = -117,5 J·mol^{-1}·K^{-1}. Naopak, pri hydrogenácii do druhého stupňa (krok 5-6) je hodnota $\Delta_r H°_{(5a - 6)}$ približne dvojnásobne väčšia ako pre krok 5_b-6. Entropicky výhodnejší je podľa očakávania teraz krok 5_b-6, a nie 5_a-6, nakoľko krok 4-5_a bol z hľadiska entropie výhodnejší. Gibbsova energia je výrazne zápornejšia pre krok 5_a-6, ako vidno na obr. 3. Vidíme, že ak pri hydrogenácii do prvého stupňa bola cesta cez medziprodukt **5a** termodynamicky výhodnejšia oproti ceste cez medziprodukt **5b**, v druhom kroku je to naopak, keďže obe cesty vedú k tomu istému produktu. Z termodynamického hľadiska sú preto oba procesy hydrogenácie kompetitívne.

Podľa grafického zobrazenia reakčných entalpií jednotlivých krokov reakcie (obr. 2) sú prvé tri kroky v plynnej fáze menej endotermické ako v solvente, naopak pre ďalšie tri kroky je prostredie solventu entalpicky výhodnejšie.

Na základe porovnania našich výsledkov s experimentálnymi údajmi pre kroky 1-2 v plynnej fáze a solvente, ako aj pre kroky 4-5b a 5b-6 v plynnej fáze môžeme vyvodiť záver, že metóda ωB97X-D poskytuje lepšie výsledky ako metóda B3LYP, preto sme finálnu analýzu výhodnosti jednotlivých krokov v etanole uskutočnili na úrovni ωB97X-D/6-311+G(2d,p).

Pre celkové posúdenie priaznivosti jednotlivých reakčných krokov musíme okrem entalpického príspevku zahrnúť aj príspevok entropie a teploty, od ktorých závisí reakčná Gibbsova energia určujúca priaznivosť, či nepriaznivosť deja. Vypočítané hodnoty $\Delta_r G°$ pre jednotlivé kroky reakcie v etanole sú uvedené v tabuľke 2. Hodnoty reakčnej entropie a reakčnej entalpie sme pri výpočte $\Delta_r G°$ pre rôzne teploty považovali za konštantné. Výpočty sme uskutočnili pre reakčné podmienky T = 298,15 K a p = 101 325 Pa.

Zo získaných údajov zobrazených na obr. 3 usudzujeme, že najviac priaznivým krokom pri izbovej teplote je hydrogenácia butanalu na butanol, teda krok 5_a-6. Najmenej priaznivým pri izbovej teplote je krok 1-2, a teda dehydrogenácia etanolu na acetaldehyd. Iba dva kroky zo šiestich sú na hodnotenom intervale teplôt endergonické, teda je zrejmé, že zvýšenie reakčnej teploty nie je úplným riešením. Pri premene etanolu na butanol v jednom zariadení sa preto krok 1-2 ukazuje ako najproblémovejší a robí celý proces veľmi náročným. Z našich výpočtov vyplýva, že pre priaznivý priebeh Guerbetovej reakcie je nevyhnutné meniť reakčné podmienky pre jednotlivé kroky, teda



Obr. 3: Zmeny Gibbsovej energie v závislosti od teploty pre kroky Guerbetovej reakcie v etanole (obr. 1).

uskutočniť reakciu sekvenčne. Druhou možnosťou je použitie katalyzátorov, ktoré by zastabilizovali rôzne medziprodukty reakcie, a teda pri priaznivo ovplyvnili priebeh reakcie. V literatúre často spomínanými sú napríklad MgO, CaO, Mg-Al-O, hydroxyapatit, zeolity , porézne zmiešané oxidy dopované Cu (Cu-PMO) a iné [1,17]. Preto by ďalším cieľom výskumu mali byť jednotlivé katalyzátory a ich vplyv na priebeh Guerbetovej reakcie etanolu na butanol.

Záver

Cieľom práce bolo teoretické štúdium mechanizmu Guerbetovej reakcie z termodynamického hľadiska. Priebeh reakcie sme skúmali pre plynnú fázu a rozpúšťadlá (etanol a 2,5,8,11-tetraoxadodekán (triglym)) pomocou metód výpočtovej chémie založených na teórii funkcionálu hustoty. Z metodologického hľadiska vychádza ako vhodnejšie použitie výmenno-korelačného funkcionálu ωB97X-D. Kvalitatívne sme potvrdili priebeh reakcie uvádzaný v práci [5], avšak narazili sme na isté nezrovnalosti. Z pohľadu vypočítaných hodnôt reakčných entalpií je prvý krok reakcie (oxidácia etanolu na acetaldehyd) najnáročnejší, mierne nevýhodný je krok 3-4. Na základe hodnôt reakčnej Gibbsovej energie predpokladáme, že by sa zvýšením teploty mal dať dosiahnuť priaznivý priebeh spomínaných reakcií. Tento spôsob je však nevýhodný pre ostatné kroky. Možným riešením tohto problému je použitie vhodného katalyzátora, ktorý by stabilizoval špecifické medziprodukty. K tomu bude nevyhnutné okrem termodynamických parametrov študovať aj kinetické aspekty jednotlivých reakčných krokov.

Poďakovanie

Písanie tejto práce bolo pre mňa osobnou výzvou, nakoľko som potrebovala porozumieť celkovej podstate témy a osvojiť si zručnosti a vedomosti potrebné k jej realizovaniu. Týmto by som sa chcela poďakovať môjmu školiteľovi, doc. Medveďovi, ktorý mi celý čas pomáhal a podporoval ma.

Použitá literatúra

[1] DE BRUYN, Mario - SUN, Zhuohua - BARTA, Katalin. *Catalysis in Biomass Conversion*. In FORD, Peter C. - VAN ELDIK, Rudi. Advances in Inorganic Chemistry. Elsevier Science, 2021. s. 59–98 ISBN 978-0-323-85338-5

[2] DVOŘÁK, Ondřej. 2021. *Kniha Chemie na talíři*. 1. vyd. Praha: Grada, 208 s. ISBN 978-80-271-2881-5

[3] NGUYEN, Ngoc-Phuong-Thao - RAYNAUD, Céline - MEYNIAL-SALLES, Isabelle - SOUCAILLE, Philippe. 2018. *Reviving the Weizmann process for commercial n-butanol production*. In Nature Communications, zv. 9, č. 1, s. 1-8. ISSN 2041-1723

[4] ATSUMI, Shota - CANN, Anthony F. - CONNOR, Michael R. - SHEN, Claire R. a kol. 2008. *Metabolic engineering of Escherichia coli for 1-butanol production*. In Metabolic Engineering zv. 10, č. 6, s. 305–311, ISSN 1096-7176

[5] EAGAN, Nathaniel M. - KUMBHALKAR, Mrunmayi D. - BUCHANAN, J. Scott - DUMESIC, James A. - HUBER, George W. 2019. *Chemistries and processes for the conversion of ethanol into middle-distillate fuels*. In Nature Reviews Chemistry, zv. 3, č. 4, s. 223–249, ISSN 2397-3358

[6] KOCH, Wolfram - HOLTHAUSEN, Max C. 2001. *A chemist's guide to density functional theory*. 2. vyd. Weinheim: Wiley-VCH, 300 s. ISBN 978-3-527-30422-6

[7] HAY, P. Jeffrey. 1977. *Gaussian basis sets for molecular calculations. The representation of 3* d *orbitals in transition-metal atoms*. In The Journal of Chemical Physics, zv. 66, č. 10, s. 4377–4384. ISSN 0021-9606

[8] WACHTERS, A.J.H. 1970. *Gaussian Basis Set for Molecular Wavefunctions Containing Third-Row Atoms*. In The Journal of Chemical Physics, zv. 52, č. 3, s. 1033–1036. ISSN 1089-7690

[9] KRISHNAN, R. - BINKLEY, J.S. - SEEGER, R. - POPLE, J.A. 1980. *Self-consistent molecular orbital methods. XX. A basis set for correlated wave functions*. In The Journal of Chemical Physics, zv. 72, č. 1, s. 650–654. ISSN 0021-9606

[10] BECKE, Axel D. 1993. *Density-functional thermochemistry. III. The role of exact exchange*. In The Journal of Chemical Physics, zv. 98, č. 7, s. 5648–5652. ISSN 0021-9606

[11] CHAI, Jeng-Da - HEAD-GORDON, Martin. 2008. *Long-range corrected hybrid density functionals with damped atom–atom dispersion corrections*. In Physical Chemistry Chemical Physics, zv. 10, č. 44, s. 6615. ISSN 1463-9076

[12] MARENICH, Aleksandr V. - CRAMER, Christopher J. - TRUHLAR, Donald G. 2009. *Universal Solvation Model Based on Solute Electron Density and on a Continuum Model of the Solvent Defined by the Bulk Dielectric Constant and Atomic Surface Tensions*. In The Journal of Physical Chemistry B, zv. 113, č. 18, s. 6378–6396, ISSN 1520-6106

[13] FRISCH, M. J.; et al. 2016. Gaussian 16, Revision C.01 Wallingford CT

[14] *Acetaldehyde*. [online]. National Institute of Standards and Technology, 2021. [cit. 02.03.2023]. Dostupné z: https://webbook.nist.gov/cgi/cbook.cgi?Name=acetaldehyde&Units=SI

[15] RIADIGOS, C.F. - IGLESIAS, R. - RIVAS, M.A. - IGLESIAS, T.P. 2011. *Permittivity and density of the systems (monoglyme, diglyme, triglyme, or tetraglyme+n-heptane) at several temperatures*. In The Journal of Chemical Thermodynamics, zv. 43, č. 3, s. 275–283. ISSN 0021-9614

[16] WALLACE, William J. - SHEPHARD, Charles S. - UNDERWOOD, Clarence. 1968. *Densities, refractive indexes, molar refractions, viscosities, and dielectric constants of triethylene glycol dimethyl ether-water solutions at 25.degree.* In Journal of Chemical & Engineering Data, zv. 13, č. 1, s. 11–13. ISSN 0021-9568

[17] *Butanol.* [online]. National Institute of Standards and Technology, 2021. [cit. 17.03.2023]. Dostupné z: https://webbook.nist.gov/cgi/cbook.cgi?Name=butanal&Units=SI&cTR=on

[18] *2-Butenal.* [online]. National Institute of Standards and Technology, 2021 [cit. 17.03.2023]. Dostupné z: https://webbook.nist.gov/cgi/cbook.cgi?ID=C4170303&Units=SI&Mask=8

[19] CHIEREGATO, Alessandro - VELASQUEZ OCHOA, Juliana - BANDINELLI, Claudia - FORNASARI, Giuseppe - CAVANI, Fabrizio - MELLA, Massimo. 2015. *On the chemistry of ethanol on basic oxides: revising mechanisms and intermediates in the Lebedev and Guerbet reactions*. In ChemSusChem, zv. 8, č. 2, s. 377–388 ISSN 1864-564X

Syntéza a biologická aktivita Schiffových báz odvodených od 4-aminoantipyrínu

Synthesis and biological activity of Schiff bases derived from 4-aminoantipyrine

Patrícia Švoliková[1]
Školiteľ: Jela Nociarová[2]
[1,2]Katedra chémie, FPV UMB, Tajovského 40, 974 01 Banská Bystrica
[1] psvolikova@student.umb.sk, [2]jela.nociarova@umb.sk

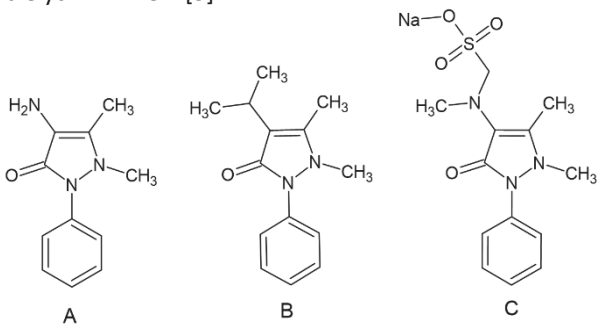
Abstrakt
Schiffove bázy sú organické látky, ktoré je možné jednoducho pripraviť kondenzáciou amínov s karbonylovými zlúčeninami. Často sa vyskytujú ako medziprodukty metabolických procesov v živých organizmoch, preto sú synteticky pripravené Schiffove bázy – a ich komplexy s katiónmi kovov – obvykle biologicky aktívne. Cieľom tejto práce je spracovať prehľad biologických účinkov Schiffových báz odvodených od 4-aminoantipyrínu (4-amino-1,5-dimetyl-2-fenylpyrazol-3-ónu, 4-AAP) a ich komplexov s iónmi kovov. Súčasťou práce je aj praktická časť venovaná príprave a charakterizácii Schiffovej bázy vzniknutej reakciou 4-AAP a benzotiazol-2-karbaldehydu.
Kľúčové slová: Schiffove bázy, 4-aminoantipyrín, benzotiazol, biologická aktivita

Abstract
Schiff bases are organic substances that can be easily prepared by condensing amines with carbonyl compounds. They often occur as intermediates of metabolic processes in living organisms, therefore synthetically prepared Schiff bases – and their complexes with metal cations – are usually biologically active. The aim of this work is to review the biological effects of Schiff bases derived from 4-aminoantipyrine (4-amino-1,5-dimethyl-2-phenylpyrazol-3-one, 4-AAP) and their complexes with metal ions. The work also includes a practical part devoted to the preparation and characterization of the Schiff base formed by the reaction of 4-AAP and benzothiazole-2-carbaldehyde.
Key Words: Schiff bases, 4-aminoantipyrine, benzothiazole, biological activity

Úvod

4-Aminoantipyrín je heterocyklická zlúčenina, ktorá má v 5-článkovom cykle 2 atómy dusíka a v štruktúre má amínovú skupinu a karbonylovú skupinu.[1] Jeho molárna hmotnosť je 203,24 g/mol a pri pomenovaní tejto zlúčeniny sa tiež môžeme stretnúť so synonymami ako AMPYRON, 4-aminofenazón alebo metapyrazón. [2]

Deriváty 4-AAP sa používajú ako nesteroidné protizápalové liečivá, nenarkotické analgetiká, liečivá na periférny nervový systém. V SR sú dostupné dve účinné látky s podobnou štruktúrou, a to *metamizol* (napr. pod obchodným názvom Novalgin alebo Quarelin) a *propyfenazón* (súčasť prípravku Algifen NEO) (obr. 1). Niektoré deriváty môžu pri dlhodobom užívaní vyvolať nežiaduce účinky, pretože znižujú počet bielych krviniek. [3]



Obr. 1 Štruktúrne vzorce 4-aminoantipyrínu (A), propyfenazónu (B) a metamizolu (C)
Zdroj: Patrícia Švoliková, Katedra chémie, FPV UMB

Schiffove bázy sú významné dusíkaté deriváty organických zlúčenín, ktoré majú schopnosť vytvárať komplexy s iónmi prechodných kovov. Vznikajú kondenzáciou amínov s rôznymi karbonylovými zlúčeninami. Schiffove bázy odvodené od 4-AAP majú veľké množstvo využití, či už je to oblasť biológie, medicíny alebo analytickej chémie.

V analytickej chémii sa často využívajú kolorimetrické techniky, pretože v porovnaní s inými metódami analytickej chémie (atómová absorpčná spektroskopia, hmotnostná spektroskopia, fluorescenčná spektroskopia, plynová a kvapalinová chromatografia) kolorimetrické techniky predstavujú

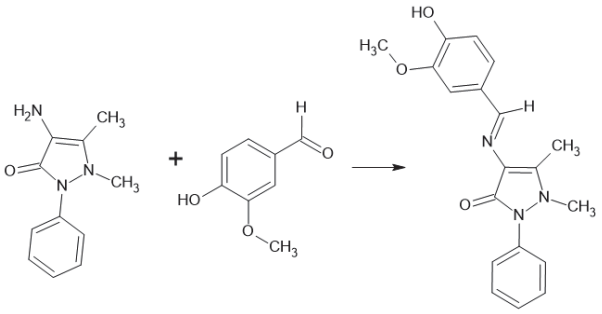
rýchle, inštrumentálne nenáročné, jednoducho uskutočniteľné a teda nízkonákladové metódy stanovenia analytov. Vďaka schopnosti derivátov 4-AAP vytvárať farebné komplexy s iónmi kovov je ľahké ich detegovať voľným okom. 4-AAP sa požíva aj na kolorimetrické stanovenie niektorých organických látok, napr. fenolov, ktoré sú prítomné v odpadových vodách a pesticídoch. [1] Viac o použití 4-AAP derivátov v analytickej chémii sa dá nájsť napr. v prácach 4, 5, 6. V ďalšom texte sa budeme venovať len biologickej aktivite takýchto derivátov.

1 Biologická aktivita derivátov 4-AAP

Za posledných 100 rokov bolo s cieľom skúmať biologickú aktivitu pripravených veľa rôznych derivátov 4-AAP s rôznymi biologickými účinkami. Jednou z vhodných vlastností derivátov tejto zlúčeniny je prítomnosť azometínovej funkčnej skupiny. Vlastnosti derivátov je možné ovplyvňovať zavedením ďalších elektrón-donorných alebo elektrón-akceptorných aromatických alebo alifatických funkčných skupín. Následkom týchto substitúcií sú napr. zvýšený dipólový moment, existencia rezonančných štruktúr, čo sa ďalej využíva pri navrhovaní farmakoforov a pri objavovaní nových liekov. [1]

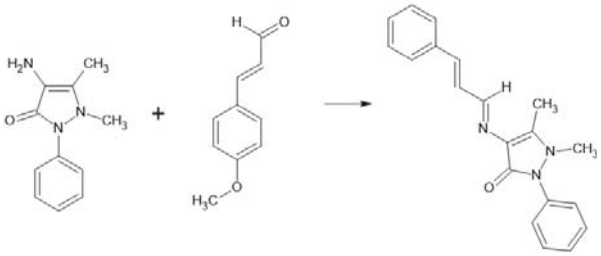
1.1 Antimikrobiálne vlastnosti

Schiffove bázy odvodené od 4-AAP a ich komplexy vykazujú antimikrobiálnu aktivitu. Kondenzáciou 4-AAP s vanilínom (obr. 2) a následnou komplexáciou vznikli komplexy Cu^{2+}, Ni^{2+}, Co^{2+} a Zn^{2+}. Tieto komplexy vykazovali antimikrobiálne účinky na baktériu *Escherichia Coli.*



Obr. 2 Schéma reakcie 4-AAP s vanilínom
Zdroj: Patrícia Švoliková, Katedra chémie, FPV UMB

Antimikrobiálne účinky na baktériu *Staphylococcus aurerus* má aj produkt reakcie 4-AAP s *p*-metoxycinnamaldehydom (aldehyd odvodený od kyseliny škoricovej) (obr. 3). Účinnosť takto vzniknutých derivátov bola porovnávaná s bežne používanými antibiotikami a zistilo sa, že tieto deriváty majú vyššiu antibakteriálnu schopnosť. [1]

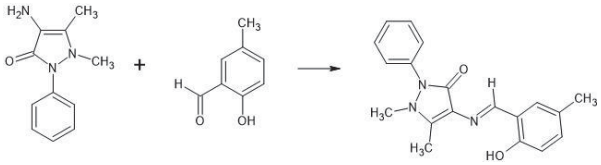


Obr. 3
Schéma reakcie 4-AAP s *p*-metoxycinnamaldehydom
Zdroj: Patrícia Švoliková, Katedra chémie, FPV UMB

1.2 Afinita 4-AAP derivátov k DNA

Je celosvetovo známe, že jednoduchá koordinačná zlúčenina *cis*-platina je prvá svojho druhu používaná ako chemoterapeutické činidlo pri liečbe onkologických ochorení. Takéto a podobné typy zlúčenín sú schopné viazať sa na DNA, zabrániť replikácii a nakoniec vyvolať apoptózu. Je veľa komplexov kovov, ktoré sú schopné viazať sa na DNA a poškodiť bunkovú stenu.

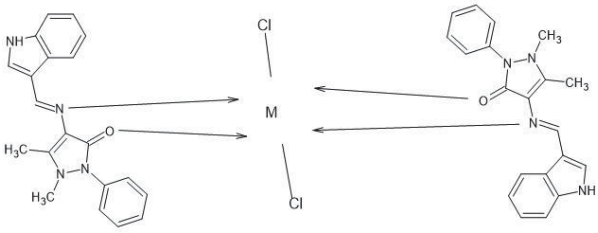
Podarilo sa syntetizovať komplexy medi obsahujúce 2 rôzne ligandy – derivát 4-AAP a 2,2-bipyridín/1,10-fenantrolín. [7] Spomínaný Cu(II) komplex obsahujúci derivát 4-AAP vytvorený kondenzáciou 4-AAP a 5-metylsalicylaldehydu (obr. 4) dobre interagoval s DNA. Tento komplex účinne štiepil DNA bez použitia akéhokoľvek externého činidla.



Obr. 4 Schéma reakcie 4-AAP s 5-metylsalicylaldehydom
Zdroj: Patrícia Švoliková, Katedra chémie, FPV UMB

Boli syntetizované aj komplexy Schiffových báz pripravených kondenzáciou 4-AAP a indol-3-karbaldehydu s katiónmi kovov: Cu^{2+}, Ni^{2+}, Co^{2+}, Zn^{2+} (obr. 5). Následne boli tieto nasyntetizované komplexy charakterizované a ich nukleázová aktivita bola testovaná proti CT-DNA (nádorová DNA cirkulujúca v krvnom obehu) v prítomnosti peroxidu vodíka pomocou gélovej elektroforézy. Zistilo sa, že

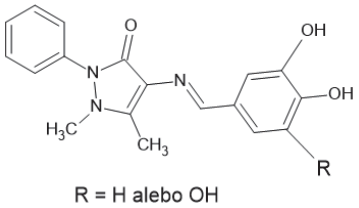
komplexy Ni^{2+}, Co^{2+} a Zn^{2+} účinne produkovali hydroxylový radikál a ten poškodil CT-DNA. [1]



Obr. 5 Štruktúra komplexov, ktoré vznikli reakciou 4-AAP s indol-3-karbaldehydom (písmenom M sú označené ióny kovov: Cu^{2+}, Ni^{2+}, Co^{2+}, Zn^{2+})
Zdroj: Patrícia Švoliková, Katedra chémie, FPV UMB

1.3 Antioxidačná a protizápalová aktivita

Mnohí výskumníci sa dnes zaoberajú vývojom nových liekov s viaccieľovou inhibičnou schopnosťou. Takúto aktivitu vykazovali aj niektoré Schiffove bázy a ich kovové komplexy. Napr. reakciou 4-AAP s hydroxy-substituovanými benzaldehydmi sa podarilo syntetizovať Schiffove bázy na obr. 6, ktoré vykazovali výborné antioxidačné vlastnosti. Výsledky sú porovnateľné s antioxidačnými vlastnosťami kyseliny askorbovej, ktorá sa používa ako štandard pri hodnotení týchto vlastností. Uvedený dihydroxyderivát má taktiež významnú úlohu pri liečbe zápalových ochorení. [1]

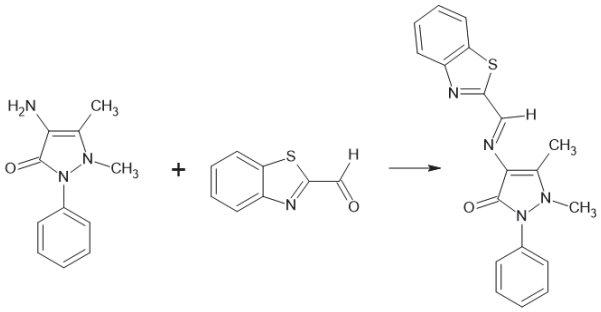


Obr. 6 Hydroxy-substituované deriváty s anti-oxidačnými účinkami
Zdroj: Patrícia Švoliková, Katedra chémie, FPV UMB

2 Experimentálna časť

Cieľom experimentálnej časti bolo pripraviť doteraz v literatúre nepopísanú Schiffovu bázu reakciou 4-AAP a benzotiazol-2-karbaldehydu (obr. 7). Produkt tejto reakcie sme charakterizovali pomocou analytických metód: ^{1}H a ^{13}C NMR spektroskopie, plynovej chromatografie s hmotnostnou detekciou a IČ spektrometrie.

2.1 Syntéza Schiffovej bázy



Obr. 7
Schéma reakcie 4-AAP s benzotiazol-2-karbaldehydom
Zdroj: Patrícia Švoliková, Katedra chémie, FPV UMB

Vo varnej banke sme zmiešali 0,2 g 4-AAP (0,984 mmol) a 0,160 g benzotiazol-2-karbaldehydu (0,984 mmol) s 15 ml bezvodého etanolu. Zabezpečili sme, aby syntéza prebiehala pod inertnou atmosférou argónu. Reakciu sme zahrievali na reflux po dobu cca 7 hodín za stáleho miešania na magnetickom miešadle v olejovom kúpeli. [8] Po 7 hodinách sme skontrolovali vznik produktu pomocou tenkovrstvovej chromatografie. TLC platničku sme vyvíjali s použitím eluentu so zložením hexán/etyl-acetát 4:1. Reakčnú zmes sme ochladili na laboratórnu teplotu a vykryštalizovanú tuhú látku sme izolovali filtráciou za zníženého tlaku. Produkt (m = 0,128 g, 36 %) sme na filtračnom papieri premyli bezvodým etanolom.

2.2 ^{1}H a ^{13}C NMR spektroskopia

Vzorka na meranie bola pripravená rozpustením cca 20 mg pripraveného produktu v 0,5 ml deuterovaného chloroformu. Spektrum bolo merané na NMR prístroji Varian NMR System 600 (pracovná frekvencia 600 MHz pre ^{1}H NMR a 151 MHz pre ^{13}C NMR meranie).

2.3 Plynová chromatografia s hmotnostnou detekciou (GC-MS)

Vzorka bola pripravená rozpustením 1,4 mg pripraveného produktu v 1 ml 96 % etanolu a homogenizovaná na vortexovom miešadle. Následne bolo spektrum merané na chromatografickom prístroji Agilent 7890B GC system.

2.4 Infračervená spektroskopia

Pri meraní IČ spektra vzorku pripraveného produktu nebolo potrebné predupraviť. Menšie množstvo produktu sme odobrali z banky a pritlačili na ATR povrch tak, aby bol medzi analytom a ATR materiálom

dokonalý kontakt. Spektrum bolo merané na IČ prístroji Nicolet iS50 s meracím rozsahom v strednej infračervenej oblasti (400-4000 cm^{-1}, 32 skenov s rozlíšením 4 cm^{-1}).

3 Výsledky a diskusia

Pri syntéze produktu sme vychádzali z postupu uvedeného v článku *Colorimetric detection of Cu^{2+} in aqueous solution and on the test kit by 4-aminoantipyrine derivatives* [8]. V tomto postupe reaguje 4-AAP s pyrol-2-karbaldehydom za vzniku Schiffovej bázy v 88 % výťažku. Tento postup sme aplikovali aj na naše východiskové látky. Keďže mnoho Schiffových báz je citlivých na vodu (a aj reakcia prípravy imínov je rovnovážna) celú reakciu sme uskutočnili v inertnej atmosfére v bezvodom etanole.

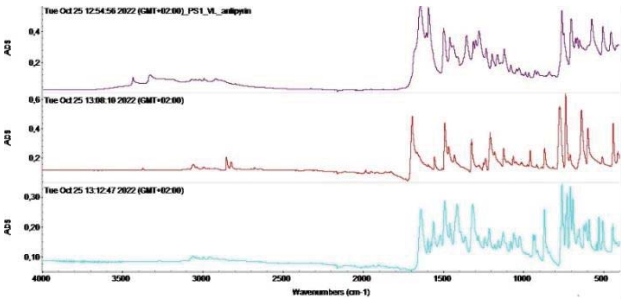
Po 7 hodinách sme z reakčnej zmesi odobrali vzorku a uskutočnili TLC chromatografiu s použitím oboch východiskových látok ako štandardov. V reakčnej zmesi sme pozorovali iba jednu zložku, ktorej Rf hodnota (Rf = 0,152) sa líšila od Rf hodnoty pre 4-AAP (Rf = 0,065) a benzotiazol-2-karbaldehyd (Rf = 0,217), čo indikovalo vznik produktu. Ten sme následne po ochladení reakčnej zmesi na laboratórnu teplotu izolovali filtráciou. Nová zlúčenina mala intenzívnu, žiarivo žltú farbu (m = 0,128 g).

Pripravenú látku sme ďalej charakterizovali analytickými metódami – plynovou chromatografiou s hmotnostnou detekciou (GC-MS), IČ spektroskopiou a ^{1}H a ^{13}C NMR spektroskopiou.

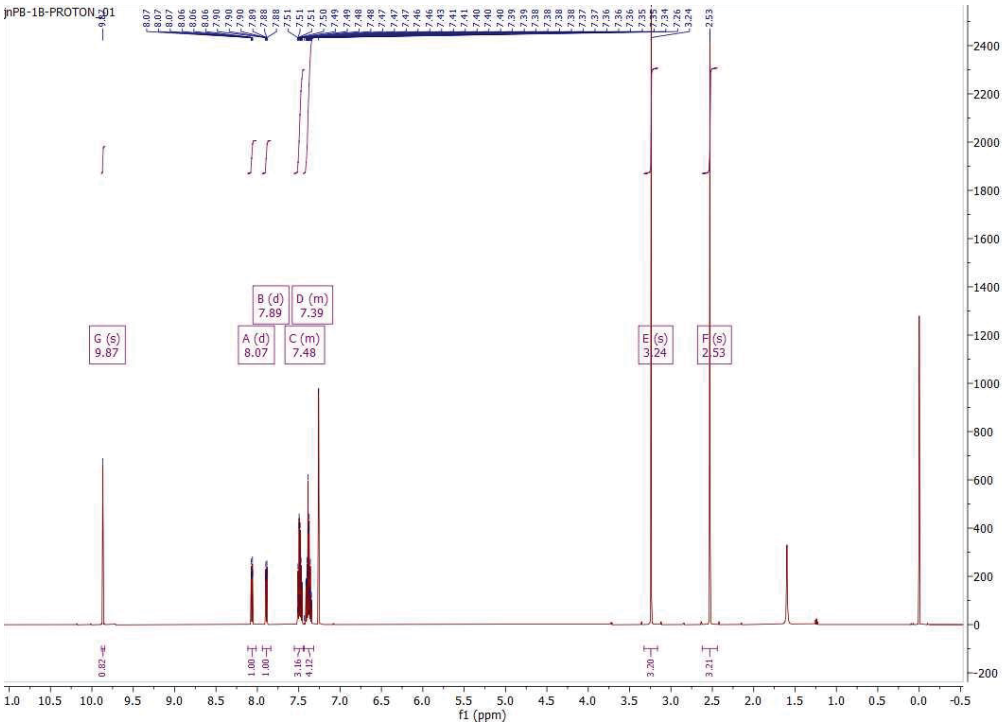
Pomocou GC-MS sme zistili, že molárna hmotnosť vzniknutého produktu je 348,1 g/mol (tento údaj súhlasí s očakávanou hodnotou). Retenčný čas analyzovanej látky bol 13,035 min. a celé meranie bolo uskutočnené za prítomnosti nosného plynu – hélia, pri prietoku 1 ml/min, pričom tlak na kolónu (30 m) bol 91,921 kPa. Teplota nástreku bola 280 °C a objem 0,2 µl. Infračervenou spektroskopiou sme potvrdili, že IČ spektrum vzniknutej látky sa líši od spektra reaktantov, čo indikuje úspešný priebeh reakcie (obr. 8).

Vznik produktu bol definitívne potvrdený na základe ^{1}H a ^{13}C NMR spektier. ^{1}H NMR spektrum (obr. 9) potvrdzuje, že zlúčenina má signály pre 16 atómov vodíka, čo sa zhoduje s očakávaným počtom atómov vodíka na základe predpokladanej štruktúry produktu. V ^{13}C NMR spektre (obr. 10) je podľa očakávania možné vidieť signály pre 17 neekvivalentných atómov uhlíka.

Na základe vyššie uvedených analytických metód je možné povedať, že syntéza prebehla úspešne a produktom je v literatúre doteraz nepopísaná Schiffova báza odvodená od 4-AAP obsahujúca benzotiazol.



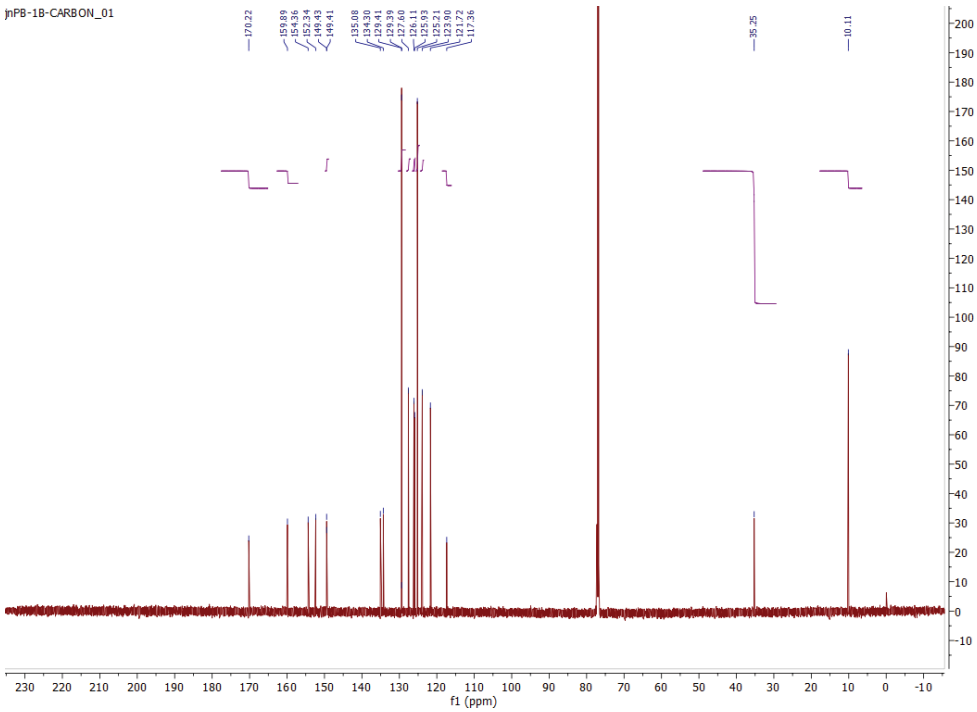
Obr. 8 IČ spektrum pre východiskové látky a produkt (hore: 4-AAP, v strede: benzotiazol-2-karbaldehyd, dolu: produkt)
Zdroj: Patrícia Švoliková, Katedra chémie, FPV UMB



Obr. 9 ^{1}H NMR spektrum

^{1}H NMR (600 MHz, Chloroform-*d*) δ 9.87 (s, 1H), 8.07 (d, *J* = 8.1, 0.8 Hz, 1H), 7.89 (d, *J* = 7.8, 0.9 Hz, 1H), 7.55 – 7.43 (m, 3H), 7.44 – 7.32 (m, 4H), 3.24 (s, 3H), 2.53 (s, 3H).

Zdroj: Kolektív NMR laboratória z Prírodovedeckej fakulty Univerzity Komenského v Bratislave



Obr. 10 ^{13}C NMR spektrum

^{13}C NMR (151 MHz, Chloroform-*d*) δ 170.22, 159.89, 154.36, 152.34, 149.42, 135.08, 134.30, 129.41, 127.60, 126.11, 125.93, 125.21, 123.90, 121.72, 117.36, 35.25, 10.11.

Zdroj: Kolektív NMR laboratória z Prírodovedeckej fakulty Univerzity Komenského v Bratislave

Záver

4-Aminoantipyrín je organická zlúčenina, ktorej deriváty majú mnoho možností využitia, či už je to z oblasti biológie, medicíny alebo analytickej chémie. V medicíne sa používa ako liečivo, najmä s analgetickými účinkami. Biológovia zistili, že môže vykazovať antimikrobiálne účinky – inhibovať rast mnohých baktérií. Analytici môžu pomocou 4-AAP dokazovať rôzne ióny, najmä kolorimetrickými technikami.

Reakciou 4-AAP a benzotiazol-2-karbaldehydu sme pripravili doteraz v literatúre nepopísanú Schiffovu bázu, ktorej štruktúru sme potvrdili ^{1}H a ^{13}C NMR spektrami, IČ spektrom a pomocou GC-MS sme zistili jej molárnu hmotnosť.

V ďalšej práci by sme sa chceli venovať syntéze iných Schiffových báz obsahujúcich 4-aminoantipyrínový skelet.

Poďakovanie

Chceli by sme sa veľmi pekne poďakovať PharmDr. Jiřímu Zapletalovi, za zmeranie molekulovej hmotnosti pomocou GS-MS a veľká vďaka patrí aj Kolektívu NMR laboratória z Prírodovedeckej fakulty Univerzity Komenského v Bratislave za zmeranie NMR spektier.

Použitá literatúra

[1] SAKTHIVEL, A., et al. 2020. Recent advances in Schiff base metal complexes derived from 4-aminoantipyrine derivatives and their potential applications. In Journal of Molecular Structure, vol. 1222, pp. 128885. ISSN 0022-2860

[2] PubChem Compound Summary for CID 2151, 4-Aminoantipyrine [online]. National Center for Biotechnology Information: 2005 [cit. 18.3.2023]. Dostupné z: https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/compound/4-Aminoantipyrine

[3] SANTOS, Pedro MP, et al. 2010. Scavenging activity of aminoantipyrines against hydroxyl radical. In European journal of medicinal chemistry, vol. 45, no.6, pp. 2258-2264. ISSN 0223-5234

[4] SOUFEENA, P. P.; ARAVINDAKSHAN, K. K. 2019. Antipyrine derived Schiff base: A colurimetric sensor for Fe (III) and "turn-on" fluorescent sensor for Al (III). In Journal of Luminescence, vol. 205, pp. 400-405. ISSN 0022-2313

[5] DEY, Sudipto, et al. 2019. An antipyrine based fluorescence "turn-on" dual sensor for Zn^{2+} and Al^{3+} and its selective fluorescence "turn-off" sensing towards 2, 4, 6-trinitrophenol (TNP) in the aggregated state. In Photochemical & Photobiological Sciences, vol. 18, pp. 2717-2729. ISSN 1474-9092

[6] CELESTINA, J. Jone; THARMARAJ, P.; SHEELA, C. D. 2020. Greener development of highly selective turn-on fluorogenic chemo sensor for Cd^{2+}-Cell imaging and test strips studies. In Optical Materials, vol. 109: 110176. ISSN 0925-3467

[7] ANUPAMA, Berelli, et al. 2017. Synthesis, spectral characterization, DNA/protein binding, DNA cleavage, cytotoxicity, antioxidative and molecular docking studies of Cu (II) complexes containing Schiff base-bpy/Phen ligands. In Journal of fluorescence, vol. 27, pp. 953-965. ISSN 1053-0509

[8] XIONG, Jing-Jing, et al. 2016. Colorimetric detection of Cu^{2+} in aqueous solution and on the test kit by 4-aminoantipyrine derivatives. In Sensors and Actuators B: Chemical, vol. 226, pp. 30-36. ISSN 0925-4005

Schiffove bázy – nové materiály pre optoelektronické aplikácie

Schiff Bases – new materials for optoelectronic applications

Pavlína Balková[1]
Školiteľ: Jela Nociarová[2]
[1,2]Katedra chémie, FPV UMB, Tajovského 40, 974 09 Banská Bystrica
[1]pbalkova@student.umb.sk, [2]jela.nociarova@umb.sk

Abstrakt

Schiffove bázy (imíny) sú vďaka ich relatívne jednoduchej syntéze, laditeľným optickým vlastnostiam a schopnosti tvoriť koordinačné zlúčeniny s veľkým množstvom iónov kovov v súčasnosti predmetom veľkého záujmu. Táto práca prináša stručný prehľad využitia Schiffových báz v materiálovej chémii a v optoelektronike, a to najmä ako farbivá pre svetlom senzibilizované solárne články (*dye-sensitized solar cells,* DSSC) a luminofory pre organické svetlo-emitujúce diódy (*organic light-emitting diode,* OLED). Experimentálna časť práce sa zaoberá syntézou Schiffovej bázy, ktorá vo svojej štruktúre obsahuje benzotiazol.

Kľúčové slová: Schiffove bázy, optoelektronika, materiálová chémia, organická syntéza.

Abstract

Due to their relatively simple synthesis, tunable properties and ability to form coordinating compounds with a large number of metals ions, Schiff bases (imines) are currently subject of great scientific interest. This paper provides a brief overview of the use of Schiff bases in material chemistry and optoelectronics, mainly as dyes for dye-sensitized solar cells (DSSC) and luminophores for organic light-emitting diodes (OLED). The experimental part of the paper describes the synthesis of the Schiff base containing benzothiazole structural motif.

Key words: Schiff bases, optoelectronics, material chemistry, organic synthesis

Úvod

Pojem Schiffove bázy zaviedol nemecký chemik Hugo Schiff, ktorý ako prvý v roku 1894 popísal vlastnosti produktov pripravených reakciou amínov a karbonylových zlúčenín [1]. V súčasnosti sa tieto zlúčeniny používajú v mnohých oblastiach, zahrňujúc medicínu, farmáciu (účinné látky niektorých liečiv), poľnohospodárstvo (ako prípravky na ochranu rastlín) a podobne. [2] Schiffove bázy tvoria významné medziprodukty pri syntéze nových biologicky aktívnych zlúčenín, taktiež v závislosti od ich štruktúry môžu mať antifungálne či antibakteriálne účinky a niektoré aj protirakovinovú aktivitu.

Syntéza Schiffových báz je pomerne jednoduchá, ide o nukleofilnú adíciu primárneho amínu na karbonylové zlúčeniny, nasledovanú elimináciou vody. V prípade, ak reagujú aldehydy, vznikajú azometíny nazývané aj aldimíny, v prípade ketónov ketimíny [2],[3]. Schiffove bázy majú vďaka prítomnosti voľných elektrónových párov vo svojej štruktúre aj schopnosť tvoriť komplexy s katiónmi kovov, vďaka čomu vedia nájsť uplatnenie v ďalších chemických odvetviach, napríklad ako chemosenzory pri stanovovaní obsahu kovov v rôznych analytoch [4].

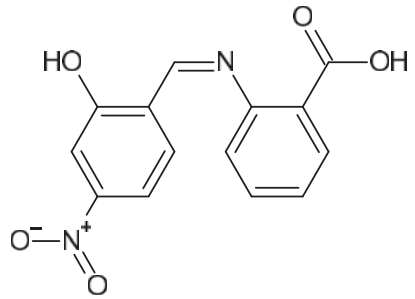
Mnohé Schiffove bázy sa používajú aj pri výrobe moderných elektronických zariadení, napr. sú aktívnymi komponentami solárnych článkov či OLED displejov. Keďže moderná doba kladie stále vyššie nároky na výkonnosť a kvalitu takýchto zariadení, a Schiffove bázy (a od nich odvodené komplexy) predstavujú zo syntetického hľadiska ľahko pripraviteľné molekuly s variabilnými vlastnosťami, rozhodli sme sa spracovať prehľad ich využitia v materiálovej chémii a optoelektronike. V experimentálnej časti sa venujeme príprave Schiffovej bázy odvodenej od benzotiazol-6-amínu s konjugovaným systémom násobných väzieb, ktorá môže byť použitá ako tridentátny ligand pre syntézu koordinačných zlúčenín.

1 Využitie Schiffových báz a ich komplexov v optoelektronike a v materiálovej chémii

Jednoduchosť prípravy imínov a ich koordinačných zlúčenín viedla k tomu, že je možné nájsť veľké množstvo prác o využití týchto látok pri výrobe moderných elektronických zariadení.

1.1 Schiffove bázy ako fotovoltické materiály

V súčasnej dobe je jednou z hlavných výziev potreba výroby lacnej a čistej energie z ľahko dostupných a obnoviteľných zdrojov. Snaha o výrobu energie viedla k pozoruhodným zisteniam, a to takým, že je možné premeniť fotóny slnečného žiarenia pomocou fotovoltických materiálov na elektrinu [5]. Odvetvie, ktoré sa venuje premene slnečného žiarenia na elektrinu jednosmerného prúdu sa nazýva fotovoltika. Najčastejšie používané solárne články sú na báze kremíka. Výhodou farbivom senzibilizovaných solárnych článkov (DSSC) je nižšia cena ich výroby a ľahšia manipulácia, keďže je možné ich vyrobiť aj napr. vo forme tenkej ľahko prenosnej fólie. Podmienkou pre využitie materiálov ako senzibilizátorov v svetlom senzibilizovaných solárnych článkoch je dobrá termo- a fotostabilita a schopnosť absorbovať žiarenie v širokej oblasti UV-VIS spektra. Účinnosť takýchto zariadení sa obvykle zvyšuje, pokiaľ je na Schiffovu bázu naviazaná nejaká polárna skupina. Tá je potrebná pre interakciu farbiva s oxidom titaničitým, ktorý je taktiež polárny a je integrálnou súčasťou v súčasnosti používaných solárnych článkov [6].



Obr. 1 Schiffova báza s nitroskupinou a fenylom

Za sľubné sa dajú považovať aj Schiffove bázy, ktoré vo svojej štruktúre obsahujú fenyl s nitroskupinou, napríklad zlúčenina zobrazená na **Obr. 1**. V takomto prípade dochádza k rýchlemu fotoindukovanému prenosu elektrónu z benzénového jadra na nitroskupinu, ktorý je výsledkom prekrývania medzi hladinami HOMO a LUMO.

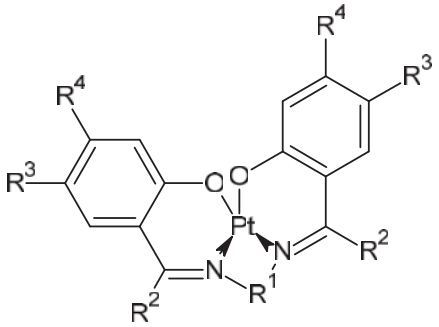
Jednoducho pripraviteľné Schiffove bázy teda predstavujú sľubné organické chromofóry, ktoré je možné použiť ako senzibilizátory pre svetlom senzibilizované solárne články [5].

1.2 Schiffove bázy ako luminofory pre OLED diódy

OLED diódy sú tvorené tenkou vrstvou organického materiálu, ktorý sa nachádza medzi dvomi elektródami (katódou a anódou), ktoré sú ponorené v pre nich vhodnom substráte.

Nakoľko Schiffove bázy vedia tvoriť koordinačné zlúčeniny s katiónmi prechodných kovov, kde vystupujú ako ligandy a sú donorom elektrónového páru, okrem voľných Schiffových báz sa pre výrobu OLED diód používajú aj ich komplexy, ktoré obvykle vykazujú intenzívnejšie luminiscenčné vlastnosti.

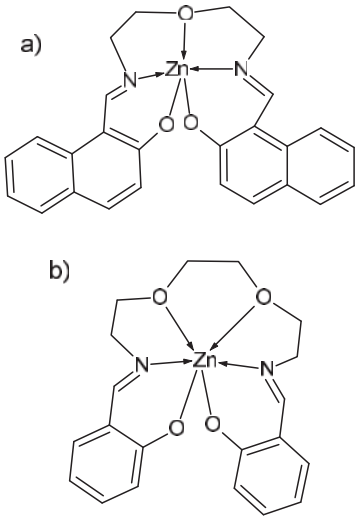
Komplexné zlúčeniny platiny v oxidačnom čísle II, uvedené na **Obr. 2**, sú veľmi dobre tepelne stabilné a vykazujú emisiu žiarenia vo vlnovej dĺžke v rozpätí od 541 – 649 nm (meranie bolo uskutočnené v acetonitrile). Z takýchto komplexov platiny boli vyrobené vysoko účinné organické elektroluminiscenčné diódy (teda OLED) s životnosťou až 77 000 hodín [7].



Obr. 2 Komplex Schiffovej bázy s platinou

Rovnako tak chelátové komplexy, ktoré sú schopné tvoriť Schiffove bázy, vzbudili veľkú pozornosť. Zinkové komplexy salicyladehydu zvyčajne vykazujú veľmi dobré luminiscenčné vlastnosti, spolu s vysokou tepelnou stabilitou, jednoduchou syntézou a silnými foto- a elektroluminiscenčnými vlastnosti. Pri hľadaní nových OLED zariadení bol použitý zinočnatý komplex Schiffovej bázy odvodenej od salicylaldehydu (*N,N'*-bis(2-hydroxy-1-naftylidén)-3-oxa-1,5-diaminopentán, **Obr. 3a**), ktorý mal dobré fotoluminiscenčné vlastnosti. Porovnal sa s novo nasyntetizovaným komplexom *N,N'*-bis(salicylidén)-3,6-dioxa-1,8-diaminooktánu (**Obr.**

3b), ktorý vykazoval vhodnejšie elektroluminiscenčné vlastnosti, čo autori vysvetľujú substitúciou naftylu za fenyl vedúcou k skráteniu π-konjugovaného systému násobných väzieb. Obe spomínané látky sú vhodné na výrobu OLED diód [8].

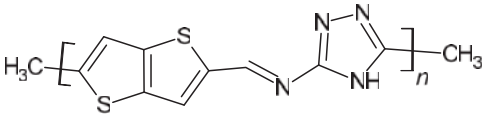


Obr. 3 Chelátové komplexy Schiffových báz so zinkom

1.3 Ďalšie aplikácie Schiffových báz

Konjugované polyméry sa bežne používajú na výrobu prvkov elektronických obvodov, ako sú napríklad fotoreceptory, fotodiódy, solárne články, dobíjacie batérie a podobne.

Preto pozornosť upútali aj polymérne Schiffove bázy, najmä bázy, ktoré obsahovali vo svojej štruktúre tiofén, príklad je na **Obr. 4**.

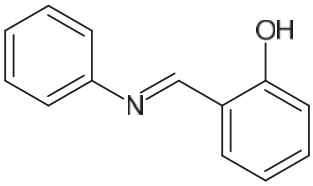


Obr. 4 Polymérna Schiffova báza

Tieto nové polyméry vykazujú vlastnosti polovodičových polymérov používaných napr. v tranzistoroch riadených elektrickým poľom (*organic field effect transistors, OFET*). V súlade s výsledkami novú poly-Schiffovu bázu je možné použiť ako polovodič pre organickú elektroluminiscenčnú diódu (OLED) a rovnako aj pre solárne články a pre tranzistory a LCD [9].

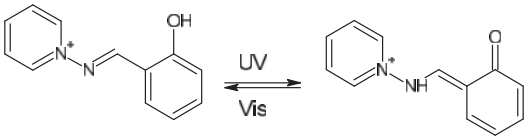
Významnú úlohu v priemyselných aplikáciách hrajú aj feroelektriká, čím sa označujú materiály s reverzibilnou polarizáciou v prítomnosti elektrického poľa. Od objavenia feroelektriny v Rochellovej soli (vínan sodno-draselný) v roku 1920, feroelektrické materiály preukázali aplikačný potenciál vo viacerých fyzikálnych a chemických odvetviach.

Fotochromizmus, ako optická vlastnosť, pri ktorej nastávajú zmeny v absorpčnom spektre po ožiarení látky svetlom, bola prvýkrát objavená v roku 1867. Fotochrómne materiály boli skúmané pre ich rozsiahle aplikácie v rôznych oblastiach, ako sú napríklad bezkontaktné senzory a vylepšené ukladanie dát a podobne. Feroelektriká a fotochrómne materiály dnes predstavujú dôležitú triedu multifunkčných materiálov. Počas fotoizomerizačného procesu, pri ktorom nastáva zmena štruktúry fotochrómneho materiálu, možno dosiahnuť opticky riadené prepínanie polarizácie pomocou fotochrómnych feroelektrík. Ako typický fotochrómny kryštalický materiál sa uvádza salicylidénanilín (**Obr. 5**), ktorý vykazuje feroelektrinu a fotoprepínateľnú polarizáciu.



Obr. 5 Salicylidénanlín

Postupne boli navrhnuté rôzne deriváty alkyl- a fluórsalicylidínanalínu, ktoré taktiež vykazovali opticky vyvolané prepínanie polarizácie. Príkladom fotochromizmu vyvolaného synergickým efektom prenosu protónov a geometrickou izomerizáciou sú deriváty Schiffových báz na **Obr. 6**. Farba sa zmenila po ožiarení svetlom vlnovej dĺžky 365 nm a opäť sa vrátila na pôvodnú farbu, pokiaľ bola táto Schiffova báza ožiarená svetlom s vlnovou dĺžkou 488 – 525 nm alebo bola Schiffova báza vystavená teplu.



Obr. 6 Geometrická izomerizácia derivátov Schiffových báz

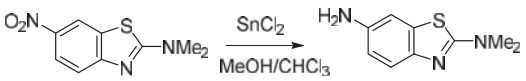
Merania preukázali, že hybridný organicko-anorganický materiál obsahujúci túto kladne nabitú Schiffovu bázu a fragmenty $[CdI_4]^{2-}$ je sľubný predstaviteľ fotochrómnych feroelektrických materiálov [10]. Ďalší výskum v tejto oblasti má potenciál viesť k materiálom so zaujímavými

optoelektronickými vlastnosťami pre široké spektrum aplikácií.

2 Experimentálna časť

Táto kapitola práce sa venuje syntéze Schiffovej bázy odvodenej od pyridín-2,6-dikarbaldehydu, ktorá má vo svojej štruktúre benzotiazol. Benzotiazol je obľúbeným štruktúrnym motívom mnohých látok využívaných v materiálovej chémii.

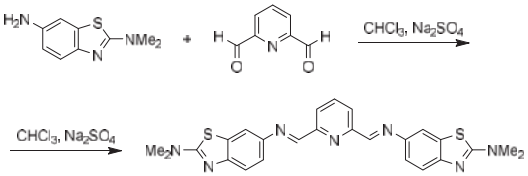
2.1 Syntéza N,N-dimetylbenzotiazol-2,6-diamínu



Obr. 7 Syntéza *N,N*-dimetylbenzotiazol-2,6-diamínu

K 1 ekvivalentu (0,4 g) *N,N*-dimetyl-6-nitrobenzotiazol-2-amínu sa navážili 3 ekvivalenty (1,21 g) dihydrátu chloridu cínatého. Zmes sa rozsuspendovala v 10 ml chloroformu a 5 ml metanolu. Zmes sa ohrievala v olejovom kúpeli pod spätným chladičom v inertnej atmosfére argónu na magnetickom miešadle. Priebeh reakcie sme kontrolovali pomocou tenkovrstvovej chromatografie (TLC), kde mobilnú fázu tvoril eluent zložený z hexánu a etyl-acetátu pripravený v pomere 4 : 1. Do reakčnej zmesi sme po 5 hodinách pridali ešte 1,21 g dihydrátu chloridu cínatého, 10 ml chloroformu a 5 ml metanolu. Výslednú zmes sme zahrievali ešte 3 hodiny a následne po ochladení sme zmes zalkalizovali s použitím 25 ml 4,33 M NaOH. Organickú fázu sme oddelili a vodnú fázu sme trikrát extrahovali s použitím 20 ml dichlórmetánu. Organickú fázu sme vysušili pomocou bezvodého síranu sodného a dichlórmetán sme odparili na rotačnej vákuovej odparke (RVO). Pripravili sme 0,28 g (81 %) *N,N*-dimetylbenzotiazol-2,6-diamínu vo forme žltej kryštalickej látky.

2.2 Syntéza finálnej Schiffovej bázy



Obr. 8: Schéma prípravy finálnej Schiffovej bázy

1 ekvivalent (0,28 g) *N,N*-dimetylbenzotiazol-2,6-diamínu a 0,5 ekvivalentu (0,0979 g) pyridín-2,6-dikarbaldehydu sa rozpustilo v 10 ml chloroformu. Pridalo sa 2,5 ekvivalentu (0,52 g) bezvodého síranu sodného, pričom sa zmes miešala 4 hod. Priebeh reakcie sme sledovali pomocou TLC s použitím eluentu, ktorý bol použitý aj pri prvej syntéze. Tuhý síran sodný sme po reakcii odstránili filtráciou a filtrát sme odparili dosucha pomocou RVO. Týmto postupom sme získali 0,21 g (60 %) oranžovej tuhej látky – finálneho produktu.

2.3 ^{1}H a ^{13}C NMR spektroskopia

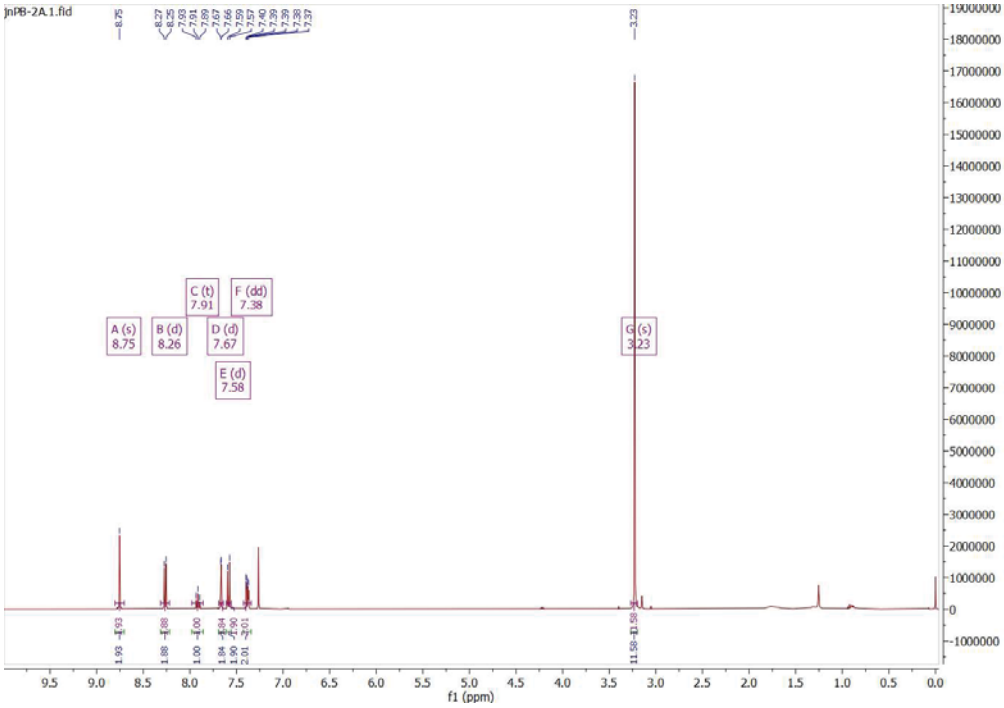
Vzorka na meranie ^{1}H a ^{13}C NMR bola pripravená rozpustením cca 20 mg pripraveného finálneho produktu v 0,5 ml deuterovaného chloroformu. Spektrum bolo merané na NMR prístroji Bruker Ascend ™ 400 (pracovná frekvencia 400 MHz pre ^{1}H NMR a 101 MHz pre ^{13}C NMR meranie).

3 Výsledky a diskusia

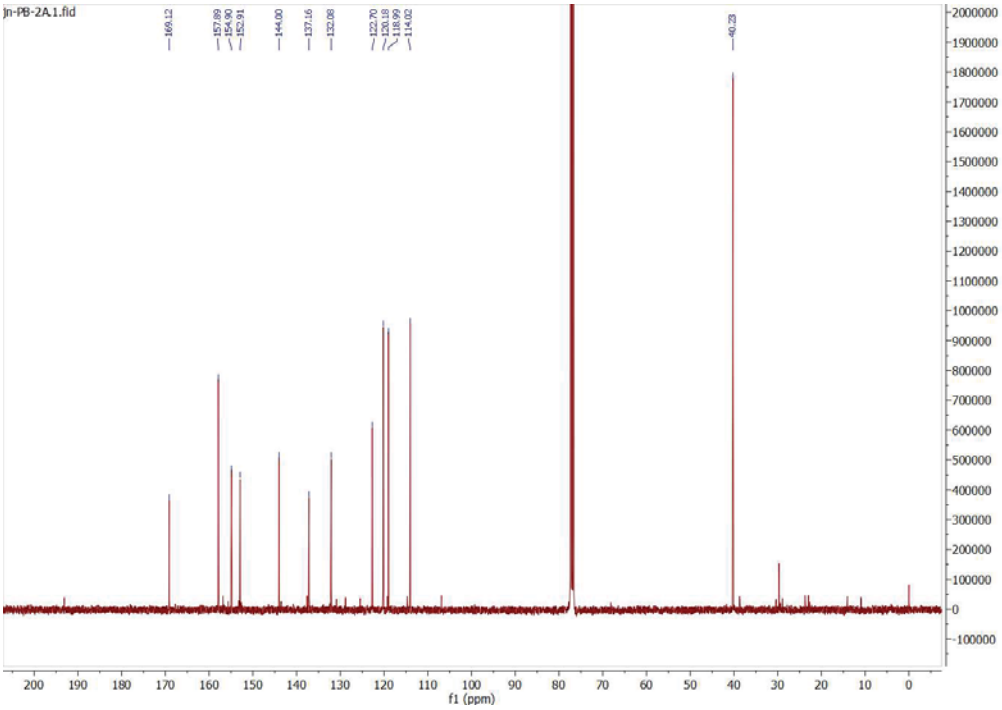
Postup na prípravu týchto látok bol prevzatý z literatúry [11]. Do reakcie sme po 5 hodinách pridali ešte 1,21 g dihydrátu chloridu cínatého, 10 ml chloroformu a 5 ml metanolu, nakoľko na TLC platničke sme pozorovali nezreagovanú východiskovú látku. Po pridaní východiskových látok do zmesi a následnom ohreve ďalšie 3 hodiny, sme už na TLC platničke nepozorovali východiskovú látku, a teda reakcia po pridaní dvojnásobného množstva dihydrátu chloridu cínatého prebehla úplne. V prvej syntéze sa nám podarilo pripraviť 0,28 g *N,N*-dimetylbenzotiazol-2,6-diamínu, čo predstavuje experimentálny výťažok 81 %. Výsledný *N,N*-dimetylbenzotiazol-2,6-diamín bol vo forme žltej kryštalickej látky.

V druhej syntéze sa nám podarilo pripraviť 0,21 g, čo predstavovalo 60 % výťažok. Výsledná látka bola vo forme oranžovej kryštalickej látky.

^{1}H a ^{13}C NMR spektroskopia preukázala dostatočnú čistotu produktu a súhlas s literatúrou, a tak by bolo možné pripravenú Schiffovu bázu použiť pri ďalších experimentoch.



Obr. 9 ^{1}H NMR spektrum pripravenej Schiffovej bázy:
^{1}H NMR (400 MHz, Chloroform-*d*) δ 8.75 (s, 2H), 8.26 (d, *J* = 7.7 Hz, 2H), 7.91 (t, *J* = 7.8 Hz, 1H), 7.67 (d, *J* = 2.1 Hz, 2H), 7.58 (d, *J* = 8.6 Hz, 2H), 7.38 (dd, *J* = 8.6, 2.2 Hz, 2H), 3.23 (s, 12H).



Obr. 10 ^{13}C NMR spektrum pripravenej Schiffovej bázy:
^{13}C NMR (100 MHz, Chloroform-*d*) δ 169,12; 157,89; 154,90; 152,91; 144,00; 137,16; 132,08; 122,70; 120,18; 118,99; 114,0; 40,23.

Záver

Schiffove bázy sa používajú v mnohých aplikáciách modernej materiálovej chémie, napr. ako konvertory svetelných/elektrických signálov v organických svetlo-emitujúcich diódach (OLED) a v svetlom senzibilizovaných solárnych článkoch (DSSC). Schiffove bázy sú aj potenciálne zdroje pre výrobu vodivých termoelektrických materiálov. Niektoré Schiffove bázy majú aj fotochrómne vlastnosti. V experimentálnej časti sa nám podarilo nasyntetizovať dostatočne čistú Schiffovu bázu, ktorá vo svojej štruktúre obsahuje benzotiazol. Do budúcna plánujeme preskúmať reakcie pripravenej zlúčeniny s rôznymi katiónmi kovových prvkov, čo by mohlo viesť k vzniku zlúčenín s luminiscenčnými vlastnosťami.

Použitá literatúra

[1] RACZUK, Edyta, et al. Different Schiff bases—Structure, importance and classification. *Molecules*, 2022, 27.3: 787.

[2] T. SUBASI, Nuriye Tuna. Overview of Schiff Bases. In: *Schiff Base in Organic, Inorganic and Physical Chemistry*. IntechOpen, 2022.

[3] YANG, Zhaoqi; SUN, Pinhua. Compare of three ways of synthesis of simple Schiff base. *Molbank*, 2006, 2006.6: M514.

[4] R. J. LUNDGREN and M. Stradiotto, „Ligand Design in Metal Chemistry, Reactivity and Catalysis“ vol. 1, 2016

[5] ABDEL-SHAKOUR, M., et al. Low-cost Schiff bases chromophores as efficient co-sensitizers for MH-13 in dye-sensitized solar cells. *Journal of Materials Science: Materials in Electronics*, 2019, 30: 5081-5091.

[6] JEEVADASON, A. Wesley; MURUGAVEL, K. Kalidasa; NEELAKANTAN, M. A. Review on Schiff bases and their metal complexes as organic photovoltaic materials. *Renewable and Sustainable Energy Reviews*, 2014, 36: 220-227.

[7] CHE, Chi-Ming, et al. Photophysical properties and OLED applications of phosphorescent platinum (II) Schiff base complexes. *Chemistry–A European Journal*, 2010, 16.1: 233-247.

[8] YU, Tianzhi, et al. Synthesis, crystal structure and electroluminescent properties of a Schiff base zinc complex. *Inorganica Chimica Acta*, 2006, 359.7: 2246-2251.

[9] CETIN, Adnan; KORKMAZ, Adem; KAYA, Esin. Synthesis, characterization and optical studies of conjugated Schiff base polymer containing thieno [3, 2-b] thiophene and 1, 2, 4-triazole groups. *Optical Materials*, 2018, 76: 75-80.

[10] LV, Hui-Peng, et al. A photochromic organic–inorganic hybrid schiff base metal halide ferroelectric. *Chemistry of Materials*, 2022, 34.4: 1737-1745.

[11] NOCIAROVÁ, Jela. 2022. S,N-Heteroaromatic ligands with intramolecular charge-transfer and their complexes for nonlinear optics : dizertačná práca. Bratislava : UK, 209 s.

Príspevok k zhodnoteniu kvality prírodných vôd v oblasti Mýta pod Ďumbierom

Contribution to evaluation of water quality from natural sources in area of Mýto pod Ďumbierom

Adam Hruška[1]
Školiteľ: Zuzana Melichová[2]
[1,2]Katedra chémie, FPV UMB, Tajovského 40, 974 01 Banská Bystrica
[1] adam.hruska@student.umb.sk, [2] zuzana.melichova@umb.sk

Abstrakt
Ťažké kovy vo vodách predstavujú obrovskú zdravotnú a environmentálnu hrozbu pre značnú časť sveta. Je preto nevyhnutné pravidelne monitorovať kvalitu vôd a prípadné nedostatky čo najrýchlejšie riešiť. Lokalita obce Mýto pod Ďumbierom môže byť ohrozená kontamináciou ťažkými kovmi spôsobenou geologickým podložím a bývalou banskou činnosťou, preto si vyžaduje výnimočnú pozornosť. V januári 2023 bolo z tejto lokality odobratých a analyzovaných 5 vzoriek vody zo zdrojov povrchovej a podpovrchovej vody. Vo vzorkách hneď po odbere bolo v laboratóriu stanovené pH a vodivosť. Následne boli vzorky okyslené a metódou ICP MS boli stanovené koncentrácie kovových prvkov. Výsledky analýzy boli porovnané s dostupnými údajmi a boli vyhodnotené na základe platnej slovenskej legislatívy.

Kľúčové slová: Mýto pod Ďumbierom, ťažké kovy, kvalita vody, ICP MS

Abstract
Heavy metals in water present enormous health and environmental hazard for substantial part of the world. Thus, it is necessary to regularly monitor quality of water and swiftly eliminate potential problems. The village Mýto pod Ďumbierom is susceptible to contamination of heavy metals due to its geological subsoil and mining activities that took place here in the past. The samples from sources of surface and subsurface water from area of interest were taken and analyzed in January 2023. We measured the values of pH and conductivity in laboratory. After that, the samples were acidified, and concentrations of metal elements were analyzed using ICP MS method. The results of analysis were compared with available data and evaluated according to the valid Slovak legislation.

Key words: Mýto pod Ďumbierom, heavy metals, quality of water, ICP MS

Úvod

Ťažké kovy predstavujú v mnohých oblastiach sveta veľmi závažný problém. Ich zvýšená koncentrácia je najčastejšie spojená s nevhodným spracovaním odpadových vôd, prostredníctvom ktorých kontaminujú zdroje pitnej vody. Jedná sa o komplexný problém, ktorý spôsobuje ročne zdravotné ťažkosti miliónom ľudí. Prístup k zdravotne nezávadnej vode nemá v súčasnosti takmer štvrtina svetovej populácie a tento problém sa v budúcnosti ešte prehĺbi [1].

Lokalita obce Mýto pod Ďumbierom bola v minulosti ekologicky skúšaná banskou činnosťou, hutníckym priemyslom, či výrubom dreva, čo sa mohlo prejaviť na životnom prostredí. V regióne Horehronia bolo zaznamenaných viacero prípadov kontaminácie pitných vôd ťažkými kovmi a to napríklad v obciach Pohronský Bukovec, Predajná, Nemecká, či Podbrezová. Nízke Tatry lákajú celoročne množstvo turistov a práve Mýto pod Ďumbierom je nimi veľmi vyhľadávané. Prípadná kontaminácia vody by mohla ovplyvniť nielen zdravie ľudí, ale aj príjmy spojené s turizmom.

Cieľom našej práce bolo posúdiť kvalitu povrchovej a podpovrchovej vody z hľadiska koncentrácie ťažkých kovov v oblasti doliny potoka Štiavnička. Koncentrácie sme stanovili experimentálne prostredníctvom metódy ICP MS, následne sme ich porovnali s dostupnými výsledkami analýz SHMÚ.

1 Ťažké kovy

Termín „ťažké kovy“ zahŕňa okrem kovov aj polokovy s pomerne vysokou hustotou (3,5 – 7 g/cm^3), ktoré sa vo zvýšenej koncentrácii vyznačujú nepriaznivým vplyvom na životné prostredie a človeka. Na tom, ktoré prvky patria medzi ťažké kovy a ktoré nie, sa názory rôznia, no vo všeobecnosti sa jedná o kovy a polokovy s väčším protónovým číslom ako 25 [1].

1.1 Vlastnosti a výskyt v životnom prostredí

Ťažké kovy vo vode možno charakterizovať koncentráciou, chemickou formou a biologickou dostupnosťou. Práve forma prvku je zásadná pri posudzovaní rizika spojenom s jeho expozíciou. Niektoré z týchto prvkov sú pre správne fungovanie metabolizmu organizmov esenciálne v stopových množstvách, no ich zvýšená koncentrácia predstavuje zdravotné riziko [1].

Tieto prvky sa bežne nachádzajú v zemskej kôre, odkiaľ sa vplyvom zvetrávania a prirodzených procesov dostávajú do podzemných vôd a následne na povrch. Okrem prirodzeného výskytu sa do životného prostredia uvoľňujú ťažké kovy hlavne vplyvom ľudskej činnosti. Nesprávna manipulácia s odpadom vedie k znečisteniu veľmi perzistentnými látkami, ktoré majú navyše tendenciu sa bioakumulovať v organizmoch, čím sa dostávajú hlbšie do potravového reťazca. Banská činnosť taktiež často vedie k znečisťovaniu povrchových a podpovrchových vôd narúšaním vrstiev hornín, alebo priamou ťažbou týchto kovov [2].

1.2 Toxicita vybraných ťažkých kovov

Toxicita niektorých ťažkých kovov je známa už tisícročia. Práve arzén je notoricky známy toxický prvok už od čias starovekého Ríma a počas histórie bol často využívaný ako jed. Akútna otrava arzénom vedie k bolestiam brucha, hnačkám, poruchám srdcového rytmu, dýchavičnosti, záchvatom, v najhoršom prípade až ku kóme a dokonca smrti. Dlhodobá expozícia spôsobuje kožné lézie, pretrvávajúce tráviace ťažkosti, malátnosť a môže viezť k poškodeniu obličiek a pečene, kde sa usádza. Novodobé výskumy preukazujú taktiež aj vysokú karcinogenitu a mutagenitu arzénu, hlavne anorganických zlúčenín v oxidačnom čísle (III) [3, 4].

Na rozdiel od arzénu, ortuť v organických formách je výrazne nebezpečnejšia ako v anorganických zlúčeninách kvôli zvýšenej permeabilite adipóznymi štruktúrami. Ľahšie preniká cez hematoencefalickú bariéru do mozgu, kde spôsobuje závažné poruchy centrálnej nervovej sústavy. Ďalšia stránka toxicity ortuti spočíva vo vysokej afinite k proteínom, čím narúša enzymatickú činnosť bunkových procesov a spôsobuje poškodenie rady orgánov. Dlhodobá expozícia ortuti spôsobuje bolesti hrudníka a žalúdka, hnačky, zvracanie, poškodenie obličiek a pečene, triašku, výpadky pamäte a zmeny nálad [3].

Podobne ako ortuť, olovo sa ľahko ukladá v živých organizmoch, konkrétne v kostiach, kde spôsobuje poruchy pohybového ústrojenstva, vývinové vady detí a plodu, taktiež zvyšuje riziko nádorových ochorení a poškodenia centrálnej nervovej sústavy. Viaže sa na proteíny, čím inhibuje bunkové procesy, poškodzuje pečeň a obličky, znižuje plodnosť a zvyšuje oxidatívny stres organizmu. Napriek tomu, že akútne intoxikácie sú vzácne, chronická expozícia je pomerne častá kvôli veľkej využiteľnosti olova v priemysle [5].

Kadmium, vzhľadom pre svoj relatívne vzácny výskyt, nepredstavuje vážnejší problém v našich oblastiach, no v juhozápadnej Ázii je jedným z hlavných príčin znečistenia riek odpadovými vodami. Nebezpečenstvo pravidelnej expozície Cd^{2+} iónmi spočíva v konkurovaní prísunu esenciálnych iónov (hlavne Ca^{2+} a Zn^{2+}), čím deprivuje bunky o látky nevyhnutné k správnemu fungovaniu. To má za následok bolesti, poruchy a ochorenia pohybového aparátu (ako napríklad osteoporóza). Okrem toho spôsobuje ochorenia obličiek, pečene, respiračného, kardiovaskulárneho a nervového systému. Preukázala sa taktiež značná karcinogenita kadmia. Podľa najnovších zistení je toxicita do značnej miery ovplyvnená aj pohlavím – muži sú schopní zbavovať sa kadmia efektívnejšie, čo spôsobuje vyššiu odolnosť voči jeho pôsobeniu [6].

Pri posudzovaní toxicity chrómu je dôležitým faktorom oxidačná forma, v ktorej sa nachádza. Kým je Cr^{3+} esenciálny pri metabolizácii glukózy a lipidov, Cr^{6+} je vysoko toxický. Hlavné riziko hexavalentného chrómu spočíva v jeho karcinogenite. Podľa miesta vstupu do tela spôsobuje rakovinové ochorenia dýchacieho a tráviaceho traktu, kože, pečene, obličiek aj kostí. Dlhodobé vystavenie vysokej koncentrácii Cr^{3+} taktiež môže viezť k zdravotným ťažkostiam, hlavne poškodeniam obličiek a pečene [7].

Antimón sa z toxikologického hľadiska dlhé roky prehliadal, avšak novodobé výskumy dokazujú značné zdravotné riziko spojené s týmto pomerne bežným prvkom. Podobné chemické vlastnosti Sb^{3+} a As^{3+} sa odzrkadľujú aj v ich toxicite. Hlavnou príčinou toxicity antimónu je vysoká afinita k tiolovým skupinám, s ktorými tvorí stabilné komplexy a tým deaktivuje proteíny. Obzvlášť náchylné sú glutatióny, ktorých nedostatok zvyšuje oxidatívny stres na organizmus. Taktiež sa preukázalo aj zvýšenie rizika vzniku nádorových ochorení vplyvom antimónu [8].

1.3 Metódy znižovania koncentrácie ťažkých kovov

Súčasný technologický pokrok umožnil spoľahlivé riešenia znižovania koncentrácie ťažkých kovov vo vodách za akýchkoľvek podmienok pomerne širokou škálou metód a postupov. Medzi najdostupnejšie patria: membránová filtrácia, ionová výmena, adsorpcia, zrážanie a koagulácia, reverzná osmóza, bioremediácia, fotokatalýza. Pri výbere vhodnej metódy je nutné brať do úvahy koncentráciu ťažkých kovov, objem a prietok znečistenej vody, jej využitie, okolité podmienky a cenovú dostupnosť metódy. Keďže sa jedná o biologicky nedegradovateľné látky, čoraz väčší dôraz sa kladie na ekológiu spracovania odpadu produkovaného remediáciou vody, s čím súvisí aj efektivita metódy a spotreba energie. Vzhľadom na to, že dostupnosť pitnej vody sa bude v blízkej budúcnosti znižovať, nové a efektívnejšie technológie úpravy vody sa neustále vyvíjajú [9].

2 Opis zvolených postupov a metód

2.1 Charakteristika oblasti

Obec Mýto pod Ďumbierom sa nachádza v okrese Brezno na južnom svahu strednej časti Nízkych Tatier. V jej okolí sa nachádza množstvo vrchov, z ktorých je najdominantnejším Ďumbier (2043 m n. m.) týčiaci sa severne od obce. V jeho blízkosti sa nachádzajú vrchy Veľký Gápel (1776 m n. m.) a Besná (1807 m n. m.). Severozápadne nad obcou sa skláňa vrch Stupka (936 m n. m.) a východne Šanské (850 m n. m.). Vrch Skalka (946 m n. m.) oddeľuje Brezno od obce z južnej strany. Mýto pod Ďumbierom susedí s viacerými katastrami obcí – na východe s Breznom, na juhu s Valaskou a na západe s obcou Bystrá [10].

Dominantným tokom doliny je potok Štiavnička, ktorý ústi pod vrchom Čertova svadba (1463 m n. m.). Pozdĺž svojho toku priberá množstvo prítokov, najvýznamnejšími z nich sú toky Oravcová, Kumštová, Trojica, Jasienok, Mlynná a Hviezdny potok. V obci Bystrá juhozápadne od Mýta pod Ďumbierom sa vlieva do potoka Bystrianka, ktorý sa stáva súčasťou Hrona v obci Podbrezová [11, 12].

Nízke Tatry patria do pásma jadrových pohorí. Základnou tektonickou jednotkou Ďumbierskych Tatier je tatrikum, nad ním ležia v tektonickej superpozícii príkrovové jednotky – spodnejšie fatrikuma vyššie hronikum. Tatrikum pozostáva z kryštalinika lemovaného mladopaleozoickým a mezozoickým autochtónnym obalom. Južná časť kryštálového jadra je budovaná prevažne metamorfovanými horninami, jedná sa hlavne ortoruly a migmatity s polohami amfibolitov a pararúl. Hrebeňové polohy a severnú časť oblasti budujú rôzne typy granitoidov, na ktoré sa viažu ložiská antimonitu a v menšej miere aj pyritu a arzenopyritu. Prevládajú biotitické tonality až granodiority ďumbierskeho typu, vyskytujú sa tu tiež menšie telesá leukokratných granitov a biotitické až dvojsľudové granity až granodiority. V mezozoickom obale obklopujúcom kryštalické jadro sú v záujmovom území zastúpené predovšetkým kremence, kremenné pieskovce, arkózové pieskovce a konglomeráty. V príkrovových sériách prevažujú gutensteinské vápence a ramsauské dolomity s hlavnými akcesórnymi minerálmi siderit a ankerit. Dolinou potoka Štiavnička sa tiahne Mýtňanský zlom, ktorého neogénna vulkanická aktivita mala za následok vznik pruhov hydrotermálnych kremencov a umožnila rudný výskyt vzácnych kovov [10, 11, 12].

Obec má za sebou bohatú banskú históriu siahajúcu až do obdobia stredoveku. Predpokladá sa, že už od 13. storočia sa v doline potoka Štiavnička získavalo zlato z aluviálnych sedimentov. Prvé záznamy o baníckej činnosti v oblasti sa datujú do 15. storočia, čo predchádza prvým oficiálnym zmienkam o obci z roku 1657. V tomto období zažívalo baníctvo v oblasti najväčší rozmach a hlavným predmetom záujmu bola meď, olovo, striebro a zlato. V 19. storočí sa prešlo k ťažbe železa (ruda sa ťažila v podobe sideritu a ankeritu), dokým nebola začiatkom 20. storočia banícka činnosť ukončená. Práve banská činnosť hutníctvo (excesívny výrub stromov spojený s výrobou dreveného uhlia) predstavovala najvyššiu environmentálnu záťaž regiónu [12, 13].

2.2 Odber vzoriek

Obder vzoriek sa uskutočnil v januári 2023 a celkovo sa odobralo 5 vzoriek vody v okolí obcí Mýto pod Ďumbierom a Jarabá. Mapa odberových miest je vyznačená na obrázku 1.

Odberové miesto 1 – studňa patriaca jednej z chát.

Odberové miesto 2 – prameň Dolná kyslá neďaleko Mýta pod Ďumbierom neďaleko hlavnej cesty.

Odberové miesto 3 – prítok potoka Štiavnička v blízkosti obce Jarabá, asi 300 metrov od ich sútoku.

Odberové miesto 4 – prameň Jarabá, asi 400 m za koncom rovnomennej obce.

Odberové miesto. 5 – potok Štiavnička, pár metrov nad sútokom potoka Mlynná.

Vzorky sa odoberali do vyčistených a prepláchnutých plastových fliaš.

2.3 Analýza vzoriek

V laboratóriu sme najprv stanovili hodnoty pH a vodivosti za laboratórnej teploty 25 °C. K tomu sme využili prístroje pH/ISE Meter Thermo Scientific Orion Star A214 na meranie pH a na meranie vodivosti prístroj Meter Toledo Five Easy. Na stanovenie koncentrácii kovových prvkov sme využili metódu ICP-MS a prístroj Agilent 7850 ICP MS. Analýzy boli vykonané v chemickom laboratóriu Stredoslovenskej vodárenskej prevádzkovej spoločnosti v Banskej Bystrici, ktorého laboratórium je akreditované na analýzu pitných, upravených a surových vôd. Metóda ICP MS je v štádiu prípravy na akreditáciu. V tabuľke 1 sú uvedené vybrané parametre prístroja a dodatočné informácie stanovenia.

Tabuľka 1 Vybrané prístrojové parametre

Metóda	ICP MS
Model prístroja	Agilent 7850 ICP-MS
RF výkon [W]	1550
prietok plynu nebulizátora (Ar) [l/min]	1.09
prietok plynu kolíznej cely (He) [ml/min]	4.3
teplota vstupujúceho aerosólu [°C]	2
teplota plazmy [°C]	7700

Princíp metódy spočíva v prvotnej ionizácii molekúl analytu vplyvom indukčne viazanej plazmy s teplotou až 10 000 K. Ako zdroj plazmy sa využíva argón, ktorý sa analýzou spotrebúva. Vzniknuté ióny putujú cez iónové šošovky, ktoré usmerňujú ich pohyb, do kolíznej komory, ktorá odstraňuje interferujúce ióny vzniknuté bočnými reakciami. Keďže hmotnostná spektrometria prebieha za vákua, tieto podmienky zabezpečuje súčinnosť niekoľkých vákuových púmp. Vychádzajúce ióny sú pripravené na analýzu, tá je realizovaná kvadrupólovým analyzátorom, ktorý rozdeľuje ión na základe pomeru hmotnosti a náboja. Rozdelené ióny dopadajú na povrch detektora, ktorého signál vyhodnocuje počítač [14].

Po odbere bolo nutné vzorky okysliť pridaním 0,5 ml koncentrovanej kyseliny dusičnej na 50 ml vzorky kvôli stabilizácii kovov. Výsledky boli analyzované metódou kalibračných kriviek, na ktoré sme použili jednoprvkové certifikované referenčné roztoky, z ktorých boli pripravené body kalibračnej krivky rôznych koncentrácii, správnosť meraní bola overená použitím matricového certifikovaného referenčného materiálu.

3 Výsledky a diskusia

Dôležitým parametrom pri hodnotení kvality vody je pH. Namerané hodnoty poukazujú na zvýšenú kyslosť podpovrchových vôd, čo je typické pre danú oblasť. Vodivosť korešponduje s obsahom rozpustených iónov, ktorých obsah je v pramenitých vodách vysoký. Tabuľka 2 uvádza namerané údaje.

Tabuľka 2 Namerané hodnoty pH a vodivosti

Vzorka	pH	vodivosť [µS/cm]
1	7.1	1515
2	6.2	973
3	7.64	151
4	5.97	1600
5	7.19	77.5

Analyzovali sme 4 vzorky vody z vybraných miest okolia obce Mýto pod Ďumbierom. Vzorku 1 odobranú zo studne sme sa rozhodli neanalyzovať kvôli chemickej úprave, ktorá by mohla výsledky ovplyvniť. Namerané hodnoty sú uvedené v prílohe v tabuľke 4. Analýzou sme zistili zvýšené koncentrácie železa, mangánu a sodíka vzhľadom na vyhlášku Ministerstva zdravotníctva SR č. 247/2017 Z. z., ktorou sa stanovujú podrobnosti o kvalite pitnej vody, kontrole kvality pitnej vody, programe monitorovania a manažmente rizík pri zásobovaní pitnou vodou [15], taktiež aj vyhlášku SR č. 269/2010 Z. z., ktorá ustanovuje požiadavky na dosiahnutie dobrého stavu vôd [16].

Tieto hodnoty sme porovnali s hodnotami nameranými Slovenským hydrometeorologickým ústavom (SHMÚ) (tabuľka 3) z posledného merania oblasti 24.11.2021. Podarilo sa nám namerať zvýšené koncentrácie železa a mangánu v podpovrchovej vode, ktoré presahujú medzné hodnoty pre pitnú vodu podľa vyhlášky Ministerstva zdravotníctva SR č. 247/2017 Z. z.. Tieto hodnoty však nie sú pre pramenité vody výnimočné a nepredstavujú zásadné zdravotné riziko. Môžeme predpokladať, že sa do podpovrchovej vody dostávajú z podložia tvoreného sideritom, ktorý je bohatý na železo. Mangán sa často nachádza vo vodách ako sprievodný prvok spolu so železom. Ďalšiu nezrovnalosť sme zaznamenali v prípade antimónu, pri ktorom nám vyšli rádovo nižšie koncentrácie v porovnaní so zverejnenými výsledkami SHMÚ.

Merania SHMÚ udávajú zvýšené koncentrácie antimónu v rámci dlhodobého monitoringu pohybujúce sa v rozmedzí 10 až 15 µg/l. Odberové miesto SHMÚ sa však nachádza v dolnej časti potoka Štiavnička, ktoré od nášho odberového miesta oddeľuje niekoľko bočných prítokov. Môžeme teda predpokladať, že antimón sa dostáva do potoka prostredníctvom jedného z týchto prítokov. Rovnako ako železo, aj antimón je geologického pôvodu a do vody sa vyplavuje z podložia tvoreného antimonitom.

Tabuľka 3 Porovnanie nameraných hodnôt s hodnotami stanovenými SHMÚ

Prvky	Jednotky	Koncentrácie stanovené SHMÚ dňa 21.4.2021	vzorka 2 MĎ prameň
B	µg/l	-	443
Na	mg/l	12.7	402
Mg	mg/l	5.8	18.4
Al	µg/l	<10	74.8
K	mg/l	0.8	19.7
Ca	mg/l	18.1	64.8
Cr	µg/l	<2	<1
Mn	µg/l	<1	1129
Fe	µg/l	<2	1201
Co	µg/l	-	<1
Ni	µg/l	<2	<1
Cu	µg/l	<2	<1
Zn	µg/l	<2	<2
As	µg/l	5.4	5.3
Se	µg/l	<1	<1
Mo	µg/l	-	<1
Cd	µg/l	<0.1	<0.1
Sn	µg/l	-	<0.1
Sb	µg/l	11.1	<1
Ba	µg/l	-	60.6
Pb	µg/l	<0.5	<1

Záver

Voda v okolí Mýta pod Ďumbierom je pravidelne monitorovaná a preukazuje zvýšené hodnoty niektorých ťažkých kovov. Pramenitá voda je vysoko mineralizovaná, no nepredstavuje zdravotné riziko aj napriek prekročeným hodnotám niektorých kovov. Táto voda sa využíva najmä ako úžitková, pretože obec pitnú vodu zabezpečuje vodovodom.

Je nutné stav kvality vody monitorovať, nakoľko v budúcnosti sa môže zhoršiť vzhľadom na geológiu podložia.

Poďakovanie

Rád by som poďakoval Ing. Andrei Krátkej z laboratória Stredoslovenskej vodárenskej prevádzkovej spoločnosti za poskytnutie prístrojového vybavenia a pomoci počas stanovenia, Mgr. Matejovi Šuránkovi za odborné poradenstvo a pomoc pri zostavovaní geologickej charakteristiky oblasti. V neposlednej rade ďakujem mojej školiteľke doc. RNDr. Zuzane Melichovej , PhD. za odbornú pomoc, užitočné rady a podporu, bez ktorej by tento článok nevznikol.

Použitá literatúra

[1] Sharma, S. K. 2014. *Heavy Metals In Water: Presence, Removal and Safety.* Royal Society of Chemistry: s. 1-7.

[2] Lesley, J. et al. 2019. *Removal of Heavy Metals from Water Sources in the Developing World Using Low-Cost Materials: A Review.* Chemosphere 229: s. 142–159.

[3] Graham, N. G. et al. 2008. *Chapter 5 Inorganic Molecular Toxicology and Chelation Therapy of Heavy Metals and Metalloids.* Advances in Molecular Toxicology, Elsevier: s. 123–152.

[4] Hughes, M. F. et al. 2011. *Arsenic Exposure and Toxicology: A Historical Perspective.* Toxicological Sciences 123(2): s. 305–332.

[5] Flora, G. et al. 2012. *Toxicity of Lead: A Review with Recent Updates.* Interdisciplinary Toxicology 5(2): s. 47–58.

[6] Thévenod, F., Wing-Kee L. 2013. *Toxicology of Cadmium and Its Damage to Mammalian Organs*. V Cadmium: From Toxicity to Essentiality, Metal Ions in Life Sciences. Dordrecht: Springer Netherlands, s. 415–490.

[7] DesMarias, T. L., Costa, M. 2019. *Mechanisms of Chromium-Induced Toxicity.* Current Opinion in Toxicology 14: s. 1–7.

[8] Periferakis, A. et al. 2022. *Availability, Toxicology and Medical Significance of Antimony.* International Journal of Environmental Research and Public Health 19(8): s. 4669.

[9] Akpor, O. B., Muchie. M. 2010. *Remediation of heavy metals in drinking water and wastewater treatment systems: Processes and applications*.

International Journal of physical sciences 5(12): s 1807-1818.

[10] Mýto pod Ďumbierom [Citované: 17. marec 2023] https://www.najkrajsikraj.sk/myto-pod-dumbierom/

[11] Budaj, M., Hronček, P., Lokša, M. et. al. 2019. *Od mýta k Mýtu. Monografia obce mýto pod Ďumbierom.* Vydavateľ: Obec mýto pod Ďumbierom, s. 179-233.

[12] Chovan, M., Slavkay, M., Michálek, J. 1998. *Metalogenéza ďumbierskej časti Nízkych Tatier.* Mineralia Slovaca, 30, s. 3.

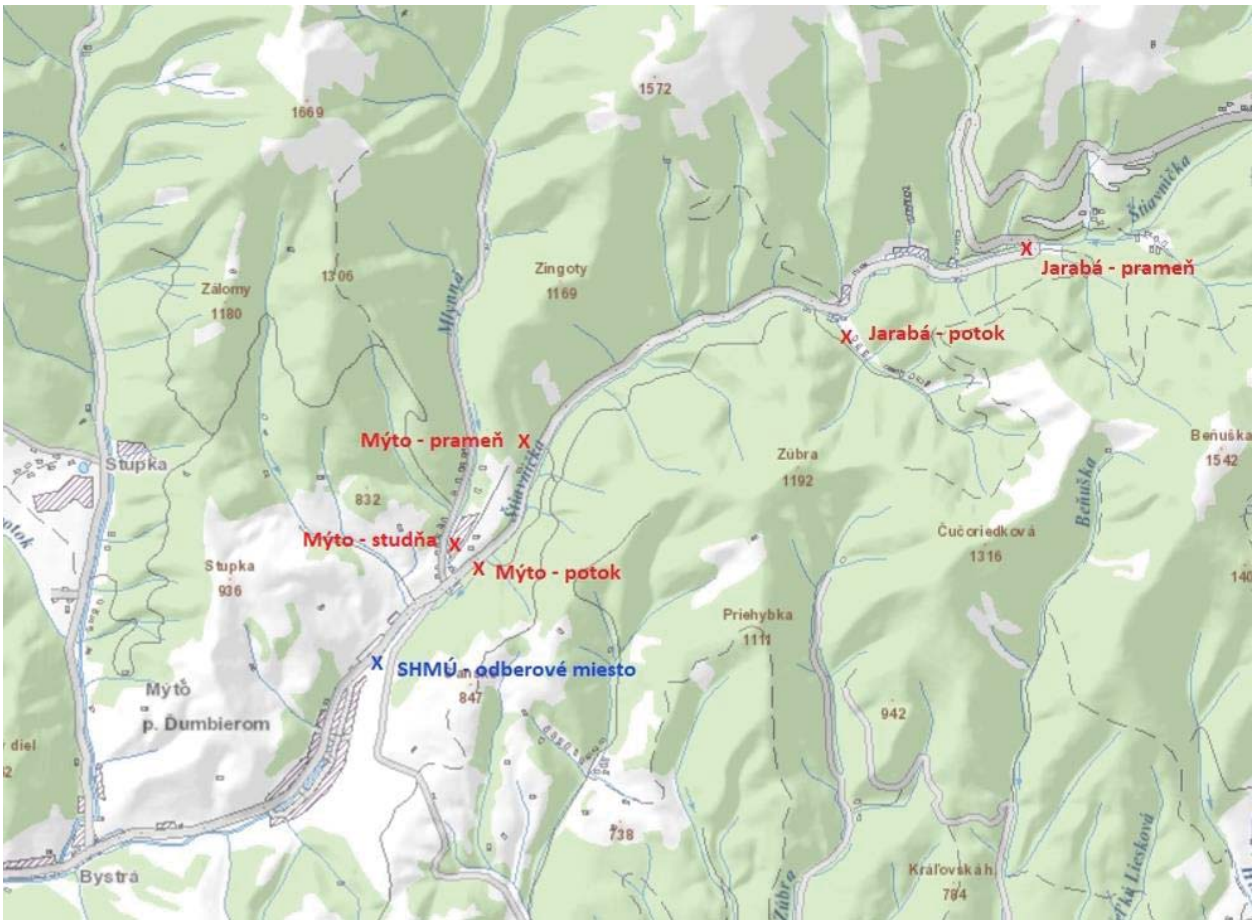
[13] Čižmárová, K., et al. 2013: Regionálna geografia Horného Pohronia. Banská Bystrica: VKÚ, s. 15-18.

[14] Dhillon, A., Nair, M., Kumar, D. 2015. *Analytical Methods for Sensing of Health-Hazardous Arsenic from Biotic and Abiotic Natural Resources*. Analytical Methods 7(24): 10088–10108.

[15] Vyhláška ministerstva zdravotníctva SR č. 247/2017 Z. z., ktorou sa ustanovujú podrobnosti o kvalite pitnej vody, kontrole kvality pitnej vody, programe monitorovania a manažmente rizík pri zásobovaní pitnou vodou [Citované: 13. marec 2023] https://www.slov-lex.sk/static/pdf/2017/247/ZZ_2017_247_20171015.pdf

[16] Nariadenie vlády SR č. 269/2010 Z. z., ktorým sa ustanovujú požiadavky na dosiahnutie dobrého stavu vody [Citované: 13. marca 2023] https://www.slov-lex.sk/pravne-predpisy/SK/ZZ/2010/269/#prilohy.priloha-priloha_c_1_k_nariadeniu_vlady_c_269_2010_z_z.oznacenie

Prílohy



Obr. 1 Mapa odberových miest v mierke 1:50000

Tabuľka 4 Stanovené koncentrácie kovových prvkov vo vzorkách

Prvky	Jednotky	vzorka 2 MĎ prameň	vzorka 3 Jarabá potok	vzorka 4 Jarabá prameň	vzorka 5 MĎ potok	limit pre povrchové vody [16]	limit pre pitné vody [15]
B	µg/l	443	837	240	181	-	1000
Na	mg/l	402	2.4	58.8	1.7	100	200
Mg	mg/l	18.4	8	51	2.6	200	125
Al	µg/l	74.7	4.3	14.3	26.6	200	200
K	mg/l	19.7	0.5	2.2	0.5	-	-
Ca	mg/l	64.8	16.2	263	9.3	100	-
Cr	µg/l	<1	<0.1	<0.1	<0.1	9	50
Mn	µg/l	1129	1.7	2078	12.4	300	50
Fe	µg/l	1201	19	8753	61	2000	200
Co	µg/l	<1	<0.1	<1	<0.1	50	-
Ni	µg/l	<1	<1	<1	<1	20*	20
Cu	µg/l	<1	<1	<1	<1	8.8*	2000
Zn	µg/l	<2	3	11	3	52*	-
As	µg/l	5.3	1.2	0.4	8.6	7.5*	10
Se	µg/l	<1	<1	<1	<1	20	10
Mo	µg/l	<1	<1	<1	<1	-	-
Cd	µg/l	<0.1	<0.1	<0.1	<0.1	0.25*	5
Sn	µg/l	<0.1	<0.1	<0.1	<0.1	-	-
Sb	µg/l	<1	<1	<0.1	1.3	5	5
Ba	µg/l	60.6	11.5	55.4	43.5	-	-
Pb	µg/l	<1	<1	<1	<1	7.2*	10

*ročný priemer

Optimalizácia podmienok preparatívnej chromatografickej separácie tyrozol β-D-fruktozidu z reakčnej zmesi

Optimization of conditions of preparative chromatographic separation of tyrosol β-D-fructoside from the reaction mixture

Samuel Kuzma[1] – Marta Ostrihoňová[2] – Monika Antošová[3]– Milan Polakovič[4]
Školiteľ: Monika Antošová[3]
[1,2,3,4] Ústav chemického a environmentálneho inžinierstva, FCHPT STU, Radlinského 9, 812 37 Bratislava,
[1] xkuzmas@stuba.sk, [2] marta.ostrihonova@stuba.sk, [3] monika.antosova@stuba.sk, [4] milan.polakovic@stuba.sk

Abstrakt

Tyrozol β-D-fruktozid (TF) je biologicky účinná látka, ktorá má potenciál uplatnenia ako prekurzor na prípravu liečiv. Pripravuje sa enzýmovou syntézou zo sacharózy a tyrozolu. Táto práca sa zaoberá spôsobom čistenia TF z reakčnej zmesi preparatívnou kvapalinovou chromatografiou. Cieľom práce bolo optimalizovať podmienky chromatografickej separácie na získanie TF s minimálnou čistotou 97 % a s čo najvyšším výťažkom. Na tento účel boli namerané adsorpčné izotermy oboch látok v prítomnosti roztokov alkoholov. Na základe získaných výsledkov sme uskutočnili experimentálnu štúdiu vplyvu koncentrácie použitého alkoholu na chromatografickú separáciu. Po analýze zloženia zachytených frakcií sme vypočítali výťažky a čistotu produktov, ako aj produktivitu separácie. Výsledkom bolo určenie optimálneho zloženia roztokov, ktoré umožnilo získať TF vo výťažku 69 %. Zároveň sa podarilo zo zmesi oddeliť tyrozol, ktorý je cennou surovinou, s výťažkom 93 % a čistotou 95 %.

Kľúčové slová: tyrozol β-D-fruktozid, frontálna chromatografia, separácia, adsorpčná izoterma

Abstract

Tyrosol β-D-fructoside (TF) is a bioactive compound, that has a potential of application as a drug precursor. It is prepared by enzymatic reaction from tyrosol and sucrose. This work deals with the method of TF purification from the reaction mixture by preparative liquid chromatography. The aim of this work was to optimize the conditions of chromatographic separation to obtain TF with purity at least of 97 % and with the highest possible yield. For this purpose, adsorption isotherms of both compounds in alcohols solutions were measured. Based on the obtained results, an experimental study of the influence of used alcohol on the chromatographic separation was carried out. After the composition analysis of captured fractions, the yields and purity of the products, as well as separation productivity were calculated. As a result, the optimal solutions composition was determined, that enabled to obtain TF in 69 % yield. Besides that, separation of tyrosol, which is a valuable raw material, was obtained with a yield of 93 % and a purity of 95 %.

Key Words: tyrosol β-D-fructoside, frontal chromatography, separation, adsorption isotherm

Úvod

Tyrozol (2-(4-hydroxyfenyl)etanol, Tyr) je bioaktívna látka, prirodzene sa vyskytujúca napr. v olivovom oleji. Má významné antioxidačné a protinádorové účinky [1,2]. Glykozidy tyrozolu majú podobné účinky, ale vďaka ich dobrej rozpustnosti vo vode majú lepšiu biodostupnosť pre bunky. Glukozid tyrozolu, ktorý sa nachádza v niektorých rastlinách, sa využíva v tradičnej čínskej medicíne.

Z jeho analógov, ktoré sa pripravujú synteticky, je významný tyrozol b-D-fruktozid (TF), ktorý sa pripravuje enzymaticky z tyrozolu a sacharózy. Prvýkrát bol pripravený β – fruktofuranozidázou prítomnou v prípravku Lactozym 3000 L [3]. Ďalšie výskumy ukázali, že jeden z vhodných enzýmov na prípravu TF je b-fruktofuranozidáza z kvasiniek S. cerevisiae [4]. Popri hlavnej reakcii prenosu fruktozylu zo sacharózy na tyrozol za vzniku TF však prebiehajú aj vedľajšie reakcie, ako je hydrolýza sacharózy a TF a tvorba fruktooligosacharidov. Zmes po zastavení reakcie okrem TF obsahuje nezreagovaný Tyr, zmes sacharidov a soli tlmivého roztoku. Keďže TF je látka s potenciálom na farmaceutické využitie, musí sa z tejto zmesi izolovať vo vysokej čistote pri čo najvyššom výťažku. Spôsob separácie, ak má byť využiteľný aj v priemyselných podmienkach, musí zahŕňať aj čo najlepšie oddelenie tyrozolu, ktorý sa môže recyklovať ako vstupná

surovina. Karnišová Potocká et al. [3] využili chromatografickú separáciu v dvoch krokoch, pričom v prvom kroku oddelili zo zmesi sacharidy s adsorbentom Diaion HP-20 a následne rozdelili Tyr a TF na silikagélovej kolóne v gradiente chloroformu v metanole. Keďže však chloroform je karcinogénny a toxický, bolo treba nájsť nový spôsob efektívneho oddelenia TF z reakčnej zmesi. Kazánová vo svojej diplomovej práci [5] vykonala skríning nepolárnych polymérnych adsorbentov od viacerých výrobcov, z ktorých bol na základe najvyššej adsorpčnej kapacity a zároveň vysokej selektivity vybraný pre ďalšie experimenty adsorbent Macronet MN270. S týmto adsorbentom boli namerané kompetitívne adsorpčné izotermy Tyr a TF.

Cieľom tejto práce bolo určiť optimálne zloženie elučných roztokov v jednotlivých krokoch separácie pomocou frontálnej chromatografie tak, aby sme dosiahli čo najvyšší výťažok a produktivitu TF pri čistote minimálne 97 %. Ako elučné činidlá boli vybrané vodné roztoky etanolu a izopropanolu. Na základe rovnovážnych údajov adsorpcie tyrozolu a TF v roztokoch alkoholov sme hľadali optimálnu koncentráciu alkoholu počas dvojkrokovej elúcie.

1 Materiály a metódy

1.1 Materiály

Reakčnú zmes sme pripravili v laboratóriu reakciou sacharózy a tyrozolu (Sigma-Aldrich, USA), ktorá bola katalyzovaná β-fruktofuranozidázou Invertase™ (Novozymes, Nórsko). Adsorbent Macronet MN270 bol darovaný výrobcom (Purolite, USA). Etanol 96% p.a., nedenaturovaný (EtOH), izopropanol p.a. (IPA) a acetón p.a. boli kúpené v Centralchem (Slovensko).

1.2 Meranie adsorpčných izoterm

Pre meranie adsorpčných izoteriem pomocou vsádzkovej adsorpcie sme častice adsorbenta Macronet MN270 pred experimentom premyli etanolom a vodou. 50 mg vlhkého adsorbenta sme navážili do mikroskúmavky a pridali sme k nemu 800 µl roztoku Tyr alebo TF v roztoku príslušného alkoholu, etanolu alebo IPA. Mikroskúmavky sme nechali miešať v rotačnej trepačke do ustálenia rovnováhy. Obsah TF a Tyr v roztokoch pred a po adsorpcii sme stanovili pomocou HPLC. Naadsorbované množstvo q_{i} v mg/g sme vypočítali z rovnice materiálovej bilancie nasledovne:

$$q_i = \frac{(c_{i,0} - c_i^*)V_L}{m_{\mathrm{ads}}} \tag{1}$$

kde $c_{i,0}$ je koncentrácia látky *i* pred adsorpciou v mg/ml, c_i^* je rovnovážna koncentrácia látka *i* po adsorpcii, m_{ads} je hmotnosť adsorbenta v g a V_L je objem kvapalnej fázy v ml.

1.3 Chromatografická separácia Tyr a TF

Experimenty na optimalizáciu chromatografickej separácie sme realizovali na chromatografe ÄKTA FPLC (Cytiva, USA). Adsorbent Macronet MN270 bol naplnený v kolóne Tricorn 10/200 (Cytiva, USA) s objemom 15,7 ml. Separácia pozostávala zo sledu viacerých fáz: (viď. Obr. 5) 1. adsorpcia vzorky s objemom 12 ml; 2. premytie kolóny 15 ml mobilnej fázy používanej pri adsorpcii; 3. prvá desorpcia s 50 ml roztoku EtO, 4. druhá desorpcia s 150 ml 10 % acetónu v etanole, 5. nakoniec ekvilibrácia kolóny v 150 ml mobilnej fázy používanej pri adsorpcii na ďalší cyklus.

Objemový prietok bol počas adsorpcie, premývania a 1. desorpcie 2 ml/min a počas 2. desorpcie a ekvilibrácie 7 ml/min. Separácia bola monitorovaná UV detektorom pri vlnovej dĺžke 280 nm a vodivostným detektorom. Počas separácie sme zberali frakcie s objemom 2 až 5 ml. Obsah Tyr a TF vo frakciách sme stanovili HPLC analýzou.

Frakcie, ktoré obsahovali čisté zložky sme spojili. Čistotu (P) sme vypočítali ako množstvo danej zložky podelené súčtom množstiev TF a Tyr v spojených frakciách.

$$P_{\mathrm{TF,i}} = \frac{\sum c_{TF,i}V_i}{\sum c_{TF,i}V_i + \sum c_{Tyr,i}V_i} \tag{2}$$

kde *c* je koncentrácia TF resp. Tyr v jednotlivých frakciách a V_i je objem jednotlivých frakcií. Výťažok (*Y*) sme určili ako pomer množstva danej zložky v spojených frakciách voči množstvu v nastrekovanej surovine:

$$Y_{\mathrm{TF}} = \frac{\sum c_{TF,i}V_i}{c_{F,TF}V_F} \tag{3}$$

kde index *F* označuje surovinu.

Produktivita je množstvo čistej zložky v produktových frakciách vztiahnuté na jednotkový objem adsorbenta a čas.

1.4 HPLC analýza

HPLC analýza bola realizovaná na chromatografe Aligent 1200 (Agilent Technologies, USA) s kolónou

ZORBAX Eclipse XDB C8 (150 x 4.6 mm), pri teplote 35°C. Ako mobilnú fázu sme používali 30 % metanol s prietokom 1 ml/min, nástrek vzorky bol v objeme 5 µl. Vzorky boli detegované na detektore s diódovým poľom pri vlnovej dĺžke 275 nm. Kalibrácia bola vykonaná metódou externého štandardu.

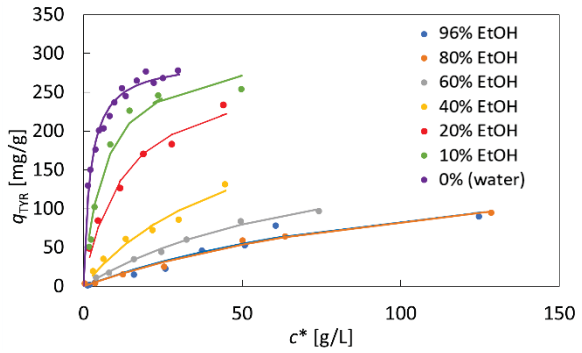
2 Výsledky a diskusia

2.1 Adsorpčné izotermy

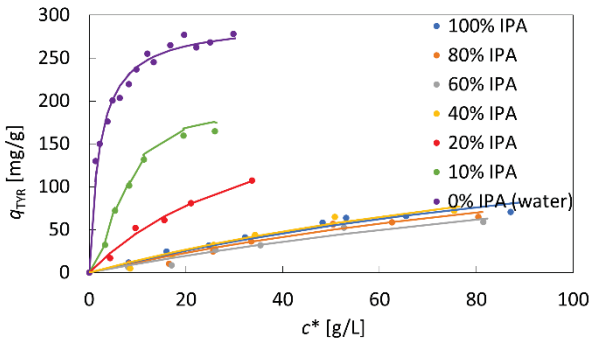
Adsorbent Macronet MN270, ktorý bol vyselektovaný [5] ako najvhodnejší na separáciu TF a Tyr, patrí medzi nepolárne adsorbenty na báze styrén-divinylbenzénových živíc. Priemer guľovitých častíc je 0,3 – 1,4 mm, špecifický objem pórov 0,5 ml/g a špecifický povrch až 1200 m^2/g. Na tomto adsorbente sme postupom opísaným v kapitole 1.2 získali závislosti experimentálnych naadsorbovaných množstiev (q_i) v mg/g od rovnovážnej koncentrácie v kvapaline (c_i^*) v g/L. Tieto experimentálne body sme opísali modelom Langmuirovej izotermy v tvare:

$$q_i = \frac{q_{max,i} K_i c_i^*}{1 + K_i c_i^*} \quad (4)$$

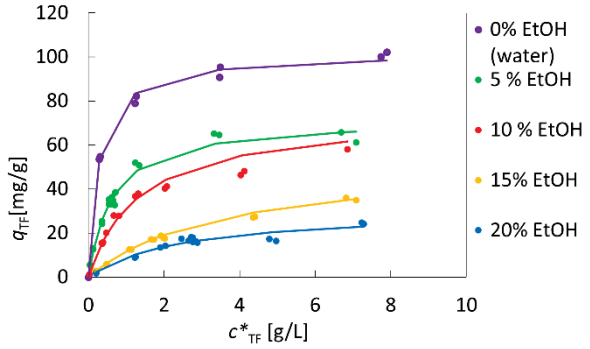
Parametre tejto závislosti, maximálne adsorbované množstvo $q_{max,i}$ a afinitnú konštantu K_i sme určili nelineárnou regresiou pomocou metódy najmenších štvorcov. Výsledné izotermy sú na Obr.1 – 4.



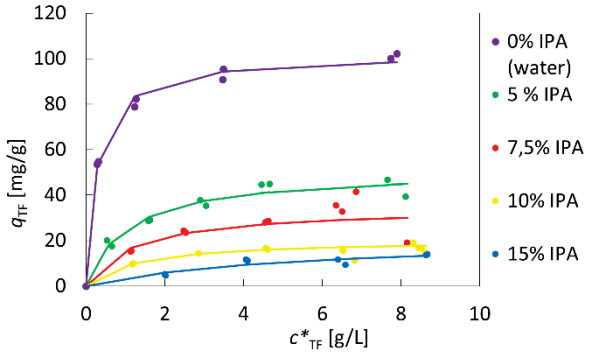
Obr. 1 Adsorpčné izotermy Tyr v etanole. Čiary sú vypočítané z Langmuirovho modelu.



Obr. 2 Adsorpčné izotermy Tyr v izopropanole. Čiary sú vypočítané z Langmuirovho modelu.



Obr. 3 Adsorpčné izotermy TF v etanole. Čiary sú vypočítané z Langmuirovho modelu.



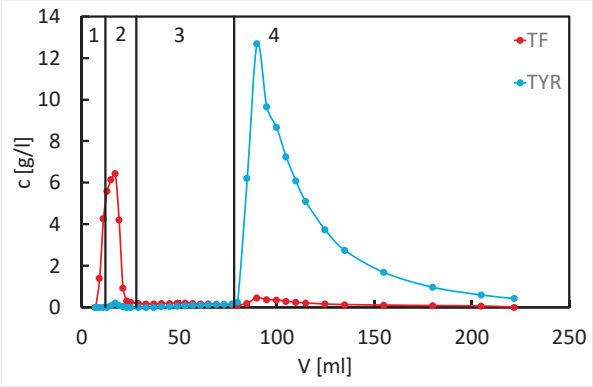
Obr. 4 Adsorpčné izotermy TF v izopropanole. Čiary sú vypočítané z Langmuirovho modelu.

Z nepolárnej štruktúry adsorbenta MN270 vyplýva, že sila interakcií látok s adsorbentom bude klesať s ich rastúcou polaritou. Polarita látok sa zvykne udávať pomocou hodnoty logP, čo je logaritmus rozdeľovacieho koeficienta medzi oktanol a vodu (pomer rovnovážnych koncentrácií pri extrakcii). Čím je táto hodnota vyššia, tým je látka menej polárna a bude sa lepšie viazať na nepolárny adsorbent. Najsilnejšie sa naň bude viazať tyrozol (2-(4-hydroxyfenyl)etanol)

s hodnotou *logP* = 0,85. Slabšia je interakcia adsorbenta s TF, v ktorom je na OH skupine etanolu naviazaný fruktozyl. *LogP* TF nie je známy, ale pre glukozid tyrozolu ako analóg TF je *logP* = -1,2. Ostatné prítomné látky, hlavne sacharidy sú silne polárne (*logP* pre fruktózu je -2,6) a na adsorbent sa vôbec neviažu. Na Obr. 1 – 4 vidíme, že pri oboch alkoholoch zvyšujúca sa koncentrácia alkoholu v roztoku mala nepriaznivý vplyv na adsorbované množstvo TF aj Tyr. Tiež vidíme, že IPA je silnejší desorbent než EtOH, pre IPA je *logP* = -0,16 a pre EtOH -0,18, teda IPA silnejšie interaguje s adsorbentom a lepšie vytláča naadsorbované zložky. Napr. na Obr. 2 vidíme, že 20% IPA znižuje adsorbované množstvo Tyr na 1/4 v porovnaní s vodou, kým 20 % EtOH na približne 60 % oproti vode (Obr. 1). Vplyv prídavku alkoholov je ešte výraznejší pri TF oproti Tyr, 20 % EtOH znížil adsorbované množstvo TF na cca 1/5 v porovnaní s vodou. Pre zachovanie čo najvyššej kapacity adsorbenta počas adsorpčnej fázy sme v ďalších experimentoch pracovali len s etanolom. IPA má navyše vyššiu viskozitu, čo môže spomaľovať priebeh adsorpcie.

2.2 Separácia frontálnou chromatografiou

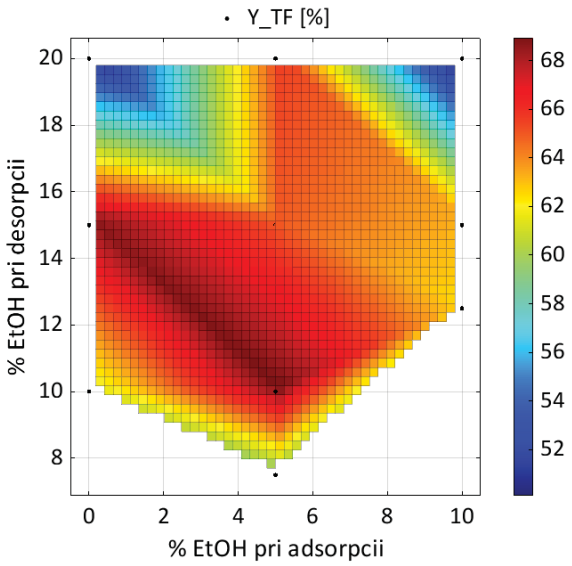
Separácia frontálnou chromatografiou má 5 fáz. V prvej, adsorpčnej fáze sa do kolóny nadávkuje surovina tak, aby sa využila podľa možnosti celá adsorpčná kapacita náplne v kolóne. Pri nástreku suroviny sa adsorbuje Tyr s určitou časťou TF, kým sacharidy s väčšinou TF prechádzajú kolónou bez naviazania. Objem nastrekovanej suroviny sme nastavili tak, aby nedochádzalo k prieniku Tyr do odchádzajúcej TF frakcie. Ako vyplýva z adsorpčných izoteriem, v prítomnosti alkoholu sa viac oslabuje adsorpcia TF než Tyr. Aby sme dosiahli zvýšenie selektivity viazania Tyr počas adsorpcie, študovali sme vplyv prídavku alkoholov do suroviny v rozsahu koncentrácie 0 až 10 % EtOH. Koncentrácia alkoholu bola rovnaká v nastreknutej surovine aj v mobilnej fáze pretekajúcej kolónou. V druhej fáze sa kolóna premyla 15 ml tej istej mobilnej fázy, aby sa z nej vyplavili všetky nenaadsorbované zložky. Tretia a štvrtá fáza sú dva za sebou nasledujúce desorpčné kroky. Cieľom prvého desorpčného kroku je selektívne vydesorbovať naviazaný TF pri čo najmenšej miere uvoľňovania Tyr. Koncentrácia alkoholu v mobilnej fáze sa tu oproti adsorpcii zvýšila, ale len tak aby sa stále výrazne nezmenšila adsorpčná kapacita pre naviazaný Tyr, teda najvyššia použitá koncentrácia EtOH bola 20%. V druhom desorpčnom kroku sme používali čistý alkohol s prídavkom 10 % acetónu, pričom cieľom tejto druhej desorpcie bolo vyplaviť z kolóny všetok naadsorbovaný Tyr. Typický priebeh koncentrácií zložiek v odchádzajúcich frakciách počas jednotlivých fáz separácie je znázornený na Obr 5.



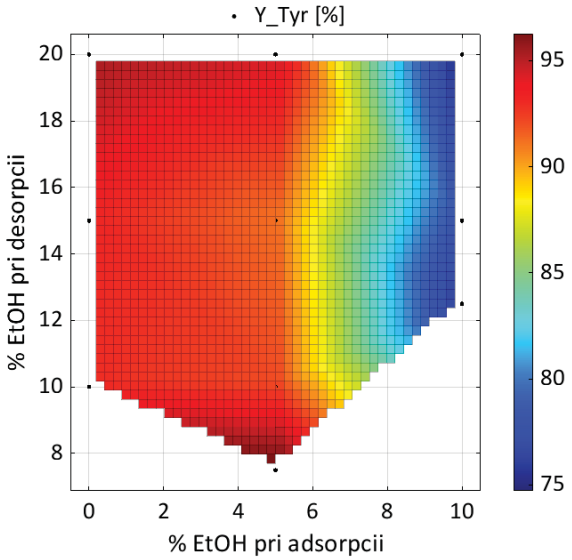
Obr. 5 Priebeh koncentrácií TF a Tyr počas separácie frontálnou chromatografiou. Podmienky separácie v jednotlivých fázach sú uvedené v poradí objem, objemový prietok, zloženie mobilnej fázy: 1. adsorpcia, 12 ml, 2 ml/min, 5% EtOH; 2. premytie, 15 ml, 2 ml/min, 5% EtOH; 3. 1. desorpcia, 50 ml, 2 ml/min, 10% EtOH; 4. 2. desorpcia, 150 ml, 5 ml/min, EtOH+10% acetón.

Z Obr. 5 je zrejmé, že hlavné frakcie obsahujúce TF sme získali počas fázy adsorpcie a premývania, pretože TF sa v kolóne zachytával len čiastočne a počas adsorpcie bol postupne z adsorbenta vytláčaný silne sa viažucim Tyr. Počas prvej desorpcie dochádza k značnému zriedovaniu TF frakcie pričom navyše získavame len pomerne malé percento z prečisteného TF (5 – 8 % pri optimálnych podmienkach). Avšak na základe rýchlej ekonomickej bilancie sme zistili, že cena takto získaného TF niekoľkonásobne prevýši náklady na odparenie pridaného rozpúšťadla. Na úplnú desorpciu Tyr bolo potrebné použiť až 150 ml etanolu s prídavkom 10 % acetónu. To spôsobilo veľké zriedenie Tyr. Preto sme skúmali vplyv IPA na druhú desorpciu a chceli sme zistiť, či silnejšie rozpúšťadlo bude na desorpciu účinnejšie. Pri rovnakom spotrebovanom objeme IPA na desorpciu sme však lepší výsledok nedosiahli.

Na Obr. 6 až 9 sú znázornené vypočítané výťažky a produktivity v závislosti od koncentrácie EtOH v adsorpčnej fáze (os x) a prvej desorpcii (os y). Najlepšie výťažky TF (na Obr. 6), až okolo 69%, sme dosiahli pri 1.desorpcii s 10% EtOH po adsorpcii v 5% EtOH (podmienky A) a pri desorpcii s 15% EtOH po adsorpcii vo vode (podmienky B). Pri oboch týchto podmienkach boli výžťažky Tyr (Obr. 7) vyššie než 90 %.

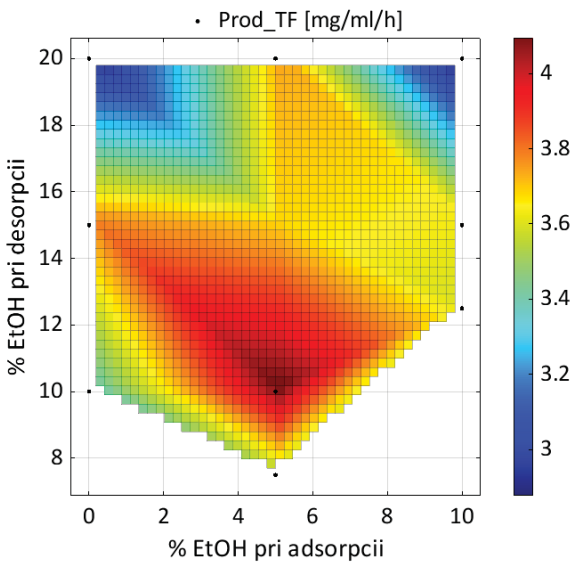


Obr. 6 Výťažok TF pri rôznych podmienkach experimentov

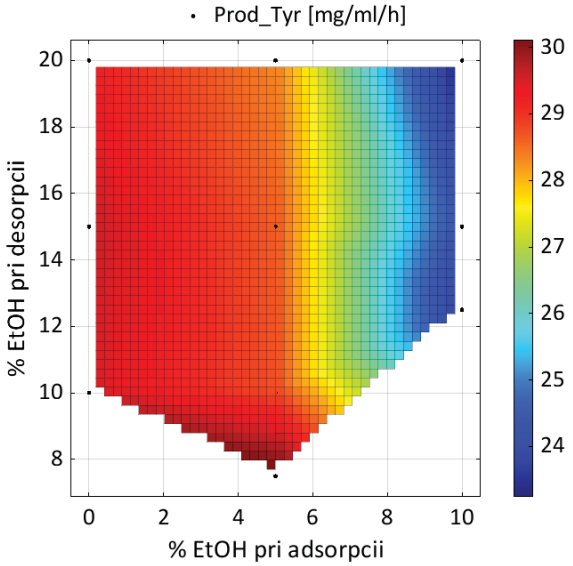


Obr. 7 Výťažok Tyr pri rôznych podmienkach experimentov

Na Obr. 9 vidíme, že pri týchto spomínaných podmienkach je aj produktivita na Tyr veľmi dobrá, 29 mg/ml/h a viac. Dôležitejšia je však produktivita TF, ktorá je najvyššia pri podmienkach A, až 4,11 mg/ml/h. Pri podmienkach B bola produktivita len o necelých 10% nižšia (3,78 mg/ml/h). Avšak mierne zníženie produktivity pri podmienkach B môže byť v konečnom dôsledku ekonomicky vykompenzované úsporou etanolu počas ekvilibrácie, adsorpcie a premývania kolóny.



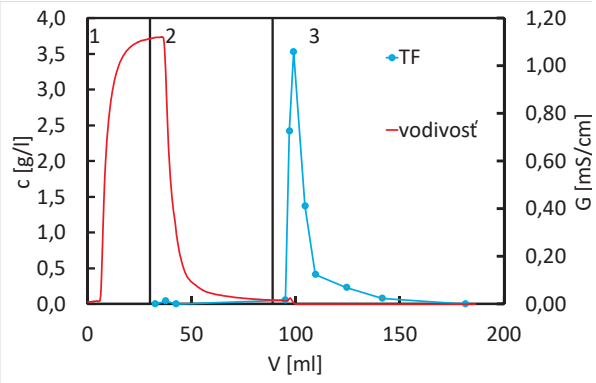
Obr. 8 Produktivita TF pri rôznych podmienkach experimentov.



Obr. 9 Produktivita Tyr pri rôznych podmienkach experimentov.

Získaný produkt, ktorým bol roztok TF, obsahuje sacharidy a soli, ktoré sa na adsorbente neviazali. Preto ďalším krokom na získanie čistého TF je ich oddelenie. Ako surovinu sme používali spojené frakcie obsahujúce TF s minimálnou čistotou 97 %, ktorú sme nastrekli do tej istej chromatografickej kolóny ako v predchádzajúcom stupni. Kolóna bola vopred ekvilibrovaná vo vode. Prítomnosť alkoholu negatívne ovplyvňuje viazanie TF, ktorý v tomto prípade potrebujeme zachytiť na adsorbente. Z tohto dôvodu je výhodnejšie, ak roztok TF neobsahuje žiadny alkohol.

Z toho vyplýva, že podmienky B vo frontálnej chromatografii separácie Tyr a TF sú výhodnejšie. Objem nástreku roztoku TF bol 30 ml Potom sme kolónu premyli vodou, kým vodivosť neklesla na pôvodnú hodnotu, čím sa odstránili všetky sacharidy a soli. Následne sme vydesorbovali naviazaný TF do čistého 96 % etanolu s výťažkom až 98%, pričom čistota TF voči Tyr (97 %) sa počas tohto kroku nezmenila. Priebeh koncentrácií zložiek v odchádzajúcich frakciách počas jednotlivých fáz separácie TF od sacharidov je znázornený na Obr 10.



Obr. 10 Chromatogram separácie TF a sacharidov. Vodivosť (červená čiara) znázoruje priebeh sacharidov a solí, koncentrácia TF (modrá čiara) sa získala analýzou frakcií. Podmienky separácie v jednotlivých fázach sú uvedené v poradí objem, objemový prietok, zloženie mobilnej fázy: 1. adsorpcia, 30 ml, 2 ml/min, voda; 2. premytie, 60 ml, 4 ml/min, voda; 3.desorpcia TF, 100 ml, 7 ml/min, 96% EtOH.

Záver

Cieľom tejto práce bolo nájsť optimálne zloženie elučných činidiel na separáciu tyrozol β-D-fruktozidu z reakčnej zmesi. Na základe vsádzkových adsorpcií sme získali adsorpčné izotermy v etanole a izopropanole pri rôznych koncentráciach sme zistili, že adsorpčná kapacita aj afinita s rastúcou koncentráciou alkoholu klesá.

Frontálnou chromatografiou s dvojkrokovou elúciou pri rôznych koncentráciách etanolu počas adsorpcie a prvej desorpcie sme zistili, že najlepšie výťažky TF (až 69 %) pri čistote 97 % sme získali po adsorpcii z vodného roztoku bez prídavku alkoholu a prvej desorpcii 15% etanolom. Vodný roztok obsahujúci TF, ktorý sme získali ako jeden z produktov, je vhodnou surovinou pre ďalší chromatografický krok na oddelenie sacharidov. Celkový výťažok TF bol 67% a regenerovali sme 93 % nezreagovaného tyrozolu. Karnišová Potocká et al. [3] dosiahli výťažok TF 84 % s použitím dvojkrokovej separácie na dvoch chromatografických kolónach. Náš dosiahnutý výťažok je síce menší, ale podarilo sa nám realizovať oba kroky separácie na jednej chromatografickej kolóne. Ďalšou výhodou našej metódy separácie TF je použitie rozpúšťadiel, ktoré sú neškodné pre životné prostredie a sú klasifikované ako zelené rozpúšťadlá.

Poďakovanie

Tento výskum bol podporený grantom Agentúry na podporu výskumu a vývoja (APVV-18-0188). Chcel by som zároveň poďakovať školiteľke Ing. Monike Antošovej, PhD. za usmernenia a odborné rady pri písaní práce a Ing. Marte Ostrihoňovej za usmernenia pri práci v laboratóriu.

Použitá literatúra

[1] ANTER, J. et al. 2014. Evaluation of potential antigenotoxic, cytotoxic and proapoptotic effects of the olive oil by-product “alperujo” hydroxytyrosol, tyrosol and verbascoside In: Mutation Research - Genetic Toxicology and Environmental Mutagenesis. Vol. 772, pp. 25-33.

[2] GALANO, A. et al. 2012. A quantum chemical study on the free radical scavenging activity of tyrosol and hydroxytyrosol. In: Theoretical Chemistry Accounts. Vol. 131, pp. 1173

[3] KARNIŠOVÁ POTOCKÁ, E. - MASTIHUBOVÁ, M. - MASTIHUBA, V. 2019. Enzymatic synthesis of tyrosol and hydroxytyrosol beta-D-fructofuranosides. In Biocatal. Biotransformation, Vol. 37, no. 1, pp. 18–24. https://doi.org/10.1080/10242422.2017.1423060

[4] KARKESZOVÁ, K., ANTOŠOVÁ, M., POTOCKÁ, E.K. et al. 2023. Medium engineering of phenylethanoid transfructosylation catalysed by yeast β-fructofuranosidase. Bioprocess Biosyst Eng 46, pp. 237–249. https://doi.org/10.1007/s00449-022-02828-3

[5] KAZÁNOVÁ, Kristína. 2021. Adsorpčná separácia tyrozol beta-D-fruktofuranozidu z reakčnej zmesi: diplomová práca. Bratislava: FCHPT STU, 80 s.

Vplyv prídavku zelených rozpúšťadiel na enzýmovú syntézu tyrozol β-D-galaktozidu

The effect of the addition of green solvents on the enzymatic synthesis of tyrosol β-D-galactoside

Alžbeta Koššuthová[1] – Monika Antošová[2] – Klaudia Karkeszová[3] – Milan Polakovič[4]
Školiteľ: Monika Antošová[2]
[1,2,3,4]Oddelenie chemického a biochemického inžinierstva, FCHPT STU v Bratislave, Radlinského 9, 812 37 Bratislava,
[1] xkossuthova@stuba.sk, [2] monika.antosova@stuba.sk, [3] klaudia.karkeszova@stuba.sk, [4] milan.polakovic@stuba.sk

Abstrakt

Tyrozol sa prirodzene vyskytuje v olivách a má mnoho zdravotných benefitov. Jeho nevýhodou však je nízka biodostupnosť, ktorá sa dá zvýšiť transglykozyláciou a môžu tak vzniknúť produkty s farmaceutickým potenciálom. Tyrozol β-D-galaktozid, ako jeden z glykozidov tyrozolu, sa pripravuje enzýmovou syntézou z laktózy a tyrozolu. Konečný výťažok sa dá ovplyvniť reakčnými podmienkami, napríklad prídavkom rozpúšťadla. V posledných rokoch sa kladie dôraz na environmentálny dopad akejkoľvek chemickej produkcie, preto sa táto práca zaoberá vplyvom prídavku zelených rozpúšťadiel na produkciu tyrozol β-D-galaktozidu. Bol skúmaný vplyv hlboko eutektických rozpúšťadiel (DES) na začiatočné rýchlosti prebiehajúcej transglykozylácie a hydrolýzy. Na základe výsledkov sa prešetril aj vplyv na priebeh reakcie po dobu 6 hodín. Najlepšími sa preukázali DES s betaínom, močovinou a vodou v rôznych mólových pomeroch, ktoré najviac znížili hydrolytickú aktivitu enzýmu. Najvyšší dosiahnutý výťažok produktu bol 14%.

Kľúčové slová: tyrozol, transglykozylácia, β-galaktozidáza, hlboko eutektické rozpúšťadlá

Abstract

Tyrosol naturally occurs in olives and has many health benefits. Its disadvantage is low bioavailability, which can be increased by transglycosylation and products with pharmaceutical potential can be synthesized. Tyrosol β-D-galactoside, as one of the glycosides of tyrosol, is prepared from lactose and tyrosol. The final yield can be influenced by the reaction conditions such as solvent addition. In recent years, emphasis has been placed on the environmental impact of any chemical production, therefore this work is focused on the impact of the addition of green solvents on the production of tyrosol β-D-galactoside. The effect of deep eutectic solvents (DES) on the initial rates of ongoing transglycosylation and hydrolysis was investigated. Based on the results, the effects on the course of the reactions for 6 hours were also studied. DESs with betaine, urea and water in different molar ratios, which reduced hydrolytic activity the most, proved to be the best. The highest achieved product yield was 14%.

Key words: tyrosol, transglycosylation, β-galactosidase, deep eutectic solvents

Úvod

Tyrozol (2-(4-hydroxyfenyl)etanol) je biofenol, ktorý sa bežne vyskytuje v olivách, olivovom oleji a víne. Tyrozol má mnoho zdraviu prospešných vlastností, ako napríklad silný ochranný účinok proti oxidačnému poškodeniu buniek, chronickému srdcovému zlyhaniu, inzulínovej rezistencii a obezite a taktiež by mohol byť užitočný pri prevencii neurodegeneratívnych chorôb akou je Alzheimerova choroba. Nevýhodou je, že biodostupnosť tyrozolu v jeho voľnej forme je nízka. Glykozylované formy tyrozolu by mali byť vhodným riešením tohto problému, vzhľadom na to, že glykozylácia zlepšuje biodostupnosť, rozpustnosť a biologickú bezpečnosť fenolových zlúčenín [1, 2].

Glykozidy sú organické zlúčeniny tvorené dvomi chemicky a funkčne nezávislými časťami: glykónom a aglykónom, ktoré sú viazané glykozidickou väzbou. Glykón je sacharid, obvykle monosacharid, avšak prítomnosť oligosacharidov nie je vylúčená. Na základe glykónu sa pomenúva výsledný glykozid, napr. glykozid obsahujúci fruktózu je fruktozid. Aglykón určuje terapeutickú vlastnosť daného glykozidu. Množstvo molekúl, ktoré môžu byť aglykónom otvára prístup

k syntéze glykozidov, ktoré sa bežne v prírode nevyskytujú [3, 4, 5, 6].

Pre zníženie nákladov spojených so separáciou produktu je nevyhnutná úplná anomérna kontrola novovytvorenej glykozidickej väzby. Syntéza glykozidov môže byť uskutočnená chemicky alebo enzymaticky. Chemická syntéza je komplikovaný proces, pretože je potrebných veľa protekčných a deprotekčných krokov na zabránenie vzniku vedľajších produktov. Navyše, chemická produkcia glykozidov môže produkovať toxický odpad vo veľkých množstvách [5, 6]. Enzymatická glykozylácia nevyžaduje ochranu a deprotekciu hydroxylových skupín substrátu, má kontrolu nad konfiguráciou anomérneho centra, prebieha v miernych podmienkach, je menej energeticky náročná a produkuje menej odpadu, vzhľadom na to, že reakcia sa zvyčajne uskutočňuje vo vodných roztokoch [7].

Častým spôsobom prípravy glykozidov je transglykozylácia, ktorá je katalyzovaná glykozyl hydrolázami. Transglykozylácia je kineticky kontrolovaná reakcia, počas ktorej prebiehajú kompetitívne reakcie hydrolýzy (produktu aj substrátu) a transglykozylácie a dosahuje sa maximálna koncentrácia produktu v určitom čase. Výťažok transglykozylačného produktu silne závisí od použitého enzýmu a od reakčných podmienok. Pre dosiahnutie vyššej výťažnosti procesu je potrebné znížiť hydrolytickú aktivitu enzýmu, čo sa dá dosiahnuť zmenou štruktúry enzýmu alebo znížením aktivity vody. Obe možnosti sa dajú dosiahnuť prídavkom rôznych organických alebo zelených rozpúšťadiel. Prídavok rozpúšťadla však môže mať za následok také štrukturálne zmeny, ktoré by mohli viesť k inaktivácii alebo denaturácii enzýmu [7].

Zelené rozpúšťadlá sú vo všeobecnosti rozpúšťadlá s minimálnym dopadom na životné prostredie. Medzi zelené rozpúšťadlá patria aj hlboko eutektické rozpúšťadlá (DES), ktoré sa vyznačujú nízkou prchavosťou, nízkou toxicitou, sú biodegradovateľné a náklady spojené s ich produkciou sú nízke. DES sú eutektické zmesi tvorené donormi (HBD) a akceptormi (HBA) vodíkovej väzby, ktoré spolu tvoria kvapalnú zmes s nízkym bodom tuhnutia [8]. Bolo zaznamenané, že prídavok DES ovplyvňuje aj aktivitu aj regioselektivitu β-galaktozidázy [9].

Táto práca sa venuje štúdiu enzymatickej produkcie tyrozol β-D-galaktozidu (TG) v prítomnosti DES použitím β-galaktozidázy z *Aspergillus oryzae*. Skúmané boli rôzne donory aj akceptory vodíkových väzieb. Cieľom bolo nájsť vhodné rozpúšťadlo, ktoré by znížilo hydrolytickú aktivitu vybraného enzýmu, a pomohlo zvýšiť výťažok TG.

1 Materiály a metódy

Štandard TG na HPLC analýzu bol darovaný Dr. Mastihubom z Chemického ústavu SAV (Slovensko). Tyrozol a acetonitril na HPLC analýzu boli zakúpené zo Sigma-Aldrich (Merck, Nemecko). Laktóza, uhličitan sodný a zložky pufru boli z Centralchem (Slovensko). Prášková β-galaktozidáza z *A. oryzae* Tegaferm LAC A100P bola zakúpená od Tegaferm Holding (Rakúsko). Glukózový test Bio-La-Test Glu 500 bol od Erba Lachema (Česká republika). Cholín chlorid a betaín boli kúpené z Carbosynth (UK) a cholín acetát z Abcr (Nemecko).

1.1 Príprava DES

Jednotlivé zložky DES, akceptory vodíkovej väzby cholín chlorid (ChCl), cholín acetát (ChAc) alebo betaín (Bet) boli zmiešané s donormi vodíkovej väzby ako sú močovina (U), glycerol (Gly), etylénglykol (EtGly) v určitom mólovom pomere, ktoré sú zhrnuté v Tab. 1. Zložky boli miešané a zahriaté vo vodnom kúpeli pri 80°C pokiaľ nevznikla homogénna kvapalná zmes. Roztoky DES-pufor boli pripravené rozpustením DES v acetátovom pufri s požadovaným objemovým zlomkom DES.

Tabuľka 1 Použité DES a ich kompozícia.

Označnie	Komponenty	Mólový pomer
D1	Bet:U:H_2O	1,44:1:2,76
D2	Bet:U:H_2O	1:2:1,33
D3	ChCl:Gly	1:2
D4	ChCl:EtGly	1:2
D5	ChCl:U	1:2
D6	ChAc:Gly	1:2
D7	ChAc:EtGly	1:2
D8	ChAc:U	1:2

1.2 Enzýmová príprava tyrozol β-D-galaktozidu

Enzýmová reakcia prebiehala v reakčnej zmesi o objeme 4 mL. Reakčná zmes pozostávala z laktózy a tyrozolu v 0,1 M acetátovom pufri o pH 5,5. Koncentrácia laktózy bola 0,83 M, koncentrácia tyrozolu bola 10 g/L. Reakcia prebiehala pri teplote 42°C. Roztok enzýmu o koncentrácii 10 g/L sa pripravil do 0,1 M acetátového pufru a do reakčnej zmesi sa pridalo 50 μL tohto roztoku. Reakcie s prídavkom DES prebiehali pri rovnakých koncentráciách substrátov aj

enzýmu s tým rozdielom, že reakčná zmes obsahovala aj 10 objemových % príslušného DES. pH acetátového pufra bolo vopred nastavené tak, aby po prídavku DES bolo výsledné pH 5,5. Enzým sa nechal cez noc inkubovať v 0,1 M acetátovom pufri s prídavkom 10% DES. Počas reakcie sa z reakčnej zmesi odoberali vzorky o objeme 50 μL, ktoré sa ihneď zmiešali so 150 μL 0,1 M Na_2CO_3, aby sa inaktivoval enzým.

1.3 Stanovenie enzýmovej aktivity

Celková, transglykozylačna a hydrolytická aktivita enzýmu sa stanovila metódou začiatočných rýchlostí. Reakčné podmienky, koncentrácie substrátov a spracovanie vzoriek bolo rovnaké ako bolo opísané vyššie, s výnimkou toho, že koncentrácia enzýmu bola 0,025 g/L. Mólové koncentrácie TG, galaktózy, galaktooligosacharidu (GOS) a laktózy boli získané pomocou HPLC analýzy a koncentrácia glukózy sa stanovila glukózovým testom. Začiatočné rýchlosti boli vypočítané zo smernice lineárnej oblasti priebehovej krivky vzniku príslušného produktu.

Hydrolytická aktivita sa vypočítala ako množstvo galaktózy, ktoré vzniklo za 1 s v 1 litri roztoku. Transglykozylačná aktivita na tyrozol a laktózu bola definovaná ako množstvo vzniknutého TG, resp. GOS za 1 s v 1 litri roztoku. Celkovú aktivitu enzýmu sme vypočítali zo začiatočnej rýchlosti vzniku glukózy.

1.4 HPLC analýza

HPLC analýza bola vykonaná na systéme Agilent 1260 (Agilent Technolgies, USA) s kolónou Asahipak NH2P-50 4E (Shodex, Japonsko) pri teplote 35°C. Mobilná fáza bol 68% roztok acetonitrilu vo vode s objemovým prietokom 1,0 mL/min. Detekcia tyrozolu a TG bola detektorom s diódovým poľom pri vlnovej dĺžke 275 nm a sacharidy boli detegované refraktometrickým detektorom, ktorý bol temperovaný na 35°C. Všetky zložky boli kvantifikované metódou externého štandardu na báze plochy píkov. GOS bol vzhľadom na nedostupnosť štandardu identifikovaný ako pík s retenčným časom 7,9 min. Na kvantifikáciu tohto píku sa použil štandard laktózy.

1.5 Glukózový test

Koncentrácia glukózy vo vzorkách sa stanovila spektrofotometricky pomocou glukózového testu podľa inštrukcií výrobcu. 10 µl vzorky sa pridalo do 1 ml glukózového testu a po dôkladnom premiešení sa zmes nechala inkubovať 30 min v tme. Potom sa zmerala absorbancia pri vlnovej dĺžke 500 nm.

2 Výsledky a diskusia

Vznik TG sprevádzajú paralelné reakcie hydrolýzy a transgalaktozylácie laktózy a hydrolýzy produktov. Tyrozol je teda kompetitívny akceptor galaktozylových zvyškov s vodou a laktózou. To znamená, že okrem TG vznikajú aj glukóza, galaktóza a galaktooligosacharidy.

Metóda začiatočných rýchlosti bola použitá na zistenie účinku prídavku rôznych DES do reakčnej zmesi na celkovú, hydrolytickú a transglykozylačnú aktivitu enzýmu. Cieľom bolo nájsť rozpúšťadlo, ktoré by potláčalo hydrolytickú aktivitu a transglykozylačnú aktivitu voči laktóze a zároveň zvýšilo transglykozylačnú aktivitu voči tyrozolu. Vplyv jednotlivých rozpúšťadiel na celkovú aktivitu enzýmu je zobrazený na Obr 1. Je zjavné, že prídavok rozpúšťadiel vo všetkých prípadoch enzymatickú aktivitu znížil. Najmenší pokles celkovej aktivity bol zaznamený s prídavkom rozpúšťadiel D1 a D2, D4 a D7. DES D1 a D2 obsahujú betaín ako HBA, zatiaľ čo D4 a D7 obsahujú etylénglykol ako HBD. Pri rozpúšťadlách D3 až D8, ktoré obsahujú cholín chlorid a cholín acetát ako akceptory vodíkovej väzby je vidieť výrazný pokles aktivity ak boli ako donory vodíkovej väzby použité glycerol alebo močovina.

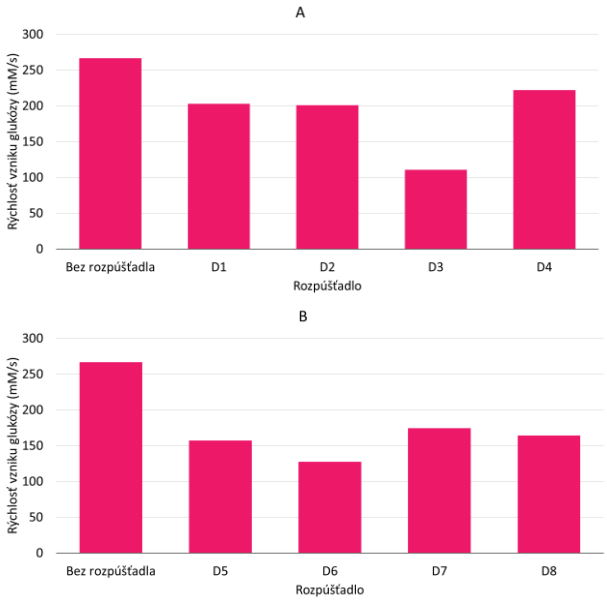
Vplyv pridaných rozpúšťadiel v porovnaní s reakciou bez prídavku rozpúšťadla na rýchlosti transglykozylácie a hydrolýzy je zobrazený na Obr. 2. Z obrázka je zjavné, že najlepší vplyv na transgalaktozyláciu tyrozolu má DES D1 a minimálny pokles transglykozylačnej aktivity na tyrozol bol zaznamenaný pri prídavku DES D2. Zároveň je vidno mierny nárast transglykozylačnej aktivity enzýmu voči laktóze. Z toho vyplýva, že betaín ako HBA pozitívne vplýva na transglykozylačnú aktivitu enzýmu a tento vplyv je výraznejší pri DES D1 s vyšším podielom betaínu. Pokles celkovej enzýmovej aktivity prídavkom týchto rozpúšťadiel sa prejavil poklesom hydrolytickej aktivity.

Vplyv ChCl a ChAc ako HBA sa prejavil poklesom transglykozylačnej aktivity na tyrozol aj na laktózu so súčasným poklesom hydrolytickej aktivity. Hoppe a kol. [10] zaznamenali vyššiu aktivitu β-galaktozidázy z *Kluyveromyces lactis* v prítomnosti DES s ChAc v koncentračnom rozsahu 5 – 20%. V prípade DES zhodnej s D8 zaznamenali dvojnásobný nárast aktivity enzýmu oproti kontrolnej vzorke. Odlišný vplyv DES v porovnaní s nami dosiahnutými výsledkami môže byť spôsobený rôznou štruktúrou β-galaktozidázy pochádzajúcej z rôznych mikroorganizmov. Vplyv DES s ChCl a polyolmi na enzymatickú deglykozyláciu flavonoidov enzýmom 6-O-α-ramnozyl-β-glukozidázou skúmali Weiz a kol. [11]. Používali DES zhodné s D3, D4

a D5. V prípade rozpúšťadla D5 nezaznamenali žiadnu enzýmovú aktivitu pri koncentrácii DES vyššej ako 40%, zatiaľ čo pri 40% DES D3 a D4 dosiahli 95% aktivitu enzýmu v porovnaní s kontrolnou vzorkou. Skúmaný bol aj vplyv jednotlivých zložiek DES na enzýmovú aktivitu, pričom v prítomnosti ChCl sa výrazne znížila aktivita enzýmu už pri nízkych koncentráciách. Nami získané výsledky však nedávajú presný obraz o vplyve ChAc a ChCl ako HBA a prejavil sa skôr odlišný vplyv jednotlivých donorov vodíkovej väzby.

Spomedzi nami študovaných donorov vodíkovej väzby mal najhorší vplyv na transglykozylačnú aj celkovú aktivitu glycerol, ktorý bol v zmesiach D3 a D6. V prítomnosti DES obsahujúcich glycerol klesla celková aktivita o viac ako polovicu v porovnaní s reakčnými podmienkami bez prídavku rozpúšťadla (Obr. 1). Detailnou analýzou reakčnej zmesi sme zistili, že glycerol tvoril transglykozylačný produkt s laktózou, pravdepodobne glycerol β-D galaktozid, čo znamená že glycerol je ďalším akceptorom galaktozylového zvyšku a konkurentom tyrozolu. Pre nedostupnosť štandardu sme tento produkt neboli schopní kvantifikovať. Je ale zrejmé, že glycerol je preferovaným akceptorom, vzhľadom na to, že sme zaznamenali výrazný pokles transglykozylačnej aktivity aj voči tyrozolu aj voči laktóze. Rozpúšťadlá D4 a D8 obsahujúce etylénglykol síce výrazne znížili rýchlosť prenosu galaktózy na laktózu, avšak hydrolytická aktivita v prítomnosti týchto rozpúšťadiel bola pomerne vysoká, čo je nežiadúcim efektom. Je možné, že etylénglykol je tiež akceptorom galaktozylu, ale pri podmienkach merania začiatočných rýchlostí sme nezaznamenali tvorbu produktu.

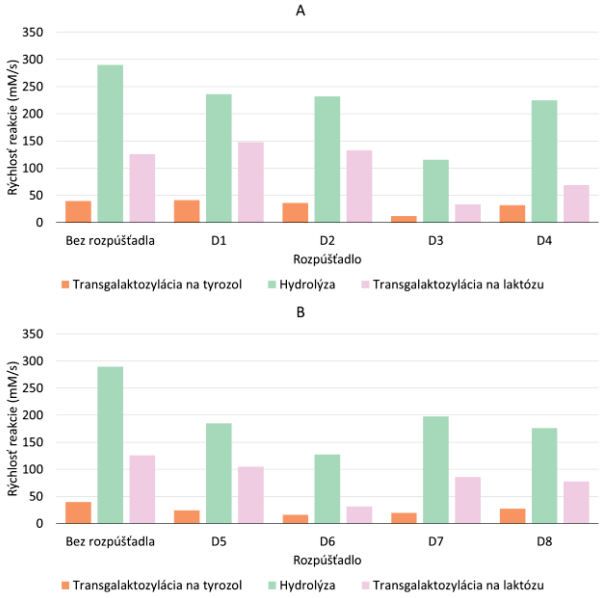
Na rozdiel od našich výsledkov, Hoppe a kol. vo svojich publikáciach [10, 12] uvádzajú, že eutektické rozpúšťadlá obsahujúce polyoly glycerol alebo etylénglykol ako HBD spôsobili dvoj až trojnásobné zvýšenie aktivity β-galaktozidázy z *Kluyveromyces lactis* v porovnaní so systémom bez DES. V prípade vyšších koncentrácií všetkých DES (>20%) aktivita enzýmu výrazne klesla pod aktivitu referenčnej vzorky. Takisto Weiz a kol. [11] zaznamenali nárast hydrolytickej aktivity enzýmu pri prídavku glycerolu a etylénglykolu samostatne a zníženie hydrolytickej aktivity v systéme s DES. Výrazné zvýšenie aktivity β-glukozidázy pri hydrolýze p-nitrofenyl-β-glukopyranozidu pozorovali aj Xu a kol. [13], pričom najlepší efekt mali DES obsahujúce etylénglykol a propylénglykol. Priaznivý vplyv DES s glykolmi ako HBD na aktivitu imobilizovanej β-glukozidázy zaznamenali aj Fotiadou a kol. [14]. Zistili, že aktivita enzýmu v prítomnosti DES so zložením rovnakým ako D3, D4 a D5 bola porovnateľná, respektíve v prítomnosti DES obsahujúcej močovinu klesla len mierne. Samozrejme, odlišné vplyvy DES môžu byť spôsobené rozdielnym druhom enzýmu a substrátu.



Obr. 1 Závislosť celkovej aktivity enzýmu v roztokoch s prídavkom 10 % DES.

Pri prídavku DES obsahujúcich močovinu (D1, D2, D5 a D8) sme zaznamenali pomerne vysoké hodnoty transglykozylačnej aktivity na tyrozol. To značí aj o pozitívnom vplyve močoviny ako HBD. Hoppe a kol. [10] uvádzajú, že nízke koncentrácie DES (5% alebo 10%) majú pozitívny vplyv na stabilitu enzýmu. Glycerol, ktorý je prítomný v D3 a D6, je známy stabilizátor enzýmov, avšak o močovine sa vie, že má denaturujúce účinky, preto je jej pozitívny vplyv na stabilitu enzýmu ako aj na transglykozylačnú aktivitu neočakávaný. Hoppe a kol. [12] zaznamenali zvýšenie rýchlosti hydrolýzy laktózy, pričom najlepší vplyv mali DES s cholín levulinátom ako HBA a glycerolom, etylénglykolom a močovinou ako HBD pri koncentrácii nižšej ako 20%. Nárast hydrolytickej aktivity pripísali práve cholín levulinátu. K uvedeným faktom je nutné podotknúť, že väčšina doteraz publikovaných výskumov sa zaoberala vplyvom prídavku DES na hydrolytickú aktivitu glykozyl hydroláz, a teda nie je jasný vplyv DES na transglykozylačnú aktivitu týchto enzýmov.

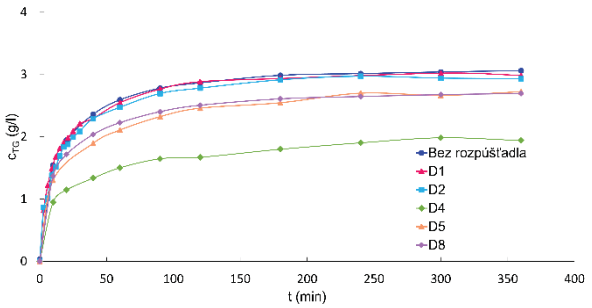
Vo všeobecnosti, pôsobenie DES na priebeh enzýmovej reakcie spočíva v prvom rade aktivácii a stabilizácii enzýmu v dôsledku pôsobenia DES na konformáciu enzýmu, a v druhom rade v zlepšení rozpustnosti ťažko rozpustných substrátov. Podľa Hammonda a kol. [15] v zriedených roztokoch DES (>50% hmotnostných vody) zložky DES preferenčne interagujú s enzýmom namiesto vody. V tejto súvislosti bolo pozorované, že zriedené DES ovplyvňujú štruktúru peroxidázy [16]. Navyše, špecifický vplyv na štruktúru proteínu bol pozorovaný v prítomnosti ChCl a ChAc v zriedenom roztoku DES, pričom vplyv ChCl a ChAc bol rozdielny [16]. Podľa Zhenkova a kol. [17] môže napriek riedeniu DES dochádzať k interakciám na povrchu proteínu s jednotlivými zložkami rozpúšťadla, a tak môže dochádzať k vzniku DES sytémov v okolí povrchu enzýmu, čoho dôsledkom je zvýšená aktivita a stabilita študovaného enzýmu vo vodnom prostredí.



Obr. 2 Porovnanie transglykozylačných a hydrolytických aktivít v roztokoch s prídavkom 10 % DES.

Z hľadiska začiatočnej rýchlosti reakcie vzhľadom na transfer galaktózy na tyrozol sa preukázali najefektívnejšie rozpúšťadlá obsahujúce betaín a močovinu (D1 a D2) a po nich DES s močovinou ako HBD (D5 a D8) a rozpúšťadlo D4 zložené z ChCl a etylénglykolu. Vplyv týchto rozpúšťadiel bol skúmaný aj v reakciách syntézy TG s reakčným časom až 6 hodín, ktorých priebeh je znázornený na Obr. 3. V týchto experimentoch neboli sacharidy analyzované z dôvodu problémov s refraktometrickým detektorom. Ako je vidieť, rozpúšťadlá D5 a D8 majú síce rôzny vplyv na začiatočné rýchlosti reakcií, ale nakoniec je priebeh syntézy TG takmer totožný. Môže to byť spôsobené tým, že ako vidieť na Obr. 2B, prídavok D5 síce znižuje začiatočnú rýchlosť hydrolýzy, avšak spôsobuje vyššiu aktivitu transglykozylácie laktózy v porovnaní s D8. Tento predpoklad by sa však musel overiť analýzou sacharidov. Množstvo pripraveného TG bolo najnižšie v prítomnosti rozpúšťadla D4, získali sme o tretinu menej produktu než bez prídavku DES. Jedným z dôvodov môže byť, že etylénglykol je konkurenčný akceptor galaktozylu a vo vyšších reakčných časoch vzniká príslušný glykozid. Priebeh produkcie TG s rozpúšťadlami D1 a D2 takmer prakticky kopíruje priebeh reakcie bez prídavku rozpúšťadla. Karkeszová a kol. [18] skúmali vplyv prídavku DES na syntézu tyrozol β-D-fruktozidu. Ako vhodná koncentrácia DES sa javil 10 % prídavok, pričom v prítomnosti 40 % DES nezaznamenali žiaden transfer fruktozylu na tyrozol. Podľa ich výsledkov sa D8 preukázalo ako najvhodnejšie rozpúšťadlo napriek najhoršiemu vplyvu na aktivitu enzýmu. Naopak, najvyššie začiatočné rýchlosti reakcie boli zaznamenané pri DES s betaínom, ale konečný výťažok tyrozol β-D-fruktozidu bol najmenší. Vo všetkých prípadoch však získali výrazne menšie výťažky než v kontrolnej vzorke. Naopak, zvýšenie produkcie salidrozidu (tyrozol β-D-glukopyranozidu) o 55 % v prítomnosti DES s obsahom ChCl ako HBA a butylénglykolu ako HBD pozorovali Fotiadou a kol. [14].

Zaujímavým javom, ktorý sme pozorovali na Obr. 3 je, že po začiatočnom prudkom náraste množstva vytvoreného TG sa koncentrácia TG ustálila na konštantnej hodnote. Množstvo TG v čase nevykazuje výrazné maximum, ktoré je typické pre kineticky riadenú transglykozyláciu a rýchlosť tvorby TG sa znížila prakticky na nulu. Je to pravdepodobne v dôsledku výsledného efektu rýchlostí prebiehajúcich paralelných reakcií, a/alebo v dôsledku inaktivácie enzýmu v priebehu reakcie. Podrobnému štúdiu priebehu reakcie sa budeme venovať v budúcnosti.



Obr. 3 Priebehové krivky reakcií transglykozylácie tyrozolu.

Záver

Táto práca sa venuje vplyvu prídavku zelených rozpúšťadiel na syntézu tyrozol β-D-galaktozidu enzýmovou reakciou. Ako zelené rozpúšťadlá boli zvolené rôzne hlboko eutektické rozpúšťadlá s rôznymi donormi a akceptormi vodíkových väzieb. Najprv sa skúmal vplyv rozpúšťadiel na začiatočné rýchlosti reakcií transglykozylácie tyrozolu a laktózy a hydrolýzy pri prídavku 10%. Ako najefektívnejším rozpúšťadlom sa preukázali rozpúšťadlá s betaínom, močovinou a vodou, ktoré boli v mólovom pomere 1,44:1:2,76 a 1:2:1,33. Nepodarilo sa však dosiahnuť vyššie koncentrácie produktu ako v prípade syntézy bez prídavku rozpúšťadla. Naopak v prítomnosti mnohých rozpúšťadiel sa tvorba žiadaného produktu zhoršila. Dôležitým poznatkom je, že štúdium začiatočných rýchlostí jednotlivých reakcií poskytuje informácie o preferencii enzýmu voči jednotlivým akceptorom, ale nedáva ucelený obraz o celkovom priebehu reakcie. Príčiny vplyvu vybraných DES na tvorbu TG a na stabilitu β-galaktozidázy bude potrebné ďalej študovať.

Poďakovanie

Tento výskum bol podporený Agentúrou na podporu výskumu a vývoja (číslo projektu: APVV-18-0188).

Použitá literatúra

[1] HOLLÁ, V. et al. 2021. Design of immobilized biocatalyst and optimal conditions for tyrosol β-galactoside production. In Bioprocess and Biosystems Engineering, vol. 44, no. 1, s. 93-101. ISSN 1615-7605.

[2] MARKOVIĆ, A.K. et al. 2019. Hydroxytyrosol, tyrosol and derivatives and their potential effects on human health. In Molecules, vol. 24, no. 10. ISSN 1420-3049.

[3] BARTNIK, M. a FACEY, P.C. Glycosides. In Pharmacognosy: Fundamentals, Applications and Strategy. 2007, s. 101-161. ISBN 01-2802-104-7.

[4] BHANGAVAN, N.V. Simple Carbohydrates. In BHANGAVAN, N. V. Medical Biochemistry, 2002, s. 133-151. ISBN 01-2095-440-0.

[5] GANGASANI, J. K. et al. Chemistry of herbal biomolecules. In Herbal Biomolecules in Healthcare Applications, 2022, s. 63-79. ISBN 03-2385-852-X.

[6] HERRERA-GONZÁLEZ, A. et al. 2017. Functionalization of natural compounds by enzymatic fructosylation. In Applied Microbiology and Biotechnology, vol. 101, no. 13, s. 5223-5234. ISSN 1432-0614.

[7] ABDUL MANAS, N.H. et al. 2018. Strategy in manipulating transglycosylation activity of glycosyl hydrolase for oligosaccharide production. In Critical Reviews in Biotechnology, vol. 38, no. 2, s. 272-293. ISSN 1549-7801.

[8] HOPPE, J. et al. 2019. Deep eutectic solvents based on choline cation – Physicochemical properties and influence on enzymatic reaction with β-galactosidase. In International Journal of Biological Macromolecules, vol. 136, s. 296-304. ISSN 0141-8130.

[9] PÉREZ-SÁNCHEZ, M. et al. 2011. Solvents derived from glycerol modify classical regioselectivity in the enzymatic synthesis of disaccharides with Biolacta β-galactosidase. In Green Chemistry, vol. 13, no. 10, s. 2810-2817. ISSN 1463-9262.

[10] HOPPE, J. et al. 2019. Deep eutectic solvents based on choline cation – Physicochemical properties and influence on enzymatic reaction with β-galactosidase. In International Journal of Biological Macromolecules, vol. 136, s. 296-304. ISSN 0141-8130.

[11] WEIZ, G. et al. 2016. Enzymatic deglycosylation of flavonoids in deep eutectic solvents-aqueous mixtures: paving the way for sustainable flavonoid chemistry. In Journal of Molecular Catalysis B: Enzymatic, vol. 130, s. 70-73. ISSN 1381-1177.

[12] HOPPE, J. et al. 2022. Acceleration of lactose hydrolysis using β-galactosidase and deep eutectic solvents. In Food Chemistry, vol. 384. ISSN 0308-8146.

[13] XU, W. et al. 2018. Improving β-glucosidase biocatalysis with deep eutectic solvents based on choline chloride. In Biochemical Engineering Journal, vol. 138, s. 37-46. ISSN 1369-703X.

[14] FOTIADOU, R. et al. 2022. Effect of deep eutectic solvents on the biocatalytic properties of β-glucosidase@ZnOFe nano-biocatalyst. In Sustainable Chemistry and Pharmacy, vol. 30. ISSN 2352-5541.

[15] HAMMOND, O. S. et al. 2017. The Effect of Water upon Deep Eutectic Solvent Nanostructure: An Unusual Transition from Ionic Mixture to Aquaeous Solution. In Angewandte Chemie International Edition in English, vol. 56, s. 9782-9785. ISSN 0044-8249.

[16] WU, B. et. al. 2014. Insights into the impact of deep eutectic solvents on horseradish peroxidase: Activity, stability and structure. In Journal of Molecular Catalysis B: Enzymatic, vol. 101, s. 101-107. ISSN 1381-1177.

[17] ZHENKOV, T. et al. 2017. Formation of type III Deep Eutectic Solvents and effect of water on their intermolecular interactions. In Fluid Phase Equilibria, vol. 441, s. 43-48. ISSN 0378-3812.

[18] KARKESZOVÁ, K. et al. 2023. Medium engineering of phenyletanoid transfructosylation catalysed by yeast β-fructofuranosidase. In Bioprocess and Biosystems Engineering, vol. 46, s. 237-249. ISSN 1615-7605.

Využitie syntetickej modifikácie prírodných ílov s cieľom zlepšenia ich adsorpčných vlastností

The use of synthetic modification of natural clays with the aim of improving their adsorption properties

Michaela Selepová[1]
Školiteľ: Matej Šuránek[2]
[1,2] Katedra chémie, FPV UMB, Tajovského 40, 974 01 Banská Bystrica
[1]michaela.selepova@student.umb.sk,[2] matej.suranek@umb.sk

Abstrakt

Znečistenie životného prostredia iónmi ťažkých kovov sa stalo závažným problémom pre ich škodlivý vplyv na ľudské zdravie a vzniku environmentálnej záťaže, z dôvodu ich akumulácie v odpadových a povrchových vodách.

Íly sú dôležitou súčasťou pedosféry. Okrem iných významných vlastností, sú výbornými adsorpbentmi iónov ťažkých kovov. S obľubou sa používajú v environmentálnych technologických aplikáciách pretože sú ekonomické, prirodzene sa vyskytujú v prírode – možno ich ťažiť a sú tiež environmentálne stabilné. Medzi montmorillonitické íly patrí napríklad bentonit, ktorý a ťaží na ložiskách v rôznych častiach Slovenska. Aplikácia prírodných bentonitov je však zvyčajne obmedzená ich adsorpčnou kapacitou.

Primárnym cieľom predkladanej práce je zhodnotenie adsorpčnej efektivity povrchovo modifikovaného bentonitu kyslou aktiváciou spojenou s termickou aktiváciou, modifikáciou soľami alkalických kovov a kovov alkalických zemín a polymérom. Primárnym aplikačným cieľom bolo odstránenie iónov olova (Pb^{2+}) z vodného roztoku. Zmeny v štruktúre bentonitov sme sledovali pomocou infračervenej spektroskopie, sme stanovili pH_{ZPC} jednotlivých modifikovaných bentonitov a vyhodnotili sme ich základné adsorpčné charakteristiky.

Kľúčové slová: bentonit, modifikácia, adsorpcia, ťažké kovy

Abstract

Pollution of the environment with heavy metal ions has become a serious problem due to their harmful effects on human health and the creation of environmental burdens, because of their accumulation in wastewater and surface water.

Clays are an important component of the pedosphere. Among their significant properties, they are excellent adsorbents of heavy metal ions. They are commonly used in environmental technological applications because they are economical, naturally occurring, can be mined, and are also environmentally stable. One example of montmorillonite clays is bentonite, which is mined in various parts of Slovakia. However, the application of natural bentonites is typically limited by their adsorption capacity.

The primary objective of this work is to evaluate the adsorption efficiency of surface-modified bentonite by acid activation combined with thermal activation, modification with alkali and alkaline earth metal salts, and polymer modification. The primary application goal was the removal of lead ions (Pb^{2+}) from an aqueous solution. Changes in the structure of bentonites were monitored using infrared spectroscopy, the pH_{ZPC} of each modified bentonite was determined, and their basic adsorption characteristics were evaluated.

Key Words: clay, modification, adsorption, heavy metals

Úvod

Ťažké kovy patria medzi kontaminanty odpadových vôd, preto sa venuje vysoká pozornosť metódam a postupom, pomocou ktorých možno ich koncentráciu efektívne znižovať. [1]

Medzi najrozšírenejšie postupy a techniky odstraňovania ťažkých kovov z odpadových vôd patria: chemické zrážanie, koagulácia, membránová filtrácia, adsorpcia, elektro-dialýza a iónová výmena. Najčastejšie využívaným spôsobom je adsorpcia pre jej vysokú účinnosť a nízke prevádzkové náklady. Vhodnými adsorpčnými materiálmi sú napríklad íly s majoritným obsahom ílových minerálov, najčastejšie skupiny zo skupiny smektitov [2], [3]

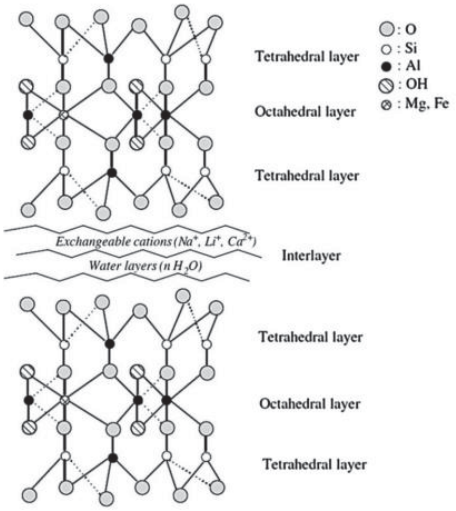
Ílové minerály sú považované za vynikajúce prírodné adsorbenty kvôli ich nízkej cene, dostupnosti a dobrým adsorpčným vlastnostiam. [4] Patria medzi hydratované hlinito-kremičitany s malou veľkosťou

častíc, všeobecne definované ako minerály, ktoré tvoria koloidnú frakciu pôd, sedimentov, hornín a vody. [5]

Naviac používaným adsorbentom s majoritným obsahom ílového minerálu montmorillonitu je bentonit, ktorý je mineralógmi považovaný za nečistý rudný íl sopečného pôvodu. [6] Hlavnou zložkou bentonitu je montmorillonit (cca 50 – 80 hm. %) a ďalšie kryštalické štruktúry ako saponit, nontronit a hektorit. [7] Montmorillonit patrí do skupiny smektitov, ílových minerálov, ktorých štruktúra sa skladá z dvoch tetraédrických sietí navzájom previazaných jednou oktaedrickou sieťou. [8]

Tetraedrické siete sú zložené z individuálnych tetraédrov $(SiO_4)^{4-}$ v ktorých je každý atóm kremíka koordinovaný štyrmi aniónmi kyslíka alebo hydroxidovými skupinami. Jednotlivé tetraédre vytvárajú zdieľaním troch bazálnych kyslíkov hexagonálnu mriežku. [9] Oktaedrická sieť je tvorená koordinačným oktaédrom, kde sa v strede oktaédra nachádza katión kovu (Al^{3+}) a vrcholy sú obsadené aniónmi kyslíka alebo hydroxidovými skupinami. [10] Tetraedrická a oktaedrická sieťka medzi sebou interagujú pomocou slabých Van der Waalsových síl. [10]

Izomorfná substitúcia v tetraedrických a/alebo oktaedrických mriežkach generuje negatívny náboj na vrstvách, ktorý je vyvážený hydratovanými vymeniteľnými katiónmi a vodou. [11]



Obr. 1 Štruktúra montmorillonitu
Zdroj: [12]

Adsorpčné vlastnosti bentonitov, môžu byť zvýšené chemickou alebo fyzikálnou úpravou. Na úpravu, resp. modifikáciu ílových minerálov sa používa aktivácia anorganickými kyselinami, zásadami, soľami, tepelná úprava, polymérom modifikovaný íl a povrchovo aktívne látky. [13]

V tomto príspevku sa budeme venovať rôznym spôsobom modifikácie bentonitu.

1 Príprava a charakterizácia adsorbentov

Na modifikáciu prírodného bentonitu boli použité chemikálie analytickej čistoty, odpadový papier z tlačiarne modelu HP 1010 LaserJet a bentonit, komerčne označovaný ako P130.

Bentonit P130 pochádzal z ložiska Lieskovec, ktoré sa nachádza v blízkosti obce Zvolenská Slatina, modifikovali sme ho s cieľom zvýšiť jeho adsorpčné vlastnosti. V Tab. 1 sa nachádzajú vlastnosti prírodného bentonitu deklarované výrobcom.

Tabuľka 1 Vlastnosti prírodného bentonitu
Zdroj: [14]

Jemnosť mletia	min. 95 % pod 0,045 mm
Vlhkosť	max. 12 %
pH	9.11
Obsah montmorillonitu	min. 75 %

1.1 Modifikácia soľami

Referenčnú vzorku neupraveného prírodného bentonitu sme miešali pri 70 °C v 1 M roztoku NaCl (NaCl/bentonit = 50 % wt). Po 4 hodinách vzorku premyli destilovanou vodou a celý proces zopakovali celkovo 4-krát. Po ukončení modifikácie vzorku prefiltrovali, premyli destilovanou vodou a vysušili v sušiarni. Pripravili sme bentonit A – NaCl, rovnakým spôsobom sme pripravili bentonit B – $CaCl_2$, namiesto roztoku NaCl sme použili 1 M roztok $CaCl_2$.

1.2 Kombinovaná termická a kyslá aktivácia

Prírodný bentonit (200 g) sme počas jednej hodiny miešali pri izbovej teplote v 600 ml 0,1 M roztoku H_2SO_4. Spracovaný bentonit oddelili a premyli destilovanou vodou, následne ho zahriali v Muflovej peci s cieľom bentonit tepelne aktivovať pri 900 °C. Pripravili sme bentonit C – H_2SO_4 + T.

1.3 Modifikácia polymérom

Odpadový papier sme na 48 hodín namočili do destilovanej vody a následne ho zhomogenizovali. Skartovaný papier potom odfarbili v zmesi chloroformu

a dimetylsulfoxidu, suspen+ziu 15 minút sonikovali, odfarbený papier odfiltrovali a vysušili. Papier zbavený atramentu (2 g) rozpustili v 1 M NaOH na odstránenie nečistôt a napučanie celulózového vlákna. Zmes sme miešali 3 hodiny pri teplote miestnosti. Takto upravený papier spracovali s 64 % kyselinou sírovou pri zvýšenej teplote počas jednej hodiny. Zmes oddelili odstredením, zakalený supernatant sme zozbierali a umiestnili do mrazničky.

Pred použitím sme bentonit prečistili v 30% roztoku peroxidu vodíka za stáleho miešania pri teplote miestnosti počas 24 hodín, aby sa odstránili organické nečistoty. Hmotnostný pomer bentonitu a roztoku peroxidu vodíka bol 1:5. Purifikovaný bentonit sme oddelili z roztoku odstredením a premyli ho destilovanou vodou.

Do 200 g bentonitu miešanom vo vode sme pridali supernatant, túto disperziu miešali pri izbovej teplote počas 1 hodiny. Vzniknutý bentonit sušili v sušiarni pri 105 °C. Pripravili sme bentonit D - celulóza.

1.4 Adsorpčné experimenty

Na adsorpčné experimenty sme použili centrifugačné skúmavky s oblým dnom. V skúmavke zmiešali 0,01 g adsorbentu s 20 ml roztoku olova s koncentráciou 10 - 300 mg.l^{-1}. Adsorpčné experimenty boli uskutočnené dvakrát aby sa zabezpečila, čo najmenšia chyba stanovenia koncentrácie kovu po adsorpcii, spôsobená diverzitou povrchu použitých materiálov. Skúmavky sa potom pretrepávali pri teplote 25 °C v trepačke pri 200 ot./min po dobu 2 hodín.

Na stanovenie koncentrácie olova v roztoku pred a po adsorpčných experimentoch bola použitá atómová absorpčná spektrometria. Použitá technika spočívala v plameňovej atomizácii, palivom bola zmes vzduch-acetylén, pri vlnovej dĺžke 283,30 nm - pre všetky koncentrácie Pb^{2+}.

Na výpočet percenta adsorpcie Pb^{2+} bola použitá rovnica (1):

$$Ads.\% = \frac{c_0 - c_k}{c_0} \times 100 \qquad (1)$$

kde c_0 je začiatočná koncentrácia Pb^{2+} (mg.l^{-1}) a c_k je koncentrácia Pb^{2+} (mg.l^{-1}) na konci merania.

Množstvo adsorbovaného Pb^{2+} na hmotnostnú jednotku adsorbentu q_e (mg.g^{-1}) bolo vypočítané podľa rovnice (2):

$$q_e = \frac{(c_0 - c_k) \times V}{m} \qquad (2)$$

kde V je objem roztoku Pb^{2+} a m je hmotnosť vzorky adsorbentu (g).

1.5 pH_{ZPC}

Na zistenie pH, pri ktorom je povrchový náboj materiálov nulový sme pripravili 0,01 M roztok NaCl, prebublávaním argónom z roztoku odstránili rozpustený CO_2. Upravili pH roztoku NaCl na pH 2, do 10 ml tohto roztoku pridali 30 mg materiálu. Rovnaký postup sme zopakovali aj pri začiatočnom pH 4, 6, 8, 10 a 12, a všetkých modifikáciách. Každú vzorku nechali trepať pri 200 ot./min počas 24 hodín. Po uplynutí stanoveného času zmerali finálne pH.

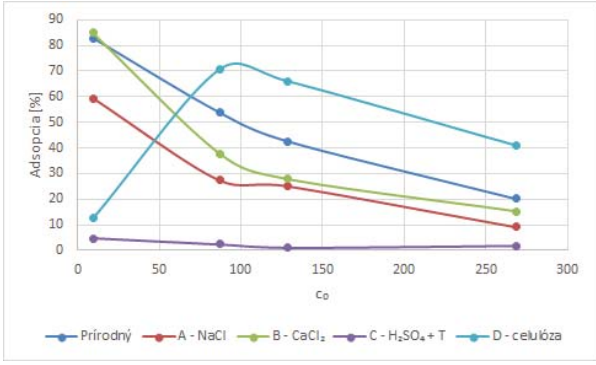
1.6 Infračervená spektroskopia

IČ spektrá ílových minerálov sú bohaté na informácie o ich štruktúre a chemickom zložení. IČ spektrá boli získané na Nicolet™ iS50 FTIR Spektrometer od Thermo Scientific pri rozlíšení 4 cm^{-1} a 32 skenoch v strednej infračervenej oblasti (400 – 4000 cm^{-1}).

2 Výsledky a diskusia

2.1 Adsorpčné experimenty

Vplyv začiatočnej koncentrácie kovu na adsorpčnú schopnosť vzoriek bol skúmaný v rozmedzí koncentrácii Pb^{2+} 10 – 300 mg.l^{-1} Obr. 2.

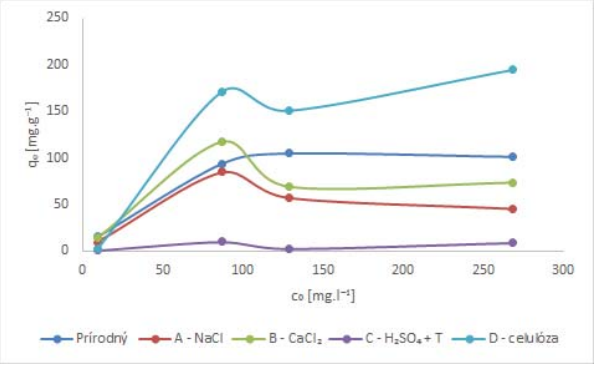


Obr. 2 Efekt začiatočnej koncentrácie Pb^{2+} na adsorpčnú kapacitu materiálov – podmienky experimentu: 10 mg adsorbentu, 20 ml roztoku Pb^{2+}, teplota v laboratóriu: 25 °C
Zdroj: autor

Adsorpčná kapacita sa u väčšiny bentonitov výrazne zvýšila so zvyšujúcou sa koncentráciou Pb^{2+}. Po dosiahnutí koncentrácie 100 mg.l^{-1} sa adsorpčná kapacita zvyšovala mierne. Výnimkou bol bentonit C, ktorého adsorpčná kapacita dosahovala nízke hodnoty,

dôvodom mohlo byť nadmerné poškodenie štruktúry bentonitu kyselinou sírovou a tým strata adsorpčnej kapacity. Najväčšiu adsorpčnú kapacitu mal bentonit D, ktorej hodnota pri začiatočnej koncentrácii 300 $mg.l^{-1}$ bola 194,80 $mg.g^{-1}$.

V Obr. 3 je zobrazená závislosť adsorpčného percenta bentonitov od začiatočnej koncentrácie iónov kovu.



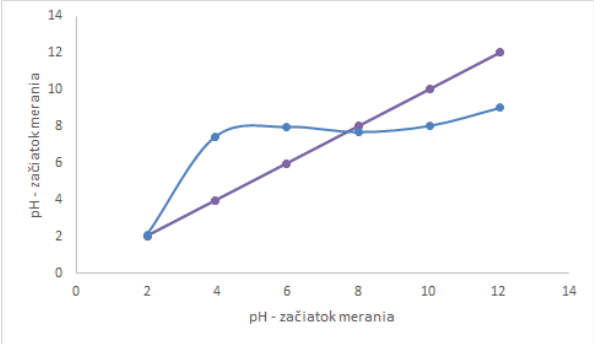
Obr. 3 Efekt začiatočnej koncentrácie Pb^{2+} na adsorpčné percento
Zdroj: autor

Najvyššiu hodnotu adsorpčného percenta pri koncentrácii 10 $mg.l^{-1}$ dosiahol bentonit B – $CaCl_2$ (84,8 %) a najnižšiu bentonit C - H_2SO_4 + T (4,7%), pri koncentrácii 100 $mg.l^{-1}$ najvyššie adsorpčné percento bentonit D - celulóza (70,6 %).

2.2 Stanovenie pH_{ZPC} použitých materiálov

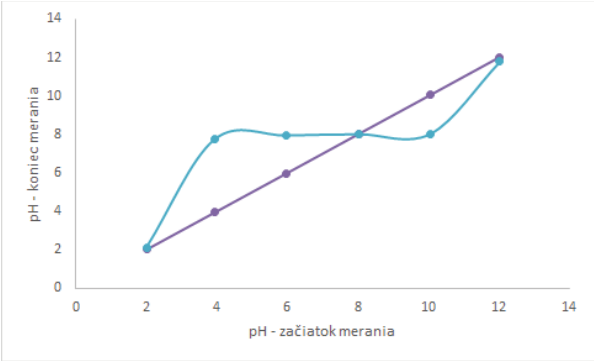
Bod pri ktorom je povrchový náboj bentonitu nulový a nepriťahuje ani neodpudzuje nabité častice, je veľmi dôležitý parameter, ktorý ovplyvňuje adsorpčné vlastnosti bentonitov.

Pri hodnotách pH pod pH_{zpc} je povrch materiálu nabitý kladne, pri hodnotách pH nad pH_{zpc} je povrch nabitý záporne. Preto pochopenie pH_{zpc} adsorpčného materiálu je rozhodujúce pri optimalizácii adsorpčných procesov a vývoji účinných adsorpčných materiálov. Zmenou pH roztoku je možno manipulovať s povrchovým nábojom adsorpčného materiálu a zvýšiť jeho adsorpčnú kapacitu pre špecifické cieľové molekuly alebo ióny.



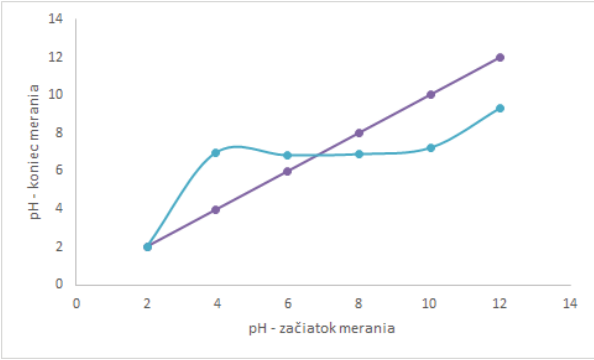
Obr. 4 Experimentálne stanovenie pH_{zpc} bentonitu A – NaCl
Zdroj: autor

Hodnota bodu pH pri ktorom je povrchový náboj bentonitu A - NaCl nulový je 7,7.



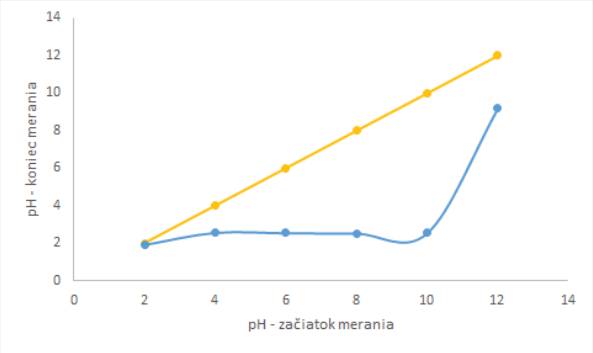
Obr. 5 Experimentálne stanovenie pH_{zpc} bentonitu B – $CaCl_2$
Zdroj: autor

Bod pH_{zpc} bentonitu B - $CaCl_2$ je 8,03.



Obr. 6 Experimentálne stanovenie pH_{zpc} bentonitu C – H_2SO_4 + T
Zdroj: autor

Experimentálne sme stanovili pH_{zpc} bentonitu *C* – H_2SO_4 *+ T*, ktoré malo hodnotu 6,8.

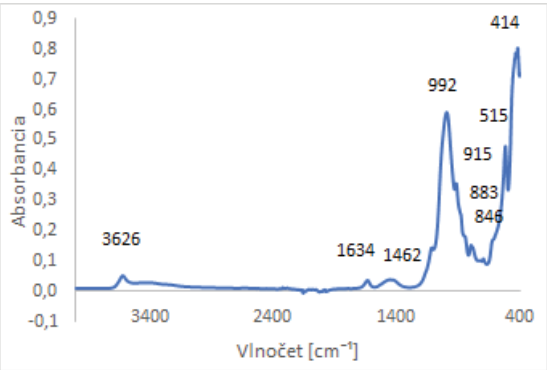


Obr. 7 Experimentálne stanovenie pH_{zpc} bentonitu D - celulóza
Zdroj: autor

Hodnotu pH pri ktorej je náboj povrchu materiálu nulový sa nám pri bentonite D – celulóza nepodarilo experimentálne stanoviť, predpokladáme, že hodnota pH_{zpc} bude menšia ako 2.

2.3 Infračervená spektroskopia

Absorpčné pásy prítomné v MIR spektrách (4000–400 cm^{-1}) ílových minerálov môžu súvisieť s vibráciami (stretching a bending) ich základných funkčných skupín, teda skupín OH a Si–O.



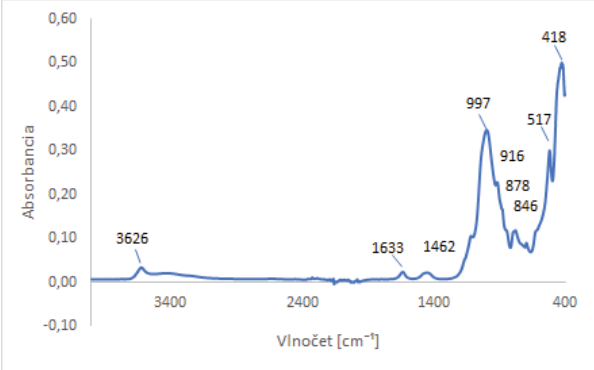
Obr. 8 IČ spektrum prírodného bentonitu
Zdroj: autor

Píky pri 3626 cm^{-1} a 1700-1400 cm^{-1} zodpovedajú valenčným a deformačným vibráciám molekúl vody prítomných v bentonite.

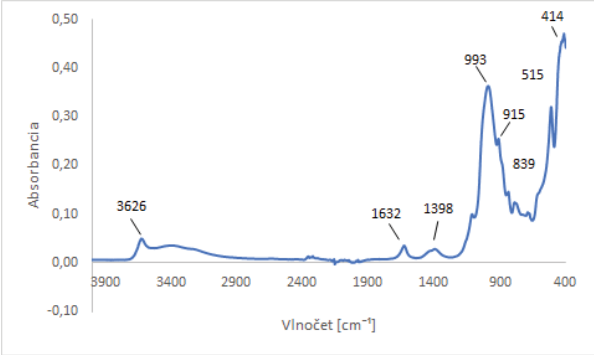
Valečné vibrácie Si–O sa vyskytujú v oblasti 1200–700 cm^{-1}. Deformačné vibrácie Si–O ležiace medzi 600 - 400 cm^{-1} sú silne spojené s vibráciami oktaedrických atómov a/alebo s vibráciami hydroxylových skupín.

Tri deformačné vibrácie hydroxylových skupín pri 915 cm^{-1} (AlAlOH), 885 cm^{-1} (AlFeOH) a 846 cm^{-1} (AlMgOH) sú spojené so substitúciou Al^{3+} za Fe^{2+} alebo Mg^{2+} v oktaedrickej mriežke. Signál v tejto oblasti môžu spôsobovať aj akcesorické minerály absorbujúce v tej istej oblasti. [11], [15], [16]

Porovnaním spektrier prírodného bentonitu v Obr. 8 so spektrami jeho modifikovaných verzií Obr. 9 a Obr. 10 , môžeme tvrdiť, že modifikáciou došlo k minimálnej zmene štruktúry pôvodného bentonitu.



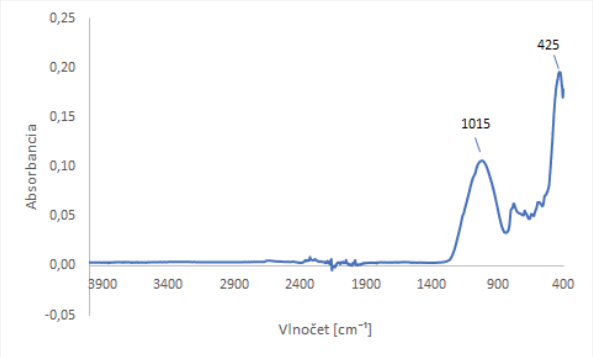
Obr. 9 IČ spektrum bentonitu A - NaCl
Zdroj: autor



Obr. 10 IČ spektrum bentonitu B – $CaCl_2$
Zdroj: autor

Spektrum bentonitu C – H_2SO_4 + T v Obr. 11 sa od spektra prírodného bentonitu líši obsahom vody v medzi-vrstvovom priestore. Píky pri 3626 a 1634 cm^{-1}, ktoré zodpovedajú valenčným a deformačným vibráciám molekúl vody prítomných v prírodnom bentonite sa v IČ spektre bentonitu C nenachádzajú. Dôvodom je to, že tento bentonit bol podrobený termickej aktivácii pri 900 °C, voda, ktorá sa nachádzala v medzi-vrstvovom priestore a na povrchu bola odstránená.

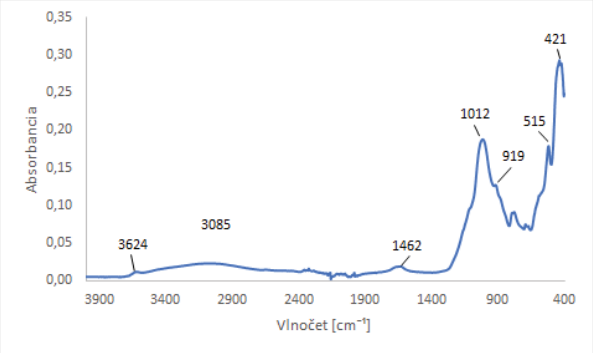
Intenzita deformačnej vibrácie OH-skupiny pri 836 cm^{-1} (AlMgOH) a 875 cm^{-1} (AlFeOH) sa znížila, čo naznačuje eliminovanie substituovaného Mg^{2+} a Fe^{2+} kyselinou. [17]



Obr. 11 IČ spektrum bentonitu C H_2SO_4 + T
Zdroj: autor

Charakteristický pík bentonitu v Obr. 12 pri 1012 cm^{-1} označuje väzbu Si−O v bentonite, posunutie píku z 992 cm^{-1} na 1012 cm^{-1} bolo pravdepodobne spôsobené odhalením tetraédrickej mriežky nanokryštalickou celulózou.

Oblasť 2700 – 3400 cm^{-1} zodpovedá väzbe C−H a viazanému OH z nanokryštalicej celulózy. [18]



Obr. 12 IČ spektrum bentonitu D – celulóza
Zdroj: autor

Záver

V tejto štúdii boli vykonané rôzne modifikácie prírodného bentonitu s cieľom zvýšiť jeho adsorpčný potenciál na odstránenie Pb^{2+} z vodných roztokov. Výsledky ukázali, že najúčinnejším adsorbentom bol bentonit D - celulóza, ktorý bol upravený modifikáciou polymérom. Jeho vysoká sorpčná kapacita a schopnosť odstrániť olovnaté katióny z vodného roztoku naznačujú jeho potenciál na použitie pri čistení odpadových vôd. Ostatné modifikácie neboli v odstraňovaní olovnatých katiónov z vodného roztoku tak efektívne. Máme za to, že to bolo spôsobené obsadením aktívneho miesta adsorbentu inými iónmi počas procesu modifikácie a teda nemohlo dôjsť k adsorpcii olovnatých katiónov.

Bod nulového náboja (pH_{zpc}) je kľúčovým parametrom, ktorý ovplyvňuje adsorpčné vlastnosti bentonitov. Z experimentálnych údajov uvedených v obrázkoch 3, 4 a 5 je zrejmé, že hodnoty pH_{zpc} pre bentonit A -NaCl, B – $CaCl_2$ a C - H_2SO_4 + T boli 7,7, 8,03 a 6,8.

Hodnoty pH pod pH_{zpc} zodpovedajú kladne nabitému povrchu materiálu, čo môže zvýšiť adsorpciu aniónov a znížiť adsorpciu katiónov. Pri hodnotách pH nad pH_{zpc} je povrch nabitý záporne, čo môže zvýšiť adsorpciu katiónov a znížiť adsorpciu aniónov. Výsledkom je, že adsorpčné správanie sorbentov ovplyvňuje pH roztoku. Tieto hodnoty môžu byť využité na predpovedanie správania týchto bentonitov v rôznych environmentálnych a priemyselných aplikáciách, ako je úprava vody, hospodárenie s odpadovými vodami a sanácia pôdy.

Porovnaním IR spektier prírodného bentonitu s jeho modifikovanými verziami sa zistilo, že modifikácia spôsobila len minimálne zmeny v štruktúre pôvodného bentonitu. Spektrum bentonitu C, ktorý bol podrobený kyslej a termickej aktivácii pri 900 °C, sa líši od spektra prírodného bentonitu obsahom vody v medzi-vrstvovom priestore. Píky pri 3626 a 1634 cm^{-1}, ktoré zodpovedajú valenčným a deformačným vibráciám molekúl vody prítomných v prírodnom bentonite sa v IČ spektre bentonitu C – H_2SO_4 + T nenachádzajú.

Predložená práca potvrdila hypotézu o vysokej efektivite pri procese adsorpcie olovnatých iónov bentonitom modifikovaným celulózou. Víziou do budúcna je rozšíriť adsorpčnú štúdiu o iné katióny kovových iónov, akými sú napríklad Cu^{2+}, Ni^{2+}, Cd^{2+} a iné.

Použitá literatúra

[1] JIN, Xiaoying et al. 2016. Characterization of bentonite modified with humic acid for the removal of Cu (II) and 2,4-dichlorophenol from aqueous solution. In Applied Clay Science, vol. 134, no. 2, pp. 89-94. DOI: 10.1016/j.clay.2016.09.036.

[2] ESPAÑA, A. A. Victor et al. 2019. Environmental applications of thermally modified and acid activated clay minerals: Current status of the art. In Environmental Technology & Innovation, vol. 13, pp. 383-397. DOI: 10.1016/j.eti.2016.11.005.

[3] LIN, Zongkun et al. 2021. Preparation of Chitosan/Calcium Alginate/Bentonite Composite Hydrogel and Its Heavy Metal Ions Adsorption

Properties. In Polymers, vol. 13, no. 11, pp. 1891. DOI: doi: 10.3390/polym13111891.

[4] DONG, Yingbo, ZHANG, Pengfei and LIN, Hai. 2022. A Review of Modified Clay Minerals for Thallium Absorption from Aqueous Environment: Preparation, Application, and Mechanism. In Water Air Soil Pollut. vol. 233, no. 12, pp. 532. DOI: 10.1007/s11270-022-05987-x.

[5] XU, Yi et al. 2017. Remediation of Heavy Metal-Polluted Agricultural Soils Using Clay Minerals: A Review. In Pedosphere, vol. 27, no. 2, pp. 193-204. DOI: 10.1016/S1002-0160(17)60310-2.

[6] UDDIN, K. Mohammad. 2017. A review on the adsorption of heavy metals by clay minerals, with special focus on the past decade. In Chemical Engineering Journal, vol. 308, pp. 438-462. DOI: 10.1016/j.cej.2016.09.029.

[7] ALEXANDER, A. Jock et al., 2018. Surface modification of low-cost bentonite adsorbents—A review. In Particulate Science and Technology, vol.37, no. 5, pp. 538-549. DOI: 10.1080/02726351.2018.1438548.

[8] SLANÝ, Michal, JANKOVIČ, Ľuboš and MADEJOVÁ, Jana. 2022. Near-IR study of the impact of alkyl-ammonium and -phosphonium cations on the hydration of montmorillonite. In Journal of Molecular Structure, vol. 1256, pp. 132568. DOI: 10.1016/j.molstruc.2022.132568.

[9] ADEYEMO, A. Aderonke, ADEOYE, O. Idowu and BELLO, S. Olugbenga. 2017. Adsorption of dyes using different types of clay: a review. In Appl Water Science, vol. 7, no. 2, pp.543-568. DOI: 10.1007/s13201-015-0322-y.

[10] KARPIŃSKI, Bartłomiej and SZKODO, Marek. 2015. Clay Minerals – Mineralogy and Phenomenon of Clay Swelling in Oil & Gas Industry. In Advances in Materials Science, vol. 15, no. 1, pp. 37-55. DOI: 10.1515/adms-2015-0006.

[11] MADEJOVÁ, Jana et al. 2017. IR Spectra of Clay Minerals. In Developments in Clay Science, vol. 8, pp. 107 149. DOI: 10.1016/B978-0-08-100355-8.00005-9.

[12] KHOURY, N. Hani. 2019. Review of clays and clay minerals in Jordan. In Arabian Journal of Geosciences, vol. 12, no. 23, pp. 706. DOI: 10.1007/s12517-019-4882-2.

[13] NASSER, M.S. et al. 2016. Intercalation of ionic liquids into bentonite: Swelling and rheological behaviors. In Colloids and Surfaces A: Physicochemical and Engineering Aspects, vol. 507, pp. 141-151. DOI: 10.1016/j.colsurfa.2016.08.006.

[14] Bentonit P 130. [online]. Bentonite: Enviego, a.s., 2003 [cit. 15.03.2023] Dostupné z: http://www.bentonite.sk/bentonit/bentonit_p130.htm

[15] CECILIA, J. A. et al. 2018. Synthesis, Characterization, Uses and Applications of Porous Clays Heterostructures: A Review. In Chemical Record, vol. 18, no. 7-8, pp. 1085-1104. DOI: 10.1002/tcr.201700107.

[16] MADEJOVÁ, Jana et al. 2010. IR spectroscopy of clay minerals and clay nanocomposites. In *Spectroscopic Properties of Inorganic and Organometallic Compounds*, vol. 1, pp. 22-71. DOI: 10.1039/9781849730853-00022.

[17] TYAGI, Beena et al. 2006. Determination of structural modification in acid activated montmorillonite clay by FT-IR spectroscopy. In Spectrochimica Acta Part A: Molecular and Biomolecular Spectroscopy, vol. 64, no. 2, pp. 273-278. DOI: 10.1016/j.saa.2005.07.018.

[18] PUTRO, J.N. et al. 2017. Investigation of heavy metal adsorption in binary system by nanocrystalline cellulose – Bentonite nanocomposite: Improvement on extended Langmuir isotherm model. In Microporous Mesoporous Mater, vol. 246, pp. 166-177. DOI: 10.1016/j.micromeso.2017.03.032.

Mobilita kovov v extenzívnych strešných substrátoch s prídavkom karbonizovaných čistiarenských kalov

Mobility of metals in extensive roof substrates with carbonised sewage sludge

Lenka Vavrincová[1] – Jana Urbanová[2] – Martin Pipíška[3]
Školiteľ: Martin Pipíška[3]
[1,2,3]Katedra chémie, Pedagogická fakulta, Trnavská univerzita, Priemyselná 4, 918 43 Trnava
[1] lenka.vavrincova@tvu.sk, [2]jana.urbanova@tvu.sk, [3]martin.pipiska@truni.sk

Abstrakt

Efektívne zhodnocovanie čistiarenských kalov je v súčasnosti čoraz častejšie diskutovanou otázkou. Bežný spôsob úpravy znemožňuje ich aplikáciu v poľnohospodárstve z dôvodu prítomnosti patogénov, farmaceutických rezíduí a vysokého obsahu extrahovateľných kovov. Aj preto v tejto práci pozornosť smerujeme k menej tradičnému spôsobu ich zhodnocovania - termochemickej konverzii kalov na biouhlie a jeho využitiu ako zložky extenzívnych strešných substrátov. Výsledky naznačujú, že 10 a 20% prídavok karbonizovaných kalov výrazne nezvyšuje koncentráciu Zn, Cu, Mn a Fe v odtekajúcej dažďovej vode a nadzemných častiach rastlín rodu *Sedum* rastúcich na experimentálnych zelených plochách. Na základe týchto výsledkov usudzujeme, že termochemická konverzia kalov má za následok zníženie mobility kovov a teda prídavok biouhlia nepredstavuje z hľadiska záťaže životného prostredia kovmi významnejšie riziko.

Kľúčové slová: čistiarenské kaly, pyrolýza, mobilita kovov, extenzívny strešný substrát

Abstract

Efficient recovery of sewage sludge is an issue that is increasingly discussed today. The conventional treatment method prevents their application in agriculture due to the presence of pathogens, pharmaceutical residues and high content of extractable metals. Therefore, in this paper we focus on a less traditional way of their recovery - thermochemical conversion of sludge to biochar and its use as a component of extensive roofing substrates. The results indicate that 10 and 20% addition of carbonized sludge does not significantly increase the concentration of Zn, Cu, Mn and Fe in stormwater runoff and aboveground parts of *Sedum* plants growing on the experimental green plots. Based on these results, we conclude that the thermochemical conversion of sludge results in a reduction of metal mobility and thus the addition of biochar does not pose a significant hazard in terms of environmental metal load.

Key Words: sewage sludge, pyrolysis, metal mobility, extensive roof substrate

Úvod

Rastúci trend svetovej urbanizácie naznačuje, že kým v roku 2020 žilo v mestách 56 % svetovej populácie, do roku 2030 táto hodnota stúpne na 60 % [1, 2]. Nárast urbanizácie sa spája s čoraz intenzívnejším nahrádzaním prírodných plôch nepriepustnými povrchmi, čo významne prispieva k rôznym environmentálnym problémom (povodne, nadmerné hromadenie a vyplavovanie znečisťujúcich látok, vznik mestských tepelných ostrovov) [3, 4]. Ako efektívny prostriedok na elimináciu negatívnych vplyvov urbanizácie na životné prostredie sa javí zavádzanie zelenej infraštruktúry do miest, vďaka ktorej dochádza k zachytávaniu a zadržiavaniu dažďovej vody a k upravovaniu jej kvality. Typickými príkladmi zelenej infraštruktúry sú chodníky priepustné pre dažďovú vodu, vertikálne záhrady a v neposlednom rade zelené strešné systémy [5].

Zelené strechy preukázateľne zlepšujú hospodárenie s dažďovou vodou, avšak to, aký vplyv majú na kvalitu odtekajúcej vody závisí od mnohých faktorov [6]. Ide napríklad o klimatické podmienky, v ktorých je strecha založená; počet vrstiev a použité konštrukčné materiály; sklon strechy; vek strešnej konštrukcie; typ vegetácie a o hĺbku a typ rastového média [7]. Približne 80 % (v/v) substrátov by mali tvoriť anorganické komponenty (napr. láva, pemza, expandovaný íl, perlit, vermikulit) zabezpečujúce stabilitu a nízku hmotnosť striech. Zvyšný podiel môžu tvoriť organické zložky (napr. rašelina, mulč, kompostovaný zelený odpad), ktoré sú typické vyšším

obsahom živín, no zároveň nižšou chemickou, fyzikálnou a štruktúrnou stabilitou a vyššou objemovou hmotnosťou [8]. V súčasnosti je pri výbere komponentov do strešných substrátov potrebné prihliadať aj na environmentálne a ekonomické aspekty a venovať pozornosť predovšetkým odpadovým a recyklovaným materiálom, akými sú napríklad čistiarenské kaly. Tie sú na jednej strane zaujímavé pre vysoký obsah dusíka, fosforu a organických látok, na druhej strane obsahujú nežiaduce a toxické látky (spóry, patogény, pyrogény, mikropolutanty a ťažké kovy). Preto je ich aplikácia do substrátov značne riziková. Vzhľadom k nadprodukcii čistiarenských kalov nie je prekvapujúce, že ich zhodnocovanie, ako aj efektívne využívanie produktov ich zhodnocovania sa stáva čoraz diskutovanejšou témou. S cieľom podporiť základné princípy obehového hospodárstva sa ako optimálne riešenie ukazuje úprava kalov termochemickým procesom – pyrolýzou, ktorej výstupom je produkt – biouhlie, s potenciálnym využitím ako pôdne aditívum s obsahom fosforu [9, 10]. Medzi špecifické vlastnosti pyrolyzovaných kalov patrí pórovitá štruktúra, veľký špecifický povrch, vysoký obsah uhlíka, fosforu, dusíka a draslíka [11], pričom význam termochemickej úpravy v kontexte bezpečnej aplikácie pyrolýzneho produktu do pôdy spočíva najmä v tom, že v anoxickom prostredí pri teplotách nad 300 °C dochádza k úplnej deštrukcii patogénov, farmaceutických rezíduí, mikroplastov, ako aj k eliminácii perflurovaných a polyflurovaných látok a polycyklických aromatických uhľovodíkov [10]. Ako uvádzajú Gopinath a kol. [12], pyrolyzované čistiarenské kaly síce obsahujú vysoké koncentrácie ťažkých kovov, avšak vplyvom vysokých teplôt (≥ 500 °C) dochádza k ich imobilizácii, čím sa výrazne znižuje ich biologická dostupnosť pre rastliny a ekotoxikologické riziko. Zhang a kol. [13] zaznamenali transformáciu biologicky dostupných frakcií kovov v čistiarenskom kale na stabilnejšie formy kovov v procese pyrolýzy a pokles lúhovania kovov, a to aj napriek vyšším koncentráciám kovov v biouhlí oproti nekarbonizovaným čistiarenským kalom.

Aj napriek dostupným štúdiám [9, 14] potvrdzujúcim význam biouhlia na báze kalov v oblasti zlepšovania kvality pôd, legislatíva v SR neumožňuje využívanie tohto typu biouhlia pre poľnohospodárske účely. Z tohto dôvodu sa ako zaujímavý, no v súčasnosti veľmi zriedkavý spôsob využívania čistiarenských kalov javí ich aplikácia vo forme karbonizovaných produktov do strešných substrátov [15, 16]. V tomto smere je dôležité sledovať nielen parametre modifikovaných substrátov, ale aj kvalitu odtekajúcej dažďovej vody (pH, EC, TDS, TSS, CHSK, koncentrácie dusíka a fosforu, koncentrácie kovov). Odtekajúca voda totiž nemusí končiť len v kanalizačnom systéme, ale v prípade jej využívania napr. na zavlažovanie môže prispievať ku kontaminácii povrchových a podzemných vôd i pôdy ťažkými kovmi. Ye a kol. [17] navyše zdôrazňujú potrebu monitorovať prítomnosť kontaminantov vo vegetácii zelených striech, nakoľko rastliny môžu vo svojich pletivách akumulovať rôzne látky vrátane kovov prítomných v strešných substrátoch.

Cieľom našej práce bolo posúdiť vplyv karbonizovaných čistiarenských kalov (biouhlia) v extenzívnych strešných substrátoch na (i) lúhovanie kovov do odtekajúcej dažďovej vody a (ii) prítomnosť kovov v nadzemných častiach rastlín rastúcich na experimentálnej zelenej streche.

1 Materiál a metódy

Experimentálna extenzívna zelená strecha bola založená na streche budovy Pdf TU v Trnave v októbri 2020 s cieľom posúdiť vplyv prídavku karbonizovaných kalov na fyzikálno-chemické vlastnosti extenzívneho strešného substrátu (komerčný substrát pripravený v spolupráci s firmou JV Intersad, s.r.o. s prídavkom 10 %, resp. 20 % biouhlia na báze karbonizovaných kalov (v/v)). Experimentálny strešný systém pozostával celkovo z 12 polypropylénových boxov s drenážnou vrstvou Nophadrain ND 100, v ktorých sa nachádzala 8 cm vrstva extenzívneho substrátu s a bez prídavku biouhlia (každý typ substrátu v štyroch opakovaniach). Všetky substráty boli vysadené štyrmi druhmi rastlín rodu *Sedum* a uložené na streche so sklonom 4,5°. Na dne boxov sa nachádzal otvor pre odtok dažďovej vody. Eluát sa zberal do plastových nádob, z ktorých sa v daných časových intervaloch odoberali vzorky na stanovenie pH, EC, TDS, TSS, CHSK, koncentrácie celkového dusíka a celkového fosforu, koncentrácie kovov). Na monitorovanie teploty, vlhkosti a denného úhrnu zrážok sme použili meteostanicu Garni 935PC, vlhkosť a teplotu substrátov sme zaznamenávali pomocou senzorov pôdnej teploty a vlhkosti SMT100 a dataloggeru TruLog 100 (Truebner).

1.1 Stanovenie extrahovateľných kovov v strešných substrátoch

Koncentrácie extrahovateľných kovov v komerčnom substráte a v substrátoch modifikovaných biouhlím sme stanovili v extraktoch 0,01 M $CaCl_2$ / 0,002 M DTPA v pomere 1 : 5 (CAT metóda). 50 mL reprezentatívnej vzorky komerčného substrátu bez a s 10 a 20% (v/v)

prídavkom karbonizovaných kalov sme 1 hodinu trepali v 250 mL vopred pripraveného roztoku 0,01 M $CaCl_2$ / 0,002 M DTPA na trepačke. Pripravené výluhy (štyri pre každý typ substrátu) sme dvakrát prefiltrovali cez kvalitatívny filter a následne cez striekačkový filter s nylonovou membránou s veľkosťou pórov 0,45 µm. Koncentrácie Zn, Cu, Mn a Fe v extraktoch sme stanovili metódou atómovej absorpčnej spektrometrie (AAS) s použitím zariadenia Agilent 200 Series AA a programu SpectrAA Software, Version 3.3.5 PRO (Agilent).

1.2 Stanovenie ťažkých kovov vo vode odtekajúcej zo strešných substrátov

Pred samotným stanovením kovov sme eluáty mineralizovali v mikrovlnnom rozkladnom systéme Multiwave Go Plus (Anton Paar) v koncentrovanej HNO_3 v pomere 11 : 1 (v/v). Na mineralizáciu sme použili program Organic A (maximálna teplota 180 °C, celkový čas programu – 40 min, čas zdržania pri max. teplote – 10 min). Zmineralizované vzorky sme kvantitatívne preliali do 25 mL odmerných baniek, ktoré sme doplnili po rysku deionizovanou vodou. Koncentrácie kovov (Zn, Cu, Mn, Fe) v zriedených mineralizátoch sme stanovili pomocou AAS.

1.3 Stanovenie ťažkých kovov v rastlinnej biomase

V novembri 2022 sme z rastlinného pokryvu všetkých troch typov experimentálnych strešných substrátov odobrali reprezentatívne vzorky nadzemných častí troch druhov rastlín, t. j. *Sedum sexangulare*, *Sedum reflexum* a *Sedum spurium* (výskyt rastliny *Sedum spurium voodoo* sme v čase odberu vzoriek nezaznamenali). Jednotlivé druhy rozchodníkov sme umiestnili do misiek tak, že v jednej miske bol len jeden druh rastliny odobratej výhradne z jedného typu substrátu. Rastlinný materiál sme premyli demineralizovanou vodou (200 mL) a nechali voľne sušiť na filtračnom papieri a následne v sušiarni pri teplote 80 °C do konštantnej hmotnosti. Vysušené rastliny sme rozdelili na stonky a listy a rozotreli v trecej miske. Vzorky sme mineralizovali v 5 mL HNO_3 použitím mikrovlnného rozkladného systému Multiwave Go Plus (Anton Paar) a programu Organic A (maximálna teplota 180 °C, celkový čas programu – 40 min, čas zdržania pri max. teplote – 10 min). Zmineralizované vzorky sme preliali do 50 mL odmerných baniek a doplnili deionizovanou vodou. Koncentrácie kovov (Zn, Cu, Mn, Fe) v zriedených mineralizátoch sme stanovili atómovou absorpčnou spektrometriou a získané hodnoty sme prepočítali na obsah kovov na jeden gram suchej rastlinnej biomasy.

2 Výsledky a diskusia

Čistiarenské kaly sú nielen potenciálnym zdrojom živín (P, N) a organickej hmoty ale obsahujú tiež toxické kovy, mikroplasty, mikropolutanty a patogény, čo znemožňuje ich priamu aplikáciu do poľnohospodárskej pôdy. Termochemickou konverziou je možné zabezpečiť úplnú deštrukciu organických polutantov a hygienizáciu kalov [10], pričom pyrolýzou dochádza k multiplikácii nielen živín (napr. P) ale i obsahu kovov v karbonizovanom produkte. V tejto práci sme sa pokúsili využiť karbonizované kaly ako komponent extenzívnych strešných substrátov s vysokým obsahom živín a organického uhlíka s dôrazom na možnú mobilitu kovov do odtekajúcich dažďových vôd.

V Tab. 1 je uvedený obsah rizikových prvkov v karbonizovaných kaloch, komerčnom extenzívnom substráte pozostávajúcom z minerálnej drte, keramzitu, ryolitu a kompostu (JV Intersad, s.r.o.) a v substrátoch s 10 %, resp. 20 % prídavkom karbonizovaných čistiarenských kalov.

Tab. 1 Obsah rizikových prvkov v karbonizovanom kale (B), extenzívnom strešnom substráte (S) a substrátoch s prídavkom karbonizovaných kalov SB10 a SB20.

Prvok	B	S	SB10	S20
Zn (mg/kg)	1300	200	310	420
Pb (mg/kg)	22	17,8	18,2	18,6
Hg (mg/kg)	< 0,02	0,15	0,14	0,12
Cu (mg/kg)	560	50,5	101,5	152
Cr (mg/kg)	130	26,6	36,9	47,3
Ni (mg/kg)	< 0,4[3]	18,6	16,7	14,9
Cd (mg/kg)	< 0,1	< 0,4	< 0,4	< 0,4
As	5,4	6,1	6,03	5,96
Se (g/kg)	< 0,4[3]	0,26	0,23	0,21

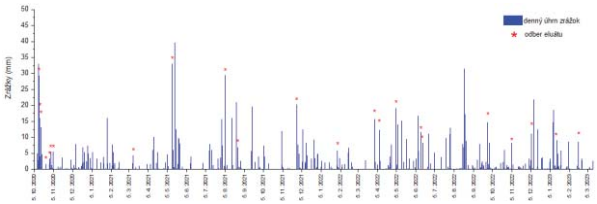
Pred aplikáciou substrátov na experimentálnu zelenú strechu sme v laboratórnych podmienkach stanovili koncentrácie kovov vo výluhoch z jednotlivých substrátových zmesí (CAT extrakcia). Z výsledkov uvedených v Tab. 2 je zrejmé, že lúhovateľnosť vybraných kovov sa medzi komerčným substrátom a substrátmi s prídavkom karbonizovaných kalov významne nelíši. Lúhovateľnosť zinku a medi bola o niečo vyššia v prípade modifikovaných substrátov, pričom najvyššie koncentrácie týchto kovov boli prítomné v extraktoch zo substrátov s 10 % biouhlia. Vzhľadom na viac ako dvojnásobné zvýšenie obsahu Zn a trojnásobné zvýšenie obsahu Cu v substráte s 20 %

biouhlia v porovnaní s komerčným substrátom (Tab. 1) je evidentné, že pyrolýzny proces významne znižuje mobilitu týchto kovov, čo je v súlade s výsledkami Gopinath a kol. [12]. V prípade mangánu a železa bola extrahovateľnosť kovov zo substrátov s karbonizovanými kalmi dokonca nižšia ako v pôvodnom (komerčnom) substráte, čo môže byť dôsledkom sorpčných vlastností karbonizovaných kalov.

Tab. 2 Koncentrácie kovov v extraktoch z komerčného extenzívneho substrátu (S), substrátu s 10 % (SB10) a 20 % (SB20) prídavkom karbonizovaných kalov.

Koncentrácie extrahovateľných kovov (mg/kg s.hm.)			
	S	SB10	SB20
Zn	3,09 (± 0,306)	4,37 (± 0,179)	3,79 (± 0,103)
Cu	0,92 (± 0,005)	1,09 (± 0,016)	0,96 (± 0,026)
Mn	5,486 (± 0,274)	2,55 (± 0,034)	1,80 (± 0,018)
Fe	10,99 (± 0,454)	8,48 (± 0,118)	5,20 (± 0,078)

V čase od založenia experimentálnej zelenej strechy (október 2020) do 14. marca 2023 sme v sledovanej oblasti zaznamenali celkovo 1112 mm zrážok (Graf 1).

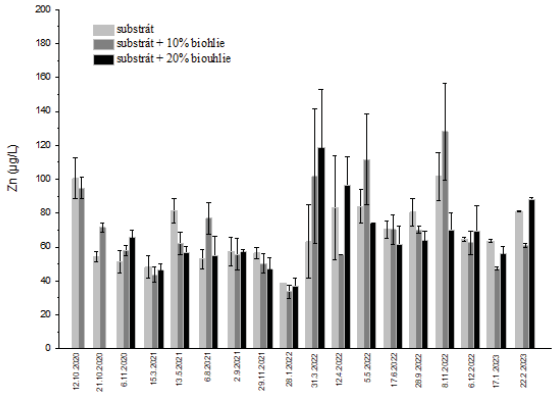


Graf 1 Denný úhrn zrážok v priebehu sledovaného obdobia a odber vzoriek eluátu.

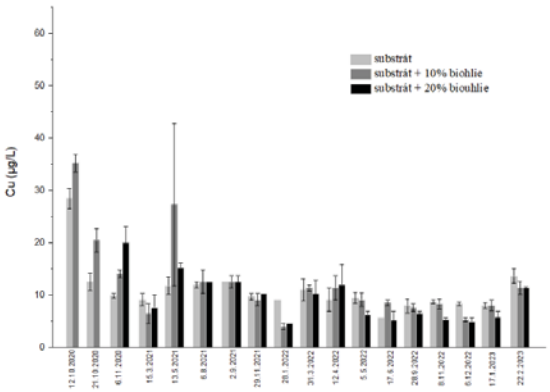
Odber vzoriek eluátu závisel od frekvencie a intenzity zrážkových udalostí, resp. od množstva dažďovej vody odtečenej z experimentálnych zelených plôch.

V prípade Zn sme pozorovali zmeny v jeho koncentráciách v odtekajúcej dažďovej vode. Po založení experimentu sa prejavil tzv. efekt prvého prietoku (vyššia koncentrácia Zn v eluáte), s postupným poklesom až do mája 2021. Nárast koncentrácie Zn v eluátoch z 13.5.2021 pravdepodobne súvisí s eróziou substrátu vplyvom zamŕzania a rozmŕzania v zimnom období. Tento trend sme pozorovali aj po zimnom období v roku 2022 a 2023. V priebehu sledovaného obdobia sme nezaznamenali súvislosť medzi koncentráciami vylúhovaného Zn a hodnotami pH eluátov (Graf 4). Najvyššia koncentrácia Zn (128 µg/L) bola stanovená v eluáte zo substrátu SB10 v novembri 2022 (Graf 2), čo koreluje s hodnotami extrahovateľného Zn v Tab 2.

Na druhej strane, medzi koncentráciami Zn v eluátoch z jednotlivých typov substrátov neboli významné rozdiely. Z výsledkov charakterizácie substrátov z hľadiska obsahu rizikových prvkov uvedenej v Tab. 1 vyplýva, že podľa vyhlášky č. 577/2005 Z.z., obsah Zn v substráte SB20 mierne prekračuje limitné hodnoty tohto kovu (400 mg/kg). V odobratých vzorkách eluátov zo substrátov SB10 a SB20 sa koncentrácie Zn signifikantne nelíšili od obsahu Zn v odtoku z komerčného substrátu (v niektorých prípadoch substráty s biouhlím uvoľnili dokonca menej Zn v porovnaní s komerčným substrátom), čo indikuje, že prídavok karbonizovaných kalov nebude významne zvyšovať koncentráciu Zn v odtekajúcej dažďovej vode.



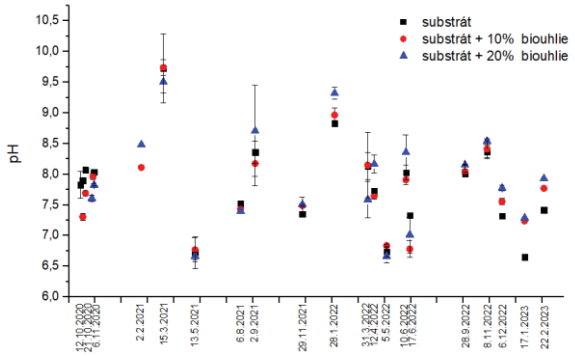
Graf 2 Koncentrácia Zn v odtekajúcej dažďovej vode z experimentálnych zelených plôch s komerčným substrátom bez (S) a s prídavkom karbonizovaných kalov (SB10 a SB20).



Graf 3 Koncentrácia Cu v odtekajúcej dažďovej vode z experimentálnych zelených plôch s komerčným substrátom bez (S) a s prídavkom karbonizovaných kalov (SB10 a SB20).

Významné rozdiely v koncentráciách kovov z troch typov substrátov sme neevidovali ani v prípade Cu, avšak na rozdiel od Zn, lúhovanie Cu do odtekajúcej vody v priebehu sledovaného obdobia malo klesajúcu tendenciu. V eluátoch zo všetkých typov substrátov sme zaznamenali efekt prvého prietoku, ktorý opisuje Berndtsson [7], pričom koncentrácie Cu v eluátoch klesli z hodnôt 28 µg/L (S), 35 µg/L (SB10) a 20 µg/L (SB20) zodpovedajúcim odtoku po prvých zrážkových udalostiach ku koncentráciám pohybujúcim sa okolo hodnôt 5 – 9 µg/L (Graf 3).

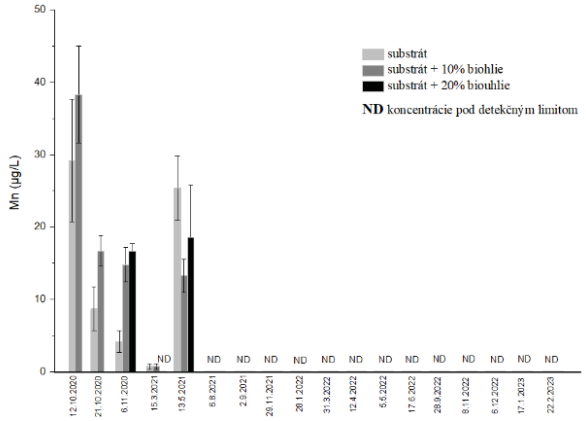
K nárastu koncentrácie Cu v eluátoch došlo iba v máji 2O21, v apríli 2022 a vo februári 2023, čo pravdepodobne súviselo s nižšími hodnotami pH eluátov v obdobiach pred odberom príslušných vzoriek (Graf 4).



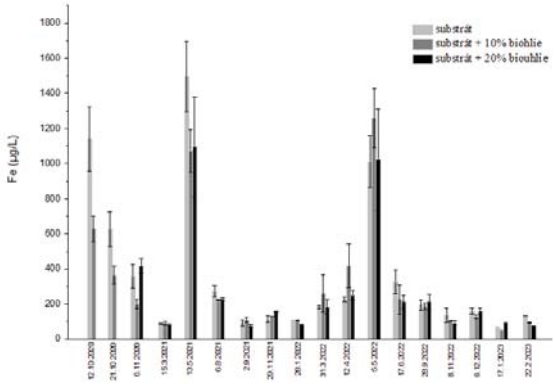
Graf 4 Hodnoty pH odobratých vzoriek eluátov.

Efekt prvého prietoku bol evidentný i pri vyplavovaní Mn zo substrátov – po prvých zrážkových udalostiach bola koncentrácia Mn vo vode odtekajúcej z komerčného substrátu 29 µg/L, zo substrátu SB10 38 µg/L a zo substrátu SB20 17 µg/L. Už v marci 2021 boli koncentrácie Mn v eluáte z komerčného substrátu a v substráte s 10 % prídavkom biouhlia pod 1 µg/L a obsah Mn v eluáte zo substrátu s 20 % prídavkom biouhlia bol pod detekčným limitom. Významnejšie lúhovanie Mn zo všetkých troch typov substrátov sme evidovali v máji 2021 a aj v tomto prípade bolo zvýšenie lúhovateľnosti ovplyvnené poklesom pH. Vo všetkých vzorkách odobratých od júna 2021 do konca sledovaného obdobia boli koncentrácie Mn pod detekčným limitom (Graf 5).

Podľa Nariadenia vlády č. 269/2010 Z. z., koncentrácie sledovaných kovov v eluátoch neprekročili medzné limitné hodnoty ukazovateľov kvality závlahovej vody (Zn 1000, Cu 500 a Mn 3000 µg/L), a to ani v jednej z odobratých vzoriek. Tieto zistenia teda naznačujú, že aj v prípade použitia karbonizovaných kalov ako zložky extenzívnych strešných substrátov (SB10, SB20), odtekajúca dažďová voda nebude predstavovať riziko kontaminácie kovmi a môže byť použitá na zavlažovanie.



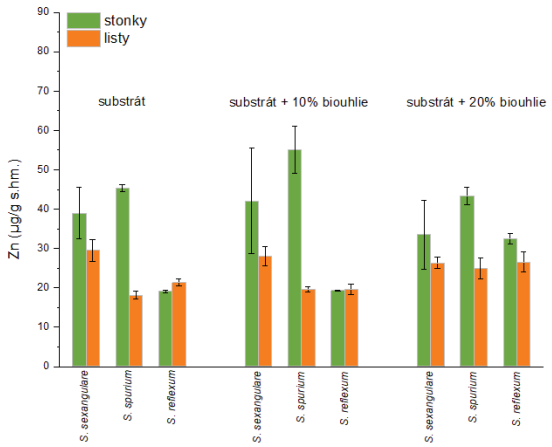
Graf 5 Koncentrácia Mn v odtekajúcej dažďovej vode z experimentálnych zelených plôch s komerčným substrátom bez (S) a s prídavkom karbonizovaných kalov (SB10 a SB20).



Graf 6 Koncentrácia Fe v odtekajúcej dažďovej vode z experimentálnych zelených plôch s komerčným substrátom bez (S) a s prídavkom karbonizovaných kalov (SB10 a SB20).

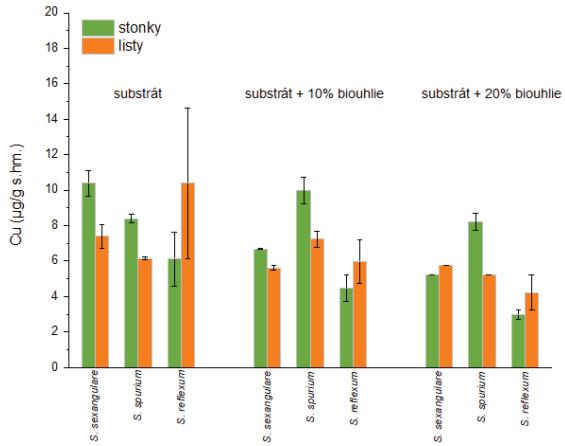
V prípade Fe boli jeho koncentrácie v odtekajúcej vode odobratých vzorkách výrazne vyššie (Graf 6) v porovnaní s koncentráciami Zn, Cu a Mn, avšak ani v týchto prípadoch sa obsah Fe v eluáte nepriblížil k medznej limitnej hodnote ukazovateľa kvality závlahovej vody (10 mg/L). Množstvo Fe vylúhované z jednotlivých typov substrátov sa významne nelíšilo, pričom najvyššia koncentrácia Fe v eluáte bola zaznamenaná v prípade komerčného substrátu (1494 µg/L), a to v máji 2021. Podobne ako pri Cu a Mn, k silnejšiemu vyplaveniu Fe došlo na začiatku experimentu (efekt prvého prietoku). Výrazne vyššie

koncentrácie Fe sme tiež evidovali v eluátoch z mája 2021 a z mája 2022, čo opäť súviselo s nižšou hodnotou pH odtekajúcej vody v daných obdobiach. V ostatných vzorkách sa obsah Fe pohyboval pod hodnotami 250 µg/L. Len veľmi málo prác [17] sa doposiaľ zaoberalo obsahom kovov v biomase strešnej vegetácie. Keďže v prípade zelených striech môžu byť prítomné kovy v substráte nielen vyplavené s odtekajúcou vodou, ale aj akumulované strešnou vegetáciou, pre posúdenie toho, či daný strešný systém predstavuje riziko kontaminácie odtekajúcej dažďovej vody a vegetácie kovmi, je nevyhnutné monitorovať ich prítomnosť aj v rastlinnej biomase. Vzorky rastlín zo všetkých typov substrátov (S, SB10 a SB20) sme odobrali koncom sledovaného obdobia (november 2022), kedy by mal byť obsah kovov v rastlinách vyšší v porovnaní s obdobím tesne po založení experimentu [17]. Odobrali sme len nadzemné časti vegetácie, nakoľko odber koreňov by mohol ovplyvniť ďalší vývin rastlín a tým aj pokračovanie experimentu (prosperovanie rastlín v dôsledku zásahu do koreňového systému vegetácie, resp. narušenie mikrobiálneho zloženia substrátov).



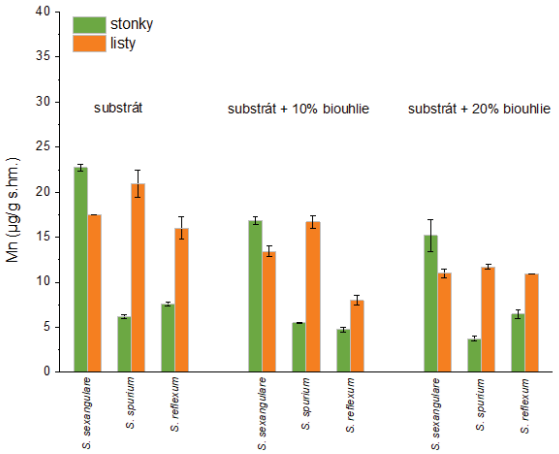
Graf 7 Koncentrácia Zn v stonkách a listoch rastlín rodu *Sedum* po 24 mesiacoch od založenia experimentálnej zelenej strechy.

Koncentrácie Zn v nadzemných častiach rastlín rodu *Sedum* sú uvedené v Grafe 7. V prípade *S. sexangulare* a *S. spurium* je koncentrácia Zn vyššia v stonkách ako v listoch, pričom nie je výrazný rozdiel medzi rastlinami rastúcimi na komerčnom substráte (S) a substrátoch s prídavkom karbonizovaných kalov (SB10 a SB20). Iba minimálne rozdiely v obsahu Zn v stonkách a listoch *S. reflexum* sme pozorovali vo všetkých troch typoch substrátov. Naopak, najväčší rozdiel medzi obsahom Zn v stonkách a listoch pripadal na rastlinu *S. spurium,* ktorá zároveň akumulovala i najviac Zn (55 µg/g s.hm.) pri všetkých typoch substrátov, čo zrejme súvisí so značne odlišnou morfológiou tohto typu rozchodníka v porovnaní so *S. sexangulare* a *S. reflexum*. Koncentrácie Cu v nadzemných častiach rastlín rodu *Sedum* sú uvedené v Grafe 8. V prípade *S. reflexum* boli vyššie koncentrácie Cu zaznamenané v listoch a to pri všetkých troch typoch substrátov. Vyšší obsah Cu v stonkách sme pozorovali pri *S. spurium* rastúcom na substrátoch bez a s prídavkom 10 a 20% biouhlia a *S. sexangulare* rastúcom na substráte bez a s 10% prídavkom biouhlia (Graf 8). Zrejmý je tiež pokles koncentrácie Cu v nadzemných častiach rozchodníkov so zvyšujúcim sa množstvom pridaného biouhlia v substrátoch (najmä v prípade rastlín *S. sexangulare* a *S. reflexum*), čo indikuje nižšiu biologickú dostupnosť medi.



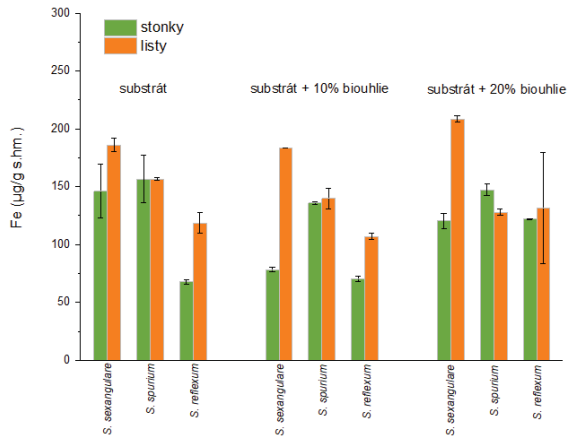
Graf 8 Koncentrácie Cu v stonkách a listoch rastlín rodu *Sedum* po 24 mesiacoch od založenia experimentálnej zelenej strechy.

Z Grafu 9 je zrejmý klesajúci trend koncentrácie Mn v stonkách a listoch rastlín rodu *Sedum* so stúpajúcim obsahom karbonizovaných kalov v príslušnom substráte. Tieto výsledky sú v súlade so zisteniami Gopinath a kol. [12], ktorí potvrdili, že karbonizáciou kalov sa znižuje biologická dostupnosť kovov pre rastliny. Zaujímavé je, že obsah Mn bol v stonkách rastlín *S. spurium* a *S. reflexum* zreteľne nižší ako v listoch týchto druhov rozchodníkov. Tento rozdiel v porovnaní so Zn a Cu môže súvisieť s nezastupiteľnou funkciou Mn v chloroplastoch v procese fotosyntézy (listy sú hlavným asimilačným orgánom rastlín). Pri všetkých typoch substrátov boli najvyššie koncentrácie Mn prítomné v biomase *S. sexangulare* a s výnimkou substrátu s 20 % biouhlia, bol najnižší obsah Mn v rastlinách *S. reflexum*.



Graf 9 Koncentrácie Mn v stonkách a listoch rastlín rodu *Sedum* po 24 mesiacoch od založenia experimentálnej zelenej strechy.

Železo je popri Mn ďalší dôležitý mikronutrient rastlín, ktorý je potrebný pre syntézu chlorofylu a priebeh fotosyntézy. Podobne ako v prípade Mn, aj obsah Fe bol vyšší v listoch ako v stonkách rastlín rodu *Sedum* s výnimkou *S. spurium* rastúcom v substráte s 20 % biouhlia (Graf 10).



Graf 10 Koncentrácie Fe v stonkách a listoch rastlín rodu *Sedum* po 24 mesiacoch od založenia experimentálnej zelenej strechy.

Medzi koncentráciami Fe v rastlinnej biomase odobratej z troch typov substrátov neboli významné rozdiely, avšak výsledky naznačujú, že medzi skúmanými druhmi rozchodníkov existujú rozdiely v ich schopnosti akumulovať Fe do svojich pletív. Najvyšší obsah Fe bol prítomný v biomase (stonky + listy) *S. sexangulare* (okrem vzoriek odobratých zo substrátu s 10 % biouhlia, kedy bol obsah Fe o niečo vyšší v biomase *S. spurium*) a najmenej v biomase *S. reflexum*.

Záver

Hoci koncentrácie extrahovateľných kovov v skúmaných strešných substrátoch naznačujú, že prídavok karbonizovaných kalov môže viesť k vyplavovaniu Zn a Cu, zvýšený obsah týchto kovov nebol pozorovaný v odtekajúcej dažďovej vode a ani v nadzemných častiach rastlín rodu *Sedum* rastúcich na substrátoch SB10 a SB20. Eluáty z jednotlivých typov substrátov sa významne neodlišovali ani z hľadiska koncentrácií Mn a Fe. Pozorovaný nárast koncentrácie kovov v eluátoch po zimnom období súvisel s postupnou eróziou substrátu (Zn), ako aj zmenami pH eluátov (Fe, Cu). Obsah Fe v rastlinnej biomase nevykazoval rozdiely medzi rastlinami odobratými z rôznych typov substrátov. Na druhej strane, obsah Mn klesal so stúpajúcim prídavkom biouhlia, čo je v zhode s extrahovateľným Mn v daných substrátoch. Na základe týchto výsledkov usudzujeme, že prídavok biouhlia na báze čistiarenských kalov nepredstavuje z hľadiska záťaže životného prostredia kovmi významnejšie riziko.

Poďakovanie

Práca bola podporená Agentúrou na podporu výskumu a vývoja na základe zmluvy č. SK-AT-20-0004 a projektom C1/2022 v rámci Vnútorného grantového systému Pedagogickej fakulty TU v Trnave.

Použitá literatúra

[1] The World Bank Group: Urban population. [online]. The World Bank Group: 2018 [cit. 16.3.2023]. Dostupné z: https://data.worldbank.org/

[2] United nations, department of economic and social affairs, population division. Trends in Urbanization. In World Urbanization Prospects 2018: Highlights. New York: United Nations, 2019, s. 5-14, ISBN 978-92-1-148318-5.

[3] SHEN, Chuhui et al. 2022a. Prediction of the future urban heat island intensity and distribution based on landscape composition and configuration: A case study in Hangzhou. In Sustainable Cities and Society, vol. 83, no. 103992, 14 p. ISSN 2210-6707.

[4] ALIM, Mohammad A. et al. 2022. Green roof as an effective tool for sustainable urban development: An Australian perspective in relation to stormwater and building energy management. In Journal of Cleaner Production, vol. 362, no. 132561, 21 p. ISSN 0959-6526.

[5] SHAFIQUE, Muhammad et al. 2020. An overview of life cycle assessment of green roofs. In Journal of Cleaner Production, vol. 250, no. 119471, 14 p. ISSN 0959-6526.
[6] RAZZAGHAMANESH, Mostafa et al. 2014. Impact of green roofs on stormwater quality in a South Australian urban environment. In Science of Total Environment, vol. 470-471, pp. 651-659. ISSN 0048-9697.
[7] BERNDTSSON, Justyna Czemiel. 2010. Green roof performance towards management of runoff water quantity and quality: A review. In Ecological Engineering, vol. 36, pp. 351-360, ISSN 0925-8574.
[8] GRACESON, Abigail et al. 2014. Use of inorganic substrates and composted green waste in growing media for green roofs. In Biosystems engineering, vol. 124, pp. 1-7, ISSN 1537-5110.
[9] ZHAO, Lei et al. 2023. Sewage sludge derived biochar for environmental improvement: Advances, challenges, and solutions. In Water Research X, vol. 18, no. 100167, 12 p., ISSN 2589-9147.
[10] European Biochar Industry Consortium, 2023. Sewage Sludge as feedstock for pyrolysis to be included in the scope of the EU Fertilizing Products Regulation.
[11] RACEK, Jakub et al. 2020. Biochar – Recovery Material from Pyrolysis of Sewage Sludge: A review. In Waste and Biomass Valorization, vol. 11, no. 7, pp. 3677-3709, ISSN 1877-2641.
[12] GOPINATH, Ashitha et al. 2021. Conversion of sewage sludge into biochar: A potential resource in water and wastewater treatment. In Environmental Research, vol. 194, no. 110656, 20 p., ISSN 0013-9351.
[13] ZHANG, Xin et al. 2022. Effects of pyrolysis temperature on biochar's characteristics and speciation and environmental risks of heavy metals in sewage sludge biochars. In Environmental Technology & Innovation, vol. 26, 102288, 11 p., ISSN 2352-1864.
[14] SHEN, Chengcheng et al. 2022b. Sewage sludge derived FeCl3-activated biochars as efficient adsorbents for the treatment of toxic As(III) and Cr(VI) wastewater. In Journal of environmental Chemical Engineering, vol. 10, no. 108575, 11 p., ISSN 2213-3437.
[15] CHEN, Hongmei et al. 2018. A comparative study on behavior of heavy metals in pyrochar and hydrochar from sewage sludge. In Energy Sources, Part A: Recovery, Utilization, and Environmental Effects, vol. 40, no. 5, pp. 565-571,ISSN 1556-7230.
[16] PETREJE, Marek et al. 2023. Performance study of an innovative concept of hybrid constructed wetland-extensive green roof with growing media amended with recycled materials. In Journal of Environmentak Management, vol. 13, no. 117151, 13 p., ISSN 0301-4797.
[17] YE, Jianjun et al. 2013. Heavy metals in plants and substrate from simulated extensive green roofs. In Ecological Engineering, vol. 55, p. 29-34, ISSN 0925-8574.

Sekcia

Geografia, regionálny rozvoj a geológia

Potenciál využitia stojatých vodných plôch v MAS Cedron-Nitrava

Potential use of stagnant surface waters in LAG Cedron-Nitrava

Albert Martinček[1]
Školiteľ: Hilda Kramáreková[2]
[1,2]Katedra geografie, geoinformatiky a regionálneho rozvoja,
FPVaI UKF, Tr. A. Hlinku 1, 949 01 Nitra
[1]albert.martincek@student.ukf.sk, [2]hkramarekova@student.ukf.sk

Abstrakt

V mikroregióne Cedron-Nitrava sa nachádza početné množstvo vodných plôch, avšak nie každá má svoje využitie. V článku sa venujeme prieskumu jednotlivých jazier, štrkovísk a rybníkov. Skúmame pôvod ich vzniku.

Cieľom práce je oboznámiť čitateľa s potenciálom využitia vodných plôch v mikroregióne, najmä takým, ktorý napriek svojej jednoduchosti nepatrí k zaužívaným či tradičným spôsobom riešenia tejto problematiky. Sústreďuje sa prevažne na pohľad a potreby obyvateľov, ale zároveň uplatňuje aj geografické princípy.

Pri tvorbe článku sme uplatnili metódu komparácie informácií z vlastného terénneho výskumu a rôznych informačných zdrojov. Následne sme použili metódu vysvetľujúceho opisu. Dáta sme spracovali štatistickou metódou. Informácie sme vizualizovali prostredníctvom tabuľky, mapy a obrázkov. Článok sme systémovou metódou rozčlenili na kapitoly a podkapitoly. Začína základnými informáciami o mikroregióne, následne pokračuje charakteristikou stojatých povrchových vôd a v poslednej časti sa venuje potenciálu ich využitia.

Kľúčové slová: Mikroregión Cedron-Nitrava, cestovný ruch, rozvojové aktivity, stojaté vodné plochy

Abstract

There are numerous water bodies in the Cedron-Nitrava microregion, but not all of them have their own use. In the article, we examine individual lakes, gravel pits and ponds. We investigate the origin of their creation.

The goal of the work is to acquaint the reader with the potential of using water bodies in the microregion, especially in those aspects, which despite their simplicity, do not belong to the usual or traditional ways of solving this problem. It focuses mainly on the views and needs of the inhabitants, but at the same time it also applies geographical principles.

When creating the article, we applied the method of comparing information from our own field research and various information sources. Subsequently, we used the method of explanatory description. We processed the data using the statistical method. We visualized the information through a table, map and pictures. We divided the article into chapters and subsections using the system method. It begins with basic information about the microregion, then continues with the characteristics of stagnant surface waters, and the last part deals with the potential of their use.

Key words: Cedron-Nitrava microregion, tourism, development activities, stagnant surface waters

Úvod

Voda ako zložka krajinnej sféry má nezastupiteľný význam pre správny chod prírodných procesov, taktiež je životne dôležitou pre človeka. V krajine je voda zastúpená mnohými formami, či už ako zrážková, povrchová alebo podpovrchová voda. Voda nachádzajúca sa na zemskom povrchu sa delí na stojatú a tečúcu. Tečúcu zastupujú najmä rieky a potoky, zatiaľ čo stojaté vodné plochy sú tvorené jazerami, umelými vodnými nádržami, štrkoviskami alebo rybníkmi [1].

Mikroregión Cedron-Nitrava sa nachádza na západnom Slovensku, v Nitrianskom kraji, pričom je tvorený 18 obcami a mestom Šurany z okresov Nitra a Nové Zámky. Lokalizovaných je v ňom dovedna 13 vodných plôch, ktoré sa sústreďujú prevažne do okolia rieky Nitry. Väčšinou boli vytvorené za účelom ťažby štrku, keďže sa pri rieke vyskytuje hrubá vrstva fluviálnych sedimentov – od jemných pieskov cez štrkopiesky až po štrk.

Cieľom práce je poskytnúť informácie o potenciáli využitia vodných plôch v mikroregióne, najmä takým, ktorý napriek svojej jednoduchosti nepatrí k zaužívaným či tradičným spôsobom riešenia tejto problematiky. Informácie sa budú týkať aj takých vodných plôch, ktoré napriek svojej pozoruhodnosti

nepatria medzi najnavštevovanejšie, a teda mohli by prispieť v rozvoju cestovného ruchu mikroregiónu.

1 Teoreticko-metodické východiská problematiky

Pre získanie informácií o vodných plochách sme pracovali s rôznymi informačnými zdrojmi a pre overenie viacerých sme využili aj vlastný terénny výskum.

V úvode sme pre vstup do problematiky použili publikáciu od Netopila a kol. [1]. Pri tvorbe druhej kapitoly sme využili poznatky o mikroregióne na základe článku od Martinčeka [2]. V tretej kapitole, pri oboznámení sa s geologickým vývojom územia, nám boli užitočné Vysvetlivky ku geologickej mape SV časti Podunajskej nížiny od Vozára [3]. Na základe článku Ložiská štrkopieskov na Slovensku od Michela [4] sme skúmali faktory lokalizácie, ktoré významným spôsobom určujú miesto ich výskytu v krajine. V kapitole 4.1 sme zisťovali výskyt terminológie o vodných plochách v rozvojových dokumentoch mikroregiónu a realizáciu projektov súvisiacich s vodnými plochami. Projekty zastrešované NSK sme zistili z webstránky projektu Leader [5]. Údaje o projektoch podporených cez rôzne operačné programy sme prevzali zo stránky ITMS2014+ [6]. Pri skúmaní rozvojových dokumentov nám nápomocným nám bol najmä dokument s názvom Regionálny rozvoj vedený komunitou v MAS Cedron-Nitrava (2014) [7]. V kapitole 4.2 sme sa zaoberali charakteristikou vodných plôch v mikroregióne. Informácie o rybárskych revíroch v mikroregióne sme čerpali z databázy na stránke www.kamnaryby.sk [8]. Na charakteristiku rybárskych revírov Tona a Štrkovisko Komjatice sme využili ich webstránky [9, 10]. Základné informácie o histórii rybárstva na Slovensku sme sa dozvedeli zo stránky Slovenského rybárskeho zväzu [11]. Činnosť MsO SRZ v Šuranoch bola spracovaná podľa webstránky tejto organizácie [12]. Zdrojom pre objasnenie spôsobu kontroly kvality vôd v prírodných kúpaliskách bola oficiálna stránka Úradu verejného zdravotníctva SR [13]. Pri definovaní pojmov z oblasti otužovania nám bola nápomocná webstránka organizácie Šurianske ľadové medvede [14]. Pri tvorbe kapitoly 4.3 sme sa zaoberali marketingom vodných plôch v mikroregióne. Nápomocná nám bola pri tom publikácia Destinačný marketing od Matlovičovej a Matloviča [15]. Zaujímavým pre nás bol aj dokument s názvom Vidiek ako investičná príležitosť, ktorý je dostupný na stránke Združenia miest a obcí Slovenska [16]. Na určenie foriem turizmu, ktoré by mohli byť realizované v kontexte riešenej problematiky bola využitá publikácia od Matlovičovej, Klamára a Miku [17]. Na zistenie cyklotrás prechádzajúcich územím Veľkého Kýru sme si pomohli Stratégiou rozvoja cyklotrás od Hlatkého a kol. [18]. O existujúcich plánoch týkajúcich sa štrkoviska vo Veľkom Kýri sme sa dozvedeli z PHSR obce [19].

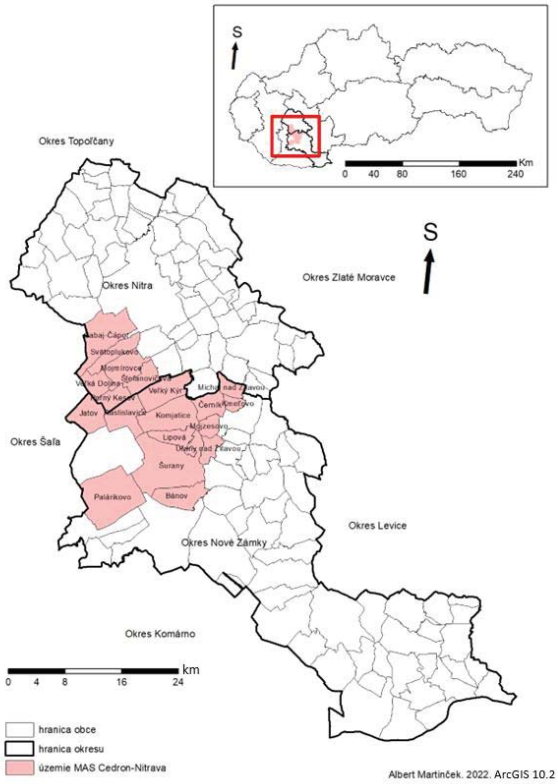
Pri tvorbe článku sme využili metódu komparácie informácií z vlastného terénneho výskumu a rôznych informačných zdrojov. Následne sme pri charakteristike zaujímavostí mikroregiónu použili metódu vysvetľujúceho opisu. Dáta sme spracovali štatistickou metódou. Informácie sme vizualizovali prostredníctvom tabuľky, mapy a obrázkov.

2 Vymedzenie a stručná geografická charakteristika mikroregiónu

Mikroregión MAS Cedron-Nitrava sa nachádza na západnom Slovensku v Nitrianskom kraji, zahŕňa vybrané obce okresu Nitra a Nové Zámky (mapa 1) - 18 obcí a 1 mesto Šurany. MAS Cedron-Nitrava je občianske združenie, ktoré vzniklo v roku 2007 za účelom budovania verejno-súkromného partnerstva a integrovaného rozvoja najskôr ako Mikroregión CEDRON na území 7 obcí (Cabaj-Čápor, Mojmírovce, Poľný Kesov, Rastislavice, Svätoplukovo, Štefanovičová a Veľká Dolina). V roku 2015 sa územie rozšírilo o obce Bánov, Černík, Jatov, Kmeťovo, Komjatice, Lipová, Michal nad Žitavou, Mojzesovo, Palárikovo, Šurany, Úľany nad Žitavou a Veľký Kýr a vytvorili Mikroregión CEDRON - NITRAVA. Verejno-súkromné partnerstvo je forma spolupráce obcí, podnikateľských subjektov, neziskových organizácií, ale aj jednotlivcov pôsobiacich a žijúcich v danom území s cieľom dosiahnutia všeobecného rozvoja.

Na základe údajov Štatistického úradu SR v mikroregióne k 31.12.2021 na rozlohe 382,31 km^2 žije 43 597 obyvateľov. Hustota zaľudnenia dosahuje 109,97 obyvateľov/km^2. Najväčšou obcou podľa počtu obyvateľov je Cabaj-Čápor (4 309 obyv.), najmenšou obec Štefanovičová (367 obyv.) a najväčším a zároveň jediným mestom sú Šurany (9 620 obyv.).

Z hľadiska geomorfologických celkov do územia zasahuje Zálužianska pahorkatina v severozápadnej časti, Nitrianska tabuľa a Martovská mokraď v západnej časti. Strednou časťou sa v severo-južnom smere sa tiahnu podcelky Žitavská a Nitrianska niva. V severovýchodnej časti územia sa nachádza podcelok Žitavská pahorkatina.



Mapa 1: Širšie územné vzťahy mikroregiónu Cedron-Nitrava
Zdroj: [2]

Územie, ktoré sa nachádza v teplej klimatickej oblasti, odvodňujú rieky Nitra, Žitava a ich prítoky. Okrem nich je tu značný výskyt rybníkov. Z hľadiska pôdnych typov tu prevládajú úrodné čiernice a černozeme na spraši. V území sa nachádza 9 maloplošných chránených území a aj 7 európskych chránených území sústavy NATURA 2000, predmetom ochrany ktorých sú najmä biotopy lužných lesov.

Centrom priemyslu, obchodu a služieb je mesto Šurany. Územie je dopravne dobre dostupné cestnou i železničnou dopravou (trať Nové Zámky – Prievidza, Nové Zámky – Bratislava) [2].

3 Vodné plochy – pojem, klasifikácia význam

Hydrológia je veda, ktorá sa zaoberá časovým a priestorovým rozložením vody na Zemi. Z pohľadu Slovenska je oveľa dôležitejšia hydrológia pevnín, keďže ide o vnútrozemskú krajinu. Hydrológia pevnín ďalej sústreďuje svoju pozornosť na tečúce vody (potamológia) alebo stojaté (limnológia). V našej práci nás budú predovšetkým zaujímať stojaté povrchové vodné útvary ktoré sa v krajine nachádzajú v rôznej podobe (jazero, rybník, močiar, štrkovisko, umelá vodná nádrž atď.). Prirodzenú vodnú nádrž nazývame jazerom. Podľa vzniku poznáme jazerá tektonické, ľadovcové, krasové, pobrežné i eolické. Z hľadiska odtokovosti sa delia na odtokové a bezodtokové, pričom bezodtokové sú také, ktoré buď prítok nemajú, alebo všetok svoj prítok spotrebujú.

Vodné útvary, ktorých vznik bol podmienený zásahom človeka do prírody, nazývame umelými vodnými nádržami. Podľa účelu a funkcie sa delia na retenčné (ochrana pred povodňou), zásobné (napríklad na pitnú vodu), rybárske, rekreačné. Zaujímavou kategóriou, najmä pre mikroregión Cedron-Nitrava, sú rybníky. Ide o druh vodnej plochy, ktorý zabezpečuje rekreáciu, chov rýb, ale aj povodňovú ochranu. Môže vzniknúť ako pozostatok po ťažbe nerastnej suroviny, ako napríklad štrku, dolomitu alebo vápenca. Zvyčajne sa dajú v prípade potreby vypustiť [1, 2].

Pri zasahovaní do prírodného prostredia je dôležitá zvýšená opatrnosť a obozretnosť, preto by žiadna ťažba nemala začať bez riadneho predchádzajúceho geologického výskumu a zhodnotenia jej environmentálnych dopadov na krajinu. Pri neuváženom zásahu môže dôjsť k neskorším záplavám, odnosu úrodnej pôdy, zníženiu hladiny podzemných vôd či zaneseniu vodných tokov [1].

4 Výsledky a diskusia

Naše výsledky sa opierajú o detailné zmapovanie vodných plôch v mikroregióne. Keďže projekty zameriavajúce sa na rozvoj a zveľadenie vodných plôch sú nevyhnutnou súčasťou pre dosiahnutie stavu ich najefektívnejšieho využívania, uvádzame aj inštitúcie, ktoré poskytujú finančné prostriedky na ich realizáciu. Tiež sa zameriavame na výskyt vodných plôch v rozvojových dokumentoch mikroregiónu. Následne prikladáme aj návrhy na dopracovanie týchto dokumentov, ku ktorým sme dospeli po dôkladnej charakteristike vodných plôch. Ako modelový príklad uvádzame vodnú plochu v obci Veľký Kýr.

4.1 Charakteristika vodných plôch v mikroregióne

Začiatkom kvartéru pokračuje v našom území morfologická diferenciácia Podunajskej nížiny na pahorkatinný stupeň a rovinnú časť. Z obdobia najstaršieho pleistocénu nemáme zachované na tomto území žiadne sedimenty, na základe ktorých by bolo možné urobiť aspoň čiastkovú rekonštrukciu. Až koncom staršieho pleistocénu sa začína formovať reliéf územia dolín väčších tokov. Dôkazom toho je prítomnosť terás mindelského veku pozdĺž doliny Nitry.

Z tohto obdobia pochádzajú aj strednopleistocénne spraše na pahorkatinách. Stredný pleistocén znamená pokračovanie v miernom zdvihu pahorkatín a tvorbe terás pozdĺž tokov. V dnešnom reliéfe sa výrazne prejavuje sprašová sedimentácia, ktorá je zachovaná na značnej časti územia pahorkatín (Nitrianska pahorkatina). Nástup mladého pleistocénu znamená dotvorenie dnešných foriem reliéfu a vznik prevažnej časti sedimentov zachovaných v dolinách Nitry a jej prítokov. V holocéne došlo v dolinách k zahlbovaniu tokov, odstráneniu značnej časti mladopleistocénnych fluviálnych sedimentov a akumulácii tenkej vrstvy povodňových hlín, pieskov a ďalších sedimentov prevažne organického pôvodu. Následkom odlesnenia pahorkatín došlo najmä v posledných obdobiach k výraznej erózii a odnosu pôd až podložných spraší a iných sedimentov. Súbežne s uvedenými javmi v priebehu celého kvartéru pokračovali aj mladé tektonické pohyby [3].

Štrkopiesky sú dôležitou surovinou pre silne sa rozvíjajúci stavebný priemysel. Štrkopiesky akumulované v povodí rieky Nitry a jej prítokov majú veľmi nerovnomerné rozloženie mocnosti. Horná Nitra v okolí Prievidze má mocnosti štrkopiesku 3 až 12 metrov v nadloží. V druhej časti povodia – v strednom a dolnom toku Nitry sú akumulácie štrkopieskov väčších mocností (od 3 m v okolí Chynorian, po maximálnu mocnosť 18 m na lokalite Komjatice).

Geologicky i technologicky možno rozdeliť štrkopiesky povodia Nitry do 2 stratigrafických horizontov. Prvým je kvartérny horizont štrkopieskov bielo-sivej farby s obsahom 30 až 50 % drobného kameniva a pod. a druhým je podložný horizont nazelenalých štrkopieskov s obsahom 60 až 80 percent drobného kameniva s častým výskytom ílovitých šošoviek.

Na lokalite Komjatice, ktorá bola v minulosti zásobárňou kvalitných štrkopieskov pre stavebníctvo, sú zastúpené oba tieto typy. Kvartérne štrkopiesky boli technologicky vhodnejšie, pretože podložné levantské štrkopiesky obsahujú zvýšené množstvo sľudy a ílovité medzivrstvy, pri ťažbe je potrebná úprava praním. Štrkopiesky sú petrograficky reprezentované kremencami, kremeňmi, pieskovcami, karbonátmi, ojedinele neovulkanickými horninami [4].

V mikroregióne sa nachádza dovedna 16 vodných plôch (tabuľka 1). Sústreďujú sa predovšetkým pozdĺž oboch brehov riek Nitry a Žitavy.

Tie, ktoré sa nachádzajú pri rieke Nitra, boli vytvorené za účelom ťažby štrku. Sú to napr. Revír Záhoň v Bánove, Materiálové jazero (MJ) Lipová,

Tabuľka 1: Základné informácie o vodných plochách v MAS Cedron-Nitrava

Č.	Názov vodnej plochy	Organizácia	Správca	Rozloha (ha)
1	Revír Záhoň	SRZ NZ	OcÚ Bánov	8
2	MJ Lipová	SRZ Šurany	SRZ Šurany	1
3	MJ Úľany n. Žitavou	SRZ Šurany	SRZ Šurany	3
4	Štrk. Úľany n. Žitavou	SRZ Šurany	SRZ Šurany	3
5	Štrkovisko Tona	SRZ Šurany	SRZ Šurany	24
6	Štrk. Nitriansky Hrádok	SRZ Šurany	SRZ Šurany	3
7	Rybník Mederčina	SRZ Šurany	Súkromný revír	2
8	Staré štrk. Komjatice	SRZ Šurany	SRZ Šurany	3
9	Štrkovisko Komjatice	SRZ Šurany	Súkromný revír	45
10	VN Jatov	SRZ NZ	OcÚ Jatov	5
11	MJ Mojzesovo-Černík	SRZ Šurany	SRZ Šurany	2
12	Štrkovisko Veľký Kýr	SRZ Šurany	SRZ Šurany	3
13	Štrk. Mojzesovo-Lipová	SRZ Šurany	SRZ Šurany	2
14	VN Rastislavice	SRZ Šurany	SRZ Šurany	11
15	Rašelinisko Palárikovo	SRZ NZ	OcÚ Palárikovo	2
16	VN Cabaj	SRZ Nitra	OcÚ Cabaj-Čápor	4

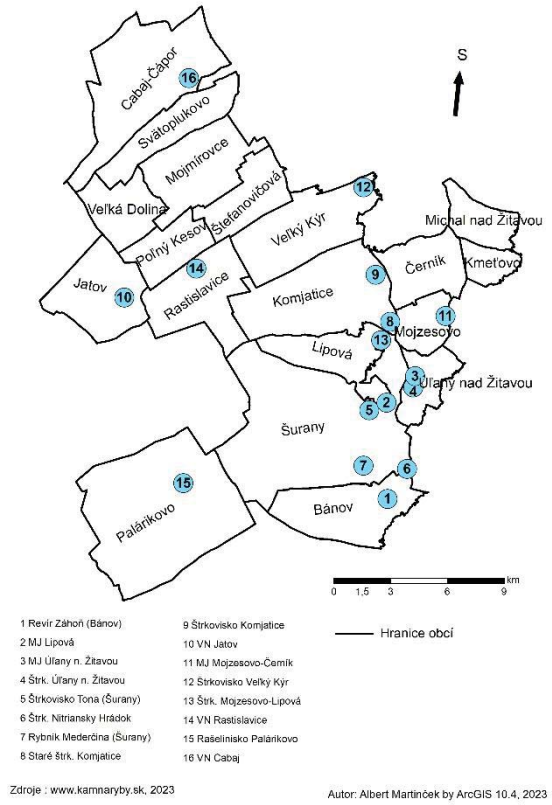
Zdroj: [8]

Štrkovisko Úľany nad Žitavou, Štrkovisko Tona v Šuranoch, Štrkovisko Veľký Kýr. Pozoruhodné je jazero v Palárikove (miestnymi obyvateľmi nazývané aj Barina), ktoré na rozdiel od ostatných bolo pôvodne rašeliniskom. Ostatné stojaté vodné plochy môžeme nájsť aj severných a západných obciach mikroregiónu, napr. Vodná nádrž (VN) Jatov, VN Rastislavice a VN Cabaj. V súčasnosti sú všetky stojaté vodné plochy v mikroregióne využívané ako rybníky. Lokalizáciu týchto vodných plôch v rámci mikroregiónu zobrazuje mapa 2 [8].

Zo spomínaných 16 rybníkov plošne najrozsiahlejšie a pre mikroregión najvýznamnejšie sú štrkovisko Tona a Štrkovisko Komjatice. Potenciál rozvoja pri nich je najvýraznejší, keďže už v súčasnej dobe sú medzi obyvateľmi všeobecne známe aj ako prírodné kúpaliská.

Štrkovisko TONA (v minulosti Tôňa) začalo vznikať ťažbou štrku už na začiatku 50-tych rokov (obrázok 1). Postupne nadobudlo bagrovaním rozlohu cca 24 ha. Ako rybársky revír bolo obhospodarované Miestnou organizáciou Slovenského rybárskeho zväzu (MsO SRZ) v Šuranoch. Po dohode s MsO a majiteľmi pozemkov pod vodnou hladinou a zo súhlasom MŽP SR v r. 2008 novovzniknutý subjekt TONA s.r.o. hrádzou oddelil ostrovnú časť revíru. Táto časť bola zaradená ako „revír

v osobitnom režime“ a táto organizácia začala prevádzkovať športový rybolov spôsobom „chyť a pusť“ s možnosťou privlastnenia si niektorých druhov rýb.



Mapa 2: Lokalizácia vodných plôch v mikroregióne Cedron-Nitrava
Zdroj: [8]

S rozlohou 2,5 ha a hĺbkou 4 m posadené do prirodzeného prírodného prostredia spĺňa nároky aj náročných milovníkov prírody. Na brehoch je v prísnom súlade s prírodou osadených niekoľko altánkov, ktoré zabezpečujú posedenie, ale aj ochranu pred nepriaznivým počasím.

Rybník je súčasťou oddychovej zóny mesta Šurany s plážou a možnosťou prírodného kúpania vo veľkom štrkovisku s dostatočne čistou vodou, na základe platných hygienických opatrení. Niektoré časti kúpaliska (bazén s toboganom) však sú v súčasnosti, žiaľ v nepoužiteľnom stave [9].

Štrkovisko Komjatice (obrázok 2) predstavuje vodnú plochu s ostrovmi, ktorá vznikla vybagrovaním pri ťažbe štrku na ľavej strane od cesty z Komjatíc do Černíka. Rozloha štrkárne je 45 ha a jej maximálna hĺbka je 18 metrov.

Jazero je rybárskym revírom i rekreačnou lokalitou. Sú tam vhodné podmienky pre plávanie. Pri vode sa nachádza volejbalové ihrisko. Voda poskytuje príjemné osvieženie, relax i možnosť aktívneho oddychu pre všetky vekové kategórie počas horúcich letných dní. Blízke okolie ponúka viacero možností pre turistiku a cykloturistiku.

V štrkárni je rozvinuté rybárstvo. Starostlivosť o rybársky revír zabezpečuje súkromná Rybárska spoločnosť Komjatice. Návštevníci majú možnosť zakúpenia hosťovacieho rybárskeho lístka [10].

Obr. 1 Štrkovisko Tona
Zdroj: [6]

Obr. 2 Štrkovisko Komjatice
Zdroj: [6]

4.2 Inštitúcie využívania, starostlivosti a rozvoja vodných plôch

Jednou z najstarších inštitúcií tohto zamerania je **Slovenský rybársky zväz (SRZ).**

Po 1. svetovej vojne existovalo na Slovensku 29 rybárskych spolkov. V roku 1928 bolo vo zväze už 43 rybárskych spolkov. V roku 1946 bol založený „Jednotný rybársky zväz“ so sídlom v Žiline. V roku 1952 bol vydaný rybársky zákon, ktorým bol zoštátnený výkon rybárskeho práva vo všetkých vodách a rybárske revíry boli odovzdané rybárskym organizáciám do bezplatného užívania. Na I. ustanovujúcom zjazde SRZ v roku 1969 bol Jednotný rybársky zväz premenovaný na Slovenský rybársky zväz. V roku 1988 mal SRZ 106 a v roku 2020 122 miestnych organizácií.

V roku 2002 bol prijatý nový zákon č. 39/2002 Z. z. o rybárstve v znení neskorších predpisov a vyhláška MŽP SR č. 185/2006 Z. z., ktorou sa vykonáva zákon o rybárstve. Platil do 31.12.2018 kedy bol nahradený Zákonom č. 216/2018 Z.z. o rybárstve v znení neskorších predpisov a vykonávacou vyhláškou MŽP SR č. 381/2018 Z.z. [11].

V SRZ Šurany boli zorganizované rôzne rybárske preteky, memoriál Jozefa Hubinu (venovaný bývalému predsedovi rybárskeho zväzu), detské rybárske preteky v Šuranoch, Bánove, Mojzesove a Mani, Kaprový maratón Tona a memoriál Ľudovíta Bajzíka (venovaný významnému rybárovi zo Šurian). Súčasný počet členov SRZ v Šuranoch je 1544 (tabuľka 2). Uskutočnili sa plánované jarné a jesenné brigády so zameraním na odstraňovanie náletových drevín, kosenie trávneho porastu, zber odpadkov. V jesenných mesiacoch sa

uskutočnil aj snem SRZ. Novým prezidentom SRZ sa stal Ivan Orovčík a novým tajomníkom Ing. Bohuš Cintula. Naďalej sa pokračuje v jesennom zarybňovaní, ktoré sa osvedčilo z dôvodu minimálneho úhynu rýb v jarných mesiacoch. Pokračuje sa i v osádzaní neresových hniezd pre zubáča. Osobnou účasťou pri vážení, distribúcii rybej násady a následným prikrmovaním rýb zväz prispieva k stále lepšiemu zarybneniu šurianskych revírov.

Tabuľka 2: Základné informácie o vekovej štruktúre členov MsO SRZ Šurany

Počet členov MsO SRZ Šurany 2022	
Počet členov celkom	1544
Dospelí spolu	1273
Z toho : dospelých	981
dôchodcov	116
dôchodcov nad 70 rokov	67
žien	43
mládeže	66
detí	271

Zdroj: [12]

Záujemcu za člena zväzu prijíma výbor základnej organizácie na základe písomnej prihlášky. Členstvo vzniká prijatím výborom, absolvovaním skúšky zo stanov, zákona o rybárstve č. 216/2018 Z. z. a jeho vykonávacej vyhlášky č. 381/2018 Z. z., zaplatením zápisného a členského príspevku [12].

Okrem štátnych rybníkov je možné loviť ryby aj na súkromných revíroch. Každý súkromný rybník má svoje pravidlá lovu a ponúka možnosti využitia na športový rybolov bez rybárskeho lístka či povolenia.

Na najviac využívaných prírodných vodných plochách s neorganizovanou rekreáciou zabezpečujú kontrolu kvality vody **miestne príslušné Regionálne úrady verejného zdravotníctva (RÚVZ)** v pravidelných dvojtýždňových intervaloch. Menšie lokality, ktoré sú na kúpanie využívané len príležitostne počas horúcich dní a víkendov, RÚVZ monitoruje len orientačne (1 – 3 razy za kúpaciu sezónu príp. podľa aktuálnej situácie). Podľa najnovších rozborov z roku 2022 kvalita vody vo Veľkokýrskom rybníku je nevhodná na kúpanie. Príčinou je mierne zvýšený výskyt siníc, v dôsledku dlhotrvajúcich slnečných dní a zvýšenej teploty v lete. Rybník je totiž bez prítoku a voda sa v ňom dostatočne nepremiešava [13].

Jedným z ďalších spôsobov využitia vodných plôch je zimné plávanie, ktoré zabezpečujú organizácie otužilcov Ľadové medvede spod Zobora so sídlom v Nitre a Šurianske ľadové medvede z mesta Šurany.

Za štandardné zimné plávanie sa považuje pobyt v zimnom období vo vode chladnejšej ako 12 °C („studená voda“), spravidla v prírode, s časom vo vode aspoň 2 - 20 minút. Za zimné plávanie možno považovať aj také plávanie, keď je voda ľadová (pod 4°C) a plavec v nej pláva aspoň 1 minútu. Z bezpečnostných a zdravotných dôvodov by čas pobytu v studenej vode nemal presiahnuť 20 minút. Zimné plávanie prispieva k otužovaniu – je to metóda na posilnenie imunitného systému [14].

Skupiny nadšencov otužovania sa kúpu v tých istých vodných plochách, ktoré využívajú ostatní obyvatelia mikroregiónu v letnej sezóne. Rešpektujú však nariadenia RÚVZ o čistote vody, prípadne do vody vstupujú po zvážení rizík, avšak výskyt mikroorganizmov a siníc je počas chladných zimných mesiacov potlačený. Taktiež sa neotužujú na miestach výhradne určených na rybolov.

Obecné úrady sa starajú prevažne o okolie vodných plôch - kosením trávy, výrubom drevín prípadne výstavbou infraštruktúry potrebnej pre rybolov a rekreáciu (prístrešky, lavičky, móla).

4.3 Vodné plochy v rozvoji mikroregiónu

V záujmovom území MAS Cedron-Nitrava sa od roku 2016 do roku 2022 podporilo dovedna 112 projektov LEADER, ktoré financuje Nitriansky samosprávny kraj. Jednotlivé projekty sú zverejnené na webovej stránke https://www.leadernsk.sk/ [5].

V rámci projektu LEADER boli vodné plochy v mikroregióne podporené v rozmedzí rokov 2016 – 2022 len v roku 2018. Vtedy sa na podporu činnosti súkromnej Rybárskej spoločnosti Komjatice vyčlenil finančný príspevok 1 920,41 EUR. Táto suma sa využila na výrobu a osadenie náučných panelov zobrazujúcich vodné vtáctvo do okolia Komjatického štrkoviska (súčasť projektu Vzdelávanie priamo v prírode pri jazere). MsO SRZ Šurany dostala v tom istom roku príspevok 1 920,41 EUR na Podporu tradície rybárstva v regióne [5].

V mikroregióne sa realizujú aj projekty operačných programov, ktoré sú financované z príspevkov Európskej únie (eurofondy). Ide predovšetkým o Program rozvoja vidieka (PRV), Integrovaný regionálny operačný program (IROP), Operačný program Kvalita životného prostredia (OP KŽP), Operačný program Rybné hospodárstvo (OP RH). Na základe údajov zo stránky https://www.itms2014.sk/ sa programovom období 2014 – 2020 podporilo v mikroregióne niekoľko projektov. Väčšina z nich bola zastrešená PRV a IROP, avšak v OP RH sa v spomínanom

období nijaké projekty nepodporili, resp. sa ani nepodali žiadosti [6].

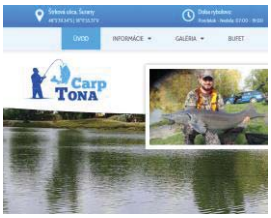
V Stratégii CLLD MAS Cedron-Nitrava na roky 2014 – 2020 sa rybníky a jazerá spomínajú aj v rámci SWOT analýzy. V časti Environmentálna oblasť sa uvádza, že „veľmi dobrou východiskovou situáciou je existencia vodných tokov, mŕtvych ramien riek, rybníkov, jazier, artézskych studní a termálnych prameňov v území“. Výraznou slabou stránkou je „znečisťovanie niektorých vodných tokov a spodných vôd v oblastiach, kde nie je dobudovaná kanalizácia a niektorí občania vypúšťajú splašky do voľnej prírody“ [7].

4.4 Marketing a potenciálna využiteľnosť vodných plôch v mikroregióne

Za marketingom stojí sieť subjektov súperiacich o pozornosť a peniaze jednotlivca. Medzi základné determinanty dopytu patria sociálno-ekonomické a kultúrne faktory, prírodné faktory, infraštruktúrne faktory (najmä komunikačné). Zo strany ponuky bol vymedzený súbor lokalizačných predpokladov. V súčasnosti sa čoraz častejšie využíva systém marketingového mixu, zahŕňajúca 4 stratégie: produktovú (product), cenovú (price), distribučnú (place) a komunikačnú (promotion) [15, 16].

Svoje weby majú štrkovisko v Komjaticiach a štrkovisko Tona v Šuranoch. Tieto webstránky poskytujú informácie aj o možnostiach kúpania, ale primárne slúžia pre nadšencov rybolovu (obr. 3 a 4). Webstránka určená výlučne pre rekreantov chýba. Neúplné informácie však poskytujú aj na sociálnej sieti.

Obr. 3 Webstránka súkromnej Rybárskej spoločnosti Komjatice
Zdroj: [10]



Obr. 4 Webstránka rybárskeho revíru Štrkoviska Tona
Zdroj: [9]

Opustené a ďalej nevyužívané plochy, ktoré kedysi podliehali ľudskej činnosti, sa nazývajú brownfieldy. Medzi ne sa na základe databázy SAŽP zaraďujú aj ťažobné areály. V mikroregióne prebieha aktuálne revitalizácia Starého štrkoviska Komjatice, ktoré by malo slúžiť na rekreačné účely. Podobným procesom pretvorenia prešli, resp. budú prechádzať aj ostatné materiálové jazerá v mikroregióne

Z foriem turizmu, ktoré by mohli byť v kontexte vodných plôch aplikované na podmienky mikroregiónu, je možné spomenúť agroturistiku, ekoturistiku, kulinársky turizmus (rybie špeciality). Uplatnili by sa i ďalšie formy špecializovanej turistiky, ako sú pešia turistika, cykloturistika alebo člnkovanie na vodných plochách [17].

4.5 Modelový príklad – potenciál vodnej plochy pre rozvoj obce Veľký Kýr

Štrkovisko v obci Veľký Kýr má značný potenciál stať sa turistickou atraktivitou. Svoje tvrdenia dokladujeme v desiatich bodoch:

1. Výraznou prednosťou tohto štrkoviska je jeho poloha. Nachádza sa vo východnej časti extravilánu obce v tesnej blízkosti rieky Nitry. Je ľahko dostupné z obcí Veľký Cetín, Vinodol a Veľký Kýr, pričom z každého východiskového bodu je rovnako vzdialené približne 3 km. Z Veľkého Kýru je dostupné aj autom, z ostatných dvoch obcí sa sem dá dostať na bicykli, motocykli alebo pešo.
2. Pozdĺž rieky Nitra, respektíve po jej hrádzi, bola vybudovaná asfaltová cesta pre bicykle. Ide o dôležitú tepnu cykloturistiky spájajúcu mestá Nitra a Nové Zámky, teda Ponitriansku cyklomagistrálu. Podľa Stratégie rozvoja cyklotrás v NSK [18] by mala byť v plnej dĺžke dokončená do roku 2027. V súčasnosti je prejazdná len v úseku Nitra – Vinodol.
3. V okolí štrkoviska je veľmi príjemné vidiecke prostredie, keďže ho obklopujú pšeničné, ale aj slnečnicové polia. Bývalé materiálové jazero vzhľadom skôr pripomína prírodnú vodnú plochu. Jeho brehy sú po celom obvode porastené drevinami, ktoré poskytujú návštevníkom tieň. Z drevín dominujú prevažne vlhkomilné vŕby a topole.
4. Štrkovisko je zaujímavé aj možnosťou stanovania a kempovania. Po vzore súkromného rybárskeho revíru Kocka vo Veľkom Cetíne by sa aj tu mohol zriadiť stánok s tradičnými slovenskými špecialitami (vo Veľkom Cetíne predávajú napr. podpecníky).
5. Je tu aj možnosť rybolovu, ktorý sa v súčasnosti teší veľkej obľube medzi rybármi z okresu Nové Zámky a Nitra.
6. Je to známa lokalita pre otužilcov z Nitry i zo Šurian.
7. V budúcnosti sa plánuje okolie štrkoviska prispôsobiť návštevníkom ešte viac. Plán jeho revitalizácie sa spomína v PHSR obce Veľký Kýr [19]. Po obvode vodnej plochy by sme navrhovali vybudovať chodník, aby sa dalo navštíviť aj v daždivom počasí.

8. Štrkovisko je medzi obyvateľmi značne obľúbené z dôvodu úzkej spätosti so spomienkami obyvateľov z detstva, keď sa cez leto chodievali k nemu kúpať. Vyrastali pri ňom 2 generácie obyvateľov, odkedy sa v roku 1980 prestal ťažiť štrk.

9. Značný je aj edukačný potenciál štrkoviska. Pre žiakov Základnej školy Veľký Kýr sa tu dá vyučovať geografia miestnej oblasti, zvlášť biogeografia, keďže sa tu vyskytujú rastlinné a živočíšne spoločenstvá polí, lúk, jazier i lesa. Vychádzajúc zo skutočnosti, že štrkovisko je obkolesené zachovanou prírodou, mohli by sme tvrdiť, že by mohlo byť aj vonkajším umeleckým ateliérom, pretože príroda od nepamäti predstavovala pre literárnych aj výtvarných umelcov nevyčerpateľný zdroj inšpirácie.

10. Keďže prístroje, ktoré sa kedysi využívali na ťažbu, boli napájané elektrickou energiou, ako pozostatok z týchto čias je k štrkovisku natiahnuté elektrické vedenie. Pre návštevníkov by to mohlo znamenať pripojenie na internet zadarmo.

Záver

Územie mikroregiónu Cedron-Nitrava je bohaté na množstvo zaujímavostí aj antropogénneho pôvodu, ktoré môžu prispieť k zveľadeniu životného priestoru jeho obyvateľov, k pozdvihnutiu životnej úrovne a ekonomickej stability. Niektoré z nich, napr. Štrkovisko Veľký Kýr, môžu byť pretvorené na menšie rekreačné stredisko, pre čo má všetky predpoklady. Neprítomnosť pohorí kompenzuje rovinatý reliéf so svojimi špecifikami. Zaujímavým fenoménom je aj obľúbenosť štrkoviska medzi otužilcami a cyklistami.

Môžeme tak s istotou tvrdiť, že MAS Cedron-Nitrava má v kontexte svojej infraštruktúry a počtu využiteľných vodných plôch dostatočné predpoklady pre svoj ďalší regionálny rozvoj.

Poďakovanie

Ďakujem mojej školiteľke RNDr. Hilde Kramárekovej, PhD. za vedenie a cenné rady pri písaní článku.

Použitá literatúra

[1] NETOPIL, R. a kol. 1984. *Fyzická geografie 1.* 1. vyd. Praha : SPN, 273 s.

[2] Martinček, A. 2022. Zaujímavosti mikroregiónu Cedron-Nitrava. In : Študentská vedecká konferencia 2022. FPVaI UKF v Nitre. ISBN 978-80-557-1733-3

[3] VOZÁR, J. red. 1988. Vysvetlivky ku geologickej mape severovýchodnej časti Podunajskej nížiny. Bratislava : Geologický ústav Dionýza Štúra. 116 s.

[4] Michel, J. 1971. Ložiská štrkopieskov na Slovensku. In Mineralia Slovaca, roč. 3, č. 12, s. 1-5.

[5] Projekt LEADER. [Citované: 03. marec 2023] https://www.leadernsk.sk/

[6] ITMS2014+. [Citované: 03. marec 2023] https://www.itms2014.sk/

[7] Regionálny rozvoj vedený komunitou v MAS Cedron-Nitrava pre roky 2014-2020. [Citované: 03. 2023] https://www.cedronnitrava.sk/strategia-clld-0.html

[8] Zoznam rybárskych revírov na Slovensku. [Citované: 03. marec 2023] www.kamnaryby.sk

[9] Oficiálna stránka rybárskeho revíru Tona. [Citované: 03. marec 2023] www.carptona.sk

[10] Obec Komjatice. [Citované: 03. marec 2023] https://www.komjatice.sk/

[11] Oficiálny web SRZ. [Citované: 03. marec 2023] https://www.srzrada.sk/

[12] SRZ MsO Šurany. [Citované: 03. marec 2023] http://www.srz-surany.sk/

[13] Úrad verejného zdravotníctva v SR. [Citované: 03. marec 2023] https://www.uvzsr.sk/

[14] Šurianske ľadové medvede. [Citované: 03. marec 2023] http://www.ladovemedvede.eu/

[15] MATLOVIČOVÁ, Kvetoslava – MATLOVIČ, René. 2017. Destinačný marketing pre geografov. Prešov : Prešovská univerzita, 275 s. ISBN 978-80-555-1892-3.

[16] Vidiek ako investičná príležitosť. [Citované: 19. marec 2023] https://www.zmos.sk/kniznica-zmos.html

[17] MATLOVIČOVÁ, K., KLAMÁR, R., MIKA, M. 2015. Turistika a jej formy. Prešov : Prešovská univerzita, 550 s. ISBN 978-80-555-1530-4.

[18] HLATKÝ, M. a kol. 2020. Stratégia rozvoja cyklotrás v NSK na roky 2021 – 2027. Nitra : Slovenský cykloklub, o. z. 330 s.

[19] PHSR obce Veľký Kýr na roky 2015 – 2023. [Citované: 03. marec 2023] https://www.velkykyr.sk/dokumenty-obce/#phsr

Výskum Prosieckej jaskyne so zameraním sa na alochtónnu a autochtónnu vyplň a ich vplyv na morfológiu jaskynných priestorov

Investigation of the Prosiek cave focused on alochton and autochon filling and their impact on morphology of cave spaces

Ján Laco[1]
Školiteľ: Štefan Ferenc[2]
[1,2]Katedra geografie a geológie, FPV UMB, Tajovského 40, 974 01 Banská Bystrica,
[1] jlaco@student.umb.sk [2] stefan.ferenc@umb.sk

Abstrakt

Prosiecka jaskyňa, ktorá sa nachádza v východnej časti Chočských vrchov je komplikovaný a krátko známy geosystém. Potok Prosiečanka vymodeloval v strednotriasových vápencoch hronika tri zatiaľ známe úrovne jaskyne. Výplň jaskyne je rôznorodá a je tvorená mimo iné aj pestrou jaskynnou výzdobou. V prípade časti výzdoby bola urobená infračervená spektrálna analýza vzorky, ktorá sa potvrdila, že v nej prevláda aragonit oproti kalcitu. Aragonit je minerál, ktorý sa v jaskynnom prostredí vyskytuje menej často ako kalcit. Analyzované boli aj ďalšie tri vzorky, pri ktorých sa zistilo, že sa jedná o limonit a goethit. Minerály a horniny tvoria reliéf skúmaných priestorov, pri ktorom bol dôraz kladený aj na sintrovu výzdobu a deje, ktoré ju vytvorili či už základné sintrové útvary alebo rôzne vzácnejšie útvary. V skúmaných častiach jaskyne sú charakterizované aj pomery klimatické, hydrologické a biospeleologické, pri ktorých je pozornosť venovaná aj nálezom pozostatkov živočíchov.

Kľúčové slová: Západné Karpaty, Chočské vrchy, Prosiecka jaskyňa, aragonit, jaskynná výzdoba

Abstract

The Prosiecka cave, located in the western part of the Chočské mountains, represents a complicated geosystem. The Prosiečanka stream modelled the three known levels of the cave, in the Middle Triassic limestones of the Hronic Unit. The filling of the cave is diverse and is formed, among other things, by the varied cave decoration. In the case of part of the decoration, an infrared spectral analysis confirmed that aragonite predominates over calcite. Aragonite is a mineral that occurs less frequently than calcite in cave environments. Three other samples were also analysed, recognising presence of the limonite and goethite. Minerals and rocks form the relief of the area of interest, where emphasis was also placed on the sinter decoration and the events that created it, whether basic sinter formations or various rarer formations. Climatic, hydrological and biospeleological conditions are also characterised in the investigated level of the cave, where attention is also paid to the discovery of animal remains.

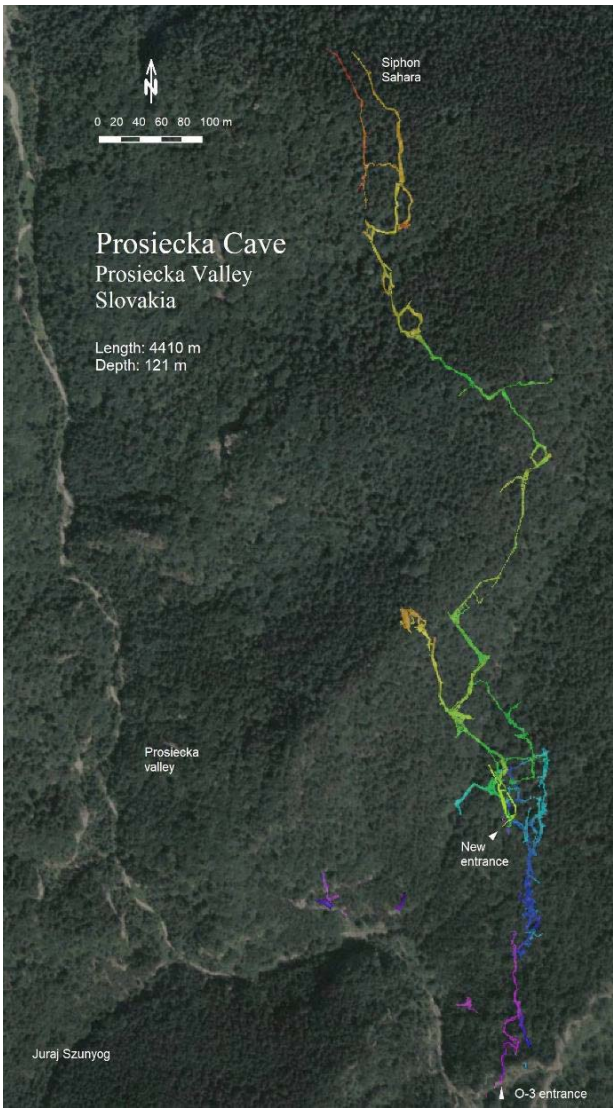
Key Words: Western Carpathians , Chočské Mts., Cave of Prosiek, aragonite, cave decoration

Úvod

Problematika jaskýň je veľmi široká a bolo by chybou nesnažiť sa pristupovať k tejto téme komplexne. Fyzická geografia a aj speleológia využíva poznatky mnohých prírodných vied. V rámci geovied je to najmä geológia. Jaskyne sú vytvorené v litosfére, sú súčasťou geomorfosféry a zaberajú časť všetkých geosfér, v ktorých prebiehajú geomorfologické procesy [1]. Pedosféra sa prejavuje obvykle iba nepriamo a pôdna vrstva sa vo väčšine jaskýň netvorí, čo je prípad aj sledovanej oblasti. Výskum krasu je dôležitý z viacerých dôvodov, akými sú napríklad zdroje pitnej vody pre obyvateľstvo, výstavba v krase, či cestovný ruch.

Problematike krasu v Prosieckej doline sa v venovali Hochmut (3, 4), neskôr Szunyog (1, 5, 6), predseda speloklubu Chočské vrchy. Treba vyzdvihnúť aj prácu mnohých ľudí pri prieskume podzemných priestorov masívu Prosečného, najmä zo speleoklubu Chočské vrchy. Poukazuje na to hlavne fakt, že jaskyňa mala roku 1997 známych 56,85m [2] a súčasnosti je to vyše 4400 m.

Cieľom predloženej práce je jednak komplexná fyzickogeografická charakteristika jaskyne, jednak tiež aj podrobnejší opis vlastností a vzťahov litosféry a geomorfosféry v skúmanom území.



Obr. 1 3D mapa Prosieckej jaskyne vytvorená v programe Theridon.
Zdroj: [Juraj Szunyog, 2022]

1 Vymedzenie územia

Skúmaná časť jaskyne spadá do okresu Liptovský Mikuláš, nachádza sa 12 km severozápadne od mesta a patrí do katastrálneho územia obce Prosiek, od ktorej leží 2 km severne. Jej poloha v rámci okresov Slovenska je v prílohe [obr. 9]. Prosiecka jaskyňa sa nachádza v Chočských vrchoch, v geomorfologickom podcelku Prosečné, na ľavej strane Prosieckej doliny.

Z hľadiska regionálnej geológie sú Chočské vrchy tvorené dvoma tektonickými jednotkami (príkrovmi), a to fatrikom (križňansky pr.), ktorý sa nachádza hlavne v západnej časti pohoria, kde sú značne zastúpené horniny jurského a kriedového veku. Východná časť je tvorená hronikom (chočský pr.), ktorý je budovaný, na krasovatenie veľmi vhodnými, strednotriasovými guttensteinskými vápencami, čiastočne aj vrchnotriasovými vápencami a často sa vyskytujúcimi dolomitmi [3]. Prosiecka dolina je zarezaná medzi vrchmi Prosečné (1372 m.n.m) a Lômy (1278 m.n.m). Dno doliny je tvorené tmavými guttensteinskými vápencami, lokálne, najmä vo vyšších častiach svahov doliny je viac zastúpený tiež aj strednotiasový dolomit [5]. Prosiecka dolina je epigenetická dolina [4]. Kaňon v doline vznikol činnosťou potoka Prosiečanky, jednak jej zarezávaním počas vyzdvihovania pohoria a zrejme i zrútením časti jaskynných úsekov [5].

Do Prosieckej jaskyne vedú dva vchody, z ktorých prvý je vo výške 702 m n. m. V týchto miestach sa nachádza aj viacero kratších jaskýň označených ako O1, O2, O3, čiže prvých 135 m Prosieckej jaskyne [6], kde boli najväčšie objavy a jaskyňa O4. Druhý vchod je vytvorený umelo v nadmorskej výške 784 m n. m. V súčasnosti je zameraná dĺžka jaskyne 4492 m a jej denivelácia je 121 m [6], pozdĺžny profil jaskyne je uvedený v prílohe na [obr. 8]. V jaskyni sú aktuálne známe tri jaskynné úrovne. Výskum a praktický prínos tejto práce však súvisí výhradne len s 1., najvyššou a s hľadiska genézy najstaršou jaskynnou úrovňou, ktorá je zatiaľ známa. Jaskyňa má relatívne podobný priebeh ako Prosiecka dolina (S-J smer) ako dokladá mapa na [obr.1]. V rámci vymedzenia území je potrebné spomenúť, že Chočské vrchy sú považované za samostatnú krasovú oblasť [4].

2 Geologická stavba a vlastnosti

Obdobne ako v doline, aj jaskynné priestory sú v nižších úrovniach tvorené najmä guttensteinským vápencom, vo vyšších jaskynných úrovniach, často aj značne rozšírenými dolomitmi. Zrejme sa tu nachádzajú aj prechodné formy vápenca a dolomitu postupne ako vo vápenci klesá podiel kalcitu. Podiel $CaCO_3$ v guttensteinskom vápenci sa pohybuje od 91,1% do 99,1%, v prípade jeho dolomitizovanej časti už od 54% [8].

Samotnú výplň jaskyne je potrebné deliť na alochtónnu, čo sú materiály prinesené do jaskyne z povrchu a autochtónnu – látky, ktoré v ich konečnej chemickej forme vznikli in situ – priamo v jaskyni. Oba typy jaskynnej výplne sa vzťahujú k všetkej výplni abiotickej aj biotickej a ku všetkým skupenstvám [9].

Alochtónnu výplň jaskyne tvoria rôzne horniny, ktoré boli vodou transportované do jaskyne. Deje sa tak v jaskyniach, kde je známe riečisko a vodné toky

pritekajú z nekrasového územia. Riečisko v tejto jaskyni však nie je známe. V prípade sledovanej 1. jaskynnej úrovne, z tuhých alochtónnych látok je najviac zastúpená jaskynná hlina/bahno, ktoré je mineralogicky veľmi pestré. Z hľadiska genézy ide vlastne o zmes produktov zvetrávania a chemickej korózie krasovej horniny na povrchu i v podzemí a nerozpustnú zložku (napr. silikáty, Fe oxidy a zložky povrchovej pôdy). Hrubozrnné náplavy pieskov prevládajú v niektorých severných častiach zatiaľ známych priestorov jaskyne. Ich transport je taktiež zapríčinený vodou a dostali sa do jaskyne z prevažne nekrasových severnejších oblastí, príkladom je Sifón pod hradom [obr. 2].

Obr. 2 Sifón pod hradom - príklad alochtónnej akumulácie piesku a ílu.
Zdroj: [Juraj Szunyog, 2023]

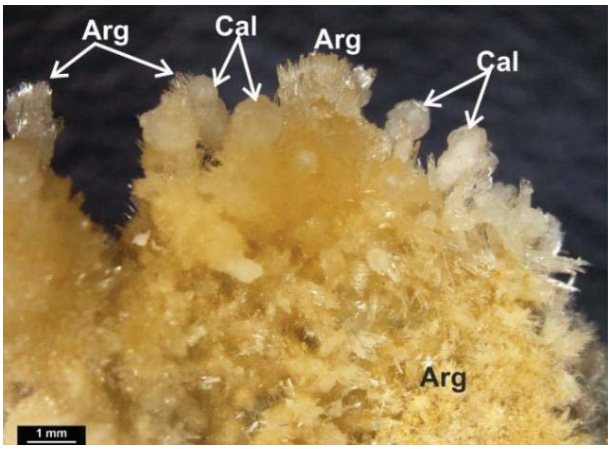
Autochtónnu vyplň jaskyne okrem iného tvoria v skúmanej časti dve polymorfné modifikácie $CaCO_3$. Kalcit, ktorý kryštalizuje v trigonálnej sústave a aragonit, kryštalizujúci v rombickej sústave. Oproti kalcitu je výskyt aragonitu v prírode menej častý.

Sinter vzniká precipitáciou $CaCO_3$ z vodných roztokov na rozhraní horniny a vzduchu v podzemných priestoroch. Tieto roztoky vznikajú v dôsledku toho, že pôdny vzduch krasového povrchu obsahuje výrazne viac CO_2 ako vzduch atmosférický, krasová voda sa ním nasycuje a v komunikácii s horninou rozpúšťa vápenec. Keď sa dostane do kontaktu so vzduchom v jaskyni, ktorý obsahuje výrazne nižší podiel CO_2 stane sa roztok presýteným a dochádza k úniku CO_2, a tým aj k precipitáci $CaCO_3$. Dynamiku tohto deja ovplyvňuje viacero faktorov. Základnou formou prejavu roztoku je kvapka v jaskynnom prostredí. Vytvára sa však aj vodný film, čím sa zväčšuje styčná plocha a aj rýchlosť prectipácie. Sinter vytvára veľmi pestré morfologické útvary. V tejto kapitole je však potrebné spomenúť, že morfológia sintru nie je determinovaná konkrétnou kryštalickou modifikáciou uhličitanu vápenatého. Morfológia sintrových útvarov závisí najmä na fyzikálnochemickom stave okolitých hornín roztoku a jaskynného vzduchu [8].

2.1 Mineralogická charakteristika vybraných vzoriek

Jeden z prínosov predloženej práce je zistenie, existencie dvoch polymorfných modifikácií uhličitanu vápenatého v rámci jaskynnej výzdoby. Vzorka bola odobratá v severnej časti jaskyne, kde je daný typ výzdoby v sledovanej časti jaskyne jednoznačne najviac prítomný. Nachádzajú sa tu rôzne excentrické, najmä ihlovité, ale aj špirálovité útvary aragonitu. Infračervenou spektroskopiou sa potvrdila domnienka, že aragonit je vo výzdobe jednoznačne prevládajúcim minerálom a kalcit je menej zastúpenou modifikáciou $CaCO_3$ [obr. 3].

V sledovanom území bola na viacerých miestach stien jaskyne pozorované čierne náteky, ktoré sú niekde dosť výrazné, niekde menej nápadné. Uloženie nátekov je často konkordantné s vrstevnatosťou vápenca, a boli pozorované aj miesta, kde sa jednalo o diskonkordantné uloženie (na puklinách a tektonických brekciách karbonátov). Boli odobraté tri vzorky – jedna so severnej časti jaskyne, druhá so strednej a tretia z blízkosti vchodu. V prípade prvej vzorky, ktorá bola obdratá s vrstvou vytvárajúcej pomerne výraznú konvexnú formu mikroreliéfu sa jednalo sa o *limonit*, (zmes hydratovaných oxidov a hydroxidov železa). V prípade vzoriek č 2 a 3 sa jednalo o goethit (FeOOH), ktorý narastá buď na limonite alebo priamo na hornine. Oba minerály vznikli infiltračnou precipitáciou oxidov Fe v karbonátoch, resp. na ich povrchu.

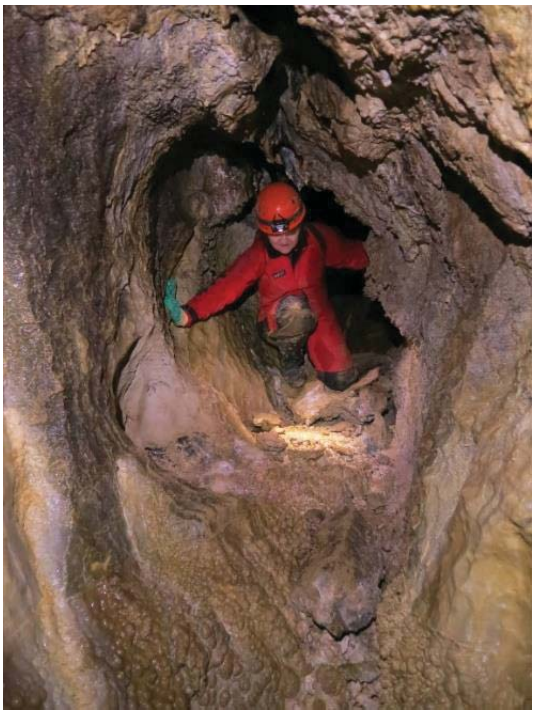


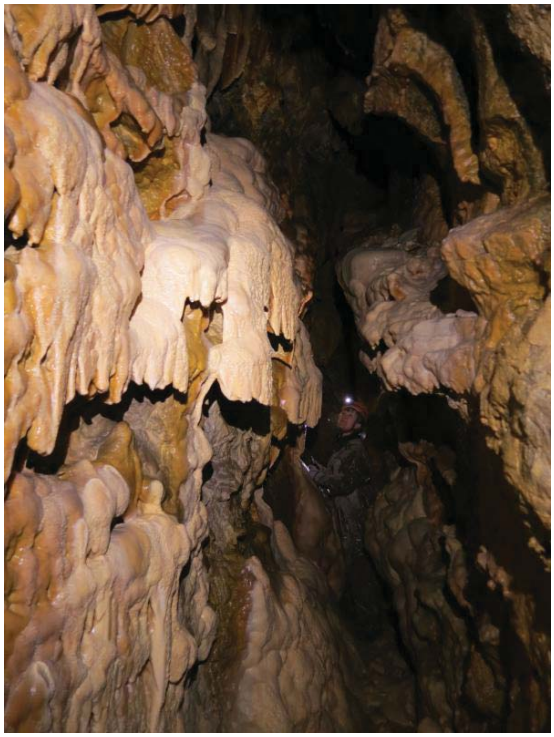
Obr. 3 Dokumentačná fotografia výzdoby s vyznačením kalcitu (Cal) a aragonitu (Arg).
Zdroj: [Štefan Ferenc, 2022]

3 Morfologické pomery

Reliéf jaskynného prostredia je možné rozdeliť na niekoľko typov. Makroreliéf jednotlivých úrovní jaskyne. Mezoreliéf – formy, z ktorých sa skladajú jednotlivé úrovne ako sú napríklad dómy, siene, chodby, priepasti a pod. Mikroreliéf tvoria menšie formy na mezoreliéfe, akými sú napríklad zárezy na stenách, strope, či podlahe. Možné je vyčleniť ešte menšie formy reliéfu, ktoré zodpovedajú nanoúrovni až najnižšej pikoúrovni - sú to rôzne drobné skulptúrne formy odrážajúce kolobeh podzemných vôd [1].

Profil skúmanej jaskynnej úrovne (dlhý približne 1,5 km), je relatívne horizontálny s občasnými stúpaniami a klesaniami. V celku je však mierne stúpajúci, nakoľko sa od vchodu vo výške 784 m n. m. dostáva v najvyšších častiach nad 800 m n. m. Najväčším podzemným priestormi nie iba v 1. úrovni, ale aj v celej jaskyni je Trojkráľový dóm s rozmermi 19 x 10 x 6 m. V skúmanej časti sa vyskytuje viacero druhov profilov jaskyniach chodieb. Zo základných foriem sú pomerne časté elipsovité, horizontálne pretiahnuté a vertikálne pretiahnuté profily, prípadne ich kombinácia ako dokumentuje [obr. 4]. Na súčasnej forme profilov sa však značnou mierou podieľajú aj sedimenty, ktoré väčšinou vypĺňajú časť pôvodného profilu v rôznej hrúbke a v niektorých prípadoch aj celý profil, čo bráni v prieniku a prieskume ďalších časti jaskyne. V dvoch miestach je profil veľmi výrazne vertikálne pretiahnutý, a to v častiach tzv. Oranžového kaňonu na [obr. 5] a Bieleho kaňonu.


Obr. 4 Brána perlorodky elipsoidno-vertikálne pretiahnutý profil chodby.
Zdroj: [Juraj Szunyog, 2017]


Obr. 5 Oranžový kaňon - príklad výrazne vertikálne pretiahnutého profilu.
Zdroj: [Juraj Szunyog, 2016]

3.1 Morfológia a vlastnosti sintrových útvarov

Morfologicky veľmi pestré sú rozličné formy sintra, najčastejšie sa vyskytujúce sú gravitačné formy sintrov. Orientujú sa podľa gravitačných síl Zeme. Miestom prenikania sintrotvorných roztokov môže byť v jaskyni strop, steny, ale aj podlaha, avšak hlavným miestom infiltrácie krasových vôd je práve strop. Voda tu vytvára kvapky, ktoré sú zakotvené na okraji kapiláry v hornine. Ak sa toto miesto nachádza na najnižšom bode okolitej horniny, dochádza k tomu, že kvapka po určitej stagnácii, pri ktorej dôjde k precipitáci $CaCO_3$ a pádu bez ďalšieho kontaktu s jaskynnými stenami, padá priamočiaro k podlahe. Vzniká tak monocentrický základný sintrový útvar dutý, brčkovitý stalaktit. Je utvorený minerálmi, ktorých plochy po vykryštalizovaní sú orientované šikmo voči osi brčka [8]. Brčkovité stalaktity sú pomerne často vyskytujúce sa formy sintra. Ich výskyt je priebežný takmer v celej jaskyni a nebol pozorovaný najmä v severných a južných častiach sledovaného územia.

Hrubnutím brčiek vznikajú palicovité stalaktity. Steny brčkovitého útvaru sú čiastočne priepustné, nastáva tak precipitácia v samom centre kanálika, zvyšuje sa tým odpor prietoku a roztok vo väčšej miere presakuje cez steny a dochádza tak k hrubnutiu. Výskyt týchto útvarov je v jaskyni na podobných miestach ako sa vyskytujú brčká však menej častý. Sférolitické útvary tu doposiaľ neboli pozorované. Jedna morfologická mikroforma ich síce pripomína, no s najväčšou pravdepodobnosťou sa však jedná o vápenec pokrytý sintrovým natekaním. V prípade, že jaskynné steny majú vhodný tvar, môže nastať situácia, že roztok pomaly sa pohybujúci po spádovej čiare stropu precipituje a vzniká tak sintrová záclona. Tých bolo pozorovaných niekoľko.

Stalagmit je ďalší z predstaviteľov základných monocentrických útvarov. Vzniká radiálnym rozšírením na podlahu padajúcich kvapiek, pričom precipitácia je najintenzívnejšia v strede dopadu, vyzráža sa tak vrstva, ktorá sa stenčuje smerom k okraju. Hromadením týchto vrstiev vznikajú stalagmity. Jestvujú tri základné typy stalagmitov: palicovité stalagmity, kužeľovité stalagmity a pagody, ktoré vznikajú v dôsledku rôzneho prívodu roztoku. Stalagmity, ktoré boli pozorované, sú prevažne kužeľovité. Výraznejšie stalagnáty a stĺpy neboli zistené.

V prípade, že sa na jaskynnom povrchu vytvorí vodný film, dochádza k zväčšeniu styčnej plochy a urýchleniu precipitácie. Vznikajú tak sintrové náteky, ktoré sú v sledovanej oblasti bohato zastúpené. Jedna z foriem nátekových sintrov je aj mäkký sinter. Jedná sa o kryštalický útvar uhličitanu vápenatého z infiltračných vôd, v špecifickom fyzikálnom stave. Ide o zhluk ihlicovitých kryštálov kalcitu, kde v dôsledku prítomnosti SiO_2 nezrastajú a tvorí tak na prvý pohľad amorfnú, na dotyk plastickú látku [8]. V jaskyniach sa objavuje tam, kde je nadložná vrstva hornín obvykle tenká, v prípade sledovaného územia je to v južnej časti, konkrétne v Murovanej sienke. V jej okolí už nie sú pozorované iné sintrové útvary.

V rámci sintrových anomálii sú najčastejšie pozorované pizolity [obr. 6]. Ktoré vznikajú pádom sintrotvornéj kvapky za špecifických okolnosti akými sú výška pádu, tvar a tvrdosť miesta dopadu a mineralogické vlastnosti podkladu na ktorom dochádza k ich kryštalizácii. Pizolity alebo jaskyne perly sú oble s priemerom okolo 1cm [8]. Za pozornosť stojí i sintrový útvar tzv. perlorodka, ktorá pripomína lastúrnika, avšak po podrobnejšom prieskume je zrejmé, že sa jedná o pseudofosíliu. Genéza tohto útvaru je pravdepodobne taká, že ide o fosílne štádium niektorého zo sintrových útvarov stojacej vody a dosť možné aj kombináciou s nejakým iným faktorom [obr. 7].

Obr. 6 Pizolity.
Zdroj: [Juraj Szunyog, 2017]

Obr. 7 Perlorodka - pseudofosília lastúrnika.
Zdroj: [Juraj Szunyog, 2017]

4 Speloklimatická a hydrologická charakteristika

Speleoklimatické faktory sú vcelku menej výrazným diferenciačným faktorom. Prosiecka jaskyňa patrí z hľadiska prúdenia vzduchu k dynamickým jaskyniam. Treba podotknúť, že v sledovanom území nie sú k dispozícii úplne komplexné a presné speoklimatologické údaje. Teplota v jaskyni je blízka 7°C. Vzhľadom na geografickú polohu je táto hodnota blízka priemernej ročnej teplote na povrchu. Relatívna vlhkosť je viac ako 80%. Rýchlosť pohybu vzduchu a tlak nie sú známe.

Na pozorovanom úseku jaskyne dochádza k priesaku atmosférických vôd. Jeho intenzita sa odráža od aktuálneho počasia na povrchu. Pozorovaných bolo viacero stálych vodných plôch, z ktorých je najväčšie Plšie jazierko (20 x 2 m, max. hĺbka cca 1,8 m). V sledovanej jaskynnej úrovni sa niektoré vodné plochy vytvorili ako následok výdatnejších zrážok a najmä topenia sa snehu na povrchu.

5 Biospeleologická charakteristika

Jaskynné živočíchy možno rozdeliť z hľadiska ich výskytu v pozemných priestoroch. Troglobionty, žijúce výhradne iba v jaskyniach. Troglofily sú živočíchy, ktoré sa v jaskyniach vyskytujú pravidelne. Tie sa ďalej delia na eutroglofily, ktoré uprednostňujú jaskynné prostredie a na subtroglofily, ktoré trávia určitú časť roka, či dňa v jaskyni. Trogloxény sú živočíchy ktorých životný cyklus sa neviaže na jaskyne a vyskytujú sa v nich napríklad dôsledkom pádu [9].

V sledovanom úseku jaskyne neboli pozorované troglobionty ani eutroglofily. Z pomedzi subtroglofilov je opakovane pozorovaný netopier, žiaľ nepodarilo sa určiť presný druh. Medzi subtroglofilov by bolo možné zaradiť na základe pozorovania aj ďalšie živočíchy, ktoré v chladnejších častiach roka využívajú jaskyňu ako úkryt a sú pravidelne pozorované. Jedná sa o rôzne druhy hmyzu, či pavúkov. V okolí vchodu do jaskyne, kde dochádza cez malý otvor k prúdeniu teplého vzduchu na povrch, bola pozorovaná salamandra škvrnitá.

V skúmanej časti jaskyne sa nachádza kostrový nález drobného živočícha, zrejme netopiera a na okraji Plšieho jazierka sú v sintri dobre zachované pozostatky jedinca z čeľade plchovitých.

6 Výsledky a diskusia

Predložené výsledky výskumu sú postavené na základe priamych terénnych pozorovaní v jaskyni a jej okolí, tiež aj na základe odberu vzoriek jaskynnej výplne a jej mineralogického štúdia.

V rámci mikroforiem jaskynnej výzdoby bola v určitej časti jaskyne zistená jednoznačne prevládajúca aragonitová výzdoba nad kalcitovou. Výskyt aragonitu v jaskyniach je známy napr. v jaskyniach Huautla a Lechuguilla v Mexiku [9], Siebenhengste v Švajčiarsku, či Cloșani v Rumunsku. [10]. Na území Slovenska je najznámejší výskyt v Ochtinskej aragonitovej jaskyni [8]. Všeobecne však možno povedať, že aragonit je v jaskyniach menej rozšírený ako kalcit [9]. V jaskyni boli tiež zistené prejavy infiltračnej Fe mineralizácie, tvorenej *limonitom* a *goethitom*. Tento typ mieralizácie je v karbonátových horninách pomerne bežný [11].

Značná pozornosť bola venovaná morfológii jaskynných priestorov – od makroformy 1. jaskynnej úrovne, cez mezoformy, až po mikroformy. Morfológia jaskynných priestorov je výraznejšie ovplyvnená chýbajúcou pôdnou vrstvou v jaskyni. Jaskynné prostredie je teda tvorené prevažne skalným podkladom.

Pri charakteristike klimatickej, hydrologickej a faunistickej problematiky sme sa stretli s problémami ako napr. udávaná relatívna vlhkosť vzduchu (viac ako 80 %), ktorá bola nameraná, je s vysokou pravdepodobnosťou v skutočnosti vyše 90%, v dôsledku technických problémov s vlhkomerom. Biospeleologická charakteristika sa zakladá na makroskopických pozorovaniach a nie je možné vylúčiť prítomnosť troglobiontov. Vzhľadom na to, že nebolo robené datovanie pozorovaných pozostatkov živočíchov, nie je možné určiť, či ide o paleontologické nálezy. S najväčšou pravdepodobnosťou však nie v prípade kostrových pozostatkov, nakoľko nie sú

karbonizované. Výnimkou je plch ktorý je pokrytý sintrom.

Záver

Najdlhšia jaskyňa Chočských vrchov – Prosiecka jaskyňa je veľmi ucelený a zložitý geosystém. Jaskyňu sme charakterizovali komplexne, i keď s výrazne väčším dôrazom na charakteristiku a vzťahy litosféry a geomorfosfér na skúmanom území, nakoľko to bolo cieľom práce. Zatiaľ spracovaná časť, môže byť východiskom pre podrobnejší výskum, napríklad hydrológie, resp. hydrogeológie, najmä v kontexte možnej kontaminácie pesticídmi z poľnohospodárskej činnosti v oblasti obce Veľké Borové.

Najväčším prínosom bolo určenie vzoriek, jednak jaskynných karbonátov, kde bola potvrdená domnienka prítomnosti aragonitu. Čierne náteky, pri ktorej boli rôzne domnienky, o čo sa môže jednať, predstavujú oxidy a hydroxidy železa infiltračnej mineralizácie, ktorá je pre karbonátové horniny bežná, i keď vzhľad konkrétnej vzorky vyzeral netypicky. Výsledky analýz boli poskytnuté speloklubu Chočské vrchy a v prípade infračervenej spektrálnej analýzy jaskynných karbonátov bol výsledok poskytnutý aj Slovenskému múzeu ochrany prírody a jaskyniarstva v Liptovskom Mikuláši.

Poďakovanie

Poďakovanie patri pánovi doc. Ferencovi, PhD. za analýzy vzoriek, cenné rady, informácie a ochotu pomáhať pri tvorbe práce. Ďakujem taktiež členom speloklubu Chočské vrchy za pomoc v teréne, mnohé informácie a rady nielen o jaskyni. Menovite ďakujem najmä pani Ing. Slávke Szunyogovej a pánovi Ing. Jurajovi Szunyogovi, okrem mnohého iného aj za poskytnutú mapu, profily a fotografie.

Použitá literatúra

[1] Bella, Pavel. 2008. Jaskyne ako prírodné geosystémy. Liptovský Mikuláš: Štátna ochrana prírody Slovenskej republiky, Správa slovenských jaskýň, 166 s. ISBN 978-80-8064-329-4.

[2] Szunyog, Juraj. 1998. Jaskyňa O-3 stále láka jaskyniarov in Spravodaj slovenskej speleologickej spoločnosti. , roč. 19, č. 2, s. 16-18. ISSN 1335-5023

[3] Geologická mapa sr m 1:50 000: [online]. ŠGÚDŠ: 2017 [cit. 14.3.2023]. Dostupné z: http://apl.geology.sk/gm50js/

[4] Hochmuth, Zdenko. 1983. Kras Chočských vrchov a Západných Tatier in Spravodaj slovenskej speleologickej spoločnosti. , roč. 10, č. 1, s. 2-5 príloha.

[5] Hochmuth, Zdenko. 1971. Krasové javy v Prosieckej doline in Spravodaj slovenskej speleologickej spoločnosti. , roč. 2, č. 2, s. 8-19

[6] Szunyog, Juraj. 2022. Sifón Sahara v Prosieckej jaskyni in Spravodaj slovenskej speleologickej spoločnosti. , roč. 53, č. 4, s. 33-38. ISSN 1335-5023

[7] Szunyog, Juraj. 2011. Objav Prosieckej jaskyne in Spravodaj slovenskej speleologickej spoločnosti., roč. 42, č. 4, s. 33-38. ISSN 1335-5023

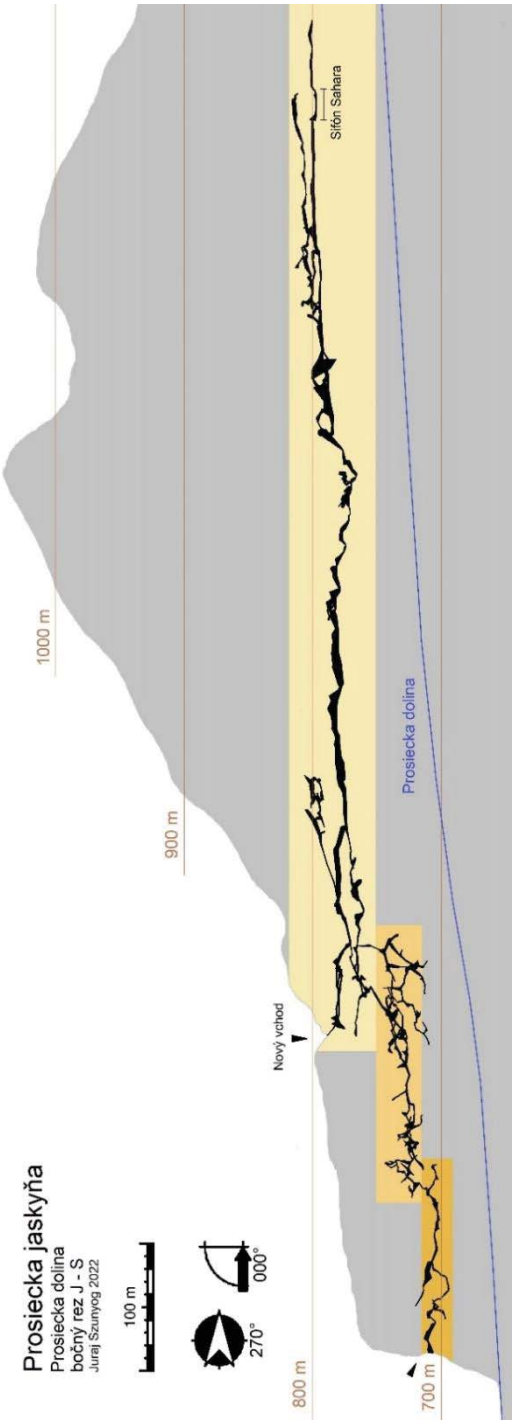
[8] Jákál, Jozef. a kol. 1982. Praktická Speleológia. Martin: Osveta, 377 s.

[9] White, William a kol. 2019. Encyclopedia of caves . San Diego: Spi Global, 1240 s. ISBN 978-0-12-814127-3.

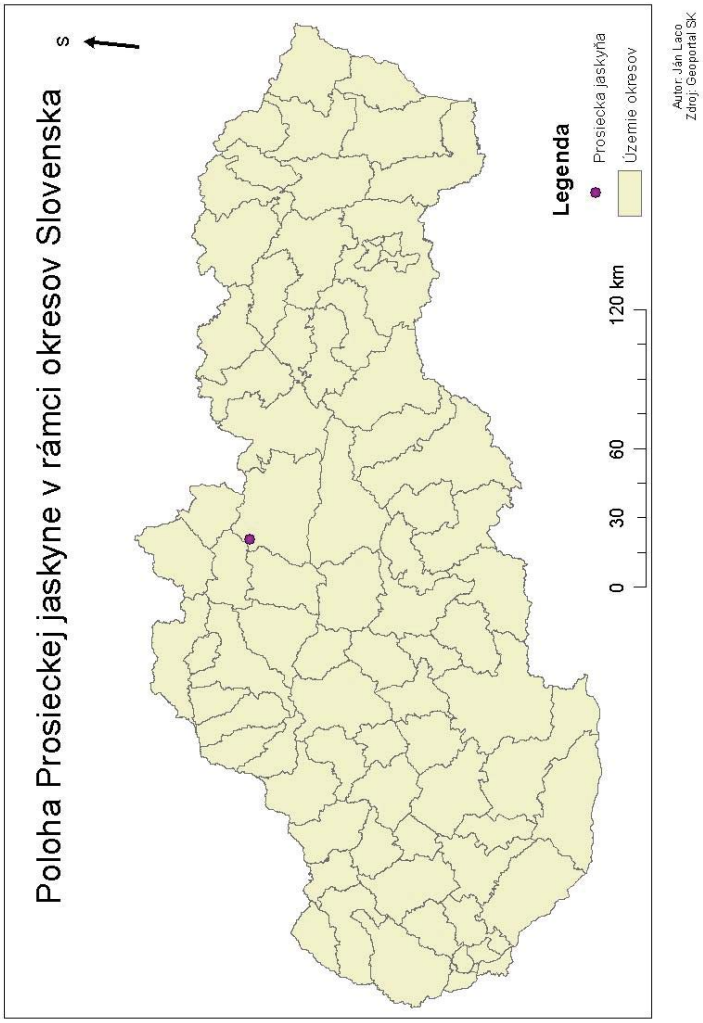
[10] Culver, David a kol. 2004. Encyclopedia of caves . Boston: Elsevire academic press, 661 s. ISBN 0-12-198651-9

[11] Koděra, Miroslav. a kol. 1989-1990. Topografická mineralógia Slovenska. Bratislava: Veda – vydavateľstvo SAV, 1590 s.

Príloha



Obr. 8 Profil Prosieckej Jaskyne.
Zdroj: [Juraj Szunyog, 2022]



Obr. 9 Poloha Prosieckej jaskyne v rámci okresov Slovenska.
Zdroj: [Autor, 2023]

Poľnohospodárske brownfieldy v okrese Nitra – výsledky terénneho výskumu

Agricultural brownfields in the Nitra district– results of field research

Nikoleta Hodošiová[1]
Školiteľ: Jana Némethová[2]
[1, 2] Katedra geografie, geoinformatiky a regionálneho rozvoja, FPVaI UKF, Tr. A. Hlinku 1, 949 01 Nitra
[1] nikoleta.hodosiova@student.ukf.sk, [2] jnemethova@ukf.sk

Abstrakt

V Slovenskej republike absentuje komplexná štúdia, ktorá by mapovala súčasný stav nevyužívaných pozemkov a objektov, ktoré môžu byť nositeľmi rôznych problémov. Cieľom príspevku bolo zmapovať aktuálnu situáciu nevyužívaných a zdevastovaných objektov a areálov v okrese Nitra s prioritným zameraním na poľnohospodárske brownfieldy.

Na dosiahnutie cieľa sme použili kombináciu metód terénneho výskumu a digitálnych nástrojov, ako sú Google Mapy, Google Earth a kataster nehnuteľností. Terénny výskum zahŕňal techniky ako pozorovanie, rozhovory s pracovníkmi úradov, vlastníkmi brownfieldov a obyvateľmi obcí a zber fotodokumentačného materiálu. V okrese Nitra sme identifikovali 68 brownfieldov, ktoré sme klasifikovali podľa pôvodného využitia. Vzhľadom na poľnohospodársky charakter okresu prevládali poľnohospodárske brownfieldy, ktorých sme zistili 33 v 27 obciach a 2 mestách okresu. Poľnohospodárske brownfieldy sme následne kategorizovali na základe viacerých kritérií, čo považujeme za prínosné pre lepšie pochopenie stavu, rozsahu a príčin riešeného problému. Zistili sme, že možné opätovné využitie poľnohospodárskych brownfieldov je v danej oblasti mimoriadne náročné.

Kľúčové slová: brownfieldy, poľnohospodárske brownfieldy, okres Nitra, terénny výskum

Abstract

In the Slovak Republic, there is no comprehensive study that would map the current state of unused land and buildings, which can be carriers of various problems. The aim of the paper was to map the current situation of unused and devastated buildings and areas in the Nitra district, with a priority focus on agricultural brownfields.

To achieve the goal, we used a combination of field research methods and digital tools, such as Google Maps, Google Earth and a real estate land register. Field research included techniques such as observation, interviews with office workers, brownfield owners and community residents, and the collection of photographic documentation. In the Nitra district, we identified 68 brownfields, which were classified in this work according to their original use. Due to the agricultural character of the district, agricultural brownfields prevailed, of which we found 33 in 27 villages and 2 towns in the district. Then we categorized agricultural brownfields based on several criteria, which we consider beneficial for a better understanding of the state, scope and causes of the problem being solved. We found that the possible reuse of agricultural brownfields is extremely challenging in the given area.

Keywords: brownfields, agricultural brownfields, Nitra district, field research

Úvod

Pojem „brownfield“ je substantívum pochádzajúce z angličtiny a v doslovnom preklade znamená hnedé pole, teda opozitum k zelenému polu (greenfieldu). Najčastejšie je vo svete pojem „brownfield“ chápaný ako *„opustené časti zastavanej plochy, hlavne v centrách miest, ktoré sú kvôli ich ekologickým a ekonomickým rizikám často blokované pre hospodársky rozvoj“* [1]. Pre pojem zatiaľ neexistuje jednotný slovenský ekvivalent, ani jednotná definícia, čím sa proces riešenia takýchto lokalít komplikuje.

Vznik poľnohospodárskych brownfieldov na území Slovenska sa spája predovšetkým s politicko-ekonomickou transformáciou v 90. rokoch 20. storočia, a neskôr i vstupom Slovenska do EÚ. Tieto zmeny viedli k celkovému poklesu poľnohospodárskej produkcie v dôsledku finančnej náročnosti výroby. Otvorením európskeho trhu a odstránením podporných opatrení sa farmári ocitli v nevýhodnej pozícii voči zahraničnej konkurencii, čo viedlo k poklesu najmä živočíšnej produkcie, a tým k vzniku nevyužívaných poľnohospodárskych objektov a celých areálov [2]. Tento fenomén znižuje celkový estetický vzhľad krajiny a predstavuje aj hrozbu environmentálnych záťaží [3].

Situácia na Slovensku nie je v riešení brownfiedov priaznivá, pretože verejná správa nevytvorila

jednoznačnú legislatívu týkajúcu sa brownfieldov. Pre tento dôvod začali inštitúcie pristupovať k zdevastovaným územiam rôzne [4]. Považujeme za dôležité poznať aj pôvod vzniku brownfieldov z dôvodov prevencie ďalšieho vzniku, vyhodnotenia rizík, prioritizácii riešenia a rozvoja brownfieldov.

Cieľom príspevku bolo zmapovať aktuálnu situáciu nevyužívaných a zdevastovaných objektov a areálov v okrese Nitra s prioritným zameraním na poľnohospodárske brownfieldy.

1 Metódy a postupy výskumu

Terénny výskum brownfieldov v okrese Nitra sme realizovali v troch časových obdobiach, v roku 2021 v mesiacoch marec až máj, v roku 2022 v mesiacoch január, február a november a v roku 2023 v mesiaci február.

Lokalizácia brownfieldov zahŕňala komplexný proces, ktorý bol realizovaný rôznymi spôsobmi, v závislosti od konkrétnych okolností. Prvou fázou pri lokalizácii brownfieldov bolo hľadanie lokalít, ktoré zodpovedali ich charakteristikám, teda zanedbaným, znečisteným alebo opusteným plochám. V rámci hľadania takýchto lokalít sme použili viaceré geografické informačné systémy (GIS), ako sú online mapová služba Mapy Google a virtuálny glóbus Google Earth, ktoré poskytujú detailné satelitné snímky. Použitie týchto nástrojov môže byť vhodné aj z hľadiska zdrojových nákladov a úspory času, keďže poskytujú rýchlu prehliadku oblasti bez nutnosti fyzickej návštevy lokality, ale nemusia byť dostatočné na potvrdenie prítomnosti spozorovaných charakteristík. Pri lokalizácii potenciálnych brownfieldov sme považovali za užitočné uskutočnenie telefonických rozhovorov a osobných stretnutí (interview) na miestne úrady v záujme získať informácie týkajúce sa danej lokality. Obecné a mestské úrady nám vo veľa prípadoch poskytli informácie o vlastníctve pozemkov, ich histórii, predchádzajúceho a súčasného využitia a zámeroch ohľadom budúceho využitia. Pri rozhovoroch sme mali pripravené otázky, napríklad:

- Kto je vlastníkom danej lokality?
- Aké bolo predchladzujúce využitie danej lokality?
- Aký je súčasný stav danej lokality?
- Existujú plány na obnovu alebo revitalizáciu lokality? Ak áno, aké? Ak nie, aké sú prekážky, ktoré ovplyvňujú potenciálnu obnovu alebo revitalizáciu?

Žiaľ, nie všetky úrady boli schopné spolupracovať pri lokalizácii a identifikácii potenciálnych brownfieldov, pretože môžu existovať obavy o zodpovednosť alebo odkláňanie pozornosti od iných priorít. V iných prípadoch úrady nemali dostatočné alebo úplné informácie o danej lokalite.

Od prvého kroku až po finálny sme uskutočňovali zber dát. Zhromažďovali sme dáta o každej jednej chátrajúcej, znečistenej alebo opustenej lokalite.

Po uvedených krokoch sme realizovali terénny výskum ku každej zistenej lokalite. V teréne sme lokalitu pozorovali a následne fotografovali. V prípade nedostupnosti úradov sme sa pokúsili získať informácie od iných zdrojov, ako sú napr. starosta obce, miestni obyvatelia, miestna knižnica a online katastrálny úrad. Na základe všetkých získaných informácií, sme lokality brownfieldov identifikovali a potom sme ich ďalej kategorizovali na základe viacerých kritérií a kartograficky zobrazili.

2 Výsledky a diskusia

Po ukončení terénneho výskumu a zberu dát sme vytvorili kategorizačnú schému brownfieldov zo sledovaného okresu, v ktorej sú brownfieldy systematicky triedené a klasifikované na základe ich vlastností a charakteristík (tab. 1). Pre získanie prehľadu o počte a percentuálnom zastúpení jednotlivých kategórií brownfieldov v okrese Nitra sme v schéme zistené brownfieldy absolútne a percentuálne vyjadrili.

		abs.	%			abs.	%
Podľa prvku štruktúry	*objekty*	41	60,29	**Podľa pôvodného využitia**	*poľnohospodárske*	33	48,53
					kultúrne a historické	9	13,24
					inštitucionálne	6	8,82
	areály	27	39,71		*obytné*	9	13,24
					komerčné	2	2,94
					priemyselné	2	2,94
					vojenské	1	1,47
					iné	6	8,82

			abs.	%
Brownfieldy podľa ekonomického sektora a bývalej funkcie	*primárny sektor*	poľnohospodárske	33	48,53
	sekundárny sektor	priemyselné, dopravné	3	4,41
	terciárny sektor	komerčné, inštitucionálne, obytné	25	36,77
	iné	vojenské, kultúrne a historické	7	10,29

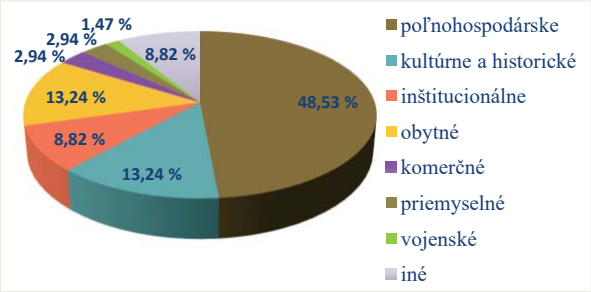
		abs.	%			abs.	%
Brownfieldy podľa rozlohy	*malé (do 1 ha)*	44	64,71	**Brownfieldy podľa vlastníctva**	*súkromné*	36	52,94
	stredne-veľké (1 – 10 ha)	22	32,35		*verejné*	22	32,35
	veľké (10 – 100 ha)	2	2,94		*zmiešané*	10	14,71

		abs.	%
Brownfieldy podľa polohy	*v centrálnej časti obce/ mesta*	31	42,19
	v okrajovej časti obce/ mesta	37	57,81

Tabuľka 1: Kategorizačná schéma brownfieldov v okrese Nitra, členenie a typológia (r. 2023)
Zdroj: výskum, Hodošiová, 2021-2023, [5], [6], [7], [8], spracoval autor práce

Takáto schéma umožňuje jednoduchšie porovnávanie vlastností identifikovaných brownfieldov a rizík spojených s ich potenciálnym využitím. Taktiež môže byť užitočná pri plánovaní opatrení a politík s cieľom zlepšiť kvalitu životného prostredia a prispieť k trvalo udržateľnému rozvoju sledovaných území.

V okrese Nitra sme na základe terénneho výskumu identifikovali viacero brownfieldov podľa pôvodného využitia, z ktorého majú najvyššie zastúpenie poľnohospodárske brownfieldy s počtom 33 (48,53 %) z celkového počtu identifikovaných brownfieldov (graf 1). Ostatné kategórie brownfieldov v sledovanom okrese vykazujú výrazne nižšie hodnoty. Kultúrne a historické brownfieldy predstavujú 13,24 %, inštitucionálne 8,82 %, obytné 13,24 %, komerčné 2,94 %, priemyselné 2,94 %, vojenské 1,47 %, a iné 8,82 % z celkového počtu brownfieldov v okrese (graf 1).



Graf 1: Brownfieldy podľa pôvodného využitia v okrese Nitra v % (r. 2021 – 2023)
Zdroj: výskum, Hodošiová, 2021-2023

Dôvodom, prečo sa v okrese Nitra nachádza najviac poľnohospodárskych brownfieldov, je v prvom rade jeho dlhoročná tradícia v poľnohospodárstve. V minulosti bola táto oblasť jednou z najvýznamnejších poľnohospodárskych regiónov na Slovensku. V súčasnosti sa však situácia zmenila a poľnohospodárstvo v okrese Nitra už nie je tak dominantným sektorom hospodárstva ako kedysi. Mnohé poľnohospodárske budovy sa tak stávajú nevyužívanými a zostávajú opustené a zdevastované.

Opustené poľnohospodárske brownfieldy sú tiež najčastejším typom brownfieldov v ČR, avšak ich plošný rozdiel je omnoho menší [9].

Pre vysoké zastúpenie poľnohospodárskych brownfieldov v sledovanom okrese sme sa rozhodli pre ich kategorizáciu podľa vybraných charakteristík (tab. 2). Poľnohospodárske brownfieldy sme členili podľa štruktúry prvku, vlastníctva, rozlohy a polohy.

		abs.	%
Brownfieldy podľa rozlohy	*malé (do 1 ha)*	10	30,30
	stredne-veľké (1 – 10 ha)	22	66,67
	veľké (10 – 100 ha)	1	3,03

		abs.	%			abs.	%
Brownfieldy podľa štruktúry prvku	*objekty*	7	21,21	Brownfieldy podľa vlastníctva	*súkromné*	23	69,70
	areály	26	78,79		*verejné*	5	15,15
					zmiešané	5	15,15

		abs.	%
Brownfieldy podľa polohy	*v centrálnej časti obce/ mesta*	6	18,18
	v okrajovej časti obce/ mesta	27	81,82

Tabuľka 2: Kategorizačná schéma poľnohospodárskych brownfieldov v okrese Nitra, členenie a typológia (2023)
Zdroj: výskum, Hodošiová, 2021-2023, [5], [6], [7], [8], spracoval autor práce

2. 1 Poľnohospodárske brownfieldy podľa prvku štruktúry

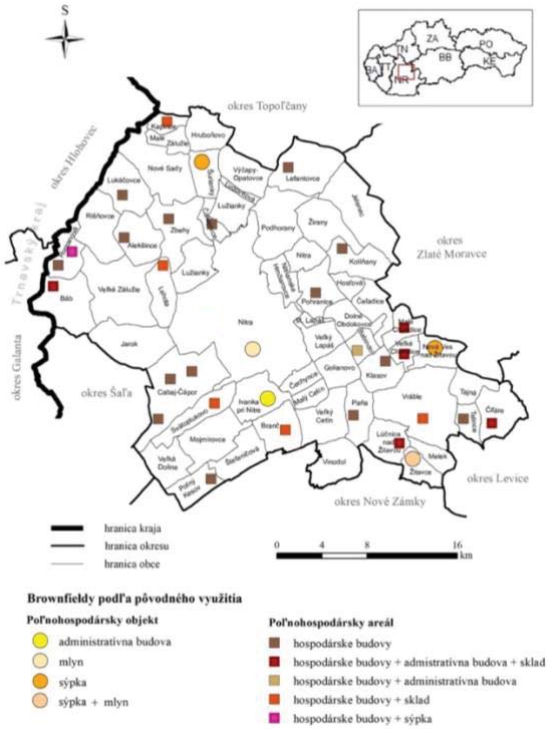
Pri prvotnej klasifikácii sme špecifikovali prvky štruktúry zistených poľnohospodárskych brownfieldov na:

- **objekty** (stavby s malým pozemkom),
- **areály** (plochy s komplexami objektov alebo jednotlivými objektami).

V sledovanom okrese sme identifikovali 7 (21,21 %) poľnohospodárskych objektov a 26 (78,79 %) poľnohospodárskych areálov z celkového počtu identifikovaných brownfieldov (mapa 1, tab. 2).

Poľnohospodárske objekty sú spravidla umiestnené v intravilánoch obcí a miest, kde aj dnes tvoria akúsi architektonickú dominantu. Z dôvodu rozsiahlejších rekonštrukcií, ktoré si objekty vyžadujú, sa ich revitalizácia stáva pre majiteľov finančne náročnou. Ako príklady poľnohospodárskych objektov uvádzame vodný mlyn v meste Nitra, v časti Dolné Krškany (obr. 1) a bývalú sýpku v obci Šurianky (obr. 2).

Poľnohospodárske areály predstavujú viac budov s rôznym pôvodným využitím. Ide o administratívne, hospodárske, skladové objekty a pod. Väčšina objektov v týchto areáloch sú výsledkom úpadku živočíšnej výroby po vstupe Slovenska do EÚ. Objekty v týchto areáloch sú zdevastované a negatívne pôsobia na celkový vzhľad krajiny. Ako príklady takýchto areálov uvádzame tri bývalé poľnohospodárske areály v obciach Malé Chyndice (obr. 3 a, b), Lehota (obr. 4 a, b, c) a Rumanová (obr. 5 a, b, c, d).



Mapa 1: Objekty a areály poľnohospodárskych brownfieldov v okrese Nitra (r. 2021 – 2023)
Zdroj: Úrad geodézie, kartografie a katastra Slovenskej republiky, 1998. Výskum, Hodošiová, 2021-2023.

Vodný mlyn je vybavený pôvodnou technológiou, jeho súčasťou je strojovňa, technologické zariadenie a vodný náhon so stavidlami. Mlyn pochádzajúci z roku 1934 slúžil pôvodne na výrobu múky. V súčasnosti je mlyn v súkromnom vlastníctve a vyžaduje si rozsiahlu rekonštrukciu. Uvedená nehnuteľnosť vzbudila pozornosť aj u Pamiatkového úradu SR, ktorý plánuje vodný mlyn vyhlásiť za národnú pamiatku, v dôsledku čoho začalo vo veci právne konanie. Mlyn je v súčasnosti v ponuke realitných kancelárií na predaj.

Obr. 1: Vodný mlyn v meste Nitra, časť Dolné Krškany
Zdroj: Hodošiová, 2022

V intraviláne obce Šurianky nachádzame bývalú sýpku z 19. storočia (obr. 2), ktorá je vo vlastníctve obce. Využívaná bola do začiatku 2. svetovej vojny. Od roku 1989 je využívaná iba ako skladový priestor. Vzhľadom na jej veľmi priaznivú polohu, záujem o obnovu objektu obec má. V záujme revitalizácie sa uvažuje prestavba na ubytovňu alebo na lokálnu prevádzku. Perspektíva opätovného využitia objektu je vysoká, finančné prostriedky sú však absentujúce.

Obr. 2: Bývalá sýpka v obci Šurianky
Zdroj: Hodošiová, 2022

Na území obce Malé Chyndice sme identifikovali bývalý poľnohospodársky areál na ploche 0,80 ha, ktorý je značne zdevastovaný (obr. 3 a, b). V rámci areálu bola jedna budova využívaná ako sklad pesticídov. Lokalita daného areálu bola identifikovaná ako environmentálna záťaž zaradená do časti A [10].

Obr. 3 a, b: Bývalý poľnohospodársky areál v obci Malé Chyndice (hospodárske budovy + administratívna budova + sklad)
Zdroj: Hodošiová, 2022

Ďalším príkladom poľnohospodárskeho areálu je areál bývalého poľnohospodárskeho družstva, ktorý nachádzame na ploche 4,70 ha v obci Lehota s názvom Krvavé Šenky. Areál je vo vlastníctve viacerých súkromných osôb (obr. 4 a, b, c). Vlastníci nehnuteľností nevykazujú žiadny záujem o riešenie daného areálu.

Obr. 4 a, b, c: Areál bývalého poľnohospodárskeho družstva v obci Lehota, časť Krvavé Šenky (hospodárske budovy + sklad)
Zdroj: Hodošiová, 2022

V juhozápadnej časti obce Rumanová nachádzame na ploche 4,02 ha areál (obr. 5 a, b, c, d), v ktorom sa nachádzajú hospodárske budovy a jedna sýpka. Vlastník predstavil obci zámer prestavby objektu (obr. 5 a) na svadobný salón. Súkromný vlastník ďalšej nehnuteľnosti (obr. 5 b) má v budúcnosti budovu zrekonštruovať na pálenicu. V južnej časti areálu nachádzame 2 budovy, ktoré aj spolu s pozemkom odkúpila v roku 2018 spoločnosť *Stavstream, a.s., Nitra,* ktorá realizuje prestavby budov na administratívne priestory. Vlastníci objektov daného areálu dostali za povinnosť odstrániť existujúcu environmentálnu záťaž, ktorá bola spôsobená dlhoročným vyvážaním odpadkov do priestorov uvedených objektov. Ostatné budovy odkúpila obec Rumanová, ktorá má zámer ich revitalizovať v prípade, ak získa financie.

Obr. 5 a, b, c, d: Bývalý hospodársky dvor v obci Rumanová (hospodárske budovy + sýpka)
Zdroj: Hodošiová, 2022

2.2 Poľnohospodárske brownfieldy podľa polohy a rozlohy

Druhotne sme poľnohospodárske brownfieldy klasifikovali podľa polohy do 2 kategórií:

- **v centrálnej časti obce/mesta**,
- **v okrajovej časti obce/mesta**.

V kategórii centrálna časť obce/mesta sme identifikovali 6 (18,18 %) poľnohospodárskych brownfieldov z celkového počtu. Prevažný počet poľnohospodárskych brownfieldov sme zistili v okrajovej časti obce/mesta, a to 27 (81,82 %) z celkového počtu (mapa 2, tab. 2).

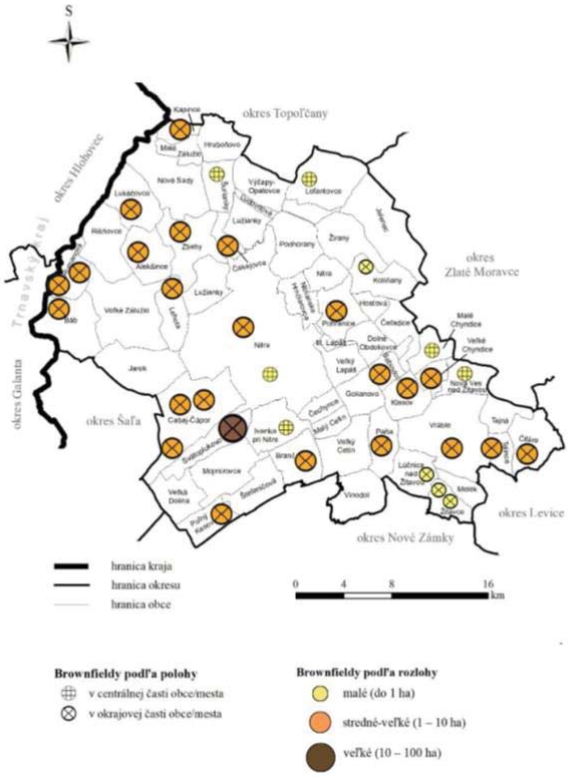
V centre obce/mesta môžu byť brownfieldy cennými pozemkami, ktoré sú často vhodné na výstavbu nových budov alebo na obnovu existujúcich nehnuteľností. Avšak opätovné využitie takýchto brownfieldov môže byť často komplikované a finančne náročné, kvôli vyšším cenám nehnuteľností v centrálnych častiach miest. Na druhej strane v okrajovej časti obce/mesta sú zvyčajne k dispozícií väčšie pozemky za nižšie ceny, ktoré môžu byť využité na rozvoj nových obytných, komerčných alebo logistických zón [11].

Identifikované poľnohospodárske brownfieldy sme klasifikovali podľa rozlohy na:

- **malé (do 1 ha),**
- **stredne veľké (1 – 10 ha),**
- **veľké (10 – 100 ha).**

V kategórii malé (do 1 ha) sme identifikovali 10 (30,30 %) poľnohospodárskych brownfieldov. Stredne-veľkých poľnohospodárskych brownfieldov (1 – 10 ha) sme identifikovali 22 (66,67 %) a do skupiny veľké brownfieldy (10 – 100 ha) sme zaradili iba 1 brownfield, ktorý predstavuje 3,03 % z celkového počtu poľnohospodárskych brownfieldov (mapa 2, tab. 2).

Rozloha brownfieldov má taktiež vplyv na situáciu ich obnovy a ďalšieho využitia. Všeobecne platí, že čím väčšia je plocha brownfieldov, tým väčší je potenciál pre ich obnovu a využitie, avšak hlavné faktory, ktoré ovplyvňujú rozhodnutie o ich využití sú lokalita, environmentálne faktory, náklady na obnovu a nové využitie a požiadavky a potreby miestnych obyvateľov.



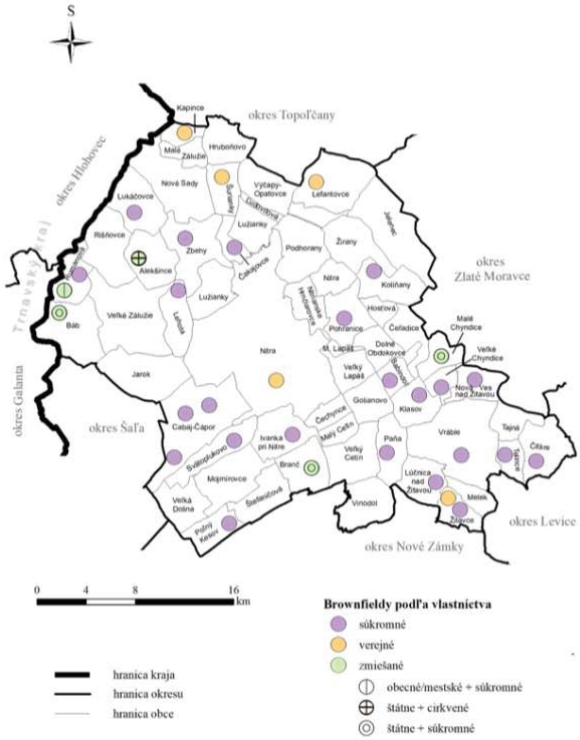
Mapa 2: Poľnohospodárske brownfieldy podľa polohy a rozlohy v okrese Nitra (r. 2021 – 2023)
Zdroj: Úrad geodézie, kartografie a katastra Slovenskej republiky, 1998. Výskum, Hodošiová, 2021-2023.

2.3 Poľnohospodárske brownfieldy podľa vlastníctva

V ďalšej časti práce sme poľnohospodárske brownfieldy rozčlenili na základe **majetkovo-právnych vzťahov** do 3 kategórií nasledovne:

- **súkromné,**
- **verejné,**
- **zmiešané**.

Zo sledovaných brownfieldov sa ich v súkromnom vlastníctve nachádza 23 (69,70 %) (tab. 2, mapa 3). V rámci daného typu majetkovo-právneho vzťahu sme pri väčšine prípadov evidovali viac ako jedného vlastníka brownfieldu. Informácie tohto druhu sa pri identifikácií problémov spojených s neriešením brownfieldov pokladajú za značne dôležité, pretože zjavným predpokladom je, že hlavnými nositeľmi neriešenia problému sú viacerí majitelia daných nehnuteľností. Môžeme tvrdiť, že čím väčší počet je vlastníkov brownfieldu, tým je menší predpoklad na jeho možnú obnovu. Spravidla majú vlastníci menší záujem ponúknuť svoje nehnuteľnosti na revitalizáciu a preferujú si majetky ponechať a čakať, kedy ich hodnota narastie.



Mapa 3: Poľnohospodárske brownfieldy podľa vlastníctva v okrese Nitra

Zdroj: Úrad geodézie, kartografie a katastra Slovenskej republiky, 1998. Výskum, Hodošiová, 2021-2023.

Vo verejnom vlastníctve sme identifikovali 5 (15,15 %) poľnohospodárskych brownfieldov. Ide o nehnuteľnosti, ktoré sú vo vlastníctve štátu, mesta, obci alebo cirkvi. Brownfieldy, ktoré sú v štátnom vlastníctve, Slovenská republika ponecháva v správe predmetných ministerstiev.

V zmiešanom vlastníctve nachádzame 5 (15,15%) poľnohospodárskych brownfieldov zo sledovaného okresu. Jedná sa o rôzne kombinácie vlastníckych vzťahov, ako napr. obecné/mestské, súkromné, štátne a cirkevné (mapa 3, tab. 2).

2.4 Diskusia

Určiť presnú databázu brownfieldov v okrese Nitra, ako aj v iných regiónoch Slovenska nie je vôbec jednoduché. Jedným z hlavných problémov je obťažnosť presne definovať, čo je „brownfield“. Túto otázku si kladú hlavne developeri počas snahy o revitalizáciu alebo sanáciu brownfieldov. Tým, že absentuje presné zadefinovanie pojmu „brownfield“, obce si nemusia byť vedomé, že sa takáto lokalita v areáli obce nachádza. Vzhľadom k tomu, že definícia pojmu „brownfield“ nie je jasná, nie sú jasné ani dôsledky, ktoré nasledujú po označení nehnuteľnosti ako brownfield. Obzvlášť kritická situácia môže nastať vtedy, keď je nevyužívaná lokalita kontaminovaná, nečistá a nebezpečná. V dôsledku takéhoto vnímania problému, nemajú vlastníci ani obce žiadnu motiváciu k tomu, aby spolupracovali pri identifikácií takýchto nehnuteľností.

To, ako by mali byť brownfieldy zadefinované a pripravené na prestavbu, môže zohrávať dôležitú úlohu. Jedným z prístupov identifikácie môže byť proaktívna identifikácia potenciálnych brownfieldov predtým, ako budú skutočne klasifikované. Iným potenciálnym prístupom k definovaniu brownfieldov by mohla byť zvýšená inkluzivita. Ak daná lokalita nepredstavuje priame riziko pre komunity, môže byť pre susedné nehnuteľnosti výhodnejšie, pokiaľ lokalita nebude klasifikovaná. Označenie nehnuteľnosti ako brownfield pridáva lokalite negatívne vnímanie niečoho, čo nie je jasne definované. Taktiež pri potenciálnej revitalizácii brownfieldov by miestne samosprávy mali brať do úvahy možnú gentrifikáciu a podniknúť kroky na zabezpečenie prestavby bez vysídľovania obyvateľstva (často menšinových komunít) [12].

Opustené a neriešené brownfieldy môžu predstavovať bariéry miestnych investícií, môžu byť hrozbou zdravotných rizík pre človeka spojených s kontaminovanou pôdou alebo vodou. Na druhej

strane, vyčistenie a opätovné využitie brownfieldov môže vytvoriť množstvo miestnych ekonomických, environmentálnych a sociálnych výhod pre komunitu [13].

Slovensko môže využiť skúsenosti a osvedčené postupy riešenia brownfieldov z iných krajín, ako sú napr. Nemecko, Rakúsko, Spojené Kráľovstvo alebo USA, a prispôsobiť ich svojim potrebám. Tieto a mnohé ďalšie krajiny majú vytvorené národné stratégie podpory brownfieldov, ktoré sú zamerané na riešenie environmentálnych, sociálnych a ekonomických výziev súvisiacich s dotknutými oblasťami.

Aj napriek tomu, že na Slovensku zatiaľ neexistuje samostatný právny predpis, ktorý by sa priamo zaoberal problematikou brownfieldov, rôzne aspekty tejto problematiky sa nachádzajú v rôznych právnych predpisoch a legislatívnych oblastiach, napríklad v zákone o životnom prostredí, stavebnom zákone alebo v zákone o územnom plánovaní. Otázky revitalizácie brownfieldov je teda možné právne riešiť jedine v rámci týchto konkrétnych zákonov a pravidiel.

Podľa zákona č. 409/2011 Z. z. je majiteľ kontaminovaného pozemku alebo objektu povinný odstrániť nebezpečný odpad alebo iné nebezpečné látky, ktoré môžu ohrozovať životné prostredie a zdravie človeka [14].

Podľa zákona č. 79/2015 Z. z. majú vlastníci a držitelia odpadu povinnosť oddeliť a triediť odpady a zabezpečiť ich správne skladovanie a odovzdávanie na zberné miesta alebo zariadenia na spracovanie. Okrem toho majú povinnosť vykonať sanitáciu a prípadne likvidáciu objektov, ktoré predstavujú riziko pre životné prostredie a zdravie ľudí. V prípade, ak majiteľ alebo držiteľ odpadu neplní svoje povinnosti, môže byť sankciovaný pokutou alebo inými opatreniami podľa platných právnych predpisov [15].

Zákon č. 50/1976 Zb. nariaďuje opravu a rekonštrukciu existujúcich stavebných objektov, ak tieto objekty nespĺňajú požiadavky na bezpečnosť, hygienu a estetiku. Ďalej nariaďuje vlastníkom stavebných objektov prevziať zodpovednosť za zamedzenie nebezpečenstva, ktoré by mohli vzniknúť z nevyužívaných alebo chátrajúcich objektov. Ak je objekt nebezpečný a predstavuje hrozbu pre verejnosť, úrady môžu uložiť jeho majiteľovi povinnosť jeho likvidácie [16].

V rámci eurofondov môže obec/mesto žiadať o dotácie na ich obnovu za pomoci Európskeho fondu regionálneho rozvoja, Kohézneho fondu alebo Európskeho poľnohospodárskeho fondu pre rozvoj vidieka prostredníctvom viacerých programov a výziev.

Záver

Problematika brownfieldov na Slovensku zatiaľ nie je dostatočne riešená. Neexistuje databáza, ktorá by poskytovala aktuálny stav o nevyužívaných objektoch a areáloch a tiež nie sú žiadne legislatívne riešenia možnej revitalizácie a znovu využitia zisteného brownfieldu v danom území. Terénnym výskumom v okrese Nitra sme identifikovali spolu 68 brownfieldov podľa pôvodného využitia. Brownfieldy po poľnohospodárskej výrobe patria medzi najviac vyskytujúce sa nevyužívané objekty alebo areály v okrese. V 27 obciach a 2 mestách okresu sme zistili 33 poľnohospodárskych brownfieldov, ktoré predstavujú 48,53 % z celkového počtu identifikovaných brownfieldov.

Najrozšírenejším typom brownfieldov sú poľnohospodárske areály, v ktorých sa nachádzajú hospodárske, administratívne a skladové budovy. Poľnohospodárske areály boli zvyčajne lokalizované na periférii obcí a zaberali väčšie plochy.

Nevyužívané poľnohospodárske objekty typu mlyn a sýpka sa nachádzajú v intravilánoch obcí.

Vo väčšine obcí, v ktorých sa brownfieldy vyskytujú, z dôvodu nedostatku financií, sa neplánuje v budúcnosti tieto objekty revitalizovať. Obnovu brownfieldov sťažujú aj zložité vlastnícke vzťahy. Vlastníci brownfieldov ako vyplýva z terénneho výskumu nemajú dostatok financií na revitalizáciu alebo sanáciu týchto objektov. Podobne ani investorov takéto objekty nelákajú z dôvodu finančne veľmi náročnej revitalizácii, pretože objekty tohto typu brownfieldu sú značne zdevastované. Tieto nevyužívané lokality neprinášajú obci, kde sa vyskytujú žiaden úžitok, ale predstavujú pre obec environmentálnu záťaž a znižujú jej estetický vzhľad.

Pri niektorých brownfieldoch sme zaznamenali záujem vlastníkov o ich obnovu a opätovné využitie, ale zatiaľ sa žiaden zámer úspešne nezrealizoval. V obci Rumanová v súčasnosti prebieha prestavba dvoch hospodárskych budov na administratívne účely pre spoločnosť Stavstream, a.s., Nitra.

Vytvorenie národnej stratégie obnovy brownfieldov by malo poskytovať podrobný plán pre komunitné organizácie, v ktorých sa takého nehnuteľnosti nachádzajú. Miestne samosprávy by tiež mohli zamestnať obyvateľov komunity pri revitalizácii brownfieldov prostredníctvom podporných programov.

Obnova poľnohospodárskych brownfieldov môže priniesť pozitívny vplyv na životné prostredie a miestne hospodárstvo. Výsledky nášho výskumu môžu prispieť

k lepšiemu pochopeniu aktuálneho problému a poskytnúť užitočné informácie pre tvorbu politík a stratégií na ich riešenie.

Poďakovanie

Touto cestou by som chcela vyjadriť veľkú vďaku mojej školiteľke doc. Jane Némethovej, PhD. za jej neoceniteľnú podporu a odborné rady pri písaní predkladaného príspevku.

Použitá literatúra

[1] GEBREMARIAM, M. G. – ZHU, Y. – AHMAD, N. – BEKELE, D. N. 2019. Influencing sustainability by controlling future brownfields in Africa: a case study of Ethiopia. In World Journal of Science, Technology and Sustainable Development. [online]. 2019, vol. 16, no. 3, p. 7. ISSN 2042-5945.

[2] NÉMETHOVÁ, J. – RYBANSKÝ. Ľ. 2021. Development Trends in the Crop Production in Slovakia after Accession to the European Union—Case Study, Slovakia. In Sustainability. Vol. 13, no. 15,. https://doi.org/10.3390/su13158512.

[3] SVOBODOVÁ, H. – VĚŽNÍK, A. 2009. To the problems of agricultural brownfields in the Czech Republic – Case study of the Vysocina region. In Agric. Econ. – Czech. ISSN 1805-9295, 2009, vol. 55, no. 11, pp. 550–556.

[4] ČERNÍK, J. 2015. Současná východiska výzkumu brownfields. In XVIII. mezinárodní kolokvium o regionálních vědách. Sborník příspěvků. Brno: Masarykova univerzita, 2015. ISBN 978-80-210-7861-1, pp. 532-539.

[5] TUREČKOVÁ, K. – MARTINÁT, S. – NEVIMA, J. – VARADZIM, F. 2022. The Impact of Brownfields on Residential Property Values in Post-Industrial Communities:A Study from the Eastern Part of the Czech Republic. [online]. [cit. 2023.12.02.]. Dostupné z: https://www.mdpi.com/2073-445X/11/6/804.

[6] KRAMÁŘOVÁ, Z. 2014. Brownfield?! Proč?! Problém nebo příležitost. Praha : ČVUT v Prahe, 2014. 65 s. ISBN 978-80-01-05656-1.

[7] KLUSÁČEK, P. – KREJČÍ, T. – MARTINÁT, S. – KUNC. J. – OSMAN, R. – FRANTÁL, B. 2013. Regeneration of agricultural brownfields in the Czech Rebuplic-Case study of the South Moravian Region. In: Acta Universitatis Agriculture at Silviculturae Mendelianae Brunensis, vol. 61, no. 2, 549-561.

[8] KATASTER NEHNUTEĽNOSTÍ. 2023. [online]. [cit. 2023.12.02.]. Dostupné z: https://zbgis.skgeodesy.sk/mkzbgis/sk/kataster?bm=zbgis&z=8&c=19.530000,48.800000 #.

[9] SKÁLA, J. – ČECHMÁNKOVÁ – J., VÁCHA, R. – HORVÁTHOVÁ, V. 2013. Various aspects in the genesis and perspectives of agricultural brownfields in the Czech Republic. In Moravian Geographical Reports. ISSN 1210-8812, 2013, vol. 21, no. 2, pp. 46-55.

[10] ENVIROPORTÁL. 2015. Štátny program sanácie environmentálnych záťaží (2016–2021). [online]. Ministerstvo životného prostredia Slovenskej republiky, 2015. [cit. 10.09.2022]. Dostupné z: https://www.enviroportal.sk/uploads/files/EZ/spsez20162021.pdf?.

[11] TAJANI, F. – MORANO, P., DI LIDDO, F. 2023. Redevelopment Initiatives on Brownfield Sites: An Evalution Moder for the Definition of Sustainable Investments. In Buildings. [online]. 2023, vol. 13, no. 3, pp. 3-5. ISSN 2075-5309.15.

[12] HERSH, R. – MORLEY, D. – SCHWAB, J. – SOLITARE, L. 2010. Reuse: Creating community-based brownfield redevelopment strategies. [online]. Chicago, IL: American Planning Association (APA), 2010. [cit. 18.08.2022]. Dostupné z: https://planning-org-uploaded-media.s3.amazonaws.com/publication/download_pdf/Creating-Community-Based-Brownfield-Redevelopment-Strategies.pdf.

[13] PAULL, E. 2008. The Environmental and Economic Impacts of Brownfields Redevelopment. In: Northeast Midwest Institute, English Partnerships. 2006. [online]. [cit. 2023.02.01.]. Dostupné z: https://www.nemw.org/wp-content/uploads/2015/06/2008-Environ-Econ-Impacts-Brownfield-Redev.pdf.

[14] MINISTERSTVO ŽIVOTNÉHO PROSTREDIA SR. 2021. Štátny program sanácie environmentálnych záťaží (2022-2027). [online]. [cit. 2023.23.02.]. Dostupné z: https://www.minzp.sk/files/sekcia-geologie-prirodnych-zdrojov/statny-program-sanacii-sps-ez-2022-2027.pdf.

[15] Zákon č. 79/2015 Z. Z. [online]. Poradca podnikateľa: 2023. [cit. 2023.23.02.]. Dostupné z: https://www.zakonypreludi.sk/zz/2015-79.

[16] Zákon č. 50/1976 Zb. [online]. Poradca podnikateľa: 2023. [cit. 2023.23.02.]. Dostupné z: https://www.epi.sk/zz/1976-50.

Objektívna dimenzia chudoby v Nitrianskom samosprávnom kraji

The objective dimension of poverty in the Nitra self-governing region

Lenka Kašická[1]
Školiteľ: Miroslava Trembošová[2]
[1,2]Katedra geografie, geoinformatiky a regionálneho rozvoja, FPVaI UKF, Tr. A. Hlinku 1, 949 01 Nitra,
[1] lenka.kasicka@student.ukf.sk, [2] mtrembosova@ukf.sk

Abstrakt

Príspevok sa zaoberá závažným sociálno-patologickým problémom, chudobou na úrovni okresov Nitrianskeho samosprávneho kraja v roku 2020.

Cieľom je na základe štatistických dát a informácií stanoviť úroveň objektívnej dimenzie chudoby v okresoch vybraného kraja. Za hodnotiace kritériá sme vybrali 3 oblasti: sociálno-demografický profil, ekonomickú výkonnosť a infraštruktúrnu vybavenosť. Tie sme následne vyhodnotili multikriteriálnou metódou, ktorej výsledok je závislý od zvolených indikátorov, hodnotiacich kritérií a stanovenia ich váh. Pre stanovenie normovaných váh boli použité hodnotiace kritéria troch metód a to Metfesselová alokácia, Füllerová metóda a Saatyho metóda.

Výsledkom je definovanie úrovne chudoby na úrovní okresov študovaného územia a identifikácia jeho problematických oblastí.

Práca poukazuje na regionálne disparity objektívnej chudoby okresov Nitrianskeho samosprávneho kraja.

Kľúčové slová: chudoba, sociálno-demografický profil, ekonomická výkonnosť, infraštruktúrna vybavenosť, multrikriteriálna metóda.

Abstract

The article deals with a serious socio-pathological problem, poverty at the level of the districts of the Nitra self-governing region in 2020.

The goal is to determine the level of the objective dimension of poverty in the districts of the selected region based on statistical data and information. We selected three areas as evaluation criteria: the socio-demographic profile, economic performance and infrastructural facilities. We then analysed them using a multi-criteria approach, with the outcome depending on the chosen indicators, evaluation criteria and determination of their weights. T he standardised weights were established using the evaluation criteria of three methods: the Metfessel allocation, the Füller method, and the Saaty technique.

We evaluated these using a multicriteria method. The result is the definition of the level of poverty at the level of the districts of the studied region and the identification of its problem areas.

The work draws attention to the regional disparities of objective poverty in the districts of the autonomous region of Nitra.

Key Words: poverty, socio-demographic, economic efficiency, infrastructure, facilities, multi-criteria evaluation.

Úvod

Chudoba nie je žiaľ, žiaden okrajový jav v spoločnosti, ale dotýka sa podľa mnohých expertov približne tretiny obyvateľstva našej planéty. Je bežne považovaná za sociálny problém, inokedy je považovaná za sociálnu deviáciu. Je v rôznych koncepciách a prístupoch rôzne definovaní a meraná, vždy však ide o inferiórne podmienky života so zvláštnymi individuálnymi a spoločenskými dôsledkami [1].

Chudobu totiž možno považovať za zložitý jav interdisciplinárnej povahy, ktorým sa zaoberajú odborníci z rôznych vedných disciplín, napr. ekonómovia, sociológovia, antropológovia, psychológovia, štatisti a iní. Je teda zrejmé, že existuje viacero prístupov k jej definovaniu. Možno aj z toho dôvodu nie je možné vysloviť "definíciu" chudoby, ktorá by bola všeobecne akceptovateľná [2].

V zmysle [3] je chudoba komplikovaný fenomén, ktorý má množstvo podôb, kontextov, dimenzií a aspektov. Jedným z jej najvýznamnejších atribútov je človek a priestor, ktoré významnou mierou ovplyvňujú jej úroveň, hĺbku, trvanie, charakter, znaky a ďalšie vlastnosti.

Chudoba ako spoločenský problém je v súčasnosti čoraz viac v popredí vnímania aj na Slovenku. Je to spôsobené najmä rozdielnym rozvoj jednotlivých

regiónov Slovenska, čo zapríčiňuje rozdielnu možnosť uplatnenia sa na trhu práce [4].

Slovensko patrilo v minulosti k európskym krajinám s najnižšími príjmovými nerovnosťami, ale v priebehu 90. rokov dochádza k zmene politickej situácie, ktorá zapríčinila prehlbovanie príjmovej nerovnosti. Vývojom slovenskej spoločnosti sa čoraz viac začali prejavovať sociálne a ekonomické rozdiely, ktoré mali za dôsledok chudobu ľudí. Jedným z najviditeľnejších sú sociálno-ekonomické nerovnosti. Tieto nerovnosti sa prejavujú v príjme či v majetku a sú viditeľné aj jednotlivými regiónmi Slovenska [5]. Už dlhodobo je v záujme odborníkov štúdium juhozápadno-severovýchodného gradientu regionálnych disparít na Slovensku, v ktorom južné a východné okresy patria k najzaostalejším regiónom s charakteristickou chudoby [6]. Trh práce, resp. nezamestnanosť je významným ukazovateľom, ktorý popri ekonomickej do veľkej miery indikuje i sociálnu situáciu v konkrétnom priestore [7].

Podľa štatistického zisťovania Európskej únie o príjmoch a životných podmienkach (EU SILC 2020) územie Nitrianskeho samosprávneho kraja bolo šieste najohrozenejšie príjmovou chudobou (7,2 % populácia) [8]. Pri zisťovaní EU SILC 2021, sa táto hodnota zvýšila na 8,2 % (priemer SR 11,4 %) [9].

1 Hodnotiace kritéria

Pre stanovenie miery chudoby v okresoch Nitrianskeho samosprávneho kraja sme zvolili multikriteriálne hodnotenie, ktoré pozostávalo z troch hlavných krokov.

Prvý krok spočíval vo výbere hodnotiacich indikátorov, na základe stanovených cieľov a prístupných dát. V druhom kroku sme stanovili hodnoty vybraných indikátorov. V treťom kroku došlo k stanoveniu čiastkových hodnôt utility vybraných indikátorov podľa výnosového typu. Podľa [10] sa tieto hodnoty označujú ako maximalizačné. Sú to kritéria, pri ktorých s rastom hodnoty rastie chudoba okresu.

Výsledok multikriteriálneho hodnotenia je závislý od zvolených indikátorov, hodnotiacich kritérií a stanovenia ich váh. Bolo oslovených osem expertov – špecialistov z oblasti demogeografie, regionálneho rozvoja, územného plánovania, cestovného ruchu, environmentalistiky, ekonomiky, manažmentu a marketingu, ktorí hodnotili každý indikátor v rozpätí 1 – 10 bodov, kde Pre stanovenie normovaných váh boli použité hodnotiace kritéria troch metód, bodovacia metóda (Metfesselová alokácia „MA“), metóda párového porovnania (Füllerová metóda „FM“) a metóda kvantitatívneho párového porovnania (Saatyho metóda „SM“) [11].

Výsledná váha vznikla priemerom súčtu normovaných váh „n“ hodnotiacich kritérií.

$$VVn\ \frac{MAn + FMn + SMn}{3}$$

(1), [10]

Podľa [12] Metfesselova alokácia patrí do skupiny lineárnych bodovacích metód, ktorá používa kvantitatívne hodnotenie pri určovaní kritérií a spočíva v rozdelení celkovej sumy do 10 bodov medzi jednotlivé kritériá podľa ich významnosti. Princíp Füllerovej metódy je založený na určovaní počtu preferencií určitého kritéria vzhľadom ku všetkým ostatným kritériám. Najčastejšou formou zápisu tejto metódy je štvorcová matica. Saatyho metóda spočíva v určovaní počtu preferencií určitého kritéria vzhľadom ku všetkým ostatným kritériám. V druhom kroku sa určuje veľkosť preferencie vyjadrená určitým počtom bodov zo zvolenej stupnice [13].

Prvky spomínanej štvorcovej matice sú odhadom podielu váh usporiadané do jednotlivých dvojíc kritérií. Následne boli spracované priemerné normované váhy hodnotiacich kritérií (indexov) pre ekonomickú, infraštruktúrnu a sociálno-demografickú dimenziu do tzv. indikátorových listov. Sociálno-demografická dimenzia zahŕňa 7 indikátorov, ekonomická výkonnosť pozostáva zo 6 indikátorov rovnako aj infraštruktúrna vybavenosť (6). Syntetický ukazovateľ objektívnej chudoby (miera rizika chudoby), bol vypočítaný ako suma jednotlivých kritérií (tab. 1) [10].

2 Vymedzenie územia

Nitriansky samosprávny kraj (ďalej NSK) sa rozprestiera v juhozápadnej časti Slovenskej republiky, pričom na juhu hraničí s Maďarskou republikou, na východe s Banskobystrickým krajom, na severe s Trenčianskym krajom a na západe s Trnavským krajom Svojou rozlohou 6 343,7 km^2 zaberá 12,9 % z celkového územia Slovenskej republiky.

Podľa územno-správneho usporiadania v zmysle zákona NR SR č. 221/1996 Z. z. sa člení na 7 okresov: Komárno, Levice, Nitra, Nové Zámky, Šaľa, Topoľčany a Zlaté Moravce. Rozlohou najmenším okresom kraja je okres Šaľa (355,9 km^2) a najväčším je okres Levice (1 551,1 km^2), ktorý je zároveň aj najväčším okresom Slovenskej republiky. Tieto boli v našej štúdii hodnotiacimi jednotkami.

Počet obyvateľov Nitrianskeho kraj k 31. 12. 2021 bol 673 547, čo bolo 12,4 % z celkového počtu obyvateľov Slovenska. Hustota obyvateľstva na 1 km^2 bola 107 obyvateľov. Najhustejšie osídleným okresom bol okres Nitra kde na 1 km^2 pripadlo 189 obyvateľov, najredšie osídlený bol okres Levice s hustotou 71 obyvateľov na 1 km^2.

Sídelnú štruktúru kraja tvorí 354 obcí, z ktorých má 16 štatút mesta. Nitriansky kraj má spomedzi krajov najnižší podiel mestského obyvateľstva (45,2 %). Dominujúcim mestom je krajské mesto Nitra, v ktorom k 31. 12 2021 žilo 77,6 tis. obyvateľov [14].

3 Výsledky a diskusia

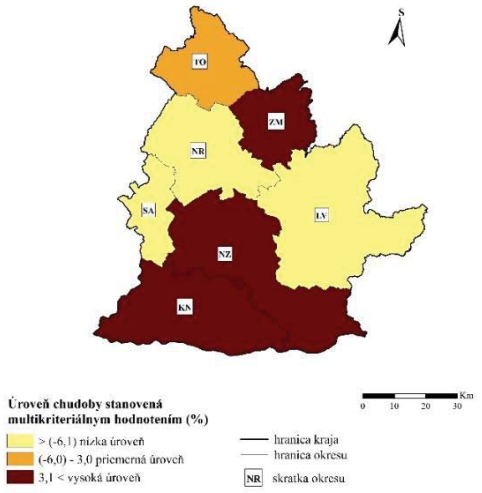
Územie Slovenska je z hľadiska regionálnych disparít veľmi rôznorodé a diferencované. Tieto rozdiely sú najviac pozorované medzi východnou a západnou časťou Slovenska.

Veľké regionálne rozdiely sme zaznamenali aj pri našom zisťovaní. Okresy sa vyznačujú značnými nerovnosťami miery rizika chudoby. Z hľadiska úrovne chudoby sme tieto okresy rozdelili do 3 úrovní. 1. úroveň je nízka úroveň chudoby, 2. úroveň tvoria okresy s priemernou chudobou a do 3. úrovne patria okresy zasiahnuté vysokou mierou chudobou (Mapa 1).

Do skupiny okresov s vysokou mierou chudoby patria južné okresy kraja, okres Komárno (10,83 %) a Nové Zámky (5,09 %). Obyvatelia okresu Komárno boli najviac ohrození chudobou. Až 30,40 % obyvateľstva v tomto okrese patrilo do skupiny dlhodobo nezamestnaných. K chudobe prispieva aj priemerná nominálna mesačná mzda, ktorá bola v tomto okrese najnižšia 1 040 € (priemer SR 1 133 €). Prekvapivým výsledkom bol podiel obyvateľov napojených na verejnú kanalizačnú sieť, iba 42,9 %. Vysvetlenie môžeme nájsť v národnostné štruktúre obyvateľstva, keďže sa nachádzame v pohraničnej oblasti, kde dochádza k sociálnej a priestorovej marginalizácii.

Regionálne rozdiely boli viditeľné aj v severnej oblasti kraja. Najsevernejší okres, Topoľčany dosiahol hodnotu 0,36 %, čím sa zaradil do priemernej úrovne. Okresy Levice (-6, 86 %) a Šaľa (-8,53 %) spolu s krajským mestom Nitra (-11,13 %) tvoria skupinu s nízkou úrovňou chudoby.

Z výsledných hodnôt jednotlivých kritérií sme zistili, že k zvyšovaniu chudoby najviac prispievali indikátory sociálno-demografického profilu (tab. 2).



Mapa 1 Priestorové rozloženie objektívnej dimenzie chudoby v okresoch NSK v roku 2020

Záver

Chudoba ako sociálno-patologický jav je prejavom nerovností medzi regiónmi. Jej meranie je dôležité pre vzájomné porovnávanie regiónov z priestorového ako aj z časového hľadiska. Pre komplexnejšie zachytenie objektívnej dimenzie chudoby v okresoch sme použili multikriteriálne hodnotenie, pozostávajúce z priemeru troch zvolených metód: Metfesselovej, Füllerovej a Saatyho metódy. Dôležitú úlohu zohráva 19 vybraných indikátorov, ktoré sme rozdelili do troch skupín: ekonomické, sociálno-demografické a infraštruktúrne. Každý ukazovateľ bol hodnotený odborníkmi, ktorí im pridelili podľa vlastného uváženie subjektívnu váhu. Prostredníctvom stanovenia utility sme pre každý indikátor určili, či daný indikátor chudobu zvyšuje alebo ju znižuje [5].

Zistené nerovnomerné rozmiestnenie chudoby môže byť spojené s mnohými historickými, prírodnými, politickými, ekonomickými, sociálnymi javmi a procesmi, ktoré sa odlišne uplatňujú v rozličných územiach.

Objektívna dimenzia chudoby vyjadrená našim postupom sa pohybovala od 10,83 % po hodnotu (-11,13 %). Krajský priemer objektívnej dimenzie chudoby, vyjadrený našim postupom, dosiahol (-2,08 %), čo je oproti hodnote 7,2 % uvedenej pri štatistickom zisťovaní EU SILC 2020, oveľa lepšie. Výsledok ovplyvnil jednak výber hodnotiacich kritérií (najmä infraštruktúrna vybavenosť) ako aj metodický postup.

Najvyššiu mieru chudoby sme zistili v okrese Komárno (10,83 %). Značne zasiahnutý chudobou bol aj okres v južnej pohraničnej oblasti, konkrétne Nové Zámky (5,9 %), ako aj v severovýchodnej časti - okres Zlaté Moravce (3,94 %). Priemernú mieru objektívnej chudoby zaznamenal aj najsevernejší okres Topoľčany (0,36 %). Centrálna časť kraja bola v roku 2020 najmenej zasiahnutá chudobou, najlepšie na tom boli okresy Levice (-6,86 %), Šaľa (-8,53 %) a krajské mesto Nitra (-11,13 %). Dôvodom je prosperita krajského mesta, kde je situovaná priemyselná výroba (najmä automobilového priemyslu) čo spôsobuje následný príliv pracovnej sily. Výsledky indikujú zníženú mieru evidovanej nezamestnanosti, ktorá bola v krajskom meste v roku 2020 najnižšia.

Hlavným cieľom našej práce bolo stanovenie miery rizika chudoby pomocou objektívnej dimenzie na základe multikriteriálneho hodnotenia.

Zaujímavosťou v prognóze skúmania tohto javu na našom území bude vplyv súčasných svetových nepriaznivých udalostí z Ukrajiny. Predpokladáme, že súčasná masívna migrácia, chaotická ekonomická a sociálna situácia, nielen na Ukrajine ale i vo svete, zapríčiní ešte výraznejšie disparity chudoby v jednotlivých regiónoch Nitrianskeho samosprávneho kraja.

Využitie našej práce vidíme jednak vo vedeckom bádaní tohto sociálno-ekonomického javu, ako aj v jeho aplikácii do praxe vo forme koncepcie pre potreby regionálneho rozvoja a Ministerstvo práce sociálnych vecí a rodiny.

Dúfame, že naše výsledky sa stanú súčasťou širšej diskusie o chudobe v našej spoločnosti [5].

Použitá literatúra

[1] SCHAVEL, Milan. a kol. 2007. Sociálna prevencia. 1. vyd. Bratislava : VŠZaSP, 141 s. ISBN 978-80-89271-22-1.

[2] ŽELINSKÝ, Tomáš. 2014. Chudoba a deprivácia na Slovensku. 1. vyd. Košice : Equilibria, 230 s. ISBN 978-80-8143-134-0.

[3] MICHÁLEK, Anton. a kol. 2016. Regióny chudoby na Slovensku. 1. vyd. Bratislava : SAV, 242 s. ISBN 978-80-89580-12-5.

[4] VESELOVSKÝ, Ján. a kol. 2014. Objektívna dimenzia chudoby v okrese Levice. In Geografické informácie : 22nd International Geographical Conference on Central Europe After 25 Years of Transformation. vol. 18, no. 1, pp. 181-187. ISBN 1337-9453.

[5] KAŠICKÁ, Lenka. 2022. Objektívna dimenzia chudoby v Košickom samosprávnom kraji : bakalárska práca. Nitra : UKF, 59 s.

[6] FALŤAN, Ľubomír – PAŠIAK, Ján. Regionálny rozvoj Slovenska východiská a súčasný stav. Bratislava : Sociologický ústav Slovenskej akadémie vied, 89 s. ISBN 80-85544-35-0

[7] VESELOVSKÝ, Ján. a kol. 2014. Miera nezamestnanosti v predkrízovom období ako jeden z indikátorov chudoby na príklade Nitrianskeho samosprávneho kraja. In 21. středoevropská geografická konference - Výzkum a výuka v geografickém vzdělávání: sborník příspěvek. pp. 168-181. ISBN 978-80-210-6881-0.

[8] EU SILC 2020: Podiel obyvateľov SR ohrozených príjmovou chudobou sa znížil na 11,4 % [online]. Štatistický úrad Slovenskej republiky: 2022 [cit. 11.3.2023]. Dostupné z: https://slovak.statistics.sk

[9] Štatistický úrad Slovenskej republiky.2022. EU SILC 2021 - Indikátory chudoby a sociálneho vylúčenia. 1. vyd. Bratislava : ŠÚSR, 81 s. ISBN 978-80-8121-867-5 (online).

[10] MINÁR, Jozef – TREMBOŠ, Peter.1998. Porovnanie jednotlivých variantov diaľnice D2 Bratislava a výber optimálneho variantu. In Geographical spectrum. no. 1, pp. 113-117. ISBN 80-968146-0-5.

[11] TREMBOŠOVÁ, Miroslava. a kol. 2021. Regionálne disparity objektívnej dimenzie chudoby na príklade okresov Banskobystrického kraja. In Medzinárodní kolokvium o regionálních vědách. pp. 125-132. ISBN 978-80210-9896-1.

[12] HAJDÚCHOVÁ, Silvia. 2015. Rozhodovací proces v modeli hodnotenia nákladov zariadenia staveniska. In Mladá veda. vol. 3, no. 2, pp. 72-81. ISSN 1339-3189.

[13] TREMBOŠ, Peter – MINÁR, Jozef. 1996. Využitie metódy multikriteriálneho hodnotenia v procese posudzovania vplyvov na životné prostredie. In Acta Fakultatis Rerum Naturalium Universitatis Commenianae, Geographica. vol. 39, pp. 145-156.

[14] Nitriansky kraj – charakteristika regiónu [online]. Štatistický úrad Slovenskej republiky: 2023 [cit. 17.3.2023]. Dostupné z: https://slovak.statistics.sk

Tabuľka 1: Zoznam indikátorov miery chudoby

Por.	Kritéria	Utilita	Multikriteriálne hodnotenie
Sociálno-demografický profil			
1.	Migračný pohyb na 1000 obyvateľov	-	4,13
2.	Index starnutia podľa EÚ (%)	+	6,49
3.	Index celkovej vzdelanosti (%)	-	7,91
4.	Podiel rómskeho etnika z celkového poštu obyvateľov (%)	+	6,57
5.	Podiel obyvateľov poberajúcich dávku v hmotnej núdzi z celkového počtu obyvateľov (%)	+	9,78
6.	Index ekonomického zaťaženia (%)	+	5,47
7.	Podiel žien na 1000 obyvateľov	+	4,56
Ekonomická výkonnosť			
8.	Miera evidovanej nezamestnanosti (%)	+	9,39
9.	Miera evidovanie dlhodobej nezamestnanosti (%)	+	10,2
10.	Počet voľných pracovných miest na 100 ekonomicky aktívnych obyvateľov	-	5,24
11.	Miera podnikateľskej aktivity (%)	-	5,9
12.	Priemerná nominálna mesačná mzda (€)	-	7,3
13.	Počet evidovaných áut na 1000 obyvateľov	-	2,06
Infraštruktúrna vybavenosť			
14.	Podiel obyvateľov zásobovaných vodou z verejných vodovou (%)	-	4,12
15.	Podiel obyvateľov napojených na verejnú kanalizáciu (%)	-	1,61
16.	Hustota diaľnic, rýchlostných ciest, ciest I. a II. triedy v km na 1000 obyvateľov	-	2,93
17.	Počet miest v sociálnych zariadeniach na 1000 obyvateľov	-	1,91
18.	Počet nemocničných ambulancií na 1000 obyvateľov	-	3,26
19.	Počet základných škôl	-	1,2

Tabuľka 2: Výsledné váhy jednotlivých kritérií stanovené multikriteriálnym hodnotením

Územná jednotka	Multikriteriálne hodnotenie (%)			
	Sociálno-demografický profil	Ekonomická výkonnosť	Infraštruktúrna vybavenosť	Objektívna dimenzia
okres Komárno	17,24	-1,41	-5,00	10,83
okres Levice	16,16	-18,12	-4,89	-6,86
okres Nitra	12,68	-18,47	-5,34	-11,13
okres Nové Zámky	16,63	-6,49	-5,05	5,09
okres Šaľa	15,06	-17,75	-5,84	-8,53
okres Topoľčany	15,07	-9,31	-5,41	0,36
okres Zlaté Moravce	14,96	-5,99	-5,03	3,94
NSK	**15,28**	**-12,18**	**-5,17**	**-2,08**

Geologická stavba a štruktúrna analýza permských súvrství hronika (Západné Karpaty)

Geology and structural analysis of permian formations Hronic Unit

Angelika Obertová[1]
Školiteľ: Viera Šimonová[2]
[1,2]Katedra geografie a geológie, FPV UMB, Tajovského 40, 974 01 Banská Bystrica
aobertova@student.umb.sk; viera.simonova@umb.sk

Abstrakt

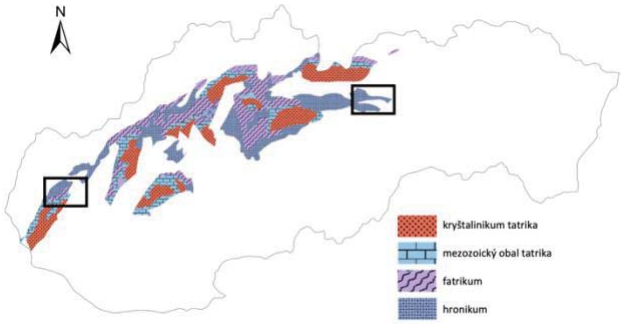
Práca je zameraná na interpretáciu geologickej stavby hronika v Západných Karpatoch. Cieľom je štruktúrna analýza krehkých deformačných štruktúr permských hornín malužinského súvrstvia. Príspevok spracúva výsledky terénneho výskumu, vykonaného na vybraných lokalitách Lošonec a Kvetnica (Obr. 1). Náplňou teoretickej časti je všeobecná charakteristika geologickej stavby príkrovovej jednotky hronikum a oboznámenie sa s metodikou práce využívanou pri výskume. Cieľ práce sme dosiahli zberom orientovaných dát pri terénnom výskume a ich následným softvérovým spracovaním. Súčasťou výskumu je aj rekonštrukcia paleonapäťového poľa a chronologické zoradenie deformačných udalostí na základe kinematických indikátorov zistených na povrchu štruktúr v skúmanom území. Samotným výsledkom práce je syntéza už známych tektonických, stratigrafických a geologických poznatkov a poznatkov získaných pri výskume.

Kľúčové slová: hronikum, malužinské súvrstvie, zlomy, Západné Karpaty

Abstract

This study aims at interpretation of the geological structure of Hronic Unit in the Western Carpathians and its goal is the structural analysis of the brittle deformation structures of permian formations Hronic Unit, represented in the Ipoltic Group. Article consists of a theoretical part and field research done at the selected locations in Lošonec and Kvetnica. The content of the theoretical part is general characteristics of the geological structure of the nappe unit Hronicum and the work methodology used in the research. The goal of this article was achieved by collecting oriented data during field research and their subsequent software processing. The research also includes the reconstruction of the paleostress field and the chronological ordering of deformation events based on kinematic indicators found on the surface of the structures in the studied area. The result of the work itself is a synthesis of already known tectonic, stratigraphic and geological knowledge and knowledge obtained during research.

Key Words: Hronicum, Malužiná formation, faults, Western Carpathians



Obr. 1 Mapa Slovenska s vyznačením jadrových pohorí a vymedzením vybraných lokalít; upravená [1]

Úvod

Hronikum, jednotka pomenovaná podľa rieky Hron [2], ale často označovaná ako „chočský príkrov“ je rozsiahly systém nemetamorfovaných superficiálnych sedimentárnych príkrovov interných Západných Karpát [3], [4], [5]. Jeho súčasná lokalizácia je medzi bradlovým a gemerským pásmom, pričom pôvodom je pravdepodobne zo severného okraja meliatika [6]. Hronikum predstavuje najvyšší paleoalpínsky superficiálny príkrovový systém centrálnych Západných Karpát. Spolu s ďalšími základnými tektonickými jednotkami – tatrikum a fatrikum, sa podieľa na stavbe jadrových pohorí tatransko-fatranského pásma [3]. Voči tektonickej jednotke fatrika má hronikum tektonickú superpozíciu, to znamená, že sa nachádza v jeho nadloží. To platí pre takmer všetky čiastkové príkrovy hronika. Výnimkou sú čiastkové príkrovy, ktoré sa nachádzajú vo veporskom pásme. Tu je hronikum v superpozícii nad príkrovom veporika a priamo prekrýva jeho mezozoický obal [7].

1 Geologická stavba

Stratigrafický rozsah horninovej náplne hronika je karbón – spodná krieda [8], [9], pričom najtypickejšie sú triasové sedimenty. Z prevažnej časti sa na zložení podieľajú mladopaleozoicko-spodnotriasové terigénne súvrstvia a stredno-vrchnotriasové komplexy karbonátov – šelfové, rífové, lagunárne aj panvové. Jursko-kriedové sedimenty sa vyskytujú len miestami, pretože zväčša boli oderodované. Sled jednotlivých súvrství hronika je len ojedinele zakončený hoterivskými až barémskymi (spodná krieda) flyšovými sedimentami, pretože kompletný sled zachovaný nebol [6].

1.1 Ipoltická skupina

Podstavec hronika tvorí tzv. ipoltická skupina, vyčlenená Vozárovou a Vozárom [10], [11]. Ide o niekoľko tisíc metrov hrubú vrstvu mladopaleozoických vulkanicko-sedimentárnych sekvencií, ktorá má na báze miestami šupiny fundamentu – mylonitizované predalpínske granitoidy [6]. Ipoltická skupina predstavuje komplex cyklicky usporiadaných klastických sedimentov, obsahujúci vulkanity andezitovo-bazaltového zloženia. Zmena v zafarbení sedimentov je charakteristickým znakom ipoltickej skupiny [10]. V spodnej časti litostratigrafickej jednotky je sfarbenie sedimentov zelenosivé, sivé až tmavosivé, a smerom do vrchnej časti prechádza sfarbenie do svetlosivej, červenej až fialovosivej farby.

Ipoltická skupina vystupuje od Nízkych Tatier po Kozie Chrbty, ďalej sa vyskytuje v pohoriach Tribeč, Malé Karpaty, Strážovské vrchy a v menších výskytoch aj vo Veporských vrchoch. Okrem toho tvorí podložie neogénu Slovenského stredohoria a paleogénu Podtatranskej a Hornádskej kotliny [11]. Pri bradlovom pásme taktiež vystupujú trosky mladopaleozoických komplexov hronika.

Ipoltická skupina je rozdelená na dve súvrstvia – vrchnokarbónske nižnobocianske súvrstvie a permské malužinské súvrstvie. Nižnobocianske súvrstvie je tvorené regresívnou klastickou jazerno-deltovou sekvenciou tmavosivých zlepencov, pieskovcov, piesčitých bridlíc a dacitových vulkanoklastík [6]. Malužinské súvrstvie pravdepodobne zaberá celý perm, pričom maximálna hrúbka súvrstvia je 2200 – 2500 metrov [10], [11]. Súvrstvie je tvorené riftogénnou fluviálno-jazernou sekvenciou typu aridných „red beds“ – hlavne červené ílové a piesčité bridlice, pieskovce, prachovce a zlepence, lokálne aj evapority [12]. Elementárnym znakom malužinského súvrstvia je cyklická vnútorná stavba týchto sekvencí, ktoré sú regionálne usporiadané do troch sedimentárnych megacyklov, s výrazným zjemňovaním zrnitosti smerom nahor od podložia [6]. Vek hornín prvého megacyklu je spodný perm. Druhý megacyklus spadá do spodného až vrchného permu. A tretí megacyklus predstavuje horniny vrchnopermského veku.

Ďalším typickým znakom malužinského súvrstvia je sprevádzanie megacyklov rozsiahlym bázickým až intermediárnym vulkanizmom [13], [14]. Permské paleobazalty/paleoandezity tvoria mohutné lávové prúdy. Vulkanizmus malužinského súvrstvia prebehol v spodnom a vrchnom perme v dvoch hlavných erupčných fázach, reprezentujúcich kontinentálne tholeiity, ktoré indikujú riftové prostredie na kontinentálnej kôre [14], [15]. Produkty bázického vulkanizmu sú prítomné vo všetkých troch megacykloch. V prvom sedimentárnom megacykle sa vyskytujú tholeiitové bazalty a andezity a vulkanoklastiká prvej erupčnej fázy (Obr. 2), ktoré predstavujú približne 15% z celkového objemu megacyklu a dosahujú hrúbku 200 metrov [14]. Pre prvú erupčnú fázu sú charakteristické opakujúce sa výlevy, ktoré od seba lokálne oddeľujú vulkanoklastiká [7]. Najväčší obsah vulkanitov je zastúpený v treťom sedimentárnom megacykle, ktorý sprevádzala už druhá erupčná fáza. Ide o mohutný vulkanizmus tholeiitových až alkalicko vápenatých bazaltov a andezitov (Obr. 3), pričom lávové prúdy a vulkanoklastiká dosahujú hrúbku až 800 metrov [10], [14]. Vnútorná stavba druhej erupčnej fázy je tvorená mnohonásobným striedaním sa výlevných telies, ktoré miestami prerušujú vulkanoklastiká [7], [16].

Obr. 2 Vulkanity I. erupčnej fázy; Zdroj: [14]

Obr. 3 Detail textúry vulkanitu II. erupčnej fázy; Zdroj: [14]

1.2 Triasové súvrstvia

V nadloží malužinského súvrstvia sa nachádza spodnoskýtske benkovské súvrstvie, ktoré tvoria doskovité kremenné pieskovce, a vrchnoskýtske verfenské súvrstvie, tvorené pestrofarebnými bridlicami a pieskovcami, a šuňavskými vrstvami – slieňovce a piesčité vápence, vo vrchných častiach súvrstvia. Benkovské a verfenské súvrstvie reprezentujú spodný trias hronika [10].

Stredno-vrchnotriasové komplexy hronika tvoria viaceré súvrstvia najčastejšie rozdelené na dve litotektonické sukcesie – čiernovážska a bielovážska [6].

Pre čiernovážsku sukcesiu sú typické platformové karbonáty s prevahou dolomitov. Do tejto sukcesie patria strednotriasové gutensteiské súvrstvie, annaberské súvrstvie, ramsauské (chočské) súvrstvie, wettersteinské súvrstvie, vrchnokarnsko-norické súvrstvie hlavného dolomitu, tenšie vrstvy terigénneho karnského lunzského súvrstvia a nakoniec rétske kössenské súvrstvie [10]. Bielovážsku sukcesiu tvoria v spodnom triase a karne prevažne panvové fácie. Sem patria reiflinské, raminské, partnašské a lunzské súvrstvia. Vo vrchnom karne až réte sú typické plytkovodné fácie – súvrstvia hlavného dolomitu, oponické súvrstvie, dachsteinské súvrstvie, norovické súvrstvie a hybské súvrstvie [10]. Maheľom [5] bola vyčlenená bebravská sukcesia, ktorá má mohutne vyvinuté wetterstienské súvrstvie s prevahou dolomitu, avšak inak si je bližšia s čiernovážskou sukcesiou. Bebravská sukcesia buduje viaceré čiastkové príkrovy hronika – havranický, nedzovský a jablonický príkrov v Malých Karpatoch, strážovský príkrov v Strážovských vrchoch a príkrov Tlstej vo Veľkej Fatre [4], [5].

Jednotlivé komplexy karbonátovej platformy stredno-vrchnotriasového veku tvoria hrúbku okolo 2-3 tisíc metrov [6].

1.3 Jursko-spodnokriedové súvrstvia

Pri hronických sukcesiách sa v spodnej jure predpokladá hiát – prerušenie sedimentácie. V strednej jure sedimentovali sčasti kondenzované prahové litofácie, ktoré reprezentujú viltský, hierlatzký a adnetský vápenec. Ďalej nasleduje barmsteinské súvrstvie, zastúpené pelagickými panvovými vápencami s vložkami alodapických kalciturbiditov. Barmsteinské súvrstvie reprezentuje vrchnú juru. Spodnú kriedu zastupuje hoterivské flyšové rossfeldské súvrstvie a pelagické slienité rohovcové vápence [6].

2 Metodika práce

Súčasťou príspevku, okrem rešeršného spracovania dostupných údajov, sú aj výsledky získane počas terénneho výskumu. Metodika je zameraná na charakteristiku krehkých štruktúr, predovšetkým zlomov, ale aj stručné objasnenie terénneho výskumu a následného počítačového spracovania získaných údajov.

2.1 Teória krehkých deformačných štruktúr

Jednou z metód štruktúrnej geológie, ktorá sa zaoberá vznikom a vývojom štruktúr, pôsobením deformačných síl a klasifikáciou tektonických štruktúr je štruktúrna analýza. Jej výsledkom je rekonštrukcia deformačných udalostí a história pohybov a napätí, ktoré pôsobili počas deformácie [17], [18]. V tejto práci sú analýze podrobené štruktúry krehkej deformácie, ktoré boli pozorované na študovanom území. Ide o pripovrchové produkty deformačného procesu, ktorým sa namáha zemská kôra. Typickým produktom sú zlomy [17], [19].

Zlomy predstavujú diskontinuitné tektonické štruktúry, ktoré vznikajú pôsobením deformačných napätí (extenzné, kompresné, smerne posuvné) a následne presekávajú a oddeľujú od seba pôvodne spojité bloky hornín. Premiestnenie blokov je viditeľné voľným okom [17], [18]. Na povrchu zlomovej plochy, označovanej aj tektonické zrkadlo, vieme pozorovať stopy po pohybe – striácie, pomocou ktorých vieme určiť smer a zmysel pohybu blokov oddelených zlomom [19]. Pre jednoznačnú identifikáciu zmyslu pohybu nám pomáhajú aj asymetrické štruktúry, vznikajúce na tektonickom zrkadle. Príkladom takýchto štruktúr sú napr. akrečné minerálne stupne, ktoré vznikajú kryštalizáciou minerálov počas pohybu na zlome (Obr. 5 až 9).

Na základe týchto kritérií Angelier [20] zaviedol klasifikáciu zlomov, ktoré rozčlenil do 5 skupín – horizontálne, vertikálne, spádnicové, smernicové a šikmé zlomy. Z nich možno pre zjednodušenie vyčleniť len 4 základné typy strižných porúch (prešmyky a poklesy, ktoré patria do skupiny spádnicových zlomov

a smerné posuny patriace k smernicovým zlomom). Tieto zlomy sa líšia predovšetkým zmyslom pohybu, ktorý je pre určovanie deformácie horninových telies nevyhnutný. Prešmykové zlomy vznikajú pri kompresii počas nasúvania nadloženého bloku na podložený, naopak poklesové zlomy pri extenzii počas poklesu nadloženého bloku voči podloženému. Okrem týchto dvoch typov zlomov sa stretneme aj so smernými posunmi, ktorých dominantnou zložkou je horizontálny pohyb a podľa zmyslu pohybu sa delia na dextrálne (pravostranné) a sinistrálne (ľavostranné) smerné posuny [17], [19].

2.2 Terénny a laboratórny výskum

Paleonapäťovú analýzu sme realizovali na dvoch lokalitách – kameňolom Kvetnica, lokalizovaný južne od mesta Poprad v pohorí Kozie Chrbty a kameňolom Lošonec v pohorí Malé Karpaty (Obr. 4). Práca spočívala najskôr v geologickom terénnom výskume, kde sme pomocou geologického kompasu zbierali orientované dáta – zlomy, merané v permských bazaltoch a andezitoch. Získané údaje sme spracovali pomocou softvérového programu WinTensor a merania boli následne roztriedené do niekoľkých homogénnych skupín a zoradené do jednotlivých deformačných etáp. Výsledkom je rekonštrukcia paleonapäťového poľa a stručná charakteristika jednotlivých etáp, čo nám pomohlo vytvoriť celkový obraz o skúmanom území.

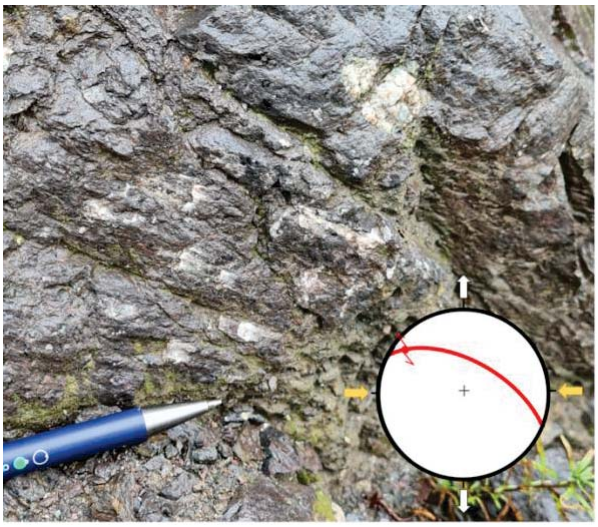
Obr. 4 Kameňolom Lošonec; Autor: A. Obertová

3 Rekonštrukcia paleonapäťového poľa

Z priameho pozorovania môžeme povedať, že študované územie prestupuje veľké množstvo tektonických porúch, ktoré sú odkryté počas rozsiahlych ťažobných prác na jednotlivých etážach lomov. Pri terénnom výskume sme celkovo namerali 91 zlomov rôzneho typu. V horninách kameňolomu Kvetnica bolo pri terénnych prácach zatiaľ nameraných 50 zlomov, v kameňolome Lošonec to bolo 41. Namerané zlomy boli zaradené do niekoľkých skupín, ktorými sme definovali 5 deformačných etáp. Tieto etapy predstavujú skupiny štruktúrnych prvkov deformačného pôvodu, ktoré vznikli v približne rovnakých reologických a napäťových podmienkach. V rámci takejto skupiny môže existovať určitá postupnosť formovania štruktúr. Vzájomná korelácia postupnosti jednotlivých tektonických udalostí vychádzala z existencie viacerých generácii kinematických indikátorov na povrchu tektonického zrkadla.

1. ETAPA

Najstaršia a teda prvá etapa na vybraných lokalitách je reprezentovaná deformačnými štruktúrami vznikajúcimi pri transpresnom tektonickom režime. Ide o smerne posuvný režim, pri ktorom okrem horizontálneho pohybu dochádza aj ku kompresii (stláčaniu). Pre tento režim je typický vznik smerne posuvných a prešmykových zlomov. Na našich vybraných lokalitách je prvá etapa zastúpená dextrálnymi a sinistrálnymi smernými posunmi. Dextrálne smerné posuny sú orientované v smere SV-JZ a sinistrálne smerné posuny sú v SZ-JV smere (Obr. 5). Vznik týchto zlomových štruktúr spôsobila kompresia orientovaná v smere Z-V.



Obr. 5 Sinistrálny smerný posun – 1. etapa (lokalita Lošonec); Autor: V. Šimonová

2. ETAPA

Druhá tektonická etapa predstavuje pokračovanie transpresného tektonického režimu. Táto etapa je okrem smerných posunov zastúpená aj prešmykmi. Pôsobiaca os kompresie rotovala od ZSZ-VJV až po SSZ-JJV smer. Prešmykové zlomy na oboch lokalitách nadobudli SV-JZ smer. Smerné posuny boli namerané s dextrálnou aj sinistrálnou kinematickou zložkou

pohybu, avšak nie v oboch lokalitách. Dextrálne smerné posuny namerané v lokalite Lošonec sú orientované v takmer Z-V smere a sinistrálne smerné posuny z lokality Kvetnica majú prevažne SZ-JV smer (Obr. 6).

Obr. 6 Sinistrálny smerný posun – 2. etapa (lokalita Kvetnica); Autor: A. Obertová

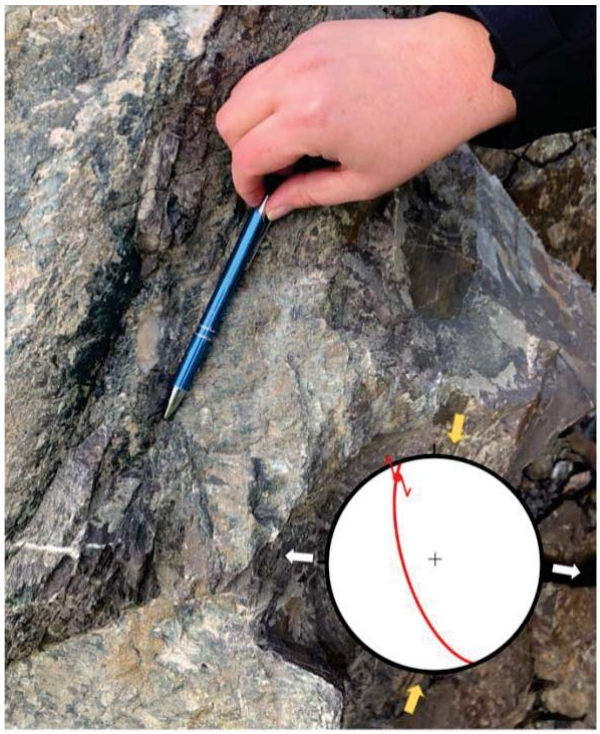
3. ETAPA

Ďalšia etapa spadajúca pod transpresný tektonický režim bola nameraná len na lokalite Kvetnica. Zastúpená je len smernými posunmi s dextrálnou kinematickou zložkou pohybu, orientovanými v smere SZ-JV (Obr. 7). Kompresia, vplyvom ktorej smerné posuny vznikli, je orientovaná v S-J smere.

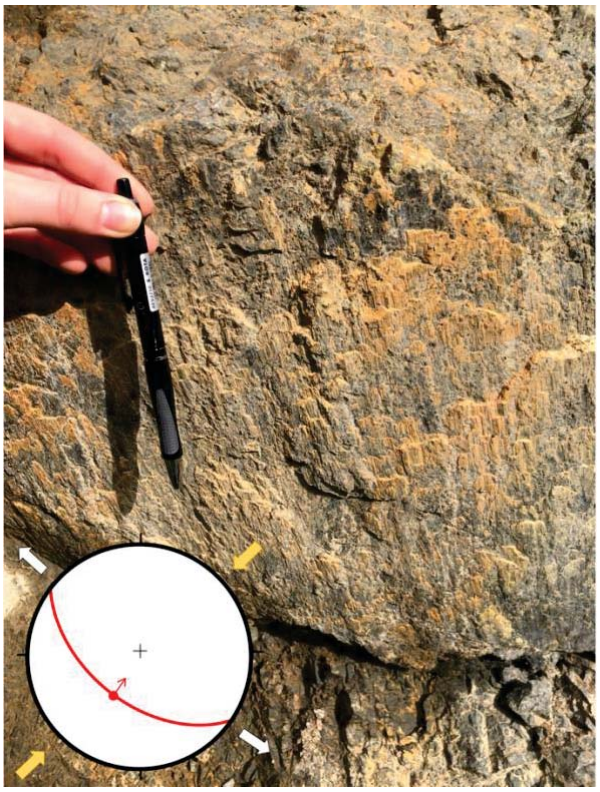
4. ETAPA

Štvrtá etapa reprezentuje poslednú etapu deformačných štruktúr, ktoré vznikli pri transpresnom tektonickom režime. Podobne ako druhá etapa, bola nameraná v oboch lokalitách a je zastúpená ako dextrálnymi smernými posunmi, tak aj prešmykmi.

Orientácia kompresie, ktorá spôsobila vznik týchto zlomových štruktúr je v smere SV-JZ. Prešmyky, ktoré boli namerané len v lokalite Kvetnica, sú orientované SZ-JV až S-J smere (Obr. 8). Smerné posuny dextrálnej povahy sa vyskytovali v oboch lokalitách, avšak v Lošonci ich bolo nameraných podstatne viac. Ich orientácia je SSZ-JJV až S-J smere. Početné smerné posuny z lokality Kvetnica nadobudli skôr S-J smer.



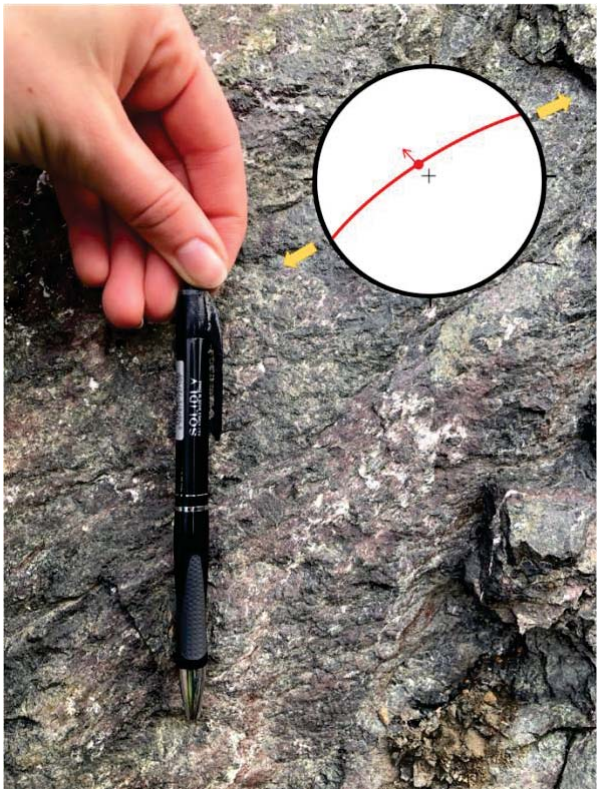
Obr. 7 Dextrálny smerný posun – 3. etapa (lokalita Kvetnica); Autor: A. Obertová



Obr. 8 Prešmykový zlom – 4. etapa (lokalita Kvetnica); Autor: A. Obertová

5. ETAPA

Posledná etapa zistená na študovanom území už reprezentuje transtenzný tektonický režim, čiže smerne posuvný režim, ktorý je sprevádzaný extenziou (vzďaľovanie). Pre tento režim je typický vznik poklesových zlomových štruktúr. Namerané štruktúry naznačujú. že počas tejto etapy smer extenznej osi rotoval od SZ-JV po SV-JZ. Poklesy, ktoré pri tejto extenzii vznikli sú na lokalite Kvetnica orientované v Z-V až S-J smere zatiaľ čo na lokalite Lošonec sú v smere SZ-JV až SV-JZ (Obr. 9).



Obr. 9 Poklesový zlom – 5. etapa (lokalita Kvetnica); Autor: A. Obertová

Záver

V období mezozoika sa medzi alpsko-karpatsko-panónskym blokom (ALCAPA) a európskou platformou (jej súčasťou boli Čechy a Poľsko) nachádzal oceán nazývaný Peninikum. Tento oceán sa v období vrchnej kriedy začal zatvárať a v období terciéru, počas laramskej fázy alpínskeho vrásnenia ovplyvnil stavbu okrajových oblastí centrálnych Západných Karpát [21]. Zánik subdukčnej zóny, vznik akrečnej prizmy bradlového a flyšového pásma, následná zrážka dvoch blokov a miocénna rotácia bloku ALCAPA spôsobili deformáciu v niekoľkých časovo na seba bezprostredne nadväzujúcich etapách. Štruktúrne záznamy z bradlového pásma, pribradlovej zóny aj z priľahlých oblastí patriacich centrálnym Západným Karpatom zaznamenali postupujúcu kompresiu (tlak) zo smeru Z-V a rotáciu paleonapäťového poľa až do SV-JZ smeru. Táto rotácia osi kompresie naznačuje postupné uzatváranie subdukčnej zóny peninického oceánu od západu, pozdĺž okraja bloku ALCAPA [21].

Z výsledkov paleonapäťovej rekonštrukcie na nami vybraných lokalitách vyplýva, že celé študované územie prešlo pestrou deformačnou históriou. Na odkryvoch boli dominantné predovšetkým smerné posuny. Pozorovaním vymedzených tektonických etáp od najstaršej po najmladšiu sledujeme postupnú rotáciu paleonapäťového poľa (Obr. 10). Počínajúc prvou etapou, ktorou je kompresia V-Z smeru, paleonapäťové pole postupne rotovalo v smere pohybu hodinových ručičiek cez S-J až po VSV-ZJZ orientovanú kompresiu. Najstaršie zlomy boli generované v transpresnom režime, pričom os kompresie sa menila zo smeru V-Z cez ZSZ-VJV až do SZ-JV smeru. Etapy transpresie boli sprevádzané vznikom smerných posunov a prešmykov. Transpresný tektonický režim bol nasledovaný SZ-JV až VSV-ZJZ orientovanou extenziou za vzniku výrazných poklesov.

Podrobné mapovanie krehkých deformačných štruktúr v mezoskopickom meradle a výsledky paleonapäťovej analýzy preukázali prítomnosť piatich deformačných etáp v tektonickom vývoji malužinského súvrstvia hronika. Pozoruhodná je postupná rotácia paleonapäťového poľa v smere hodinových ručičiek, ktorú pozorujeme od najstaršej etapy, a ktorá je zakončená záverečnou extenziou, spôsobenou pravdepodobne relaxáciou napätí na danom území.

Poďakovanie

Príspevok vznikol s podporou grantov APVV-19-0065 a KEGA 033UMB-4/2021.

Použitá literatúra

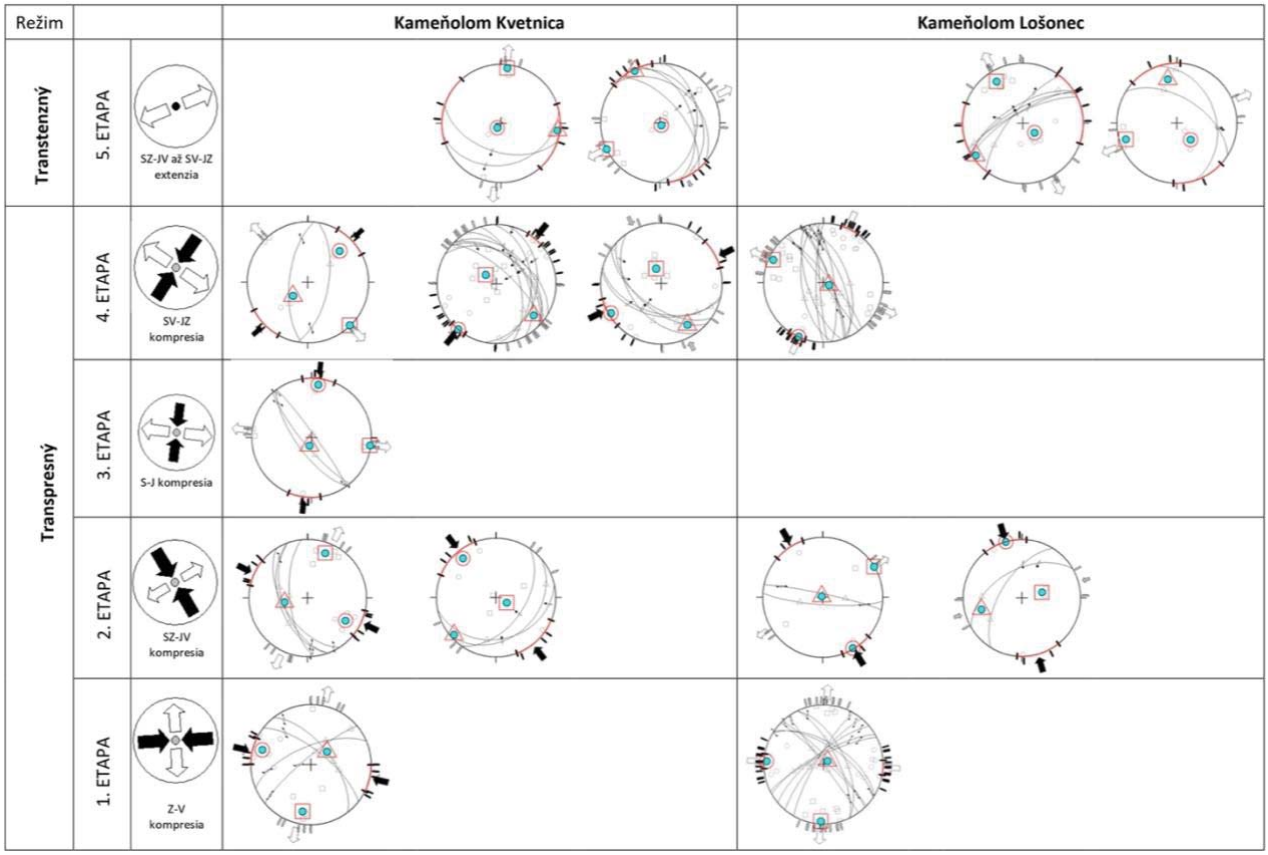
[1] BEZÁK, V. (Ed.) et al. 2004. Tektonická mapa Slovenskej republiky 1 : 500 000. Ministerstvo životného prostredia SR, ŠGÚDŠ

[2] ANDRUSOV, D., BYSTRICKÝ, J., FUSÁN, O., 1973. Outline of the structure of the West Carpathians. Guide-Book Geol. Exc. X. Cong. CBGA, D. Štúr Geol. Inst., Bratislava, 5-44 s.

[3] ANDRUSOV D., 1936. Subtatranské příkrovy Západních Karpat. Carpatica, 1B, 3–50 s.

[4] MAHEĽ, M., 1979. Nové geologické poznatky z rôznych tektonických jednotiek vnútorných Západných Karpát. In: Maheľ M. (Ed.): Tektonické profily Západných Karpát, GÚDŠ, Bratislava, 105-127.

[5] MAHEĽ, M., 1986: Geologická stavba československých Karpát. Paleoalpínske jednotky, 1. vyd., Veda, Bratislava, 1-503
[6] KOVÁČ, D., PLAŠIENKA, D., 2003. Geologická stavba oblasti styku Alpsko-karpatsko-panónskej sústavy a priľahlých svahov Českého masívu, UK, Bratislava, 85s.
[7] BIELY, A., BEZÁK, M., 1997. Vysvetlivky ku geologickej mape Nízkych Tatier., 1:50 000. Geologická služba Slovenskej Republiky, Bratislava, 232 s.
[8] HAVRILA, M., 2004. Tektogenéza mezozoických panví Západných Karpát – Hronikum. Štátny geologický ústav Dionýza Štúra, Bratislava, 151 s.
[9] SŮKALOVÁ, Ľ., 2010. Kenozoický vývoj paleonapäťového poľa v západnej časti Hornádskej kotliny a Kozích chrbtov. Diplomová práca. Bratislava: UK, 121 s.
[10] VOZÁROVÁ, A., VOZÁR, J., 1981. Litostratigrafická charakteristika mladšieho paleozoika hronika. Mineralia slovaca 13, 5, 385-403 s.
[11] VOZÁROVÁ, A., VOZÁR, J., 1988. Late Paleozoic in West Carpathians. Geologický ústav Dionýza Štúra, Bratislava. 1-314 s.
[12] OLŠAVSKÝ, M., FERENC, Š., 2002. Character of Permian volcanosedimentary sequences (Malužiná Formation) of the Hronicum unit at the NE part of Nízke Tatry Mts. Geologica Carpathica, special issue: Proceedings of the XVII Congress of Carpathian-Balkan Association, Bratislava, vol. 53
[13] VOZÁROVÁ, A., VOZÁR, J., 1979. Nižnobocianske a malužinské súvrstvie – nové litostratigrafické jednotky v mladšom paleozoiku hronika. Mineralia slovaca 11, 5, 477-479 s.
[14] VOZÁR, J., SPIŠIAK, J., VOZÁROVÁ, A., BAZARNIK, J., KRÁĽ, J. 2015. Geochemistry and Sr, Nd isotopic composition of the Hronic Upper Paleozoic basic rocks (Western Carpathians, Slovakia) Geol. Zbor. Geol. Carpath. 6, 1, 3-17 s.
[15] VOZÁROVÁ, A., VOZÁR. J., 1996. Terranes of West Carpathian-NorthPannonian Domain. Slovak Geological Magazine. Geological Survey of Slovak Republic, Bratislava, 21 s.
[16] BLAHOVÁ, L., 2021. Geologická stavba a štruktúrna analýza malužinského súvrstvia hronika. Diplomová práca. Banská Bystrica: UMB, 63 s.
[17] FOSSEN, H., 2010. Structural geology. Cambridge University Press, Cambridge, 463 s.
[18] VOJTKO, R., MARKO, F., 2006. Paleonapäťová analýza, ako nástroj geodynamických rekonštrukcií. Zborník UK, Bratislava, 77-90 s.
[19] MARKO, F., 1993. Kinematické indikátory strižných pohybov pri krehkej deformácii. Mineralia slovaca 25, 285-287 s.
[20] ANGELIER, J., 1994. Fault slip analysis and paleostress reconstruction. In: Hancock, P. L. (Ed.): Continental deformation. Pergamon Press, University of Bristol (U. K.), London, 53-100 s.
[21] KOVÁČ, M., MICHALÍK, J., PLAŠIENKA, D., MAŤO, Ľ. 1993. Alpínsky vývoj Západných Karpát. Brno: PřiF Masarykovy Univerzity. 87 s.



Obr. 10 Chronologická tabuľka deformačných etáp vyčlenených podľa získaných údajov z lokalít Kvetnica a Lošonec; Autor: A. Obertová

Terénny monitoring vodných tokov v meste Banská Bystrica: na príklade Tajovského potoka a Bystrice

Field monitoring of water streams in the city of Banská Bystrica using of Tajovský potok and Bystrica

Lucia Mojžitová[1]
Školiteľka: Lenka Balážovičová[2]
[1,2]Katedra geografie a geológie, FPV UMB, Tajovského 40, 974 01 Banská Bystrica
[1] lucia.mojzitova@student.umb.sk, [2] lenka.balazovicova@umb.sk

Abstrakt

Voda je jednou zo základných zložiek krajiny, vďaka ktorej je možný život na Zemi a tiež je súčasťou ostatných geosfér Zeme. Poskytuje prostredie pre život veľkého množstva živočíchov ale aj rastlín. Voda a vodné toky sú však dôležité aj pre ľudstvo. Vodné toky v mestách poskytujú ich obyvateľom podmienky pre rekreáciu a oddych, spríjemňujú prostredie okolo obytnej zástavby. Človek sa však častokrát správa nezodpovedne a vodné toky znečisťuje chemikáliami, odpadom alebo mení riečne korytá za účelom výstavby, či ochrany pred povodňami. Nájdu sa aj takí ľudia, ktorí sa aktívne sa zaujímajú o svoje okolie a vodné toky. Snažia sa vyčistiť, obnoviť, upraviť a zlepšiť podmienky vodných tokov.

V tomto príspevku prinášame výsledky z terénneho monitoringu dvoch vodných tokov v meste Banská Bystrica, a to Tajovského potoka a Bystrice. Počas monitoringu sme vykonali mapovanie korýt, brehovej vegetácie a vykonali sme aj chemickú analýzu na troch úsekoch oboch vodných tokov.

Kľúčové slová: vodný tok, Tajovský potok, Bystrica, chemická analýza, brehová vegetácia, hydromorfológia

Abstract

Water is one of the basic components of the country, thanks to which life on the Earth is possible and it is also a part of the Earths geospheres. It provides an environment for number of animals and plants. Water and the water streams are important for humans. Water streams in cities provide their residents with conditions for the recreation and relaxation, they make the environment around the built-up area more pleasant. However, people often do not behave responsibly and pollute rivers with chemicals, waste and change riverbeds for the purpose of construction or flood protection. But there are also people who are actively interested in their surroundings and water flows. They try to clean, restore, modify, and improve the conditions of their streams.

This article shows results of the field monitoring of two rivers in the city of Banská Bystrica, namely Tajovský brook and Bystrica. During the monitoring, we carried out mapping of riverbeds, bank vegetation and we also carried out chemical analyses on three sections of both rivers.

Key Words: streams, Tajovský brook, Bystrica, chemical analysis, riparian vegetation, hydromorphology

Úvod

Vodné toky a ich vplyvy na prírodu a človeka sú veľmi dôležité. Vodné toky poskytujú podmienky pre život množstvu živočíchov ale aj rastlín a drevín. Pre človeka plnia funkciu estetickú a rekreačnú. V mestách vytvárajú potenciál pre parky, náučné chodníky, či rekreačné zóny. Obyvateľom slúžia častokrát ako miesta oddychu, kde môžu načerpať energiu, v letnom období slúžia ako regulátor teploty pri extrémnych horúčavách.

Človek značnou mierou prispieva k poškodzovaniu vodných tokov – najmä vypúšťaním nedostatočne prečistených odpadov z čističiek, či vypúšťaním znečisťujúcich látok z priemyselnej výroby, banskej činnosti, splavovaním chemikálií z poľnohospodárskych pozemkov a pod. Pomerne časté sú ekologické havárie, ktoré poškodia vodné toky a život v nich na dlhé obdobie. Príkladom takéhoto znečistenia môže byť havária s únikom digestátu (vzniká pri výrobe bioplynu) do rieky Hron v júli 2021. Jednalo sa o haváriu na bioplynovej stanici pri obci Budča, pričom unikol digestát do rieky Hron a došlo k mimoriadnemu zhoršeniu kvality vody na strednom toku rieky. Došlo k úhynu rýb a bol zasiahnutý úsek o dĺžke cca 30 km. Medzi uhynutými druhmi bolo 24 pôvodných druhov rýb vrátane viacerých chránených druhov a dokonca boli uhynuté aj viaceré druhy európskeho významu [1].

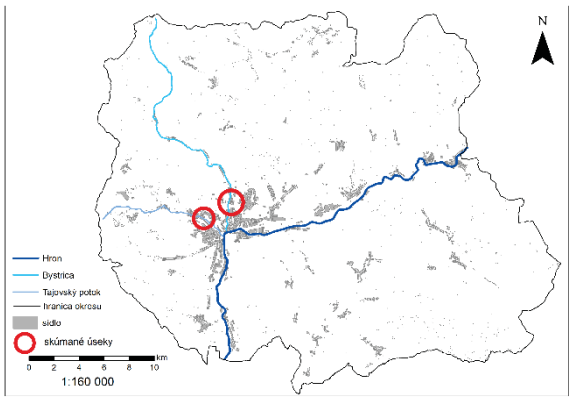
Našťastie však existuje niekoľko štátnych organizácií, občianskych združení a dobrovoľníkov, ktorí sa aj v dnešnej dobe venujú čisteniu, ochrane a monitorovaniu vodných tokov. Taktiež sa vytvárajú rôzne programy zamerané na problematiku ochrany vodných tokov. Tie programy sú odborné a pripravujú alternatívy k štátnym koncepciám, ako napr. MVO Ľudia a voda, Strom života, Združenie Slatinka, Občianske združenie SOSNA [2]. Tieto organizácie sa snažia o ochranu vodných tokov, ich obnovu, zachovanie živočíchov ale aj vegetácie, bojujú proti zástavbe v blízkosti vodných tokov v spolupráci s množstvom dobrovoľníkov. V rámci projektov Citizen Science sa aktívni občania zapájajú do monitoringu a ochrany vodných tokov, ich revitalizácie a riešenia problémov. Pomocou rôznych aplikácií a postupov pomáhajú odborníkom pri tvorbe rôznych databáz, pri riešení projektov a zbere dôležitých údajov. Prvé projekty Cititzen Science vznikali už od roku v roku 1900, kedy bola vytvorená výzva na občianske sčítavanie vtáctva [3]. V posledných rokoch sa ľudia začínajú znovu zaujímať viac o svoje okolie a prírodu okolo seba. Zúčastňujú sa rôznych aktivít, ktoré sa týkajú čistenia, úpravy alebo zlepšovania prostredia.

Cieľom práce bolo vytvoriť analýzu a porovnanie vodných tokov v meste Banská Bystrica. Porovnať vodné korytá, či boli upravené človekom, aká vegetácia rastie v ich blízkosti a vyhodnotiť vybrané chemické ukazovatele na troch miestach na oboch vodných tokoch. V práci charakterizujeme aj oba vodné toky a uvádzame o nich základné údaje.

1 Vodné toky

Vodný tok je definovaný ako vodný útvar trvalo alebo občasne tečúcich povrchových vôd po zemskom povrchu v prirodzenom koryte alebo umelom koryte, ktoré je jeho súčasťou, a ktorý je napájaný z vlastného povodia alebo z iného vodného útvaru [4]. Slovensko je krajinou bohatou na vodu a jej zásoby. Je druhou krajinou na svete s najväčšou zásobou pitnej vody a zároveň je Žitný ostrov najväčšou prirodzenou zásobárňou podzemnej vody v strednej Európe. Nachádza sa u nás 180 riek a ich celková dĺžka je 49 774,8 km. Na našom území sa však nachádza aj množstvo vodných nádrží, jazier, plies a vodopádov [5]. Toto všetko svedčí o vodnom bohatstve nášho územia.

Na základe údajov zverejnených na stránkach SHMÚ sa na území Banskobystrického regiónu nachádza 79 merných staníc na vodných tokoch [6]. Dve z týchto staníc sa nachádzajú na nami vybraných vodných tokoch a to konkrétne na Tajovskom potoku a Bystrici (obr. 1).



Obr. 1 Poloha Tajovského potoka a Bystrice v rámci okresu Banská Bystrica (zdroj: vlastné spracovanie, podkladová mapa: Atlas krajiny Slovenskej republiky, Hydrogeologická mapa SR 1:50 000)

1.1 Tajovský potok

Tajovský potok pramení vo výške 1 150 m. n. m. na južných svahoch Skalky v Kremnických vrchoch a je pravostranným prítokom rieky Hron, do ktorého povodia aj patrí. Rozloha povodia Tajovského potoka je 47,32 km^2. Tvar povodia je vejárovitý. Má niekoľko prítokov a to Mútňanský, Kordícky, Farebný, Riečanský, Lúkovský a Skubínsky potok. Povodie patrí do mierne teplej až chladnej klimatickej oblasti, kde priemerná teplota vzduchu sa pohybuje medzi -3 až -6 °C počas januára a počas júla v rozmedzí 14 až 17 °C. Priemerný počet dní kedy je denná teplota 10 °C a viac je 160 – 180 [7]. Z geomorfologických celkov preteká Kremnickými vrchmi, Starohorskými vrchmi a Zvolenskou kotlinou.

Pre náš terénny monitoring sme si na tomto toku vybrali úsek dlhý 500 m, kde preteká mestskou časťou Podlavice a Fončorda. V blízkosti sa nachádza zástavba rodinných ale aj bytových domov, detské ihriská a areál Univerzity Mateja Bela. Celý úsek je porastený drevinami a brehovou vegetáciou, ktorá v letných mesiacoch vytvára príjemný chládok (obr. 2). Pozdĺž potoka sa v tejto oblasti tiahne cyklotrasa s chodníkom pre peších a je tu vytvorené veľmi prijemné prostredie pre rekreáciu a športovanie.

Obr. 2 Tajovský potok (2.3.2023, foto: autorka)

Tajovský potok preteká obcou Tajov a odtiaľ už preteká mestskou časťou Podlavice, postupne preteká okrajom mestskej časti Fončorda až juhozápadne od centra mesta vlieva do rieky Hron vo výške cca 319 m. n. m.

1.2 Bystrica

Bystrica pramení v nadmorskej výške 1 280 m. n. m. v južnej časti Veľkej Fatry na úpätí Kráľovej skaly. Je pravostranným prítokom Hrona a patrí do jeho povodia. Rozloha povodia Bystrice je 59,60 km^2. Povodie má vejárovitý tvar. Priberá niekoľko prítokov avšak menších. Z významnejších pravostranných prítokov priberá Harmanec, Cenovo, Košiarsky potok a Laskomer. Z ľavostranných prítokov priberá Starohorský, Banský a Sásovský potok. Režim odtoku má snehovo-dažďový. Najväčší prietok má v období jari, kedy sa v horách topí sneh [8]. Vlieva sa do rieky Hron pri Štadlerovom nábreží v meste Banská Bystrica. Dĺžka od prameňa po miesto vlievania je 22,9 km. Povodie patrí do mierne teplej až mierne chladnej klimatickej oblasti, kde sa priemerná teplota vzduchu pohybuje v januári okolo -3 °C a v júli okolo 12 - 16 °C a niekedy aj viac. Z geomorfologických celkom preteká Veľkou Fatrou, Starohorskými vrchmi a Zvolenskou kotlinou.

Pre monitoring sme si na tomto toku zvolili úsek dlhý 500 m, kde Bystrica preteká v blízkosti Medeného Hámra a rýchlostnej cesty R1. V okolí sa nachádza zástavba a cestná komunikácia (obr. 3).

Obr. 3 Bystrica (3.3.2023, foto: autorka)

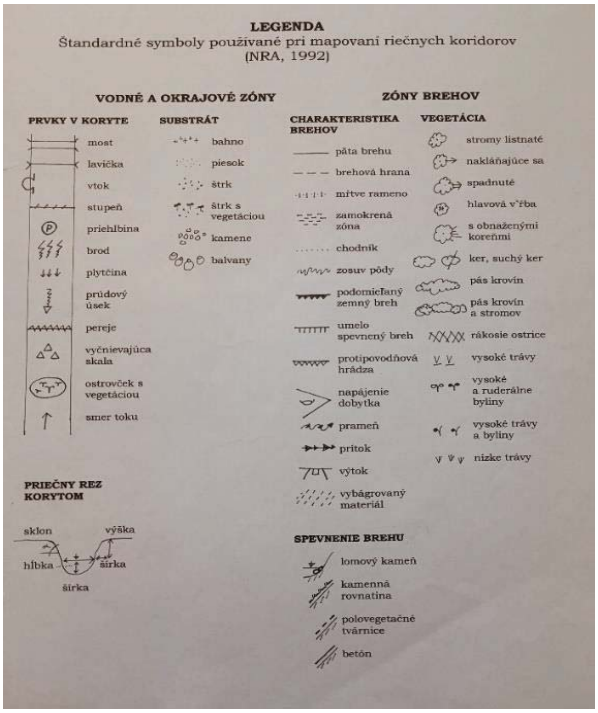
Bystrica preteká obcami Horný Harmanec, Dolný Harmanec, Harmanec, mestskou časťou Uľanka, Jakub, Kostiviarskou a následne sa dostáva do centra mesta, kde sa vlieva do rieky Hron vo výške cca 320 m. n. m. Miestni obyvatelia nazývajú tento potok Bystrička.

2 Metodika

Terénny monitoring bol zameraný na hydromorfologické mapovanie korýt vodných tokov a výskytu brehovej vegetácie s určením zastúpenia jednotlivých druhov drevín. V druhom kroku sa zvoli miesta odberu pre chemické a biologické analýzy. Vzorky sme odoberali z horného, stredného a dolného toku a následne ich vyhodnocovali. Intenzita odberu vzoriek je 1x mesačne.

Na vodných tokoch sme si ako prvé vymedzili 500 m dlhé úseky, na ktoré sa zameriaval náš monitoring. Úseky sme vyberali na základe dostupnosti a možnosti realizovať jednotlivé časti monitoringu. Prieskum pozostával z dvoch častí. V prvej časti sme sa zamerali na mapovanie vodných korýt a vegetácie. Prešli sme oba vodné toky a podrobne si zakreslili priebeh koryta a prvky, ktoré sa v ňom nachádzali. Pri zakresľovaní boli použité symboly podľa štandardných symbolov používaných pri mapovaní riečnych koridorov (NRA, 1992) (obr. 4). Mapovanie prebiehalo počas októbra, aby bolo možné zaznamenať aj brehovú vegetáciu a drevinové zloženie. Monitorovanie vegetácie prebiehalo v rovnaký deň ako mapovanie vodných korýt, kedy sme prechádzali popri vodných tokoch po oboch brehoch a zapisovali aké druhy sa v blízkosti brehov nachádzajú. Následne sme vytvorili grafy pre

oba vodné toky, v ktorých sa nachádzajú jednotlivé druhy drevín a ich početnosť. Pri určovaní druhov sme využívali aj aplikáciu PlantNet.



Obr. 4 Legenda - štandardné symboly používané pri mapovaní riečnych koridorov (NRA1992) (zdroj: Milonová, 2005)

V druhej časti monitoringu sme sa zamerali na chemickú analýzu jednotlivých úsekov vodných tokov. Na každom vodnom toku sme si na vybranom úseku zvolili horný, stredný a dolný tok. Následne sme realizovali chemickú analýzu, meranie pH vody a teploty vodných tokov. Na analýzu sme využívali sadu JBL Testlab set 14 testov (obr. 5). Testovali sme KH, GH, pH 3-10, pH 6,0-7,6, pH 7,4 – 9,0, NH_4, NO_2, NO_3, PO_4 Sensitive, SiO_2, Fe, Cu, O_2, CO_2. Analýza prebiehala vždy na lokalite odberu vzoriek, aby sme zaistili čo najlepšie výsledky, a aby nedošlo k zmenám vlastností vody. Vzorky boli vždy odoberané z tých istých lokalít, aby sme mohli výsledky medzi jednotlivými testovaniami porovnávať. Vytvorili sme si aj terénnu kartu, v ktorej sme zaznamenávali výsledky z analýz, ale aj dátum, čas, súradnice odberov, počasie, teplotu vzduchu, teplotu vody, výšku vodnej hladiny, konduktivitu a pH pomocou digitálneho pH metra. Výšku vodnej hladiny sme merali od mostíkov, ktoré prechádzali cez vodné toky, ale taktiež sme si zisťovali údaje z vodomerných staníc SHMÚ, ktoré sa nachádzajú na oboch vodných tokoch. My sme merali výšku vodnej hladiny za pomoci olovničky a šnúrky. Na šnúrku sme si upevnili olovničku a tú sme následne pomaly spúšťali smerom do vodného toku pokiaľ sa nám olovnička nedotkla vody. Následne sme si zmerali dĺžku šnúrky a zaznamenali do terénnej karty.

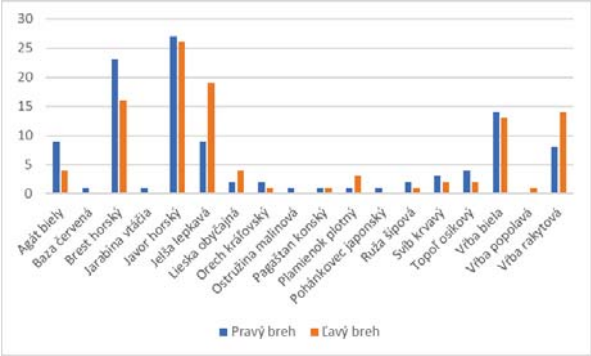
Obr. 5 Testovacia sada JBL Testlab (4.3.2023, foto: autorka)

Prvá časť monitoringu prebiehala 7.10.2022 na oboch vodných tokoch, kedy prebiehalo mapovanie korýt a vegetácie. Druhá časť výskumu prebiehala na Tajovskom potoku 4.2.2023 a 2.3.2023. Na vodnom toku Bystrica prebiehala analýza 5.2.2023 a 3.3.2023.

3 Výsledky a diskusia

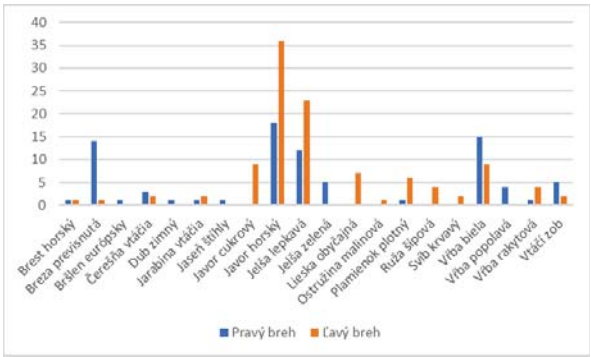
Na monitorovaných úsekoch má Tajovský potok väčší prírodný charakter v porovnaní s Bystricou. Na nami pozorovanom úseku Tajovského potoka sa nachádzalo málo človekom upravených úsekov. Jednalo sa o jeden úsek, v ktorom bol spevnený breh väčšími balvanmi a miestami bol breh spevnený betónom. Inak má koryto prírodný charakter, kde sa na jeho dne nachádzajú hlavne kamene a miestami väčšie skaly, štrk alebo bahno. V koryte sa nachádza väčšie množstvo perejí a na niekoľkých miestach aj vyčnievajúce kamene (obr. 6). Cez sledovaný úsek prechádza jedna lávka pre peších a jedno potrubie, ktoré prechádza ponad sledovaný úsek. Prírodný charakter vodného toku dotvára aj brehová vegetácia, ktorá sa nachádza v jeho blízkosti. Na pravom brehu

Tajovského potoka je najviac zastúpený javor horský (27) a nasleduje za ním brest horský (23). Na ľavej strane prevláda javor horský (26) a za ním nasleduje jelša lepkavá (19) (graf 1).



Graf 1 Drevinové zloženie pravého a ľavého brehu Tajovského potoka (zdroj: autorka)

Bystrica je regulovaná ľudskou činnosťou a dá sa to pozorovať aj na charaktere vodného toku. Na väčšom úseku je breh spevnený betónom alebo lomovým kameňom a taktiež je časť toku vybudovaná umelo. Jedná sa o časť, ktorá sa nachádza v blízkosti rýchlostnej cesty R1. Dno je tvorené kameňmi a na niektorých miestach je tvorené štrkom. V koryte sa vyskytuje menej perejí a vytŕčajúcich kameňov oproti Tajovskému potoku (obr. 7). Nachádza sa tu aj jeden ostrovček s vegetáciou a niekoľko drevín, ktoré zasahujú do vodného toku. Cez pozorovaný úsek prechádzajú dve lávky pre peších a jeden most. Tiež ponad koryto prechádza potrubie a na pozorovanom úseku sa nachádza aj niekoľko vtokov. Dreviny sú tu zastúpené menej v porovnaní s Tajovským potokom. Na pravom brehu sa nachádza najviac javor horský (18) a za ním nasleduje vŕba biela (15). Na ľavom brehu je najviac zastúpený javor horský (36) a ďalej jelša lepkavá (23) (graf 2).



Graf 2 Drevinové zloženie pravého a ľavého brehu Bystrice (zdroj: autorka)

Počas chemickej analýzy sme zaznamenali niekoľko ukazovateľov, ktoré nám naznačili, že podmienky vo vodnom toku nie sú vhodné alebo sú na hranici vhodnosti pre život živočíchov v oboch vodných tokoch. Pri zisťovaní KH (uhličitanovej tvrdosti) sme zistili, že nami namerané hodnoty sú v rozmedzí vhodnom pre ryby, avšak prekračujú najideálnejšie hodnoty. Vhodné rozmedzie je 5-16 °dH, avšak najvhodnejšie podmienky sú pri hodnote 5 °dH. My sme namerali hodnoty 10 – 14 °dH. Pri meraní GH (celkovej tvrdosti sladkej vody) sme namerali hodnoty 12 – 14 °dH, ktoré sa nachádzajú v rozmedzí vhodných hodnôt, ktoré sú 8 – 25 °dH. Hodnoty pH sme merali tromi rôznymi testami. Pri testovaní testom pH 3 – 10 sme zistili vo všetkých prípadoch vhodné podmienky pre ryby aj rastliny. Optimálna hodnota pH pre väčšinu sladkovodných rýb a rastlín sa pohybuje okolo hodnoty 7. Nám vyšli hodnoty 7,5 – 8,0 čo sú teda vhodné podmienky. Pri testovaní testom pH 6,0 – 7,6, ktorý je určený ku kontrole hodnôt pri mierne kyslej až neutrálnej sladkej vode sme namerali hodnotu vo všetkých prípadoch 7,6, ktorá je podľa škály vhodnosti na hraničnej hodnote. Pri testovaní testom pH 7,4 – 9,0 sme namerali hodnoty 7,4 – 7,8, ktoré sú vhodné pre život rýb aj rastlín v oboch vodných tokoch. Pri testovaní HN_4 (amonia/amoniaku), ktorý je živinou pre rastliny a v nízkych koncentráciách nie je pre ryby jedovatý by mali byť namerané hodnoty čo najmenšie. My sme namerali vo všetkých prípadoch hodnoty <0,05 mg/l, ktoré nám ukazujú, že podmienky sú vhodné v oboch vodných tokoch. Počas merania NO_2 (dusitanov), ktoré sú pre ryby silne toxické tak ako amoniak sme zaznamenali hodnoty v rozmedzí <0,01 – 0,05 mg/l, ktoré boli vhodné pre život rýb vo vodných tokoch. Počas merania NO3 (dusičnanov) sme namerali vo vodných tokoch hodnoty <0,5 – 3 mg/l. Ideálne hodnoty sú 1 – 15 mg/l. Hodnoty <0,5 mg/l sme namerali v dvoch vzorkách Tajovského potoka dňa 4.2.2023. Vo zvyšných odberoch boli hodnoty 1 – 3 mg/l. Fosfáty (PO_4) sme merali za pomoci testu PO_4 Sensitive, kde sú ideálne hodnoty <0,02 – 0,4 mg/l. Nami namerané hodnoty boli <0,02 mg/l vo všetkých prípadoch. Obsah kremičitanov (SiO_2) sme merali pomocou testu SiO_2. Počas februára sme namerali hodnoty 0,8 – 3 mg/l a počas marca až 3 – >6,0 mg/l. Najideálnejšie sú hodnoty <0,1 – 0,8 mg/l. Nami namerané hodnoty výrazne prekračovali vhodné hodnoty. Obsah železa sme merali testom Fe. Pre ryby sú vhodné hodnoty 0,1 – 0,4 mg/l, my sme namerali vo všetkých prípadoch hodnotu <0,02 mg/l, ktorá je hraničná. Obsah medi sme merali za pomoci testu Cu.

Namerali sme vo všetkých prípadoch hodnotu <0,05 mg/l, ktorá je v rozmedzí správnych hodnôt. Obsah kyslíka (O_2)bol nameraný na hodnotách 8 – 10 mg/l, ktoré sú v správnom rozmedzí. Obsah oxidu uhličitého (CO_2) sme určovali na základe hodnôt KH a hodnoty pH vody. Ideálne hodnoty sú 15 – 30 mg/l, my sme však namerali hodnoty 5 – 14, ktoré vo väčšine prípadov neboli vhodné.

Pri meraní konduktivity za pomoci konduktometra sa nám hodnoty výrazne menili. Chyba môže byť spôsobená nesprávnou kalibráciou prístroja. Nesprávna kalibrácia mohla byť spôsobená zlou manipuláciou počas procesu kalibrovania, ale aj chýbajúcou pomôckou pre správne nastavenie kalibračných hodnôt. Zapísané výsledky chemickej analýzy a všetkých ďalších meraní sa nachádzajú v tab. 1 a tab. 2.

Záver

Najväčšie rozdiely sa nám prejavili v korytách vodných tokov. Ako je možné vidieť na mapovaných úsekoch, tak Tajovský potok má prírodnejší charakter a je menej zasiahnutý činnosťou človeka. Koryto viac meandruje, dno je tvorené prevažne kameňmi, má viacero úsekov, na ktorých sa nachádzajú pereje alebo vyčnievajúce kamene. Prírodný charakter úseku dopĺňa množstvo drevín, ktoré sa nachádzajú v jeho blízkosti. Bystrica je poznačená výstavbou rýchlostnej cesty R1, kde bolo koryto upravené. Na začiatku vymedzeného úseku sa dá pozorovať zásah do koryta kvôli jej výstavbe, v ďalších miestach sa taktiež nachádza niekoľko úsekov spevnených betónom alebo lomovým kameňom, čo bolo spôsobené stavbou lávok pre peších a mosta. Vo vodnom toku sa nachádza menej prírodných prvkov ako sú pereje alebo vyčnievajúce kamene. Taktiež vidno rozdiel v rozložení vegetácie a jej umiestnení. Vplyv na vegetáciu môže mať blízkosť cestnej komunikácie, ktoré môže znečisťovať okolie ale môže byť aj nevhodný podklad pre rast vegetácie.

Čo sa týka rozdielov v chemickej analýze, tak sa vo veľkej časti nachádzajú nami namerané hodnoty v normálnych intervaloch, ktoré sú vhodné pre živočíchy ale aj vegetáciu vo vodných tokoch. Rozdiely môžu spôsobené počasím, pretože vo februári sa teploty nachádzali v mínusových hodnotách a prietoky boli menšie. Meranie počas marca mohlo ovplyvniť oteplenie a roztápajúci sa sneh, čo sa dalo pozorovať na výške vodných hladín ale aj rýchlosti prúdenia vodných tokov. Väčšina ukazovateľov bola v oboch vodných tokoch dobrá, avšak našli sa aj rozdiely. Jedným z najväčších rozdielov boli hodnoty SiO_2. Počas meraní vo februári boli hodnoty v Tajovskom potoku v hraničných hodnotách a v Bystrici boli namerané vysoké hodnoty. Tento stav sa opakoval aj v marci, avšak tam už boli vysoké hodnoty namerané aj v Tajovskom potoku. Kremík sa vo forme kremičitanov do povrchových vôd dostáva zvetrávaním kremeňa. Pre zlepšenie hodnôt by sa mohli do vodných tokov aplikovať likvidátori kremičitanov. V oboch vodných tokoch boli namerané hraničné hodnoty Fe.

V našom monitoringu plánujeme pokračovať po zvyšok roka a realizovať každý mesiac chemickú analýzu. Počas letných mesiacov budeme monitorovať a určovať živočíchy vo vodných tokoch. Taktiež máme v pláne rozšíriť monitoring drevín aj na invázne rastliny nachádzajúce sa v blízkosti vodných tokov.

Poďakovanie

Poďakovanie patrí mojej školiteľke Mgr. Lenke Balážovičovej, PhD. za jej odborné rady, vedenie, informácie a pomoc. Tiež ďakujem prof. RNDr. Jánovi Spišiakovi, DrSc., doc. RNDr. Zuzane Melichovej, PhD. a Mgr. Romane Schubertovej, PhD. za poskytnutie materiálnej pomoci.

Použitá literatúra

[1] Havária s únikom digestátu do rieky Hron [Citované: 4.3.2023] https://www.sopsr.sk/web/?cl=20803
[2] Szabóová S., Pačenovský S., Szabó Š. (2002) Občiansky monitoring vody. SOSNA, Košice, p. 67
[3] Schubertová R. (2019) Skúmaj svoje okolie. Belianum, Banská Bystrica, p. 74
[4] Zbierka zákonov č. 364/2004 (2004) Zákon o vodách a o zmene zákona Slovenskej národnej rady č. 372/1990 Zb. o priestupkoch v znení neskorších predpisov (vodný zákon)
[5] Infografika: Vodné bohatstvo Slovenska [Citované: 4.3.2023] https://nasavoda.sk/magazin/zapadne-slovensko/infografika-vodne-bohatstvo-slovenska/
[6] Banskobystrický región [Citované: 4.3.2023] https://www.shmu.sk/sk/?page=765&section=rsbb
[7] Anstead L., Balážovič Ľ. (2015) Geografická revue 11 (1), p. 5
[8] Kontúrová S., Beracko P. (2016) Folia faunistica Slovaca 21 (1), p. 13
[9] SHMÚ 2023 [Citované: 4.2.2023, 2.3.2023] https://www.shmu.sk/sk/?page=765&station_id=7170
[10] SHMÚ 2023 [Citované: 5.2.2023, 3.3.2023] https://www.shmu.sk/sk/?page=765&station_id=7155

Prílohy

Obr. 6 Koryto Tajovského potoka (zdroj: autorka, podkladová mapa: ZBGIS, Úrad geodézie, kartografie a katastra SR)

Obr. 7 Koryto Bystrice (zdroj: autorka, podkladová mapa: ZBGIS, Úrad geodézie, kartografie a katastra)

Tab. 1 Terénna karta z februárovej analýzy vodných tokov Tajovský potok a Bystrica (zdroj: autorka, [9], [10])

	Tajovský potok			Bystrica		
	Horný tok	Stredný tok	Dolný tok	Horný tok	Stredný tok	Dolný tok
Dátum	4.2.2023			5.2.2023		
Čas	16:45	15:35	13:45	10:15	11:40	12:35
Súradnice	48.7396255 N 19.1154020 E	48.7391817 N 19.1168917 E	48.7381817 N 19.1191683 E	48.7478783 N 19.1402059 E	48.7467417 N 19.1409717 E	48.7454737 N 19.1406413 E
Počasie	Zamračené, bez sneženia	zamračené, sneženie	oblačno, sneženie	slnečno	slnečno	slnečno
Teplota vzduchu	(-2°C)	(-2°C)	(-1°C)	(-2°C)	(-2°C)	(-2°C)
Výška vodnej hladiny (od mostíka)	-	-	350 cm	405 cm	-	-
Teplota vody	0,8°C	1,7°C	2,6°C	3,3°C	3,5°C	3,1°C
KH (počet kvapiek)	12	10	10	12	12	14
GH (počet kvapiek)	13	14	14	14	13	14
pH 3-10	7,5	7,5	8	7,5	7,5	8
pH 6.0-7.6	7,6	7,6	7,6	7,6	7,6	7,6
pH 7.4-9.0	7,4	7,4	7,8	7,6	7,6	7,8
NH_4	<0,05	<0,05	<0,05	<0,05	<0,05	<0,05
NO_2	<0,01	<0,01	<0,01	<0,01	0,025	0,025
NO_3	<0,5	<0,5	1	1	1	1
PO_4 sensitive	<0,02	<0,02	<0,02	<0,02	<0,02	<0,02
SiO_2	0,8	1,6	2	3	3	3
Fe	<0,02	<0,02	<0,02	<0,02	<0,02	<0,02
Cu	<0,05	<0,05	<0,05	<0,05	<0,05	<0,05
O_2	8	8	10	10	10	10
CO_2	14	12	5	9	9	11
Teplota vody (SHMÚ)	nerealizujú merania			2,9°C	3°C	3,2°C
Výška vodnej hladiny (SHMÚ)	22 cm	23 cm	23 cm	53 cm	52 cm	52 cm
Konduktivita	490	503	487	551	548	550
Digitálny pH meter	8,4	8,3	7,9	7,5	7,5	8,3

Tab. 2 Terénna karta z marcovej analýzy vodných tokov Tajovský potok a Bystrica (zdroj: autorka, [9] [10])

	Tajovský potok			Bystrica		
	Horný tok	Stredný tok	Dolný tok	Horný tok	Stredný tok	Dolný tok
Dátum	2.3.2023			3.3.2023		
Čas	15:35	15:00	14:20	11:00	11:40	12:30
Súradnice	48.7396255 N 19.1154020 E	48.7391817 N 19.1168917 E	48.7381817 N 19.1191683 E	48.7478783 N 19.1402059 E	48.7467417 N 19.1409717 E	48.7454737 N 19.1406413 E
Počasie	Jasno, bez oblakov	Slnečno	Slnečno	Slnečno, jasno	Slnečno, jasno	Slnečno, jasno
Teplota vzduchu	12 °C	12 °C	13 °C	6 °C	7 °C	7 °C
Výška vodnej hladiny (od mostíka)	-	-	332 cm	370 cm	-	-
Teplota vody	5,0 °C	4,9 °C	5,2 °C	5,1 °C	5,4 °C	5,6 °C
KH (počet kvapiek)	12	10	12	10	10	10
GH (počet kvapiek)	12	13	13	13	13	12
pH 3-10	7,5	7,5	7,5	8	8	8
pH 6.0-7.6	7,6	7,6	7,6	7,6	7,6	7,6
pH 7.4-9.0	7,8	7,8	7,6	8	7,8	7,8
NH_4	<0,05	<0,05	<0,05	<0,05	<0,05	<0,05
NO_2	0,025	0,025	0,025	0,05	0,025	0,025
NO_3	1	1	1	1	3	3
PO_4 sensitive	<0,02	<0,02	<0,02	<0,02	<0,02	<0,02
SiO_2	>6,0	>6,0	>6,0	>6,0	3	3
Fe	<0,02	<0,02	<0,02	<0,02	<0,02	<0,02
Cu	<0,05	<0,05	<0,05	<0,05	<0,05	<0,05
O_2	10	10	10	10	10	10
CO_2	14	12	14	8	8	8
Teplota vody (SHMÚ)	nerealizujú merania			4,7 °C	5,0 °C	5,2 °C
Výška vodnej hladiny (SHMÚ)	30 cm	30 cm	30 cm	70 cm	72 cm	71 cm
Konduktivita	368	362	360	420	414	414
Digitálny pH meter	8,2	7,9	7,4	8,5	8,6	8,5

Štatistická analýza znečisťujúcich látok v ovzduší v skúmaných územiach v rokoch 2019-2021

Statistical analysis of pollutants in the air in the studied territories in year 2019 to 2021

Jakub Cimbala[1]
Školiteľ: Mgr. Lenka Balážovičová, PhD.[2]
[1,2]Katedra geografie a geológie, FPV UMB, Tajovského 40, 974 01 Banská Bystrica,
[1] jakub.cimbala@student.umb.sk, [2] lenka.balazovicova@umb.sk

Abstrakt

Táto práca je venovaná štatistickej analýze znečisťujúcich látok v mestách Banská Bystrica a Prešov v rokoch 2019 až 2021. Na interpretáciu a modelovanie údajov o znečistení ovzdušia boli použité štatistické nástroje deskriptívnej štatistiky. Na základe priemerných mesačných dát, sme vyhodnotili trendy skúmaných znečisťujúcich látok. Údaje zahŕňajú priemerné mesačné koncentrácie prachových častíc $PM_{2.5}$, PM_{10}, oxidu uhoľnatého (CO), oxidov dusíka (NO_x) a benzénu (C_6H_6). Vybrali sme obdobie rokov 2019 až 2021, pričom sme brali do úvahy núdzové stavy a ich opatrenia. Opísali sme jednotlivé monitorovacie stanice kvality ovzdušia, medzinárodné a národné limitné hodnoty, znečisťujúce látky a ich dopad na zdravie a mesačné trendy za roky 2019 až 2021.

Kľúčové slová: ovzdušie, znečistenie, štatistika

Abstract

This work is devoted to the statistical analysis of pollutants in the cities of Banská Bystrica and Prešov between 2019 and 2021. Statistical tools of descriptive statistics were used to interpret and model air pollution data. Based on average monthly data, we evaluated the trends of the examined pollutants. The data include monthly average fractions of $PM_{2.5}$, PM_{10}, carbon monoxide (CO), nitrogen oxides (NOx) and benzene (C_6H_6). We selected the period from 2019 to 2021, taking into account emergencies and their measures. We have described individual air quality monitoring stations, international and national limit values, pollutants and their impact on health and monthly trends during the years 2019 to 2021.

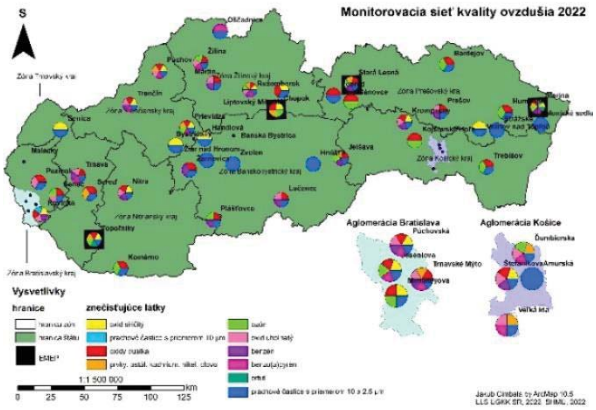
Keywords: air quality, air, pollution, limit values, statistical trends

Úvod

Cieľom tohto príspevku je štatisticky analyzovať a preukázať zmenu kvality ovzdušia za roky 2019 až 2021 v dvoch krajských mestách na Slovensku (Banská Bystrica a Prešov). Predpokladáme, že sa množstvo emisií znížilo a tým mal vývoj kvality ovzdušia klesajúci trend. Priemerné ročné koncentrácie porovnávame s rokmi 2006-2021. Cieľom je preukázať a analyzovať klesajúci ročný trend znečisťujúcich látok a vplyv vetra s teplotou na rozptyl látok v ovzduší. V práci sa venujeme aj limitným hodnotám a smerniciam, ktoré nesmú byť prekročené.

1 Metodika monitorovania (SHMÚ)

V práci porovnávame údaje zo staníc národnej monitorovacej siete kvality ovzdušia v Banskej Bystrici – Štefánikovo nábrežie a v Prešove – Arm. gen. L. Svobodu. Meracia stanica v Banskej Bystrici (48°44´06“ s.g.š.; 19°09´18“ v.g.d.) sa nachádza v údolnej časti mesta v tesnej blízkosti frekventovanej cesty zabezpečujúcej prepojenie regiónu s východom Slovenska, v blízkosti rieky Hron a vrchu Urpín, v nadmorskej výške 346 m n.m.. Oblasť je so zhoršenými rozptylovými podmienkami. Meracia stanica v Prešove (48°59´33“ s.g.š.; 21°16´00“ v.g.d.) sa nachádza v JV časti mesta na voľnom priestranstve pri okraji cesty, s pomerne veľkou intenzitou dopravy v pracovných dňoch. Východne od stanice, asi 25 m, je oddelená zeleňou radová zástavba 8 poschodových budov. Stanica sa nachádza v nadmorskej výške 252 m n.m. (Tab.1). Vzorkovanie plynných znečisťujúcich látok je vo výške 3.5 m nad zemou a prachových častíc vo výške 4 m nad zemou. Monitorovacie stanice (NMSKO) sú mestské, dopravné. Na týchto staniciach sú merané aj meteorologické parametre ako je rýchlosť a smer vetra, teplota a vlhkosť vzduchu (obr.1) [1].



Obrázok 1 Poloha staníc NMSKO v rámci Slovenska
Upravené podľa: [1]

Tab.1: Monitorovacia stanica kvality ovzdušia v Banskej Bystrici a v Prešove, stav k roku 2022 [1]

znečisťujúce látky (µg /m³)	**spôsob určovania**
častice PM_{10}, $PM_{2.5}$	E (TEOM)
SO_2	R (UVF)
C_6H_6	R (PCH)
Benzo(a)Pyrén (BaP)	R (GC MS)
NO_x	R (CHML)
CO	R (NDIR)
Ťažké kovy (Pb, Cd, Ni, As)	R (AAS, ICP/MS)
typ oblasti	**typ stanice**
U - mestská	T - dopravná
meteorologické parametre (jednotka)	
rýchlosť a smer vetra (m/s)	

1.1 Znečisťujúce látky

Látka znečisťujúca ovzdušie, je taká zložka, ktorá priamo alebo po zmenách, ktorým podlieha v atmosfére, poškodzuje alebo ohrozuje živé organizmy a nepriaznivo vplýva na životné prostredie [2]. Znečisťujúce látky v ovzduší sú primárne (z prírodných zdrojov) a sekundárne (vznik v ovzduší pri atmosférických reakciách) [3]. Podľa rôznych hľadísk delíme znečisťujúce látky podľa: skupenstva, miesta vzniku, miery škodlivosti, chemického zloženia a fyzikálnych vlastností, technického hľadiska a pôvodu [4]. V tejto práci analyzujeme údaje o znečisťujúcich látkach: prachové častice $PM_{2.5}$, PM_{10}, oxid uhoľnatý, oxidy dusíka a benzén.

Oxid uhoľnatý vzniká v atmosfére oxidáciou metánu a pri fotooxdácii terpénov. Vzniká pri spaľovaní za nedostatočného prístupu vzduchu a pri prebytku uhlíka. Obsah CO v ovzduší pochádza z prírodných zdrojov, môže sa uvoľňovať: vulkanickou činnosťou, lesnými požiarmi či vplyvom činnosti mikroorganizmov; z antropogénnych zdrojov je to najmä spaľovaním fosílnych palív (doprava, priemysel, poľnohospodárstvo) či zo spaľovania odpadov [3]. Vznik emisií CO v domácnostiach je prispievateľom spaľovanie dreva za účelom kúrenia a rovnako aj fajčenie [5]. Z fyzikálno-chemických vlastností je oxid uhoľnatý bezfarebný plyn, bez zápachu, bez chuti, vysoko horľavý. Smrteľná dávka pre človeka je 4000 ppm za 1h [6].

Oxidmi dusíka sa rozumie súčet koncentrácií oxidu dusnatého a oxidu dusičitého. Emisie NOx pochádzajú najmä zo spalín v energetike, z domácich kúrenísk a zo spaľovania fosílnych palív v dôsledku cestnej dopravy [5] a priemyselnej činnosti [7]. Pri vysokej koncentrácii NO_2 vzniká kyselina dusičná HNO_3 a ozón O_3 [8]. Najväčšie koncentrácie ozónu sa zvyčajne nachádzajú na okraji veľkých miest a parkov a vrchol dosahujú v najteplejšej časti dňa [9]. Z fyzikálno-chemických vlastností je oxid dusičitý červený až hnedý plyn, so štipľavou chuťou, sladkým zápachom, nehorľavý. Smrteľná dávka bola pre potkana stanovená na 88 ppm za 4h [10]. Oxid dusnatý je bezfarebný plyn, s ostrým sladkým zápachom, nehorľavý a veľmi toxický. Smrteľná dávka bola pre potkana stanovená na 1068 mg/m³ za 1h [11].

Prachové častice $PM_{2.5}$ a PM_{10} pohlcujú slnečné žiarenie a podporujú zohrievanie vzduchu, veľký výskyt prachových častíc je v mestách a mestských aglomeráciách [12]. Časticami PM_{10} sa rozumejú častice s aerodynamickým priemerom menším ako 10µm [5]. Zdroje prachových častíc poznáme vnútorné a vonkajšie. Medzi vnútorné zdroje patrí BMF a fajčenie cigariet. BMF sú spálené živočíšne alebo rastlinné látky ako napríklad drevo, drevené uhlie, hnoj a zvyšky plodín [13]. Medzi vonkajšie zdroje patrí prírodný prach, výfukové plyny vozidiel z cestnej dopravy, priemyselná činnosť či prašnosť, ktorá sa uvoľňuje pri výstavbe [7].

Prchavé zlúčeniny (VOC) sú všeobecne emitované do ovzdušia ako nenasýtené uhľovodíky, organické alkoholy, aromatické uhľovodíky, halogénové organické zlúčeniny a zlúčeniny síry [14]. Medzi tieto VOC patrí benzén (C_6H_6). Zdroje benzénu sú prírodné a antropogénne. Medzi prírodné zdroje patrí erupcia sopiek a lesné požiare; medzi antropogénne zdroje patria emisie z ropy, benzínu, priemyslu, z uhoľného dechtu a cigaretového dymu [15]. Z fyzikálno-

chemických vlastností je benzén bezfarebná kvapalina, so sladkým aromatickým zápachom, vysoko horľavý a prchavý, potenciálny karcinogén [16, 17]. Smrteľná dávka pre psa je 44 923 ppm a pre človeka 20 000 ppm za 5 min [17].

1.2 Limitné hodnoty kvality ovzdušia

Na základe rozsiahlych vedeckých poznatkov, ktoré sú v súčasnosti k dispozícii, WHO určuje usmernenia úrovne kvality ovzdušia potrebné na ochranu verejného zdravia na celom svete. Zahŕňajú niektoré z najsledovanejších znečisťujúcich látok kritických pre ľudské zdravie, pri ktorých dôkazy o účinkoch vystavenia sa znečisťujúcim látkam za posledných 15 rokov výrazne pokročili. Smernice WHO stanovujú limity, napr. pre tieto znečisťujúce látky: tuhé častice ($PM_{2.5}$ a PM_{10}) ozón (O_3), oxid dusičitý (NO_2), oxid siričitý (SO_2) a oxid uhoľnatý (CO). WHO a na Slovensku aj SHMÚ pravidelne vydávajú usmernenia kvality ovzdušia – AQG (WHO) a MŽP SR (SHMÚ) (Tab.2).

Tab.2: Usmernenia kvality ovzdušia WHO a SHMÚ, stav k roku 2021

	znečisťujúce látky	priemerované obdobie	limitná hodnota 2005	limitná hodnota 2021
WHO	Častice $PM_{2.5}$	24 h	25	15
		kal. rok	10	5
	Častice PM_{10}	24 h	50	45
		kal. rok	20	15
	NO_2	24 h	-	25
		kal. rok	40	10
	SO_2	24 h	20	40
	CO	24 h	-	4
SHMÚ	Častice PM_{10}	24 h	50 µg /m^3	
		kal. rok	*40 µg /m^3	
	Častice $PM_{2.5}$	kal. rok	20 µg /m^3	
	NO_2	1 h	**200 µg /m^3	
		kal. rok	40 µg/m^3	
	CO	max. denná stredná 8 h hodnota	10 mg/m^3	

*sa nesmie prekročiť viac ako 35-krát za kal. rok
** sa nesmie prekročiť viac ako 18-krát za kal. rok

1.3 Dopady znečisťujúcich látok na zdravie

Početné štúdie opisujú, že všetky typy znečistenia ovzdušia pri vysokej koncentrácii môžu ovplyvniť najmä dýchacie cesty. Medzi symptómy patrí podráždenie nosa a hrdla, po ktorých nasleduje dýchavičnosť, najmä u astmatikov, po vystavení sa zvýšeným hladinám SO_4 [18], oxidov dusíka [19] a ťažkých kovov As, Ni, V [20]. Bolo zistené, že požiare zvyšujú riziko hypertenzie prostredníctvom zvýšenej úrovne znečistenia ovzdušia, čo prispieva k 14% celkovej úmrtnosti v Indii ročne [20].

Oxid uhoľnatý sa viaže na hemoglobín [22] a vo vysokej koncentrácii môže spôsobiť smrť [7]. Znečistenie ovzdušia vyvoláva podráždenie pľúc a zmeny zrážania krvi, môže upchať krvné cievy, čo vedie k angíne a dokonca až k infarktu myokardu [23]. V rámci kardiovaskulárneho systému dochádza k zväčšeniu hrúbky ľavej komory srdca, čo tiež neskôr vyvoláva arytmiu srdca [24]. Vystavenie sa oxidu uhoľnatému, konkrétne fajčeniu tabaku u detí v školskom veku, bolo spojené so zníženou funkciou pľúc [25].

Oxid dusnatý dráždi dýchacie cesty a zhoršuje ochorenia dýchacích ciest, najmä astmu. Časté vystavenie vysokým koncentráciám NO_2 zvyšuje náchylnosť na respiračné infekcie [26]. Nízke koncentrácie dusíka dráždia oči, nos, hrdlo a pľúca. Vysoké koncentrácie dusíka spôsobuje pálenie, kŕče, opuch tkanív v hrdle a horných dýchacích ciest [27] a je spojená s respiračnou mortalitou [28].

Množstvo štúdií poukazuje aj na pozitívny vzťah medzi látkami znečisťujúcimi ovzdušie a nárastom autoimunitných a respiračných ochorení [29].

2 Metodika a materiály

Údaje o kvalite ovzdušia použité v tejto štúdii boli poskytnuté SHMÚ z dvoch monitorovacích staníc kvality ovzdušia v Prešove a v Banskej Bystrici. Získali sme dáta o koncentráciách znečisťujúcich látok $PM_{2.5}$, PM_{10}, CO, NO_x, a C_6H_6. Z týchto údajov sme následne zostavili tabuľky, grafy a vyhodnotili ich deskriptívnu štatistiku, mesačné a ročné trendy hodnôt, počet prekročení limitných hodnôt na meracích staniciach v Prešove a v Banskej Bystrici v rokoch 2006-2021. Zostavili sme aj grafy priemerných mesačných hodnôt rýchlostí vetra a teploty.

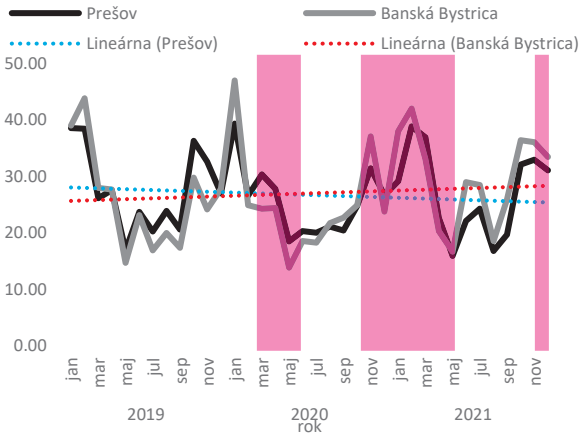
3 Výsledky a diskusia

Tabuľka 3 ukazuje priemerné ročné koncentrácie zaznamenané 2 monitorovacími stanicami vybranými pre túto štúdiu za roky 2019 až 2021. Grafy 1, 2, 3, 4, 5 ukazujú mesačné trendy priemerných mesačných

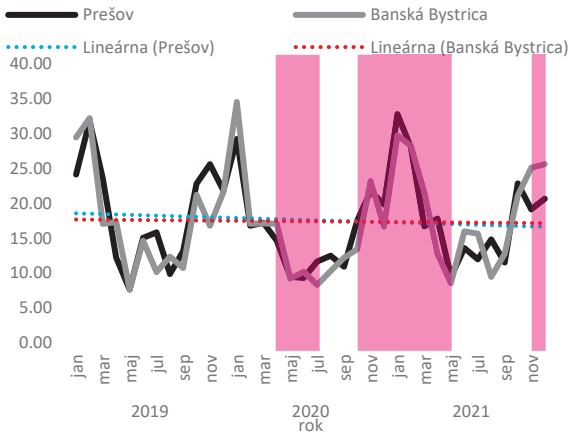
koncentrácií látok znečisťujúcich ovzdušie skúmaných území za roky 2019 až 2021. Ružová oblasť v grafe označuje núdzové stavy vyhlásené počas Covid-19 pandémie a vyznačené trendové spojnice ukazujú trend. V roku 2019 boli prekročené limity SHMÚ priemerných denných hodnôt pri PM_{10} v Prešove 29-krát a v Banskej Bystrici 26-krát a limity WHO v Prešove 43-krát a v Banskej Bystrici 41-krát (graf 9). Hodnoty koncentrácií benzénu neboli prekročené a NO_x nie sú definované. Priemerné ročné koncentrácie prachových častíc $PM_{2.5}$ neboli prekročené. V roku 2020 boli prekročené limity SHMÚ a WHO priemerných denných hodnôt pri PM_{10} v Prešove 18-krát a v Banskej Bystrici 24-krát (graf 9). Hodnoty koncentrácií benzénu neboli prekročené a NO_x nie sú definované. Priemerné ročné koncentrácie prachových častíc $PM_{2.5}$ neboli prekročené. V roku 2021 boli prekročené limity SHMÚ a WHO priemerných denných hodnôt pri PM_{10} v Prešove 22-krát a v Banskej Bystrici 39-krát (graf 9). Hodnoty koncentrácií benzénu neboli prekročené a NO_x nie sú definované. Priemerné ročné koncentrácie prachových častíc $PM_{2.5}$ neboli prekročené.

Tab.3: Priemerné ročné koncentrácie látok znečisťujúcich ovzdušie (µg/m³) v skúmaných územiach (2019-2021) [30]

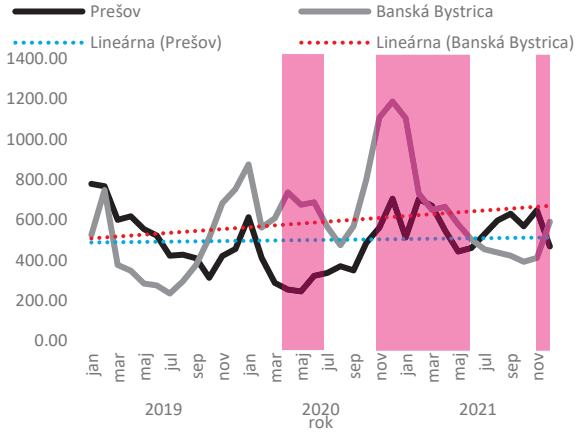
r.	NMSKO	$PM_{2.5}$	PM_{10}	CO	NO_x	C_6H_6
2019	Banská B.	17.49	25.83	447.73	91.18	1.04
	Prešov	18.19	27.54	524.87	107.46	1.10
2020	Banská B.	15.66	24.93	738.86	75.44	0.84
	Prešov	16.04	25.52	413.14	89.50	0.82
2021	Banská B.	29.68	18.83	578.39	77.93	0.85
	Prešov	26.69	18.48	563.25	87.96	1.01



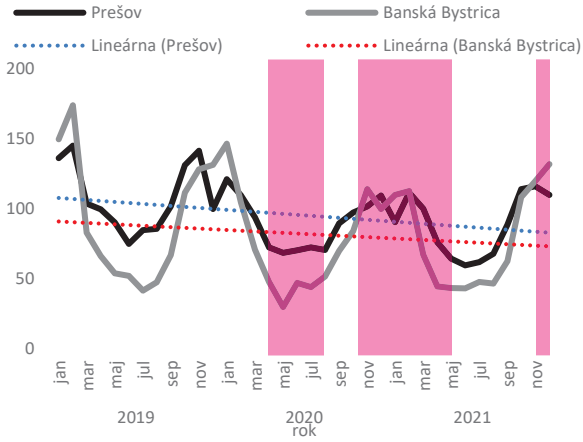
Graf 1: Mesačné trendy PM_{10} (µg/m³) v Prešove a v Banskej Bystrici (2019-2021) [30]



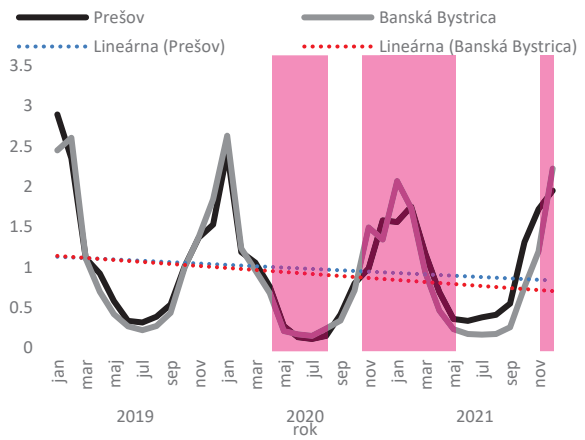
Graf 2: Mesačné trendy $PM_{2,5}$ (µg/m³) v Prešove a v Banskej Bystrici (2019-2021) [30]



Graf 3: Mesačné trendy CO (µg/m³) v Prešove a v Banskej Bystrici (2019-2021) [30]

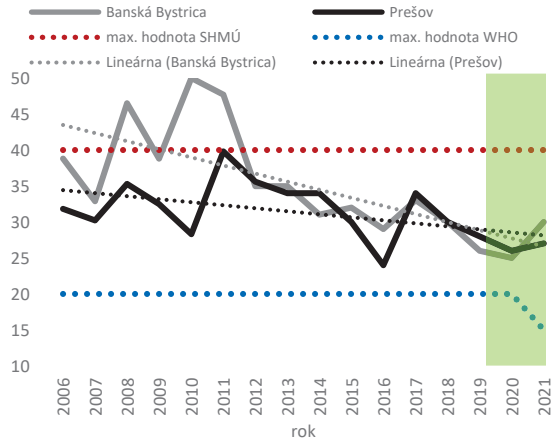


Graf 4: Mesačné trendy NO_x (µg/m³) v Prešove a v Banskej Bystrici (2019-2021) [30]

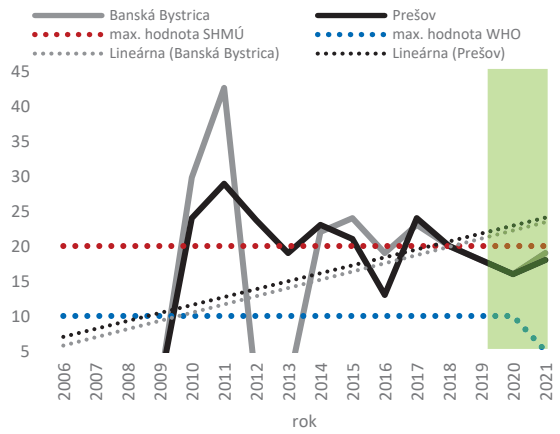


Graf 5: Mesačné trendy C_6H_6 (µg/m^3) v Prešove a v Banskej Bystrici (2019-2021) [30]

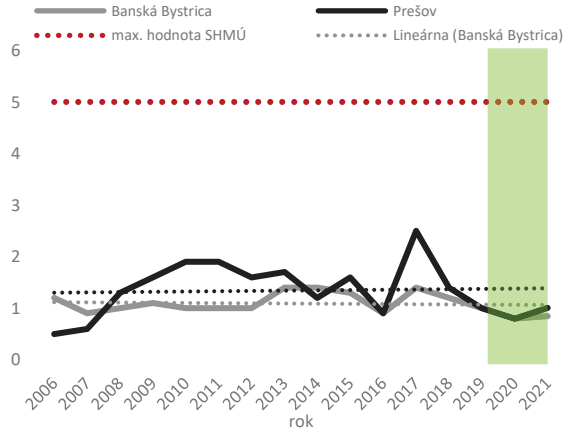
Grafy 6, 7, 8 ukazujú priemerné ročné trendy koncentrácií znečisťujúcich látok PM_{10}, $PM_{2.5}$ a C_6H_6. Študované obdobie je zvýraznené zelenou farbou. Zobrazená červená hranica predstavuje limitnú hodnotu určenú usmernením SHMÚ a modrá WHO. Môžeme vidieť, že koncentrácie PM_{10} sa z dlhodobého hľadiska držia pod limitmi SHMÚ, no WHO výrazne prekračujú, vidíme klesajúci trend. Koncentrácie $PM_{2.5}$ sa z dlhodobého hľadiska držia nad limitmi SHMÚ aj WHO. Koncentrácie benzénu výrazne neprekračujú limity a v posledných rokoch je trend klesajúci. Môžeme vidieť, že v roku 2020, v porovnaní rokov 2006-2021, boli zaznamenané z dlhodobého hľadiska najnižšie hodnoty. Graf 9 ukazuje počet prekročení maximálnych (limitných) hodnôt za 24h. Z dlhodobého hľadiska je trend klesajúci a v skúmanom období bol zaznamenaný najnižší počet prekročení. Pri ostatných skúmaných znečisťujúcich látkach neboli prekročené denné limity.



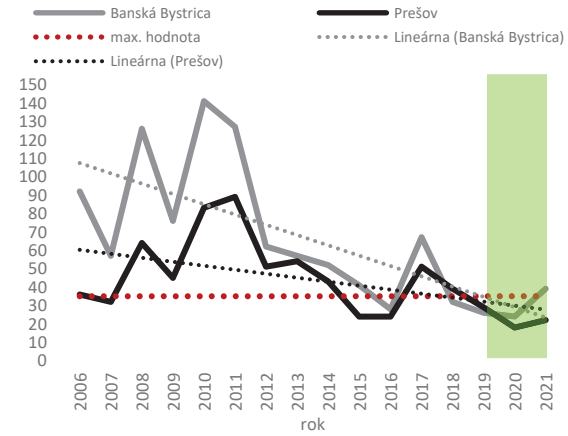
Graf 6: Ročné trendy PM_{10} (µg/m^3) v Prešove a v Banskej Bystrici (2006-2021) [30]



Graf 7: Ročné trendy $PM_{2,5}$ (µg/m^3) v Prešove a v Banskej Bystrici (2006-2021) [30]



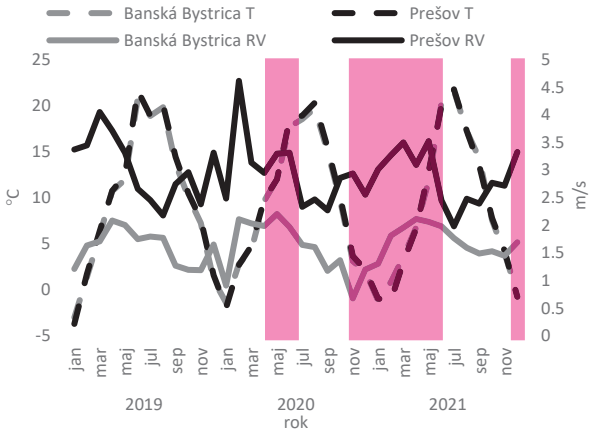
Graf 8: Ročné trendy C_6H_6 (µg/m^3) v Prešove a v Banskej Bystrici (2006-2021) [30]



Graf 9: Počet prekročení limít PM_{10} za 24h v Prešove a v Banskej Bystrici (2006-2021) [30]

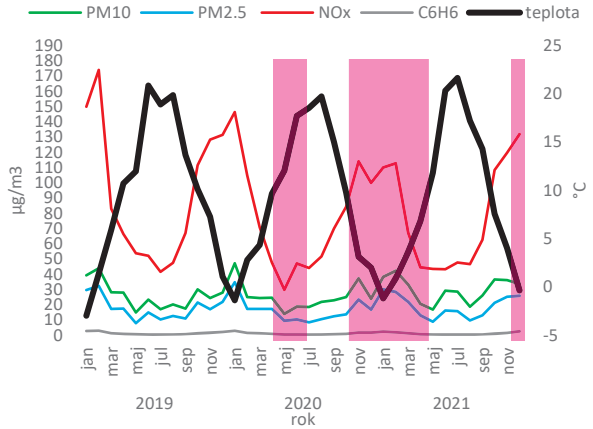
Pre účely rozptylu látok v ovzduší sme porovnávali klimatologické parametre ako sú teplota a rýchlosť

vetra. Vplyvom členitého reliéfu v Banskej Bystrici a menej členitého reliéfu v Prešove je zrejmé, že rýchlosti vetra sa výrazne odlišujú a tým prispievajú k rozptylu znečisťujúcich látok v ovzduší. Graf 10 nám ukazuje vplyv rýchlosti vetra na rozptyl skúmaných znečisťujúcich látok. Nižšie hodnoty rýchlosti vetra 1.5-2 m/s v Banskej Bystrici a vyššie hodnoty rýchlosti vetra 3-4,5 m/s ukazujú výrazný vplyv vetra na rozptyl. Namerané koncentrácie znečisťujúcich látok sa výrazne líšia, najmä v nameraných koncentráciách CO.

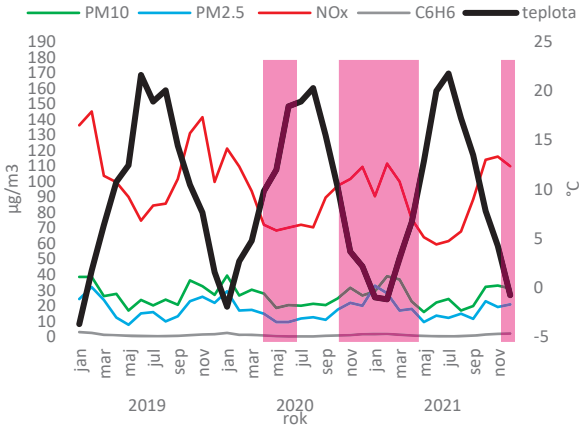


Graf 10: Priemerná rýchlosť vetra a teplota v Prešove a v Banskej Bystrici (2019-2021) [30]

V zimnom období je teplota najnižšia a koncentrácie najvyššie, naopak v letnom období je teplota najvyššia a koncentrácie najnižšie (vykurovanie, viac áut v zime). Vidíme výrazný vplyv teploty na emitovanie týchto látok. Pri vyššej teplote sú znečisťujúce látky vo vyšších nadmorských výškach. To pozorujeme pri všetkých skúmaných znečisťujúcich látkach v oboch mestách (graf 10, 11, 12).

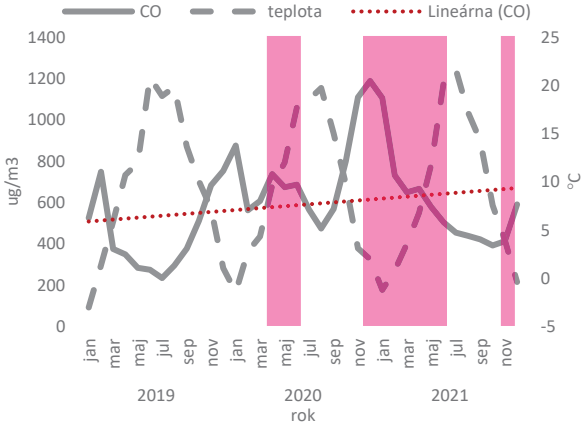


Graf 11: Mesačný trend teploty (°C) a koncentrácií $PM_{2.5}$, PM_{10}, NO_x, C_6H_6 v Banskej Bystrici (2019-2021) [30]

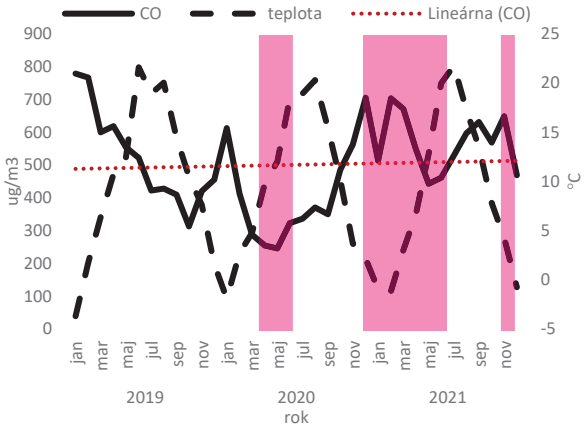


Graf 12: Mesačný trend teploty (°C) a koncentrácií $PM_{2.5}$, PM_{10}, NO_x, C_6H_6 v Prešove (2019-2021) [30]

Pre interpretáciu sme vybrali koncentrácie CO, pre vplyv vykurovania v zimnom období (graf 13, 14).



Graf 13: Mesačný trend teploty (°C) a koncentrácií CO (µg/m³) v Banskej Bystrici (2019-2021) [30]



Graf 14: Mesačný trend teploty (°C) a koncentrácií CO (µg/m³) v Prešove (2019-2021) [30]

Záver

Štatisticky sme vyhodnotili priemerné mesačné koncentrácie znečisťujúcich látok v Banskej Bystrici a v Prešove za roky 2019 až 2021 v ich ročnom mesačnom a ročnom chode. Porovnali sme namerané priemerné mesačné a ročné dáta s rokmi 2006-2018. V Prešove sme zaznamenali klesajúci trend znečisťujúcich látok PM_{10}, $PM_{2.5}$, NO_x a C_6H_6 a stagnujúci prípadne mierne stúpajúci trend pre CO. V Banskej Bystrici sme zaznamenali stúpajúci trend znečisťujúcich látok PM_{10} a CO, stagnujúci pre $PM_{2.5}$ a klesajúci pre NO_x a C_6H_6. Za klesajúci prípadne stagnujúci trend môže Covid-19 a vplyv núdzových stavov v roku 2020 a 2021. Zaznamenali sme nižšie priemerné mesačné hodnoty v čase začiatku pandémie (február 2020) oproti roku 2019. Preukázali sme, dôležitosť skúmania kvality ovzdušia v súvislosti dopadov na zdravie. Zlá kvality ovzdušia môže spôsobovať mnohé závažné ochorenia, preto je potrebné skúmať zdroje a rozsah znečistenia ovzdušia.

Poďakovanie

Týmto by som chcel vyjadriť veľkú vďaku mojej školiteľke Mgr. Lenke Balážovičovej, PhD., za jej cenné rady a nasmerovanie pri písaní tohto článku, pracovníkom zo Slovenského hydrometeorologického ústavu za poskytnutie údajov a materiálov znečisťujúcich látok z meracích staníc v Prešove a v Banskej Bystrici.

Použitá literatúra

[1] SHMÚ, 2022. Dostupné na internete:< https://www.shmu.sk/sk/?page=2658>.

[2] KALÚZ, K., *et al.* 2005. Kvalita ovzdušia. 1. vyd. Nitra: Slovenská poľnohospodárska univerzita, 2005, 88 s. ISBN 80-8069-5326.

[3] BARANČÍKOVÁ, G. *et al.* 2009. Chémia životného prostredia. Prešov : Prešovská Univerzita v Prešove, 2009, 250 s. ISBN 978-80-555-0082-9. Dostupné na internete: < https://www.pulib.sk/web/pdf/web/viewer.html?file=/web/kniznica/elpub/dokument/Fazekasova1/subor/9788055500829.pdf >.

[4] KRÁLIKOVÁ, R., BADIDA, M., BARTKO, M. 2013. *Technológie ochrany životného prostredia – Ochrana ovzdušia*. Košice : Technická Univerzita v Košiciach, 125 s. ISBN 978-80-553-1485-3.

[5] MORENO, O. B., *et al*. 2022. *Impact of air pollution on asthma: A scoping review:* Open respiratory archives, vol. 5 no. 2. ISSN 2659-6636. Dostupné na internete:< https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S2659663622000753#bib0585>.

[6] National Center for Biotechnology Information. 2023. PubChem Compound Summary for CID 281, Carbon monoxide. Dostupné na internete:<https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/compound/Carbon-monoxide>.

[7] LIAO, S. L., *et al*. 2021. *The respiratory impacts of air pollution in children: Global and domestic (Taiwan) situation:* Biomedical Journal, vol. 45 no. 1, s. 88-94. ISSN 2320-2890. Dostupné na internete:< https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S2319417021001761 >.

[8] KHODER, M., I. 2002. *Atmospheric conversion of sulfur dioxide to particulate sulfate and nitrogen dioxide to particulate nitrate and gaseous nitric acid in an urban area:* Chemosphere, vol. 49 no. 6 s. 675-684. ISSN 0045-6535. Dostupné na internete: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0045653502003910?casa_token=zKOxNlpxY3YAAAAA:B1eaQ63vms_OSW9PKh1OcKgdlGSfrm4MLTr7vZHIajsCmM7TdE0vlQi9ZxT7OTk_EWnQlYB9_A>.

[9] ZHANG, J., WEI, Y., FANG, Z. 2019. *Ozone Pollution: A major health hazard worldwide:* Frontiers in immunology, vol. 10 no. 2518. ISSN 1664-3224. Dostupné na internete:< https://www.frontiersin.org/articles/10.3389/fimmu.2019.02518/full>.

[10] National Center for Biotechnology Information. 2023. PubChem Compound Summary for CID 3032552, Nitrogen dioxide. Dostupné na internete:< https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/compound/Nitrogen-dioxide>.

[11] National Center for Biotechnology Information. 2023. PubChem Compound Summary for CID 145068, Nitrogen monoxide. Dostupné na internete:< https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/compound/145068>.

[12] POLČÁK, N., 2009: *Základy klimatológie pre geografov.* Banská Bystrica : Univerzita Mateja Bela v Banskej Bystrici, 116 s. ISBN 978-80-808-3766-2.

[13] Smith K.R., Mehta S., Maeusezahl-Feuz M. In: *Comparative Quantification of Health Risks: Global and Regional Burden of Disease Attributable to Selected Major Risk Factors.* Ezzatti

M., Lopez A.D., Rodgers A., Murray C.J.L., editors. World Health Organization; Geneva: 2004. Indoor air-pollution from solid fuel use; s. 1435–1493.

[14] WHO: Occupational and Environmental Health Team. 2006. *WHO air quality guidelines for particulate matter, ozone, nitrogen dioxide and sulfur dioxide: global update 2005: summary of risky assesment.* Dostupné na internete:< https://apps.who.int/iris/handle/10665/69477>.

[15] FRUMKIN, H., GERBERDING, J. L. 2007. *Toxicological profile for benzene.* Dostupné na internete:< https://www.atsdr.cdc.gov/ToxProfiles/tp3.pdf>.

[16] National Center for Biotechnology Information. 2023. PubChem Compound Summary for CID 241, Benzene. Dostupné na internete:< https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/compound/Benzene>.

[17] Centers for Disease Control and Prevention. 1994. NIOSH, Benzene. Dostupné na internete:< https://www.cdc.gov/niosh/idlh/71432.html>.

[18] BALMES, J. R., FINE, J. M., SHEPPARD, D., 1987. *Symptomatic bronchoconstriction after short-term inhalation of sulfur dioxide:* The American review of respiratory disease, vol. 136 no. 5, s. 1117-1121. ISSN 1535-4970. Dostupné na internete: < https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/3674573/ >.

[19] KAGAWA, J., 1985. *Evaluation of biological significance of nitrogen oxides exposure:* The Tokai journal of experimental and clinical medicine, vol. 10 no. 4, s. 348-353. ISSN 0385-0005. Dostupné na internete: < https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/3836516/ >.

[20] GHIO, A, J., HUANG YUH-CHIN T., 2004. *Exposure to concentrated ambient particles (CAPs): a review:* Inhalation toxicology, vol. 16 no.1, s. 53-59. ISSN 1091-7691. Dostupné na internete: < https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/14744665/ >.

[21] SOUZA, M., PULLABHOTLA, H. K. 2022. *Air pollution from agricultural fires increases hypertension risk*: Journal of Environmental Economics and Management, vol. 115. ISSN 1096-0449. Dostupné na internete:< https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0095069622000791#bfn21>.

[22] BADMANN, D.G., JAFFE, E.R., 1996. *Blood and air pollution: state of knowledge and research needs. Otolaryngology-Head and Neck Surgery.* New York: Otolaryngology-Head and Neck Surgery, vol. 114 no.2, s. 205-208. ISSN 0194-5998. Dostupné na internete: < https://aao-hnsfjournals.onlinelibrary.wiley.com/doi/10.1016/S0194-59989670166-3>.

[23] VERMYLEN, J., NEMMAR, A., NEMERY, B., HOAYELRTS, M.F., 2005. *Ambient air poluution and acute myocardial infarction: Journal of Thrombosis and Haemostasis.* University of Leuven: Journal of Thrombosis and Haemostasis, vol. **3** no. 9, s. 1955-1961. ISSN 1538-7836. Dostupné na internete: < https://onlinelibrary.wiley.com/doi/full/10.1111/j.1538-7836.2005.01471.x >.

[24] ANDRE, L., BOISSIERE, J., REBOUL, C., PERRIER, R., ZALVIDEA, S., OBERT, P., RICHARD, S., CAZORLA, O. 2009. *Carbon monoxide pollution affects cardiac function in normal and failing hearts:* Biophysical Journal, vol. 96 no. 3 ISSN 1542-0086. Dostupné na internete:< https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0006349508035376>.

[25] MOSHAMMER, H., HOEK, G., LUTTMANN-GIBSON, H., NEUBERGER, M. A., ANTOVA, T., GEHRING, U., HRUBÁ, F., PATTENDEN, S., RUDNAI, P., SLACHTOVÁ, H., ZLOTKOWSKA, R., FLETCHER, T. 2005. *Parental Smoking and Lung Function in Children an International Study:* American Journal of Respiratory and Critical Care Medicine, vol. 173 no. 11, s. 1255-1263. ISSN 1535-4970. Dostupné na internete:< https://www.atsjournals.org/doi/full/10.1164/rccm.200510-1552OC>.

[26] EPA. 2022. Dostupné na internete: <https://www.epa.gov/no2-pollution/basic-information-about-no2>.

[27] ATSDR. 2002. Dostupné na internete: <https://www.atsdr.cdc.gov/toxfaqs/tfacts175.pdf>.

[28] HOEK, G., KRISHNAN, R., M., BEELEN, R., PETERS, A., OSTRO, B., BRUNEKREEF, B., KAUFMAN, J., D. 2013. *Long-term air pollution exposure and cardio-respiratory mortality: a review:* Environmental Health, vol. 12 no. 43. ISSN 2773-0492. Dostupné na internete: <https://ehjournal.biomedcentral.com/articles/10.1186/1476-069X-12-43#citeas>.

[29] HORNE, B. J. *et al.* 2018. *Short-Term elevation of fine particulate matter air pollution and acute lower respiratory infection:* American Journal of Respiratory and Critical Care Medicine, vol. 198 no. 6. ISSN 1535-4970. Dostupné na internete:< https://www.atsjournals.org/doi/full/10.1164/rccm.201709-1883OC>.

[30] SHMÚ, 2022

Charakteristika sulfidickej mineralizácie na ložisku Hnúšťa-Mútnik s ohľadom na kritické suroviny Ni a Co

Characteristics of sulphide mineralization at the Hnúšta-Mútnik deposit with regard to the critical raw materials Ni and Co

Martina Pavlikovská[1]
Spoluautor : doc. RNDr. Stanislav Jeleň , CSc.[2]
Školiteľ: doc. RNDr. Stanislav Jeleň , CSc.[2]
[1,2]Katedra geografie a geológie, FPV UMB, Tajovského 40, 974 01 Banská Bystrica
[1]mpavlikovska@student.umb.sk, [2]stanislav.jelen@umb.sk

Abstrakt
Predkladaná práca sa zaoberá štúdiom sulfidickej mineralizácie na ložisku Hnúšťa-Mútnik s ohľadom na kritické suroviny Ni a Co. Podala sa základná makro- a mikroskopická charakteristika sulfidickej mineralizácie na tomto ložisku, vzájomné vzťahy jednotlivých minerálov v agregátoch a tiež variácie ich chemického zloženia. Chemické zloženie hlavných sulfidov chalkopyritu a pyrotitu je štandardné. V kobaltite sa zistila stabilná prítomnosť Ni (0,53-1,62 hm.%), v zložení sfaleritu obsah Fe (6,58-8,85 hm.%) a tiež Cd (1,47-2,27 hm.%). V mineráloch tetraedritovej skupiny varíroval obsah Sb od 9,03 do 21,77 a As od 5,54 do 14,53 hm.%. Analyzovala sa tiež pestrá asociácia Bi-Se-Te minerálov (hessit, tetradymit, laitakarit, pilsenit-tsumoit, bizmutit a rýdzi bizmut). Obsah Co v kobaltite dosahuje maximálne 32,04 hm %.

Kľúčové slová : sulfidy, ložisko, hydrotermálna mineralizácia, veporikum, Hnúšťa-Mútnik

Abstract
The presented work discusses sulphide mineralization at Hnúšťa-Mútnik ore deposit with regard to the industrial metals such as Ni and Co. Macroscopic and microscopic characteristics of sulphide mineralization is the main objective of this work, including the mutual relationships between individual minerals and their chemical composition. The chemical composition of the main sulfides of chalcopyrite and pyrrhotite is standard. A stable presence of Ni (0.53-1.62 wt.%) was found in cobaltite, Fe content (6.58-8.85 wt.%) and Cd (1.47-2.27 wt.%) in the composition of sphalerite. In the minerals of the tetrahedrite group, the content of Sb varied from 9.03 to 21.77 and As from 5.54 to 14.53 wt.%. A varied association of Bi-Se-Te minerals (hessite, tetradymite, laitakarite, pilsenite-tsumoite, bismuthite and pure bismuth) was also identified. Cobalt content in cobaltite, as defined by WDS analyses, reaches a maximum of 32.04 wt%.

Key words: sulfides, deposit, hydrothermal mineralization, veporicum, Hnúšťa-Mútnik

Úvod
Neoddeliteľnou súčasťou každodenného života je od počiatku ľudstva premiestňovanie. Spôsobov mechanického pohybu obyvateľstva je mnoho – od pešej chôdzi, dopravy za pomoci zvierat až po najmodernejšie spôsoby prepravy. Jedným z najrozšírenejších dopravných prostriedkov na svete sa stali automobily. S technickým pokrokom sa objavili viaceré možnosti ich pohonu. Aktuálne je v stredobode záujmu celosvetovo a aj v EÚ elektrický pohon. Prvé auto s takýmto pohonom postavil už v roku 1898 Ferdinand Porsche. V súčasnosti má už takmer každá automobilka vo svojej ponuke aspoň jeden model elektromobilu. Keďže sa čoraz viac preferuje záujem o autá s týmto pohonom, rastie aj potreba výroby dostatočného množstva a kvality ich batérií, ktorých základom sú prvky nikel, kobalt a lítium. To vedie k požiadavkám na zintenzívnenie lokalizácie týchto surovín, ich geologickému prieskumu a v prípade zistenia zásob ich následnej ťažby. Cieľom tejto práce je základná charakteristika sulfidickej mineralizácie na ložisku Hnúšťa-Mútnik s ohľadom na vyššie spomenuté kritické suroviny Co a Ni.

1 Ložisko Mútnik
Ložisko mastenca a magnezitu sa nachádza vo východnej časti Slovenského rudohoria v Kohútskej zóne veporika. Objavené bolo počas výstavby železnice Tisovec – Jesenské v roku 1872. Bolo najstaršie a hospodársky najvýznamnejšie nálezisko mastenca na Slovensku. Ťažil sa tu kvalitný elektrokeramický, farmaceutický a technický mastenec s vysokým obsahom chloritov [1]. V súčasnosti sa na ložisku ťaží magnezit. Na geologickej stavbe ložiska sa podieľajú štyri magnezitové telesá s mastencom. Telesá vystupujú v biotitických, biotiticko-svorových, granitických rulách, pararulách, v granitických a biotiticko-

granitických svoroch, ktoré sú v oblasti magnezitovo-mastencových telies prekremenené alebo premenené na chloriticko-mastencové bridlice s horizontami amfibolitov. Hlavné severné magnezitové teleso sa do hĺbky rozširuje ale mastenca v ňom ubúda. Má tvar mierne dislokovanej šošovky. Južné teleso je najsúvislejšie. Hlavná karbonátová šošovka je tvorená dolomitom, dolomitickým magnezitom a magnezitom s rôznym podielom mastenca. Karbonátové polohy sú prestúpené žilkami a šošovkami mastenca, ktorý často tvorí aj ich lemy. Vrchná časť ložiska je silne tektonicky porušená. Hlavnými minerálmi na ložisku sú mastenec, magnezit a dolomit. Významnými zložkami úžitkovej suroviny sú aj minerály skupiny illitu, Mg chlority, Mg-Fe chlority a kremeň. Pre ložisko je charakteristická sulfidická mineralizácia, ktorá je zastúpená hlavne chalkopyritom a v menšom množstve aj pyritom, pyrotitom, minerálmi tetraedritovej skupiny, kobaltitom, minerálmi Se a Te ai. Supergénne minerály sú reprezentované azuritom, limonitom, chalkozínom, bornitom ai.

2 Metodika

Študovali sme dva typy vzoriek z ložiska Hnúšťa-Mútnik (obr. 1 a 2). Zo vzorky bohatej na chalkopyrit (obr.1) bol vyhotovený leštený výbrus (VHN 1c) a zo vzorky bohatej na minerály tetraedritovej skupiny (obr.2) bol vyhotovený nábrus (HM). Jednotlivé minerálne fázy a ich vzťahy boli študované polarizačným mikroskopom NIKON ECLIPSE LV 100 POL. Chemické zloženie minerálych fáz bolo analyzovné pomocou elektrónového mikroanakyzátora Cameca SX 100 (analyzoval: Mgr. Jiří Sejkora, PhD.; Národné múzeum v Prahe).

Obr.1 Nepravidelné akumulácie chalkopyritu v magnezite. (veľkosť vzorky : 22x16 cm) Foto : [Martina Pavlikovská]

Obr.2 Plochá žilka s minerálmi tetraedritovej skupiny (sivé) spolu s chalkopyritom (žltý) v magnezite. (veľkosť vzorky : 15x8cm) Foto : [Martina Pavlikovská]

3 Charakteristika základných minerálov, vyskytujúcich sa na ložisku Hnúšťa-Mútnik

3.1 Mastenec - $Mg_3Si_4O_{10}(OH)_2$

Mastenec patrí medzi fylosilikáty a radí sa do skupiny ílových minerálov. Medzinárodné označenie tohoto minerálu je talc. Vyskytuje sa najčastejšie vo forme tabuľkovitých, šupinovitých alebo radiálnych agregátov. Celistvý mastenec sa označuje ako steatit. Jeho štiepateľnosť je dokonalá. Šupinky môžu byť ohybné no nie elastické. Mastenec sa dá rezať nožom. Farba mastenca na ložisku Hnúšťa-Mútnik je biela, sivobiela až strieborná. Často sa nachádza v agregátoch s magnezitom. Na ohmat je mastný a jeho lesk je perleťový až mastný. Mastenec je sekundárny minerál, ktorý vzniká alteráciou horečnatých silikátov, ako sú olivín, pyroxény a amfiboly, pričom často tvorí pseudomorfózy po týchto mineráloch. Je typickým minerálom niektorých nízkometamorfovaných hornín [2].

3.2 Magnezit – $CaCO_3$

Magnezit (obr.3) patrí do skupiny uhličitanov. Zvyčajne sa vyskytuje v podobe kryptokryštalických, celistvých zemitých más.

Obr.3 Magnezit (biely) so žilkou chalkopyritu (zlatožltý), Hnúšťa-Mútnik (veľkosť vzorky 9x10 cm). Foto : [Martina Pavlikovská]

Jeho štiepateľnosť je dokonalá. Má sklený lesk a bielu, sivú, žltú až hnedú farbu (obr. 3). Na ložisku Hnúšťa sa vyskytuje v podobe strednokryštalických agregátov spolu s talcom. Často sa v ňom nachádzajú žilky a akumulácie chalkopyritu, pyritu, pyrotitu a iných minerálov.

3.3 Chalkopyrit ($CuFeS_2$)

Je na ložisku z rudných minerálov najrozšírenejší. Má kovový lesk, mosadznožltú až zlatožltú farbu, ktorá môže na vzduchu zachádzať do pestrých farieb. (obr.3) Jeho vryp je zelenkastočierny. Vytvára nepravidelné hniezda, impregnácie a žilky. Pri pozorovaní pod mikroskopom má sýtožltú farbu a relatívne vysokú odraznosť (obr. 5, 6). Dvojodraz nie je pozorovateľný. V skrížených nikoloch je slabo anizotropný s farebnými efektami od sivej, modro-sivej do žlto-zelenej farby.

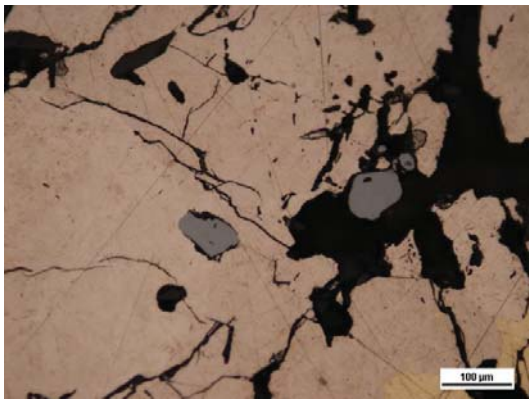
Tab.1 Chemické zloženie chalkopyritu (v hm. %) a prepočet na vzorcové koeficienty

	Ccp	Ccp	Ccp	Ccp
Fe	29,4	29,26	29,3	28,89
Cu	34,14	33,88	34,14	33,93
Zn	0,01	0,00	0,01	0,21
Pb	0,07	0,09	0,11	0,04
Au	0,05	0,03	0,00	0,03
S	34,58	35,22	34,41	34,58
Suma	98,25	98,48	97,97	97,68
prepočítané na 2 S				
Fe	0,98	0,95	0,98	0,96
Cu	1,00	0,97	1,00	0,99
Zn	0,00	0,00	0,00	0,01
Pb	0,00	0,00	0,00	0,00
Au	0,00	0,00	0,00	0,00
S	2,00	2,00	2,00	2,00

Chemické zloženie chalkopyritu dokumentuje tab. 1. dobre zodpovedá chemickému vzorcu ideálneho chalkopyritu. Katiónová pozícia je plne obsadená Fe (do 29,4 hm.%) a Cu (do 34,14 hm.%). V chemickom zložení minerálu sa zistil iba nízky obsah Pb (do 0.11 hm. %). Jeho chemické zloženie možno vyjadriť priemerným empirickým vzorcom $Cu_{0,99}\,Fe_{0,97}\,S_{2,00}$

3.4 Sfalerit (ZnS)

Farba sfaleritu môže byť žltá, čierna či hnedá. Jeho farba závisí od obsahu Fe. Jeho vryp je biely, žltý až hnedý a má nekovový, niekedy diamantový lesk. Pri pozorovaní pod mikroskopom (obr.5) boli pozorované zrnité agregáty, xneomorfné zrná. Má sivú až tmavosivú farbu s hnedým alebo modrým nádychom. Je izotropný. Často boli pozorované vnútorné reflexy: v sfalerite s nízkym obsahom Fe biele, žltkasté, vo sfalerite s vyšším obsahom Fe (tmavohnedé) [3]. Vytvára nepravidelné žilky a agregáty veľkosti do 0,1 mm v chalkopyrite a pyrotite [4].



Obr.5 Zrná sfaleritu (sivé) v pyrotite (svetlo hnedé) a kremeni (čierny). Hnúšťa-Mútnik, Foto : [Martina Pavlikovská]

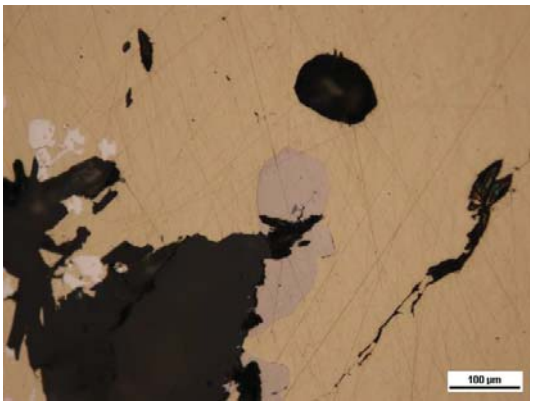
Tab.3 Chemické zloženie sfaleritu (v hm. %) a prepočet na vzorcové koeficienty

	Sp	Sp	Sp	Sp
Zn	56,43	55,01	55,43	55,58
Mn	0,00	0,00	0,00	0,01
Fe	6,58	8,85	7,88	7,73
Cu	0,89	0,57	1,13	0,01
Ag	0,00	0,01	0,03	0,01
Cd	2,27	1,47	1,58	1,78
Pb	0,00	0,11	0,07	0,01
Bi	0,00	0,00	0,00	0,00
Se	0,00	0,00	0,02	0,02
S	32,84	32,98	33,02	32,95
Suma				
prepočítané na 2 atómy				
Zn	0,85	0,82	0,83	0,84
Mn	0,00	0,00	0,00	0,00
Fe	0,12	0,15	0,14	0,14
Cu	0,01	0,01	0,02	0,00
Ag	0,00	0,00	0,00	0,00
Cd	0,02	0,01	0,01	0,02
Pb	0,00	0,00	0,00	0,00
Bi	0,00	0,00	0,00	0,00
Se	0,00	0,00	0,00	0,00
S	1,00	1,00	1,00	1,01

WDS analýzy sfaleritu ilustrované tab.3 zistili zvýšený obsah Fe (do 8,85 hm%), Cd (do 2,27 hm%) a Cu (do 1,13 hm%). Jeho chemické zloženie možno vyjadriť priemerným empirickým vzorcom $(Zn_{0,83}Fe_{0,14}Cd_{0,02}\,Cu_{0,01})_{0,99}\,S_{0,99}\,S_{1,00}$.

3.5 Pyrotit ($Fe_{(1-x)}S$), x = 0 – 0,17

Po chalkopyrite je pyrotit druhým najrozšírenejším sulfidickým minerálom na tomto ložisku. Má kovový lesk, hnedastobronzovú farbu a čierny vryp. Je magnetický.



Obr.4 Zrno pyrotitu (svetlo hnedé) v chalkopyrite (žltý) na kontakte s karbonátom (tmavosivý) a kremeňom (čierny). Hnúšťa-Mútnik, Foto : [Martina Pavlikovská]

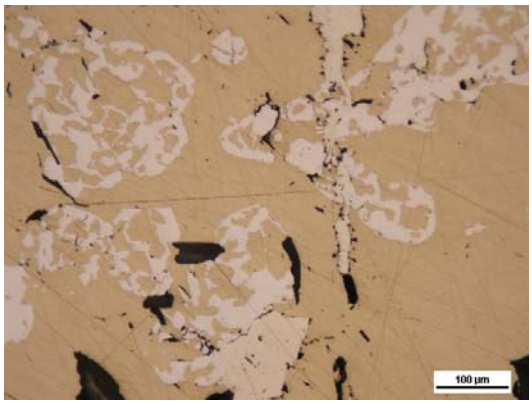
Tab.2 Chemické zloženie pyrotitu (v hm. %) a prepočet na vzorcové koeficienty

	Pyh	Pyh	Pyh	Pyh
Fe	58,31	58,14	57,72	57,24
Ni	0,01	0,01	0,01	0,00
Co	0,09	0,46	0,42	0,41
Cu	0,20	0,04	0,22	0,08
Zn	0,04	0,02	0,00	0,02
Pb	0,11	0,09	0,06	0,07
Tl	0,00	0,05	0,02	0,05
Ag	0,03	0,04	0,01	0,06
Au	0,10	0,08	0,06	0,15
Se	0,03	0,08	0,04	0,02
S	39,45	39,41	39,52	39,46
Suma	98,38	98,44	98,12	97,76
prepočítané na 1 S				
Fe	0,85	0,85	0,84	0,83
Ni	0,00	0,00	0,00	0,00
Co	0,00	0,01	0,01	0,01
Cu	0,00	0,00	0,00	0,00
Zn	0,00	0,00	0,00	0,00
Pb	0,00	0,00	0,00	0,00
Tl	0,00	0,00	0,00	0,00
Ag	0,00	0,00	0,00	0,00
Au	0,00	0,00	0,00	0,00
Se	0,00	0,00	0,00	0,00
S	1,00	1,00	1,00	1,00

Pri pozorovaní pod mikroskopom v odrazenom svetle (obr.4) je možné pozorovať krémovú farbu s ružovým nádychom. Má zreteľný dvojodraz, pri ktorom sa mení farba od krémovo hnedej až po ružovkastohnedú. V skrížených nikoloch je silne anizotropný s farebnými efektami v žltkasto-sivých, zelených, sivých a červenohnedých odtieňoch. Vytvára izometrické zrná, ktoré sú obaľované v chalkopyritom, s ktorým aj lokálne prerastá. Je zatláčaný sfaleritom a teluridmi [4]. V jeho chemickom zložení sa stanovil nízky obsah Co do 0,45 hm. %, Cu do 0.22 hm. %.

3.6 Kobaltit (CoAsS)

Má sivobielu farbu s ružovkastým nádychom, sivočierny vryp a kovový lesk. Pri pozorovaní pod mikroskopom (obr.6) môžeme pozorovať jeho bielu farbu s ružovým, fialovým alebo hnedým odtieňom. Ak je v kontakte s arzenopyritom má ružovkastý nádych. V zrastoch s pyritom stráca žltkastý nádych a oproti chalkopyritu je zreteľne svetlejší. Ak sa nachádza v nerudných mineráloch, ako napr. kremeň či karbonáty, má bielu farbu.



Obr.6 Zrná kobaltitu (biele s ružovkastým nádychom) uzavreté v chalkopyrite (žltý). Na snímke je viditeľné aj zrno pyritu (svetlo žlté). Hnúšťa-Mútnik. Foto : [Martina Pavlikovská]

Tab.4 Chemické zloženie kobaltitu (v hm. %) a prepočet na vzorcové koeficienty

	Cbt	Cbt	Cbt	prepočítane na 3 atómy		
Pb	0,08	0,02	0,03	0,00	0,00	0,00
Sn	0,04	0,04	0,05	0,00	0,00	0,00
Cu	0,86	0,90	0,83	0,02	0,02	0,02
Fe	2,47	2,48	2,11	0,07	0,07	0,06
Co	31,75	32,04	31,20	0,88	0,89	0,87
Ni	1,13	0,53	1,62	0,03	0,01	0,05
Hg	0,00	0,00	0,06	0,00	0,00	0,00
Bi	0,00	0,00	0,07	0,00	0,00	0,00
Au	0,01	0,02	0,04	0,00	0,00	0,00
Ca	0,07	0,09	0,11	0,00	0,00	0,00
As	44,11	43,51	43,77	0,96	0,95	0,96
Tl	0,10	0,04	0,00	0,00	0,00	0,00
In	0,07	0,05	0,06	0,00	0,00	0,00
S	20,15	20,72	20,29	1,03	1,05	1,04
Suma	100,84	100,44	100,24			

Bežne vytvára idiomorfné, pseudokubické kryštály. Tvorí aj kostrovité kryštály a alotriomorfné zrnité agregáty [3]. V odrazenom svetle je charakteristický zle pozorovateľným dvojodrazom a anizotropiou. Je typický vysokou odraznosťou.

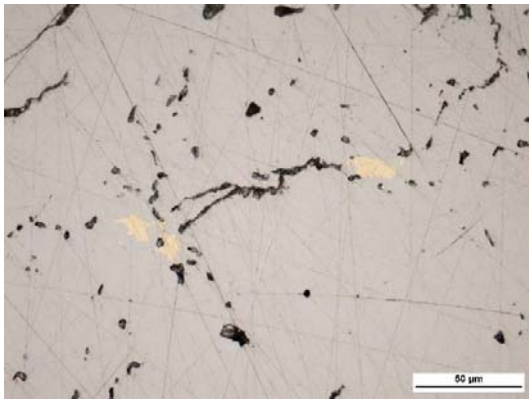
WDS analýzy kobaltitu ilustrované tab.4 zistili mierne zvýšený obsah Fe (do 2,48 hm%), Ni (do 1,13 hm%) a Cu (do 0,90 hm%). Jeho chemické zloženie možno vyjadriť priemerným empirickým vzorcom $(Co_{0,88}Fe_{0,07}Ni_{0,03}Cu_{0,02})_{1,00}\ As_{0,95}\ S_{1,04}$

3.7 Tetraedrit ($Cu_{12}Sb_4S_{13}$) Tennantit ($Cu_{12}\ As_4\ S_{13}$)

Tetraedrit a tennantit tvoria kompletný tuhý roztok. Ich optické, kryštalografické aj fyzikálne vlastnosti sú veľmi podobné a voľným okom nerozoznateľné. Majú kovový lesk, sivú farbu a čierny, hnedý až tmavo červený vryp. Je nepriehľadný. Oba kryštalizujú v kubickej sústave. Pri pozorovaní v mikroskope sú izotropné. Majú svetlosivú farbu, ktorá môže mať zelenkastý až hnedastý nádych.

V študovaných vzorkách (Obr.1,7) boli z tetraedritovej skupiny identifikované tetraedrit-Zn a tetraedrit-Fe v nábruse HM a z tennantitovej skupiny, tennantit-Fe. vo výbruse VHN-1C. V hornine tvoria tenké žilky.

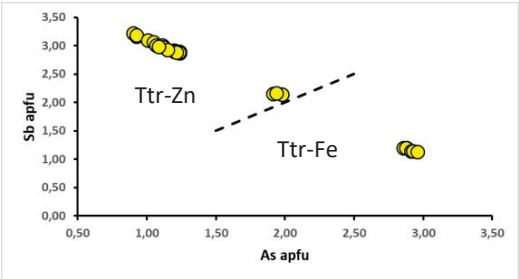
Obr.7 Vzorka magnezitu (biely) z ložiska Hnúšťa-Mútnik s pozdĺžne rozštiepenou žilkou minerálov tetraedrit-tennantitovej skupiny (sivý) a nepravidelnými agregátmi chalkopyritu (zlatožltý). Veľkosť vzorky (14,5x8 cm) Foto : [Martina Pavlikovská]



Obr.8 Zrná chalkopyritu (žlté) uzavreté v tetraedrite (sivý) so žilkami karbonátov (čierne). Hnúšťa-Mútnik. Foto : [Martina Pavlikovská]

Chemické analýzy minerálov teraedritovej skupiny preukázali teraedrit Fe, tetraedrit- Zn a tennantit-Fe. Tetraedrit-Fe má na katiónovej pozícii dominantné Fe (do 5,08 hm%) so zvýšeným obsahom Zn (do 0,94 hm%). Jeho chemické zloženie možno vyjadriť priemerným empirickým vzorcom $(Cu_{5.99}Ag_{0.01})_6(Cu_4Fe_{1.45}Zn_{0.23}Cu_{0.19}Mn_{0.01}Pb_{0.01})_{5.88}(Sb_{2.14}As_{1.98})_{4.12}S_{12}S_{0.99}$. Ďalej bol identifikovaný tetraedrit-Zn s obsahom Zn do 4,58 hm% a zvýšeným obsahom Fe (do 2,75 hm%). Jeho chemické zloženie možno vyjadriť priemerným empirickým vzorcom $Cu_6(Cu_4Zd_{1.18}Fe_{0.77}Cu_{0.1})_{2.05}(Sb_{3.19}As_{0.93})_{4.12}S_{12}S_{0.83}$

Posledný minerál tetraedritovej skupiny, ktorý je analyzovaný je tennantit-Fe, ktorého chemické zloženie možno vyjadriť priemerným empirickým vzorcom $Cu_6(Cu_4Fe_{1.67}Zn_{0.18}Cu_{0.05})_{5.91}(As_{2.96}Sb_{1.13})_{4.09}S_{12}S$



Graf.1 Graf ilustruje závislosť Sb a As v minerálach tetraedrit-tennantitovej skupiny. Zdroj : [Martina Pavlikovská]

Tab. 5. Reprezentatívne analýzy chemického zloženia tetraedritu-Fe, tetraedritu-Zn a tennantitu-Fe (v hm. %) a prepočet na vzorcové koeficienty

	Ttr-Zn	Ttr-Fe	Tnt-Fe
Ag	0,00	0,07	0,03
Cu	39,39	40,64	41,85
Mn	0,00	0,03	0,01
Fe	2,75	5,08	6,11
Zn	4,58	0,94	0,76
Hg	0,00	0,00	0,03
Pb	0,05	0,09	0,02
As	5,54	9,31	14,53
Sb	21,77	16,39	9,03
Te	0,00	0,00	0,00
S	25,52	26,17	27,32
Se	0,00	0,00	0,00
Suma	99,60	98,72	99,69
prepočítané na 29 atómov			
Ag	0,00	0,01	0,00
Cu_{Apoz}	6,00	5,99	6,00
ΣApoz.	6,00	6,00	6,00
ΣBpos (Cu)	4,00	4,00	4,00
Cu_{Cpoz}	0,05	0,19	0,05
Mn	0,00	0,01	0,00
Fe	0,80	1,45	1,67
Zn	1,14	0,23	0,18
Hg	0,00	0,00	0,00
Pb	0,00	0,01	0,00
ΣCpoz	1,99	1,88	1,91
As	1,20	1,98	2,96
Sb	2,90	2,14	1,13
Te	0,00	0,00	0,00
ΣDpoz	4,10	4,12	4,09
S_{ypoz}	12,00	12,00	12,00
Se	0,00	0,00	0,00
ΣYpoz	12,00	12,00	12,00
S_{zpoz}	0,91	0,99	1,00

Záver

Hlavným cieľom práce bola komplexná mineralogická charakteristika a sledovanie variácií chemického zloženia sulfidických minerálov chalkopyritu, pyrotitu, kobaltitu, sfaleritu a minerálov tetraedrit-tenanntitovej skupiny. Kobalt v študovaných vzorkách sa vyskytoval vo viacerých mineráloch no najväčšie zastúpenie mal v kobaltite (do 32,04 hm. %). Obsah Ni v kobaltite dosahoval 1,62 hm.%. Zaujímavé sú tiež Bi-Se-Te minerály avšak tie sa na ložisku vyskytujú len v zanedbateľných množstvách. Ťažká frakcia sulfidov je ľahko extrahovateľná gravitačnou metódou do koncentrátu. Poloprevádzkový pokus úspešne vykonala na ložisku spoločnosť Aqua Sym spolu s GENES a.s.

Poďakovanie

Príspevok vznikol s podporou grantov APVV-19-0065, VEGA 1/0563/22 a KEGA 033UMB-4/2021. Za vyhotovenie nábrusov a výbrusov ďakujeme B. Ramaj (Ústav vied o Zemi SAV, Banská Bystrica) a za pomoc pri analytických prácach ďakujeme Mgr. Jiřímu Sejkoraovi, PhD.; Národné múzeum v Prahe.

Použitá literatúra :

[1] Koděra, M. et al. 1986: Topografická mineralógia Slovenska 1. VEDA, vyd. SAV, Bratislava, 577 s.

[2] KLEIN, C. : Mineralógia. Bratislava: Oikos-lumos, 2006. 348 s. ISBN : 80-968535-5-4

[3] Jeleň, S - Ferenc, Š. : Základy mikroskopie rudných minerálov. Banská Bystrica: Belianum, 2021. 255 s. ISBN : 978-80-557-1934-4

[4] Maťo, Ľ - Ferenc, Š. : Hodnotenie geologicko-surovinového potenciálu Slovenské rudohorie-západ a možnosti jeho využitia pre rozvoj regiónu. Manuskript, archív ŠGÚDŠ, Bratislava, 2005

Sekcia

Informatika

Štatistická analýza rozmerných množín grafov

Statistical analysis of sizable graph datasets

Bianka Modrovičová[1]
Školiteľ: Adam Dudáš[2]
[1, 2] Katedra informatiky, FPV UMB, Tajovského 40, 974 01 Banská Bystrica
[1]bianka.modrovicova@student.umb.sk, [2]adudas@umb.sk

Abstrakt

Cieľom prezentovanej práce je vytvoriť štatistickú analýzu rozmerných množín nami zozbieraných grafov. V rámci prípravy tejto práce sme vytvorili štyri datasety po 500 grafov líšiace sa počtom vrcholov s mnohými vlastnosťami, ktoré sme neskôr použili na štatistickú analýzu celej množiny. Práca je rozdelená do dvoch častí.

V prvej časti práce sme sa venovali metódam získavania grafov, konkrétne odkiaľ sme čerpali a akými nástrojmi sme odmerali potrebné vlastnosti grafov. Ďalej sme podrobne opísali a vysvetlili každú vlastnosť a v neposlednom rade sme vykonali deskriptívnu analýzu týchto grafov.

Druhá časť práce bola zameraná na štatistickú analýzu. Na nami vytvorených množinách grafov sme odmerali dva konvenčné typy korelácií – Pearson a Spearman rank korelácie - výsledky týchto korelácii graficky prezentujeme pre lepšiu viditeľnosť závislostí jednotlivých vlastností.

Kľúčové slová: analýza dát, štatistická analýza, deskriptívna analýza, grafy, korelácie.

Abstract

The objective of the presented work is to create a statistical analysis of sizable author graph datasets. As part of the preparation of this work, we created 4 datasets of 500 graphs each with varying numbers of vertices and many properties, which we later used for the statistical analysis of the entire set. The work is divided into two parts.In the first part of the work, we focused on methods of obtaining graphs, specifically where we drew them from and the tools we used to obtain the necessary properties of the graphs. We then described and explained each property in detail and, last but not least, conducted a descriptive analysis of these graphs.The second part of the work was focused on statistical analysis. Based on the created set of graphs, we measured two conventional types of correlations - Pearson and Spearman rank correlation - we present these correlations graphically for better visibility of the dependencies of individual properties.

Key Words: data analysis, statistical analysis, descriptive analysis, graphs, correlations.

Úvod

Štatistika je vedným odvetvím, ktoré zahŕňa získavanie údajov, interpretáciu údajov a validáciu údajov. Štatistická analýza údajov je prístupom vykonávania rôznych štatistických operácií, tzv. dôkladného kvantitatívneho výskumu, ktorý sa pokúša kvantifikovať údaje a využíva niektoré druhy štatistickej analýzy. Kvantitatívne údaje tu zvyčajne zahŕňajú popisné údaje, ako sú údaje z prieskumov a pozorovacie údaje. Štatistickú analýzu vieme využiť na lepšie pochopenie dát alebo na získanie hlbšieho významu vzťahov medzi dátami.

Grafové problémy sa v rámci informatiky často vyskytujú ako súčasť komplexných úloh, napríklad pri rozvrhovaní úloh v systéme, alokácii registrov pri prekladaní kódu alebo pri problémoch hľadania zhody vo vzoroch. V databázovom návrhu môžu grafy pomôcť s vizualizáciou štruktúry databázy a vzťahov medzi jednotlivými tabuľkami.

Veľa z problémov merania vlastností grafov je NP-úplná úloha, pričom grafy sú používané ako reprezentácia mnohých logistických a kombinatorických problémov.

V tejto práci sa budeme venovať metódam získavania grafov, určovania hodnôt vlastností grafov a následnému opisu vlastností. Ďalej sa budeme zaoberať štatistickou analýzou našich vytvorených datasetov, Spearman rank a Pearson koreláciou vlastností, spoločne s ich grafickým zobrazením a následnou analýzou silných korelácii a antikorelácii.

Prezentované grafové dátové množiny boli vytvorené za účelom využitia metód strojového učenia sa v kontexte grafových dát. Konkrétne sa zaoberáme úlohou binárnej klasifikácie grafov na triedy hranovo regulárne 3-ofarbiteľných grafov a hranovo regulárne 3-neofarbiteľných grafov.

Výsledkom našej práce je zostavenie deskriptívnej a štatistickej analýzy dát na rozmernej množine grafov s ďalším cieľom prediktívnej analýzy vo zvolenom kontexte.

1 Grafové datasety vhodné pre analýzu údajov

Na vykonanie analýzy sme vytvorili vlastné datasety grafov, v ktorých sa nachádzajú vlastnosti potrebné pre úkony asociované s deskriptívnou a štatistickou analýzou. Graf *G* je opísaný ako pár množín *V* (vrcholy) a *E* (hrany), kde

$$G = (V, E), E \subseteq V^2 \qquad (1)\ [1]$$

V našej práci ide o dva druhy grafov – hranovo regulárne 3-neofarbiteľné kubické grafy (snarky) a hranovo štandardné 3-ofarbiteľné kubické grafy. Tieto grafy sme čerpali z portálu House of Graphs [2]. Pri niektorých podmnožinách údajov sme vedeli vlastnosti grafov získať priamo zo stránky avšak na ostatné sme používali nástroje graphFilter [3] a softvér SageMath [4]. Pomocou týchto webových stránok a nástrojov sme získali čo najviac vlastností daných grafov. Ide konkrétne o tieto vlastnosti:

- Graf *G* je **bez pazúrový** (z angl. claw-free) v prípade, že neobsahuje $K_{1,3}$ (nazývaný aj pazúr) ako indukovaný podgraf.
- Graf *G* je **bipartitný** (z angl. bipartite) v prípade, že môžeme rozdeliť množinu vrcholov grafu *V (G)* na dve podmnožiny *A* a *B* takým spôsobom, že každá hrana *G* spája jednu alebo viac vrcholov z *A* s jedným alebo viacerými vrcholmi z *B.*
- **Číslo nezávislosti** (z angl. independence) grafu *G* je číslo nezávislej množiny vrcholov v *G*. Vrcholy sú nezávislé keď medzi nimi nie je žiadna hrana.
- **Číslo párovania** (z angl. matching number) grafu *G* je počet hrán, ktoré nemajú množinu spoločných vrcholov.
- **Dominantné číslo** (z angl. domination) grafu *G* s hodnotou *n* je taká najmenšia množina vrcholov, že každý vrchol je buď v množine alebo je susedom vrcholu v množine.
- **Druhá najväčšia vlastná hodnota** (z angl. second largest eigenvalue) grafu *G* je druhá najväčšia vlastná hodnota matice susednosti *G*.
- Graf *G* je **eulerovský** (z angl. eulerian) v prípade, že obsahuje eulerovský cyklus (cyklus grafu, ktorý používa každú hranu *G* práve raz).
- **Hustota** (z angl. density) grafu *G* je pomer medzi prítomnými hranami v *G* a maximálny počet hrán, ktoré môže *G* obsahovať.
- **Chromatické číslo** (z angl. chromatic number) grafu *G* je minimálny počet farieb potrebných na správne ofarbenie vrcholov *G.*
- **Chromatický index** (z angl. chromatic number) grafu *G* je minimálny počet farieb potrebných na správne ofarbenie hrán grafu *G*. [1]
- **Klikové číslo** (z angl. clique number) je veľkosť najväčšieho kompletného grafu, ktorý môže byť vytvorený zo vstupného grafu *G.*
- **Laplaciánská najväčšia vlastná hodnota** (z angl. Laplacian largest eigenvalue) je najväčšia vlastná hodnota Laplaciánskej matice *L* grafu *G*, pričom $L = D - A$, kde *A* je matica susednosti *G* a *D* je diagonálna matica obsahujúca stupeň vrcholu *i* na každej pozícii $D_{i,i}$.
- **Laplaciánske spektrum** (z angl. laplacian spectrum) alebo **algebraická konektivita** (z angl. algebraic connectivity) grafu *G* je druhá najmenšia vlastná hodnota Laplaciovej matice L pre graf *G*.
- **Maximálny stupeň** (z angl. maximum degree) grafu *G* je maximálna hodnota spomedzi všetkých stupňov jeho vrcholov.
- **Minimálny stupeň** (z angl. minimum degree) grafu *G* je minimálna hodnota spomedzi všetkých stupňov jeho vrcholov.
- **Najmenšia vlastná hodnota** (z angl. smallest eigenvalue) grafu *G* je najmenšia vlastná hodnota matice susednosti *G*.
- **Obvod** (z angl. girth) grafu *G* je dĺžka najkratšieho cyklu (v prípade, že v grafe cyklus je) v *G.*
- **Počet hrán** (z angl. number of edges) grafu *G* je počet spojení medzi vrcholmi v *G.*
- **Počet komponentov** (z angl. number of components) grafu *G* je počet spojených podgrafov obsiahnutých v grafe *G.*
- **Počet trojuholníkov** (z angl. number of triangles) grafu *G* je počet trojuholníkov (3 vrcholy, 3 hrany) podgrafu *G.*
- **Počet vrcholov** (z angl. number of vertices) grafu *G* je počet bodov alebo uzlov grafu G.
- **Polomer** (z angl. radius) grafu *G* je minimálna excentricita grafu ľubovoľného vrcholu grafu v grafe. Excentricita vrcholu grafu je maximálny počet hrán medzi vrcholom a akýmkoľvek iným vrcholom *G.*
- **Pravidelnosť** (z angl. regular) grafu *G* je vlastnosť grafu, ktorá je pravdivá v prípade, že sú všetky vrcholy grafu rovnakého stupňa.

- **Priemer** (z angl. diameter) grafu *G* je dĺžka najdlhšej cesty v grafe *G*.
- **Priemerný stupeň** (z angl. average degree) grafu *G* je aritmetický priemer stupňov jeho vrcholov.
- Graf *G* je **rovinný** (z angl. planar) vtedy, keď ho môžeme nakresliť na rovine bez akéhokoľvek prechodu hrán.
- Graf *G* je **spojený** (z angl. connected) v prípade, že každá dvojica vrcholov *G* je spojená cestou.
- **Veľkosť skupiny** (z angl. group size) grafu *G* je veľkosť triedy automorfizmu pre *G*.
- **Vrcholová konektivita** (z angl. vertex connectivity) grafu *G* je najmenší počet vrcholov, ktorých odstránenie spôsobí rozrezanie *G* na niekoľko komponentov.

Z týchto vlastností sme vytvorili datasety snarkov a štandardných kubických grafov pre 30, 32, 34 a 36 vrcholové grafy. Každý dataset obsahuje 500 grafov v rovnomernej distribúcii – 250 snarkov a 250 štandardných kubických grafov.

1.1 Centralita a variabilita vytvorených grafových datasetov

Pre každý dataset sme odmerali nasledovné štatistické vlastnosti: minimum, maximum, vážený priemer a štandardnú odchýlku. Hodnoty, ktoré sme na daných datasetoch odmerali pomocou špecializovaných softvérových nástrojov [5, 6, 7] sú uvedené v tabuľkách 1 až 4.

Pre 30 vrcholový dataset sme odmerali hodnoty, ktoré môžeme vidieť v Tabuľke 1.

Tabuľka 1 - 30 vrcholový dataset

	Min	Max	Priemer	Štand. odchýlka
Average degree	3	3	3	0
Bipartite	0	0	0	0
Claw-free	0	0	0	0
Clique number	2	3	2,188	0,39110346
Connected	1	1	1	0
Density	0,103	0,1034	0,103255	0,00022313
Diameter	4	10	6,41	1,31961462
Edge connectivity	1	3	2,722	0,48702195
Eulerian	0	0	0	0
Matching number	14	15	14,982	0,13308427
Maximum degree	3	3	3	0
Minimum degree	3	3	3	0
Number of components	1	1	1	0
Number of edges	45	45	45	0
Number of triangles	0	0	0	0
Number of vertices	30	30	30	0
Planar	0	0	0	0
Radius	3	8	4,748	1,0894355
Regular	1	1	1	0
Vertex connectivity	2	3	2,998	0,04472136
Largest L-eigenvalue	5,361	6	5,627451	0,13618063
AS Second largest Eigenvalue	2,1814	2.961	2,648963	0,09364600
AS smallest Eigenvalue	-3	-2	-2,625711	0,13886491
Laplacian spectrum	0,043	0,8185	0,350540	0,22822436
Chromatic number	3	3	3	0
Girth	3	7	4,74	1,3886168
Domination number	8	10	8,474	0,50381709
Independence number	10	15	12,764	0,55940134
Chromatic index	3	4	3,5	0,50050075

Zdroj: Autor

Štatistické hodnoty opisujúce množinu 32 vrcholových grafov uvádzame v Tabuľke 2.

Tabuľka 2 - 32 vrcholový dataset

	Min	Max	Priemer	Štand. odchýlka
Average degree	3	3	3	0
Bipartite	0	1	0,001996	0,044677
Claw-free	0	0	0	0
Clique number	2	3	2,025948	0,15913940
Connected	1	1	1	0
Density	0,0967	0,0970	0,096942	0,0001
Diameter	5	11	6,656686	1,0304854
Edge connectivity	1	3	2,846307	0,42700273
Eulerian	0	0	0	0
Matching number	15	16	15,97405	0,15913940
Maximum degree	3	3	3	0
Minimum degree	3	3	3	0
Number of components	1	1	1	0

Number of edges	48	48	48	0
Number of triangles	0	0	0	0
Number of vertices	32	32	32	0
Planar	0	0	0	0
Radius	4	7	4,922155	0,497924
Regular	1	1	1	0
Vertex connectivity	1	3	2,846307	0,42700273
Largest L-eigenvalue	5,478	6	5,729567	0,10807330
AS Second largest Eigenvalue	2,236	2,961	2,753832	0,09364600
AS smallest Eigenvalue	-3	-2,478	-2,729572	0,10833799
Laplacian spectrum	0,039	0,764	0,245234	0,09407993
Chromatic number	2	4	3	0,06324555
Girth	3	6	4,279441	0,507697
Group size	1	4	1,079840	0,3655308
Domination number	8	10	9,007984	0,16714104
Independence number	13	16	13,84431	0,43325809
Chromatic index	3	4	3,497006	0,50049077

Zdroj: Autor

Pre 34 vrcholový dataset sme odmerali hodnoty, ktoré môžeme vidieť v Tabuľke 3.

Tabuľka 3 - 34 vrcholový dataset

	Min	Max	Priemer	Štand. odchýlka
Average degree	3	3	3	0
Bipartite	0	0	0	0
Claw-free	0	0	0	0
Clique number	2	2	2	0
Connected	1	1	1	0
Density	0,0909	0,091	0,090954	4,5044E-05
Diameter	4	11	6,315369	1,5544592
Edge connectivity	2	4	0,488780	0,48878030
Eulerian	0	0	0	0
Matching number	17	17	17	0
Maximum degree	3	3	3	0
Minimum degree	3	3	3	0
Number of components	1	1	1	0
Number of edges	51	51	51	0
Number of triangles	0	0	0	0
Number of vertices	34	34	34	0
Planar	0	1	0,001996	0,044677
Radius	4	8	4,710578	0,813676
Regular	1	1	1	0
Vertex connectivity	2	3	2,620758	0,48568325
Largest L-eigenvalue	5,416	5,97	5,663641	0,07853127
AS Second largest Eigenvalue	2,2000	2,946	2,610864	0,25075251
AS smallest Eigenvalue	-2,858	-2,416	-2,662885	0,07774467
Laplacian spectrum	0,0540	0,7999	0,387933	0,25098887
Chromatic number	3	3	3	0
Girth	4	7	5,776447	1,271976
Group size	1	384	14,64071	28,8197616
Domination number	9	10	9,666666	0,47187569
Independence number	14	16	14,49700	0,50447102
Chromatic index	3	5	3,500980	0,50447894

Zdroj: Autor

Štatistické hodnoty opisujúce množinu 36 vrcholových grafov uvádzame v Tabuľke 4.

Tabuľka 4 - 36 vrcholový dataset

	Min	Max	Priemer	Štand. odchýlka
Average degree	3	3	3	0
Bipartite	0	0	0	0
Claw-free	0	0	0	0
Clique number	2	2	2	0
Connected	1	1	1	0
Density	0,0857	0,086	0,085794	0,000123
Diameter	5	8	5,788	0,7617194
Edge connectivity	3	3	3	0
Eulerian	0	0	0	0
Matching number	18	18	18	0
Maximum degree	3	3	3	0
Minimum degree	3	3	3	0
Number of components	1	1	1	0
Number of edges	54	54	54	0
Number of triangles	0	0	0	0

Number of vertices	36	36	36	0
Planar	0	0	0	0
Radius	4	6	4,746	0,44483678
Regular	1	1	1	0
Vertex connectivity	3	3	3	0
Largest L-eigenvalue	5,414	5,841	5,676869	0,07512432
AS Second largest Eigenvalue	2,272	2,912	2,573965	0,14746353
AS smallest Eigenvalue	-2,841	-2,414	-2,676209	0,07540445
Laplacian spectrum	0,196	0,6135	0,424770	0,1444883
Chromatic number	3	3	3	0
Girth	5	7	6	1,0010015
Group size	1	2	1,002	0,04472136
Domination number	10	11	10,002	0,04472136
Independence number	15	17	15,456	0,50256257
Chromatic index	3	4	3,5	0,50050075

Zdroj: Autor

2 Analýza korelácií vytvorených grafových datasetov

Pomocou metód štatistickej analýzy vieme dospieť k ďalším zaujímavým znalostiam, ktoré sa týkajú nami vytvorených datasetov. Z pohľadu ďalšej analýzy dát je najpodstatnejšou z týchto znalostí analýza korelácii daných datasetov. Existujú rôzne druhy korelácie, najbežnejšie sú Pearson korelácia a Spearman rank korelácia [8, 6].

Pearson korelácia sa používa na meranie lineárneho vzťahu medzi dvomi spojitými premennými. Hodnota Pearson korelácie sa pohybuje v rozmedzí -1 až 1, kde hodnota -1 znamená silnú antikoreláciu, hodnota 1 znamená silnú koreláciu a hodnota 0 znamená, že medzi premennými nie je lineárny vzťah. Vzťah, ktorý definuje Pearson koreláciu (*r*):

$$r = \frac{(n\Sigma XY - \Sigma X \Sigma Y)}{\sqrt{(n\Sigma X^2 - (\Sigma X)^2 (n\Sigma Y^2 - (\Sigma Y)^2)}} \qquad (2)\ [8]$$

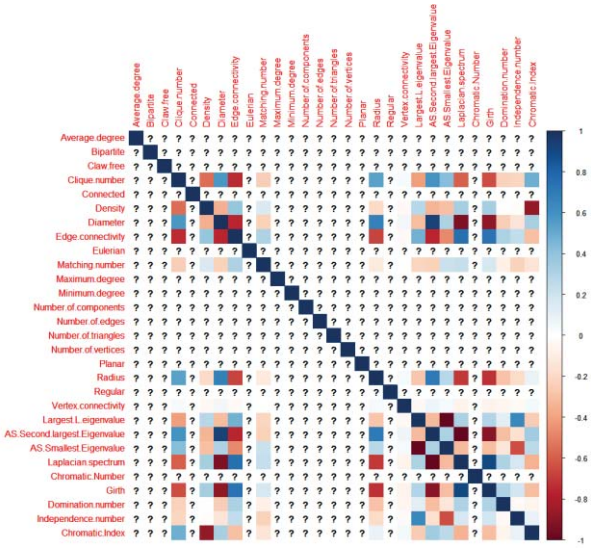
kde *n* je počet pozorovaní, *X* a *Y* sú vektory hodnôt premennej *X* a premennej *Y*. Hodnota *r* sa pohybuje v rozmedzí od -1 po 1 [8, 9].

Spearman rank korelácia sa používa na meranie vzťahu medzi dvoma premennými, ktoré nemusia byť spojité. Spearman rank korelácia sa zameriava na to, či existuje monotónny vzťah medzi premennými a hodnota Spearman rank korelácie sa pohybuje v rozmedzí -1 až 1, podobne ako u Pearson korelácie. Vzťah pre výpočet Spearman rank korelácie (ρ) je:

$$\rho = 1 - \frac{6\Sigma d^2}{n(n^2-1)} \qquad (3)\ [8]$$

kde *n* je počet pozorovaní, *d* je rozdiel v poradí hodnôt jednej premennej a druhej premennej. Hodnota *ρ* sa pohybuje v rozmedzí od -1 po 1 [8, 9].

Pre nami vytvorené datasety sme odmerali koreláciu typu Pearson a koreláciu typu Spearman rank. Nami odmerané najsilnejšie korelácie pre jednotlivé datasety grafov sme dosiahli Pearson koreláciou a preto uvádzame iba tie na obrázkoch 1 až 4. Na týchto obrázkoch prezentujeme vybrané korelačné matice, ktoré obsahujú najsilnejšie vzťahy (korelácie alebo antikorelácie) medzi vlastnosťami grafov našich v našich datasetoch [5][6]:



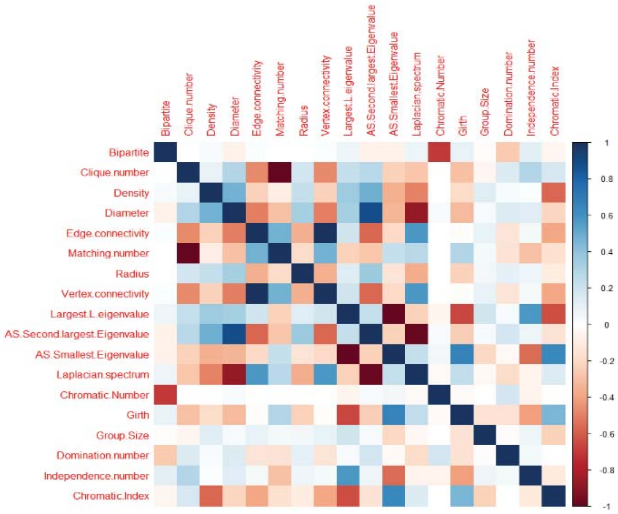
Obrázok 1 - Korelácia 30 vrcholového datasetu, meraná pomocou Pearson metriky
Zdroj: Autor

Na obrázku 1 môžeme vidieť množstvo otáznikov. Nachádzajú sa pri vlastnostiach, ktoré sú konštantné a preto sa nedá určiť korelácia medzi týmito hodnotami. V nasledujúcich obrázkoch sme preto tieto konštantné vlastnosti vynechali pre lepšiu čitateľnosť matíc korelácii.

Ďalej na obrázku 1 môžeme vidieť silné korelácie a antikorelácie (>0,7 resp. <-0,7). Patria sem vzťahy medzi:

- Edge connectivity a Clique number = -0,745
- Edge connectivity a Diameter = -0,751

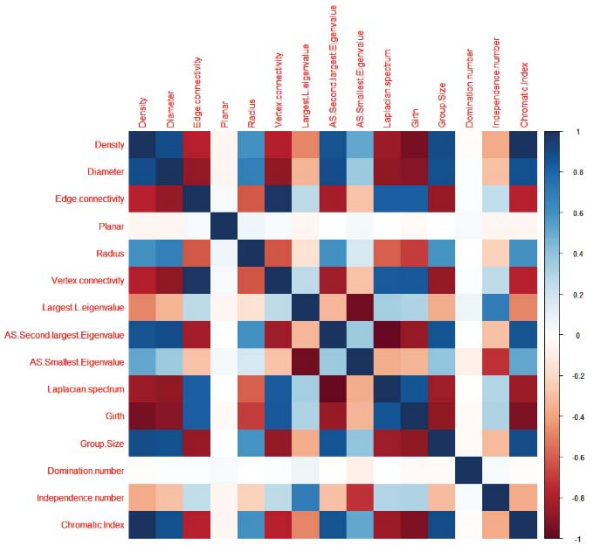
- Second largest Eigenvalue a Diameter = 0,932
- Laplacian spectrum a Diameter = -0,932
- Girth a Diameter = -0,881
- Domination number a Diameter = -0,880
- Second largest Eingevanule a Edge connectivity = -0,752
- Laplacian spectrum a Edge connectivity = 0,753
- Girth a Edge connectivity = 0,735
- Domination number = 0,735
- Second largest Eingevalue a Radius = 0,701
- Laplacian spectrum a Radius = -0,701
- Girth a Radius = -0,720
- Domination number a Radius = -0,719
- Smallest Eigenvalue a Largest Eigenvalue = -0,992
- Laplacian spectrum a Second largest Eigenvalue = -0,999
- Girth a Second largest Eigenvalue = -0,903
- Dominaiton number a Second largest Eigenvalue = -0,902
- Girth a Laplacian spectrum = 0,904
- Domination number a Laplacian spectrum = 0,903
- Domination number a Girth = 0,999



Obrázok 2 - Korelácia 32 vrcholového datasetu, meraná pomocou Pearson metriky
Zdroj: Autor

Obrázok 2 prezentuje silné korelácie a antikorelácie. Medzi takéto vzťahy zaraďujeme:

- Chromatic number a Bipartite = -0,708
- Matching number a Clique number = -1
- Second largest Eigenvalue a Diameter = 0,889
- Laplacian spectrum a Diameter = -0,877
- Vertex connectivity a Edge connectivity = 1
- Smallest Eigenvalue a Largest Eigenvalue = -0,998
- Laplacian spectrum a Second largest Eigenvalue = -0,987

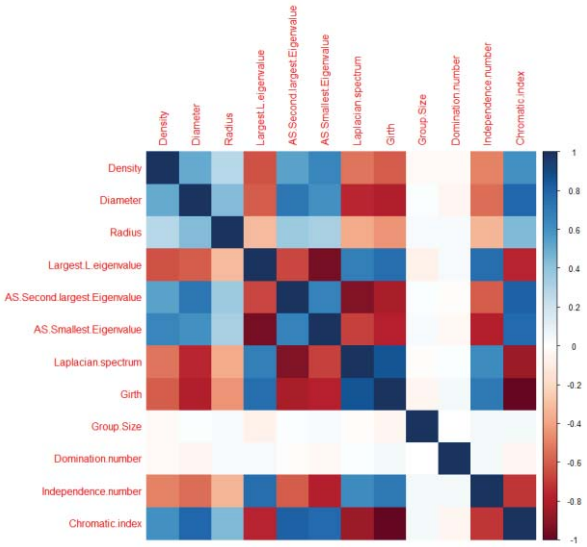


Obrázok 3 - Korelácia 34 vrcholového datasetu, meraná pomocou Pearson metriky
Zdroj: Autor

Na obrázku 3 môžeme vidieť silné korelácie a antikorelácie. Patria sem vzťahy medzi:

- Diameter a Density = 0,881
- Edge connectivity a Density = -0,774
- Vertex connectivity a Density = -0,783
- Second largest Eigenvalue a Density = 0,866
- Laplacian spectrum a Density = -0,859
- Girth a Density = -0,941
- Group size a Density = 0,897
- Chromatic index a Density = 0,999
- Edge connectivity a Diameter = -0,874
- Vertex connectivity a Diameter = -0,880
- Second largest Eigenvalue a Diameter = 0,890
- Laplacian spectrum a Diameter = -0,883
- Girth a Diameter = -0,910
- Group size a Diameter = 0,872
- Chromatic index a Diameter = 0,876
- Vertex connectivity a Edge connectivity = 0,989
- Second largest Eigenvalue a Edge connectivity = -0,835
- Laplacian spectrum a Edge connectivity = 0,829
- Girth a Edge connectivity = 0,829

- Group size a Edge connectivity = -0,868
- Chromatic index a Edge connectivity = -0,771
- Second largest Eigenvalue a Vertex connectivity = -0,840
- Laplacian spectrum a Vertex connectivity = 0,835
- Girth a Vertex connectivity = 0,841
- Group size a Vertex connectivity = -0,875
- Chromatic index a Vertex connectivity = -0,779
- Smallest Eigenvalue a Largest Eigenvalue = -0,992
- Independence number a Largest Eigenvalue = 0,719
- Laplacian spectrum a Second largest Eigenvalue = -0,992
- Girth a Second largest Eigenvalue = -0,864
- Group size a Second largest Eigenvalue = 0,852
- Chromatic Index a Second largest Eigenvalue = 0,863
- Independence number a Smallest Eigenvalue = -0,725
- Girth a Laplacian spectrum = 0,857
- Group size a Laplacian spectrum = -0,847
- Chromatic index a Laplacian spectrum = -0,857
- Group size a Girth = -0,889
- Chromatic index a Girth = -0,939
- Chromatix index a Group size = 0,894



Obrázok 4 - Korelácia 36 vrcholového datasetu, meraná pomocou Pearson metriky
Zdroj: Autor

Obrázok 4 prezentuje silné korelácie a antikorelácie. Medzi takéto vzťahy zaraďujeme:

- Largest Eingenvalue a Density = -0,709
- Smallest Eingenvalue a Density = 0,705
- Second largest Eigenvalue a Diameter = 0,761
- Laplacian spectrum a Diameter = -0,759
- Girth a Diameter = -0,790
- Chromatic index a Diameter = 0,790
- Smallest Eigenvalue a Largest Eigenvalue = -0,989
- Girth a Largest Eigenvalue = 0,780
- Independence number a Largest Eigenvalue = 0,790
- Chromatic index a Largest Eigenvalue = -0,780
- Laplacian spectrum a Second largest Eigenvalue = -0,981
- Girth a Second largest Eigenvalue = -0,855
- Chromatic index a Second largest Eigenvalue = 0,855
- Girth a Smallest Eigenvalue = -0,774
- Independence number a Smallest Eigenvalue = -0,782
- Chromatic index a Smallest Eigenvalue = 0,774
- Girth a Laplacian spectrum = 0,855
- Chromatic index a Laplacian spectrum = -0,855
- Independence number a Girth = 0,711
- Chromatic index a Girth = -1
- Chromatic index a Independence number = -0,711

3 Výsledky a diskusia

V práci sme prezentovali nami vytvorené datasety grafov, metódy získavania grafov, metódy merania vlastností grafov, opísali sme vlastnosti grafov, pomocou štandardizovaných metód deskriptívnej a štatistickej analýzy sme vytvorili analýzu našich datasetov. Taktiež sme pre nami vytvorené datasety odmerali Spearman rank a Pearson koreláciu, graficky zobrazili korelačné matice a identifikovali najsilnejšie korelácie a antikorelácie.

Pomocou metód štatistickej analýzy sme ukázali, že v rámci datasetov obsahujúcich veľké množiny údajov o grafových štruktúrach je možné merať predikčný potenciál medzi jednotlivými vlastnosťami daných grafov. Keďže väčšina algoritmov, ktoré sú využívané pri meraní vlastností grafov nevyužíva metódy umelej inteligencie, tento potenciál môže byť využitý pri optimalizácii merania hodnôt vlastností grafov.

Výsledky prezentované v tejto práci poukazujú na možnosť aplikovania techník predikčnej analýzy na

presné odhadovanie hodnôt vlastností grafov. Našim ďalším cieľom je zostavenie modelu rozhodovacích stromov a náhodných lesov pre vytvorené dátové množiny.

Z prezentovaného výskumu môžeme vyvodiť, že na hodnotu chromatického indexu grafu, ktorý označuje počet farieb potrebných na regulárne hranové 3-ofarbenie kubického grafu, vplývajú density, diameter, edge connectivity, vertex connectivity, second largest Eigenvalue, laplacian spectrum, girth, group size, largest Eigenvalue, smallest Eigenvalue a independence number.

Záver

Výskumom sme získali výsledky, na základe ktorých sme potvrdili predpoklady pre písanie tohto vedeckého článku. Dokázali sme významnosť štatistickej a deskriptívnej analýzy v kontexte grafových údajov. Na základe týchto analýz sme odmerali korelácie v našich datasetoch, ktoré vieme použiť pri ďalších výskumoch.

Výsledky, ktoré sme v tejto práci prezentovali majú uplatnenie pri vytváraní rozhodovacích stromov a náhodných lesov – klasifikácii grafov na základe ich chromatického čísla na snarky alebo štandardné kubické grafy.

Poďakovanie

Ďakujem vedúcemu vedeckého článku Mgr. Adamovi Dudášovi, PhD. za odborný dohľad, cenné rady a pripomienky, ktoré prispeli k vytvoreniu tohto vedeckého článku.

Použitá literatúra

[1] DIESTEL, Reinhard 2000. Graph Theory. New York : Springer-Verlag, 298 s., ISBN 0-387-98976-5

[2] House of Graphs 2.0: a database of interesting graphs and more, Discrete Applied Mathematic [online]. Houseofgraphs: 2010 [cit. 17.2.2023]. Dostupné z https://houseofgraphs.org/

[3] GraphFilter: software to help Graph researches providing filtering and visualization to a given list of graphs [online]. Graphfilter: 2021 [cit. 17.2.2023]. Dostupné z https://github.com/GraphFilter/GraphFilter

[4] SageMath: free open-source mathematics software system licensed under the GPL [online]. Sagemath: 2005 [cit. 17.2.2023]. Dostupné z https://www.sagemath.org/index.html

[5] LAMBERT, Joan – Frye, Curtis. 2022. Microsoft Excel Step by Step (Office 2021 and Microsoft 365). USA : Pearson Education, Inc., 458 s. ISBN 978-0-13-756427-9

[6] DAVIES, Tilman M. 2016. THE BOOK OF R. San Francisco : no starch press, 792 s. ISBN 1-59327-651-6

[7] GeogeGebra Manual: the official manual of GeoGebra [online]. Geogebra: 2011 [cit. 17.2.2023]. Dostupné z https://wiki.geogebra.org/en/Book

[8] SKIENA, Steven S. 2017. The Data Science Design Manual. Stony Brook : The Author(s), 427 s. ISBN 978-3-319-55443-3

[9] PECK, Roxy – OLSEN, Chris – DEVORE, Jay 2008, Introduction to Statistics and Data Analysis. Belmont : Duxbury, 847 s. ISBN 978-0-495-11873-2

[10] DUDÁŠ, Adam. Osobná komunikácia, 15.2.2023

RL-Toolkit: Návrh a implementácia sady nástrojov pre učenie s posilňovaním v robotike

RL-Toolkit: Design and implementation of a toolkit for reinforcement learning in robotics

Martin Kubovčík[1]
Školiteľ: Jiří Pospíchal[2]
[1,2]Katedra aplikovanej informatiky, FPV UCM, Nám. J. Herdu 2, 917 01 Trnava
[1] kubovcik1@ucm.sk, [2] jiri.pospichal@ucm.sk

Abstrakt

Význam automatizácie v robotike sa neustále zvyšuje. Jedným z prístupov riadenia je učenie posilňovaním, keď sa robot snaží sám nájsť riešenie úlohy na základe spätnej väzby z prostredia. Cieľom učenia je maximalizácia skóre, ktoré vedie robota k vyriešeniu úlohy. Okrem učiaceho algoritmu sú potrebné rozličné nástroje pre ukladanie dát a monitorovanie učenia, čím je možné dosiahnuť stabilizáciu učenia a získať lepšie výsledky. Základným problémom je nadhodnocovanie kvality vykonaných akcií a množstvo skúseností získaných v prostredí počas učenia robota. Preto *RL-Toolkit* obsahuje databázový server, využíva kvantilovú regresiu a možnosti masívnej paralelizácie s niekoľkými robotmi súčasne získavajúcimi skúsenosti z prostredia. Taktiež proces učenia môže byť paralelizovaný medzi viaceré inštancie, čo zrýchli vyriešenie úlohy. Výsledkom práce je porovnanie základného algoritmu Soft Actor-Critic pre učenie robota s *RL-Toolkit* obsahujúcim doplňujúce nástroje a vylepšenie výpočtov počas učenia, čo viedlo k zvýšeniu skóre. Celkové dosiahnuté priemerné zlepšenie skóre je 9,38 %.

Kľúčové slová: hlboká neurónová sieť, robotika, Q-hodnota, kvantilová regresia, actor-critic model

Abstract

The importance of automation in robotics is progressively increasing. One common approach is reinforcement learning, where the robot tries to figure out a solution to a given task on its own based on feedback from the environment. The goal of learning is to maximize the score, which leads the robot to solve the task. In addition to the learning algorithm itself, various tools are needed to store data and record the robot's telemetry. By combining multiple tools, it is possible to stabilize learning and achieve better results. The basic problem is overestimating the quality of the actions performed and the amount of experience gained in the environment during the robot's learning. Therefore, the *RL-Toolkit* includes a database server, employs quantile regression, and the possibility of massive parallelization with several robots simultaneously gaining experience from the environment. Also, the learning process can be directed to run multiple instances in parallel, which will speed up the overall task resolution. As a result, this paper compares the basic Soft Actor-Critic algorithm for robot learning with a version including added enhancements that extend the options of ways to perform the tasks or outperform the baseline score.

Key Words: deep neural network, robotics, Q-value, quantile regression, actor-critic model

Úvod

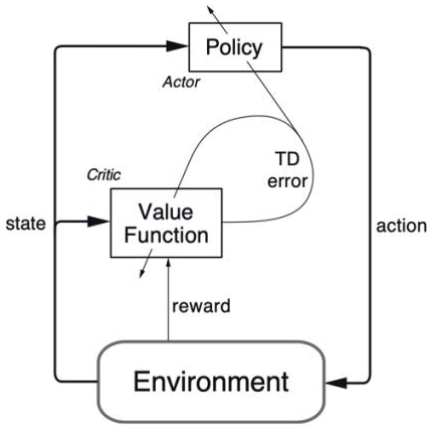
Robotika ako jedno z mnohých odvetví je do značnej miery v špičkových aplikáciách závislá na využívaní neurónových sietí pri transformácii meraní zo senzorov robota na akcie vykonávané robotom. Tieto akcie môžu predstavovať rotáciu kĺbov robota, či zmenu otáčok jeho motorov otáčajúcich kolesá. V tejto práci pôjde o kĺby, ktoré predstavujú pohyb končatinami robotov. Neurónová sieť je vedená k pochopeniu generovania akcií, ktoré maximalizujú skóre získavané v prostredí. Model pozostáva z dvoch prepojených súčastí *actor* a *critic*. Časť *actor* priamo transformuje merania senzorov na akcie kĺbov robotov. Časť *critic* vyjadruje kvalitu týchto akcií a je učená princípom Q-hodnoty pomocou kvantilovej regresie, čo zlepšuje presnosť predikcie tejto hodnoty. *Actor* je učený prenosom gradientu zo „zafixovanej“ *critic* časti za účelom maximalizácie týchto Q-hodnôt. Celý proces učenia je rozdelený na tri nezávislé inštancie a to server, agent a *learner*. Server predstavuje databázu, kde sa ukladajú zbierané interakcie od agentov z herného prostredia, ktoré potom distribuuje modulom *learner*. Agent predstavuje robota umiestneného v simulovanom

prostredí, ktorý vykonáva akcie a zbiera pritom merania zo senzorov. Predstavuje pre *learner* zdroj informácií potrebných k pochopeniu problematiky úlohy, ktorú má robot vykonávať. *Learner* je výkonnostne najnáročnejšia súčasť celku, pretože na ňom prebieha samotné učenie modelu. *Learner* by mal byť spustený na grafickej karte pre efektívny proces učenia. Jeho úlohou je postupne z databázy načítavať interakcie a učiť podľa nich *actor-critic* model. RL-Tookit s použitím troch nezávislých inštancií umožňuje zavedenie niekoľkých agentov, čím sa navyšuje aj počet nazbieraných interakcií za rovnakú časovú jednotku, čo je pri niektorých typoch prostredí nevyhnutnou podmienkou.

Dôraz sa kladie na porovnanie výsledkov tohto nového prístupu s pôvodnými prácami autorov [1][2]. Porovnanie bolo vykonávané v niekoľkých typoch simulovaných prostredí, či už s dvojnohými robotmi alebo štvornohými robotmi. Zadanou úlohou je najčastejšie naučiť sa bežať čo najrýchlejšie vpred, skákať smerom vpred alebo bežať čo najrýchlejšie cez prekážky a schody. Simulované prostredia sú realizované prostredníctvom rozhraní OpenAI Gym a PyBullet. Pre implementáciu hlbokej neurónovej siete bolo použité rozhranie TensorFlow a Keras.

1 Metóda Actor-Critic

Actor-critic metódy patria do skupiny *temporal-difference* (TD) metód využívajúcich oddelenú štruktúru modelov, ktoré reprezentujú zvlášť politiku π podľa ktorej sa agent riadi v prostredí a ohodnocovaciu funkciu Q, ktorá vyjadruje kvalitu danej akcie. *Temporal-difference* metódy vychádzajú z myšlienky kombinácie Monte Carlo prístupu a dynamického programovania. TD metódy sú učené priamo zo získaných skúseností zmeraných senzormi agenta bez poznania modelu dynamiky prostredia, kde agent vykonáva akcie. Model pre stratégiu je známy ako *actor*, pretože predpovedá konanie agenta. Ohodnocovacia funkcia vyjadrená modelom je známa ako *critic*, pretože kritizuje akcie vykonané modelom *actor*. Kritika je učená v zmysle TD chyby čo predstavuje skalárny signál použitý pre trénovanie oboch modelov, čo je naznačené na obrázku 1. Ak je TD chyba pozitívna, vyplýva z toho, že zvolená akcia a_t by sa v budúcnosti mala posilniť, na druhú stranu ak je negatívna, akcia by sa mala potlačiť [3].



Obr. 1 Architektúra *actor-critic*
Zdroj: [3]

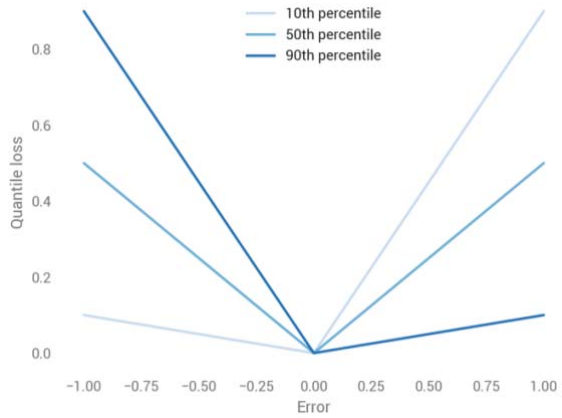
1.1 Soft Actor-Critic

Algoritmus Soft Actor-Critic (SAC) vychádza z princípu učenia sa z interakcií získaných od počiatku učenia agenta v hernom prostredí s prihliadnutím na maximalizáciu entropie. Týmto prístupom *actor* vykonáva čo možno najnáhodnejšie akcie, ak je to možné v danej situácii. *Critic* sa popritom učí predikovať čo možno najpresnejšie Q-hodnotu udávajúcu kvalitu akcie v danom stave. Na začiatku učenia nie je známy model prostredia a SAC je teda náročné na množstvo príkladov interakcií, ktoré potrebuje zbierať rádovo v miliónoch pri vysoko rozmerných stavových/akčných priestoroch. *Actor* sa počas učenia snaží vplyvom gradientového úbytku maximalizovať Q-hodnotu predikovanú častou *Critic*. Výhodou tohto prístupu je aj nízka citlivosť na nastavenie hyperparametrov v zmysle použitia agenta v rôznych herných prostrediach [4]. Podobne ako pri algoritme Twin Delayed Deep Deterministic policy gradient (TD3) sú použité viaceré *critic* modely, z ktorých je brané minimum Q-hodnoty čo zabraňuje nadhodnocovaniu Q-hodnoty [5].

1.2 Kvantilová regresia

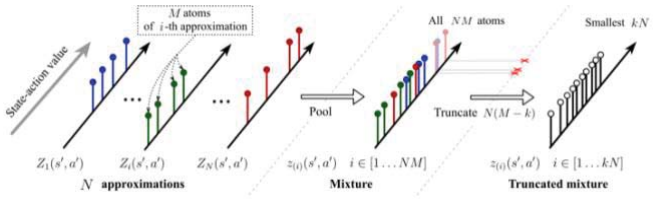
Typicky je modelom predikovaná jedna priemerná hodnota veličiny, ale ak má model presnejšie opísať reálny svet, je potrebné predikovať interval možných hodnôt veličiny. Tento prístup sa nazýva kvantilová regresia a využíva pritom opis veličiny na základe kvantilov, ktoré definujú rozsah možných hodnôt. Výhodným sa to ukázalo napr. pri predikcii cien nehnuteľností, ktoré majú určitý možný interval ohodnotenia. Pri kvantilovej regresii nie je možné použiť bežné regresné chybové funkcie ako stredná kvadratická chyba, ale je vyvinutá špeciálna kvantilová chyba. Hodnota kvantilovej chyby závisí od kvantilu,

ktorý je penalizovaný, teda negatívne chyby sú penalizované viacej pokiaľ ide o vyššie kvantily a pozitívne chyby sú viac penalizované pokiaľ ide o nižšie kvantily [6].



Graf 1 Kvantilová chybová funkcia pri rôznych kvantiloch a veľkosti chyby
Zdroj: [6]

Pre presnejšie vyjadrenie Q-hodnoty je možné ju predikovať formou distribúcie parametrizovanej pomocou kvantilov. Už v minulosti bola snaha predikcie Q-hodnoty ako distribúcie, kedy sa používala kategorická distribúcia atómov generovaných pomocou funkcie softmax s označením C51. Atómy predstavovali príklady Q-hodnôt z predom stanoveného intervalu, ktorý sa rozdelil podľa počtu atómov. Každému atómu, príkladu Q-hodnoty, bola priradená pravdepodobnosť [7]. Alternatívnou možnosťou je predikovať kvantily namiesto pevne umiestnených atómov ako v prípade C51, čo sa ukázalo výhodnejším v riešení QR-DQN aplikovanom na Atari 2600 [6]. Pri vyjadrení Q-hodnoty dochádza prirodzene k jej nadhodnoteniu, čo môže byť odstránené pomocou definície Q-hodnoty ako distribúcie. V tomto prípade je možné vynechať niekoľko horných kvantilov, čím sa umelo zníži priemerná Q-hodnota. Taktiež sa ukázalo byť výhodnejším použiť viac ako jeden *critic* model pre presnejšiu predikciu kritiky jednotlivých akcií. Od presnosti vyjadrenia Q-hodnoty silno závisí ako dobré akcie bude agent generovať [9]. Pôvodne sa pri minimalizácii chyby kvantilovej regresie používala Huber loss pre svoje výhodné vlastnosti pri reakcii na odľahlé hodnoty v tréningových príkladoch [8]. V tejto práci sa však použila chybová funkcia LogCosh [10]. Výhodou LogCosh je jej hladkosť, pretože ide o prirodzene spojitú funkciu na rozdiel od Huber loss zloženej z dvoch nezávislých funkcií.



Obr. 2 Princíp výberu kvantilov k odstráneniu
Zdroj: [9]

1.3 Generalizované prehľadávanie závislé od stavu (gSDE)

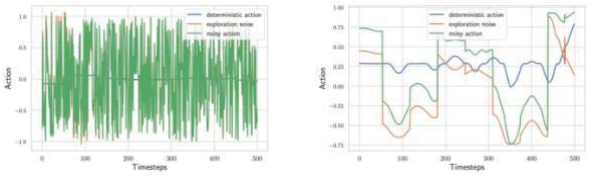
Základný prístup pri generovaní akcií z Gaussovej distribúcie, ktorej parametre sú predikované pomocou neurónovej siete, spôsobuje roztrasené správanie sa robota. Toto správanie môže v praxi viesť k skoršiemu opotrebovaniu mechaniky robota. V tomto prípade ide o riešenie pridaním Gaussovho šumu k deterministickej akcii, ktorá je generovaná na základe stavového priestoru. Výsledná akcia je generovaná podľa vzťahu [1]:

$$a_t = \mu(s_t, \theta_\mu) + \varepsilon(z_t, \theta_\varepsilon) \qquad \theta_\varepsilon \sim \mathcal{N}(0, \sigma^2) \qquad (1), [1]$$

Parameter Gaussovej distribúcie σ je adaptovaný počas procesu učenia sa agenta v zmysle:

$$\frac{\partial log\ \pi(a|s)}{\partial \sigma_{ij}} = \frac{(a_j - \mu_j)^2 - \hat{\sigma}_j^2}{\hat{\sigma}_j^3} \frac{state_i^2 \sigma_{ij}}{\hat{\sigma}_j} \qquad (2), [1]$$

$$\hat{\sigma}_j = \sqrt{\sum_i (\sigma_{ij} state_i)^2} \qquad (3), [1]$$

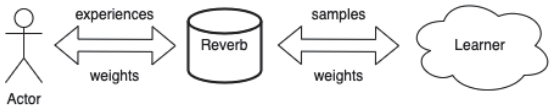


Graf 2 Porovnanie roztrasených akcií oproti akciám generovaným algoritmom gSDE
Zdroj: [1]

2 Databázový server

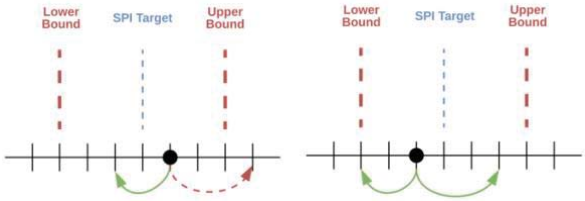
Pre ukladanie interakcií v typickom riešení s *replay buffer* je používaný súbor matíc. Efektívnejším riešením by však bola špeciálna databázová inštancia, ktorá nielenže by ukladala interakcie, ale mohla by regulovať aj ich vkladanie a samplovanie. S takýmto riešením prichádza databáza DeepMind Reverb. S doplnením o

databázový server je možné vytvoriť role a umiestniť na samostatnú stanicu tých čo produkujú interakcie – *actors* a tých čo sa na základe nich učia – *learners*. Takto môžu obe role byť spustené paralelne na viacerých inštanciách, pričom škálovanie je jednoduché. S použitím oddelených inštancií rolí je možné regulovať pomer počtu načítaní k počtu vkladaní *samples per insert* (SPI). Reverb implementuje FIFO, LIFO, ako aj haldy, pričom môžu byť použité ako základ pre tabuľku ukladajúcu interakcie. Taktiež interakciám môžu byť pridelené priority [10]. V tejto práci sa osvedčil SPI pomer 32, čo pri veľkosti tréningového balíčku príkladov 256 zodpovedalo približne osem násobku počtu nazbieraných interakcií k počtu krokov učenia.



Obr. 3 Architektúra *RL-Toolkit*

$$\mathrm{SPI} = \frac{\mathrm{num_sampled_items}}{\mathrm{num_inserted_items}} \qquad (4), [11]$$



Graf 3 (a) Vkladanie príkladov je blokované lebo prevyšuje hornú hranicu tolerancie (b) Načítanie príkladov bude úspešné lebo je v tolerancii.
Zdroj: [11]

Graf 3 ukazuje dve modelové situácie, ktoré môžu nastať počas regulácie vkladania a načítavania z tabuľky na základe SPI pomeru 3/2 a tolerancii ± 3. V tejto práci je tolerancia počítaná ako 10 percent z SPI pomeru a minimálna hranica počtu príkladov uložených v databáze pred začiatkom vzorkovania je 10 000.

3 Výsledky a diskusia

Cieľom výskumu bolo overiť, ktoré z pridaných vylepšení vie zvýšiť priemerné skóre robota v rôznych prostrediach. Prvým krokom však bola optimalizácia hyperparametrov pre robota, aby vedel vyriešiť všetky úlohy v rôznych prostrediach. Pre nájdenie vhodných parametrov bol použitý nástroj WanDB Sweep [12]. Testovanie prebiehalo na 10 nezávislých experimentoch v každom z prostredí. Výsledné nájdené hyperparametre sú uvedené v tabuľke 1.

Tab. 1 Nájdené optimálne nastavenie hyperparametrov

Názov	**Hodnota**
Počet krokov učenia	1 000 000
γ	0,98
τ	0,005
Maximálna veľkosť RB	1 000 000
SPI pomer	32
Veľkosť tréningového balíčka	256
Počet neurónov v skrytých vrstvách modelu *Actor*	400, 300
Inicializačná hodnota pre smerodajnú odchýlku akcií	-3,0
Hranica pre priemernú hodnotu akcie	± 2,0
Počet neurónov v skrytých vrstvách modelu *Critic*	400, 300
Počet modelov *Critic*	5
Počet kvantilov	35
Počet vynechaných horných kvantilov	3
Inicializačný α parameter pre reguláciu entropie akcií	1,0
Parameter rýchlosti učenia	$7{,}3 * 10^{-4}$
Gradient clipnorm	40,0

Porovnávané boli kombinácie základného algoritmu Soft Actor-Critic doplneného o gSDE generovanie akcií. Ďalším experimentom bola kombinácia Soft Actor-Critic, gSDE a Huber loss. Tu bol predpoklad, že chybová funkcia, ktorá je menej citlivá na odľahlé hodnoty bude mať pozitívny vplyv na presnosť Q-hodnôt. Od presnosti predikcie Q-hodnôt závisí aj kvalita generovaných akcií a teda zvýšenie priemerného skóre. Pre opätovné zvýšenie presnosti bol tretím experimentom nahradený typický spôsob vyjadrenia Q-hodnoty ako skalárneho čísla distribúciou kvantilov. Takto sa dalo zmierniť nadhodnotenie Q-hodnoty a teda zlepšiť opäť jej presnosť. Ako chybovú funkciu už pôvodní autori použili Huber loss. Posledným experimentom bol *RL-Toolkit*, išlo o kombináciu všetkého predchádzajúceho s tým rozdielom, že sa dáta ukladali do databázového servera a kontroloval sa pomer SPI medzi počtom vkladaní a počtom vyberaní interakcií z tabuľky v databáze. Použitý bol 8 násobok príkladov oproti počtu

tréningových krokov. Taktiež bola nahradená Huber loss chybovou funkciou LogCosh, ktorá sa osvedčila pri kvantilovej regresii. Učenie neurónovej siete agenta bolo realizované s využitím grafickej karty NVIDIA GeForce RTX 3090. Simulované robotické prostredia nevyužívali akceleráciu výpočtov pomocou grafickej karty a teda výpočty fyziky boli realizované na CPU Intel Core i9-12900K.

Tab. 2 Porovnanie skóre z rôznych prostredí

Názov prostredia	SAC + gSDE [1]	SAC + gSDE + Huber loss	SAC + TQC + gSDE [2]	RL-Toolkit
BipedalWalker Hardcore-v3	13 ± 18	**239 ± 118**	228 ± 18	205 ± 134
Walker2DBulletEnv-v0	2270 ± 28	2732 ± 96	2535 ± 94	**3123 ± 594**
AntBulletEnv-v0	3106 ± 61	3460 ± 119	3700 ± 37	**3993 ± 214**
HalfCheetahBulletEnv-v0	2945 ± 95	3003 ± 226	**3041 ± 157**	2762 ± 153
HopperBulletEnv-v0	2515 ± 50	**2555 ± 405**	2401 ± 62	2151 ± 664

Podľa výsledkov skóre v jednotlivých prostrediach z tabuľky 2 je dokázané, že Huber loss podobne ako *RL-Toolkit* dosahovali lepšie výsledky oproti konkurenčným prácam. Z tabuľky vyplýva, že použitie chybovej funkcie menej citlivej na odľahlé hodnoty či kvantilovej regresie v kombinácii s databázovým serverom viedlo k lepším výsledkom a presnejšiemu učeniu kritiky vykonaných akcií. V priemere bolo možné dosiahnuť zlepšenia skóre o **9,38 %**. Bez použitia databázového servera Reverb bol priemerný čas učenia agenta 1 hodina 35 minút, avšak s použitím databázového servera sa učenie spomalilo a priemerný čas bol 5 hodín 19 minút. Analýzou sa zistilo, že s použitím databázového servera a konkrétnym nastavením SPI pomeru sa nazbieralo 8 násobne viacej skúseností z prostredia, čo však malo za následok výrazné spomalenie, nakoľko sú výpočty simulácie prostredia realizované iba na CPU.

Záver

Výsledkom výskumu bola zistenie dôležitosti presnosti predikcie Q-hodnoty od ktorej záviseli generované akcie. Ukázalo sa, že je v zásade výhodnejšie používať chybové funkcie menej citlivé na odľahlé hodnoty. Taktiež sa potvrdila výhoda v použití databázového servera ako špecializovanejšieho nástroja pre správu interakcií získaných robotom. *RL-Toolkit* poskytol rozdelenie do nezávislých inštancií, čo umožňuje spustenie *actor* inštancie na reálnom robotovi, pričom databázový server je spustený na počítači a podobne aj learner, ktorý si však vyžaduje počítač s grafickou kartou určenou pre náročné výpočty.

Poďakovanie

Ďakujem prof. RNDr. Jiřímu Pospíchalovi, DrSc. za jeho cenné rady, odborné vedenie a pripomienky pri spracovaní témy a vypracovaní tejto práce.

Použitá literatúra

[1] RAFFIN, Antonin; KOBER, Jens; STULP, Freek. Smooth exploration for robotic reinforcement learning. In: Conference on Robot Learning. PMLR, 2022. p. 1634-1644.

[2] TQC. [online]. Stable Baseline Contrib 2020 [cit. 2023-03-09]. Dostupné z: https://sb3-contrib.readthedocs.io/en/master/modules/tqc.html

[3] SUTTON, Richard S.; BARTO, Andrew G. Reinforcement learning: An introduction. MIT press, 2018.

[4] HAARNOJA, Tuomas, et al. Soft actor-critic: Off-policy maximum entropy deep reinforcement learning with a stochastic actor. In: International conference on machine learning. PMLR, 2018. p. 1861-1870.

[5] FUJIMOTO, Scott; HOOF, Herke; MEGER, David. Addressing function approximation error in actor-critic methods. In: International conference on machine learning. PMLR, 2018. p. 1587-1596.

[6] Quantile regression, from linear models to trees to deep learning. [online]. Towards Data Science 2018 [cit. 2023-03-09]. Dostupné z: https://towardsdatascience.com/quantile-regression-from-linear-models-to-trees-to-deep-learning-af3738b527c3

[7] BELLEMARE, Marc G.; DABNEY, Will; MUNOS, Rémi. A distributional perspective on reinforcement learning. In: International conference on machine learning. PMLR, 2017. p. 449-458.

[8] DABNEY, Will, et al. Distributional reinforcement learning with quantile regression. In: Proceedings of the AAAI Conference on Artificial Intelligence. 2018.

[9] KUZNETSOV, Arsenii, et al. Controlling overestimation bias with truncated mixture of continuous distributional quantile critics. In: International Conference on Machine Learning. PMLR, 2020. p. 5556-5566.

[10] SALEH, Resve A., et al. Statistical properties of the log-cosh loss function used in machine learning. arXiv preprint arXiv:2208.04564, 2022.

[11] CASSIRER, Albin, et al. Reverb: A framework for experience replay. arXiv preprint arXiv:2102.04736, 2021.

[12] Tune Hyperparameters. [online]. Weights & Biases Docs 2023 [cit. 2023-03-09]. Dostupné z: https://docs.wandb.ai/guides/sweeps

Bezpečnosť frameworku Laravel

The security of Laravel applications

Lukáš Maár[1]
Školiteľ: Miroslav Ölvecký[2]
[1,2]Katedra aplikovanej informatiky, FPV UCM, Nám. J. Herdu 2, 917 01 Trnava
[1]maar1@ucm.sk, [2]miroslav.olvecky@ucm.sk

Abstrakt

Príspevok je svojim obsahom zameraný na praktické ukážky bezpečnosti Laravelu a ukážku prečo by sa mal používať pri tvorbe webových aplikácií a vyzdvihnúť jeho funkcie spomedzi ostatných frameworkov/ jazykov.

Laravel je jedným z viacerých open-source PHP (Hypertext Preprocessor) frameworkov, ktorý je určený na vývoj webových aplikácií.

Tvorcovia webových aplikácií s frameworkom Laravel musia okrem štandardných nastavení dbať na aktualizáciu predvolenej konfigurácie, zabezpečiť databázu, povoliť protokol HTTPS (Hypertext Transfer Protocol Secure), heslá musia byť hashované predtým ako sa uložia do databázy a v neposlednom rade webová aplikácia musí byť odolná voči Cross-Site Request Forgery (CSRF) útoku, cross-site scriptingu (XSS), injektovaniu SQL (Structured Query Language) dotazu, útoku hrubou silou a chybám v autentifikácií.

Kľúčové slová: laravel, PHP framework, aplikácia, bezpečnosť informácií, webová aplikácia

Abstract

The content of the paper is focused on practical demonstrations of Laravel's security and why it should be used in web application development and highlight its features among other frameworks/languages. Laravel is one of several open-source PHP (Hypertext Preprocessor) frameworks designed for web application development.

In addition to the standard settings, web application developers with the Laravel framework must take care to update the default configuration, secure the database, enable Hypertext Transfer Protocol Secure (HTTPS), passwords must be hashed before they are stored in the database, and last but not least, the web application must be resistant to Cross-Site Request Forgery (CSRF) attack, cross-site scripting (XSS), Structured Query Language (SQL) query injection, brute force attack, and authentication vulnerabilities.

Key Words: laravel, PHP framework, application, information security, web application

Úvod

Bezpečnosť webových aplikácií je neustále sa vyvíjajúcim problémom. Rýchlo sa meniace prostredie hrozieb a rastúca zložitosť webových aplikácií spôsobujú, že je náročné zabezpečiť úplnú bezpečnosť. Neexistuje úplne bezpečná aplikácia a univerzálne riešenie na zaistenie úplnej bezpečnosti, avšak cieľom je minimalizovať riziko a zabezpečiť, aby boli zavedené bezpečnostné opatrenia na odhalenie a reakciu na prípadné bezpečnostné incidenty a aby sa udržal krok s neustále sa vyvíjajúcim prostredím hrozieb.

Mnohé organizácie a vývojárske tímy nepripisujú bezpečnosti prioritu a často k nej nepristupujú proaktívne. Tým sa môžu stať zraniteľnými voči útokom a únikom údajov. Organizácie a vývojárske tímy musia sledovať najnovšie trendy v oblasti bezpečnosti a uplatňovať proaktívny prístup k bezpečnosti, aby minimalizovali riziko útokov a únikov údajov.

OWASP (Open Web Application Security Project) uvádza pre rok 2021 tieto hrozby ako najčastejšie:

- A01:2021 - porušená kontrola prístupu
- A02:2021 - kryptografické poruchy
- A03:2021 – injektovanie
- A04:2021 - nezabezpečený dizajn
- A05:2021 - nesprávna konfigurácia zabezpečenia
- A06:2021 - zraniteľné a zastarané komponenty
- A07:2021 – zlyhanie identifikácie a autentifikácie
- A08:2021 - zlyhania softvéru a integrity údajov
- A09:2021 – zlyhanie logovania bezpečnosti a monitorovania
- A10:2021 - falšovanie požiadaviek na strane servera (SSRF) [1]

Dodržiavanie OWASP Top 10 je kľúčové pre ochranu organizácie, jej zákazníkov a kvalitu poskytovaného softvéru. Je to najlepší spôsob, ako minimalizovať riziko útokov a zabezpečiť, že organizácia je schopná plniť svoje povinnosti a zodpovednosti.

Implementovanie OWASP Top 10 taktiež pomáha zlepšiť kvalitu softvéru a zvýšiť ochranu pred útokmi.

1 Bezpečnostné prvky Laravelu

Tento PHP framework obsahuje mnoho vstavaných bezpečnostných prvkov, ktoré pomáhajú ochrániť aplikáciu pred rôznymi typmi útokov, ktoré rozpíšeme v podkapitolách, z ktorých každá sa venuje jednému špecifickému typu útoku. Je dôležité ale taktiež poukázať na to, že aj keď samotný Laravel má pre vývojárov veľa bezpečnostných prvkov, bezpečnosť webovej aplikácie nezávisí len od použitého frameworku, ale aj od nasadenia aplikácie na server a veľa ďalších faktorov.

1.1 SQL injection útok a obrana voči nemu

SQL injection je typ útoku na webové aplikácie, ktorý umožňuje útočníkovi vkladať nebezpečný kód do SQL dotazu, ktorý je vykonávaný na strane servera. Tento typ útoku využíva nedostatočnú validáciu vstupov, pri ktorých sa nekontroluje, či sú vstupné údaje správne formátované. Útočník môže vkladať SQL príkazy a podmienky, ktoré umožňujú získanie citlivých informácií alebo dokonca zmeniť alebo zmazať dáta uložené v databáze. To môže viesť k ukradnutiu citlivých informácií, ako sú osobné údaje, heslá alebo dokonca úplné prebratie kontroly nad webovou aplikáciou [2]. Framework poskytuje tzv. "prepared statements", ktoré oddeľujú dáta od SQL príkazov.

Taktiež sa používa tzv. "parameter binding", ktorý automaticky ošetruje používateľské vstupy pred vložením do SQL dotazu. Toto zabezpečí, že používateľské vstupy sú správne zakódované a teda nemôžu byť interpretované ako súčasť syntaxe SQL.

Laravel tiež poskytuje pomocou tzv. "query builder" abstrakciu nad SQL dotazmi čo znamená, že sa dajú vytvárať bezpečné dotazy pomocou objektovo-orientovaného rozhrania [3].

1.2 XSS útok a obrana voči nemu

XSS (Cross-Site Scripting) útok je typ útoku na webové aplikácie, ktorý umožňuje útočníkovi vložiť nebezpečný kód do webovej stránky a tak ovplyvniť správanie stránky pre ostatných používateľov. Útok využíva nedostatočnú validáciu a filtrovanie vstupov zo strany webovej aplikácie, čo umožňuje útočníkovi vkladať nebezpečné kódy do webovej stránky, ktoré sú následne spustené v prehliadači používateľa. Typickým príkladom XSS útoku je vloženie skriptu do komentára na webovej stránke. Ak sa komentár nevaliduje správne, útočník môže do komentára vložiť skript, ktorý bude spustený používateľom, ktorý si prezerá stránku, čo môže viesť k ukradnutiu citlivých informácií, napr. používateľských mien a hesiel alebo dokonca k ovládnutiu účtu používateľa. Existujú tri typy XSS útokov:

- Reflektívny XSS útok, kedy je nebezpečný kód vložený do URL adresy a prenesený na server, ktorý následne vráti stránku s týmto kódom používateľovi.
- Ukladaný XSS útok, kedy je nebezpečný kód uložený v databáze a zobrazí sa v každej stránke, ktorá tento kód obsahuje.
- DOM-based XSS útok, kedy je nebezpečný kód spracovaný a vykonaný na strane klienta, nie na strane servera [4].

Laravel poskytuje tzv. "blade templating engine", ktorý automaticky zakóduje všetky výstupy aplikácie. Rovnako tak automaticky zakóduje všetky používateľské vstupy, takže sa nedá spustiť skript a tak vykonať XSS útok na aplikáciu [5].

1.3 CSRF útok a obrana voči nemu

CSRF (Cross-Site Request Forgery) útok je typ webového útoku, pri ktorom útočník využíva dôveru webového prehliadača používateľa voči určitej webovej stránke. V takomto útoku útočník vytvára a posiela falošné požiadavky na webovú stránku, ktorú používateľ práve používa, a to s cieľom vykonať určitú akciu, napríklad zmeniť heslo, vytvoriť nový účet alebo uskutočniť platbu. Útok sa realizuje tým, že útočník posiela žiadosť o akciu, ktorá má byť vykonaná z webovej stránky, ktorú používateľ práve navštívil a je prihlásený na svojom účte. Ak webová stránka nemá správne implementovanú ochranu proti CSRF útoku, môže byť takáto požiadavka akceptovaná a akcia vykonaná [6].

Ochrana v Laraveli zabezpečuje, že všetky POST, PUT, PATCH a DELETE požiadavky aplikácie obsahujú náhodne vygenerovaný token, ktorý sa musí zhodovať s tokenom, ktorý je uložený v relácii používateľa.

Tento token sa vytvára pomocou PHP funkcie "csrf_token()", ktorá je k dispozícii v Laraveli. Ak token v požiadavke nezodpovedá tokenu v relácii používateľa, Laravel automaticky zamietne požiadavku a vráti HTTP chybový kód ,,419 authentication timeout“. Toto zabezpečuje, že iba autorizovaní používatelia môžu vykonávať kritické akcie v aplikácii, ako je vytváranie, upravovanie alebo mazanie záznamov v databáze.

Taktiež je možnosť definovať tzv. "excluded URIs", ktoré sú chránené tokenom, ale nie sú povinné ho

obsahovať čo sa napríklad požíva pre API endpointy, ktoré token nevyžadujú [7].

1.4 Autentifikácia a autorizácia

Autentifikácia a autorizácia je riadená pomocou tzv. "guardov" a "providerov". Guardi definujú spôsob, akým sú používateľské relácie overované, zatiaľ čo provideri definujú, ako sa vyhľadávajú používateľské údaje v úložisku (databáze). Autentifikácia umožňuje overiť či sa používateľ, ktorý sa pokúša prihlásiť, nachádza v databáze (alebo v inom úložisku - Eloquent model alebo iné vlastné úložisko). Keď je používateľ úspešne overený, automaticky sa vytvorí relácia pre tohto používateľa, ktorá sa používa na uchovávanie informácií o prihlásenom používateľovi [8, 9].

1.5 Bezpečnostné hlásenia (audit log)

Zaznamenávanie bezpečnostných incidentov je dôležité pretože:

- Monitorovanie zabezpečenia môže odhaliť a upozorniť na bezpečnostné incidenty, ako je neoprávnený prístup, narušenie údajov a infikovanie škodlivým softvérom. Vďaka monitorovaniu a zaznamenávaniu bezpečnostných udalostí môžu organizácie rýchlo identifikovať incidenty, vyšetriť ich a prijať vhodné opatrenia na zabránenie ďalším škodám.
- Zlepšenie protokolovania a monitorovania bezpečnosti môže organizáciám a vývojárom pomôcť rýchlo a účinne reagovať na bezpečnostné incidenty.
- Keď sa bezpečnostné udalosti zaznamenávajú, bezpečnostné tímy môžu tieto informácie použiť na vyšetrenie incidentu a prijatie vhodných opatrení na obmedzenie a odstránenie hrozby.
- Monitorovaním a zaznamenávaním bezpečnostných udalostí môžu organizácie lepšie pochopiť svoju bezpečnostnú pozíciu a identifikovať oblasti, v ktorých je možné vykonať zlepšenia. Tieto informácie môžu organizáciám pomôcť zvýšiť ich bezpečnostné povedomie a identifikovať potenciálne bezpečnostné riziká skôr, ako sa stanú závažnými problémami.
- Zaznamenávanie bezpečnostných udalostí sa môže použiť ako dôkaz pri forenznom vyšetrovaní.

Ak organizácia zažije bezpečnostný incident, logovanie môže vyšetrovateľom pomôcť určiť rozsah a vplyv incidentu, ako aj identifikovať zdroj útoku [10].

1.6 Šifrovanie a ochrana hesiel

Framework obsahuje zabudovanú triedu Crypt, ktorá umožňuje šifrovať a dešifrovať dáta s použitím AES-256-CBC šifrovania. Na šifrovanie sa používa metóda encrypt() a na dešifrovanie metóda decrypt(), napríklad:

```
$plaintext = 'lukasmaar';
$zasifrovanyText
= Crypt::encryptString($plaintext);
$rozsifrovanyText
=
Crypt::decryptString($zasifrovanyText
);
```

Taktiež využíva bcrypt hashovanie na ochranu hesiel. Bcrypt je pomalý, ale veľmi bezpečný hashovací algoritmus, ktorý používa silné náhodné hodnoty (salt) a mnoho opakovaných iterácií. Heslá automaticky hashuje pri ukladaní do databázy a poskytuje funkciu na overenie hesiel pomocou metódy Hash::check() [11].

1.7 Šifrovanie a ochrana cookies

Cookies sú malé súbory, ktoré sa ukladajú na počítač alebo zariadenie používateľa, keď navštívi určitú webovú stránku. Tieto súbory môžu obsahovať informácie ako napríklad prihlasovacie údaje, preferencie používateľa a ďalšie informácie o používateľovi [12].

Šifrovanie cookies je dôležité zabezpečovacie opatrenie, ktoré zabraňuje neoprávnenému prístupu k citlivým informáciám uloženým v cookies. Laravel automaticky šifruje session cookie pomocou AES-256-CBC šifrovania [13].

1.8 Šifrovanie a ochrana session (relácie)

Relácia je spôsob ako identifikovať, že používateľ, ktorý pristupuje k určitým službám alebo aplikáciám, je oprávnený a overený. Relácia sa bežne používa na uchovávanie informácií o prihlásení používateľa, aby sa zabránilo neoprávnenému prístupu k citlivým informáciám [14].

Útok typu "session hijacking" sa deje, keď útočník ukradne relačné ID používateľa a použije ho na prebratie kontroly nad reláciou. Útok typu "session fixation" sa deje, keď útočník nastaví relačné ID predtým, ako sa používateľ prihlási, čo mu umožní prevziať kontrolu nad reláciou [15, 16]. Laravel automaticky obnovuje session ID po každej úspešnej autentifikácii a po každej prihlásenej a odhlásenej relácii. Toto zabezpečuje, že aj keď by sa útočníkovi podarilo získať platné session ID, bude to nepoužiteľné,

akonáhle sa používateľ odhlási alebo sa autentifikuje s novými povereniami [17].

2 Výsledky a diskusia

Na vytvorenú aplikáciu sme spustili bezpečnostné testy na lokálnej sieti, ktoré nám potvrdili, že aplikácia je odolná voči skúmaným útokom, čo sme preukázali screenshotmi reportov nižšie. SQL injection útok bol vykonaný, ale nebol úspešný, čo je možné vidieť na obrázku 1, kde je vidieť výstup z Linux konzole. Test sme vykonávali na virtuálnom stroji s nainštalovanou Linux distribúciou Kali GNU/Linux Rolling verzie 2022.4 cez terminál pomocou nástroja *SQLmap*. Ide o nástroj na testovanie zraniteľností webových aplikácií, ktorý sa využíva na útoky typu SQL injection. Tento nástroj je navrhnutý tak, aby mohol byť použitý na rôznych databázových platformách vrátane MySQL, Oracle, PostgreSQL a ďalších. Umožňuje testerom skenovať webové stránky aby zistili, či sú zraniteľné na SQL injection útoky a ak áno, poskytuje nástroje na automatizovanie týchto útokov. Nástroj dokáže detekovať rôzne typy SQL injection útokov vrátane "union-based", "time-based" a "error-based" útokov. SQLmap umožňuje taktiež vykonávať rôzne typy útokov, vrátane získavania databázových tabuliek a dát, vykonávania príkazov na serveri, vykonávania operácií súvisiacich s heslami a ďalších. Nástroj obsahuje možnosti a nastavenia, ktoré umožňujú testerom prispôsobiť útok svojim potrebám.

```
[*] starting @ 09:37:42 /2023-03-28/

[09:37:42] [WARNING] you've provided target URL without any GET parameters (e.g. 'http://www.site.com/article.php?id=1') and without providing any POST parameters through option '--data'
do you want to try URI injections in the target URL itself? [Y/n/q] y
[09:37:48] [INFO] testing connection to the target URL
[09:37:53] [WARNING] potential permission problems detected ('Access denied')
you have not declared cookie(s), while server wants to set its own ('XSRF-TOKEN=eyJpdII6Ii9...IjoiIm0%3D;teami_session=eyJpdII6IjB...IjoiIm0%3D'). Do you want to use those [Y/n] y
[09:38:00] [INFO] checking if the target is protected by some kind of WAF/IPS
[09:38:03] [INFO] testing if the target URL content is stable
[09:38:07] [INFO] target URL content is stable
[09:38:07] [INFO] testing if URI parameter '#1*' is dynamic
[09:38:07] [WARNING] URI parameter '#1*' does not appear to be dynamic
[09:38:07] [WARNING] heuristic (basic) test shows that URI parameter '#1*' might not be injectable
[09:38:07] [INFO] testing for SQL injection on URI parameter '#1*'
[09:38:08] [INFO] testing 'AND boolean-based blind - WHERE or HAVING clause'
[09:38:10] [INFO] testing 'Boolean-based blind - Parameter replace (original value)'
[09:38:11] [INFO] testing 'MySQL >= 5.1 AND error-based - WHERE, HAVING, ORDER BY or GROUP BY clause (EXTRACTVALUE)'
[09:38:12] [INFO] testing 'PostgreSQL AND error-based - WHERE or HAVING clause'
[09:38:12] [INFO] testing 'Microsoft SQL Server/Sybase AND error-based - WHERE or HAVING clause (IN)'
[09:38:13] [INFO] testing 'Oracle AND error-based - WHERE or HAVING clause (XMLType)'
[09:38:13] [INFO] testing 'Generic inline queries'
[09:38:13] [INFO] testing 'PostgreSQL > 8.1 stacked queries (comment)'
[09:38:14] [INFO] testing 'Microsoft SQL Server/Sybase stacked queries (comment)'
[09:38:14] [INFO] testing 'Oracle stacked queries (DBMS_PIPE.RECEIVE_MESSAGE - comment)'
[09:38:14] [INFO] testing 'MySQL >= 5.0.12 AND time-based blind (query SLEEP)'
[09:38:15] [INFO] testing 'PostgreSQL > 8.1 AND time-based blind'
[09:38:16] [INFO] testing 'Microsoft SQL Server/Sybase time-based blind (IF)'
[09:38:16] [INFO] testing 'Oracle AND time-based blind'
it is recommended to perform only basic UNION tests if there is not at least one other (potential) technique found. Do you want to reduce the number of requests? [Y/n] y
[09:38:18] [INFO] testing 'Generic UNION query (NULL) - 1 to 10 columns'
[09:38:19] [WARNING] URI parameter '#1*' does not seem to be injectable
[09:38:19] [CRITICAL] all tested parameters do not appear to be injectable. Try to increase values for '--level'/'--risk' options if you wish to perform more tests. If you suspect that t
 kind of protection mechanism involved (e.g. WAF) maybe you could try to use option '--tamper' (e.g. '--tamper=space2comment') and/or switch '--random-agent'
[09:38:19] [WARNING] HTTP error codes detected during run:
404 (Not Found) - 43 times, 403 (Forbidden) - 30 times
```

Obr. 1 Ukážka priebehu a reportu zo SQL injection útoku (spustený, ale neúspešný)
Zdroj: Autor

Ďalším krokom bolo overenie, či je aplikácia odolná voči XSS útoku. Test sme vykonávali na rovnakom virtuálnom stroji cez terminál pomocou nástroja *Cross Site "Scripter" (XSSer)*. XSSer umožňuje testerom zistiť, či je webová aplikácia náchylná na útoky typu XSS a aké útoky môžu byť v danej aplikácii vykonané. Testeri dokážu simulovať rôzne typy XSS útokov vrátane "reflected", "stored" a "DOM-based" XSS útokov. Nástroj umožňuje testerom vložiť škodlivý kód do rôznych častí webovej stránky a sledovať, či je tento kód úspešne vykonaný a aký má vplyv na webovú aplikáciu.

XSS útok bol vykonaný, ale nebol úspešný – od servera sa očakávala odpoveď ,,200 OK", ale po niekoľkých pokusoch o XSS útok sme stále dostávali odpoveď zo strany servera ,,419 authentication timeout", čo je možné vidieť na obrázku 2.

```
=================================================================
[*] Test: [ 1/1 ] <-> 2023-03-28 09:13:45.209921
=================================================================

[+] Target:

 [ https://10.99.1.177/teami/public/login ]

-----------------------------------------------

[!] Hashing:

 [ 41c79c9b17a2a02def5d5d8c88ef8ae6 ] : [ XSR ]

-----------------------------------------------

[*] Trying: + ['XSR']

https://10.99.1.177/teami/public/login (POST: username= [redacted] password= [redacted])

=============================================
[*] Injection(s) Results:
=============================================

 [NOT FOUND] -> [ 41c79c9b17a2a02def5d5d8c88ef8ae6 ] : [ XSR ]

=============================================

[Error] Not injected!. Server responses with http-code different to: 200 OK (419)

=================================================================
[*] Final Results:
=================================================================

- Injections: 1
- Failed: 1
- Successful: 0
- Accur: 0.0 %
```

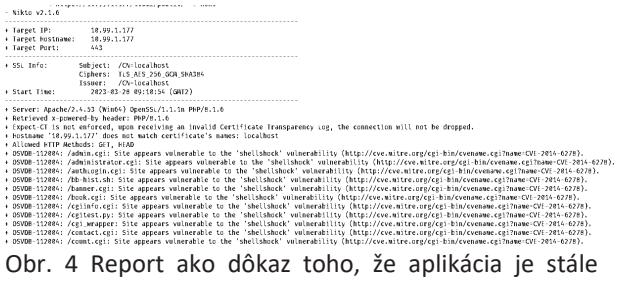
Obr. 2 Ukážka priebehu a report z XSS útoku (spustený, ale neúspešný)
Zdroj: Autor

Ako poslednú vec sme skúmali, či je na serveri prítomný CSRF token pomocou bezpečnostnej utility *Burp Suite Community Edition v2022.9.6* – ide o nástroj na testovanie bezpečnosti webových aplikácií, ktorý je používaný bezpečnostnými profesionálmi a etickými hackermi. Je k dispozícii v bezplatnej aj platenej verzii, pričom my sme použili bezplatnú verziu dostupnú priamo v Kali Linuxe, ktorá bola rovnako spustená na virtuálnom stroji. Medzi kľúčové funkcie balíka *Burp Suite Community Edition* patrí zachytávajúci proxy server, skener webových aplikácií, nástroj na automatizáciu útokov, opakovač na manuálnu manipuláciu s požiadavkami a odpoveďami a dekodér na analýzu kódovaných údajov. Na obrázku 3 je možné vidieť, že token v našej aplikácií prítomný skutočne je.

Aplikácia tiež používateľa odmietne po niekoľkých neúspešných pokusoch o prihlásenie.

Obr. 3 Report ako dôkaz toho, že CSRF token je na webe prítomný a aktívny
Zdroj: Autor

Bezpečnostnými testami pomocou nástroja Nikto v2.1.6 aplikácie sme však zistili, že aplikácia je zraniteľná na shellshock útok (obrázok 4) čo je bezpečnostná chyba, ktorá bola objavená v septembri 2014 v softvéri Bash, ktorý je základným nástrojom pre prácu s príkazovým riadkom v mnohých UNIXových a Linuxových systémoch. Umožňuje útočníkom spustiť ľubovoľný príkaz na cieľovom systéme, čo predstavovalo vážne riziko pre bezpečnosť. Táto chyba umožňovala útočníkom vstupovať do systému a získavať prístup k citlivým informáciám alebo dokonca prevádzkovať ďalšie útoky na sieť. Po analýze hlásenia a opakovaní testovania sa však zistilo, že nástroj Nikto reálne shellshock zraniteľnosť pri prvom testovaní reportoval, ale išlo o false report nástroja a stačilo na web serveri vypnúť spustenie Common Gateway Interfaces (CGI), ktoré webserver má – po tomto kroku nástroj Nikto už bezpečnostnú zraniteľnosť ďalej nereportoval.



Obr. 4 Report ako dôkaz toho, že aplikácia je stále zraniteľná na shellshock útok
Zdroj: Autor

Záver

Príspevkom sme poukázali na bezpečnosť Laravelu, čo sa nám podarilo potvrdiť bezpečnostnými testami aplikácie čo znamená, že poskytuje dostatočné bezpečnostné prvky.

Avšak bezpečnosť Laravelu nezávisí iba od funkcií, ktoré framework ponúka, ale aj od rôznych iných faktorov. Sú však postupy, ktorých dodržiavaním môžeme prispieť k lepšej bezpečnosti webových aplikácií, napríklad:

- Predvolenú konfiguráciu je potrebné aktualizovať, aby bola aplikácia bezpečná. Mala by zahŕňať zabezpečenie databázy, povolenie protokolu HTTPS a zabezpečenie citlivých údajov.
- Framework poskytuje rôzne validačné pravidlá, ktoré možno použiť na overenie vstupu používateľa, aby sa zabránilo zadávaniu škodlivých údajov.
- Laravel má zabudované mechanizmy autentifikácie a autorizácie, ktoré umožňujú jednoduché zabezpečenie aplikácie.
- Heslá by mali byť pred uložením do databázy hashované, aby sa zabránilo neoprávnenému prístupu.
- Ochrana proti falšovaniu krížových požiadaviek (Cross-Site Request Forgery, CSRF) pridáva token do každého formulára, aby sa zabránilo útokom typu cross-site request forgery.

V príspevku sme však nespomenuli všetky bezpečnostné prvky, ale iba tie hlavné, ktoré Laravel poskytuje. V pláne je implementovať záznam bezpečnostných hlásení (audit log). Ďalším možným vylepšením bezpečnosti je implementácia dvojfaktorovej autentifikácie, takže by bolo potrebné používateľa overiť napríklad cez aplikáciu v mobile.

Poďakovanie

Táto práca vznikla s podporou projektu KEGA 012UCM-4/2021 Moderné technológie a inovácie vo výučbe sieťovej bezpečnosti.

Použitá literatúra

[1] Top 10 Web Application Security Risks. OWASP: OWASP Top Ten [online]. Okt 1, 2021 [cit. 2023-03-10]. Dostupné z: https://owasp.org/www-project-top-ten/

[2] SQL injection. PortSwigger [online]. [cit. 2023-03-10]. Dostupné z: https://portswigger.net/web-security/sql-injection

[3] Laravel LLC. Database: Getting Started. *Laravel A Framework For Web Artisans* [online]. [cit. 2023-03-10]. Dostupné z: https://laravel.com/docs/10.x/database

[4] S, Kirsten. Cross Site Scripting (XSS). OWASP [online]. [cit. 2023-03-10]. Dostupné z: https://owasp.org/www-community/attacks/xss

[5] Laravel LLC. Blade Templates. *Laravel A Framework For Web Artisans* [online]. [cit. 2023-03-10]. Dostupné z: https://laravel.com/docs/10.x/blade

[6] S, Kirsten. Cross Site Request Forgery (CSRF). OWASP [online]. [cit. 2023-03-10].

Dostupné z: https://owasp.org/www-community/attacks/csrf
[7] Laravel LLC. CSRF Protection. Laravel A Framework For Web Artisans [online]. [cit. 2023-03-07]. Dostupné z: https://laravel.com/docs/9.x/csrf
[8] Laravel LLC. Authentication. Laravel A Framework For Web Artisans [online]. [cit. 2023-03-07]. Dostupné z: https://laravel.com/docs/9.x/authentication
[9] Laravel LLC. Authorization. Laravel A Framework For Web Artisans [online]. [cit. 2023-03-07]. Dostupné z: https://laravel.com/docs/9.x/authorization
[10] Logging Cheat Sheet. OWASP Cheat Sheet Series [online]. [cit. 2023-03-10]. Dostupné z: https://cheatsheetseries.owasp.org/cheatsheets/Logging_Cheat_Sheet.html
[11] Laravel LLC. Hashing. Laravel A Framework For Web Artisans [online]. [cit. 2023-03-07]. Dostupné z: https://laravel.com/docs/9.x/hashing
[12] BEAL, Vangie. Cookie. *Webopedia* [online]. October 20, 2021 [cit. 2023-03-07]. Dostupné z: https://www.webopedia.com/definitions/cookie/
[13] Guest. How to Secure Cookies With Laravel. *Cookie Law Info* [online]. October 14, 2022 [cit. 2023-03-07]. Dostupné z: https://www.cookielawinfo.com/how-to-secure-cookies-with-laravel/
[14] Laravel LLC. HTTP Session. *Laravel A Framework For Web Artisans* [online]. [cit. 2023-03-07]. Dostupné z: https://laravel.com/docs/10.x/session
[15] Session hijacking attack. *OWASP* [online]. [cit. 2023-03-07]. Dostupné z: https://owasp.org/www-community/attacks/Session_hijacking_attack
[16] Session fixation. *OWASP* [online]. [cit. 2023-03-07]. Dostupné z: https://owasp.org/www-community/attacks/Session_fixation
[17] Laravel LLC. Session. *Laravel A Framework For Web Artisans* [online]. [cit. 2023-03-07]. Dostupné z: https://laravel.com/docs/9.x/session#regenerating-the-session-id

Proces klasifikácie emocionálneho stavu podľa charakteristík správania sa používateľa

The process of classifying an emotional state according to the characteristics of the user behavior

Ľubomír Cverčko[1]
Školiteľ: Martin Magdin[2]
[1,2]Katedra informatiky, FPVaI UKF, Tr. A. Hlinku 1, 949 01 Nitra[3]
[1]lubomir.cvercko@student.ukf.sk, [2]mmagdin@ukf.sk

Abstrakt

Klasifikácia emócií založená na správaní používateľa je novou oblasťou výskumu v oblasti interakcie medzi človekom a počítačom. Táto štúdia skúma reálnosť používania počítačovej myši počas hier ako prostriedku na klasifikáciu emocionálnych stavov. Primárnym cieľom je preskúmať spoľahlivosť a presnosť navrhovaného prístupu k automatickej klasifikácii emócií. Štúdia zahŕňala empirické skúmanie na vzorke účastníkov hrajúcich vytvorenú hru a komplexný prehľad predchádzajúceho výskumu v oblasti klasifikácie emočného stavu. Výsledky naznačujú, že správanie sa používateľa pri používaní počítačovej myši môže byť spoľahlivým indikátorom emočných stavov a model strojového učenia dokáže pomerne presne klasifikovať emócie práve na základe správania sa používateľa. Navrhnutý prototyp poskytuje dôležité podklady pre návrh interaktívnych systémov a interakciu medzi človekom a počítačom, pre jeho nový prístup k pochopeniu emócií používateľov a reagovaniu na jednotlivé podnety.

Kľúčové slová: klasifikácia emócií, automatická klasifikácia, interakcia medzi človekom a počítačom, správanie sa používateľa.

Abstract

Emotion classification based on user behavior is a new field of human-computer interaction research. This study investigates the feasibility of using a mouse during gaming as a means of classifying emotional states. The primary objective is to investigate the reliability and accuracy of the proposed approach to automatic emotion classification. The study included an empirical investigation of a sample of participants playing a created game and a comprehensive review of previous research in the field of emotional state classification. The results suggest that mouse behavior can be a reliable indicator of emotional states, and the machine learning model can fairly accurately classify emotions based on mouse behavior. The proposed prototype provides important data for the design of interactive systems and human-computer interaction, for its new approach to understanding user emotions and reacting to them.

Keywords: classification of emotions, automatic classification, human-computer interaction, user behavior.

Úvod

Pochopenie ľudských emócií je všeobecne zložitá problematika. Výskumníci v rôznych oblastiach použili viaceré nástroje a techniky na pochopenie a odvodenie ľudských emócií. S príchodom umelej inteligencie sa túto tematiku podarilo viac rozvinúť, aby samotné stroje dokázali lepšie pochopiť emócie svojich používateľov [1].

Z pohľadu umelej inteligencie je možné s určitou úspešnosťou klasifikácie vytvoriť automatický rozpoznávací systém, ktorý je však silne závislý od predchádzajúcich fáz rozpoznávacieho procesu [2].

Na základe kombinácie získaných údajov zo správania sa používateľa, ktoré bolo vyvolané emocionálnymi reakciami, môžu výskumníci získať komplexnejšie pochopenie toho, ako ľudia reagujú na rôzne situácie, a ako to súvisí s ich správaním. Tieto informácie možno použiť na navrhovanie efektívnejších riešení na báze emócií, alebo marketingových kampaní, ktoré sú lepšie prispôsobené emocionálnym reakciám ľudí. Pochopenie emocionálnej reakcie človeka na rôzne podnety môže pomôcť výskumníkom a odborníkom navrhnúť intervencie, ktoré s väčšou pravdepodobnosťou dosiahnu požadovaný výsledok. Napríklad, ak je určité správanie sa používateľa spojené s pozitívnou emocionálnou reakciou, podnet, ktorý toto správanie podporuje, môže byť účinnejší ako ten, ktorý emócie nezohľadňuje. Ak by sa podarilo vyvinúť inteligentný systém, ktorý dokáže interagovať s človekom prostredníctvom emócií, to by znamenalo,

že dokáže odhaliť emócie používateľa a podľa toho zmeniť svoje správanie. Potom by používanie strojov mohlo byť efektívnejšie a priateľskejšie.

1 Úvod do problematiky

V práci sme sa rozhodli zbierať dáta prostredníctvom počítačovej myši. V kontexte detekcie emócií je použitie neinvazívnych metód obzvlášť dôležité, pretože emócie sú často krát osobné a intímne záležitosti, o ktorých sa ľudia môžu zdráhať otvorene vyjadriť. Pomocou neinvazívnych metód, ako je napríklad počítačová myš, môžu výskumníci zbierať údaje bez toho, aby narušili súkromie alebo osobný priestor osoby. Zber údajov pomocou počítačovej myši je teda praktická, pohodlná a cenovo výhodná metóda, ktorá môže poskytnúť presné a spoľahlivé údaje o emocionálnom stave používateľa.

Hlavnou výhodou použitia počítačovej myši je, že predstavuje všadeprítomný senzor, ktorý je integrovaný do každodenného života mnohých ľudí a umožňuje nepretržitý zber údajov bez potreby sofistikovaného vybavenia a bez toho, aby používateľ musel meniť svoje zaužívané správanie alebo návyky [3].

Údaje ktoré prostredníctvom tejto metódy je možné zozbierať sú napríklad: počet kliknutí myšou, rýchlosť pohybu myši alebo rýchlosť stlačenia klávesov. Hlavné výhody použitia interakcie s počítačom sú: nenápadnosť, neinvazívny spôsob merania vplyvu priamo na počítači bez akýchkoľvek dodatočných zariadení, súbežnosť s práve vykonávanou úlohou [4].

1.2 Postup

Prvotným krokom bola analýza súčasného stavu, ktorá predstavovala štúdium dostupných zdrojov na základe odporučení školiteľa. Tým boli vyselektované relevantné a odporúčané zdroje. Primárnou stránku praktickej časti práce, bola tvorba hry na extrakciu emócií na základe správania sa používateľov. Zvolili sme tzv. „klikací“ štýl hry, v ktorej používateľ používa počítačovú myš a kliká na objekty, ktoré sa náhodne objavujú na obrazovke. Okrem hry teda používateľ vyplní 2 dotazníky, jeden pred odohratím a druhý po odohratí. Pred odohratím sme sa opýtali prostredníctvom dotazníka napr. Ako sa používateľ cíti pred začatím hry, či je pravák alebo ľavák, koľko má rokov, či má skúsenosti s počítačovými hrami, prípadne ako často ich hráva a taktiež, aké je pre danú osobu dôležité mať kontrolu nad intenzitou emócií. Následne používateľ odohral hru, dáta boli odoslané do databázy. V druhom dotazníku, ktorý musel používateľ vyplniť po skončení hry sme primárne zisťovali emocionálne zmeny po odohraní. Zisťovali sme teda napr. Ako sa používateľ cítil počas hrania, aká bola podľa neho náročnosť hry, či si užil alebo neužil hru, či hra splnila jeho očakávania alebo nie, ako sa mu darilo kontrolovať intenzitu jeho emócií a či by si chcel zahrať znova.

1.3 Získavanie dát – pred odohraním

Získavanie dát prostredníctvom dotazníkov bol jeden z kľúčových aspektov tejto práce. Pred hraním hry bolo dôležité poznať emocionálny stav hráča, pretože to nám umožnilo určiť, ako sa cítil ešte pred tým, ako začal hrať a teda bolo možné porovnať emocionálny stav používateľa pred a po odohraní hry a určiť, či hra mala vplyv na jeho emócie (taktiež aká bola intenzita týchto zmien).

1.4 Získavanie dát – po odohraní

Keď hráč odohral hru, znova vyplnil dotazník, ktorým boli zachytávané zmeny v emocionálnom stave, a taktiež prípadná intenzita týchto zmien. Tento dotazník nám pomohol zistiť, či došlo k nejakým zmenám v emocionálnom stave hráča v dôsledku hrania hry. Tieto dáta z oboch dotazníkov sme spojili spolu s dátami z hry na základe používateľského mena, ktoré zadal každý hráč. Pri posielaní dát bol dôležitý faktor deaktivovania firewallu, keďže sa jedná o .exe aplikáciu.

1.5 Štruktúra a princíp hry

Vývoj hry začínal tvorbou konceptu a mechaník hry. Cieľom bolo vytvoriť hru, ktorá by bola ľahko pochopiteľná, pokiaľ možno návyková, malaby jednoduchý dizajn a zároveň bezchybné fungovanie. Po vzniku rôznych konceptov sme začali so samotným vývojom v prostredí Python. Zvolili sme knižnicu Pygame pre jej jednoduchosť a účinnosť v rámci našich požiadaviek. V prostredí hry sa pohybujú objekty, na ktoré používateľ kliká, tieto objekty sú rôznych tvarov a veľkostí aj farieb. Generujú sa náhodne, aj ich pohyb a rýchlosť pohybu sú náhodné v určitom rozpätí. Cieľom hry je, za čo najkratší čas získať čo najvyššie skóre. Cieľové skóre na základe mnohých testovaní sme nastavili na 1300 bodov. Počet objektov, ktoré sa objavujú na obrazovke je 20. Spočiatku a postupne každých 10 sekúnd ubúdajú 2 objekty. Herný čas je nastavený na 1 minútu, to znamená že objektov je čoraz menej. Ak sa hráč netrafí do objektu stráca skóre, ak sa trafí získava. Rôzne objekty dávajú mierne

odlišné skóre a schválne nemajú kolízie. Je to preto, že ak je hráč šikovný a všimne si to, tak vie kliknúť na viacero objektov naraz jedným kliknutím, čím získava viac bodov. Počas hry zbierame rôzne dáta od používateľa ako napr:

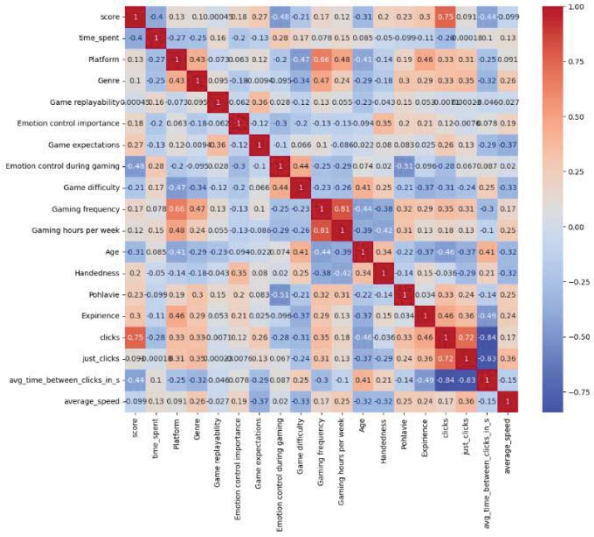
- počet zásahov (koľko krát hráč zasiahol klikateľný objekt),
- používateľské meno (na základe toho spájame jeho výsledné dáta s dátami z dotazníkov),
- skóre (aké skóre nahral počas hry, pri klikaní na objekty),
- počet minutí (koľko krát hráč netrafil klikateľný objekt),
- priemerný čas medzi kliknutiami (priemerné časové okno medzi jednotlivými kliknutiami používateľa)
- rýchlosť pohybu myši (ako rýchlo sa pohyboval po obrazovke s myškou).

2 Výsledky a diskusia

Výsledné dáta v prvom kole pozostávajú z 31 vzoriek. To sú dáta v ktorých bolo používateľské meno vo všetkých 3 vstupoch (dotazníky aj hra) zhodné.

Na začiatku sme predspracovali všetky dáta do takej podoby, aby sa s nimi dalo lepšie pracovať. Priložený obrázok Heatmapy ukazuje jednotlivé korelácie premenných v našom výskume. Odstránili sme nepotrebné dáta a premenili sme textové na číselné prostredníctvom funkcie map(). Napríklad hodnotu „Denne“ v stĺpci „Frekvencia hrania hier“ sme namapovali na „5“, zatiaľ čo hodnotu „Niekoľkokrát za týždeň“ sme namapovali na číslo „4“. To uľahčilo prácu s údajmi v nasledujúcich analýzach, pretože číselné hodnoty sú často užitočnejšie pre matematické výpočty a vizualizácie ako reťazcové hodnoty.

Spočiatku sme si zvolili ako klasifikačný algoritmus random forest na prvotné testovanie, pričom sme použili všetky dáta, ktoré sme mali k dispozícii. Presnosť prvého pokusu bola 0.428. Preto sme sa rozhodli použiť korelačnú analýzu, aby sme vedeli lepšie určiť, ktoré hodnoty sú pre moje výpočty nepotrebné. Taktiež sme v modeloch nechali vypísať dôležitosť jednotlivých dát, na základe ktorých sme vyhodnotili výslednú presnosť.



Obrázok 1 Korelačná analýza – heatmapa
Zdroj: [autor]

2.1 Prvotné výsledky

Po následnej úprave dát, sme vždy použili dáta podľa toho, ako daný model vyhodnotil dôležitosť jednotlivých hodnôt, na základe ktorých robil vyhodnotenia. Random forest po odstránení niektorých dát vykazoval o niečo vyššiu presnosť, a to 0.58. Avšak presnosť nebola stále dostatočná. Vzhľadom na menšie množstvo dát sme sa rozhodoli aplikovať prevzorkovanie (oversampling). Výsledky ukázali jednoznačné zlepšenie po viacerých stránkach. Tabuľka 1 zobrazuje všetky premenné použité daným modelom a ich percentuálnu dôležitosť. Ukážka výsledkov po aplikovaní oversamplingu na random forest:

Accuracy: 0.9230769230769231
Classification Report:

	precision	recall	f1-score	support
Happy	1.00	0.75	0.86	4
Neutral	0.75	1.00	0.86	3
Unhappy	1.00	1.00	1.00	1
Very happy	1.00	1.00	1.00	5
accuracy			0.92	13
macro avg	0.94	0.94	0.93	13
weighted avg	0.94	0.92	0.92	13

Confusion Matrix:
[[3 1 0 0]
[0 3 0 0]
[0 0 1 0]

[0 0 0 5]]
Cross-validation Scores: [0.846 1. 0.846 0.923 0.833]
Average CV Score: 0.8897435897435898

Tabuľka 1 dôležitosť dát v random foreste
Zdroj: [autor]

Feature	Importance	Importance %
Handedness	0.003325	0.332547
Gaming hours per week	0.012507	1.250705
Pohlavie	0.013547	1.354682
Expirience	0.016449	1.644893
Gaming frequency	0.02638	2.638
Game expectations	0.028912	2.891233
time_spent	0.031954	3.195397
Platform	0.033415	3.341525
Genre	0.045042	4.504241
Emotion control importance	0.050557	5.055674
Age	0.051663	5.166292
Game difficulty	0.053721	5.372137
just_clicks	0.073794	7.379356
clicks	0.074045	7.404545
average_speed	0.074235	7.423548
avg_time_between_clicks_in_s	0.080422	8.042233
Game replayability	0.092551	9.255078
Emotion control during gaming	0.098465	9.846461
score	0.139015	13.90145

S použitím SVM a prevzorkovania sa nám podarilo dosiahnuť nasledovné výsledky:

SVM - Number of samples after oversampling: 64
Accuracy: 0.8461538461538461
Classification Report:

	precision	recall	f1-score	support
Happy	1.00	0.75	0.86	4
Neutral	0.67	0.67	0.67	3
Unhappy	1.00	1.00	1.00	1
Very happy	0.83	1.00	0.91	5
accuracy			0.85	13
macro avg	0.88	0.85	0.86	13
weighted avg	0.86	0.85	0.84	13

Confusion Matrix:
[[3 1 0 0]
[0 2 0 1]
[0 0 1 0]
[0 0 0 5]]
Cross-validation Scores: [0.769 0.923 0.923 0.923 0.833]
Average CV Score: 0.8743589743589745

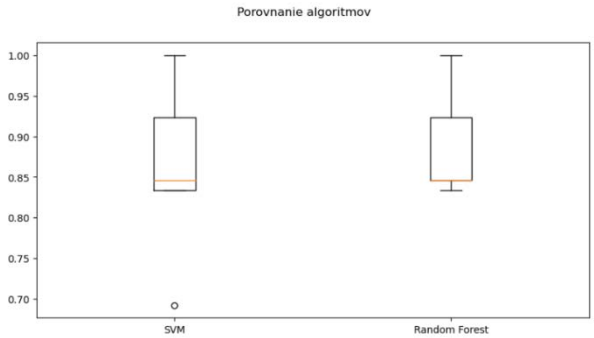
Pri použití Decision trees sme dosiahli takmer rovnaké výsledky ako pri Random foreste, s tým, že model prioritizoval iné hodnoty. Záleží to však aj od množstva dát:

DT - Number of samples after oversampling: 64
Accuracy: 0.9230769230769231
Classification Report:

	precision	recall	f1-score	support
Happy	1.00	0.75	0.86	4
Neutral	0.75	1.00	0.86	3
Unhappy	1.00	1.00	1.00	1
Very happy	1.00	1.00	1.00	5
accuracy			0.92	13
macro avg	0.94	0.94	0.93	13
weighted avg	0.94	0.92	0.92	13

Confusion Matrix:
[[3 1 0 0]
[0 3 0 0]
[0 0 1 0]
[0 0 0 5]]

Upravovaním modelu decision tree (vstupných dát) sa nám podarilo zvýšiť presnosť na 0.916. To bola najvyššia dosiahnutá presnosť za použitia rozhodovacích stromov.
Porovnali sme dva modely SVM a Random Forest a vyhodnotili sme ich pomocou krížovej validácie s 5 záhybmi. Výsledky a názvy sme uložili do dvoch zoznamov a vykreslili ich pomocou krabicového grafu. Krabicový graf na obrázku 2 zobrazuje distribúciu skóre krížovej validácie pre každý algoritmus, čo nám umožnilo porovnať medián, medzikvartilový rozsah a odľahlé hodnoty pre každý model. Vyššie stredné skóre a menší medzikvartilový rozsah naznačujú lepší výkon. Konkrétne:
SVM: 0.858974 (0.102564)
Random Forest: 0.889744 (0.063639)



Obrázok 2 porovnanie SVM a RF
Zdroj: [autor]

Záver

Na základe výsledkov, ktoré sme získali sa zdá, že modely SVM aj Random Forest fungovali dobre pri klasifikácii emócií prežívaných pri hraní hier, s podobným celkovým skóre presnosti. Model decision trees mal veľmi podobné výsledky ako random forest aj preto sme neuviedli priame porovnanie, líšili sa vzhľadom na množstvo dát minimalisticky.

Pokiaľ ide o maticu zmätku (confusion matrices), oba modely mali určité nesprávne klasifikácie, najmä v kategórii Neutral, kde model SVM nesprávne klasifikoval jednu vzorku ako Šťastnú a model Random Forest nesprávne klasifikoval jednu vzorku ako Nešťastnú.

Skóre krížovej validácie pre oba modely bolo tiež celkom dobré. S priemerným CV skóre 0.874 pre SVM a 0.890 pre Random Forest. Celkovo mal model Random Forest o niečo lepší výkon ako SVM, s lepšou presnosťou a o niečo lepším skóre presnosti a vybavovania. Oba modely však vykázali dobrý výkon a dali sa použiť na predpovedanie emocionálneho stavu v podobných prípadoch.

Po dokončení tohto projektu možno dospieť k záveru, že použitie techník prevzorkovania bolo prospešné pri zlepšovaní presnosti klasifikácie modelov. Prostredníctvom rôznych implementačných krokov vrátane predspracovania údajov, nastavenia vhodných parametrov a výberu správnych modelov sme dosiahli dostatočne dobrú presnosť modelov.

Poďakovanie

Ďakujem doc. PaedDr. Martin Magdin, Ph.D. - môjmu odbornému poradcovi, ktorý bol prínosom pri písaní diplomovej práce a za jeho odborné konzultácie a cenné pripomienky.

Použitá literatúra

[1] SAINI, Taranpreet Singh – BEDEKAR, Mangesh – ZAHOOR, Saniya. 2017. Circle of Emotions in Life: Emotion Mapping in 2Dimensions. In: Proceedings of the 9th International Conference on Computer and Automation Engineering, vol. Part F127852, pp. 83–88. doi: 10.1145/3057039.3057046.

[2] MAGDIN, Martin – KAPUSTA, Jozef – KOPRDA, Štefan. 2022. Investigation of Behavioral Characteristic Parameters Intended for Emotional State Classification. In IEEE Access, vol. 10, pp. 129029–129041, doi: 10.1109/ACCESS.2022.3227627

[3] FREIHAUT, Paul, et al. 2021. Tracking stress via the computer mouse? Promises and challenges of a potential behavioral stress marker. In Behavior Research Methods, pp. 1-21, doi: 10.5281/zenodo.4004776.

[4] ZIMMERMANN, Philippe, et al. 2003. Affective computing—a rationale for measuring mood with mouse and keyboard. In International journal of occupational safety and ergonomics, vol. 9, no. 4, pp. 539-551, doi: 10.1080/10803548.2003.11076589.

Implementácia SSH honeypot-u na nízko-energetickom zariadení

Implementation of SSH honeypot on low-power device

Dominik Hrinkino[1]
Školiteľ: Marek Šimon[2]
[1,2]Katedra aplikovanej informatiky, FPV UCM, Nám. J. Herdu 2, 917 01 Trnava
[1] hrinkino1@ucm.sk, [2] marek.simon@ucm.sk

Abstrakt

Nami vybraný príspevok sa zaoberá riešením implementácie SSH honeypot-u na nízko-energetické zariadenie, ako možnou alternatívou k súčasným možnostiam implementácie v cloude alebo na tradičnom serveri. Pri návrhu riešenia sme vytvorili model SSH honeypot-u. Navrhnuté riešenie SSH honeypot-u bolo podľa definovaných požiadaviek implementované na nízko-energetické zariadenie. Následne zariadenie bolo pripojené do siete Internet pre zber údajov. Výsledkom práce je reálne poukázanie na využitie nízko- energetického zariadenia ako SSH honeypot a jeho výhody oproti nasadeniu na tradičný server, pomocou ukážky totožnej funkcionality modelu a meraním priemerného energetického odberu oboch zariadení. Motivácia výberu tejto témy pre článok bolo reálne nasadenie nízko-energetických zariadení, ktoré dokážu podporiť tvorbu sieťovej bezpečnosti v domácnostiach, SOHO prostrediach, ale aj vo veľkých spoločnostiach, pričom takouto implementáciu je možné redukovať celkové energetické nároky, čo sa nám potvrdilo aj pomocou vykonaných meraní.

Kľúčové slová: Honeypot, SSH Honeypot, nízko-energetické zariadenie, Raspberry Pi

Abstract

This article concerns the implementation of SSH Honeypot for low-energy device as a viable alternative to current implementation options on the cloud or a traditional server. During the development of our solution, we created an SSH Honeypot model, which has been implemented in a low-energy device according to the defined requirements. Afterwards, the device was connected to the internet for data collection. The conclusion of our work emphasizes the use of a low-energy device for SSH Honeypot and its advantages to a traditional server through a demonstration of similarity in the model function and measurement of the average energy consumption of both devices. The motivation for the choice of this subject is a realistic setup of a low-energy device that can increase network security in a household, a SO-HO environment but also in large companies, which can, through this implementation, reduce the energy demand, as we proved through our findings.

Key Words: Honeypot, SSH Honeypot, low-power device, Raspberry Pi

Úvod

Moderné počítačové systémy a moderné počítačové siete sú častokrát cieľom útokov. Tradičná tvorba bezpečnostných politík v sieťovej a systémovej bezpečnosti nestačí a mnohokrát sa správcovia musia prikloniť k netradičným spôsobom podpory tvorby bezpečnostných politík. Jednou z možností je práve využitie SSH Honeypot-u [1].

Taktiež vďaka neustále sa zvyšujúcim cenám energie, spoločnosti, ale aj domácnosti sú nútené drasticky znižovať spotrebu elektrickej energie. Práve vďaka tomuto je veľmi náročné implementovať nové služby na tradičné servery. Práve z tohto dôvodu je zaujímavé využitie nízko-energetických zariadení, ktorých spotreba sa môže pohybovať v rámci zopár wattov, oproti tradičným serverom, ktorých spotreba môže byť až v stovkách wattov.

Moderné nízko-energetické zariadenia ako Raspberry Pi nám vďaka podpore GNU/Linuxových distribúcií otvára mnoho možností implementácií bezpečnostných modelov, ktoré môžu byť implementované aj na tradičných serveroch [2].

1 HoneyPot

HoneyPot je definovaný ako softvér, alebo služba, ktorej primárna úloha je správať sa ako systém, ktorý obsahuje zraniteľnosť pomocou ktorej je možné eskalovať privilégia, ako je napríklad prihlásenie sa do systému, získanie kontroly nad sieťou alebo nad databázou [1].

Takýto systém avšak je zväčša plne emulovaný. To znamená, že systém nie je reálne nasadený, ale je

nasadená emulácia, ktorej úlohou je odpovedať útočníkovi, tak ako očakáva od reálne systému. Takto postavený systém honeypot-u pri pripojení útočníka zaznamenáva celú jeho aktivitu. Získané dáta môžu byť následne analyzované a ukladané pre potreby správcu. Práve tieto dáta sú veľmi cenné pri tvorbe bezpečnostnej politiky. Tvorca bezpečnostnej politiky dokáže na základe takýchto dát sledovať a hľadať vzorce útokov, správanie útočníka v systéme, prípadne úkony, ktoré sú vykonávané na kompromitovanom systéme. Systém honeypot-u dokáže získavať metadáta útočníka, ako je napríklad IP adresa, využité prihlasovacie údaje alebo SSH klient pomocou ktorého sa na honeypot pripojil [3].

Na základe týchto všetkých údajov, je možné budovať kvalitné bezpečnostné politiky, ktoré by bolo zložité vytvoriť pomocou tradičných spôsobov, ako je napríklad IDS (Intrusion detection system) alebo pomocou logovania firewallu [1].

1.1 SSH HoneyPot

SSH honeypot je typ honeypotu, ktorý implementuje najviac používaný spôsob prihlásenia sa na vzdialené zariadenie SSH. SSH často nájdeme implementované na linuxových a UNIXových operačných systémoch. SSH honeypot najčastejšie implementuje plne interaktívne prostredie s plne funkčným systémom [1, 4].

Takéto interaktívne systémy sa najčastejšie prezentujú ako reálne GNU/Linuxové operačné systémy, ktoré implementuje všetky základné príkazy.

1.2 Raspberry Pi

Séria Raspberry Pi je prvá séria od Raspberry Pi Foundation. Jedná sa o mikropočítač založený na ARM procesoroch. V poslednej revízií sú mikropočítače Raspberry Pi založené na 64-bitovom štvorjadrovom Cortex-A72 ARMv8 procesore, ktorý je integrovaný v systéme na čipe od spoločnosti Broadcom BCM2711. Vďaka takejto konfigurácii na tejto sérií mikropočítačov je možné prevádzkovať viacero druhov GNU/Linuxových distribúcií.

Všetky mikropočítače od Raspberry Pi Foundation nie sú dodávané s diskovým úložiskom pre softvér. Diskové úložisko je riešené pomocou slotu pre MicroSD kartu, ktorú používateľ si musí dokúpiť separátne.

Zariadenia Raspberry Pi sú taktiež známe vďake ich pomeru výpočtového výkonu a energetickej spotrebe. Preto sú veľmi rozšírené u nadšencov, ktorý sa chcú vyhnúť serverom s vysokou spotrebou [5].

1.3 Definícia požiadaviek

Nami vytvorený honeypot musel spĺňať základné funkcionality GNU/Linuxových operačných systémov. Práve takúto funkcionalitu sprostredkováva služba cowrie [6].

Cowrie je nástupca populárnej implementácie SSH honeypot-u menom Kippo. Služba cowrie je plne napísaná v programovacom jazyku Python, a vďaka tomu je dostupná pre viacero architektúr procesora. Vďaka tejto funkcionalite je možné túto službu nasadiť aj na nízko-energetické zariadenie Raspberry Pi, ktoré práve je osadené procesorom ARM [7].

Celkové výstupy z cowrie môžu byť zložité na celkovú analýzu, preto často takéto služby obsahujú webové prostredie pre prezeranie záznamov a pre prípadné dátové ťaženie. Takéto prostredie implementuje webová aplikácia kippo-graph, ktorá bola primárne vyvíjaná pre práve vyššie spomínaný Kippo, avšak podporuje aj implementáciu SSH honeypotu pomocou cowrie [8].

Keďže webová aplikácia vyžaduje jedine webový server s podporou PHP, je možné takéto riešenie implementovať aj na Raspberry Pi.

Poslednou požiadavkou bolo centrálne úložisko. Cowrie ponúka viacero možností. Pri tomto modely sme použili databázový systém MariaDB, ktorý je podporovaný oboma aplikáciami cowrie a rovnako aj kippo-graph.

2 Implementácia na Raspberry Pi

Pre implementáciu na Raspberry Pi sme použili oficiálny operačný systém Raspberry Pi OS. Jedná sa o formu GNU/Linuxovej distribúcie, ktorá je podobná obdobnej distribúcie GNU/Linux Debian, ktorá je rozšírená na tradičných serverových platformách.

Na takomto systéme je možné už inštalovať špeciálne upravené balíky pre architektúru procesora ARM.

Cowrie je distribuovaný vo forme zdrojových kódov v programovacom jazyku Python. Z toho dôvodu sme museli do systému doinštalovať podporné aplikácie, ktoré sú potrebné pre správne fungovanie a inštalovanie aplikácie cowrie.

Raspberry Pi OS, rovnako ako GNU/Linux Debian využíva Advanced Package Manager (APT) pre správu a inštaláciu balíkov aplikácií.

```
apt-get install git python3-virtualenv libssl-dev libffi-dev build-essential
libpython3-dev python3-minimal authbind virtualenv
```

SSH honeypot je vhodné spúšťať pod separátnym používateľom. Takéto nastavenie zvyšuje bezpečnosť hostiteľského systému a zamedzuje plnej kompromitácie hostiteľského systému spôsobenej chybou služby cowrie.

Po vytvorení a zmene používateľa, je potrebné získať najnovšiu verziu cowrie z verejného GitHub repozitára pomocou Git. Cowrie využíva python virtual enviroment pre izoláciu balíkov potrebných pre spustenie. Finálna inštalácia všetkých závislostí bola vykonaná pomocou príkazu.

python -m venv cowrie-env && source cowrie-env/bin/activate && python -m pip install --upgrade pip && python -m pip install --upgrade -r requirements.txt

Spustený príkaz nám nainštaloval všetky potrebné knižnice pre fungovanie služby.

Služba cowrie podporuje aj Telnet HoneyPot. Keďže nami zvolené požiadavky definovali jedine SSH honeypot, túto službu sme nechali vypnutú v konfiguračnom súbore *cowrie.cfg*, ktorý sme vytvorili skopírovaním *cowrie.cfg.dist*.

V poslednom kroku pred inštaláciou webového prostredia sme nainštalovali databázový systém MariaDB. Cowrie vyžaduje pre správnu funkcionalitu podpornú python knižnicu *mysql-connector-python*. Následne sme vytvorili separátneho databázového používateľa pre cowrie a z pomocného súboru *mysql.sql*, ktorý je distribuovaný so zdrojovým kódom cowrie sme inicializovali databázu vytvorením validnej tabuľkovej štruktúry (Obr. 1).

```
MariaDB [(none)]> CREATE DATABASE cowrie;
Query OK, 1 row affected (0.001 sec)

MariaDB [(none)]> GRANT ALL ON cowrie.* TO 'cowrie'@'localhost' IDENTIFIED BY 'cowrie';
Query OK, 0 rows affected (0.008 sec)

MariaDB [(none)]> FLUSH PRIVILEGES;
Query OK, 0 rows affected (0.002 sec)

MariaDB [(none)]> USE cowrie;
Database changed
MariaDB [cowrie]> source mysql.sql;
Query OK, 0 rows affected (0.387 sec)
```

Obr. 1 Vytvorenie databázovej schémy
Zdroj: autor

Cowrie v štandardnej konfigurácií neposiela svoje údaje do databázového systému, preto bolo potrebné konfiguráciu upraviť, ako je vidieť na obrázku 2.

```
[output_mysql]
enabled = true
host = localhost
database = cowrie
username = cowrie
password = cowrie
port = 3306
debug = true
```

Obr. 2 Konfigurácie Cowrie pre podporu MySQL
Zdroj: autor

Ako webový server pre Kippo-graph sme použili Apache2, hlavne z dôvodu jednoduchej implementácie a možnosťou podpory jazyka PHP. Kippo-graph vyžaduje rovnako ako Cowrie podporné knižnice. Pre náš prípad to boli knižnice pre jazyk PHP a podporu PHP v Apache2. Tie sme nainštalovali nasledovne.

apt-get install apache2 libapache2-mod-php php7.4-mysql php7.4-gd php7.4-curl php7.4-xml

Po inštalácií apache2 sme nahrali súbory kippo-graph do */var/www/html* adresára.

Kippo-graph vyžadoval taktiež dodefinovanie jeho konfiguračného súboru. Súbor sme upravili nasledovne podľa obrázka 3.

```
define('DIR_ROOT', dirname(__FILE__));
require_once(DIR_ROOT . '/include/languages/lang.en.php');

define('DB_HOST', '127.0.0.1');
define('DB_USER', 'cowrie');
define('DB_PASS', 'cowrie');
define('DB_NAME', 'cowrie');
define('DB_PORT', '3306');

define('GEO_METHOD', 'LOCAL');
define('REALTIME_STATS', 'YES');

define('TOR_CHECK', 'NO');
define('UPDATE_CHECK', 'NO');
define('PLAYBACK_SIZE_IGNORE', '0.3');

define('BACK_END_ENGINE', 'cowrie');

define('BACK_END_PATH', '/home/cowrie/cowrie-2.3.0/');

define('PLAYBACK_SYSTEM', 'JS');
```

Obr. 3 Konfigurácia Kippo-graph
Zdroj: autor

2.1 Implementácia na GNU/Linux Debian

Ako sme spomenuli pri implementácií modelu na Raspberry Pi, operačný systém Raspberry Pi OS vychádza z operačného systému GNU/Linux Debian. Preto nebolo pre nás nutné modifikovať konfiguráciu a postup implementácie zhotoveného modelu pre zariadenia x86_64.

Počas implementácie na GNU/Linux Debian teda nedošlo k zmene postupu oproti Raspberry Pi a môžeme konštatovať, že model je implementovaný úplne totožne na oboch zariadeniach. Rovnako taktiež poskytujú totožnú funkcionalitu.

2.2 Testovanie riešenia

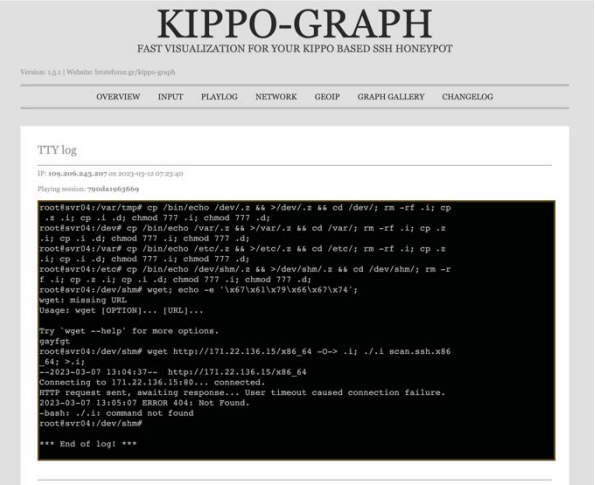
Keďže nami implementovaný SSH honeypot má pôsobiť ako reálny GNU/Linux Debian systém, náš test spočíval v nasadení a pripojení do reálnej siete Internet.

Cowrie štandardne ako neprivilegovaná aplikácia nedokáže využívať nízke TCP porty, preto je potrebné pomocou dodatočných technológií, ako je napríklad PAT (Port Address Translation) presmerovať prevádzku

z portu 22/TCP, ktorý je využívaný pre SSH komunikáciu.

Nastavenie presmerovania portov sme zabezpečili pomocou Linuxového firewallu IPtables, ktorý implementuje možnosti NAT v GNU/Linuxových distribúciách [9].

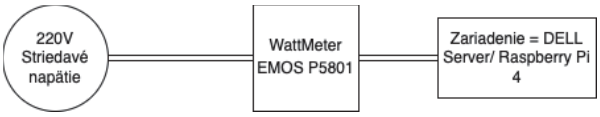
Nami navrhnuté riešenie sa vyhodnotilo ako úspešné, na základe toho, že sa nám podarilo zachytiť pripojenia a ich aktivita bola plne monitorovaná, ako je vidieť na obrázku 4.



Obr. 4 Zaznamenaná relácia pripojeného používateľa
Zdroj: autor

3 Výsledky a diskusia

Primárnou metrikou meraní pri týchto zariadeniach je priemerná elektrická energia. Pre toto testovanie bol vybraný časový úsek jednej hodiny, pričom hodnota bola zberaná každú minútu. Hodnoty boli následne spriemerované aritmetickým priemerom. Meranie spočívalo v meraní počas troch scenárov využitia zariadení. Merania sme vykonávali pomocou wattmetra P5801 od spoločnosti EMOS. Podľa schémy zapojenia ktorá je vidieť na obrázku 5.

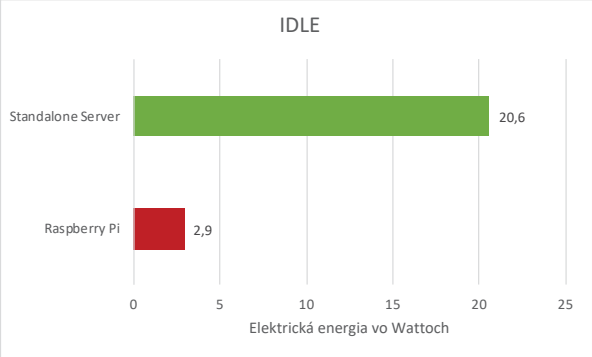


Obr. 5 Schéma zapojenia zariadení
Zdroj: autor

Pre napájanie sme pri zariadení Raspberry Pi využili oficiálny USB-C adaptér SC0217. To hlavne z dôvodu, že je oficiálne odporúčaný od Raspberry Pi Foundation.

3.1 Porovnanie energetickej spotreby pri kľudovom stave

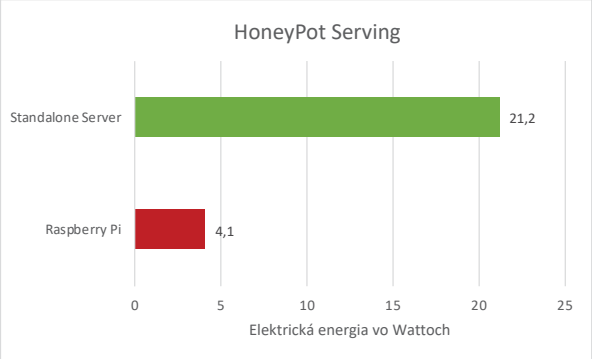
Prvý scenár meral hodnotu zariadenia počas kľudového (IDLE) stavu bez žiadnych dodatočných služieb. V tomto stave zariadenie malo spustený len operačný systém, so všetkými preddefinovanými hodnotami, ktoré neboli menené. Dáta sme zaznamenali v stĺpcovom grafe 1.



Graf 1 Výsledky merania elektrickej energie podľa prvého scenára
Zdroj: autor

3.2 Porovnanie energetickej spotreby so zapnutým honeypot-om

Druhý scenár spočíval v meraní hodnoty elektrickej energie so zapnutým SSH honeypot-om bez pripojených útočníkov. V takomto stave zariadenie nebolo verejne dostupné z internetu, avšak zariadenie plne obsluhovalo všetky služby SSH honeypot-u. Výsledky boli zaznamenané do grafu 2.

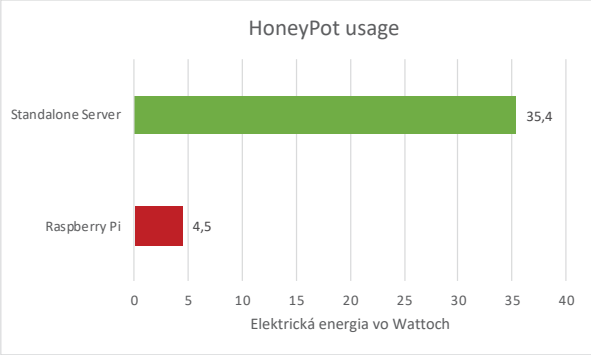


Graf 2 Výsledky merania elektrickej energie podľa druhého
Zdroj: autor

3.3 Porovnanie energetickej spotreby pri využívaní honeypot-u

Posledný, tretí scenár spočíval v meraní elektrickej energie pričom SSH honeypot bol verejne prístupný a

obsluhoval pripojených útočníkov. V tomto stave zariadenie obsluhovalo SSH honeypot a bolo plne prístupné zo siete Internet. Získané hodnoty sme spriemerovali a zaznamenali do grafu 3.



Graf 3 Výsledky merania elektrickej energie podľa tretieho scenára
Zdroj: autor

Záver

Keďže nami vybraný model bol nasadený úplne totožne na zariadení Raspberry Pi a na tradičnom servery, ktorý bol reprezentovaný serverom Dell PowerEdge R210 II, tak sme potvrdili možnosť využitia nízko-energetických zariadení ako alternatívu oproti tradičným serverom.

Zaujímavosťou bolo zistenie určitej regulácie energie, kde napríklad pri rovnakej záťaži v treťom scenári Raspberry Pi zvýšilo svoje energetické nároky iba o 0,4 Wattu, na druhej strane server Dell zvýšil spotrebu až o 14,2 Wattu.

Práve takéto hodnoty môžu byť zaujímavé pre menšie podniky, ktoré vďaka súčasnému stavu optimalizujú energetické nároky v ich prevádzkach, prípadne domácnostiach.

Popri meraní sme súbežne monitorovali pripojenia na honeypot. Zaujímavosťou bolo zistenie veľkého množstva pripojení pomocou SSH klienta jazyka Go. Rovnako sme detegovali veľké množstvo pokusov o presmerovanie portov, tvorbu SSH tunelov, ale aj pokus o presmerovanie X11. Práve takéto zistenia by boli náročnejšie zistiť pomocou tradičných metód a dodali nám cenné informácie, pomocou ktorých vieme zabezpečiť produkčné zariadenia. Súčastne sme spozorovali veľké množstvo pripojení zo serverových fariem renomovaných hostingových poskytovateľov, kde sa pravdepodobne jednalo o pripojenia z kompromitovaných zákazníckych serverov.

Nízko-energetické zariadenia dokážu byť plnohodnotnou alternatívou v oblastiach sieťovej bezpečnosti oproti tradičným serverom, alebo nákladovo náročným „Software-as-a-service“ riešeniam, ktoré ponúkajú niektoré spoločnosti. Hlavne z dôvodu dostatočného výkonu a rozsiahlou podporou balíčkov vďaka GNU/Linuxovým distribúciám.

Práca sa dá rozvíjať ďalej, či už v oblasti HoneyPot-u a prípadne ďalších meraní spotreby elektrickej energie, napríklad pod DDoS útokom [10]. Eventuálne implementáciou ďalších modelov sieťovej bezpečnosti na nízko-energetické zariadenia, ako môže byť napríklad DNS over HTTPS Proxy na nízko-energetickom zariadení.

Poďakovanie

Práca bola financovaná grantom „KEGA 012UCM-4/2021 Moderné technológie a inovácie vo výučbe sieťovej bezpečnosti“.

Použitá literatúra

[1] VALERO, José María Jorquera, et al. Identification and classification of cyber threats through SSH honeypot systems. In: Handbook of Research on Intrusion Detection Systems. IGI Global, 2020. p. 105-129

[2] Raspberry Pi OS [online]. 37 Hills Rd, Cambridge CB2 1NT, Spojené kráľovstvo: Raspberry Pi Foundation, 2023 [cit. 2023-03-14]. Dostupné z: https://www.raspberrypi.com/software/

[3] DOUBLEDAY, Harry; MAGLARAS, Leandros; JANICKE, Helge. SSH honeypot: building, deploying and analysis. 2016.

[4] MCCAUGHEY, Ryan J. Deception using an SSH honeypot. Naval Postgraduate School Monterey United States, 2017.

[5] Raspberry Pi 4 Model B specification. Raspberry Pi [online]. London,UK: Raspberry Pi Foundation, 2019 [cit. 2022-11-10]. Dostupné z: https://www.raspberrypi.com/products/raspberry-pi-4-model-b/

[6] KYRIAKOU, Andronikos; SKLAVOS, Nicolas. Container-based honeypot deployment for the analysis of malicious activity. In: 2018 Global Information Infrastructure and Networking Symposium (GIIS). IEEE, 2018. p. 1-4.

[7] Cowrie's Documentation [online]. Michel Oosterhof, 2013 [cit. 2023-03-15]. Dostupné z: https://cowrie.readthedocs.io/en/latest/

[8] MOORE, Chris; AL-NEMRAT, Ameer. An analysis of honeypot programs and the attack data collected. In: Global Security, Safety and Sustainability: Tomorrow's Challenges of Cyber Security: 10th International Conference, ICGS3 2015, London, UK,

September 15-17, 2015. Proceedings 10. Springer International Publishing, 2015. p. 228-238.
[9] MARMORSTEIN, Robert M.; KEARNS, Phil. An Open Source Solution for Testing NAT'd and Nested iptables Firewalls. In: LISA. 2005. p. 11-11
[10] ŠIMON, Marek; HURAJ, Ladislav; ČERŇANSKÝ, Michal. Performance evaluations of IPTables firewall solutions under DDoS attacks. Journal of Applied Mathematics, Statistics and Informatics, 2015, 11.2: 35-45.

Užitočná aplikácia pre rozpoznávanie tvári

Intelligent application for face recognition

Jakub Daxner[1]
Školiteľ: Jarmila Škrinárová[2]
[1,2]Katedra informatiky, FPV UMB, Tajovského 40, 974 09 Banská Bystrica,
[1] jakub.daxner@student.umb.sk, [2] Jarmila.Skrinarova@umb.sk

Abstrakt

Technológia rozpoznávania tváre je typ technológie, ktorá využíva umelú inteligenciu a algoritmy strojového učenia. Bakalárska práca rozvíja koncept inteligentného rozpoznávania tváre. Inteligentné rozpoznávanie tváre sa dostáva do popredia deň čo deň a jeho povedomie iba rastie. Medzi ukážkové príklady patrí rozpoznávanie tváre pri odomykaní mobilného zariadenia. Alebo rozpoznávanie tváre pri vstupu do firmy. Potreba implementovať tvárové rozpoznanie do moderných technológií je jeden z cieľov mnohých firiem. Stále však nemôžeme tvrdiť, že umelé systémy môžu nahradiť ľudskú schopnosť identifikovať osobu. Teoretická časť obsahuje automatické rozpoznanie tváre na základe čŕt a zahŕňa v sebe rozpoznávacie funkcie. Praktická časť práce sa zaoberá skonštruovaním rozpoznávacieho zariadenia tváre. Toto zariadenie je schopné rozpoznať tvár testera a to za pomoci troch algoritmov. Jeden na zachytenie tváre. Druhý na trénovanie modelu a tretí na otvorenie zámku.

Kľúčové slová: Umelá inteligencia, rozpoznávanie tváre, obvod.

Abstract

Facial recognition technology is a type of technology that uses artificial intelligence and machine learning algorithms. The bachelor's thesis develops the concept of intelligent face recognition. Intelligent facial recognition is coming to the fore day by day and its awareness is only growing. Prime examples include facial recognition when unlocking a mobile device. Or facial recognition when entering the company. The need to implement facial recognition in modern technologies is one of the goals of many companies. However, we still cannot identify the person. The theoretical part contains automatic face recognition based on features and includes feature recognition. The practical part of the work contains construction of a face recognition device. This device can recognize the tester's face with the help of three algorithms. One to capture the face. The second is for training the model and the third is for opening the lock.

Key Words: Artificial Intelligence, face recognition, circuit.

Úvod

Softvérové nástroje umelej inteligencie sa za posledné desaťročie významne zlepšili. V dnešnej dobe máme možnosť nasnímať tvár používateľa v okamihu sekundy. A to za pomoci open-source knižníc ako sú OpenCV alebo Face_recognition. Práca prezentuje náročnosť úlohy extrakcie rysov tváre a spôsoby riešenia. Praktickú časť reprezentuje vytvorený obvod, ktorého činnosťou je rozpoznať a identifikovať používateľa za pomoci algoritmu na rozpoznania tváre.

1 Extrakcia rysov tváre

Extrakcia rysov tváre zahŕňa v sebe lokalizáciu najcharakteristickejších komponentov tváre (oči, nos, ústa atď.) na obrázkoch, snímkach alebo videách, zobrazujúcich ľudskú tvár. Tento krok je nevyhnutný pre inicializáciu mnohých techník spracovania obrazu tváre, ako je sledovanie tváre, výraz tváre alebo rozpoznávanie tváre. Každá z týchto techník je živou oblasťou výskumu rozpoznávania tvárí. V posledných rokoch sa vynaložilo veľké úsilie na navrhovanie a porovnávanie rôznych techník. Dôležitým aspektom každého lokalizačného algoritmu je jeho presnosť. Ukázalo sa však, že rozpoznávanie tváre je značne nepresné pri lokalizácii komponentov tváre. Toto je dôvod prečo je dôležité dosiahnuť automatické, robustné a presné riešenie. [1]

1.1 Všeobecný opis

Rozpoznanie tváre je schopnosť počítačového systému identifikovať alebo overiť identitu osoby. Táto definícia nám dovoľuje sa sústrediť na časť s identifikáciou, respektíve problémom s overovaním. Systém si vyžaduje ako vstup obraz tváre a následne určuje identitu subjektu na základe databázy známych osôb. V poslednom kroku musí systém potvrdiť alebo zamietnuť identitu, ktorú si subjekt nárokuje. Bez

ohľadu na formuláciu problému si jeho riešenie vyžaduje splnenie troch po sebe nasledujúcich úloh: detekcia tváre, extrakcia vlastností tváre a rozpoznanie tváre. Pokiaľ je nám známe, oči sú jediné črty tváre, potrebné na inicializáciu akéhokoľvek tvárového rozpoznania (angl. The face recognition techniques, FRT). V skutočnosti je to jediná informácia, ktorú potrebujú tie metódy, ktoré fungujú pri zosúlaďovaní oblasti tváre. [1]

1.2 Detekcia tváre

Detekcia tváre je prvým krokom v automatickom rozpoznávaní tváre. Veľký vplyv má jeho spoľahlivosť na výkon a použiteľnosť celého systému rozpoznávania tvárí. Ideálny detektor tváre by mal byť schopný identifikovať a lokalizovať všetky prítomné tváre z obrazu, bez ohľadu na ich polohu, mierku, orientáciu, vek a výraz. Ďalej táto detekcia by mala byť úspešná bez ohľadu na podmienky vonkajšieho osvetlenia a obsahu obrazu a videa. Detekciu tváre možno vykonať na základe niekoľkých podnetov, farba pleti, pre tváre na farebných obrázkoch a videí, pohyb, pre tváre vo videách, tvar hlavy alebo vzhľad tváre. Je možná kombinácia týchto parametrov. [2]

1.2.1 Filtrovanie farby pleti

Ľudská pokožka má svoje vlastné rozloženie farieb, ktoré sa líši od väčšiny objektov. Môže sa použiť na filtrovanie vstupného obrazu a na získanie jednotlivých oblastí tvárí a tiež sa môže použiť na konštrukciu samostatného detektora tváre podľa farby pleti pre špeciálne prostredia. Jednoduchý algoritmus detekcie tváre, na základe farieb pozostáva z dvoch krokov. Segmentácia pravdepodobných oblasti tváre a zlúčenie oblastí. [2]

1.3 Dôležitosť presnej lokalizácie očí

K chybe nastáva pri polohe očných centier, táto chyba polohy je vyjadrená ako štatistická chyba distribúcie oka. Väčšinou priemer alebo maximum. Aby bolo možné vytvoriť tieto štatistiky zmysluplné, aby sa dali použiť na porovnanie výsledkov získaných na ľubovoľnom súbore údajov, je potrebné štandardizovať jej chybu. Používa sa napr. chybová metrika, ktorú zaviedol Jesorsky v roku 2001, a prijali ju mnohé výskumné práce, ktoré sa zaoberali lokalizáciou očí. Táto relatívna chyba [1], ktorá môže byť súčasťou analýzy najhoršieho prípadu, je definovaná vzťahom:

$$d\mathrm{eye} = \frac{max(||Cl-\widetilde{Cl}||,||Cr-\widetilde{Cr}\,||)}{||Cl-Cr||} \qquad (1)$$

Tu vidíme $(\mathrm{Cl}, \mathrm{Cr})$, ktoré stoja za pevnou pozíciou očného centra a $(\widetilde{\mathrm{Cl}}, \widetilde{Cr})$, zodpovedné za automatickú lokalizáciu oka.

2 Rozpoznávanie tváre pri mobilných aplikáciách

V dnešnom prepojenom svete hrá mobilný telefón veľmi dôležitú úlohu, pričom ovplyvňuje rôzne aspekty každodenného života človeka. Potreba udržiavať bezpečnosť informácií v mobilných zariadeniach je čoraz dôležitejšia a čoraz ťažšia. Väčšina súčasných telefónov má zabezpečenie za pomoci autentifikácie. Autentifikácia overuje, či používateľ alebo systém je tým, za koho sa vydáva, na základe identity napr. používateľského mena a hesla. Mobilné zariadenia sa dajú ľahko stratiť alebo ukradnúť, navyše heslo môže byť ľahko napadnuté alebo odhalené. Na tento účel je potrebná vysoká úroveň autentifikácie pre mobilné zariadenia. Fyzické vlastnosti človeka, ako sú odtlačky prstov, tvár, ruka, geometria, hlas a dúhovka, sú známe ako biometrické vlastnosti. Tieto vlastnosti sú používané k poskytnutiu dvojfázovej autentifikácie. Používateľské meno a heslá možno nahradiť. Tvár je najvhodnejšou biometriou, ktorú možno použiť na autentifikáciu v mobilných zariadeniach, pretože tieto zariadenia majú zvyčajne fotoaparáty. [3]

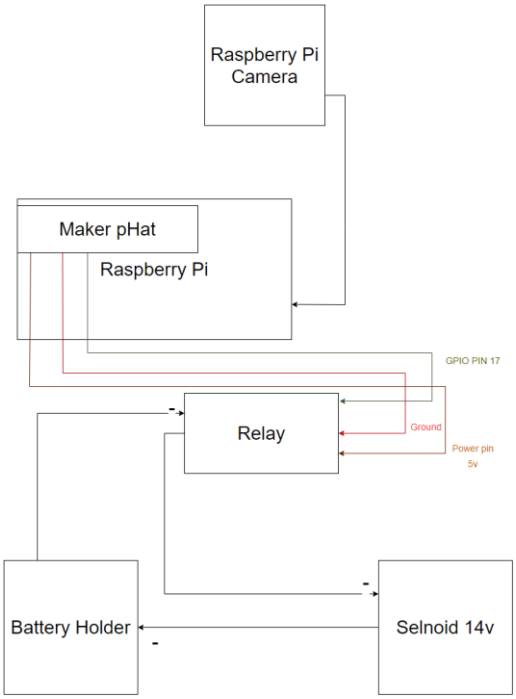
2.1 Redukcia dimenzionality údajov

Analýza hlavných komponentov údajov (angl. Principal Component Analyses, PCA) konvertuje každý dvojrozmerný obrázok na jednorozmerný vektor. Tento vektor sa potom rozloží na ortogonálne nekorelované základné komponenty, známe ako tzv. vlastné tváre. Inými slovami, technika vyberá črty obrázka alebo tváre, ktoré sa líšia od zvyšku obrázka. Každý obrázok tváre je reprezentovaný ako vážený súčet, vektor vlastností, vlastných tvárí, ktoré sú uložené v jednorozmernom poli, vektore. Každý komponent predstavuje len určitú črtu tváre, ktorá môže, ale nemusí byť prezentovaná na pôvodnom obrázku. Obrázok sa porovnáva s obrázkom z galérie, meraním vzdialenosti medzi ich príslušnými vektorovými prvkami. Aby PCA fungovalo dobre, obraz musí byť podobný obrazu z galérie, pokiaľ ide o veľkosť alebo mierku, pózu a osvetlenie. Vo všeobecnosti platí, že PCA je primerane citlivá na zmeny mierky. [3]

3 Hardvérová časť systému

Na obrázku vidíme snímku hardvéru. Úložisko bateriek drží v sebe dve batérie o napätí 3.7 V. Slúžia ako zdroj

napätia pre relé, ktoré dostáva signál od zariadenia Raspberry Pi. Raspberry Pi slúži ako riadiaci prvok, ktorý na základe nadefinovaného kódu (softvéru) posiela signál, ktorý ovláda zámok. Relé má obsadené tri vstupy po pravej strane. Medzi obsadené vstupy patrí GND ako uzemnenie, GPIO PIN 17 ako signál z pinu 17 a POWER PIN pre prúd, pozri obrázok 1. Raspberry Pi kamera zachytáva svoje okolie a následne posiela živý záznam Raspberry Pi, ktorý podľa rozpoznanej tváre otvorí alebo nechá zamknutý zámok. Použitý hardvér vidíme na obrázku 2.



Obr 1: Bloková schéma obvodu.
Zdroj: Jakub Daxner

Obr 2: Snímka hardvéru.
Zdroj: Jakub Daxner

4 Softvérová časť systému

Každý jeden z troch algoritmoch je naprogramovaný v jazyku Python. Softvér vyžaduje inštaláciu balíčkov za pomoci nástroja pip-install.

4.1 Vytvorenie skupiny a ich priradenie

V rámci bezpečnosti som vytvoril skupinu používateľov, tzv. *testers*. Tejto skupine som priradil štyri súbory, ktoré môžu byť spustené iba používateľom, ktorý je súčasťou skupiny používateľov. Pozri obrázok 3.

Nastavenie skupiny a jej priradenie

```
groupadd testers
chgrp testers face.py
chgrp testers face_rec.py
chgrp testers face_shot.py
chgrp testers train_model.py
```

Obr 3: Priradenie do skupín.
Zdroj: Jakub Daxner

4.2 Softvér na zachytenie snímky

Nahranie potrebnej knižnice cv2 na prácu s kamerou. Nastavíme premennú `name` na meno testera, v tomto

prípade Jakuba. Nastavíme kameru `cam`. Vytvoríme okno o veľkosti 500 pixelov na 300 pixelov. Nastavíme premennú `img_counter` na nula. Pozri obrázok 4

```
face_shot.py

import cv2

name = 'Jakub' #Potrebné zmeniť na meno testera

cam = cv2.VideoCapture(0)

cv2.namedWindow("Stlač medzerník pre spravenie fotky", cv2.WINDOW_NORMAL)
cv2.resizeWindow("Stlač medzerník pre spravenie fotky", 500, 300)

img_counter = 0
```

Obr 4: Zachytenie snímky 1. časť kódu.
Zdroj: [4]

Tento kód zachytáva snímky z videa pomocou kamery. Tester môže stlačením medzerníka vytvoriť fotografiu, ktorá sa následne uloží ako súbor formátu JPG do priečinka `dataset`. Cyklus trvá nekonečne dlho, až do momentu keď používateľ stlačí klávesu ESC na ukončenie programu. Funkcia `cam.read()` vracia dve hodnoty `ret` (boolean hodnota označujúca, či bol snímok úspešne zachytený) a `frame` (zachytený snímok). Ak je `ret` False, znamená to, že snímok nebol úspešne zachytený, takže program vypíše chybné hlásenie a opustí cyklus. cv2.waitKey(1) čaká na kľúčovú udalosť. Stlačenie klávesy. Pozri obrázok 5.

```
face_shot.py

while True:
    ret, frame = cam.read()
    if not ret:
        print("Chyba zaznamenať snímok")
        break
    cv2.imshow("Pre vytvorenie fotky stlač medzerník", frame)

    k = cv2.waitKey(1)
    if k%256 == 27:
        # ESC stlačené
        print("Zatváranie programu...")
        break
    elif k%256 == 32:
        # Stlačený SPACE
        img_name = "dataset/"+ name +"/image_{}.jpg".format(img_counter)
        cv2.imwrite(img_name, frame)
        print("{} Uložený!".format(img_name))
        img_counter += 1

cam.release()

cv2.destroyAllWindows()
```

Obr 5: Zachytenie snímky 2. časť kódu.
Zdroj: [4]

Ak sa po stlačení klávesy hodnota k%256 rovná 27 (ASCII hodnota pre klávesu ESC), program vypíše správu a opustí cyklus. Ak sa po stlačení klávesy hodnota k%256 rovná 32 (hodnota ASCII pre medzerník), program uloží snímku ako obrazový súbor JPG do adresára dataset pomocou funkcie cv2.imwrite(). Program zvyšuje premennú img_counter, aby sledoval počet uložených obrázkov. Keď sa slučka skončí, kamera sa uvoľní pomocou funkcie cam.release() a okno sa zatvorí pomocou funkcie cv2.destroyAllWindows().

4.3 Softvér na trénovanie modelu

```
train_model.py

#! /usr/bin/python

# Načítame potrebné knižnice
from imutils import paths
import face_recognition
import argparse
import pickle
import cv2
import os
```

Obr 6: Trénovanie modelu, nahranie potrebných knižníc.
Zdroj: [4]

Načítanie potrebných knižníc imutils, face_recognition, argparse, pickle, cv2 a os. Pozri obrázok 6.

```
train_model.py

# Naše fotky testerov sa nachádzajú v priečinku "dataset"
print("[INFO] Procesovanie snímok...")
imagePaths = list(paths.list_images("dataset"))

# Inicializovanie známych mien
knownEncodings = []
knownNames = []
```

Obr 7: Trénovanie modelu, získanie ciest k obrázkom.
Zdroj: [4]

Získame všetky cesty k obrázkom zo súboru dataset pomocou funkcie `imutils.paths.list_images()` z knižnice `imutils`. Inicializujeme dve prázdne knižnice `knownEncodings` a `knownNames`. Pozri obrázok 7.

```python
train_model.py

for (i, imagePath) in enumerate(imagePaths):
  # Procesovanie fotky s indexom
  print("[INFO] processing image {}/{}".format(i + 1, len(imagePaths)))
  name = imagePath.split(os.path.sep)[-2]

  # Načítať vstupný obrázok
  image = cv2.imread(imagePath)
  rgb = cv2.cvtColor(image, cv2.COLOR_BGR2RGB)

  # Zistíme (x, y) súradnice ohraničujúcich rámčekov
  # zodpovedajúc každej tvári na vstupnom obrázku
  boxes = face_recognition.face_locations(rgb, model="hog")

  encodings = face_recognition.face_encodings(rgb, boxes)

  # Vytvorenie slučky cez premennú encodings
  for encoding in encodings:
    # Pridáme meno do našej množiny známych mien
    knownEncodings.append(encoding)
    knownNames.append(name)
```

Obr 8: Trénovanie modelu, extrakcia tváre.
Zdroj: [4]

Táto časť kódu číta množinu obrázkov a extrahuje tvár každého obrázku za pomoci face_recognition knižnice. Pozri obrázok 8.

```python
train_model.py

# Vloženie tvárových vlastností a samotných tvári na disk
# do súboru "encodings.pickle"
print("[INFO] serializing encodings...")
data = {"encodings": knownEncodings, "names": knownNames}
f = open("encodings.pickle", "wb")
f.write(pickle.dumps(data))
f.close()
```

Obr 9: Trénovanie modelu, ukladanie formy pickle.
Zdroj: [4]

Tu sa snažíme o ukladanie tváre a ich zodpovedajúcich názvov na disk. Pozri obrázok 9.

4.4 Softvér na otvorenie zámku

```python
solenoid_opener.py

#! /usr/bin/python

# import necessary packages
from imutils.video import VideoStream
from imutils.video import FPS
import face_recognition
import imutils
import pickle
import time
import cv2
import RPi.GPIO as GPIO
```

Obr 10: Otváranie zámku, načítanie knižníc.
Zdroj: [5]

Nahráme potrebné knižnice. Medzi tieto knižnice patria face_recognition, imutils, pickle, time, cv2 a GPIO. Pozri obrázok 10.

```python
solenoid_opener.py

RELAY = 17
GPIO.setwarnings(False)
GPIO.setmode(GPIO.BCM)
GPIO.setup(RELAY, GPIO.OUT)
GPIO.output(RELAY,GPIO.LOW
```

Obr 11: Otváranie zámku, nastavenie GPIO pinu.
Zdroj: [5]

Vstup resp. výstup pre všeobecné využitie (angl. General Purpose Input/Output, GPIO) je štandardné rozhranie používané na pripojenie mikrokontrolérov k iným elektronickým zariadeniam. GPIO je potrebné nastaviť tak, ako to uvádza obrázok 11.

```python
solenoid_opener.py

#Inicializovanie tváre na "unknown"
currentname = "unknown"
#Determinujeme tváre zo súboru encodings.pickle vygenerovaný z train_model.py
encodingsP = "encodings.pickle"
#Použijeme tento XML súbor
#https://github.com/opencv/opencv/blob/master/data/haarcascades/haarcascade_f
rontalface_default.xml
cascade = "haarcascade_frontalface_default.xml"
```

Obr 12: Otváranie zámku, nastavenie haarcascade.
Zdroj: [5]

Nastavíme aktuálnu tvár na "unknown" a načítame už rozpoznané tváre. Pozri obrázok 12

```python
solenoid_opener.py

print("[INFO] loading encodings + face detector...")
data = pickle.loads(open(encodingsP, "rb").read())
detector = cv2.CascadeClassifier(cascade)
```

Obr 13: Otváranie zámku, načítanie dát.
Zdroj: [5]

CascadeClassifier, implementovaný v obrázku 13, je trieda v knižnici OpenCV, ktorá implementuje algoritmus detekcie tváre Viola-Jones. Detekcia objektov pomocou kaskádových klasifikátorov, založených na Haarových funkciách, je efektívna metóda detekcie objektov, ktorú navrhli Paul Viola a Michael Jones vo svojom článku „Rýchla detekcia objektov pomocou zvýšenej kaskády jednoduchých funkcií" v roku 2001. Ide o prístup založený na strojovom učení, kde kaskádová funkcia je trénovaná z množstva pozitívnych a negatívnych obrazov. Potom sa používa na detekciu objektov na iných obrázkoch.

Na začiatku algoritmus potrebuje veľa pozitívnych obrázkov (obrázkov tvárí) a negatívnych obrázkov (obrázky bez tvárí) na trénovanie klasifikátora. Každý prvok je jedna hodnota získaná odčítaním súčtu pixelov pod bielym obdĺžnikom od súčtu pixelov pod čiernym obdĺžnikom. [6]

```
solenoid_opener.py

# inicializujte tok videa a nechajte snímač fotoaparátu zahriať sa
print("[INFO] starting video stream...")
vs = VideoStream(src=0).start()
#vs = VideoStream(usePiCamera=True).start()
time.sleep(2.0)

# Zapnutie FPS
fps = FPS().start()

prevTime = 0
doorUnlock = False
```

Obr 14: Otváranie zámku, inicializácia videa.
Zdroj: [5]

Vytvorenie slučky pre zaznamenávanie obrazu kamerou. Obrázok 15. Zapnutie snímok za sekundu (angl. Frame per seconds, FPS). Pozri obrázok 14.

```
solenoid_opener.py

while True:
    # Nastavenie veľkosti obrazovky na 500px
    frame = vs.read()
    frame = imutils.resize(frame, width=500)

    gray = cv2.cvtColor(frame, cv2.COLOR_BGR2GRAY)
    rgb = cv2.cvtColor(frame, cv2.COLOR_BGR2RGB)

    # Detekovanie tvári
    rects = detector.detectMultiScale(gray, scaleFactor=1.1,
        minNeighbors=5, minSize=(30, 30),
        flags=cv2.CASCADE_SCALE_IMAGE)


    boxes = [(y, x + w, y + h, x) for (x, y, w, h) in rects]
    encodings = face_recognition.face_encodings(rgb, boxes)
    names = []
```

Obr 15: Otváranie zámku, vytvorenie slučky.
Zdroj: [5]

Knižnica OpenCV vracia súradnice ohraničujúceho rámčeka v poradí (x, y, w, h). Ale potrebujeme ich v poradí (hore, vpravo, dole, vľavo). Pozri obrázok 15.

```
solenoid_opener.py

    for encoding in encodings:
        # Porovnanie tvári v datasete s vloženými tvárami z videa
        matches = face_recognition.compare_faces(data["encodings"],
            encoding)
        name = "Unknown" # Pokiaľ je nerozpoznaná tvár vlož "unknown"
```

Obr 16: Otváranie zámku, porovnanie tvári.
Zdroj: [5]

Prechádzame záznamom z kamery hľadajúc tvár, ktorú poznáme. Pozri obrázok 16.

```
solenoid_opener.py

    # If statement hľadajúci zhodu
    if True in matches:
        # Index zistených tvári
        matchedIdxs = [i for (i, b) in enumerate(matches) if b]
        counts = {}

        # Otvorenie zámku
        GPIO.output(RELAY,GPIO.HIGH)
        prevTime = time.time()
        doorUnlock = True
        print("door unlock")
```

Obr 17: Otváranie zámku, nájdenie zhody.
Zdroj: [5]

Ako náhle nájdeme zhodu tak pošleme signál, ktorý otvorí zámok. Následne vypíšeme do konzoly text "door unlock". Pozri obrázok 17.

```
solenoid_opener.py

        # Udržiavať počet pre
        # každú rozpoznanú tvár
        for i in matchedIdxs:
            name = data["names"][i]
            counts[name] = counts.get(name, 0) + 1

        # Zaznamenaj najväčší počet zobrazenie tváre daného používateľa
        name = max(counts, key=counts.get)

        #Pokiaľ je rozpoznaný užívateľ konzola vypíše jeho meno
        if currentname != name:
            currentname = name
            print(currentname)

    names.append(name)
```

Obr 18: Otvorenie zámku, počet výskytov mien.
Zdroj: [5]

Táto časť kódu iteruje cez indexy zhodných tvárí a počíta počet výskytov každého mena v `data` slovníku. Názov a jeho zodpovedajúci počet sú uložené v `counts`. Ďalej kód identifikuje meno s najvyšším počtom a priradí ho k premennej `name`. Ak sa identifikovaný tester líši od predchádzajúceho testera, kód aktualizuje premennú `currentname` a vypíše nové meno do konzoly. Nakoniec sa identifikované meno pripojí do knižnice `names`. Pozri obrázok 18.

```
solenoid_opener.py

#Zamknutie dverý po 5 sekundách
if doorUnlock == True and time.time() - prevTime > 5:
    doorUnlock = False
    GPIO.output(RELAY,GPIO.LOW)
    print("door lock")
```

Obr 19: Otvorenie zámku, zamknutie zámku.
Zdroj: [5]

Akonáhle sa nezobrazí na kamere tvár ktorú poznáme, začne plynúť časomiera, ktorá po piatich sekundách pošle signál na zatvorenie dverí. Konzola vypíše „door lock”. Pozri obrázok 19.

```
solenoid_opener.py

# Prejdenie cez rozpoznané tváre
for ((top, right, bottom, left), name) in zip(boxes, names):
    # Vypísanie predpovedanej tváre
    cv2.rectangle(frame, (left, top), (right, bottom),
        (0, 255, 0), 2)
    y = top - 15 if top - 15 > 15 else top + 15
    cv2.putText(frame, name, (left, y), cv2.FONT_HERSHEY_SIMPLEX,
        .8, (255, 0, 0), 2)

cv2.imshow("Facial Recognition is Running", frame)
key = cv2.waitKey(1) & 0xFF

# Opustenie kódu po stlačený klávesi "q"
if key == ord("q"):
    break
```

Obr 20: Otvorenie zámku, prejdenie cez rozpoznané tváre.
Zdroj: [5]

Nakoniec program okolo každej rozpoznanej tváre nakreslí obdĺžnik a na obrazovke zobrazí rám s menom danej tváre (pokiaľ ju poznáme). Program bude pokračovať, kým používateľ nestlačí klávesu q na ukončenie. Pozri obrázok 20

```
solenoid_opener.py

    fps.update()

# Zastavenie fps a zobrazenie prejdených snímok
fps.stop()
print("[INFO] elasped time: {:.2f}".format(fps.elapsed()))
print("[INFO] approx. FPS: {:.2f}".format(fps.fps()))

# Vyčistíme a zavrieme okná
cv2.destroyAllWindows()
vs.stop()
```

Obr 21: Otváranie zámku, zatvorenie video okna.
Zdroj: [5]

cv2.destroyAllWindows() zatvorí okno kamery. Zastavenie FPS. Pozri obrázok 21.

Záver

Podarilo sa nám ukázať základné definície a opisy tvárového rozpoznávania. Dôležitosť presnej lokalizácie biometrických prvkov ako aj možnosť pleťového rozdielu. Dôležitosť prepojenia s bezpečnosťou pri mobilných zariadeniach. Praktická časť predviedla tri algoritmy navrhnuté v programovacom jazyku Python. Tieto algoritmy boli schopné vytvoriť snímku z kamery, natrénovať model a otvoriť zámok.

Poďakovanie

Za odborné rady a noceniteľnú pomoc ďakujem školiteľke Jarmile Škrinárovej, Milanovi Rýsovi, Pavlovi Daxnerovi.

Použitá literatúra

PRÍSPEVKY ZVEREJNENÉ NA INTERNETE

[1] Paola Campadelli, Raffaella Lanzarotti and Giuseppe Lipori. https://www.face-rec.org/. [Online] [Dátum: 9. Marec 2023.] Dostupné z: https://www.face-rec.org/journals-books/Delac_Grgic_Face_Recognition.pdf.

[2] Li, Stan Z. Face Detection. Handbook of Face Recognition. s.l. : Springer, 2011, s. 405.

[3] Hassan Soliman, Ahmed Saleh, Eman Fathi. Face Recognition in Mobile Devices. [Online] 2. Jul 2013. [Dátum: 9. Marec 2023.] Dostupné z: https://www.researchgate.net/publication/271069265_Face_Recognition_in_Mobile_Devices.

[4] Anwar, Saud. Github. Github gist. [Online] 12. November 2020. [Dátum: 9. Marec 2023.] Dostupné z: https://gist.github.com/suadanwar/97e0763e4ea3a1438bf38d05c5bfa227.

[5] Anwar, Suad. Github. Github gist. [Online] 24. November 2020. [Dátum: 9. Marec 2023.] Dostupné z: https://gist.github.com/suadanwar/303fa9d7a028e2f6845aaddaa9ed7829.

[6] Jones, Paul Viola and Michael. OpenCV. [Online] 08-14. December 2001. [Dátum: 9. Marec 2023.] Dostupné z: https://www.cs.cmu.edu/~efros/courses/LBMV07/Papers/viola-cvpr-01.pdf.

[7] Divyarajsinh N. Parmar, Brijesh B. Mehta. Face Recognition Methods & Applications. [Online] 7. Február 2014. [Dátum: 9. Marec 2023.] Dostupné z: https://arxiv.org/ftp/arxiv/papers/1403/1403.0048.pdf.

[8] Face recognition technology: security versus privacy. Bowyer, Kevin W. 2004, IEEE Technology and society magazine.

Spôsob jednoduchého a efektívneho testovania používateľského zážitku a používateľského rozhrania

A way to easily and efficiently test the user experience and user interface

Adrián Bučor[1]
Školiteľ: Miroslav Ölvecký[2]
[1,2]Katedra aplikovanej informatiky, FPV UCM, Nám. J. Herdu 2, 917 01 Trnava
[1] bucor1@ucm.sk, [2] miroslav.olvecky@ucm.sk

Abstrakt

V príspevku je opísaný a aplikovaný spôsob ako jednoducho a cenovo efektívne otestovať a vyhodnotiť používateľské rozhranie a používateľský zážitok. Využili sme spôsob vzdialeného nemoderovaného testovania na koncových požívateľoch za pomoci nástroja Useberry. Testerom bola priradená séria úloh. Po dokončení úloh mohli testeri vyjadriť svoje postrehy a pocity. Pre vyhodnotenie používateľského zážitku a dojmov z rozhrania bol testerom distribuovaný System Usability Scale (SUS) dotazník, za pomoci ktorého sme vypočítali výsledné skóre testovaného dizajnu na škále od nula do sto bodov. Testovaním a analýzou dát získame hlbšie poznatky ako používatelia vnímajú testované rozhranie, ktoré nám pomohlo odhaliť konkrétne problémy s dizajnom a následne zvoliť správne riešenia pre zlepšenie používateľského zážitku.

Kľúčové slová: user interface (UI), user experience (UX), usability testing, remote testing, system usability scale

Abstract

This paper describes and applies a method to test and evaluate the user interface and user experience in a simple and cost-effective way. We used a method of remote unmoderated testing on end users using the Useberry tool. Testers were assigned a series of tasks. After completing the tasks, testers were able to express their insights and feelings. To evaluate the user experience and impressions of the interface, a System Usability Scale (SUS) questionnaire was distributed to the testers, using which we calculated a final score for the design under test on a scale of zero to one hundred points. By testing and analyzing the data, we gained a deeper understanding of how users perceived the tested interface, which helped us uncover specific design issues and subsequently choose the right solutions to improve the user experience.

Key Words: user interface (UI), user experience (UX), usability testing, remote testing, system usability scale

Úvod

Testovanie používateľského rozhrania (UI) a používateľského zážitku (UX) sú kľúčové kroky pri navrhovaní a vývoji digitálnych produktov. Testovanie používateľského rozhrania sa zameriava na hodnotenie vizuálnych a funkčných aspektov rozhrania, zatiaľ čo cieľom testovania používateľského zážitku je pochopiť, ako používatelia interagujú s produktom a aké sú ich celkové skúsenosti. Efektívne testovanie UI a UX môže poskytnúť cenné poznatky o správaní sa a preferenciách používateľov a pomôcť návrhárom prijímať informované rozhodnutia na zlepšenie použiteľnosti, prístupnosti a celkovej spokojnosti používateľov s produktom. Vykonávanie testovania UI a UX však môže byť náročné, pretože si vyžaduje starostlivé plánovanie, výber vhodných metód a analýzu výsledkov. Jedným z konkrétnych spôsobov hodnotenia efektívnosti používateľského rozhrania a UX je používanie stupnice použiteľnosti systému (SUS). V článku budeme opisovať používanie škály použiteľnosti systému (SUS) ako spoľahlivej a účinnej metódy testovania používateľského rozhrania a používateľského zážitku. Budeme sa zaoberať konkrétnou aplikáciou SUS, ako aj výhodami a obmedzeniami tejto metódy. Okrem toho budeme diskutovať o dôležitosti výberu vhodných úloh pre testovanie použiteľnosti a o tom, ako efektívne analyzovať a interpretovať výsledky SUS. Poskytnutím praktických odporúčaní a príkladov chce tento článok pomôcť dizajnérom a vývojárom efektívne začleniť SUS do ich procesu testovania používateľského rozhrania a používateľského zážitku, čo povedie k zvýšeniu spokojnosti používateľov a celkovému úspechu produktu.

1 System Usability Scale dotazník

Bol pôvodne vytvorený v roku 1986, ktorého autorom bol John Brooke. V dnešnej dobe slúži na vyhodnotenie širokej škály produktov a služieb od hardvéru, softvéru cez mobilné aplikácie až po web stránky. Stal sa priemyselným štandardom, na ktorý sa odkazuje vo viac ako 1300 článkoch a publikáciách [1]. Je taktiež známy ako „rýchla a špinavá“ škála prieskumu na vyhodnotenie použiteľnosti, ktorá umožňuje prieskumníkovi rýchlo a jednoducho vyhodnotiť testovaný produkt [2].

Medzi výhody System Usability Scale môžeme považovať:

- Je ľahko použiteľný na širokú škálu produktov.
- Šablóna dotazníka je ľahko dostupná na internete a je zadarmo.
- SUS je overená a spoľahlivá metóda, ktorá sa používa už desaťročia v stovkách štúdii [3].

SUS sa skladá z desiatich otázok, ktoré sú zodpovedané podľa Likertovej päť bodovej škály od najväčšieho nesúhlasu až po najväčší súhlas. Medzi otázky SUS patria:

1. produkt by som v prípade potreby rád/a použil/a,
2. produkt je zbytočne komplexný a zložitý,
3. produkt sa mi dobre používal,
4. potreboval/a by som technickú podporu, aby som mohol/a produkt používať efektívne,
5. rôzne funkcie produktu sú dobre spracované,
6. produkt je nekonzistentný,
7. povedal/a by som, že väčšina ľudí sa naučí s produktom pracovať rýchlo,
8. produkt je ťažkopádny a ťažko sa ovláda,
9. pri práci s produktom sa cítim pohodlne a isto,
10. musím sa naučiť veľa vecí, aby som vedel/a s produktom pracovať [3].

Hlavnou nevýhodou SUS je fakt, že neslúži ako diagnostika. Systém SUS nebol vytvorený za účelom diagnostiky problémov s používateľnosťou v testovanom systéme. Práve preto sa zvyčajne SUS distribuoval respondentom až po dokončení testu použiteľnosti, pričom všetky relácie musia byť zaznamenávané. Nízke skóre SUS naznačí výskumníkom, že v testovanom produkte sa nachádzajú chyby s použiteľnosťou a používateľským rozhraním. V takomto prípade je potrebné analyzovať nahrávané relácie za účelom zistenia daných problémov. SUS sa môže použiť aj bez testovania použiteľnosti na porovnanie výsledkov starej a novej verzie, ale výsledky nedokážu odhaliť dôvody prečo používatelia reagujú tak ako reagujú [4].

Pri preklade originálnych otázok SUS je dôležité otázky preložiť čo najjednoduchšie a najzrozumiteľnejšie. Je potrebné sa zamyslieť aj nad tým, či koncový používatelia jednotlivým otázkam pochopia. V inom prípade môže dôjsť k odchýlkam.

Systém SUS používa vlastný spôsob na výpočet výsledného skóre testovaného produktu. Sčítame všetky nepárne otázky a následne od získaného súčtu odpočítame päť, čím získame skóre za nepárne otázky teda x. Párne otázky sčítame a súčet odpočítame od hodnoty 25 aby sme získali y. Pre získanie výsledného skóre sčítame x a y a súčet vynásobíme konštantou 2,5. Týmto spôsobom získame výsledné skóre na stupnici od nula do sto [5].

2 Testovanie použiteľnosti

S testovaním použiteľnosti sa môžeme predovšetkým stretnúť pri metóde návrhu dizajnu zameraného na používateľa. Testovanie môže prebiehať v laboratóriách s menšou skupinou respondentov. V takomto prípade je možné bližšie pozorovať ako respondenti interagujú s testovaným digitálnym produktom. Jednou z týchto metód je metóda premýšľania nahlas, kedy respondent hlasito komentuje svoje pocity a názory pri používaní daného produktu [2]. Takýto spôsob testovania môže byť predovšetkým časovo náročný, či už z hľadiska samotného testovania alebo analýzy dát. Z toho dôvodu sme zvolili spôsob nemoderovaného vzdialeného testovania na koncových používateľoch.

Vzdialené testovanie používateľnosti nám umožní vykonávať test pričom respondent sa nachádza v jeho prirodzenom prostredí. Za pomoci online nástrojov na testovanie [6].

2.1 Testovanie použiteľnosti na základe úloh

Test by sa mal skladať z troch až piatich úloh, v niektorých prípadoch aj viac. Je dôležité aby celé testovanie netrvalo dlhšie ako 30 minút [6].

Testovanie na základe úloh je predovšetkým vhodné, ak hľadáme odpovede od viacerých používateľov na nami kladené otázky. Tieto otázky môžu byť napríklad:

- Prečo sa používatelia neprihlásia do odberu noviniek?
- Je navigácia na webovej stránke intuitívna a efektívna na používanie?
- Je jednoduché pre používateľov nájsť podstatné informácie, ktoré hľadajú o spoločnosti?

- Čo môže spôsobovať nižšiu mieru konverzie? [7].

Ako výhody vzdialeného testovania s úlohami môžeme považovať:

- Vyššia miera dokončenia úloh vďaka scenárom, ktoré sa podobajú na skutočné každodenné úlohy.
- Reálne výsledky pri správnom zavedení do praxe.
- Menej finančne nákladné, ako osobné testovanie v laboratóriu.
- Ľahká škálovateľnosť poznatkov na akýkoľvek počet používateľov [7].

Medzi nevýhody tohto spôsobu testovania patria:

- Zle pripravené úlohy môžu viesť k skresleným výsledkom, alebo dokonca ku škodlivým výsledkom.
- Scenáre, ktoré nie sú relevantné so skutočnými úlohami môžu používateľov odrádzať od dokončenia úloh.
- Testovanie má zmysel aplikovať len na high-fidelity prototypoch, alebo dokončených produktoch [7].

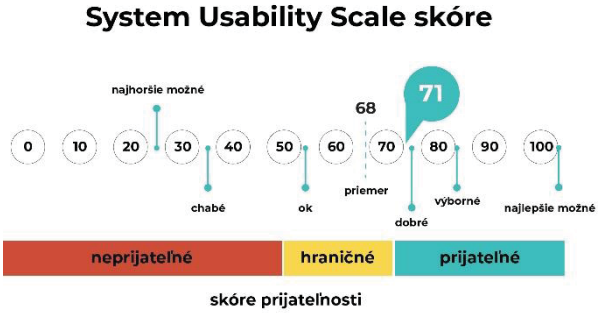
Je podstatné, aby sme pri vytváraní úloh pre testovanie inštrukcie ich nenapísali až príliš konkrétne. Teda aby sme používateľa neviedli. Úlohy a nápovede nesmú byť zaujaté, teda musia zachovať neutrálny postoj. Nápovede nesmú byť veľmi špecifické. V prípade, že dávame respondentom priestor vyjadriť svoje názory a postrehy po dokončení úloh musia byť otázky otvorené [8].

Pre testovanie sme použili nástroj Useberry, v ktorom sme pripravili šesť úloh s kontextom a scenárom. Tieto úlohy boli rovnaké pre mobilnú verziu webovej stránky aj verziu pre počítače. Respondentov sme získali za pomoci spoločnosti Hrajka, ktorá rozposlala svojím zákazníkom odkazy na testovanie v rámci svojho newslettru. Respondenti sú teda priamo koncoví používatelia testovanej webovej stránky. Respondenti boli rozdelení na dve skupiny, tí ktorí budú testovať mobilnú verziu a tých, ktorí otestujú desktopovú verziu. Rozdelili sme ich z dôvodu pretože by mohlo prísť ku skresleným údajom ak by respondent najprv prešiel test na jednej verzii a potom ten istý respondent vyplnil aj druhú verziu. Pretože respondent by už bol s úlohami oboznámený a vedel ich zhruba kde hľadať a efektívnejšie splniť. Jednotlivé úlohy, ktoré sme vytvorili majú svoj scenár a nápoveď. Každá úloha má za cieľ otestovať jednotlivú oblasť webovej stránky. Oblasti, ktoré sme testovali boli napríklad prehľad a orientácia v kategóriách a práca s navigáciou, hľadanie dôležitých informácií o dodaní tovaru a reklamácii. Následne ďalšie úlohy otestujú prihlásenie sa na odber noviniek a dohľadanie kontaktných údajov spoločnosti. Po otestovaní všetkých úloh respondenti vyplnili System Usability Scale dotazník, ktorý bol doplnený v rámci testu v nástroji Useberry. Dotazník nebol distribuovaný zvlášť z obáv, že by mohlo dôjsť k tomu, že si ho niektorí z respondentov nevšimnú, alebo ho zabudnú vyplniť. Nakoniec mali respondenti priestor vyjadriť svoje názory, postrehy, pripomienky, alebo čo im pri používaní webovej stránky robilo problém.

3 Výsledky a diskusia

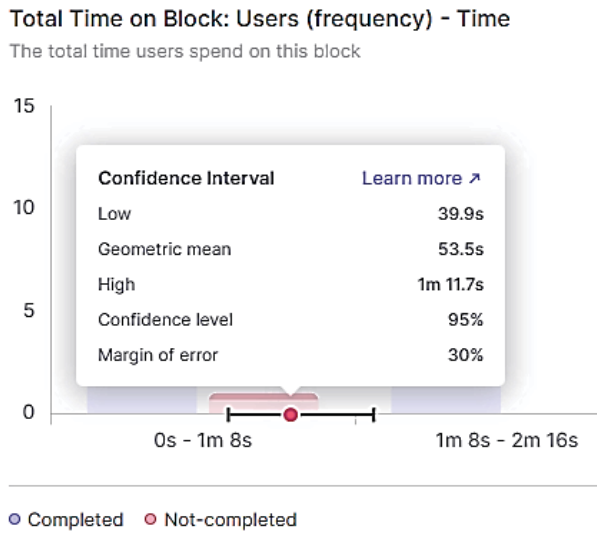
Dosiahnuté skóre je rozdelené do viacerých kategórií ako najlepšie možné, výborné, dobré, okay, chabé a najhoršie možné. Ako priemerné dosiahnuté skóre sa považuje hodnota 68. Dosiahnuté skóre nad alebo pod túto hranicu nám poskytne okamžitý náhľad ako používatelia vnímajú testovaný produkt. Pri dosiahnutí skóre pod 68 je predpoklad, že v dizajne produktu sa nachádzajú závažnejšie chyby, ktoré je nutné dohľadať a odstrániť ich. Skóre nad 68 indikuje, že dizajn zjavne potrebuje doladiť len menšie časti pre zlepšenie použiteľnosti [5].

Po ukončení testovania sme vypočítali výsledné SUS skóre oboch testovaných verzií webovej stránky Hrajka (https://hrajka.sk/). Na obrázku č. 1 môžeme vidieť skóre desktopovej verzie, 71 bodov, čo naznačuje, že pre vylepšenie použiteľnosti bude potrebné analyzovať a vylepšiť menšie chyby v dizajne. Mobilná verzia dosiahla vyššie skóre ako desktopová a to 76 a teda rovnako ako pri desktopovej verzii je potrebné analyzovať menšie nedostatky. Testovania sa zúčastnilo dokopy 35 používateľov. Z toho 20 používateľov otestovalo mobilnú verziu stránky a 15 desktopovú verziu.



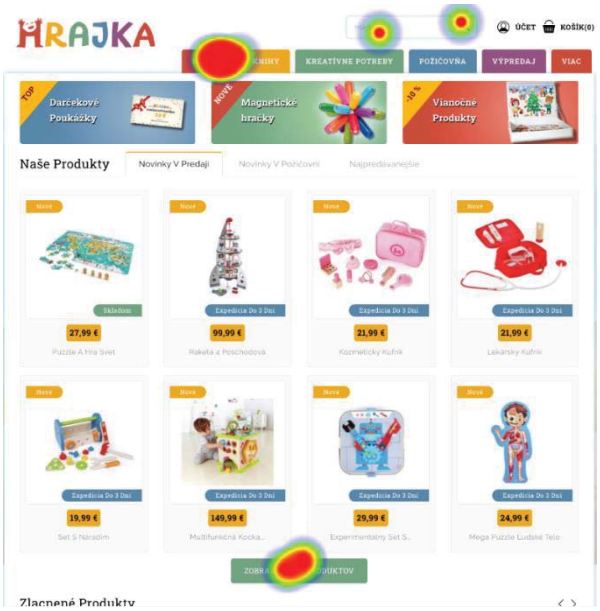
Obr. 1 Dosiahnuté SUS skóre desktop verzia
Zdroj: Autor

Pre analýzu nedostatkov sme využili heatmapy a nahrávané relácie, ktoré zozbieral nástroj Useberry a taktiež pripomienky, ktoré mohli respondenti vyjadriť na konci testovania v podobe otvorenej otázky. Po bližšej analýze záznamov z mobilnej verzii sme si všimli, že väčšina používateľov po načítaní stránky odignoruje vertikálnu navigáciu a prvotne si stránku skrolujú nižšie. Následne sa vrátia a všimnú si navigáciu a použijú ju. Tento problém sa vyskytol prevažne len u používateľov, ktorí použili vertikálnu navigáciu a nie hamburger navigáciu. Vďaka tomuto môže dochádzať k horšej orientácii po webovom sídle a môže to pôsobiť mätúco pre používateľov. Tento problém môžeme odstrániť v novšej verzii produktu tým, že navigáciu upravíme, aby bola pútavejšia. Ako referenciu na porovnanie môžeme použiť interval spoľahlivosti z nástroja Useberry pri testovaní prvej úlohy zobrazený na obrázku č. 2. Pokiaľ dôjde k zníženiu priemerného času na vykonanie prvej úlohy, môžeme považovať problém s navigáciou za vyriešený. Keďže používatelia už nebudú zbytočne strácať čas tým, že si navigáciu pôvodne nevšimnú.



Obr. 2 Interval spoľahlivosti prvej úlohy desktop verzia
Zdroj: Autor

V prípade desktopovej verzii sme počas analýzy heatmap zistili, že používatelia nemajú problém s navigáciou, ako pri mobilnej verzii vid. obrázok č. 3. Zistili sme ale, že pri vyhľadávaní informácií sa u niektorých používateľoch vyskytol problém s tým, že nevedeli nájsť niektoré odkazy v dôsledku nízkeho kontrastu textu a pozadia v pätičke web stránky. Ďalším nedostatkom bolo, že pár používateľom na základe ich odpovedí v otvorenej otázke, kde mohli písať svoje pripomienky sa celkový dizajn stránky zdal byť neprehľadný. Jeden z týchto používateľov mal pripomienku, že sa mu zdajú byť obrázky a grafické prvky príliš veľké v pomere s textom. To nás viedlo k zisteniu, že kvôli príliš veľkým obrázkom produktov a grafických prvkov, ako tagy pri produktoch alebo zľavových akcií dochádza k úbytku bieleho priestoru. To môže pôsobiť pre používateľov neprehľadne, keďže sa všetko zdá byť natlačené pokope.



Obr. 3 Heatmapa navigácie desktop verzia
Zdroj: Autor

Tieto zistenia môžeme implementovať do novšej verzie produktu a následne ich znova týmto spôsobom otestovať, či došlo k odstráneniu týchto problémov. Takýmto iteratívnym spôsobom máme možnosť neustále vylepšovať dizajn produktu a zlepšovať tak používateľský zážitok.

Záver

Vďaka opísanému postupu testovania používateľského rozhrania a zážitku sme boli schopní otestovať webovú stránku Hrajky (https://hrajka.sk/) a získať vhodné poznatky o tom, ako používatelia vnímajú aktuálnu verziu webovej stránky. Vďaka analýze výsledkov a spätnej väzby používateľov sme sa dopracovali k zisteniam, ktoré môžu viesť k zlepšeniu používateľského zážitku v budúcej verzii produktu.

Poďakovanie
Táto práca vznikla s podporou projektu KEGA 012UCM-4/2021 Moderné technológie a inovácie vo výučbe sieťovej bezpečnosti.

Použitá literatúra

[1] System Usability Scale (SUS) [online]. [cit. 16.3.2023]. Dostupné z: https://www.usability.gov/how-to-and-tools/methods/system-usability-scale.html
[2] Nur Sukinah Aziz et al. 2021. A Review of Website Measurement for Website Usability Evaluation. In J. Phys.: Conf. Ser. 1874 012045
[3] System usability scale: meradlo použiteľnosti [online]. Ježíková, 2020 [cit. 16.3.2023]. Dostupné z: https://medium.com/design-kisk/system-usability-scale-meradlo-pou%C5%BEite%C4%BEnosti-6e2a95f8b73f
[4] Measuring Usability with the System Usability Scale (SUS) [online]. Sauro, 2011 [cit. 16.3.2023]. Dostupné z: https://measuringu.com/sus/
[5] The System Usability Scale & How it's Used in UX [online]. Smyk, 2020 [cit. 17.3.2023]. Dostupné z: https://medium.com/thinking-design/the-system-usability-scale-how-its-used-in-ux-b823045270b7
[6] Remote Testing [online]. [cit. 16.3.2023]. Dostupné z: https://www.usability.gov/how-to-and-tools/methods/remote-testing.html
[7] Task-based Usability Testing – with Example Task Scenario [online]. Adamjak, 2023 [cit. 16.3.2023]. Dostupné z: https://blog.uxtweak.com/task-based-usability-testing/
[8] 8 Tips for writing great usability tasks [online]. Luchita, 2019 [cit. 16.3.2023] Dostupné z: https://maze.co/blog/write-great-usability-tasks/

Detekcia osôb v chemickom laboratóriu

Detection of people in a chemical laboratory

Šimon Riečan[1]
Školiteľ: Alžbeta Michalíková[2]
Konzultant: Šimon Budzák[3]
[1,2]Katedra informatiky, FPV UMB, Tajovského 40, 974 01 Banská Bystrica
[3]Katedra chémie, FPV UMB, Tajovského 40, 974 01 Banská Bystrica
[1]simon.riecan@student.umb.sk, [2]alzbeta.michalikova@umb.sk, [3]simon.budzak@umb.sk

Abstrakt

Bezpečnosť je základným stavebným kameňom každej práce, alebo činnosti v akejkoľvek oblasti. Existujú však povolania, kde je pracovné riziko nepriemerné a pre zníženie rizika sa vyžaduje dodržiavanie rozsiahlych bezpečnostných protokolov. Toto tvrdenie platí aj o práci v chemickom laboratóriu, kde pri práci s veľmi nebezpečnými chemikáliami môže dôjsť k závažným situáciám, či už strata vedomia človeka, vznik požiaru alebo iné problémy. V snahe kontrolovať tieto riziká sme sa rozhodli implementovať program, do už existujúceho kamerového vybavenia chemického laboratória, ktorý by na základe počítačového videnia vedel rozoznať pohyb osoby, počet osôb v laboratóriu, prípadne výskyt požiaru a následne pri ohrození upozorniť najprv hlasovou výstrahou osobu v laboratóriu a neskôr aj poslaním správy poverenú osobu o výskyte hrozby v laboratóriu. Na overovanie vhodnosti aplikácie sme použili testovacie videá z chemického laboratória, kde sa nám aplikácia osvedčila a fungovala správne.

Kľúčové slová: bezpečnosť, riziko, požiar, počítačové videnie, chemické laboratórium

Abstract

Safety is the cornerstone of any job or activity in any field. However, there are occupations that require even more risk reduction than other jobs. This statement is also true of working in a chemical laboratory, where serious situations can arise when working with highly hazardous chemicals, whether a person loses consciousness, a fire occurs, or other problems arise. Because of these dangers, we decided to implement a program in the already existing camera equipment of the chemical laboratory, which would be able to detect the movement of a person, the number of people in the laboratory, or the occurrence of a fire based on computer vision, and then, in the event of such a threat, to alert first by voice alert the person in the laboratory, and later by e-mail communication to the person in charge of the occurrence of a threat in the laboratory. We used test videos from the chemistry lab to determine the suitability of the application, where the application was proven to work properly.

Key Words: safety, risk, fire, computer vision, chemical laboratory

Úvod

Témou odborného článku je návrh aplikácie na detekciu výskytu osôb v chemickom laboratóriu, ktorá bude dôležitým prvkom Katedry chémie na Fakulte prírodných vied Univerzity Mateja Bela (KCH FPV UMB). Bezpečnosť pri práci je prvoradá, o to viac to platí pri práci s chemikáliami, či inými nebezpečnými látkami nachádzajúcimi sa v chemickom laboratóriu. V prípade výskytu nebezpečnej situácie sú študenti, doktorandi a odborný personál poučení o pravidlách, ktoré majú dodržiavať. Poučení sú aj o poskytnutí prvej pomoci poškodenej osobe. Tieto postupy sú však možné uskutočniť len v prípade, že sa v miestnosti nachádza vyšší počet osôb ako jedna. Viaceré laboratóriá zakazujú samostatnú prácu v chemickom laboratóriu už v prevádzkovom poriadku. Predpisy často regulujú používanie slúchadiel a dokonca presne stanovujú, koľkokrát musí spolupracovník vidieť druhú osobu za hodinu, aby sa dalo povedať, že nepracuje sama. Situácie ako zasiahnutie chemikáliou a strata vedomia vplyvom chemických látok, či požiar sa síce dajú obmedziť prácou podľa overených bezpečnostných postupov ale nie vždy sa im dá zabrániť. Laboratórium KCH je vybavené kamerovým systémom, ktorého výstup môže sledovať vrátnik budovy FPV UMB. Vrátnik má však aj mnoho iných úloh a preto sa v dôležitých chvíľach nedá spoliehať na jeho monitoring. Z incidentu síce bude existovať záznam pre vyšetrovanie, to však nezachráni zdravie osôb. Preto sme sa rozhodli pomôcť v riešení tohto problému. Laboratórium, v ktorom sa personál nachádza je monitorované kamerou, na ktorú sme naprogramovali rozhranie, ktoré dokáže

rozpoznať, či sa daná osoba pohybuje, koľko osôb sa v miestnosti nachádza a či sa v miestnosti nachádza otvorený oheň. Pri prípadnom výskyte nehybnej osoby sa pomocou zvukového hlásenia overí situácia a za pomoci správy na vrátnicu sa kontaktuje poverená osoba, ktorá by prišla na pomoc.

1 Metodika

V tejto časti sa budeme venovať metodikám a teoretickým východiskám, na ktorých budeme budovať výsledky práce.

1.1 Softvér

Na vývoj našej aplikácie sme sa rozhodli použiť programovací jazyk Python. Programovacích jazykov existuje veľké množstvo. Pri výbere sme sa nechali ovplyvniť hlavne jeho jednoduchosťou a efektivitou. O našich tvrdeniach svedčí aj citát Jacka Jansena, autora programovacieho jazyka Python pre platformu Mac OS: *Python je skutočne úžasný jazyk. Keď niekto príde s dobrým nápadom, trvá asi 1 minútu a päť riadkov naprogramovať niečo, čo takmer robí to, čo chcete. Rozšírenie skriptu na 300 riadkov potom trvá len hodinu, po ktorej stále robí takmer to, čo chcete [2].* Python, programovací jazyk, ktorý je ľahko použiteľný pre potreby počítačového videnia vďaka veľkému množstvu knižníc venujúcich sa tejto problematike.

Hlavnou knižnicou, na ktorej je celá aplikácia postavaná má názov Cv2 z balíka OpenCV. OpenCV je balík knižníc od spoločnosti Intel, OpenCV (Open Source Computer Vision Library), ktorá slúži pre počítačové videnie a strojové učenie [3]. Použitá môže byť v rôznych oblastiach, napríklad v programovacích jazykoch a aplikáciách, a to na rozpoznávanie objektov, obrazov, predmetov na obrazoch, či videách (Obr. 1). Ponúka riešenie počítačového videnia pre širokú verejnosť, vďaka jej výbornej dostupnosti a možnosti voľného šírenia.

Obr. 1 Použitie počítačového videnia
Zdroj: [1]

Pre lepšiu prácu s balíkom OpenCV a samotným spracovaním obrazu sme použili knižnicu Imutils, ktorá nám pomohla pri transformácii, rotácii, zmene veľkosti, triedení kontúr a detekcii hrán spracovávaných obrázkov [4].

Ďalšou knižnicou pre OpenCV, ktorú Python využíva je Numpy, čo je vysoko optimalizovaná knižnica pre numerické operácie. Všetky štruktúry polí OpenCV sa konvertujú na polia kategórie Numpy, čo uľahčuje prácu s nimi [6].

V úvode sme spomínali upozornenia pomocou zvukovej stopy a e-mailu. Pre zvukovú stopu sme použili knižnicu Gtts (Google text to speech), čo je knižnica od spoločnosti Google, ktorá pomocou umelej inteligencie dokáže prerozprávať písaný text na hovorený. Pre našu aplikáciu sme navrhli frázu: „Detegovaná nebezpečná situácia, zmeňte pozíciu!“ (Obr. 2).

```
mytext = "Detegovaná nebezpečná situácia, zmeňte pozíciu!"
language = "sk"
myobject = gTTS(text=mytext, lang=language, slow=False)
myobject.save("warning.mp3")
```

Obr. 2 Zdrojový kód hlasového upozornenia
Zdroj: Autor

Na posielanie emailov sme použili knižnicu Yagmail. Táto knižnica dokáže posielať automatické maily pri výskyte nejakej udalosti. Funguje na princípe klasického SMTP protokolu a autentifikácie pomocou kľúča vygenerovaného v nastaveniach účtu Google (Obr. 3).

```
yag = yagmail.SMTP("umb.upozornenie@gmail.com",
                   "[redacted]")
```

Obr. 3 Zdrojový kód konfigurácie e-mailového klienta
Zdroj: Autor

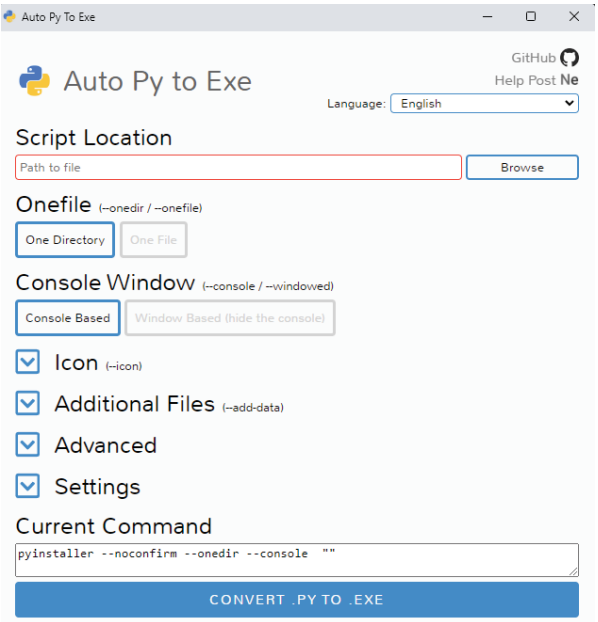
Ďalšou dôležitou knižnicou bola knižnica CentroidTracker, ktorú sme implementovali ako vlastnú triedu jazyka Python. Algoritmy sledovania centroidov[1] spočívajú v sledovaní súradníc definovaním určitých prahových hodnôt, ktoré sa považujú za rovnaké body. Nie je v nich zahrnuté žiadne strojové učenie. Tento algoritmus je viacstupňový proces, v ktorom vypočítame euklidovskú vzdialenosť centroidov, všetkých pohyblivých objektov na snímkach [5].

Poslednými, nemenej dôležitými knižnicami boli knižnice Os a Datetime. Knižnica Os slúži na prácu so súbormi, ich úpravu, či ukladanie do systému, použili sme ju pri ukladaní a prehrávaní výstražnej správy pre

[1] Centroid – ťažisko telesa

pohyb osoby a knižnica Datetime slúži na výpočet dátumu a času pre našu aplikáciu.

Na prevod aplikácie do spustiteľnej podoby vo formáte .exe sme použili auto-py-to-exe konvertor (Obr. 4). Je to jednoduchý program na prekonvertovanie súboru s príponou .py na program, ktorý sa dá spustiť na operačnom systéme Windows pomocou jednoduchého spustenia aplikácie. V prípade potreby, je však možné náš kód spustiť aj na iných platformách.



Obr. 4 Rozhranie konvertora auto-py-to-exe
Zdroj: Autor

Dôležitou súčasťou našej aplikácie bolo aj detegovanie ohňa pomocou Haar-kaskádových kvalifikátorov (Obr. 5), ktoré sú založené na strojovom učení, pri ktorom sa kaskádová funkcia trénuje z množstva pozitívnych a negatívnych obrázkov. Tá sa potom používa na detekciu objektov na iných obrázkoch [7].

```
fire_cascade = cv2.CascadeClassifier('cascade.xml')
```

Obr. 5 Zdrojový kód kaskádovej funkcie
Zdroj: Autor

1.2 Hardvér

Pre našu aplikáciu je možné použiť akúkoľvek kameru, ktorá sa dá pripojiť k počítaču. Keďže knižnica OpenCV dokáže spracovať aj vstupy ako fotografie a videá priamo nahrané z počítača, môžeme použiť aj takýto typ vstupov.

V našom prípade sme používali webkameru Logitech c922 s rozlíšením Full HD (1920x1080) pre získanie kvalitného obrazu a uľahčenie práce systému pri rozpoznávaní osôb priamo v laboratóriu. Taktiež sme využili videozáznam vo formáte mp4. z chemického laboratória na našej fakulte pre lepšiu simuláciu takéhoto prostredia.

2 Výsledky a diskusia

V nasledujúcej časti sa pozrieme na aplikáciu a jej časti, ktoré sme vytvorili na detekciu výskytu osôb v chemickom laboratóriu.

2.1 Aplikácia Laboratórium

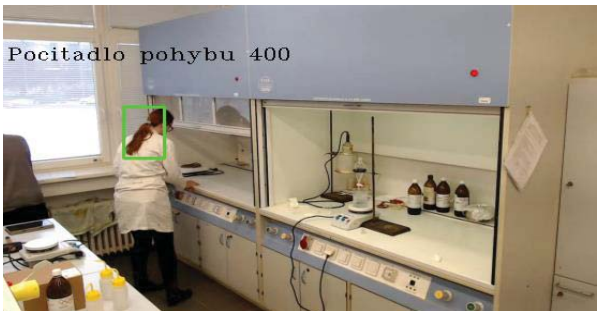
Po skombinovaní všetkých predošlých poznatkov sme vyvinuli aplikáciu s názvom Laboratórium, ktorá dokáže monitorovať pohyb ľudí v miestnosti, počet ľudí v miestnosti a výskyt ohňa pomocou strojového učenia. V prípade nehybnosti osôb dochádza spočiatku k hlasovému upozorneniu osôb, neskôr k upozorneniu pomocou elektronickej komunikácie viazanej na poverené osoby, ktorá sa aktivuje aj v prípade výskytu ohňa v laboratóriu. Bezpečnosť osôb by preto mala byť zabezpečená.

Základom našej aplikácie je pripojenie zdroja obrazu, ktorý sa má sledovať. Výhodou je variabilita zdroja obrazu, ktorý chceme sledovať. Na výber máme buď pripojenie kamery pre obraz pozorovaný naživo alebo našu aplikáciu môžeme použiť na retrospektívne sledovanie situácií, ktoré môžu byť potencionálne pre našu aplikáciu určené. Týmto spôsobom sme postupovali aj pri vývoji našej aplikácie. Zobrali sme si video (Obr. 6) natočené v chemickom laboratóriu a postupne sme nastavovali funkcie, ktoré boli pre dosiahnutie bezpečnosti osôb nevyhnutné.

Obr. 6 Zdrojové video použité pre aplikáciu Laboratórium
Zdroj: doc. RNDr. Šimon Budzák, PhD.

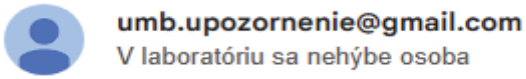
Stavebným kameňom našej aplikácie je počítadlo nastavené na milisekundy a pohyb osoby. Pri pohybe osoby dochádza k resetovaniu počítadla na pôvodnú nastavenú hodnotu. V prípade nehybnosti osoby,

dôjde k odpočítavaniu hodnoty na počítadle. Ak, táto hodnota klesne pod určitú prahovú hodnotu nastavenú v kóde programu, dochádza k aktivácii bezpečnostných prvkov. V našej aplikácii je táto počiatočná hodnota nastavená na 400 milisekúnd (Obr. 7).



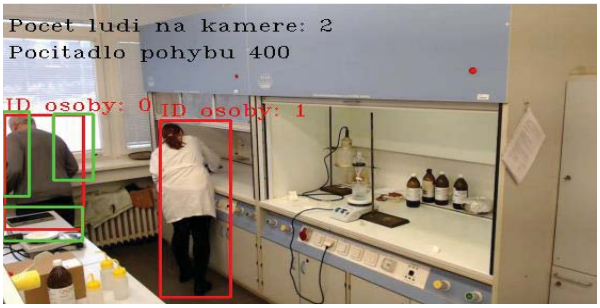
Obr. 7 Ukážka počítadla pohybu vo videu
Zdroj: doc. RNDr. Šimon Budzák, PhD.

Pri klesnutí hodnoty počítadla na úroveň 250 a 130 milisekúnd dochádza k prehratiu výstražného upozornenia v prípade, že osoba v laboratóriu je príliš zamestnaná napr. čítaním postupu alebo prácou. Ak osoba na dané upozornenie nezareaguje, dochádza pri hodnote 10 k poslaniu správy poverenej osobe s upozornením, že sa osoba v laboratóriu nehýbe (Obr. 8).



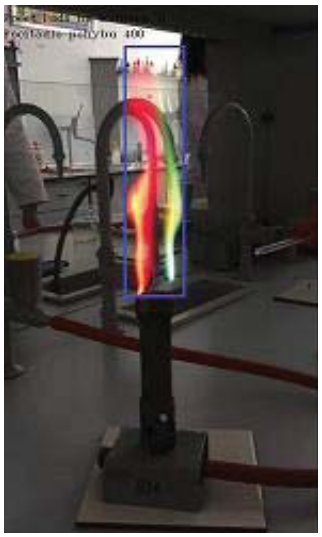
Obr. 8 E-mailové upozornenie na nehybnú osobu v laboratóriu
Zdroj: Autor

Z dôvodu, že aplikácia bude spustená nepretržite, by sa po opustení miestnosti ľuďmi stalo, že by sa spúšťali upozornenia a posielali e-maily aj v prípade, že sa v laboratóriu nebude nikto nachádzať. Z tohto dôvodu sme do aplikácie pridali rozšírenie s počítaním množstva osôb (Obr. 9), ktoré dokáže počítačové videnie rozoznať na základe strojového učenia. Pri počte osôb menšom ako 1, dochádza k vypnutiu časovača, v dôsledku čoho dochádza aj k vypnutiu zvukovej výstrahy a posielania e-mailov povereným osobám.



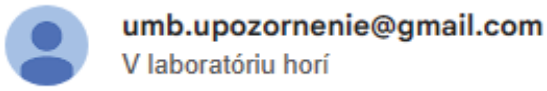
Obr. 9 Ukážka počítadla osôb vo videu
Zdroj: doc. RNDr. Šimon Budzák, PhD.

Na záver sme do našej aplikácie pridali detekciu výskytu otvoreného ohňa (Obr. 10) na základe kaskádových funkcií a strojového učenia.



Obr. 10 Ukážka detekcie otvoreného ohňa vo videu
Zdroj: doc. RNDr. Šimon Budzák, PhD.

Ak sa požiar vyskytne dôjde opäť ku kontaktovaniu poverenej osoby ale tentoraz so správou, že v laboratóriu došlo k požiaru (Obr. 11).

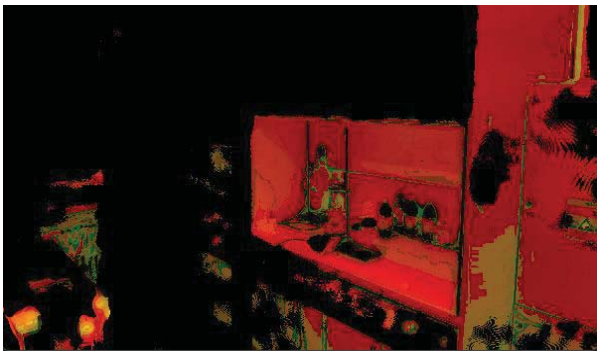


Obr. 11 E-mailové upozornenie na oheň v laboratóriu
Zdroj: Autor

Posledným krokom bolo prekonvertovanie typu súboru .py na súbor s príponou .exe pre lepšiu a ľahšiu interakciu používateľa s aplikáciou.

2.2 Testovanie

Aplikáciu Laboratórium sme zo začiatku testovali len v domácom prostredí, ktoré stačilo na overenie funkčnosti detekcie pohybu, počítania osôb, či detekciu ohňa. Všetky časti aplikácie fungovali bezchybne. Neskôr sme našu aplikáciu otestovali na skutočných záberoch z laboratória ako môžeme vidieť aj v tomto článku. Fungovanie detekcie pohybu a počtu osôb fungovalo opäť výborne, avšak detekcia ohňa nefungovala správne. Pôvodne bola táto detekcia založená na porovnávaní farieb, čo nám v prípade laboratória systém vyhodnotil, akoby horelo celé laboratórium (Obr. 12).



Obr. 12 Ukážka falošnej detekcie ohňa v laboratóriu
Zdroj: doc. RNDr. Šimon Budzák, PhD.

Túto chybovosť sme odstránili použitím detekcie ohňa pomocou umelej inteligencie a počítačového videnia. Po otestovaní tejto varianty fungovala aj táto časť s výbornými výsledkami. Výhodou vytvorenej aplikácie je odpadnutie povinnosti prítomnosti poverenej osoby v chemickom laboratóriu pri výkonne činnosti a fungujúce vyhodnotenie situácií strojovým učením a počítačovým videním. Našli sme však aj menšie nevýhody, napríklad pri menšom zasekávaní aplikácie v dôsledku posielania správ alebo pri zlom vyhodnotení detekcii výskytu ohňa (Obr. 12) a následnom falošnom upozornení poverenej osoby, pri ktorom by stačilo použiť zvukové upozornenie namiesto posielania správy. V niektorých prípadoch dochádzalo aj ku zlému vyhodnocovaniu počtu osôb v prípade ich prekrývania sa na obraze, čo by sa dalo vyriešiť hardvérovým počítaním počtu osôb pomocou kamery alebo senzoru, avšak v aktuálnej situácii nie je možné z dôvodu chýbajúcich zdrojov takýto spôsob aplikovať.

Záver

V našom článku sme predstavili možnosti, ktoré do bezpečnosti osôb pri práci v chemickom laboratóriu priniesli technológie strojového učenia a počítačového videnia. Načrtli sme niekoľko výhod, ale aj nevýhod, s ktorými je potrebné počítať pri ich zavádzaní do bezpečnostného systému na našej univerzite. Hlavnou časťou nášho článku bolo vysvetlenie fungovania aplikácie, ktorá obsahuje prvky počítačového videnia a strojového učenia. Problémové situácie sme overovali na videu zachytávajúcom prácu študentky KCH FPV UMB s dĺžkou 18 minút a 15 sekúnd. Počet osôb vo videu sa menil medzi počtami 1 až 2. Pri základnom nastavení časovača na 400 milisekúnd a prahových hodnotách dôležitých pre hlasové upozornenie nastavených na hodnotách 250 milisekúnd a 130 milisekúnd došlo ku dvom hlasovým upozorneniam ale nedošlo k upozorneniu pomocou poslania správy. Po analýze videa prišla druhá osoba prediskutovať výsledky z meraní. V realite k žiadnemu ohrozeniu zdravia nedošlo.

Naša aplikácia funguje na situáciách popísaných v tomto článku ako je detekcia pohybu, počítanie osôb, či detekcia ohňa. V laboratóriu však môže dôjsť aj ku závažnejším situáciám napr. otrava, ktorá sa môže prejaviť kŕčmi, paralýza a tackaním sa po zranení, ktoré nie sú identifikované. Vieme teda vyhodnotiť rizikovú situáciu, keď je pracovník v laboratóriu sám, detegovať ak sa nehýbe a upozorniť na otvorený oheň. Zvyšné situácie nie sú tak ľahko identifikovateľné a zrejme by sa na nich dal uplatniť všeobecný prístup hľadania mimoriadnych udalostí pomocou neurónových sietí ako je popísané v článku [8]. Toto vylepšenie plánujeme implementovať postupom času.

Vzhľadom na rastúci trend využívania takýchto technológii vo všetkých sférach nášho života, verím, že sa takýto typ aplikácie ujme aj v zabezpečení našich laboratórií a pomôže predísť viacerým nebezpečným situáciám.

Poďakovanie

Moje poďakovanie patrí školiteľke RNDr. Alžbete Michalíkovej, PhD. a konzultantovi doc. RNDr. Šimonovi Budzákovi, PhD. pretože bez ich pomoci, odborných rád, venovanému času a zdrojových videí by táto práca nenadobudla kvalít, ktoré dosahuje.

Použitá literatúra

[1] SIRASTAVA Smriti, Computer Vision Solving Real-World Problems With Digital Visuals „https://www.analyticsinsight.net/," [cit. 12. 03. 2023].[Online].Dostupné z: https://www.analyticsinsight.net/computer-vision-solving-real-world-problems-with-digital-visuals/.

[2] CHILLAR Anand, 14 Great Quotes About Python *„https://avilpage.com/,"* [cit. 12. 03. 2023]. [Online]. Dostupné z: https://avilpage.com/2014/12/14-great-quotes-about-python.html

[3] NELSON Phil, Introduction to OpenCV „https://docs.opencv.org/," [cit. 12. 03. 2023]. [Online]. Dostupné z: https://docs.opencv.org

[4] ROSEBR John, Imutils 0.5.4„https://pypi.org/,"[cit. 12. 03. 2023].[Online]. Dostupné z: https://pypi.org/project/imutils/

[5] KHENDELWAL Renu, A Centroid-Based Object Tracking Implementation„https://medium.com/,“[cit. 12. 03. 2023].[Online]. Dostupné z: https://medium.com/aiguys/a-centroid-based-object-tracking-implementation-455021c2c997

[6] OLYPHANT Travis, NumPy „*https://numpy.org/*,“ [cit. 12. 03. 2023].[Online]. Dostupné z: https://numpy.org/doc/stable/user/

[7] BEHERA Girija Shankar, Face Detection with Haar Cascade „*https://*towardsdatascience.com/,“ [cit. 14. 03. 2023].[Online]. Dostupné z: https://towardsdatascience.com/face-detection-with-haar-cascade-727f68dafd08

[8] SINGH Virender, SINGH Swati, GUBTA Pooja Dr., Real-Time Anomaly Recognition Through CCTV Using Neural Networks „*https://*www.sciencedirect.com/,“ [cit. 14. 03. 2023].[Online]. Dostupné z: https://bit.ly/3ZKDPR9

Využitie technológie blockchain na odosielanie dát a ich spracovanie

The use of blockchain technology for data transmission and processing

Nikodém Babirád[1]
Školiteľ: Vladimír Siládi[2]
[1,2]Katedra informatiky, FPV UMB, Tajovského 40
974 01 Banská Bystrica
[1]nbabirad@student.umb.sk, [2]vladimir.siladi@umb.sk

Abstrakt
Hlavné zameranie tohto článku je využitie technológie blockchain pri odosielaní používateľských dát za pomoci transakcií. Prenos dát uskutočňujeme pridaním žiadaných údajov do štruktúry smart kontraktov. Prenesené dáta vie aplikácia po vykonaní transakcie získať, transformovať a zobraziť v potrebnej forme. Na dosiahnutie zvoleného cieľa sme využili JavaScriptovú knižnicu ReactJS (1) vhodnú na vytváranie front-endových rozhraní a programovací jazyk Solidity vhodný na prácu s blockchainom (2). Aplikácia schopná plniť tieto funkcie je naprogramovaná na testovacej sieti Goerli, ktorá funguje podobne ako ETH a iné blockchainové kryptomeny, avšak je poskytnutá zadarmo na testovacie a vývojové účely. Článok demonštruje funkciu blockchainu zaznamenať ľubovoľné dáta do štruktúry a následne s nimi pracovať.

Kľúčové slová: blockchain, kryptomeny, kontrakt, transakcia, dáta

Abstract
The main focus of this article is the utilization of blockchain technology in sending user data through transactions. Data transfer is accomplished by adding desired information into the structure of smart contracts. The transferred data can be obtained, transformed, and displayed in the required form by the application after the transaction is executed. To achieve the chosen goal, we utilized the ReactJS JavaScript library (1) suitable for creating front-end interfaces and the Solidity programming language (2) suitable for working with blockchain. The application capable of performing these functions is programmed on the Goerli test network, which functions similarly to ETH and other blockchain cryptocurrencies but is provided for free for testing and development purposes. The article demonstrates the function of blockchain to record arbitrary data into a structure and subsequently work with them.

Key Words: blockchain, cryptocurrency, contract, transaction, data

Úvod

Prenos dát je v súčasnej dobe veľmi dôležitá téma. Umožňuje nám komunikovať na rôznych úrovniach. Cieľom tohto článku je spojenie technológie blockchain a jej výhod na prenos dát vložených do bloku transakcie medzi používateľmi pomocou jednoduchej a prehľadnej online aplikácie. Cieľ článku sa zameriava na vytváranie blockchain transakcií v navrhnutej aplikácií pomocou smart kontraktov obsahujúce dáta odosielané používateľom a ich transformovanie na výstup vo vytvorenej aplikácii.

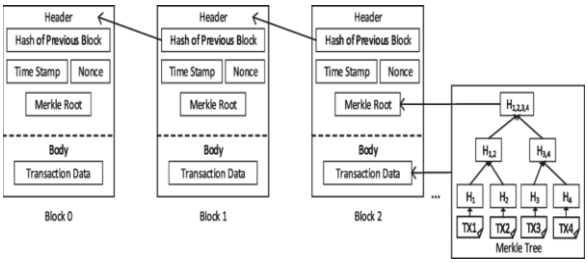
1 Návrh riešenia

Jadrom aplikácie navrhnutej na riešenie nášho problému sú smart kontrakty, ktoré sú základ pri vytváraní transakcií a práci s blockchain (3). Základom pri vytváraní smart kontraktu je vybrať vhodnú blockchainovú sieť, ktorá je kompatibilná s vašou aplikáciou. V našom prípade sme zvolili testovaciu voľne dostupnú sieť Goerli bežiacu na technológií blockchain (4). Väčšina blockchainových sietí, ako napríklad Ethereum, ponúka nástroje a služby, ktoré umožňujú vytváranie smart kontraktov. Po zvolení vhodnej blockchainovej siete musíte vybrať jazyk pre programovanie smart kontraktu. Solidity je najpopulárnejším jazykom pre tvorbu smart kontraktov na sieti Ethereum (2). Solidity má veľké množstvo funkcií, ktoré umožňujú programátorom vytvárať sofistikované smart kontrakty. Po vytvorení kódu smart kontraktu musíte skontrolovať jeho funkčnosť. Je dôležité overiť, že kód je správne napísaný a spĺňa všetky požiadavky zmluvy. Okrem toho je dôležité zabezpečiť, aby bol kód bezpečný a

aby neobsahoval chyby, ktoré by mohli byť zneužité hackerom (5). Stránka aplikácie bude obsahovať tlačidlo na pripojenie online kryptopeňaženky a formulár schopný po vyplnení odoslať kryptomenu po sieti. Aplikácie bude schopná zaznamenávať vykonané transakcie a zobraziť ich dáta používateľovi.

2 Základy blockchain a smart kontrakty

Blockchain a kryptomeny sú dve vzájomne prepojené technológie, ktoré zmenili spôsob, akým ľudia vnímajú a vykonávajú finančné transakcie (3). Blockchain je decentralizovaný systém, ktorý funguje ako distribuovaný verejný registra všetkých transakcií, ktoré sa uskutočňujú v sieti (6). Kryptomeny sú digitálne platobné prostriedky, ktoré sú založené na tejto technológii a sú zabezpečené kryptografiou. Blockchain umožňuje odosielanie kryptomien bez potreby centrálnej autority alebo sprostredkovateľa. To znamená, že používatelia môžu odosielať a prijímať kryptomeny priamo medzi sebou, bez toho, aby museli platiť poplatky sprostredkovateľom, ako sú banky (6). Tento proces zabezpečuje bezpečnosť siete tým, že potvrdzuje platnosť transakcií a zaznamenáva ich do blockchainu. Výhodou blockchainu a odosielania kryptomien je jeho transparentnosť a nezmeniteľnosť. Všetky transakcie sú zaznamenané v blokoch na blockchaine (Obr. 1) a sú verejne prístupné (4). Každá transakcia má jedinečný identifikátor a je spojená s predchádzajúcou a nasledujúcou transakciou, čo zabezpečuje nezmeniteľnosť a bezpečnosť siete.



Obr. 1 Dátová štruktúra blockchainu
Zdroj: (9)

Všetky kryptomeny majú svoju vlastnú blockchain sieť a každá sieť má svoje vlastné parametre a pravidlá. Napríklad, sieť Bitcoin má limitovaný počet mincí a je navrhnutá tak, aby sa ťažila stále ťažšie. Ethereum, na druhej strane, je založený na koncepte smart kontraktov, ktoré umožňujú programátorom vytvárať aplikácie, ktoré sú zabezpečené blockchainom. Avšak, blockchain a kryptomeny stále čelia niektorým výzvam a problémom. Napríklad, nedostatočná regulácia a bezpečnosť siete môžu viesť k podvodom a krádežiam. Okrem toho, obmedzená kapacita siete môže spomaliť transakčné rýchlosti a zvýšiť poplatky za transakcie (6).

Smart kontrakty sú programovateľné zmluvy, ktoré bežia na blockchainovej sieti. Tieto zmluvy sa stávajú čoraz populárnejšími, pretože umožňujú automatické vykonávanie podmienok a sľubov v zmluve bez nutnosti zahrnutia tretích strán (3). To znamená, že ak sú splnené určité podmienky v zmluve, tak automaticky sa uskutoční transakcia bez toho, aby musel byť zapojený niekto ďalší (4). Vytváranie smart kontraktov je veľmi podobné tvorbe klasických programov, ale s niekoľkými rozdielmi. Smart kontrakty sú napísané pomocou blockchainových jazykov, ako napríklad Solidity pre Ethereum (2). Tieto jazyky majú niekoľko špecifikácií, ktoré zabezpečujú, že kód smart kontraktu je bezpečný a nezraniteľný voči útokom. Pretože blockchainové siete sú nezmeniteľné, neznamená to, že smart kontrakty nie sú náchylné na chyby. To znamená, že je dôležité zabezpečiť, aby bol kód smart kontraktu čo najspoľahlivejší a bezpečný.

Odosielanie kryptomien znamená, že používateľ odosiela digitálne meny z jednej adresy na inú. Pretože kryptomeny nie sú fyzické peniaze, musí sa táto transakcia uskutočniť digitálne (4). Používatelia môžu kryptomeny odosielať pomocou blockchainu. Pri každej transakcii sa do blockchainu zaznamenávajú informácie o tom, kto kryptomenu odoslal, kto ju prijal a koľko sa odoslalo. Tieto informácie sa potom ukladajú do blokov, ktoré sa viažu na seba a vytvárajú tak blockchain. Do tohto bloku ale vieme zároveň vkladať ďalšie dáta, zvolené používateľom (5). Existuje niekoľko dôležitých faktorov, ktoré treba zvážiť pri odosielaní kryptomien. Medzi ne patria poplatky, ktoré sa platia pri každej transakcii, a rýchlosť, s akou sa transakcia spracuje. Poplatky zvyčajne závisia od počtu použitých uzlov a od aktuálnej prevádzky na sieti. Rýchlosť spracovania transakcie sa môže líšiť v závislosti od počtu transakcií, ktoré sa práve spracúvajú v sieti.

3 Implementácia riešenia

React je populárna knižnica pre tvorbu moderných webových aplikácií a v súčasnosti je jednou z najpoužívanejších technológií na vytváranie používateľských rozhraní (UI) pre blockchainové aplikácie (1). Vďaka Reactu môžeme vytvoriť webovú aplikáciu, ktorá umožní používateľom jednoducho a rýchlo odosielať smart kontrakty pomocou formulára.

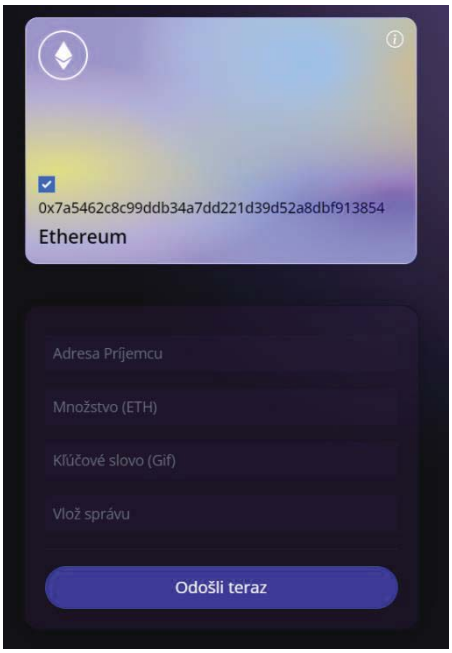
Smart kontrakty sú programovateľné a autonómne kontrakty, ktoré bežia na blockchainovej sieti. Smart kontrakty môžu byť použité na realizáciu rôznych funkcií, vrátane overovania transakcií, spravovania identít a automatizovania obchodných procesov. Pre odoslanie smart kontraktu na blockchainovú sieť potrebujeme špecifické technické znalosti a nástroje (5).

S Reactom a smart kontraktami môžeme vytvoriť aplikáciu, ktorá umožní používateľom odosielať smart kontrakty bez toho, aby museli mať technické znalosti a skúsenosti s blockchainovou sieťou (1). Aplikácia bude obsahovať formulár, ktorý umožní používateľom zadávať požadované informácie a parametre pre smart kontrakt.

Na začiatok sme museli nainštalovať niekoľko potrebných nástrojov a knižníc, vrátane EthereumJS, MetaMask a Solidity. Tieto nástroje a knižnice umožujú komunikáciu s blockchainovou sieťou, odosielanie transakcií a kompiláciu smart kontraktu (7) (2). Po nainštalovaní potrebných nástrojov a knižníc sme mohli začať vytvárať aplikáciu. Základom stránky je tlačidlo na pripojenie online kryptopeňaženky pomocou rozhrania MetaMask ako je ukázané na Obr. 2 Hlavná stránka aplikácie. Ďalej sme vytvorili komponenty pre formulár, ktorý umožňuje používateľom zadávať požadované informácie a parametre pre smart kontrakt. Jedným z najdôležitejších komponentov je submit (odoslať) tlačidlo, ktoré aktivuje odosielanie smart kontraktu na blockchainovú sieť ako je uvedené na Obr. 3 Formulár na vytvorenie transakcie. Keď používateľ klikne na tlačidlo submit, aplikácia získa potrebné informácie a parametre z formulára a použije ich na vytvorenie transakcie pre smart kontrakt.

Obr. 2 Hlavná stránka aplikácie
Zdroj: Nikodém Babirád

Po vytvorení transakcie, aplikácia použije nástroj MetaMask na overenie a potvrdenie transakcie. Ak transakcia prebehne úspešne, smart kontrakt bude uložený na blockchainovej sieti a transakcia sa nám zobrazí v aplikácii (7).



Obr. 3 Formulár na vytvorenie transakcie
Zdroj: Nikodém Babirád

3.1 Transformácia kľúčových slov

Kľúčové slová sú základným prvkom pri vyhľadávaní a spracovaní informácií v digitálnom svete. S narastajúcim množstvom dát a obsahu na internete sa stáva čoraz dôležitejším zvládnuť efektívne a presné vyhľadávanie na základe kľúčových slov. Jedným z nástrojov, ktoré môžu pomôcť túto funkciu demonštrovať, je nástroj na spracovanie kľúčového slova na obrázok GIF.

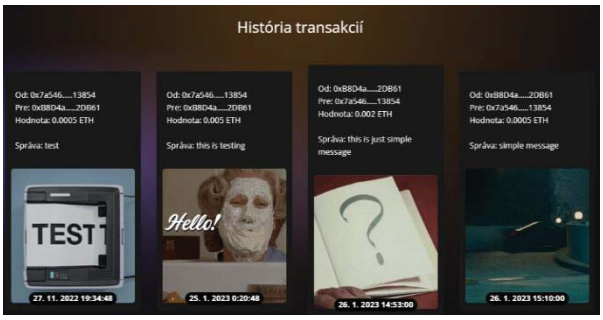
V súčasnosti sa stáva čoraz dôležitejším, aby sme na internete používali vizuálne prvky, ktoré dokážu prilákať pozornosť používateľov a zároveň sú schopné vystihnúť podstatu daného obsahu. Jedným z takýchto vizuálnych prvkov sú práve obrázky GIF, ktoré sú krátkymi animovanými obrázkami s minimálnym počtom snímok, ktoré sa opakujú v nekonečnom cykle.

Tento nástroj umožňuje používateľom vyhľadávať obrázky, ktoré súvisia s konkrétnym kľúčovým slovom, a následne ich jednoducho zmeniť na GIF a vložiť do aplikácie ako je ukázané na Obr. 4. Jedným z takýchto nástrojov je napríklad Giphy, ktorý je voľne dostupný a umožňuje používateľom vyhľadávať GIF-y na základe

kľúčových slov. Používateľ jednoducho zadá kľúčové slovo do vyhľadávacieho poľa a nástroj nájde GIF-y, ktoré súvisia s daným slovom (8). Následne si používateľ môže GIF, ktorý sa mu páči vložiť ho do svojho obsahu.

Okrem toho, že je vytváranie GIF-ov pomocou týchto nástrojov jednoduché a rýchle, môže to tiež pomôcť s rýchlejším šírením obsahu na sociálnych médiách. GIF-y sú často zdieľané a komentované, čo zvyšuje ich dosah a umožňuje prilákať väčšie množstvo publikácie.

Využívanie nástrojov na spracovanie kľúčového slova na obrázok GIF je teda pre každého, kto sa chce zaujať používateľov a zvýšiť svoj dosah na internete, veľmi užitočné. Okrem toho, že to ušetrí čas a úsilie pri tvorbe GIF-ov, môže tiež pomôcť s rýchlejším šírením obsahu a zvýšením záujmu o daný obsah.



Obr. 4 História transakcií obsahujúca výstupné údaje
Zdroj: Nikodém Babirád

4 Výsledky a diskusia

Svet digitálnych mien a blockchainu sa v posledných rokoch stáva stále viac populárnym. Kryptomeny, ako napríklad Bitcoin či Ethereum, získavajú na popularite a s nimi rastie aj dopyt po aplikáciách, ktoré umožňujú ich rýchle, bezpečné a jednoduché odosielanie.

Na záver po vytvorení takejto aplikácie je potrebné zhodnotiť výsledky a zvážiť jej úspešnosť a prínosy. Aplikácia funguje ako platforma, na ktorej sa užívateľ prihlási pomocou svojej online kryptopeňaženky a je schopný vyplnením formulára jednoducho vytvoriť transakciu. Používateľ pri vytváraní transakcie zadáva okrem adresy príjemcu a množstva kryptomeny aj kľúčové slovo a text správy smerovanej pre príjemcu. Tieto dáta zapíšeme vykonaním transakcie na blockchain. Transakcie sa zaznamenávajú a zobrazujú v podobe obrázkov GIF spolu s ďalšími údajmi ako časová značka alebo text správy získaných z transakcie samotnej.

Jedným z najväčších prínosov takejto aplikácie je bezpečnosť. Vďaka použitiu blockchaine je každá transakcia zaznamenaná v nezmeniteľnej databáze, ktorá zabezpečuje, že sa transakcie nedajú zmeniť ani falšovať. Tým pádom sú digitálne peniaze chránené pred zneužitím a krádežou. Navyše, zaslanie kryptomien cez blockchain je rýchle a efektívne (4). Transakcie sú spracované takmer okamžite a nie sú ovplyvnené geografickými hranicami či časovými oneskoreniami.

Ďalšou z výhod je decentralizácia. To znamená, že transakcie sa vykonávajú bez účasti centrálneho orgánu alebo sprostredkovateľa, ako je napríklad banka (4). To umožňuje väčšiu slobodu a nezávislosť v používaní digitálnych mien. Zároveň však vyžaduje, aby boli používatelia opatrní a zodpovední pri ukladaní a odosielaní kryptomien, pretože v prípade straty alebo zničenia sú digitálne peniaze nenávratne stratené.

Pri zhodnotení úspešnosti takejto aplikácie sa však musia zohľadniť aj možné nedostatky. Jedným z nich je nízka použiteľnosť pre bežného používateľa, ktorý sa nemusí vyznať v technickej stránke kryptomien a blockchaine. Preto je dôležité, aby aplikácia bola intuitívna a jednoduchá na použitie, o čo sme sa snažili práve pri našej aplikácií. Ďalším faktorom, ktorý môže ovplyvniť úspešnosť, je konkurencia na trhu. Existuje množstvo aplikácií, ktoré ponúkajú podobné služby a preto je dôležité, aby bola aplikácia dostatočne konkurencieschopná a prínosná pre používateľov. Práve preto naša aplikácia obsahuje využitie dát odoslaných používateľom a ich transformovanie na obrázok, zobrazený priamo v aplikácií, čím sa nám zároveň podarilo demonštrovať ďalšie možné využitie dát získaných z transakcie.

Záver

Vypracovaním článku sme získali poznatky z fungovania technológie blockchain, jej štruktúry a jej možnosti využitia v praxi napríklad pri komunikácií používateľov pomocou transakcií prenášajúcimi potrebné dáta. Táto komunikácia zabezpečuje výhody poskytujúce technológiou blockchain pre odosielané dáta a dá sa využiť vo viacerých prípadoch, ako napríklad pri odosielaní platieb za služby, pri bezpečnom odosielaní správ medzi používateľmi, či inom zapisovaní záznamov na blockchain. V našom riešení zadaných cieľov sme boli úspešní a podarilo sa nám demonštrovať pomocou aplikácie možnosť vytvárať transakcie a posielať pomocou blockchainu dáta ako kľúčové slovo, alebo text a ďalej s nimi pomocou rozhrania aplikácie pracovať. Táto

technológia poskytuje ale do budúcna stále veľký potenciál pre vývoj.

Použitá literatúra

[1] WALKE Jordan. 2023. ReactJS - Getting Started. *reactjs.org.* [Online] [Dátum: 17. 3. 2023.] https://legacy.reactjs.org/docs/getting-started.html.

[2] REITWIESSNER Christian, BEREGSYASYI Alex. 2016-2023. Solidity. *Solidity Manual.* [Online] [Dátum: 17. 3. 2023.] https://docs.soliditylang.org/.

[3] CHRISTIDIS K., DEVETSIKIOTIS M. 10. 5. 2016. Blockchains and Smart Contracts for the Internet of Things. *semanticscholar.org.* [Online] [Dátum: 17. 3. 2023.] https://www.semanticscholar.org/paper/Blockchains-and-Smart-Contracts-for-the-Internet-of-Christidis-Devetsikiotis/c998aeb12b78122ec4143b608b517aef0aa2c821.

[4] KOPFSTEIN Janus. 12. 12. 2013.The Mission to Decentralize the Internet. *www.newyorker.com.* [Online] [Dátum: 17. 3. 2023.] https://www.newyorker.com/tech/annals-of-technology/the-mission-to-decentralize-the-internet.

[5] CAPOCASALE Vittorio, PERBOLI Guido. 29. 8. 2022. Standardi1zing Smart Contracts. *Connected Papers .* [Online] [Dátum: 17. 3. 2023.] https://ieeexplore.ieee.org/document/9869650.

[6] Bitcoin.org. 2009-2023. Bitcoin.org. *How does Bitcoin work?* [Online] [Dátum: 17. 3. 2023.] https://bitcoin.org/en/how-it-works.

[7] ConsenSys. 2023. Getting started with MetaMask. *metamask.* [Online] [Dátum: 17. 3. 2023.] https://support.metamask.io/hc/en-us/articles/360015489531-Getting-started-with-MetaMask.

[8] CHUNG Alex, COOKE Jace. 2020-2022. giphy SDK. *Giphy developers.* [Online] [Dátum: 17. 3. 2023.] https://developers.giphy.com/docs/sdk.

[9] YING-CHANG Liang**.** 1. 2020. Blockchain for Dynamic Spectrum Management. *researchgate.* [Online] [Dátum: 17. 3. 2023.] https://www.researchgate.net/figure/The-structure-of-a-Blockchain-A-block-is-composed-of-a-header-and-a-body-where-a-header_fig1_337306138.

Porovnanie komunikačných technológií v architektúre mikroslužieb

Comparison of communication technologies in microservices architecture

Norbert Macsali[1]
Školiteľ: Michal Čerňanský[2]
[1,2]Katedra aplikovanej informatiky, FPV UCM, Nám J. Herdu 2, 917 01 Trnava
[1]macsali1@ucm.sk, [2]michal.cernansky@ucm.sk

Abstrakt

Cieľom tejto práce je porovnanie moderných komunikačných technológií používaných v architektúre mikroslužieb: Graph Query Language (GraphQL), Representational State Transfer Application Interface (REST API), Google Remote Procedure Call (gRPC) a Rabbit Message Queue (RabbitMQ). Navrhli sme jednoduché vzorové riešenie založené na architektúre mikroslužieb, v ktorom je možné dobre demonštrovať použitie zvolených komunikačných technológií. Pre implementáciu riešenia sme zvolili prostredie .NET a jazyk C#. Hlavným zámerom návrhu a implementácie riešenia je poukázať na hlavné výhody a nevýhody použitia vybraných komunikačných technológií pri komunikácií medzi mikroslužbami navzájom a tiež pri komunikácií medzi klientom a mikroslužbou. Motiváciou tejto práce je teda demonštrovať možnosti komunikácie v architektúre mikroslužieb a správne použitie jednotlivých komunikačných technológií v tejto architektúre.

Kľúčové slová: GraphQL, REST API, gRPC, RabbitMQ, architektúra mikroslužieb

Abstract

The aim of this work is to compare modern communication technologies used in microservices architecture: Graph Query Language (GraphQL), Representational State Transfer Application Interface (REST API), Google Remote Procedure Call (gRPC) and Rabbit Message Queue (RabbitMQ). We have proposed a simple sample solution based on microservices architecture, in which the use of selected communication technologies can be well demonstrated. To implement the solution, we chose the .NET environment and the C# language. The main purpose of the design and implementation of the solution is to point out the main advantages and disadvantages of using selected communication technologies in the communication between microservices and also in the communication between the client and the microservice. The motivation of this work is to demonstrate the possibilities of communication in the microservices architecture and the correct use of individual communication technologies in this architecture.

Key Words: GraphQL, REST API, gRPC, RabbitMQ, microservices architecture

Úvod

V modernom svete informatiky sa tvorí čoraz viac riešení, ktoré sú založené na architektúre mikroslužieb. Architektúra mikroslužieb nám zabezpečuje rozdelenie väčšieho zložitého systému do menších častí ktoré sa nazývajú mikroslužby. Keďže tieto mikroslužby potrebujú medzi sebou a aj s klientom komunikovať v rôznych kontextoch a za rôznych podmienok, tak môže byť pre realizáciu komunikácie vhodné použiť viaceré komunikačné technológie. Konkrétné komunikačné technológie, ktoré si v tomto príspevku popíšeme sú nasledovné: RabbitMQ, REST API, GraphQL, gRPC. Pre synchrónnu komunikáciu budeme používať REST API, GraphQL, gRPC a pre asynchrónnu komunikáciu použijeme RabbitMQ. Zvolili sme si tieto komunikačné technológie pretože ich potenciál veľmi rastie a čím ďalej tým viac firiem a aplikácií ich začína používať. Každá komunikačná technológia má svoje špecifické použitie. V tomto príspevku by sme chceli poukázať na rozdiely medzi jednotlivými komunikačnými technológiami, kedy ich použiť a kedy ich naopak nepoužiť. Taktiež si ukážeme dôležité časti implementácie týchto komunikačných technológií. Mojou motiváciou vytvorenia tohoto príspevku bolo uľahčenie vývojárom zvoliť si správne komunikačné technológie pre ich vyvíjaný systém.

Ako vzorovú aplikáciu pre použitie komunikačných technológií sme zvolili pokladničný systém, ktorý sa skladá z troch mikroslužieb. Mikroslužby v pokladničnom systéme potrebujú komunikovať medzi sebou a tiež s klientom. Každá komunikácia

v pokladničnom systéme bude využívať inú komunikačnú technológiu, čo nám umožní poukázať na špecifické vlastnosti jednotlivých komunikačných technológií.

1 Materiál a metódy

Výber vhodných nástrojov pre tvorbu aplikácií je veľmi dôležitý krok pri vývoji, nakoľko vhodne zvolené nástroje nám umožnia výrazne urýchliť a zjednodušiť realizáciu riešenia. Pre implementáciu komunikačných technológií v pokladničnom systéme sme zvolili nasledovné nástroje:

- **.NET 6** je open source framework ktorý bol vytvorený spoločnosťou Microsoft. Podporuje programovacie jazyky ako sú: C#, F# a Visual Basic. Používa sa najmä pre tvorbu backend aplikácií pomocou programovacieho jazyka C#.
- **Postman** je nástroj pre testovanie API (application user interface). Dokážeme testovať GraphQL dopyty, gRPC komunikáciu a REST API komunikáciu.
- **REST API** je application programming interface (aplikačné rozhranie) ktoré slúži na komunikáciu medzi aplikáciami na základe architektúry REST.
- **GraphQL** je dopytovací jazyk, ktorý nám umožňuje vytvárať API pre získavanie dát, posielanie dát. Pomocou GraphQL dokážeme zvoliť parametre, ktoré chceme získať zo servera.
- **gRPC** zabezpečuje komunikáciu medzi klientom a serverom. Podporuje synchrónnu aj asynchrónnu komunikáciu.
- **RabbitMQ** patrí medzi najpoužívanejšie open source message broker technológie. Funguje na základe Publisher/Consumer modelu.

Pre prácu s komunikačnými technológiami bolo potrebné nainštalovať nasledovné knižnice:

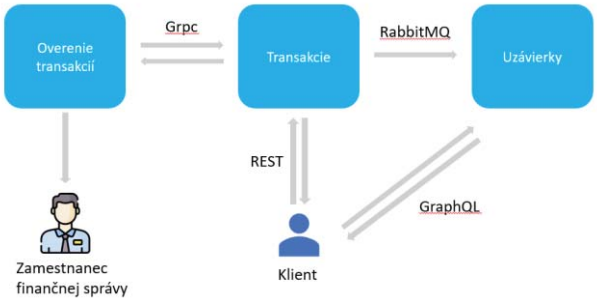
- **Grpc.AspNetCore** knižnica umožnila kompiláciu protocol buffer súboru, kde definujeme, že aký objekt sa bude posielať v gRPC požiadavke a aký objekt sa bude posielať v gRPC odpovedi. Knižnica taktiež zabezpečila vytvorenie všetkých potrebných objektov pre prácu s gRPC technológiou.
- **RabbitMQ.Client** je knižnica pre implementáciu RabbitMQ klienta ktorý dokáže posielať správy a prijímať správy cez RabbitMQ message broker.
- **HotChocolate** slúži na nastavenie a vytvorenie GraphQL servera ktorý umožňuje posielanie dát klientovi na základe GraphQL dopytov.

2 Analýza a riešenie problematiky

Pre porovnanie komunikačných technológií použijeme nami navrhnutú a implementovanú vzorovú aplikáciu založenú na architektúre mikroslužieb - pokladničný systém. V nasledujúcich podkapitolách si popíšeme túto aplikáciu ako aj komunikačné technológie, ktoré budeme používať pri komunikácií medzi mikroslužbami navzájom a medzi mikroslužbami a klientom.

2.1 Vzorová aplikácia

Ako vzorovú aplikáciu pre demonštrovanie použitia komunikačných technológií sme implementovali jednoduchý pokladničný systém, ktorý nám umožní ukázať, kedy je vhodné použiť danú komunikačnú technológiu. Pokladničný systém sa skladá z troch mikroslužieb: mikroslužba transakcií, mikroslužba uzávierok a mikroslužba overenia transakcií. Tieto mikroslužby budú komunikovať pomocou komunikačných technológií: RabbitMQ, REST API, GraphQL a gRPC. Na Obr. 1 sa nachádza schéma pokladničného systému.



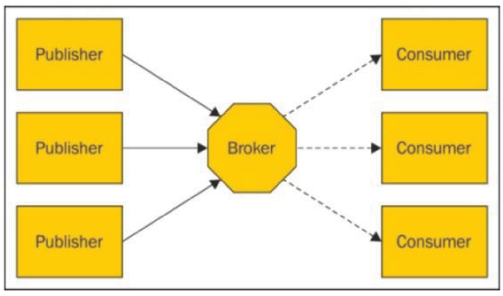
Obr. 1 Schéma vzorovej aplikácie
Zdroj: Autor

Keď klient vytvorí transakciu pomocou mikroslužby Transakcie, tak mikroslužba Uzávierky započíta túto transakciu do dennej uzávierky. Zároveň pri vytvorení transakcie sa vykoná aj jej overenie mikroslužbou Overenie transakcií. Dôležité informácie o vytvorenej transakcií sa pošlú na túto mikroslužbu, ktorá vygeneruje autorizačný kód pre danú transakciu. Mikroslužba Overenie transakcií vráti odpoveď, či bola transakcia úspešne overená. K mikroslužbe Overenie transakcií budú pristupovať zamestnanci finančnej správy za účelom vykonania auditu transakcií.

Navrhnutá aplikácia je výrazným zjednodušením skutočného riešenia, na ktorého vývoji sa podieľa autor tohoto príspevku. Napriek zjednodušeniu, podstatné súčasti riešenia sú zachované a umožňujú ľahko a intuitívne pochopiť jednotlivé mikroslužby a tiež špecifické požiadavky na ich komunikačné rozhrania. Ako môžeme vidieť na Obr.1, komunikáciu je vhodné z tohoto dôvodu zabezpečiť viacerými komunikačnými technológiami, a teda nami navrhnutá aplikácia umožňuje poukázať na špecifické vlastnosti jednotlivých komunikačných technológií, ktoré sú opísané v ďalších kapitolách.

2.2 RabbitMQ

RabbitMQ je asynchrónna komunikačná technológia, ktorá funguje na základe Publisher/Consumer modelu. Publisher je klient ktorý posiela správu (event) a Consumer je klient, ktorý prijíma správu. Základným prvkom RabbitMQ je message broker, ktorý slúži na distribúciu správ. Message broker prijme správy od publisher-ov a rozpošle tieto správy všetkým consumer-om, ktorí počúvajú (lebo sa prihlásili na odber) na túto správu. Na Obr. 2 môžeme vidieť schému message broker systému:



Obr. 2 RabbitMQ message broker
Zdroj: [1]

RabbitMQ je veľmi užitočná komunikačná technológia, ak potrebujeme prijímať notifikácie o nejakých udalostiach. Ak nastane nejaká udalosť, tak consumer-i ktorí počúvajú na túto udalosť príjmu správu a dokážu na túto správu nejakým spôsobom reagovať. Všetky správy sú perzistentne uložené na RabbitMQ serveri. Hlavnou výhodou je, že aj ak je aplikácia ktorá slúži ako consumer násilne ukončená, tak akonáhle sa consumer opätovne spustí, tak RabbitMQ pošle všetky správy ktoré consumer neprijal. Pomocou synchrónnych komunikačných techológií ako napr.: gRPC, REST API, GraphQL nedokážeme jednoducho implementovať komunikáciu na základe publisher/consumer modelu. Na druhej strane, keď potrebujeme synchrónnu komunikáciu, tak RabbitMQ nie je vhodná voľba pretože nepodporuje jednoduchú synchrónnu komunikáciu [1, 2].

V našej vzorovej aplikácií, v pokladničnom systéme sme použili RabbitMQ pre zahrnutie transakcie do uzávierky. Ak sa vytvorí transakcia, tak mikroslužba Transakcie pošle udalosť mikroslužbe Uzávierky, a táto mikroslužba zahrnie vytvorenú transakciu do uzávierky. Na Obr. 3 je uvedená funkcia, ktorá posiela udalosť o vytvorení transakcie z mikroslužby Transakcie.

```
private void PublishMessage(string message)
{
    var body = Encoding.UTF8.GetBytes(message);
    var props = _channel?.CreateBasicProperties();
    if (props != null)
        props.DeliveryMode = 2;

    _channel.BasicPublish(
        "",
        _configuration["RabbitQueue"],
        body: body,
        basicProperties: props
    );
    Console.WriteLine($"--> We have sent: {message} to RabbitMQ");
}
```

Obr. 3 funkcia pre RabbitMQ publish
Zdroj: Autor

Hodnota parametra `props.DeliveryMode=2` zabezpečí aby sa správy ukladali na RabbitMQ serveri, a tým pádom sa správy nestratia ale ostanú na serveri až kým ich consumer neprijme. V mikroslužbe Uzávierky je implementovaná funkcia pre prijatie správy o vytvorení transakcie (Obr. 4).

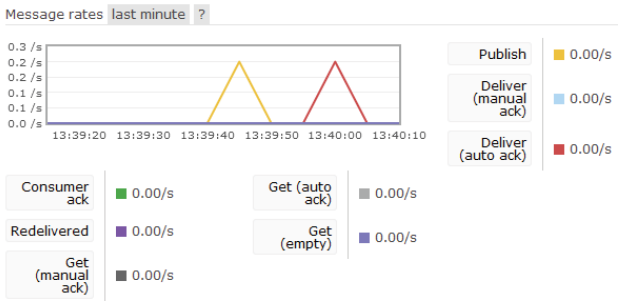
```
consumer.Received += (ModuleHandle, ea) =>
{
    Console.WriteLine("--> Event Received!");

    var body = ea.Body;
    var notificationMessage = Encoding.UTF8.GetString(body.ToArray());

    _eventProcessor.ProcessEvent(notificationMessage);
};

_channel?.BasicConsume(
    queue: _configuration["RabbitQueue"],
    autoAck: true,
    consumer: consumer
);
```

Obr. 4 Funkcia pre prijatie správy z RabbitMQ
Zdroj: Autor

Hlavným dôvodom výberu komunikačnej technológie RabbitMQ je skutočnosť, že ak by bola mikroslužba Uzávierky ukončená z nejakého neočakávaného dôvodu, tak všetky správy o vytvorení transakcie budú

zatiaľ uložené na RabbitMQ serveri. Akonáhle sa mikroslužba uzávierok spustí, tak príjme všetky správy o transakciách, ktoré neprijala kým bola offline, a teda budú aj tieto transakcie zahrnuté do uzávierky.

Po vytvorení transakcie, môžeme vidieť v RabbitMQ dashboard-e, že správa sa úspešne poslala na RabbitMQ server. Na Obr. 5 sa nachádza graf z RabbitMQ dashboard-u, kde žltý trojuholník reprezentuje čas kedy bola správa poslaná mikroslužbou Transakcie a červený trojuholník reprezentuje kedy bola správa prijatá mikroslužbou Uzávierky.



Obr. 5 RabbitMQ dashboard
Zdroj: Autor

2.3 REST API

REST API je komunikačná technológia ktorá je založená na architektúre REST ktorý definuje štandardy komunikácie. REST definuje, že server neuchováva kontext komunikácie pretože kontext sa nachádza v jednotlivých požiadavkách od klienta. Komunikačnú technológiu REST API je vhodné použiť ak potrebujeme realizovať synchrónnu komunikáciu medzi klientom a mikroslužbou pretože navrhnuté REST API prenáša dáta vo formáte JSON, ktorý je prehľadný a čitateľný pre človeka. Pre technológiu REST API existuje mnoho knižníc pretože je to najstaršia technológia v porovnaní s gRPC a GraphQL, čiže je to veľmi široko podporovaná technológia. Ďalšou výhodou je podpora REST API vo webových prehliadačoch, čo nám umožní ľahšie prezeranie dát [3]. V pokladničnom systéme používame REST API aby klient mohol vytvoriť a získať transakcie. Keďže použijeme REST API, tak klient bude môcť vidieť dáta v prehľadnom JSON formáte, čo uľahčuje ladenie u klienta. Implementácia REST API je veľmi jednoduchá, čo znamená rýchlejší vývoj. Na Obr. 6 sa nachádza kód pre získanie transakcií pomocou HTTP Get požiadavky.

```
[HttpGet]
0 references
public ActionResult<IEnumerable<TransactionReadDto>>
GetTransactions()
{
    var transactions = _repository.GetAllTransactions();
    var transactionsReadDto = _mapper.
    Map<IEnumerable<TransactionReadDto>>(transactions);

    return Ok(transactionsReadDto);
}
```

Obr. 6 REST API metóda pre získanie transakcií
Zdroj: Autor

Pri získaní dát pomocou REST API dostaneme transakciu v JSON formáte, ktorý vidíme na Obr. 7.

```
[
    {
        "id": 1,
        "cartItems": [
            {
                "name": "Rozok",
                "quantity": 7
            }
        ],
        "cashierName": "Jano",
        "date": "2022-11-17T00:00:00",
        "price": 7.99,
        "closureId": 1,
        "verified": false,
        "discountAmount": null
    }
]
```

Obr. 7 JSON transakcie
Zdroj: Autor

V porovnaní s GraphQL a gRPC je REST API najjednoduchšia komunikačná technológia vďaka jednoduchej implementácií. V ďalších podkapitolách bude zrejmé, že implementácia gRPC a Graphql technológií je komplexnejšia ako REST API.

2.4 GraphQL

GraphQL je synchrónna komunikačná technológia, ktorá umožňuje klientovi zvoliť atribúty, ktoré chce získať zo servera pomocou dopytu [4]. Pri prenášaných objektoch ktoré majú veľa atribútov nie je vhodné použiť REST API alebo gRPC, keďže nepodporujú dopyt konkrétnych atribútov. V našom pokladničnom systéme máme model uzávierky, ktorý má veľa atribútov, tým pádom by sme nemali použiť REST API alebo gRPC pretože by sme zbytočne prenášali veľa dát cez sieť. Práve preto sme použili pri získavaní uzávierok GraphQL aby sme vedeli zvoliť konkrétne atribúty

uzávierky ktoré potrebujeme. Pre prácu s GraphQL potrebujeme nainštalovať knižnicu HotChocolate v .NET framework-u. Pri nakonfigurovaní knižnice a nastavení potrebných parametrov môžeme začať používať GraphQL. Na Obr.8 sa nachádza funkcia pre získanie uzávierky pomocou GraphQL.

```
[UseProjection]
[UseFiltering]
[UseSorting]
0 references
public IQueryable<Closure> GetClosures() {
    return _repository.GetAllClosures().AsQueryable();
}
```

Obr. 8 Funkcia pre získanie uzávierky pomocou GraphQL
Zdroj: Autor

Po poslaní GraphQL query na server sa nám vrátia zvolené atribúty zo servera. Na Obr. 9 sa nachádza na ľavej strane samotný dopyt (query) a na pravej strane sa nachádza výsledok dopytu.

```
query{
  closures {
    endDate,
    startDate,
    totals {
      totalPrice
    }
  }
}
```

```
{
  "data": {
    "closures": [
      {
        "endDate": "2022-12-31T23:00:00.000Z",
        "startDate": "2021-12-31T23:00:00.000Z",
        "totals": {
          "totalPrice": 63.92
        }
      }
    ]
  }
}
```

Obr. 9 Výsledok GraphQL dopytu
Zdroj: Autor

Ak by sme chceli pomocou GraphQL vytvárať dáta, tak na to sa používajú tzv. mutácie. Mutácia je GraphQL operácia ktorá sa používa pre pridávanie dát alebo aktualizovanie dát na serveri [5].

Keď nejaký klient ako napr. webová aplikácia alebo mobilná aplikácia chce použiť GraphQL , tak musí pridať do projektu GraphQL schému, ktorá obsahuje atribúty a typ atribútov prenášaného objektu. Taktiež musí pridať GraphQL query pomocou ktorého by získaval jednotlivé atribúty zo servera. Implementácia GraphQL, či už zo strany klienta alebo servera je komplexnejšia ako REST API pretože klient musí mať vedomosti o tom, že čo je to GraphQL schéma, query, mutácie atď. REST API je vhodnejšie použiť pri objektoch ktoré majú málo atribútov a nie je potrebné vytvárať dopyt na konkrétne atribúty, preto sme použili REST API pri mikroslužbe Transakcie pretože objekt transakcie nemá veľa atribútov.

2.5 gRPC

V súčasnosti sa do popredia čoraz viac dostáva technológia gRPC. Patrí medzi synchrónne komunikačné technológie. Veľkou výhodou gRPC je rýchlosť pretože prenáša dáta pomocou HTTP/2 protokolu. Dáta sú prenášané v binárnom formáte vďaka HTTP/2 protokolu a preto gRPC zabezpečuje veľmi rýchly prenos. GraphQL a REST API používajú JSON formát pri prenášaní dát, čo spôsobuje pomalší prenos. Vo väčšine aplikácií sa gRPC používa pri komunikácií medzi mikroslužbami navzájom ale nie pri komunikácií medzi klientom a mikroslužbou. Binárny formát dát nie je čitateľný pre klienta a to je dôvod prečo by sme gRPC nemali použiť pri komunikácií priamo s klientom. Ak by sme použili gRPC pri komunikácií s klientom, tak by bolo komplikované realizovať ladenie na strane klienta [6,7].

V pokladničnom systéme je potrebné každú vytvorenú transakciu overiť, nemôžeme použiť RabbitMQ pretože potrebujeme počkať na odpoveď, či sa transakcia úspešne overila. Keďže potrebujeme počkať na odpoveď, potrebujeme synchrónnu komunikáciu, ktorá bude prebiehať medzi mikroslužbou Overenie transakcií a mikroslužbou Transakcie. Použijeme gRPC pretože potrebujeme komunikáciu medzi dvomi mikroslužbami, tým pádom komunikácia bude veľmi rýchla a nepotrebujeme žiadny čitateľný formát pretože komunikácia nebude prebiehať priamo s klientom. Použiť REST API a GraphQL by v tomto prípade bolo menej vhodné, pretože komunikácia by bola pomalšia a nepotrebujeme žiadnym spôsobom dopytovať konkrétne atribúty z prenášaného objektu.

Pre implementáciu sa najprv musí vytvoriť protocol buffer súbor s definíciami správ a služieb, ktorý opisuje, že čo sa bude posielať v požiadavke a čo sa bude posielať v odpovedi. V požiadavke sa bude posielať transakcia ktorú potrebujeme overiť, v odpovedi sa bude posielať bool hodnota, či sa transakcia úspešne overila. Na Obr. 10 sa nachádza protocol buffer súbor z nášho pokladničného systému:

```
syntax = "proto3";

option csharp_namespace =
"VerifyTransactionService";


service GrpcTransactionVerification {
    rpc VerifyTransaction
    (VerifyTransactionRequest) returns
    (VerifyTransactionResponse);
}

message VerifyTransactionRequest {
    TransactionModel transaction = 1;
}

message TransactionModel {
    int32 id = 1;
    double price = 2;
}

message VerifyTransactionResponse {
    bool verified = 1;
}
```

Obr. 10 Protocol buffer súbor pre overenie transakcie
Zdroj: Autor

Po vytvorení protocol buffer súboru sa musí skompilovať projekt na strane gRPC klienta a gRPC servera aby sa vytvorili potrebné objekty a funkcie pre prácu s gRPC technológiou. gRPC klient v našom prípade je mikroslužba Transakcie, ktorá bude posielať transakciu, ktorú je potrebné overiť. gRPC server je mikroslužba Overenie transakcií, ktorá bude posielať odpoveď, či sa transakcia úspešne overila. Následne pomocou vygenerovaných objektov z protocol buffer súboru môžeme vytvoriť gRPC kanál cez ktorý bude prebiehať komunikácia. Príklad pre komunikáciu zo strany gRPC klienta (mikroslužba Transakcie) sa nachádza na Obr. 11.

```
var channel = GrpcChannel.ForAddress(_configuration
["GrpcPlatform"]);
var client = new GrpcTransactionVerification.
GrpcTransactionVerificationClient(channel);
var request = new VerifyTransactionRequest()
{
    Transaction = new TransactionModel()
    {
        Id = transaction.Id,
        Price = ((double)transaction.Price)
    }
};
```

Obr. 11 Vytvorenie gRPC klienta v mikroslužbe Transakcie
Zdroj: Autor

Následne sa pošle požiadavka na gRPC server:
`client.VerifyTransaction(request)`

Po vytvorení transakcie sa do objektu pridá atribút `"verified": true`, ktorý naznačuje, že overenie bolo úspešné, čiže gRPC komunikácia medzi mikroslužbou Transakcie a mikroslužbou Overenie trnsakcií prebehla správne.

Keďže sa objekty a funkcie pre prácu s gRPC generujú po každej zmene protocol buffer súboru, tak vieme zabezpečiť aby komunikácia na oboch stranách bola zjednotená. Keď sa zmení definícia protocol buffer súboru na serveri, tak gRPC klient si skopíruje zmenený protocol buffer súbor a vygenerujú sa objekty a funkcie na strane gRPC klienta rovnaké ako aj na serveri.

3 Výsledky a diskusia

Výsledkom tejto práce bolo vytvorenie jednoduchej vzorovej aplikácie - pokladničného systému, ktorý nám napriek jednoduchosti umožnil dobre demonštrovať vhodnosť použitia moderných komunikačných technológií RabbitMQ, REST API, GraphQL a gRPC. Nami navrhnutý pokladničný systém je výrazným zjednodušením reálneho riešenia tak, aby navrhnuté mikroslužby boli jednoduché a mali špecifické a ľahko pochopiteľné požiadavky na komunikáciu. Pre komunikáciu medzi jednotlivými mikroslužbami v pokladničnom systéme je teda vhodné použiť rôzne komunikačné technológie.

Pri komunikácií medzi mikroslužbou Transakcie a mikroslužbou Uzávierky sme použili RabbitMQ. Vďaka RabbitMQ sme dokázali využiť ukladanie správ na RabbitMQ broker-i, a tým sme zabezpečili aby sa všetky transakcie zahrnuli do uzávierky, aj keby mikroslužba Uzávierky bola na nejakú dobu nedostupná. Medzi mikroslužbou Overenie transakcií a mikroslužbou Transakcie sme použili gRPC pre overenie transakcie pretože sme potrebovali vysokú rýchlosť prenosu a nepotrebovali sme čitateľný formát dát, keďže sme nekomunikovali s klientom. Rest API sme použili pri komunikácií klienta s mikroslužbou Transakcie, čím sme využili prehľadný formát dát (JSON), čo môže výrazne uľahčiť ladenie na strane klienta. Poslednú komunikačnú technológiu GraphQL sme použili pri získavaní informácií z mikroslužby Uzávierky aby klient mal možnosť zvoliť konkrétne atribúty uzávierky. Keďže model uzávierky má veľa atribútov, nepotrebné atribúty nebudú počas komunikácie zbytočne prenášané.

Záver

Našim cieľom v príspevku bolo analyzovať problematiku výberu správnej komunikačnej technológie v architektúre mikroslužieb. Opísali sme,

kedy je vhodné jednotlivé komunikačné technológie použiť a taktiež sme opísali ich výhody a nevýhody. Komunikačné technológie sme aplikovali do pokladničného systému, ktorý slúžil ako vzorová jednoduchá aplikácia pre použitie jednotlivých komunikačných technológií. Ukázali sme si špecifické využitie každej komunikačnej technológie.

Poďakovanie

Ďakujem doc. Ing. Michalovi Čerňanskému, PhD. za ochotu, pomoc a výborné rady pre realizáciu tohto príspevku.

Použitá literatúra

[1] Dossot, D., 2014. RabbitMQ essentials. Packt Publishing Ltd.

[2] Ayanoglu, E., Aytas, Y. and Nahum, D., 2016. Mastering rabbitmq. Packt Publishing Ltd.

[3] Soni, A. and Ranga, V., 2019. API features individualizing of web services: REST and SOAP. International Journal of Innovative Technology and Exploring Engineering, 8(9), pp.664-671.

[4] Hartig, O. and Pérez, J., 2018, April. Semantics and complexity of GraphQL. In Proceedings of the 2018 World Wide Web Conference (pp. 1155-1164).

[5] Biehl, M., 2018. GraphQL API Design (Vol. 5). API-University Press.

[6] Indrasiri, K. and Kuruppu, D., 2020. gRPC: up and running: building cloud native applications with Go and Java for Docker and Kubernetes. O'Reilly Media.

[7] Du, S.G., Lee, J.W. and Kim, K., 2018, January. Proposal of GRPC as a new northbound API for application layer communication efficiency in SDN. In Proceedings of the 12th International Conference on Ubiquitous Information Management and Communication (pp. 1-6).s

Platforma pre výmenu NFT

NFT exchange

Lukáš Haring[1]
Školiteľ: Vladimír Siládi[2]
[1,2]Katedra informatiky, FPV UMB, Tajovského 40, 974 01 Banská Bystrica
[1] lharing@student.umb.sk, [2] vladimir.siladi@umb.sk

Abstrakt

Práca sa zameriava na platformu na výmenu NFT (non-fungible token), ktorá umožňuje používateľom vymieňať digitálne aktíva v blockchainovej sieti. V práci sa opisuje vývoj a architektúra našej platformy a jej hlavné funkcie. Medzi tieto funkcie patrí napríklad možnosť spravovať digitálne aktíva, prezeranie dostupných NFT na trhu a realizovanie obchodov.

Ďalej sa diskutuje o vplyve NFT technológie na tradičné trhy, obchodovanie s umením a rozvoji NFT ekosystému.

Výsledky práce naznačujú, že platformy na výmenu NFT majú potenciál stať sa dôležitou súčasťou digitálnej ekonomiky, kde môžu byť použité pre rôzne uplatnenia. Medzi uplatnenia patrí napríklad zbieranie umenia, herných aktív, či tokenizáciu nehnuteľností.

Kľúčové slová: nft, blockchain, non-fungible token, digitálne aktíva, architektúra

Abstract

This paper focuses on a platform for exchanging NFTs (non-fungible tokens), which allows users to trade digital assets on a blockchain network. The paper describes development and the architecture of this platform and its main functions, which include the ability to manage digital assets, browse available NFTs on the market, and execute trades.

Furthermore, the paper discusses the impact of this technology on traditional markets, art trading, and the development of the NFT ecosystem.

The results of this paper suggest that NFT exchange platforms have the potential to become an important part of the digital economy, where they could be used for a wide range of applications, such as art collection, gaming assets, and real estate tokenization.

Key Words: nft, blockchain, non-fungible token, digital assets, architecture

Úvod

V súčasnej dobe je digitálna ekonomika vo veľkom raste a nové technológie, ako napríklad blockchain a NFT, prichádzajú s možnosťami, ktoré menia spôsob, akým ľudia vlastnia, obchodujú a investujú do digitálnych aktív. NFT sú jedinečné digitálne tokeny, ktoré slúžia ako dôkaz o vlastníctve a autenticite digitálnych aktív, ako sú digitálne umenie, hudobné skladby, alebo herné aktíva. NFT vytvárajú novú možnosť pre umelcov, tvorcov obsahu a vydavateľov, na získanie priameho prístupu k svojim fanúšikom a zákazníkom bez potreby sprostredkovateľov, ako sú tradičné distribučné siete a trhy.

Cieľom práce je opísať vývoj a architektúru platformy, ktorá umožňuje používateľom vymieňať digitálne aktíva v blockchainovej sieti. Opisuje jej hlavné funkcie a diskutuje o vplyve NFT technológie na tradičné trhy, obchodovanie s umením a rozvoji NFT ekosystému.

Výsledky práce ukazujú, že platformy na výmenu NFT majú dôležité miesto v digitálnej ekonomike.

1 Rešerš

Pre vytvorenie práce bolo potrebné veľké množstvo rešeršnej činnosti, keďže táto problematika bola pre nás úplne nová a nepreskúmaná. Na internete je veľké množstvo zdrojov, ktoré nám pomohli v následnom vývoji našej platformy. Medzi stránky, z ktorých sme čerpali najviac, patria: Dokumentácia OpenZepplin [1], Ethereum Improvement Proposals [2], ETHEREUM DEVELOPMENT TUTORIALS [3] a dokumentácia pre jazyk Solidity [4].

1.1 Získavanie znalostí

V úvodnej etape sme sa snažili zistiť čo najviac o téme a získať čo najväčšie porozumenie o tom, ako blockchain funguje. Čítali sme si množstvo dokumentov o ERC štandardoch tokenov a prešli sme si tutoriálom s názvom CryptoZombies [5], ktorý ukazoval, ako sa píšu smart-contracty v jazyku Solidity.

1.2 ERC štandardy

ERC štandardy slúžia ako špecifikácia pre Ethereum aplikácie. Tieto štandardy špecifikujú rôzne druhy tokenov v blockchainovej sieti.

Základný štandard tokenov, ktorý sa využíva ako platobná mena v sieti Ethereum je ERC20. Je to typ zameniteľného tokenu, čo znamená, že je možné ho vzájomne vymieňať za iné ERC20 tokeny. Tieto tokeny majú rovnakú hodnotu v rámci jednej siete [6].

Tokeny, ktoré sú označované ako NFT (non-fungible token) spadajú pod štandard ERC721 a môžu byť vytvorené napríklad v rámci Ethereum sieti [7]. Hlavný odlišovací prvok tohoto štandardu je, že tieto tokeny sú jedinečné a nezameniteľné. Tokeny ERC721 môžu byť využité pre reprezentáciu digitálnych diel, zberateľských predmetov, alebo názvov domén. Hlavnou výhodou ERC721 tokenov je, že po uložení na blockchain nemôžu byť duplikované a falšované [8].

Ako posledný štandard tokenov, ktorý si spomenieme, je ERC1155. Tento štandard tokenov môže byť podobne, ako predošlé dva, vytvorený na sieti Ethereum [9]. Hlavným rozdielom je však to, že štandard ERC1155 spája vlastnosti ERC20 a ERC721 tokenov. Token typu ERC1155 v sebe môže obsahovať ERC20 aj ERC721 tokeny. To znamená, že môže reprezentovať digitálnu menu, ale aj digitálne diela [10]. Pri štandarde ERC1155 je dôležité spomenúť, že na rozdiel od štandardu ERC721, ktorý obsahuje statické metadáta, štandard ERC1155 má dynamické metadáta. Každý token ERC1155 ukazuje na iné zdroje, kde sú časti ich metadát uložené. Vďaka tomu sú transakcie ERC1155 tokenov efektívnejšie a cenovo dostupnejšie, pretože nie je nutné všetky metadáta zapisovať priamo na blockchain [11].

1.3 Výber blockchainu

Vyššie spomínané štandardy fungujú vďaka sieti Ethereum,, avšak posielanie transakcií na tomto blockchaine je finančne náročne a nevýhodné. Preto sme sa rozhodli pre našu aplikáciu využiť sieť Polygon.

Polygon je sieť, ktorá je kompatibilná s Ethereum blockchainom a zdieľa podobné vlastnosti. Je to tzv. Layer-2 riešenie, čo znamená, že je založený na Ethereum sieti (Layer-1) a má za úlohu zvýšiť rýchlosť a efektívnosť tejto siete [12].

Polygon sieť používa ako hlavnú platobnú menu MATIC, ktorého trhová hodnota je v dobe písania tejto práce 1.22€. Vďaka tomu, že sa transakcie spracovávajú oddelene od Ethereum siete, zaručuje lepšie časy spracovania transakcií a menšie poplatky za vykonanie transakcie [13].

Kvôli vyššie spomenutým faktom sme sa rozhodli použiť ako hlavnú sieť pre našu aplikáciu Polygon. Ak by sme sa však rozhodli, že chceme naše výmeny realizovať na Ethereum sieti, stačí len prepísať číslo, ktoré určuje sieť v našom kóde. Transakcie medzi rôznymi sieťami však nie sú možné. Ak sme vytvorili NFT na Polygon sieti, nemôžeme ho vymeniť za NFT, ktoré bolo vytvorené na Ethereum sieti.

1.4 Využitie nadobudnutých znalostí

Po nadobudnutí prvotných znalostí o problematike sme začali navrhovať dizajnovú časť rozhrania, do ktorého sme následne plánovali naše znalosti implementovať.

Po navrhnutí prvej verzie dizajnu sme začali kódovať webovú stránku, ktorá mala slúžiť ako používateľské rozhranie pre spracovanie, prezeranie a vymieňanie digitálnych aktív.

1.5 Ďalšie platformy na vymieňanie NFT

Na začiatku vývoja našej aplikácie existovala iba jedna podobná platforma, ktorá bola zameraná na vymieňanie NFT. Tu je však dôležité podotknúť, že naša vízia sa líšila od vízie tejto druhej stránky [14]. Náš spôsob interakcie s webovou aplikáciou má byť jednoduchý a intuitívny, zatiaľ čo ich spracovanie a forma výmeny nekorešpondovali s našimi predstavami.

V súčasnej dobe vzniká ešte jedna platforma, ktorá má spĺňať podobný účel, ako naše riešenie, avšak je ešte stále vo vývoji, podobne ako naša aplikácia.

2. Architektúra

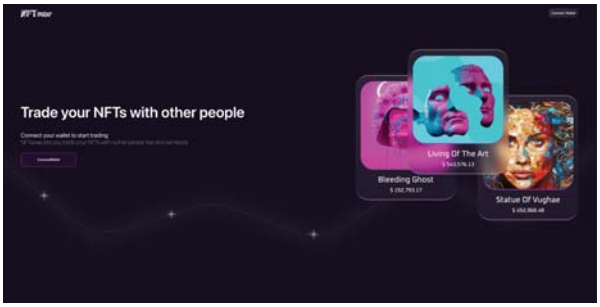
Cieľom našej aplikácie je vytvoriť intuitívne používateľské rozhranie, ktoré bude dostatočne jednoduché na to, aby si noví používatelia vedeli bezproblémovo vymieňať svoje NFT.

2.1 Hlavné funkcie

Naša platforma pozostáva z troch hlavných častí: Domovská stránka, rozhranie pre vytváranie, potvrdzovanie a rušenie obchodov a stránky profilu používateľa.

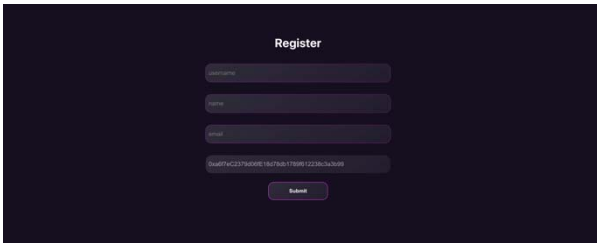
2.2 Registrácia nového používateľa

Pri prvom načítaní našej aplikácie sa používateľ ocitne na domovskej stránke (Obr. č. 1). Domovská obrazovka je jednoduchá a má používateľa naviesť k tomu, aby do našej aplikácie pripojil svoju peňaženku.



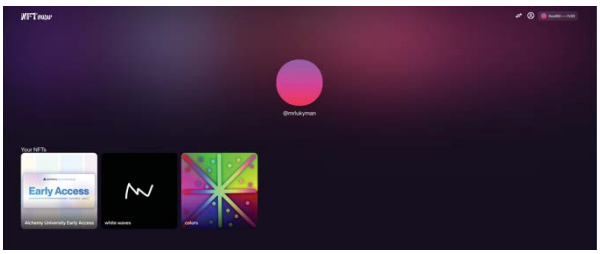
Obr. 1 Domovská stránka
Zdroj: Lukáš Haring

Po pripojení peňaženky je používateľ presmerovaný na registračný formulár, ktorý je znázornený na obrázku číslo 2. Tu sa od neho požaduje zadať používateľské meno, emailovú adresu a jeho meno a priezvisko. Je dôležité spomenúť, že sa od používateľa nevyžaduje vytvorenie hesla, pretože pre autentifikáciu slúži samotná peňaženka.



Obr. 2 Registračný formulár
Zdroj: Lukáš Haring

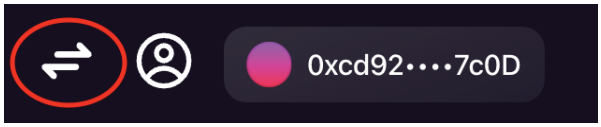
Po úspešnej registrácii, je používateľ presmerovaný na jeho profilovú stránku (Obr. č. 3). Po presmerovaní má používateľ možnosť vidieť ním vlastnené NFT.



Obr. 3 Profilová stránka
Zdroj: Lukáš Haring

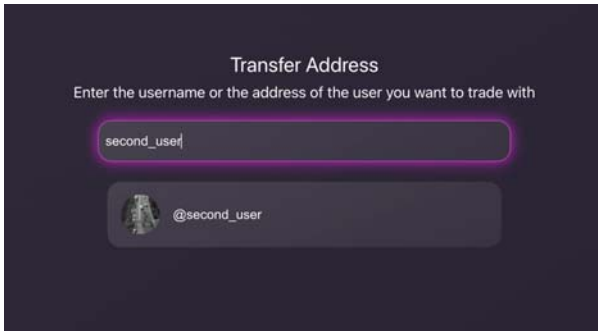
2.3 Rozhranie pre výmenu NFT

V pravom hornom rohu stránky sa nachádza ikonka s dvoma šípkami, ktorá má naznačovať výmenu. Túto ikonku môžeme vidieť označenú červeným krúžkom na obrázku číslo 4.



Obr. 4 Ikona výmeny
Zdroj: Lukáš Haring

Po kliknutí na túto ikonku je používateľ presmerovaný do rozhrania pre výmenu. Používateľ musí najprv vyhľadať profil prijímateľa obchodu, podľa používateľského mena, alebo adresy peňaženky. (Obr. č. 5).



Obr. 5 Vyhľadávanie prijímateľa
Zdroj: Lukáš Haring

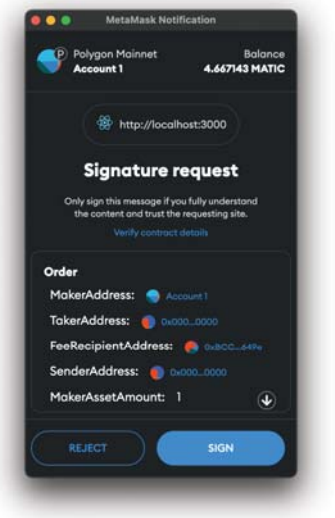
Po vyhľadaní správneho profilu je odosielateľovi prezentované jednoduché rozhranie, v ktorom má možnosť prechádzať zoznam svojich NFT a zoznam NFT prijímateľa (Obr. č. 6). Po kliknutí na obrázok NFT je toto NFT pridané do zoznamu NFT, ktoré chce používateľ vymeniť. Jedinečná charakteristika nášho riešenia je, že výmenu je možné uskutočniť s ľubovoľným počtom NFT (ERC721, ERC1155) a do výmeny je možné zakomponovať aj ERC20 tokeny, ktoré sa používajú ako platobná mena na blockchaine.

Obr. 6 Rozhranie obchodu
Zdroj: Lukáš Haring

Pre výmenu totiž používame všetky dostupné štandardy. Pre kombináciu rôznych štandardov v rámci jedného obchodu využívame štandard ERC1155, ktorý

nám dovoľuje kombinovať rôzne tokeny v rámci jedného smart-contractu. Vďaka tomuto sa dá vyrovnať cenový rozdiel medzi jednotlivými NFT.

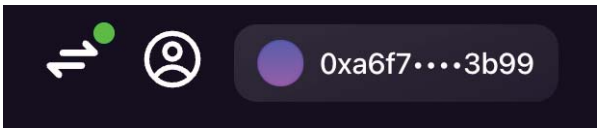
Keď je odosielateľ spokojný so svojim výberom, môže kliknúť na tlačidlo Trade, ktoré iniciuje obchod. Tu je od odosielateľa vyžadované potvrdiť svoje rozhodnutie formou podpisu v peňaženke. Obrázok č. 7 znázorňuje podpísanie obchodu priamo v peňaženke.



Obr. 7 Podpis obchodu v peňaženke
Zdroj: [15]

Toto slúži ako verifikácia vytvorenia obchodu zo strany odosielateľa, ktorý ho vytvoril. Odosielateľ podpisom potvrdzuje, že chce svoje NFT vymeniť za NFT prijímajúceho používateľa a keď prijímateľ túto výmenu potvrdí a podpíše, budú NFT automaticky presunuté medzi peňaženkami.

Keď odosielateľ úspešne podpíše a vytvorí obchod, prijímateľ dostane signalizáciu v podobe zelenej guličky pri ikonke, ktorou sa vie dostať do rozhrania pre výmenu NFT. Túto signalizáciu môžeme vidieť na obrázku č. 8.

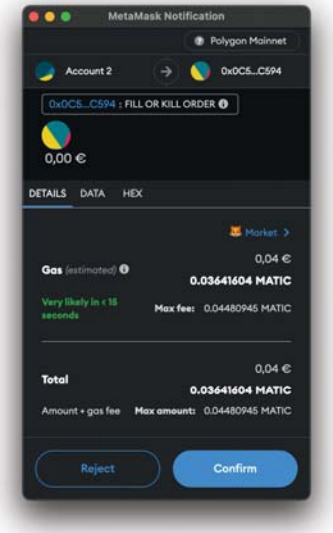


Obr. 8 Signalizácia prichádzajúceho obchodu
Zdroj: Lukáš Haring

Po kliknutí na túto ikonku sa prijímateľovi zobrazí náhľad informácií o obchode (Obr. č. 9). Ten obsahuje meno používateľa, ktorý obchod vytvoril a zoznam NFT, ktoré si chce vymeniť. Prijímateľ má možnosť obchod akceptovať, alebo ho zamietnuť.

Obr. 9 Prichádzajúci obchod
Zdroj: Lukáš Haring

Po kliknutí na tlačidlo Accept musí prijímateľ obchod podpísať (potvrdiť tým, že chce vymeniť svoje NFT). Potvrdenie obchodu je znázornené na obrázku č. 10.



Obr. 10 Podpísanie obchodu zo strany prijímateľa
Zdroj: [15]

Následne sa prijímateľovi zobrazí správa o úspešnom uskutočnení obchodu, spolu s identifikačným kódom transakcie. Obchod je ďalej pridaný do histórie obchodov, kde je označený ako akceptovaný. To, že sa obchod naozaj uskutočnil si používateľ môže overiť buď na stránke: https://polygonscan.com, alebo priamo na jeho profilovej stránke, kde sa nachádza zoznam NFT, ktoré vlastní.

Ak sa prijímateľ obchodu rozhodne, že obchod zamietne, je mu podobne ako pri akceptovaní prezentovaná správa o úspešnom zamietnutí obchodu a obchod je v histórii označený ako zamietnutý.

Celý proces je graficky znázornený na obrázku č. 11 na konci dokumentu.

3. Vplyv NFT

Vplyv NFT technológie na tradičné trhy a obchodovanie s umením je stále predmetom diskusií a výskumu.

Jedným z najzaujímavejších faktorov, ktoré NFT technológia prináša, je možnosť vlastniť digitálne aktíva, čo predtým nebolo možné. Tento faktor sa stal dôležitým pre obchodovanie s umením, kde v minulosti existovala neistota ohľadom autenticity a vlastníctva digitálnych diel.

3.1 Digitálna identita

NFT technológia umožňuje vytvoriť jedinečnú digitálnu identitu pre každý kus umenia. Tento proces zabezpečuje, že každý kus digitálneho umenia má vlastníka, čo umožňuje obchodovanie s umením v online prostredí [16].

3.2 NFT ekosystém

NFT ekosystém sa rýchlo rozvíja, a preto je dôležité byť v kontakte s novými trendmi a technológiami, ktoré sa na tejto platforme objavujú. NFT technológia umožňuje umelcom a tvorcom digitálnych diel generovať príjmy, z predaja týchto diel. S narastajúcou popularitou tejto technológie sa očakáva, že sa bude stále viac využívať v rôznych oblastiach, vrátane umenia.

4 Výsledky a diskusia

Vďaka nadobudnutým informáciám o technológii blockchain a NFT sme boli schopní vytvoriť platformu, na ktorej si používatelia môžu vzájomne vymieňať NFT.

V priebehu tvorenia sme aj napriek extenzívnej rešeršnej činnosti nenašli platformy podobné tej našej. Konštatujeme, že takéto vymieňanie NFT má svoje miesto v digitálnej ekonomike. Je len otázka času, kedy začne vznikať viac takýchto aplikácií.

S výsledkami práce sme spokojní, nakoľko sa nám podarilo dosiahnuť stanovené ciele.

Záver

Medzi najdôležitejšie zistenia našej práce patrí fakt, že sa v digitálnej ekonomike nenachádzajú skoro žiadne platformy, ktoré používateľom dovoľujú jednoducho a rýchlo zameniť svoje NFT za NFT iných používateľov. Je nutné sa pozrieť aj na fakt, že technológia NFT je stále veľmi nová a aj napriek rastúcej popularite o nej vie stále relatívne málo ľudí.

Našou predpoveďou do budúcnosti je, že sa v najbližších rokoch takéto platformy stanú veľmi populárne, pretože podobné platformy existujú už napríklad v hernej komunite.

Použitá literatúra

[1] OpenZepplin Docs. Documentation. [Online] Dostupné z: https://docs.openzeppelin.com.

[2] Ethereum Improvement Proposals. EIPs. [Online] Dostupné z: https://eips.ethereum.org.

[3] ETHEREUM DEVELOPMENT TUTORIALS. ETHEREUM DEVELOPMENT TUTORIALS. [Online] Dostupné z: https://ethereum.org/en/developers/tutorials/.

[4] Solidity. Solidity. [Online] Dostupné z: https://docs.soliditylang.org/en/develop/index.html#solidity.

[5] CryptoZombies. CryptoZombies. [Online] Dostupné z: https://cryptozombies.io/.

[6] Reiff, Nathan. What Are ERC-20 Tokens on the Ethereum Network? Investopedia. [Online] 4 2 2023. Dostupné z: https://www.investopedia.com/news/what-erc20-and-what-does-it-mean-ethereum/.

[7] Jithil P Ponnan, Paul Wackerow, Hursit Tarcan. ERC-721 NON-FUNGIBLE TOKEN STANDARD. Ethereum. [Online] 21 1 2023. Dostupné z: https://ethereum.org/en/developers/docs/standards/tokens/erc-721/.

[8] zehraina. What is ERC721 Token? GeeksForGeeks. [Online] 26 2 2023. Dostupné z: https://www.geeksforgeeks.org/what-is-erc721-token/.

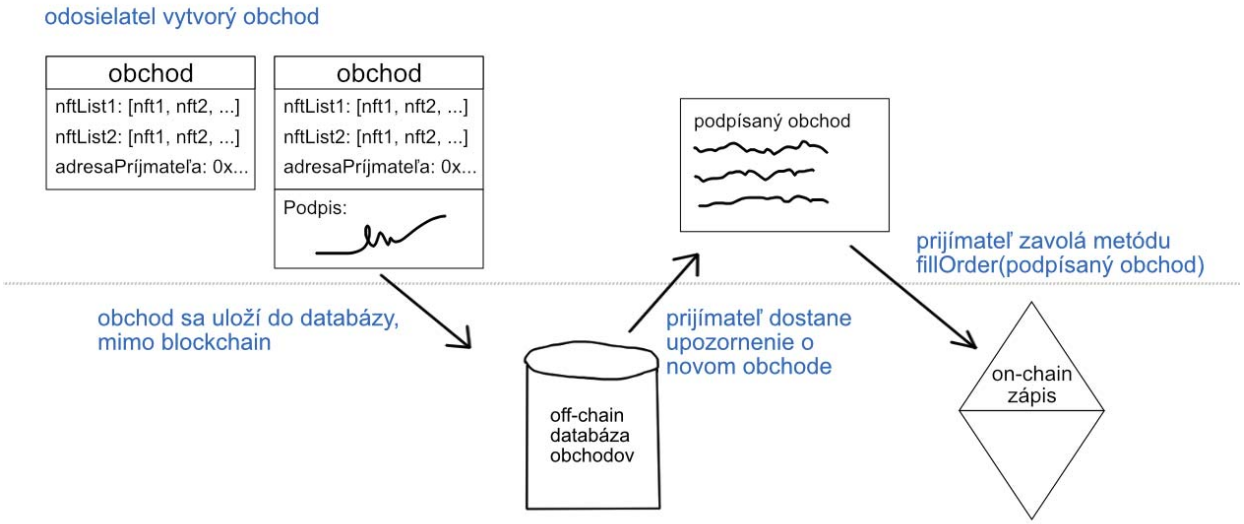
[9] Smith, Corwin. ERC-1155 MULTI-TOKEN STANDARD. Ethereum. [Online] 10 2 2023. Dostupné z: https://ethereum.org/en/developers/docs/standards/tokens/erc-1155/.

[10] Weston, Georgia. Ethereum Tokens: ERC1155 Tutorial. 101blockchains. [Online] 22 4 2022. Dostupné z: https://101blockchains.com/erc1155-tutorial/.

[11] Das, Tamal. ERC721 Vs ERC1155 Tokens: The Ultimate Guide for Ethereum Smart Contracts. thenftbrief. [Online] Dostupné z: https://thenftbrief.com/erc721-vs-erc1155/.

[12] Vladimir. All About Cryptocurrency Scaling And Layer 2 Scaling Solutions - Beginner's Guide. zerion. [Online] 27 4 2022. Dostupné z:

https://zerion.io/blog/all-about-cryptocurrency-scaling-solutions-beginners-guide-zerion/.
[13] Wei, Lim How. Ethereum vs. Polygon: Which is better for NFTs? followchain. [Online] 4 2 2022. Dostupné z: https://www.followchain.org/ethereum-vs-polygon-nft/.
[14] NFTTRADER. [Online] Dostupné z: https://www.nfttrader.io.
[15] Metamask. A crypto wallet & gateway to blockchain apps [Online] Dostupné z: https://metamask.io/
[16] Sharma, Rakesh. Investopedia. Non-Fungible Token (NFT): What It Means and How It Works. [Online] Dostupné z: https://www.investopedia.com/non-fungible-tokens-nft-5115211
[17] SwapSDK. Swap NFT <> ERC-20 Example [Online] Dostupné z: https://docs.swapsdk.xyz/readme/swap-nft-less-than-greater-than-erc-20-example



Obr. 11 životný cyklus výmeny
Zdroj: [17]

Návrh a vývoj mobilnej aplikácie pre nahlasovanie nelegálnych skládok na Slovensku

Design and development of mobile application for reporting illegal landfills in Slovakia

Peter Hafner[1] – Patrik Holeš[2]
Školitelia: Marián Hosťovecký[3] – Jana Jurinová[4]
[1,2,3,4]Katedra aplikovanej informatiky, FPV UCM, Nám. J. Herdu 2, 917 01 Trnava
[1] hafner1@ucm.sk, [2] holes1@ucm.sk, [3] marian.hostovecky@ucm.sk , [4] jana.jurinova@ucm.sk

Abstrakt

V uvedenom článku predstavujeme multiplatformovú mobilnú aplikáciu s názvom TrashRunner, ktorá bola navrhnutá a implementovaná pre platformy Android a iOS. Cieľom uvedenej aplikácie je riešenie narastajúcej problematiky nelegálnych skládok na území Slovenskej republiky. Aplikácia využíva pokrokové technológie, ako sú rozšírená realita (AR) a strojové učenie (ML), na efektívne identifikovanie, potvrdenie a nahlasovanie nelegálnych skládok, čím môže prispieť k ich identifikácii a odstraňovaniu.

TrashRunner aktuálne prechádza etapou pilotného testovania v reálnych podmienkach s cieľom testovania funkčnosti jednotlivých navrhnutých a implementovaných funkcionalít, ako i zistiť účinnosť a schopnosť adaptovať sa na rôzne existujúce situácie.

Na základe vyššie uvedeného, cieľom je prezentovať aplikáciu, ako nástroj na zlepšenie ekologických podmienok v Slovenskej republike, a to prostredníctvom identifikácie nelegálnych skládok.

Kľúčové slová: mobilná aplikácia, iOS, android, rozšírená realita, strojové učenie.

Abstract

In this article, we present a multi-platform mobile application called TrashRunner, designed and implemented for Android and iOS platforms. The aim of the application is to address the growing issue of illegal dumping sites in the territory of the Slovak Republic. The application utilizes advanced technologies such as augmented reality (AR) and machine learning (ML) to efficiently identify, confirm, and report illegal dumping sites, which can contribute to their identification and removal. TrashRunner is currently undergoing a pilot testing phase in real-world conditions to test the functionality of the proposed and implemented features, as well as to determine its effectiveness and ability to adapt to various existing situations. Based on the above, the goal is to present the application as a tool to improve ecological conditions in the Slovak Republic through the identification of illegal dumping sites.

Key Words: mobile application, iOS, Android, augmented reality, machine learning

Úvod

Mobilné aplikácie predstavujú jedno z najrýchlejšie rastúcich odvetví v oblasti IT. Ich popularita a význam sa zvýšil na základe hardvérového výkonu zariadení, ako i potreby okamžitého prístupu k určitým zdrojom. Naše tvrdenie podporuje evidovaný počet mobilných aplikácií pod Apple iOS, ktorý v rámci AppStore obsahuje takmer 2.2 milióna aplikácií (marec 2023)[1]. Rovnako exponenciálny nárast mobilných aplikácií je evidovaný resp. zaznamenávaný aj na platforme Android, kde v rámci PlayStoru sa nachádza viac ako 2.7 milióna aplikácií (marec 2023)[2].

Kľúčovou otázkou z pohľadu vyššie uvedeného množstva aplikácií je ich potreba resp. opodstatnenosť a zmysluplnosť, prípadne ich reálna využiteľnosť. Z uvedeného dôvodu sa kvalite aplikácií z pohľadu vývoja venuje široké spektrum autorov [3-6]. Z toho dôvodu je potrebné pochopiť procesy z pohľadu softvérového inžinierstva, ktoré budú zabezpečovať práve kvalitu mobilnej aplikácie, t.j. vyhnúť sa po vydaní nízkemu hodnoteniu alebo minimálnemu reálnemu využívaniu.

Nami navrhovaná aplikácia TrashRunner je zameraná na evidovanie nelegálnych skládok na území Slovenskej republiky. V súčasnosti existuje na trhu niekoľko mobilných aplikácií, ktoré sú obsahovo zamerané na túto problematiku. V tabuľke 1 uvádzame zoznam mobilných aplikácií a ich funkcionalít, ktoré sa uvedenej problematike venujú. Na základe toho sa používateľ môže rozhodnúť, ktorú aplikáciu bude používať podľa preferovaných funkcionalít.

Tabuľka 1 Funkcionality analyzovaných aplikácií
Zdroj: Autori

Mobilná aplikácia/ vlastnosti	App 1	App 2	App 3	App 4	App 5	
*áno; *nie; *čiastočne					iOS	Android
Nahlásenie pomocou GPS	*	*	*	*	*	*
Mapa skládok	*	*	*	*	*	*
Nahratie fotografie	*	*	*	*	*	*
Overenie fotografie strojovým učením	*	*	*	*	*	*
Nahlásenie skládky s podporou AR	*	*	*	*	*	*
Registrácia / prihlásenie / účet	*	*	*	*	*	*
Gamifikácia	*	*	*	*	*	*
Prieskumník blízkeho okolia	*	*	*	*	*	*
Podpora na Slovensku	*	*	*	*	*	*
Jazyková lokalizácia pre SK	*	*	*	*	*	*

App 1 - **See it? Say it** [7]
App 2 - **SeeClickFix** [8]
App 3 - **NSWMA** [9]
App 4 - **TrashOut** [10]
App 5 - **TrashRunner** (naše riešenie)

1 Analýza problematiky

Pred začatím samotného vývoja aplikácie sme vykonali analýzu existujúcich riešení, pri ktorej sme identifikovali kľúčové funkcionality aplikácií s rovnakým zameraním. Tieto sme prehľadne zosumarizovali v tabuľke 1. Všetky aplikácie umožňujú nahratie fotografie skládky, no v ostatných funkcionalitách sa líšia.

1.1 Požiadavky

Hlavným krokom pred začatím vývoja aplikácie bolo vykonanie analýzy existujúcich riešení a návrh nových riešení, ktoré by čo najlepšie spĺňali požiadavky na funkčnosť navrhovanej aplikácie. V tabuľke 2 sú uvedené kľúčové požiadavky, ktoré sme identifikovali a ktoré aplikácia implementuje.

Tabuľka 2 Požiadavky na aplikáciu
Zdroj: Autori

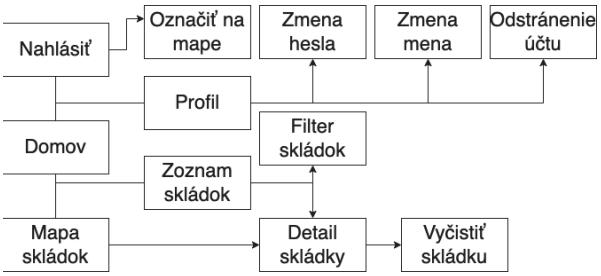
Registrácia a prihlásenie	Registrácia pomocou email overenia, zabudnuté heslo, zmena prezývky a hesla.
Označenie veľkosti plochy skládky	Nahlásenie skládky s podporou rozšírenej reality, ktorá je využitá pri označení jej veľkosti.
Ošetrenie fotografického vstupu používateľa	Klasifikovanie výskytu skládky na fotografii pomocou strojového učenia resp. ošetrenie korektného vstupu.
Nahlásenie skládky pomocou GPS modulu a alternatívne nahlásenie	Získanie aktuálnej polohy zariadenia a alternatívne získanie polohy pomocou označenia na mape.
Gamifikácia	Motivácia používateľov formou bodov za nahlásenie a potvrdenie skládky. Zobrazenie rebríčku používateľov zoradených podľa počtu získaných bodov.
Mapa	Zobrazenie mapy v štandardnom, satelitnom a hybridnom prevedení. Mapa zobrazuje nahlásené skládky za pomoci klastrovania s podporou vykreslenia grafu zastúpenia legálnych a ilegálnych skládok.

2 Návrh

Pri návrhu mobilnej aplikácie sme využili diagram základnej štruktúry, ktorú uvádzame na obrázku 1. Tento diagram nám pomohol lepšie pochopiť požiadavky a potreby používateľov a vytvoriť pre nich čo najpoužiteľnejšie riešenie.

Pri návrhu sme kládli veľký dôraz na splnenie všetkých stanovených požiadaviek a zabezpečili sme, aby finálny návrh bol čo najefektívnejší a najprehľadnejší a podľa možnosti čo najviac intuitívny pre používateľa. V rámci návrhu sme tiež brali do úvahy súčasné trendy v oblasti front-endu aj back-endu, aby sme mohli aplikáciu navrhnúť a implementovať tak, aby bola moderná a používateľsky prívetivá.

Veríme, že sa nám podarilo úspešne implementovať najnovšie trendy a vytvoriť aplikáciu, ktorá bude pre používateľov plnohodnotne funkčná a efektívna.



Obrázok 1 Diagram štruktúry aplikácie
Zdroj: Autori

3 Metódy a nástroje použité pre Front-end

V tejto kapitole popisujeme stručnú charakteristiku použitých nástrojov a technológií pri návrhu front-endu. Vybrané nástroje, resp. technológie boli rozdielne v závislosti od platformy, pre ktorú bola mobilná aplikácia vyvíjaná.

3.1 Technológie použité pre iOS verziu

V rámci vývoja mobilnej aplikácie pre platfomu iOS sme využili nasledovné technológie.

Xcode

Pre natívny vývoj mobilnej aplikácie pre platformu iOS sme mali jedinú možnosť a tou je prostredie Xcode. Toto prostredie integruje všetky potrebné knižnice, ktoré sú potrebné pre implementáciu našich požiadaviek. Výhodou natívnych knižníc je ich dlhodobá podpora [11].

Swift

Pri vývoji iOS aplikácií je programovací jazyk Swift považovaný v súčasnosti za štandard. Swift môžeme charakterizovať ako moderný programovací jazyk, ktorý má jednoduchú a prívetivú syntax, ktorá si získala vývojárov hneď po sprístupnení jazyka pre vývoj aplikácií. Jazyk je pravidelne aktualizovaný a všetky nové knižnice, ktoré Apple poskytuje, sú s jazykom kompatibilné. Náš výber jazyka bol teda taktiež jednoznačný [12].

Swift-UI

Budovanie používateľského rozhrania zažilo revolúciu počas posledných rokov a to vďaka príchodu technológie SwiftUI. Táto technológia umožňuje vývojárom deklaratívne popísať používateľské rozhranie a tým zjednodušiť budovanie grafického rozhrania a jeho programovania [13].

MapKit

Veľkou výhodou pri vývoji aplikácií pre iOS je podpora natívnych iOS máp, ktoré vieme bezplatne využiť v našich aplikáciách v porovnaní od Google máp. K dispozícii sú všetky dostupné typy zobrazení mapy, interaktívne gestá a hlavne klastering bodov na mape, čo sprehľadňuje čítanie mapy pri oddialenom pohľade [14].

CoreML

CoreML je knižnica pre strojové učenie, ktorá umožňuje vývojárom aplikácií vytvárať inteligentné aplikácie s podporou strojového učenia. Samozrejmosťou tejto knižnice je aj možnosť vytvoriť si model na klasifikáciu obrázkov, ktorý sme využili pri požiadavke overenia fotografie pri nahlásení skládky [15].

ARKit

Rozšírená realita patrí v súčasnosti ešte stále medzi inovatívne technológie a jedna z výhod, prečo sa používa a implementuje je dôvod lepšieho interaktívneho zážitku resp. riešenia. Rozšírená realita (AR) ponúka prostredníctvom zariadení (tablet, smartfón, VR okuliare) možnosť obohacovať reálne prostredie syntetickým obsahom. Inak povedané ide o prepojenie reálneho sveta s interaktívnymi virtuálnymi objektami.

Spoločnosť Apple ponúka vývojárom knižnicu ARkit, ktorú sme využili pre zobrazenie virtuálnych objektov umožňujúcich ohraničenie veľkosti plochy skládky. Ako dodatočná knižnica pre rozšírenú realitu sa používa knižnica SceneKit, vďaka ktorej vieme vykresliť v rozšírenej realite 3D objekty [16].

3.2 Technológie použité pre Android verziu

React-Native

Na vývoj mobilnej aplikácie pre platformu Android bol na začiatku použitý framework Ionic, teda platforma pre vytváranie cross-platformových riešení s použitím webových technológií. Spolu s týmto frameworkom bol použitý framework Vue.js, v ktorom boli vytvárané samotné komponenty pre aplikáciu. Túto WebView technológiu sme sa neskôr rozhodli zameniť za „natívnejšie“ riešenie a to React-Native a to hlavne z dôvodu výkonnosti samotnej aplikácie, a nedostatočný používateľský zážitok Android aplikácie. Na aplikáciu bola použitá najnovšia dostupná verzia React-Native a to verzia 0.71 [17].

JavaScript, TypeScript
Pri vývoji s použitím knižnice React-Native si vieme vybrať z dvoch možností skriptovacích jazykov a to JavaScript alebo jeho obdoba TypeScript. Boli použité oba, a to hlavne z toho dôvodu, že pôvodný zdrojový kód bol písaný iba v JavaScripte, ale následne sme sa z dlhodobého hľadiska vývoja rozhodli pre TypeScript, do ktorého sa momentálne aplikácia prepisuje.[18]

Google ML Kit
Knižnica určená pre strojové učenie, v našom prípade použitá pre inteligentné rozpoznávanie objektov z nahratých obrázkov z galérie, respektíve vytvorenej fotografie s pomocou fotoaparátu v Android zariadení. Samotný Google ML Kit sa vykonáva na zariadení. Vďaka tomu je dostatočné rýchly a dovoľuje prípady použitia v reálnom čase, alebo rozoznanie objektov aj v off-line režime [19].

Google maps
Pomocou tohto SDK pre Android sme schopní pridať Google mapy do aplikácie. SDK nám dovoľuje zobrazenie rôznych typov máp, ktoré sú potrebné v aplikácii. Ide o zobrazenie klasické a hybridné, respektíve satelitné pre lepšie identifikovanie nahlásenej skládke na mape. Taktiež toto SDK nám dovoľuje interakciu s mapou, vytváranie terčíkov a zobrazovanie presných adries vytvorených terčíkov [20].

4 Metódy a technológie použité pre Back-end

Pri návrhu back-endovej časti mobilnej aplikácie boli použité pre obe platformy rovnaké technológie.

PHP
Použitie jazyku PHP na tento projekt bola najvhodnejšia voľba a to najmä z dôvodov rýchlej implementácie. Na projekt bola použitá aktuálna verzia PHP a to verzia 8.1. Syntax zdrojového kódu na našom back-ende podlieha syntaxi verzie 8.1 [21].

MeekroDB
Knižnica schopná vytvárania SQL dotazov priamo s použitím funkcií PHP, teda tzv. Objektovo-relačné mapovanie (ORM). Táto knižnica automaticky zjednodušila písanie SQL dotazov, čo taktiež viedlo k násobnému urýchleniu tvorby back-end časti. Taktiež zlepšila bezpečnosť dotazov SQL voči SQL injection [22].

BridePHP
Vlastná jednoduchá nadstavba pre knižnicu MeekroDB obsahujúca vytváranie modelov v PHP kóde a následné vytváranie tabuliek v databáze systému [23].

Monolog
Jednoduchá logovacia knižnica pre jazyk PHP. Vďaka tejto knižnici dokážeme zbierať, analyzovať a následne opravovať chyby, ktoré sa vyskytnú na back-ende. Štruktúra logovacích správ Monologu je tvorená odporúčaným štandardom RFC 5424, čo prispieva k následnej prehľadnosti a efektívneho čítania samotných chybových hlášok [24].

PHPMailer
Knižnica obsahujúca kód na bezpečné a jednoduché odosielanie e-mailov prostredníctvom kódu PHP z webového servera. V našom prípade použitá na odosielanie informačných e-mailov administrátorom v prípade nahlásenie novej nelegálnej skládky alebo inej dôležitej akcie. Taktiež použitá pre odosielanie e-mailov používateľom a to pri registrácii, zmene hesla a zabudnutom hesle [25].

Geocoder PHP
Geocoder je knižnica pre PHP, ktorá nám pomohla pri geokodovaní zaslaných súradníc z mobilných aplikácií Android a iOS pre človeka čitateľných adries. Pri prvotných fázach projektu bol použitý vlastný kód pre geokódovanie súradníc, avšak po prehodnotení sme sa rozhodli pre knižnicu tretej strany poskytujúcu výkonnú vrstvu abstrakcie pre manipuláciu s geokódovaním [26].

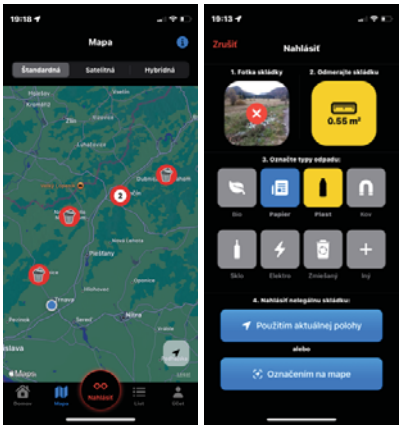
5 Implementácia

V tejto kapitole popisujeme detaily implementácie aplikácií a back-endu pre nahlásenie nelegálnych skládok.

5.1 Implementácia iOS aplikácie

Pri vytváraní používateľského rozhrania sme kombinovali natívne ovládacie prvky s vlastnými prvkami, aby sme dosiahli jednoduchú a prehľadnú aplikáciu. Rozdelením aplikácie na 5 hlavných obrazoviek pomocou tzv. TabView sme zabezpečili prehľadnosť. Funkcionalita nahlasovania skládky je prístupná cez výrazné tlačidlo uprostred TabView. Kvôli absencii dominantného tlačidla v natívnom prvku TabView sme pomocou SwiftUI skombinovali natívny prvok s naším vlastným, čím sme zachovali pôvodnú komponentu a zvýraznili stredné tlačidlo, ktoré je

možné vidieť na obrázku 2 vľavo. Po stlačení dominantného tlačidla sa zobrazí obrazovka nahlásenia skládky, ktorá sa nachádza na obrázku 2 vpravo.



Obrázok 2 Hlavné obrazovky iOS aplikácie
Zdroj: Autori

MapKit

Samotný SwiftUI už síce podporuje zobrazenie mapy pomocou knižnice MapKit, avšak táto implementácia je značne obmedzená a keďže my potrebujeme využiť pokročilé funkcie ako napríklad klastering, tak sme použili koncept UI View Representable, vďaka ktorému dokážeme zobraziť prvky z UIKit knižnice v SwiftUI. Na obrázku 2 je ukážka vloženia UIKit mapy do SwiftUI.

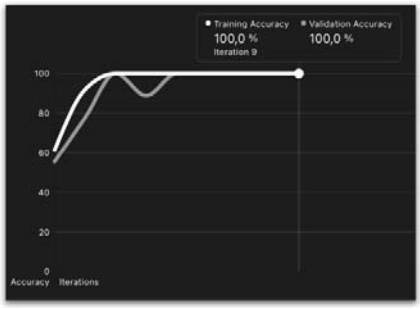
```
import SwiftUI
import MapKit

struct MapViewRepresentable: UIViewRepresentable {

    var latitude: Double
    var longitude: Double

    func makeUIView(context: Context) -> MKMapView {
        return MKMapView(frame: .zero)
    }

    func updateUIView(_ mapView: MKMapView, context: Context) {
        let coordinate = CLLocationCoordinate2D(latitude: latitude,
                                                longitude: longitude)
        let region = MKCoordinateRegion(center: coordinate,
                                        latitudinalMeters: 10000,
                                        longitudinalMeters: 10000)
        mapView.setRegion(region, animated: true)

        let annotation = MKPointAnnotation()
        annotation.coordinate = coordinate
        mapView.addAnnotation(annotation)
    }
}

struct SwiftUIView: View {

    var body: some View {
        MapViewRepresentable(latitude: 37.7749, longitude: -122.4194)
            .frame(height: 300)
    }
}
```

Obrázok 3 Implementácia zobrazenia základu mapy v SwiftUI
Zdroj: Autori

CoreML

V nástroji Create ML sme trénovali náš model do dvoch klasifikácií obrázkov. Jedna skupina obsahuje obrázky nelegálnych skládok, ako v intraviláne (centrálna resp. zastavané územie obce/mesta vrátane ciest, plôch zelene, technickej a občianskej vybavenosti.), tak i v extraviláne (nezastavaná časť resp. poľnohospodárska pôda, lesy). Druhá skupina obsahuje obrázky, kde je čistá krajina, chodníky, ale i náhodné fotografie.

Keďže model pre klasifikáciu obrázkov je už pred trénovaný, stačili nám desiatky fotiek, ktoré zabezpečili požadovanú kvalitu klasifikácie. Na obrázku 3 je možné vidieť krivku učenia, ktorú sme sledovali po trénovaní v nástroji CreateML.



Obrázok 4 Krivka učenia
Zdroj: Autori

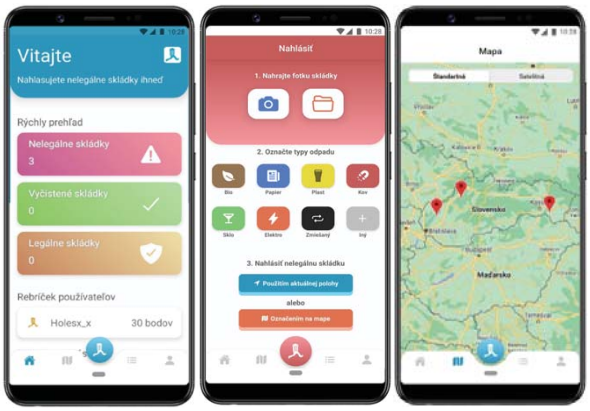
ARKit

Pri implementácií rozšírenej reality v SwiftUI aplikácií sme taktiež použili koncept UI View Representable. Ako objekt, ktorý ohraničuje hranicu skládky sme použili kužeľ. Ten je dostupný v knižnici SceneKit, ktorá taktiež zabezpečuje zobrazenie scény, v ktorej sa nachádzajú. Ako kotvu pre ukotvenie scény sme použili horizontálnu kotvu, keďže skládka sa nachádza na zemskom povrchu. Na obrázku 4 je možné vidieť používateľské rozhranie rozšírenej reality.

Obrázok 5 Obrazovka rozšírenej reality
Zdroj: Autori

5.2 Implementácia Android aplikácie

Pre mobilnú aplikáciu Android bol vybraný dizajn s modernými prvkami, najmä použitie farebných prechodov a oblých tvarov. V spodnej časti obrazovky nás sprevádza navigácia s tlačidlom obsahujúcim logo aplikácie, nachádzajúce sa v strede navigácie a odlišujúce sa od iných tlačidiel predovšetkým pre zvýraznenie hlavnej funkcie, a to nahlasovanie nelegálnych skládok.



Obrázok 6 Hlavné obrazovky Android aplikácie
Zdroj: Autori

Google maps

Samotné SDK od Googlu nie je napísané priamo pre knižnicu React-Native, na základe čoho sme použili balíček obsahujúci prácu s týmto SDK kompatibilný s React-Native. Keďže sme sa rozhodli pre lepšiu prehľadnosť nahlásených skládok na mape, použili sme tzv. „Klastrovanie“. Pre toto klastrovanie sme použili voľne dostupný kód, v ktorom boli následne realizované zmeny pre kompatibilitu s našou verziou kódu React-Native 0.71. Kód tejto implementácie sa nachádza na obrázku 6.

```
<ClusteredMapView
  style={customStyle.map}
  data={markers}
  renderMarker={renderMarker}
  renderCluster={renderCluster}
  initialRegion={{
    latitude: 48.3711343,
    longitude: 17.5996466,
    latitudeDelta: 12,
    longitudeDelta: 12
  }}
  mapType={mapTypeSetup}
></ClusteredMapView>
```

Obrázok 7 Implementácia klastrovania
Zdroj: Autori

5.3 Implementácia back-endu

Back-end aplikácie, ako bolo už vyššie spomínané je tvorený v PHP 8.1. Keďže sme nepoužili ani jeden z dostupných frameworkov, rozhodli sme sa myslieť aj na dodatočné ošetrenia a to najmä v oblasti bezpečnosti a efektívneho písania zdrojového kódu. Naše API rozhranie je momentálne voľno dostupné pre potencionálne použitie vo webovej aplikácií. Back-end systém pracuje v súčasnosti na univerzitnom virtuálnom serveri.

6 Testovanie

Android

V počiatku implementácie základných obrazoviek pre Android bola používaná platforma Expo, slúžiaca na simulovanie React-Native aplikácií pre obe vyvíjané platformy. V ďalších fázach bol použitý emulátor dostupný z IDE, konkrétne Android Studio. Konkrétne použité zariadenia Pixel 2, 3, 4 s API rozhraním 28, 30, 31. Vo finálnych fázach pred oficiálnym spustením bola aplikácia testovaná na fyzických zariadeniach Redmi 7, Redmi Pro 8, 10, 11 a Samsung Galaxy A53. V testovaní boli nájdené iba drobné chyby pri prechodoch niektorých elementov a výkonnostný problém pri klastrovaní terčov nelegálnych skládok na mape v prípade, keď sme používali vlastné ikonky pre terče. Všetky nájdené chyby boli následne opravené a znovu pretestované.

iOS

V začiatočných fázach vývoja sme aplikáciu testovali v simulátore, ktorý je súčasťou prostredia Xcode.

Pri postupnom implementovaní získavania GPS súradníc, fotoaparátu a rozšírenej reality sme začali testovať aplikáciu na fyzickom zariadení iPhone 12 mini. Otestovanie týchto funkcionalít je nevyhnutné pre overenie ich správneho pracovania.

Neskôr sme sa rozhodli overiť našu prácu pomocou interného beta testovania, ktorého sa zúčastnilo 6 osôb s rôznymi iOS smartfónmi. Pri iPhone 8 sme zaznamenali pád (crash) aplikácie pri spustení rozšírenej reality. Vďaka beta testovacej infraštruktúre v prostredí Xcode sa nám podarilo reprodukovať a zistiť jeho príčinu. Príčinou bola neexistujúca podpora rozlišovania a prekrývania častí ľudských častí tela cez virtuálne objekty v AR. Túto funkcionalitu sme pre nepodporované zariadenia vypli priamo v kóde pri inicializácii rozšírenej reality.

Back-end

Back-end disponuje 34 endpointami, každý z nich bol otestovaný viacerými API volaniami a to buď cez vytvorené aplikácie alebo platformu Postman.

7 Výsledky a diskusia

V tejto kapitole uvádzame výsledky mobilnej aplikácie TrashRunner a diskutujeme o vplyve aplikácie na problematiku nelegálnych skládok v Slovenskej republike a taktiež aj o plánovaných funkcionalitách.

7.1 Výsledky

V priebehu vývoja sme analyzovali existujúce riešenia a identifikovali kľúčové funkcionality, ktoré sme implementovali do našej aplikácie.

Naše riešenie ponúka vylepšenia oproti existujúcim aplikáciám, ako je gamifikácia, ktorá motivuje používateľov formou bodov za nahlásenie a potvrdenie skládok a zobrazuje rebríček používateľov podľa počtu získaných bodov. Originálnym riešením je aj využitie rozšírenej reality (AR) a strojového učenia (ML) na efektívne identifikovanie, potvrdenie a nahlasovanie skládok.

Okrem toho aplikácia zobrazuje mapu v štandardnom, satelitnom a hybridnom prevedení, s podporou vykreslenia grafu zastúpenia legálnych a ilegálnych skládok.

Pilotné testovanie aplikácie v reálnych podmienkach a prostredí nám umožnilo overiť jej účinnosť a schopnosť adaptovať sa na rôzne situácie. Napríklad, pri testovaní aplikácie na iPhone 8 sme zaznamenali problém s rozšírenou realitou, ktorý sme následne úspešne odstránili.

7.1 Diskusia

Aplikácia TrashRunner má potenciál stať sa efektívnym nástrojom na zlepšenie ekologických podmienok v Slovenskej republike prostredníctvom svojich schopností identifikovať nelegálne skládky.

Máme dôvod veriť, že zvýšená motivácia používateľov formou gamifikácie a moderných technológií, prispieva k väčšej angažovanosti a ochote riešiť problém nelegálnych skládok.

Je dôležité zdôrazniť, že aplikácia sama o sebe nemôže zabezpečiť kompletné riešenie problému, ale môže poskytnúť podporu a nástroje na identifikáciu a monitorovanie týchto skládok.

V budúcnosti uvažujeme o rozšírení funkcionalít aplikácie o spoluprácu s environmentálnymi organizáciami.

Záver

Celkovým cieľom tejto práce bolo navrhnúť a implementovať mobilnú aplikáciu TrashRunner, ktorá by bola schopná riešiť narastajúcu problematiku nelegálnych skládok na území Slovenskej republiky. Aplikácia využíva najmodernejšie technológie ako rozšírená realita (AR) a strojové učenie (ML) na efektívne identifikovanie, potvrdenie a nahlasovanie nových skládok, čím má potenciál efektívne prispievať k ich odstraňovaniu. V tejto práci sme identifikovali požiadavky na funkcionality aplikácie a navrhli sme ju tak, aby bola používateľsky prívetivá a moderná. Taktiež sme uskutočnili pilotné testovanie aplikácie v reálnych podmienkach a prostredí s cieľom overiť jej účinnosť a schopnosť adaptovať sa na rôzne situácie. Veríme, že naša aplikácia TrashRunner bude efektívnym nástrojom na zlepšenie ekologických podmienok v Slovenskej republike a pomôže riešiť problémy nelegálnych skládok.

Poďakovanie

Chceme sa úprimne poďakovať našim školiteľom, Mgr. Mariánovi Hosťoveckému, PhD. a doc. Ing. Jane Jurinovej, PhD., za ich vedenie a podporu. Vaša pomoc nám bola kľúčová pre úspešné dokončenie tejto práce. Ďakujeme Vám.

Použitá literatúra

[1] BUSINESSOFAPPS; App Store Data [online]. BusinessofApps; 2023 [cit. 10.3.2023]. Dostupné z: https://www.businessofapps.com/data/app-stores/

[2] BUSSINESOFAPPS; App Stores List [online]. BusinessofApps; 2022 [cit. 10.3.2023]. Dostupné z: https://www.businessofapps.com/guide/app-stores-list/

[3] KHALID a kol. 2015. 'What Do Mobile App Users Complain About?' In IEEE Software 32 (3): 70–77. Print ISSN 0740-7549. Electronic ISSN 1937-4194. https://doi.org/10.1109/ms.2014.50.

[4] ZYDNEY, Janet MANHEIMER, and Zachary WARNER. 2016. 'Mobile Apps for Science Learning: Review of Research'.*Computers & Education* 94: 1–17. https://doi.org/10.1016/j.compedu.2015.11.001

[5] STOVANOV a kol. "Mobile app rating scale: a new tool for assessing the quality of health mobile apps." *JMIR mHealth and uHealth* 3, no. 1 (2015): e3422.

[6] INUKOLLU a kol. "Factors influencing quality of mobile apps: Role of mobile app development life cycle." *arXiv preprint arXiv:1410.4537* (2014).

[7] APPSTORE; See it? Say it! [online]. AppStore; 2023 [cit. 10.3.2023]. Dostupné z: https://apps.apple.com/ie/app/see-it-say-it/id573916383
[8] APPSTORE; SeeClickFix [online]. AppStore; 2023 [cit. 10.3.2023]. Dostupné z: https://apps.apple.com/us/app/seeclickfix/id3220
[9] APPSTORE; NSWMA [online]. AppStore; 2023 [cit. 10.3.2023]. Dostupné z: https://apps.apple.com/us/app/nswma/id1509409286
[10] APPSTORE; TrashOut [online]. AppStore; 2023 [cit. 10.3.2023]. Dostupné z: https://apps.apple.com/us/app/trashout/id501471692
[11] APPLE; Xcode [online]. Apple; 2023 [cit. 10.3.2023]. Dostupné z: https://developer.apple.com/xcode/
[12] APPLE; Swift [online]. Apple; 2023 [cit. 10.3.2023]. Dostupné z: https://developer.apple.com/swift/
[13] APPLE; SwiftUI [online]. Apple; 2023 [cit. 10.3.2023]. Dostupné z: https://developer.apple.com/xcode/swiftui/
[14] APPLE; MapKit [online]. Apple; 2023 [cit. 10.3.2023]. Dostupné z: https://developer.apple.com/documentation/mapkit/
[15] APPLE; CoreML [online]. Apple; 2023 [cit. 10.3.2023]. Dostupné z: https://developer.apple.com/documentation/coreml
[16] APPLE ARKit [online]. Apple; 2023 [cit. 10.3.2023]. Dostupné z: https://developer.apple.com/documentation/arkit
[17] REACTNATIVE; ReactNative [online]. ReactNative; 2023 [cit. 10.3.2023]. Dostupné z: https://reactnative.dev
[18] JAVASCRIPT; JavaScript [online]. JavaScript; 2023 [cit. 10.3.2023]. Dostupné z: https://www.javascript.com
[19] GOOGLE ; ML kit [online]. Google; 2023 [cit. 10.3.2023]. Dostupné z: https://developers.google.com/ml-kit
[20] GOOGLE; Maps [online]. Google; 2023 [cit. 10.3.2023]. Dostupné z: https://developers.google.com/maps/documentation/android-sdk/overview
[21] THE PHP GROUP; PHP [online]. The PHP Group; 2023 [cit. 10.3.2023]. Dostupné z: https://www.php.net
[22] MEEKRODB; MeekroDB Documentation [online]. MeekroDB; 2023 [cit. 10.3.2023]. Dostupné z: https://meekro.com/docs
[23] GITHUB; Bride [online]. Holeš; 2023 [cit. 10.3.2023]. Dostupné z: https://github.com/Holes70/BridePHP
[24] GITHUB; Monolog – Logging for PHP [online]. Boggiano; 2023 [cit. 10.3.2023]. Dostupné z: https://seldaek.github.io/monolog/
[25] GITHUB; PHPMailer [online]. Bointon; 2023 [cit. 10.3.2023]. Dostupné z: https://github.com/PHPMailer/PHPMailer
[26] GEOCODER; Geocoder [online]. Durand; 2023 [cit. 10.3.2023]. Dostupné z: https://geocoder-php.org/docs/

Porovnanie výkonu vysokej dostupnosti v prostredí Linuxových kontajnerov

Comparison of high availability performance in the environment of Linux containers

Nicolas Búčik[1]
Školiteľ: Marek Šimon[2]
[1,2]Katedra aplikovanej informatiky, FPV UCM, Nám. J. Herdu 2, 917 01 Trnava
[1] bucik1@ucm.sk, [2] marek.simon@ucm.sk

Abstrakt

V súčasnej dobe moderných informačných technológií existuje mnoho služieb a mikro-služieb, ale ešte viacej používateľov daných služieb a množstvo týchto používateľov sa deň čo deň zvyšuje, preto je dôležité, aby boli dostupné čo najväčšiu dobu a pre každého. Riešením tohto problému je práve vysoká dostupnosť, avšak nastáva otázka ako zabezpečiť vysokú dostupnosť jednoduchú, rýchlo opakovateľnú, presnú a menej náročnú na výpočtové zdroje. Riešením tejto problematiky je využitie vlastností kontajnerov v operačných systémoch s jadrom Linux.

Hlavným cieľom práce bolo porovnať tieto riešenia a pomocou vykonaných testov, zozbierať a zhodnotiť informácie o ich celkovom výkone a poukázať na ich nedostatky.

Kľúčové slová: vysoká dostupnosť, kontajnery, Linux, Kubernetes, Proxmox, Docker, Docker swarm.

Abstract

In the current age of modern information technologies, there exist many services and micro-services, but even more users that utilize these services. Number of users rises every day and that is why it's important to keep these services available as much as possible for every user, solution for this problem is high availability, but there is a key question thar rises, which is how to make high availability simple, easily repeatable, exact and less demanding on system resources. Solution for this problem is utilizing features of containers inside operating systems with Linux kernel.

The main goal of this article was to compare these solutions and with the help of the created tests, collect and evaluate their overall performance and point out their shortcomings.

Key Words: high availability, containers, Linux, Kubernetes, Proxmox, Docker, Docker swarm.

Úvod

Napriek tomu, že v súčasnosti existuje mnoho riešení vysokej dostupnosti v linuxových kontajneroch, často krát nie je úplne jasné, ktorá z nich ponúka lepšie vlastnosti v oblasti výkonu alebo sú špecifické od typu použitia. V článku sme sa zamerali na dôležité vlastnosti, ktoré musí spĺňať vysoká dostupnosť v rámci jej výkonnosti, ako sú napríklad čas obnovy služby, rýchlosť prenosu dát k používateľovi či počet zlyhaných volaní na službu. Pomocou testov sme tieto riešenia otestovali s použitím softvérov CURL a ApacheBench, tieto výsledky sme spracovali a vyhodnotili práve slabé a silné stránky jednotlivých riešení. V prvej časti sme popísali na akom princípe fungujú práve tieto služby, akým spôsobom dosahujú vysokú dostupnosť kontajneroch a na akej technológií sú jednotlivé služby postavené. V druhej časti článku sme popísali ako sme nastavovali prostredie pre testovanie a vykonali testy voči riešeniam.

1 Vysoká dostupnosť v kontajneroch

Vysokú dostupnosť vieme definovať ako cielenú kombináciu rôznych konceptov na zistenie, či je informačný systém dostupný a má optimálny výkon, teda vieme o ňom povedať, že je dostupný väčšinu času, nemá časté výpadky. Cieľom vysokej dostupnosti je eliminovať možné jediné body zlyhania, teda body v prípade ktorých výpadku zlyhá časť služby či dokonca služba prestane pracovať ako celok. Správne nakonfigurovaná vysoká dostupnosť sa dokáže včasne vysporiadať s hardvérovými aj softvérovými zlyhaniami. Systémy a služby, ktoré využívajú tento koncept by mali zachovať plnú automatizáciu tohto celku, teda nie je nutný zákrok človeka pre obnovenie služby a zachovanie jej dostupnosti. Implementácia konceptu by mala taktiež správne sledovať a predpokladať niektoré typy zlyhaní a zakročiť v prípade katastrofálnej situácie [1].

V rámci vysokej dostupnosti máme niekoľko metrík, ktoré by sme mali sledovať.

- Priemerný čas medzi zlyhaniami – ako dlho prostredie pracuje medzi systémovými zlyhaniami.
- Priemerný čas nedostupnosti – ako dlho je systém nedostupný predtým, než je obnovený alebo nahradený iným v topológií.
- Čas obnovy cieľa – celkový čas trvania obnovy daného cieľa do jeho znovu dostupnosti.
- Bod obnovy cieľa – obdobie počas ktorého je potrebné obnoviť dáta [1].

Vysoká dostupnosť v kontajneroch využíva virtualizáciu na úrovni operačného systému. Virtualizácia tohto typu umožňuje súbežné zapnutie viacerých linuxových systémov, ktoré sa nazývajú kontajneri. Na rozdiel od technológií, ktoré využívajú hypervízor pre svoju virtualizáciu, kontajneri ako celok ho nepotrebujú. Kontajnerová virtualizácia neemuluje hardvérové vrstvy, ale miesto toho vytvára virtuálne prostredie, ktoré má vlastný procesor a pamäť s využitím natívnych prvkov Linuxu, ako sú napríklad: cgroups, menný priestor (namespace) a chroot. Kontajneri teda umožňujú systémovo nenáročné nasadenie aplikácií. Jeden kontajner by spravidla mal spravovať iba jednu aplikáciu, respektíve jej časť [2].

2 Materiál a metódy

V súčasnosti existuje mnoho nástrojov, ktoré využívajú práve technológiu kontajnerov pre dosiahnutie vysokej dostupnosti. Medzi také patria napríklad technológia LXC (Linux Containers) s využitím technológie Proxmox ako kontajnerový orchestrátor, Containerd a Docker ako jeho nadstavba pre manažovanie kontajnerov so súčasťou Docker Swarm pre orchestráciu kontajnerov a CRI-O prostredie vyvinuté pre Kubernetes, ktorý je v tomto prípade kontajnerový orchestrátor.

2.1 LXC a Proxmox

Jedným z nástrojov pri virtualizácií kontajnerov je LXC. Ide o virtualizáciu na úrovni operačného systému, ktorá môže mať súbežne zapnutých a virtualizovaných viacero izolovaných kontajnerov. LXC využíva systémové prvky Linuxu na virtualizovanie systémových prostriedkov bez nutnosti zapnutia virtualizovaného stroja, teda hardvérovej virtualizácie. Pre izolovanie prístupu daného kontajnera v rámci operačného systému sa využívajú menné priestory, ktorými môžeme oddeliť vlastníctvo súborov kontajnera od vlastníctva súborov samotného operačného systému [3].

Proxmox je konvergované prostredie s otvoreným zdrojovým kódom, založené na distribúcií Linuxu Debian. Jeho hlavnou výhodou je jeho webové prostredie, ktorým dokážeme spravovať jednotlivé časti nastavenia a správy operačného systému a virtualizovaných prostredí [4]. Proxmox používa k orchestrácií metódu zvanú Fencing (Oplotenie), ako dodatočného pomocníka zistenia hardvérovej či softvérovej chyby. V prípade zlyhania jednotlivých uzlov sa manažér uistí, že daný bod skutočne zlyhal. Tento bod je dôležitý, aby sa jednotlivé zdroje nepustili dva krát počas obnovy uzla. V prípade, že je uzol oplotený, Proxmox jednoducho spustí na inej inštancií nový uzol, ktorý má prístup k rovnakým zdrojom [5].

Proxmox využíva niekoľko možností oplotenia:

- Externé vypínače prúdu – vypne prúd z daného uzla úplne.
- Izolácia uzlov vypnutím sieťovej komunikácie na prepínači.
- Oplotenie samého seba použitím časovačov – manažér pravidelne resetuje časovač, čo zabraňuje jeho vypršaniu. V prípade, že časovač vyprší napríklad v dôsledku hardvérovej chyby, uzol sa reštartuje.

V prípade, že sa nepodarí daný uzol obnoviť, manažér daný uzol nastaví do chybného stavu. V takomto prípade je nutný manuálny zákrok správcu, keďže z tohto stavu nie je možné uzol dostať automaticky [5].

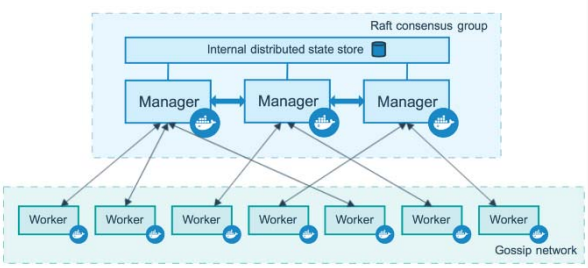
2.2 Containerd, Docker a Docker Swarm

Containerd je vrstva, ktorá bola navrhnutá na oddelenie a abstrakciu systémových volaní a funkcií špecifických pre operačný systém, ktoré sú potrebné na spustenie a virtualizáciu kontajnerov v systéme. To znamená, že používatelia nemusia priamo používať žiadne systémové volania pri vytváraní kontajnerov, ale namiesto toho majú priamy prístup k zjednodušeným a abstraktným funkciám, ktoré poskytuje Containerd. Containerd samotný nezabezpečuje sieťové prvky a sieťové nastavenia. Tieto sú spravované jednotlivými nadstavbami nad Containerd. V podstate Containerd poskytuje API, ktorým môžeme pristupovať a spravovať jednotlivé kontajnery [6].

Docker predstavuje nadstavbu nad Containerd a je nástrojom pre automatizáciu aplikácií, ktoré sú

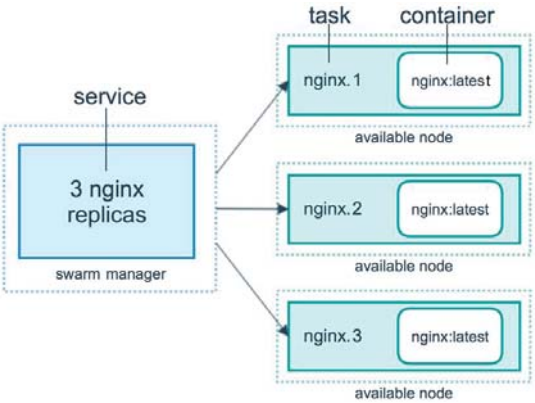
spustené a nasadené v kontajneroch. Kontajnery poskytujú virtualizované prostredie, v ktorom sú aplikácie spúšťané. Docker navyše pridáva ďalšiu vrstvu v podobe "Docker engine", ktorá zabezpečuje rýchle a efektívne spustenie aplikácií. Tento prístup umožňuje vývojárom opakovane testovať aplikácie pred nasadením do produkčného prostredia a následné jednoduché nasadenie do tohto prostredia [7].

Docker Swarm je nástroj určený pre distribúciu a klastrovanie kontajnerov alebo služieb a správu zdrojov. Jeho primárnym využitím je poskytnutie vysokodostupného prostredia, ktoré zahŕňa spustenie viacerých inštancií rovnakej služby a rozdeľovanie záťaže medzi ne. Docker Swarm sa skladá z dvoch hlavných častí: manažérskej a pracovníckej časti. Manažér spravuje všetkých pracovníkov a koordinuje ich úlohy. Jeho hlavnou úlohou je udržiavať stav klastra, odosielať úlohy a ich plánovanie (Obr. 1). V jednom roji môže byť spustených niekoľko manažérov, ale odporúča sa, aby to bolo maximálne sedem. Táto redundancia umožňuje pokrytie straty jedného z manažérov. Podľa oficiálnej dokumentácie môžeme stratiť až (N-1)/2 manažérov, čo znamená, že v prípade siedmych manažérov môžeme stratiť až troch z nich [8].



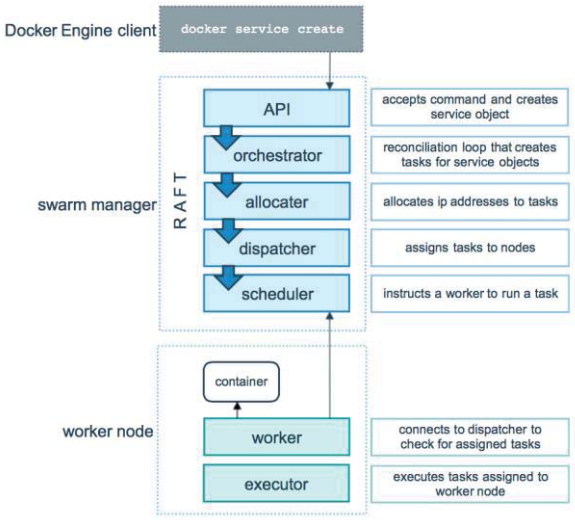
Obr. 1 Popis funkčnosti manažéra a pracovníka
Zdroj: [8]

Inštancie pracovníkov sú tiež inštancie Docker Engine, rovnako ako manažér, ale ich funkcia spočíva v spracovaní kontajnerov. Bez príkazov od príslušného manažéra nedokážu vykonať žiadnu činnosť. Pracovníci zabezpečujú svoje služby, v ktorých sa nachádzajú kópie jednotlivých aplikácií (Obr. 2) [8].



Obr. 2 Funkčnosť služieb Docker Swarm
Zdroj: [8]

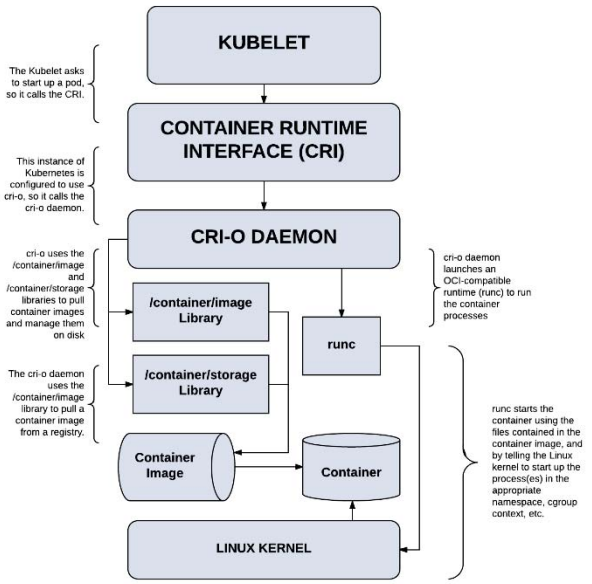
Vytváranie jednotlivých služieb v Docker Swarm prebieha podľa presne stanoveného postupu, pričom najskôr sú všetky príkazy odoslané do časti manažéra. Manažér vykonáva niekoľko dôležitých úloh, ktoré zahŕňajú prijímanie príkazov pomocou API, vytváranie objektov služieb pomocou orchestrátora, alokovanie IP adries pre úlohy pomocou alokátora a prideľovanie úloh jednotlivým inštanciám pomocou dispečera. Na záver plánovač zadáva pracovníkom príkazy na spustenie úloh. Pracovník sa potom pripája k dispečerovi, aby zistil, či má pridelené úlohy. Ak áno, vykonáva úlohu pomocou spúšťača, ktorý ju priradí inštancii Docker Engine. Samotný pracovník nedokáže vykonať žiadny príkaz bez toho, aby mu bol priamo pridelený od príslušného manažéra (Obr. 3) [8].



Obr. 3 Popis exekúcie Docker Swarm
Zdroj: [8]

2.3 CRI-O a Kubernetes

CRI-O je špeciálne navrhnutý ako štandardný plugin pre Kubernetes, ktorý slúži na spúšťanie a monitorovanie kontajnerov. Poskytuje medzivrstvu a prepoj pre komunikáciu medzi kontajnermi a Kubernetes CRI a je založený na staršej verzii Docker architektúry. V porovnaní s Dockerom je menej náročný na systémové zdroje. CRI-O dokáže priamo spúšťať kontajnery vytvorené systémom Kubernetes bez nutnosti ďalšieho kódu alebo nástrojov. Ak potrebuje Kubernetes spustiť kontajner, priamo zavolá príkaz na CRI-O, ktorý má vlastný démon špeciálne navrhnutý pre CRI-O. Tento démon spolupracuje s akýmkoľvek OCI kompatibilným programom na vytvorenie a spustenie daného kontajnera. Kubernetes vytvára kontajnerové obrazy na základe definícií kontajnerov, ktoré sú uložené v YAML súboroch. Tieto definície obsahujú informácie o tom, ako by mal byť kontajner nakonfigurovaný, ako by mal byť spustený a aké zdroje by mal používať. Kubernetes potom prenáša tieto definície na CRI-O runtime na spustenie kontajnerov. CRI-O vytvára a spúšťa kontajnery v izolovanom prostredí, ktoré umožňuje bezpečné a spoľahlivé spúšťanie kontajnerov. CRI-O poskytuje aj podporu pre životný cyklus kontajnerov, vrátane ich spustenia, zastavenia, obnovy a odstránenia, vďaka tomu môže Kubernetes efektívne a flexibilne riadiť kontajnery pomocou CRI-O ako kontajnerového runtime. CRI-O poskytuje rozhranie medzi Kubernetes a kontajnerovým runtime, ktoré umožňuje Kubernetes spolupracovať s rôznymi kontajnerovými runtime a zabezpečuje interoperabilitu medzi nim (Obr. 4). To umožňuje používanie rôznych kontajnerových runtime podľa potreby a zabezpečuje flexibilitu a spoľahlivosť kontajnerových aplikácií v Kubernetes [9].



Obr. 4 Popis funkcie CRI-O
Zdroj: [9]

Kubernetes je open-source platforma pre správu kontajnerových aplikácií, ktorá bola vyvinutá spoločnosťou Google. Jej cieľom je zjednodušiť a automatizovať nasadenie, škálovanie a riadenie kontajnerových aplikácií. Kubernetes využíva koncept kontajnerov a kódujúcej infraštruktúry (infrastructure as code), čo znamená, že inžinieri môžu popísať infraštruktúru aplikácie pomocou kódu a nasadiť ju do Kubernetes, ktorý sa potom postará o správu a monitorovanie tohto nasadenia. Kubernetes sa skladá z množstva komponentov, ktoré spolupracujú na správe a riadení aplikácií. Najdôležitejšie z týchto komponentov sú [10]:

- Kubelet – agent, ktorý sa spúšťa na každom uzle v klastri a spravuje kontajnery na tomto uzle.
- Kube-proxy – sieťový proxy, ktorý zabezpečuje prepojenie kontajnerov a služieb.
- Kubernetes API server – hlavný komponent, ktorý slúži ako rozhranie medzi používateľom a klastrom.
- Etcd – distribuované key-value úložisko, ktoré uchováva konfiguráciu klastrových zdrojov.

Kubernetes pracuje na základe konfigurácie v súboroch YAML. Tieto súbory obsahujú popis aplikácií a ich požiadavky na prostriedky, ktoré sú následne spravované a nasadzované do klastrov [10].

3 Metodológia

Spomínané riešenia vysokej dostupnosti sme otestovali pomocou série testov a nástrojov, ktoré boli pre každé meranie rovnaké, aby boli jednoducho porovnateľné. Nástroje na testovanie ktoré sme využili sú CURL a ApacheBench. Nástroj CURL nám vie odmerať časovú odozvu od zadania požiadavky, čím vieme merať ako dlho trvá jednotlivým riešeniam migrácia prípadne vypadnutých uzlov. Nástroj ApacheBench nám umožňuje simulovať záťaž na daný uzol. Pomocou simulovania záťaže sme získali informácie o tom, ako dokážu jednotlivé technológie zvládať záťaž od používateľov danej služby. Vďaka tomuto sme získali údaje o tom, aká je chybovosť požiadaviek pri záťaži, aká je odozva požiadaviek a aký bol dosiahnutý maximálny prenos dát počas testov. Testy boli vykonané na operačnom systéme Debian, ktorý je distribúciou Linuxu voči nainštalovanému softvéru Apache pre čo najlepšie dosiahnutie objektívneho výsledku.

Prvým testovacím scenárom bolo odmeranie rýchlosti obnovenia služby pomocou CURL. Spustili sme neustále dopytovanie na danú službu, pričom sme odpojili počítač na ktorom bola služba spustená zo siete. Následne sa odpoveď vrátila až v čase, keď daný manažér vysokej dostupnosti službu obnovil, čím sme zistili čas obnovy služby. Toto meranie sme opakovali 10 krát a časy spriemerovali, aby sme dosiali priemernú dobu obnovy služby.

Druhým testovacím scenárom bolo spustenie ApacheBench dotazov na danú inštanciu služby. ApacheBench nám odmeral koľko bolo úspešných prenosov, koľko bolo prenesených dát a aká bola ich odozva.

V treťom testovacom scenári sme urobili to isté ako v druhom, ale s rozdielom, že sme spustili natívne vyrovnanie záťaže a sledovali ako dobre dané služby vedia medzi svoje inštancie vyrovnávať záťaž. Týmto testom sme vedeli odmerať iba Kubernetes a Docker, keďže Proxmox natívne vyrovnanie záťaže nepodporuje.

4 Príprava testovacích prostredí

V každom z testovacích prostredí bol nainštalovaný operačný systém Debian, ktorý sme inštalovali podľa odporúčania oficiálnej dokumentácie autorov [11].

Konfigurácia Docker Swarm bola rovnako základná inštalácia, ktorú sme vykonali podľa odporúčaní autorov [8]. Následne sme spustili službu pomocou príkazu *„docker service create -p 80:80 --replicas 1 --name=apache --limit-cpu 1.0 --limit-memory 2G httpd:latest“*, ktorý nám spustil službu v Docker Swarm s podporou vysokej dostupnosti. Tu sme však na začiatku mali iba repliku. V neskoršom, treťom scenári sme použili repliky tri. Limitovali sme operačnú pamäť na dva gigabajty a procesor na využitie jedného fyzického jadra. Nasledujúce kontajnerové konfigurácie sú rovnako obmedzené, aby sme získali čo najpresnejší výsledok.

Pri konfigurácií Kubernetes sme taktiež postupovali podľa odporúčania autorov [10]. Po nainštalovaní Kubernetes sme vytvorili YAML súbor pre spustenie a nastavenie kontajneru, menili sme iba počet replík podľa potreby testov a limitovali zdroje kontajneru rovnako ako v predošlom nastavení (Obr. 5)[10].

```
containers:
  - name: httpd-container-nautilus
    image: httpd:latest
    resources:
      limits:
        memory: "2048Mi"
        cpu: "1000m"
    ports:
      - containerPort: 80
```

Obr. 5 YAML súbor konfigurácie Apache v Kubernetes
Zdroj: autor

Prostredie Proxmox bolo nainštalované pomocou oficiálneho automatického inštalátora. Následne sme vytvorili zdieľaný priestor pre kontajneri, čo je nutné pre automatické obnovenie služby. V konfigurácií Proxmox sme nastavili aby bol tento kontajner automaticky obnovovaný. Pri nastavovaní sme sa riadili oficiálnym postupom pre inštaláciu Proxmox s vysokou dostupnosťou [5].

Samotné testovanie prebiehalo pomocou príkazu CURL a k nemu vytvorenej predlohy: *„curl -w „@curl_format.txt -o /dev/null -s IP_ADRESA“*, z ktorého sme dostávali výstup celkového trvania daného volania, ale aj detailnejší výstup, ktorý nám popisoval ako pri ktorej časti volania strávil koľko času. Informácie, ktoré sme dostali z výstupu sú: Čas zistenia skutočnej IP adresy z servera DNS (Time namelookup), čas naviazania TCP spojenia na daný server (Time connect), čas nadviazania SSL spojenia (Time appconnect), čas do začatia pred-prenosového volania (Time pretransfer), čas presmerovania (Time redirect), čas kedy je server pripravený odoslať dáta (Time starttransfer) a čas celkového volania (Time total) v sekundách (Obr. 6).

```
time_namelookup:  0.000055s
time_connect:  65.594406s
time_appconnect:  0.000000s
time_pretransfer:  65.594472s
time_redirect:  0.000000s
time_starttransfer:  65.595730s
                    ----------
         time_total:  65.595812s
```

Obr. 6 Výsledok z merania pomocou CURL testu
Zdroj: autor

Pre druhé testovanie sme použili ApacheBench s príkazom *„ab -n POCET_POZIADVIEK -c POCET_SUBEZNYCH_VOLANI IP_ADRESA“*, ktorý nám vrátil štatistiky o danom teste ako je napríklad, priemerný čas trvania požiadavky (Time per request), počet úspešných (Completed requests) a neúspešných požiadaviek (Failed requests), prenosová rýchlosť (Transfer rate) (Obr. 7).

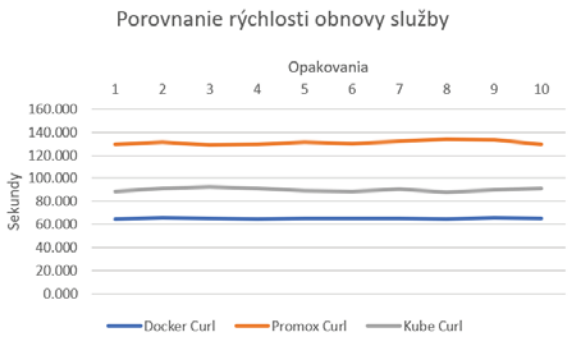
```
Server Software: Apache/2.4.54
Server Hostname: 192.168.1.40
Server Port: 80

Document Path: /
Document Length: 10701 bytes

Concurrency Level: 50
Time taken for tests: 0.023 seconds
Complete requests: 100
Failed requests: 0
Total transferred: 1097500 bytes
HTML transferred: 1070100 bytes
Requests per second: 4291.85 [#/sec] (mean)
Time per request: 11.650 [ms] (mean)
Time per request: 0.233 [ms] (mean, across all concurrent requests)
Transfer rate: 45999.03 [Kbytes/sec] received

Connection Times (ms)
min mean[+/-sd] median max
Connect: 0 1 0.4 1 1
Processing: 1 8 5.2 6 20
Waiting: 1 8 5.1 6 20
Total: 2 9 5.1 7 21
```

Obr. 7 Výsledok merania pomocou ApacheBench
Zdroj: autor

5 Výsledky a diskusia

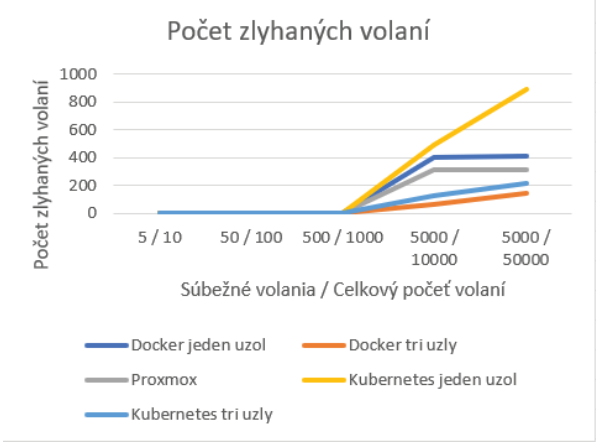
Z analýzy výsledkov prvého testu na meranie času obnovy služby, ktorý sme opakovali desať krát na každú z nainštalovaných služieb a konfigurácií môžeme konštatovať, že najdlhšie trvá obnova práve službe Proxmox (Graf 1). To je pravdepodobne spôsobené jej metódou oplotenia, kvôli ktorej sa pokúša najskôr obnoviť vypadnutý uzol miesto priamo okamžitého prenosu vypadnutej služby.

Najrýchlejšie v teste obnovilo danú službu prostredie Docker. Naopak Kubernetes skončil na druhom mieste, primárne z dôvodu jeho vyššej réžie nad službami a prostredníkom CRI-O, ktorý má svoju Application Programming Interface (API) medzivrstvu na komunikáciu (Graf 1).



Graf 1 Meranie rýchlosti obnovenia služby
Zdroj: autor

Na základe analýzy výsledkov testu počtu zlyhaní volaní s využitím softvéru ApacheBench môžeme konštatovať, že najviac zlyhaných volaní mala služba Kubernetes s využitím jedného uzla, ktorej sa počet zlyhaných volaní lineárne zvyšoval (Graf 2). Najmenší počet zlyhaných volaní mala služba Docker s využitím troch uzlov.



Graf 2 Meranie priemerného počtu zlyhaných volaní
Zdroj: autor

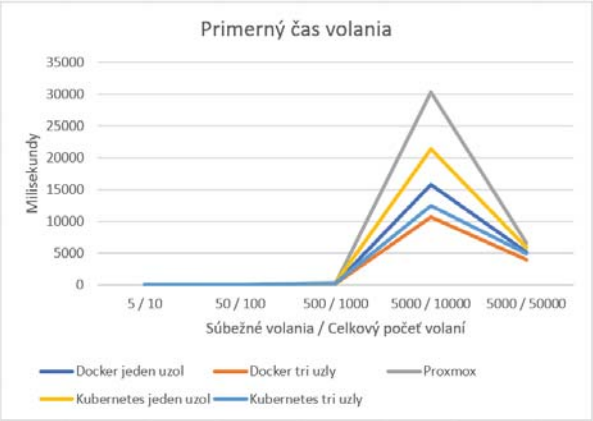
Po analýze výsledkov testu rýchlosti prenosu dát vieme konštatovať, že najväčšiu rýchlosť prenosu dát dosiahla služba Proxmox, teda dokázala v určite čase preniesť najväčšie množstvo dát. Naopak z výsledkov

vyplýva, že služba Kubernetes s využitím jedného uzla mala priemerne najpomalšiu rýchlosť prenosu dát. Výsledky sú interpretované v tabuľke. Rozdelené sú do stĺpcov s rastúcim počtom súbežných a celkových volaní pre jednotlivé služby, ktoré sú uvedené v riadkoch, posledný stĺpec predstavuje priemer výsledkov z ostatných stĺpcov, jednotlivé výsledky predstavujú rýchlosť prenosu v kilobajtoch za sekundu (Tabuľka 1).

Tabuľka 1 Meranie prenosovej rýchlosti v kilobajtoch za sekundu
Zdroj: autor

Súbežné volania / Celkový počeť volaní	5 / 10	50 / 100	500 / 1000	5000 / 10000	5000 / 50000	Priemer
Docker jeden uzol	455.57	783.14	975.55	85.62	270.84	514.144
Docker tri uzly	476.17	1337.5	694.94	132.23	350.11	598.19
Proxmox	33724.9	45999.03	47790.24	1712.38	8137.98	27472.906
Kubernetes jeden uzol	428.22	634.27	852.74	472.25	128.3	503.156
Kubernetes tri uzly	455.29	827.31	610.27	572.13	214.12	535.824

V poslednom teste v ktorom sme merali priemerný čas volania na danú službu, kde na základne analýzy týchto výsledkov vieme konštatovať, že najdlhšie trval priemerný čas volania službe Proxmox, a to pri nárazovom volaní 5000 súbežných volaní a 10000 celkových volaní, ktorý vyzeral byť najzaťažujúcejší pre všetky služby. Jedným z dôvodov prečo bola táto služba pravdepodobne posledná je, že natívne nepodporuje vyrovnanie záťaže. Služby, ktoré takúto funkcionalitu podporujú mali ďaleko lepšie výsledky. Naopak najrýchlejšie dokázala v danom teste v priemere odpoveď služba Docker s využitím troch uzlov. (Graf 3).



Graf 3 Meranie priemerného času volania
Zdroj: autor

Na základe analýzy všetkých výsledkov z testov vieme konštatovať, že aktuálne najvhodnejším riešením vysokej dostupnosti v prostredí bežne používaných Linuxových kontajnerov je Docker Swarm. Ak je pre nás dôležitá prenosová rýchlosť ako hlavné kritérium, v takom prípade je najlepšia voľba služba Promox, avšak ostatné technológie sa naďalej vyvíjajú a je možné, že opakovanie experimentu o jeden alebo dva roky prinesie iné výsledky.

Záver

V článku sme sa primárne zamerali na výkon v rámci vysokej dostupnosti jednotlivých riešení, ktoré sú dostupné. Chceli sme zistiť primárne údaje ako čas obnovy služby, priemerný počet prenesených dát a počet zlyhaných volaní.

Zo zozbieraných údajov z testov a ich následnej analýzy sme primárne zistili v čom sú jednotlivé služby lepšie, respektíve horšie. V rámci času obnovenia služby bol najrýchlejší Docker Swarm za ktorým nasledoval Kubernetes. Najpomalší bol Promox. V priemernom čase volania a počte zlyhaných volaní bol najlepší Docker Swarm, avšak pri celkovom množstve prenesených dát v tomto prípade bola najlepšia služba Proxmox, ktorá dokáže v priemere preniesť najrýchlejšie dáta.

Vieme teda konštatovať, že vo väčšine bežných prípadov využitia vysokej dostupnosti pomocou kontajnerov je najvhodnejšia služba Docker Swarm. V prípade ak je našou prioritou prenosová rýchlosť je vhodnejšia voľba služba Proxmox.

Poďakovanie

Poďakovanie patrí Ing. Marekovi Šimonovi, PhD., za jeho odbornú pomoc a trpezlivosť pri tvorbe tohto článku a za jeho spoluprácu a celkový čas strávený na odborných konzultáciách.

Použitá literatúra

[1] Redhat, Inc. 2022. What is high availability? Redhat.com. [Online] Október 2022. [cit. 9. 3 2023.] Dostupné z: https://www.redhat.com/en/topics/linux/what-is-high-availability.

[2] LI, Wubin, KANSO, Ali a GHERBI, Abdelouahed. 2015. Leveraging Linux Containers to Achieve High Availability for Cloud Services. 2015 IEEE International Conference on Cloud Engineering. [Online] 2015. [cit. 29. 1 2023.] ISBN 978-1-4799-8218-9. Dostupné z: doi:10.1109/IC2E.2015.17.

[3] Linuxcontainers.org. What's LXC? Linuxcontainers.org. [Online] [cit. 9. 3. 2023.] Dostupné z: https://linuxcontainers.org/lxc/introduction/.

[4] LJUBOJEVIC, Milos, BAJIC, Aleksandar a MIJIC, Danijel. 2019. Implementation of High-Availability

Server Cluster by Using Fencing Concept. 2019 18th International Symposium INFOTEH-JAHORINA (INFOTEH). [Online] 2019. [cit. 9. 3. 2023.] ISBN 978-1-5386-7073-6. Dostupné z: doi:10.1109/INFOTEH.2019.8717752.

[5] Proxmox Server Solutions GmbH. 2022. High Availability. Proxmox.com. [Online] 21. 11. 2022. [cit. 10. 3. 2023.] Dostupné z: https://pve.proxmox.com/pve-docs/chapter-ha-manager.html.

[6] CROSBY, Michael. 2017. What is containerd ? Docker.com. [Online] 2017. 8. 2017. [cit. 10. 3. 2023.] Dostupné z: https://www.docker.com/blog/what-is-containerd-runtime/.

[7] BOETTIGER, Carl. 2015. An introduction to Docker for reproducible research. ACM SIGOPS Operating Systems Review. [Online] 2015. [cit. 15. 3. 2023.] ISSN 0163-5980. Dostupné z: doi:10.1145/2723872.2723882.

[8] Docker Inc. Dokumentácia Docker. Docker.com. [Online] [cit. 15. 3. 2023.] Dostupné z: https://docs.docker.com/get-started/.

[9] BROCKMEIER, Joe. 2017. Introducing CRI-O 1.0. Redhat.com. [Online] 16. 10. 2017. [cit: 15. 3. 2023.] Dostupné z: https://www.redhat.com/en/blog/introducing-cri-o-10.

[10] The Linux Foundation. Dokumentácia Kubernetes. Kubernetes.io. [Online] [cit. 16. 3. 2023.] Dostupné z: https://kubernetes.io/docs/home/.

[11] Debian Installer team. Debian GNU/Linux Installation Guide. Debian.org [Online] [cit. 28. 3. 2023] Dostupné z: https://www.debian.org/releases/stable/amd64/

Zmiešaná realita pre priemyselnú robotiku

Mixed reality for industrial robotics

Filip Špakovský
Školiteľ: Marián Hosťovecký

Katedra aplikovanej informatiky, FPV UCM, Nám. J. Herdu 2, 917 01 Trnava
spakovsky1@ucm.sk

Abstrakt

Článok je zameraný na využitie zmiešanej reality v priemyselnej robotike a na tzv. virtuálny showroom robotov od spoločnosti Fanuc. Cieľom vyššie uvedeného je zlepšiť predaj robotov prostredníctvom integrovania rozšírenej reality, ktorá môže pomôcť firme Fanuc vylepšiť predajové procesy. Na základe toho zákazníci môžu vidieť roboty priamo v akcii a vyskúšať si ich funkcie bez potreby osobnej účasti a prenášania robota. Na strane druhej diskutujeme aj o tom, ako podporiť a rozvíjať tréning operátorov s cieľom, aby pred samotnou reálnou prácou s robotmi, mali títo operátori už nadobudnuté konkrétne zručnosti, postupy a návyky, a tým predchádzať neodbornej alebo náhodnej manipulantovej činnosti.

Abstract

This article focuses on the use of mixed reality in industrial robotics and virtual robot showroom with the aim of improving sales and operator training. The article discusses how augmented reality can help Fanuc improve sales processes by allowing customers to see robots in action and try out their functions using augmented reality.

Fanuc's virtual robot showroom is also a useful tool for operator training as it allows the simulation of real working environments and situations, enabling operators to gain experience and practical skills without the risk of damaging real robots. Other topics covered in the article include the use of mixed reality in robot application design. Overall, mixed reality in conjunction with robotics is a promising technology with the potential to improve sales processes and enhance the skills and efficiency of operators.

Key Words: industrial robots, mixed reality, augmented reality , Fanuc, Hololens

Úvod

Priemyselný robot je programovateľné zariadenie [1, 2], ktoré sa používa na automatizáciu rôznych úloh v priemyselných procesoch [3]. Takéto roboty sú schopné pracovať s veľkými nákladmi, vykonávajú opakujúce sa úlohy a môžu pracovať v nebezpečnom prostredí.

Zmiešaná realita je technológia, ktorá umožňuje kombinovať virtuálny a reálny svet a vytvára nové, interaktívne zážitky pre používateľov. Spojenie týchto technológií prináša progres v priemyselnej robotike. Virtuálny showroom Fanuc robotov je užitočným nástrojom na tréning operátorov, pretože umožňuje simulovať reálne pracovné prostredie a situácie a umožňuje operátorom získať skúsenosti a praktické zručnosti bez rizika poškodenia reálnych robotov. Ďalšie témy, ktoré sa v článku rozoberajú, sú napríklad využitie zmiešanej reality v návrhu robotických aplikácií. Celkovo je zmiešaná realita v spojení s robotikou sľubnou technológiou s potenciálom zlepšiť predajové procesy a zvýšiť zručnosti a efektívnosť operátorov.

1 Priemyselná robotika

Používanie priemyselných robotov sa neustále zvyšuje [4]. Autor uvádza, že do konca roka 2020 bolo aktívnych viac ako 1,4 milióna priemyselných robotov. Na základe toho by sa malo pokračovať vo vývoji nových technológií s cieľom poskytnúť technikom možnosti správnej interakcie a spolupráce s priemyselnými robotmi.

V súčasnosti existuje veľa rôznych štúdií na zlepšenie technológií priemyselných robotov a spolupráce človeka, čo možno označiť ako interakcia človeka s robotom (Human-Robot Collaboration). HRC je populárna oblasť štúdia, ktorej cieľom je pripraviť cestu pre aplikácie spolupráce medzi ľuďmi a robotmi [5].

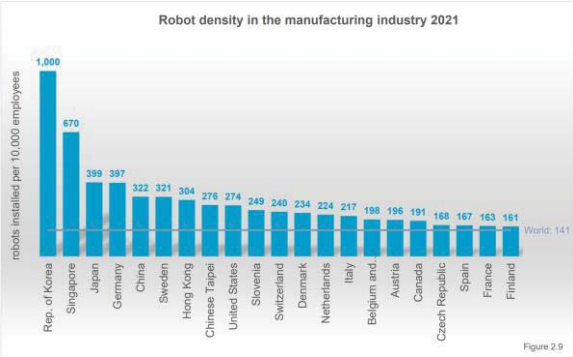
Priemyselná robotika sa využíva pre automatizovanie procesov v priemyselných odvetviach, v posledných rokoch sa rýchlo rozvíja. Využíva sa na rôzne úlohy, ako sú sériová výroby, montáže, paletizácia, zváracie práce a mnoho ďalších. Výhody použitia robotov v priemysle sú nepochybné, môžu zlepšiť kvalitu, zvýšiť produktivitu a bezpečnosť, a zároveň znížiť náklady na prácu a zvýšiť efektivitu.

Obr. 1 Roboty Fanuc
Zdroj: [13]

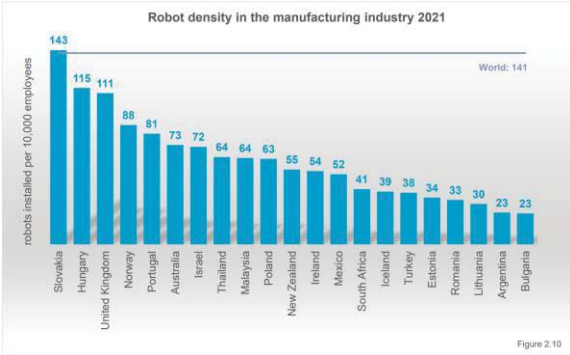
Priemyselné roboty sú navrhnuté tak, aby pracovali s minimálnym množstvom ľudskej interakcie. Sú schopné vykonávať opakujúce sa úlohy bez únavy a zlepšovať efektívnosť a rýchlosť procesov. Moderné roboty sú vybavené senzormi a môžu pracovať s kamerovým systémom [6], ktoré im umožňujú rozpoznávať objekty manipulácie.

Roboty sú pre mnohé spoločnosti kľúčovým nástrojom na zvyšovanie konkurencieschopnosti a zlepšenie výrobných procesov. Zavedenie robotov do výroby môže byť však náročné a vyžaduje si značné investície do technológií a odbornej prípravy personálu.

Vzhľadom na rýchly vývoj technológií v oblasti robotiky môžeme očakávať, že priemyselná robotika bude aj naďalej rásť a zvyšovať svoju dôležitosť v priemyselných odvetviach po celom svete.



Graf 1 Robot Density
Zdroj: [7]



Graf 2 Robot Density
Zdroj: [7]

1.1 Fanuc roboty

Fanuc je vedúcou spoločnosťou v oblasti priemyselnej robotiky, ktorá poskytuje širokú škálu robotov používaných v rôznych priemyselných odvetviach. Tieto roboty sú známe svojou spoľahlivosťou, rýchlosťou a presnosťou a môžu vykonávať rôzne úlohy [8], od montáže a paletizácie až po zváranie [9].

Jednou z kľúčových vlastností robotov Fanuc je ich flexibilita. Môžu byť ľahko naprogramované na vykonávanie nových úloh.

2 Rozšírená realita v robotike

Nástup digitalizácie prináša nové technológie, ako je virtuálna a rozšírená realita [10 Arjoni et al.,2023], ktoré možno využiť pri vzdelávaní, tréningoch, ale i v robotizácii.

Rozšírená realita (AR) sa ukazuje ako účinná technológia na zlepšenie rôznej spolupráce [11]. Rozšírená realita (AR) je nová technológia, ktorá má veľký potenciál v priemyselnej robotike. AR umožňuje zobrazenie virtuálnych objektov v reálnom prostredí,

čím vytvára nové možnosti v oblasti tréningu a používania robotov.

Rovnako možno bádať rastúci záujem nielen akademických, ale i priemyselných výskumných centier o využívanie technológií rozšírenej reality a priemyselných robotoch. Preto tejto oblasti výskumu by sa malo venovať viac priestoru a hľadania možností ďalšieho rozvoja [4].

3 Virtuálny showroom

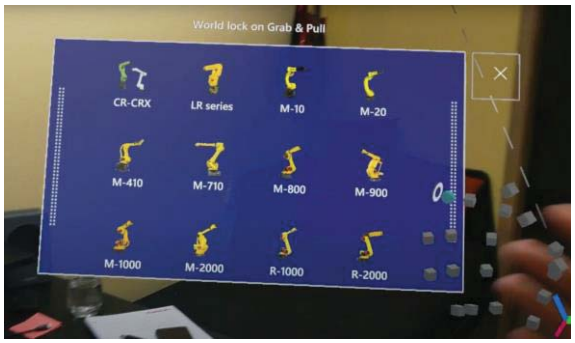
Virtuálny showroom bol vyvinutý pomocou herného enginu Unity a kombinuje reálne scenérie s virtuálnymi modelmi robotov Fanuc. K tomuto účelu boli využité okuliare MS Hololens 2, ktoré podporujú integrovať syntetické objekty do reálneho priestoru. Uvedené okuliare sú v súčasnosti najúspešnejším komerčným produktom v kategórii tzv. optický priehľadový displej určený na hlavu, označovaný skratkou aj ako optical see-through head-mounted display resp. OST-HMD [12]. V rámci ovládania virtuálnych objektov existujú 3 spôsoby:

- pomocou gest
- hlasových príkazov
- pohľadu

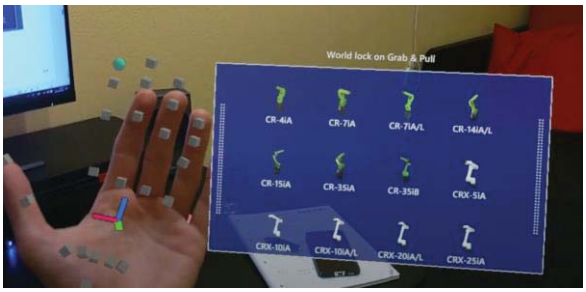
Uvedený spôsob prezentovania robotov Fanuc umožní zákazníkom a potenciálnym klientom vidieť produkty v akcii, v reálnom prostredí a bez potreby návštevy fyzickej výstavy. Zákazníci sa môžu rozhodnúť pre nákup robotov na základe ich vlastných skúseností a dojmov z virtuálneho showroomu.

Obr. 2 Okuliare Hololens 2
Zdroj: [14]

Vývoj virtuálneho showroomu pre okuliare Hololens 2 a roboty Fanuc predstavuje pre priemysel nový spôsob prezentácie produktov a tréningu zamestnancov pomocou rozšírenej reality. Tento nový prístup umožňuje lepšiu interakciu s robotmi a zlepšuje efektivitu predaja a tréningu zamestnancov.



Obr. 3 Výber typu robota



Obr. 4 Výber konkrétneho robota

Obr. 5 Základné informácie o robote

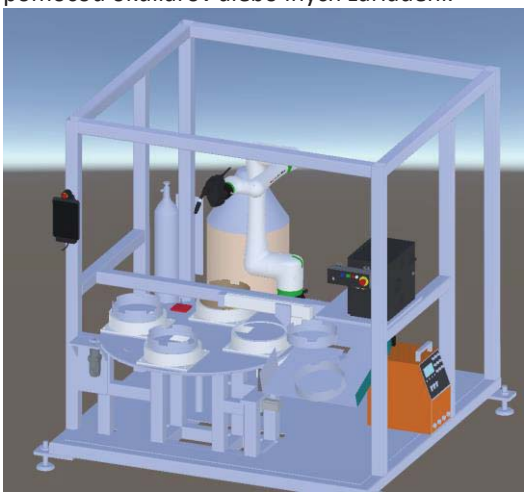
Obr. 6 Umiestnenie robota v reálnom prostredí

4 Tréning v rozšírenej realite

Na celom svete sa vykonáva mnoho návrhov s cieľom zvýšiť možnosti priemyselných robotov s podporou rôznych aplikácií [5].

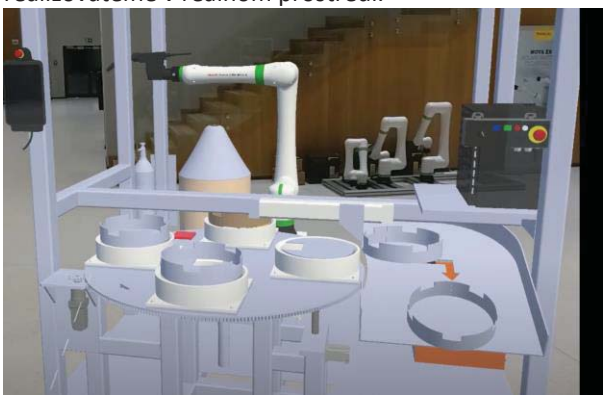
Tréning programovania priemyselných robotov je kritickou časťou ich nasadenia v rôznych priemyselných odvetviach. V minulosti bolo zvyčajne nutné, aby operátori robotov získali skúsenosti a zručnosti priamo na reálnych robotoch v pracovnom prostredí. To však prinášalo riziko poškodenia robotov a zvýšenú nákladnosť na tréning.

V poslednej dobe sa však technológia rozšírenej reality stala veľmi užitočným nástrojom na tréning programovania priemyselných robotov. Rozšírená realita umožňuje operátorom trénovať na virtuálnych modeloch robotov, ktoré sú vytvorené v počítačovom prostredí a následne prenesené do reálneho sveta pomocou okuliarov alebo iných zariadení.



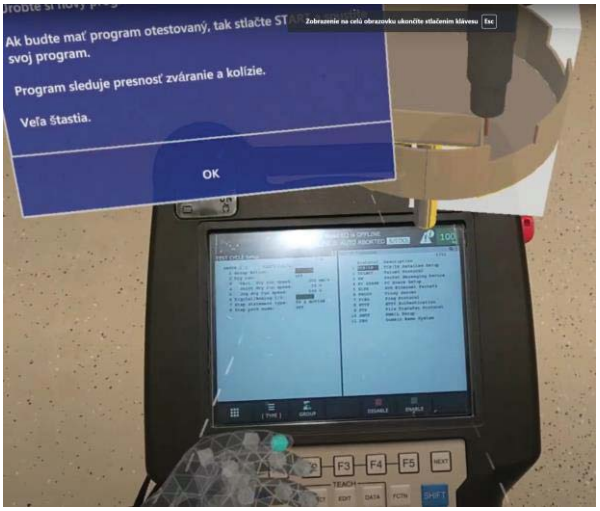
Obr. 7 Robotická bunka v Unity

Tréning programovania v rozšírenej realite má mnoho výhod, vrátane zníženia rizika poškodenia reálnych robotov, zlepšenia efektívnosti tréningu a zvýšenia rýchlosti a presnosti programovania. Okrem toho umožňuje operátorom experimentovať s rôznymi scenármi a situáciami, ktoré by boli ťažko realizovateľné v reálnom prostredí.



Obr. 8 Robotická bunka v rozšírenej realite

Využitie rozšírenej reality v tréningu programovania priemyselných robotov sa stáva stále populárnejším v priemyselných odvetviach a umožňuje zvýšiť produktivitu a zlepšiť kvalitu práce operátorov. Operátori pri tréningu využívajú pripojenie na simulačný software Roboguide alebo riadiacu jednotku reálneho robota a robota ovládajú cez teach pendant reálneho robota.



Obr. 9 využitie teach pendantu

Obr. 10 Tréning robotického zváranie v rozšírenej realite

Záver

Využitie zmiešanej reality v priemyselnej robotike prináša veľa výhod a nových príležitostí, najmä v oblasti tréningu a predaja. Virtuálny showroom robotov spoločnosti Fanuc umožňuje návštevníkom vidieť roboty v akcii a vyskúšať si ich funkcie pomocou rozšírenej reality. Táto technológia je tiež užitočným nástrojom na tréning operátorov, pretože umožňuje simulovať reálne pracovné prostredie a situácie, čím sa operátori môžu naučiť ovládať a programovať roboty. Tým sa zvyšuje možnosť najskôr získať skúsenosti bez rizika poškodenia reálnych zariadení.

Poďakovanie

Ďakujem spoločnosti Fanuc za zapožičanie okuliarov Hololens 2.

Použitá literatúra

[1] Hägele, M., Nilsson, K., Pires, J. N., & Bischoff, R. (2016). Industrial Robotics. In Springer Handbook of Robotics (pp. 1385–1422). Springer International Publishing.

[2] ISO 8373:1994. (2012). Manipulating industrial robots ISO. https://www.iso.org/standard/15532.html

[3] Calandra, D., Pratticò, F. G., Cannavò, A., Casetti, C., & Lamberti, F. (2022). Digital twin- and extended reality-based telepresence for collaborative robot programming in the 6G perspective. Digital Communications and Networks. https://doi.org/10.1016/j.dcan.2022.10.007

[4] De Pace, F., Manuri, F., Sanna, A., & Fornaro, C. (2020). A systematic review of Augmented Reality interfaces for collaborative industrial robots. Computers & Industrial Engineering, 149(106806), 106806. https://doi.org/10.1016/j.cie.2020.106806

[5] Demirtas, S., Cankurt, T., & Samur, E. (2022). Development and implementation of a collaborative workspace for industrial robots utilizing a practical path adaptation algorithm and augmented reality. Mechatronics: The Science of Intelligent Machines, 84(102764), 102764. https://doi.org/10.1016/j.mechatronics.2022.102764

[6] Connolly, C. (2007). A new integrated robot vision system from FANUC Robotics. The Industrial Robot, 34(2), 103–106. https://doi.org/10.1108/01439910710727423

[7] World Robotics 2022 - Industrial RobotsDepartment - 2022 , ISBN 978-3-8163-0752.

[8] C. Weckenborg, K. Kieckhafer, C. Muller, M. Grunewald, T.S. Spengler. Balancing of assembly lines with collaborative robots Business Research, 13 (2020), pp. 93-132

[9] Canfield, S. L., Owens, J. S., & Zuccaro, S. G. (2021). Zero moment control for lead-through teach programming and process monitoring of a collaborative welding robot. *Journal of Mechanisms and Robotics*, *13*(3).

[10] Arjoni, D. H., de Souza Rehder, I., Pereira Figueira, J. M., & Villani, E. (2023). Augmented reality for training formation flights: An analysis of human factors. Heliyon, e14181, e14181. https://doi.org/10.1016/j.heliyon.2023.e14181

[11] Green, S. A., Billinghurst, M., Chen, X., & Chase, J. G. (2008). Human-robot collaboration: A literature review and augmented reality approach in design. International journal of advanced robotic systems, 5(1), 1.

[12] Qian, L., Barthel, A., Johnson, A., Osgood, G., Kazanzides, P., Navab, N., & Fuerst, B. (2017). Comparison of optical see-through head-mounted displays for surgical interventions with object-anchored 2D-display. International Journal of Computer Assisted Radiology and Surgery, 12(6), 901–910. https://doi.org/10.1007/s11548-017-1564-y

[13] www.fanuc.eu/sk/sk/robots

[14] www.microsoft.com/en-us/hololens

Návrh a realizácia meteostanice s komunikáciou v sieti IoT

Design and implementation of a weather station with communication

Matúš Šášik[1]
Školiteľ: Štefan Koprda[2]
[1,2] Katedra informatiky, FPVaI UKF, Tr. A. Hlinku 1, 949 01 Nitra,
[1] matus.sasik@student.ukf.sk, [2]skoprda@ukf.sk

Abstrakt

V dnešnej dobe, vďaka technologickému pokroku, už nie je koncept inteligentných domov kde sú rôzne zariadenia a spotrebiče vzájomne prepojené a dajú sa ovládať na diaľku len ideou, ale reálnou možnosťou. Umožňuje to internet vecí (IoT) - sieť zariadení, ktoré môžu medzi sebou komunikovať a vymieňať si informácie. V tomto kontexte, meteostanice pripojené k IoT umožňujú získavať informácie o počasí v reálnom čase a využívať ich napríklad na optimalizáciu inteligentných domácností. Tento projekt využíva platformu Arduino, ktorá je obľúbenou voľbou pre DIY projekty. Samotná meteostanica je vybavená senzormi, ktoré dokážu merať teplotu, vlhkosť, atmosférický tlak či rýchlosť veta. Údaje zozbierané týmito senzormi sa potom prenášajú do siete internetu vecí prostredníctvom bezdrôtovej komunikácie, kde sú následne spracované a vyobrazené vo webovej aplikácii. To umožňuje používateľom pristupovať k údajom o počasí v reálnom čase a na diaľku a sledovať zmeny poveternostných podmienok.

Kľúčové slová: IoT, arduino, meteostanica, Next JS

Abstract

Nowadays, thanks to technological progress, the concept of smart homes, where various devices and appliances are interconnected and can be controlled remotely, is no longer just an idea, but a real possibility. This is made possible by the Internet of Things (IoT) - a network of devices that can communicate with each other and exchange information. In this context, weather stations connected to the IoT make it possible to obtain weather information in real time and use it, for example, to optimize smart homes. This project uses the Arduino platform, which is a popular choice for DIY projects. The weather station itself is equipped with sensors that can measure temperature, humidity, atmospheric pressure or wind speed. The data collected by these sensors are then transmitted to the Internet of Things network via wireless communication, where it is subsequently processed and displayed in a web application. This allows users to access real-time and remote weather data and track changes in weather conditions.

Key Words: IoT, arduino, weather station, Next JS

Úvod

Meteorologické stanice zohrávajú kľúčovú úlohu pri zhromažďovaní údajov a monitorovaní zemskej atmosféry. Poskytujú informácie o širokej škále parametrov počasia, vrátane teploty, vlhkosti, tlaku, rýchlosti a smeru vetra, zrážok a ďalších. Tieto dáta sú následne využívané na širokú škálu účelov, od poľnohospodárskeho plánovania a riadenia zdrojov, až po predpovede počasia a výskum klimatických zmien.

V súčasnosti sú meteostanice čoraz sofistikovanejšie a vyspelejšie a to najme vďaka integrácii nových technológií, ako je diaľkový prieskum Zeme, umelá inteligencia a strojové učenie. Dôkazom toho je aj fakt, že údaje o počasí zozbierané za pomoci týchto staníc sú často obrovské a zložité, čo sťažuje extrahovanie zmysluplných poznatkov z údajov. Takýto veľký obnos dát prispieva k tvorbe takzvaných Veľkých dát, ktoré sú zložitejšie na spracovanie. Avšak pokroky v strojovom učení a umelej inteligencii (AI) umožňujú efektívnejšie analyzovať a interpretovať získané údaje o počasí a tým zjednodušovať prácu meterológom a ľudom využívajúcim dáta o počasí.

Veľkú modernizáciu pre toto odvetvie priniesol aj pojem Internet vecí (IoT), ktorý umožnil zber a prenos údajov v reálnom čase, vzdialené monitorovanie a vyššiu presnosť a spoľahlivosť údajov o počasí. Vďaka internetu je možné meteostanicu pripojiť k IoT sieti, čo umožňuje prístup k údajom a ich spravovanie prakticky odkiaľkoľvek na svete. Príchod IoT veľmi významne prispel k zjednodušeniu nielen používania meteostaníc, no najme značne uľahčil ich údržbu.

Hlbším pochopením súčasného stavu meteorologických staníc môžeme lepšie oceniť ich dôležitú úlohu v našich životoch a pri formovaní nášho chápania sveta okolo nás.

1 Analýza súčastneho stavu

V dnešnom, rýchlo sa meniacom, svete je pochopenie a predpovedanie atmosférických podmienok kritickejšie ako kedykoľvek predtým. Meteorologické stanice, ktoré slúžia ako kostra celkového zberu meteorologických údajov, sa v priebehu rokov výrazne vyvinuli a zahŕňajú špičkové technológie a inovatívne prístupy na poskytovanie presných a včasných predpovedí.

Meteorologická stanica je súbor nástrojov a senzorov, ktoré merajú atmosférické a pôdne podmienky. Bežne merané premenné prostredia zahŕňajú svetlo, teplotu, relatívnu vlhkosť, dážď a vietor. Pôdne podmienky zahŕňajú vlhkosť pôdy, teplotu pôdy a objemovú elektrickú vodivosť pôdy.

Súčasný stav meteorologických staníc sa výrazne vyvinul s pokrokom v technológii, čo vedie k presnejšiemu a efektívnejšiemu zberu údajov. [1]

1.1 Meteostanice ich typy a senzory

V súčasnosti sa používajú rôzne typy meteorologických staníc v závislosti od ich účelu a požadovanej úrovne presnosti. Základným typom používaných meteostaníc sú osobné, alebo inak nazývané, domáce meteostanice. Tieto meteostanice sú určené na meranie a zaznamenávanie základných meteorologických veličín.

Okrem osobných meteostaníc sú vo väčších mestách a na letiskách prevádzkované profesionálnejšie meteostanice. Tieto stanice majú zvyčajne sofistikovanejšie senzory, ktoré merajú a zaznamenávajú podrobnejšie údaje, ako napríklad atmosférický tlak, súvisiaci s poveternostnými podmienkami.

Existujú ďalšie typy profesionálnych meteorologických staníc. Napríklad vojenské stanice, ktoré sú prevažne využívané v armádnom sektore; námorné meteorologické stanice, slúžiace na meranie poveternostných podmienok na mori; alebo mobilné meteorologické stanice, ktoré umožňujú zber údajov na rôznych miestach bez nutnosti fixnej inštalácie.

Čoraz populárnejšie sú aj bezdrôtové meteostanice, ktoré sú schopné prenášať dáta bez použitia káblov. Často sú pripojené k internetu, čo umožňuje vzdialené monitorovanie a ovládanie, no taktiež výrazne napomáha aj ich údržbe.[2]

Medzi najbežnejšie typy senzorov, ktoré sa nachádzajú v meteorologickej stanici, patria teplomery, vlhkomery, anemometre, veterné lopatky, barometre, zrážkomery, senzory UV a slnečného žiarenia, detektory bleskov, senzory vlhkosti listov, senzory vlhkosti pôdy a senzory kvality vzduchu.

- Teplomery: Používajú sa na meranie teploty vzduchu v okolí stanice. Meteorologické stanice majú zvyčajne dva teplomery, jeden vo vnútri zobrazovacej konzoly, na zaznamenávanie vnútornej teploty, a jeden v kryte snímača, na vonkajšiu teplotu.
- Vlhkomery: Zaznamenávajú množstvo vlhkosti vo vzduchu.
- Anemometre: Merajú rýchlosť vetra. Bežne sa na tento účel používajú dva spôsoby. Jedným sa meria vietor cez rotáciu miskovitého prístroja na kryte snímača, zatiaľ čo druhý využíva sonickú technológiu na meranie vetra prechádzajúceho otvorom v samotnom prístroji.
- Veterná ružica: Meria smer vetra. Otočná ružica ukazuje smer, z ktorého vietor fúka.
- Barometer: Využíva sa na meranie atmosférického tlaku, čo je kľúčový nástroj na predpovedanie počasia. Zmeny tlaku smerom nadol zvyčajne naznačujú búrkové počasie, zatiaľ čo zvýšenie tlaku indikuje zlepšenie poveternostných podmienok.
- Zrážkomer: Meria množstvo zrážok. Najbežnejšou metódou je vyklápacie meradlo. Toto meradlo používa lievik zhromažďujúci zrážky, ktoré sa vyprázdňujú do malých vedierok. Z vedierok sa následne preklápajú tam a späť, akonáhle sa dosiahne špecifická hmotnosť vody, zvyčajne ekvivalentná 0,01 mm.[3]

1.2 Súvisiace výskumy

Pre lepšie pochopenie danej problematiky je veľmi prínosné pozrieť sa na podobné výskumy. Vďaka tomu vieme identifikovať medzery a príležitosti v oblasti nášho výskumu, aby sa dalo jasne zdôrazniť, v čom sa prieskum odlišuje od existujúcich prác a aký prínos prináša.

1.2.1 Štúdia 1

Nedávna štúdia, na ktorej sa podieľalo viacero študentov pod dohľadom pedagógov, sa zamerala na vývoj lacnej automatizovanej meteorologickej stanice určenej na použitie v rôznych poľnohospodárskych aplikáciách. Projekt sa tiež zameral na integráciu meteorologickej stanice v mestskom prostredí.

Na začiatku sa skúmali dva typy meteostaníc - káblová a bezdrôtová, pričom sa zistilo, že bezdrôtová meteostanica je vhodnejšia. Použili preto systém založený na wifi, kompatibilný s technológiami Sensor Web Enablement (SWE) a Internet of Things (IoT).

Autori vykonali analýzu trhu s cieľom identifikovať nákladovo efektívne senzory s prijateľným výkonom, čo viedlo k výberu systému WS-1080. Ako mikrokontroler

sa rozhodli využiť Arduino, kvôli jeho prístupnosti, nízkej cene a všestrannosti. Zvolené snímače vyžadovali rôzne riešenia pre komunikáciu a následne meranie, preto bola pre každý senzor vykonaná špecifická analýza, po ktorej sa im úspešne podarilo zostrojiť funkčnú meteorologická stanicu. Táto stanica bola následne schopná odosielať dáta v reálnom čase pomocou Wi-Fi siete a je možné ju rozšíriť o ďalšie moduly.

Celkovo táto práca poskytuje cenné poznatky o vývoji nízko nákladových meteorologických staníc a inovatívnych nástrojov na charakterizáciu zrážok. Práca tiež zdôrazňuje kritickú úlohu kalibrácie senzorov. [4]

1.2.2 Štúdia 2

Daná štúdia sa zameriava na využitie solárnej energie pre napájanie dosky mikrokontroléra Arduino. Táto doska zabezpečovala následnú komunikáciu so senzormi, tvoriacimi jadro celej meteostanice, ktorá slúžila na analýzu počasia a pôdnych podmienok v reálnom čase. Analýza uskutočnená autormi ukázala, že väčšina systémov využívala neobnoviteľné zdroje energie a tie, ktoré využívali obnoviteľné zdroje, neboli efektívne. Zámerom navrhovaného systému bolo preto optimalizovať solárnu energiu, aby sa zvýšila účinnosť systému a aby bol úplne nezávislý od konvenčných zdrojov elektrickej energie. Cieľom autorov bolo preto vyvinúť meteorologickú stanicu a systém analýzy pôdy, ktorý bude úplne nezávislý od neobnoviteľných zdrojov energie.

Medzi komponenty zostrojenej meteostanice patrili: analógový senzor DHT11, na odhad teploty a relatívnej vlhkosti; senzor vlhkosti pôdy; otočná zostava, pozostávajúca zo servomotorov a rezistorov na detekciu svetla; a solárny panel. Dáta odosielané týmito senzormi boli spracované mikrokontrolérom Arduino Uno 328-p a výstup bol zobrazovaný na 16 x 2 LCD displeji.

Výsledky navrhnutého systému a diskusia ukázali, že získané dáta o počasí v reálnom čase a údaje o pôde špecifické pre danú lokalitu, ktoré systém poskytoval, mohli pomôcť poľnohospodárom pri rozhodovaní. Využívanie obnoviteľných zdrojov energie taktiež pomáha šetriť neobnoviteľné zdroje energie. Na záver sa dá povedať, že navrhovaný systém bol krokom k efektívnej integrácii technológií v oblasti poľnohospodárstva. Ako silnú stránku daného výskumu označujem nezávislosť na neobnoviteľných zdrojoch energie. Možné zlepšenie vidím v zobrazovaní nameraných dát – napríklad vo webovej aplikácii. [5]

1.3 Priblíženie zvolených technológií

Na základe predchádzajúcej analýzy sme identifikovali, že mikrokontrolér arduino je pre našu meteostanicu najvhodnejším riešením z hľadiska spoľahlivosti a jednoduchosti a takisto sme určili vhodné senzory, ktoré pre lepšie pochopenie rozoberieme v nasledujúcej analýze.

1.3.1 Arduino

Arduino je široko používaná a všestranná platforma mikrokontrolerov s otvoreným zdrojovým kódom, ktorá spôsobila revolúciu vo svete amatérskej elektroniky, prototypovania a vzdelávacích projektov. Ekosystém Arduino zjednodušuje proces vytvárania interaktívnych elektronických systémov tým, že poskytuje prístupné a užívateľsky prívetivé vývojové prostredie spolu s radom dosiek mikrokontrolerov, periférií a softvérových knižníc.

Srdcom platformy Arduino sú mikrokontrolerove dosky, ktoré sú postavené na rôznych čipoch, predovšetkým z rodiny AVR. Niektoré populárne dosky Arduino zahŕňajú Arduino Uno, Mega a Nano, z ktorých každá spĺňa iné požiadavky a špecifikácie pre projekt. Tieto dosky sú navrhnuté s ohľadom na jednoduchosť použitia, obsahujú štandardizované rozloženie pinov a vstavané periférie, ako sú digitálne a analógové I/O piny, sériové komunikačné rozhrania a obvody regulácie napájania [6]

1.3.2 Arduino IDE

Integrované vývojové prostredie Arduino (IDE) je základným nástrojom, ktorý používateľom umožňuje písať, kompilovať a nahrávať kód na dosky Arduino. Poskytuje užívateľsky prívetivé rozhranie, ktoré zjednodušuje proces programovania mikrokontrolerov, sprístupňuje ho začiatočníkom a zároveň zostáva dostatočne výkonné pre skúsených vývojárov. V tomto IDE sa využívajú programovacie jazyky C aj C++ a ponúka veľkú zbierku vstavaných knižníc, ktoré zjednodušujú proces prepojenia s rôznymi senzormi, akčnými členmi a komunikačnými modulmi.

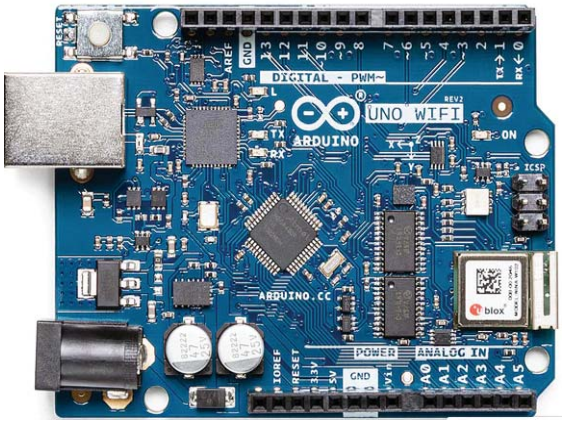
Jedna z kľúčových a silných stránok platformy Arduino spočíva v jeho aktívnej a podporujúcej komunite, ktorá neustále prispieva k rozvoju nových knižníc, zdieľa nápady na projekty a poskytuje poradenstvo nováčikom. Táto atmosféra spolupráce podporila bohatý ekosystém zdrojov, vďaka čomu je pre používateľov všetkých úrovní a zručností jednoduchšie ako kedykoľvek predtým ponoriť sa do sveta mikrokontrolerov. [6]

1.3.3 Arduino UNO WiFi REV 2

Arduino UNO WiFi Rev.2 slúži ako pohodlná a prístupná brána k základným aplikáciám internetu vecí (IoT), pričom si zachováva štandardný tvarový faktor rodiny UNO. Je taktiež ideálne na budovanie senzorových sietí prepojených s domácimi alebo kancelárskymi smerovačmi alebo vytváranie zariadení Bluetooth® Low Energy, ktoré prenášajú dáta do mobilných telefónov, či webových aplikácií a ponúka komplexné riešenie pre množstvo základných scenárov internetu vecí.

Doska obsahuje najmodernejší 8-bitový mikrokontroler ATmega4809 od Microchip a obsahuje integrovanú jednotku IMU (Inertial Measurement Unit) LSM6DS3TR. Veľkou výhodou je taktiež zabudovaný samostatný Wi-Fi modul na čipe (SoC) s integrovaným zásobníkom protokolov TCP/IP, umožňuje prístup k sieti Wi-Fi alebo taktiež môže fungovať ako prístupový bod.

Arduino UNO WiFi Rev.2 je vybavený 14 digitálnymi vstupnými/výstupnými pinmi – z ktorých 5 môže fungovať ako PWM výstupy – 6 analógovými vstupmi, USB pripojením, napájacím konektorom, ICSP hlavičkou a resetovacím tlačidlom mikrokontroleru. Podrobnejší vzhľad Arduína a rozloženie pinov je možné vidieť na nasledujúcom obrázku. (1)



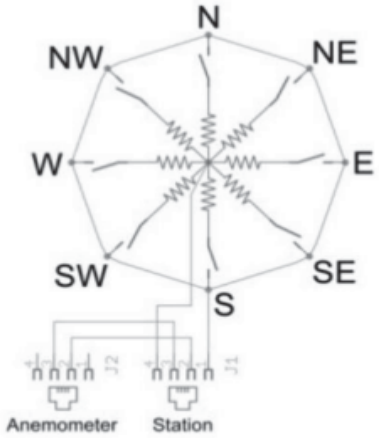
Obr. 1 Arduino UNO WiFi REV 2
Zdroj: [6]

1.3.4 Senzory

Meteorologické senzory sú základnými komponentmi modernej meteorologickej vedy a techniky, ktoré nám umožňujú presne sledovať a predpovedať poveternostné podmienky na celom svete. Tieto senzory sú navrhnuté tak, aby merali a zaznamenávali rôzne meteorologické premenné, ako sú teplota, vlhkosť, tlak, rýchlosť a smer vetra, zrážky a mnoho ďalších. [7]

1.3.4.1 WH-SP-WD

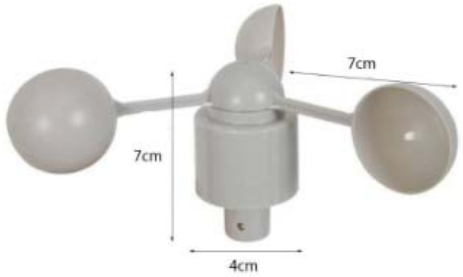
Je označenie pre snímač na určenie smeru vetra pracujúci na mechanickom princípe. Senzor má osem magnetických spínačov a každý spínač je pripojený k rezistoru s inou hodnotou. Magnet lopatky môže spínať dva spínače súčasne, čo umožňuje indikáciu až 16 rôznych pozícií. Je možné použiť aj externý odpor na vytvorenie deliča napätia, pre generovanie výstupného napätia, ktoré je možné merať pomocou A/D prevodníka. Je taktiež možné ho použiť ako samostatné čidlo, alebo v spojení s čidlom rýchlosti vetra WH-SP-WS01, pre ktorý má špeciálne osadený konektor. [4]



Obr. 2 schéma zapojenia WH-SP-WD
Zdroj: [7]

1.3.4.2 WH-SP-WS01

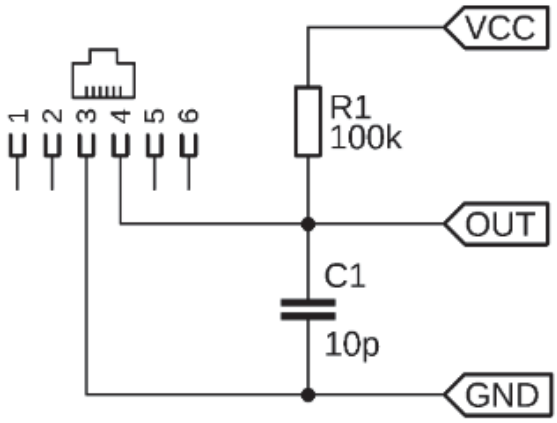
Ako bolo už vyššie avizované, jedná sa o snímač určený na meranie rýchlosti vetra – anemometer, pracujúci na mechanickom princípe. Snímanie otáčok senzora je riešený bezkontaktným spôsobom pomocou magnetického jazýčkového kontaktu. Snímač má kábel zakončený konektorom RJ11, ktorým je možné ho jednoducho pripojiť k predchádzajúcemu snímaču ale dá sa použiť i samostatne. [7]



Obr. 3 senzor WH-SP-WS01
Zdroj: [7]

1.3.4.3 WH-SP-RG

Snímač na meranie zrážok, pracujúci na princípe samo vyprázdňovacieho výklopného zberača zrážkovej vody. Je teda nutné, aby pod snímačom neboli umiestnené žiadne predmety, do ktorých by sa mohla dostať voda a poškodiť ich. Taktiež sa nesmú zakrývať odtokové otvory na spodnej strane snímača a musí byť pod nimi dostatok priestoru, na voľný odtok vody zo snímača. Pre správnu funkciu je nutné čidlo umiestniť tak, aby bolo vo všetkých smeroch vodorovne. Jeho konštanta merania je 1impulz = 0.2794mm zrážok. Schému zapojenia je možné vidieť na nasledujúcom obrázku. [8]

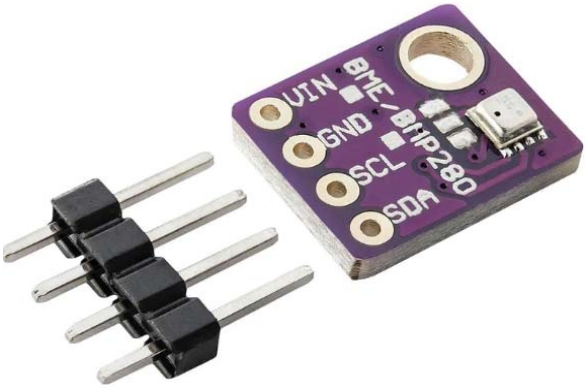


Obr. 4 schéma zapojenia WH-SP-RG
Zdroj: [8]

1.3.4.4 BME280

BME280 je kombinovaný digitálny snímač vlhkosti, tlaku a teploty. Kľúčové vlastnosti a špecifikácie BME280 zahŕňajú:

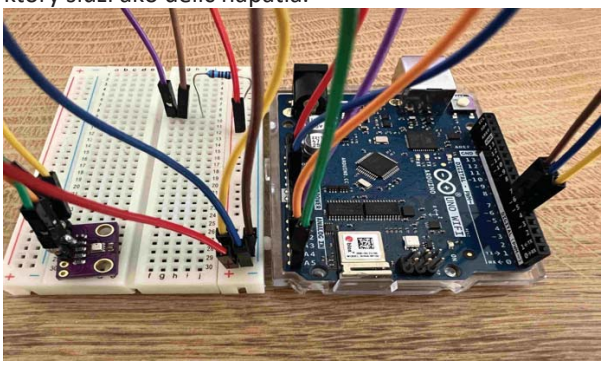
- Meranie teploty: obsahuje teplomer s rozsahom merania od -40 °C do +85 °C. Presnosť merania teploty je ±1 °C.
- Meranie vlhkosti: má integrovaný vlhkomer s rozsahom merania od 0 % do 100 % relatívnej vlhkosti. Presnosť merania vlhkosti je ±3 % relatívnej vlhkosti.
- Meranie atmosférického tlaku: obsahuje barometer s rozsahom merania od 300 hPa do 1100 hPa. Presnosť merania atmosférického tlaku je ±1 hPa.
- Komunikácia: komunikácia je zabezpečená cez I2C alebo SPI rozhranie, čo umožňuje jednoduché pripojenie k mikrokontrolerom a iným zariadeniam. To zjednodušuje integráciu tohto senzoru do rôznych projektov a systémov. [9]



Obr. 5 senzor BME280
Zdroj: [9]

1.3.5 Pripojenie senzorov

Po dôkladnom preskúmaní relevantnej odbornej literatúry a preštudovaní dokumentácie k jednotlivých senzorov, ich bolo potrebné pripojiť k doske Arduino. K tomuto účelu bola veľmi užitočná vývojová doska, pomocou ktorej bolo možné pripojiť aj ďalšie súčiastky ako napríklad 10 K rezistor pre senzor WH-SP-WD, ktorý slúži ako delič napätia.



Obr. 6 zapojenie senzorov do arduina
Zdroj: Autor

1.3.6 Získanie dát zo senzorov

Keď boli senzory pripojené, nasledoval ďalší krok a to získanie údajov z nich. Táto časť nebola nijak zložitá, nakoľko senzory boli pripojené na jednotlivé piny Arduina, do ktorých posielali namerané dáta. Následne bolo potrebné v prostrední Arduino IDE inicializovať jednotlivý PIN, na ktorý bol pripojený senzor, prečítať z neho dáta a uložiť ich do premennej, kde boli zaznamenané a predpripravené pre ďalšie spracovanie. Osobitný prípad bol senzor BME280, pri ktorom nestačilo len zachytiť dáta zo vstupu, ale bolo potrebné nájsť príslušnú knižnicu, ktorá následne zabezpečovala

komunikáciu a získavanie dát z analógových vstupov Arduina.

1.3.7 Zabezpečenie komunikácie cez WiFi

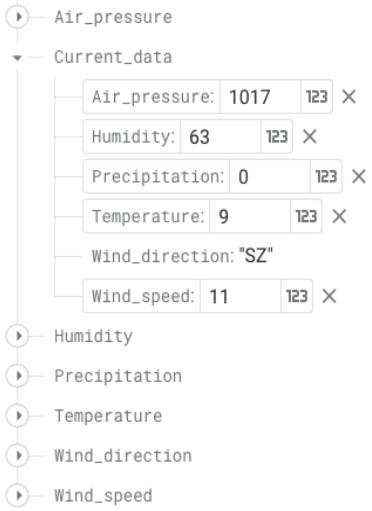
Arduino, ktoré bolo zvolené pre tento projekt, je vybavené integrovaným Wi-Fi modulom, čo výrazne zjednodušuje proces vytvorenia komunikačného rámca medzi modulom a Wi-Fi zariadením. Táto komunikácia je realizovaná prostredníctvom knižnice WIFINA, ktorá značne uľahčuje celý proces. Knižnica je špeciálne navrhnutá na zabezpečenie bezdrôtovej komunikácie a pripojenia k Wi-Fi sieti.

Knižnica WIFINA poskytuje množstvo funkcionalít, ktoré zjednodušujú pripojenie a komunikáciu s Wi-Fi sieťou. Medzi tieto funkcie patrí aj pripojenie k existujúcej Wi-Fi sieti pomocou SSID (názov siete) a hesla, získanie pridelenej IP adresy pre Arduino zariadenie a nastavenie klient-serverovej komunikácie. To umožňuje vytvoriť klienta, ktorý následne komunikuje so vzdialeným serverom, ako aj vytvoriť vlastný server na spracovanie prichádzajúcich požiadaviek od klienta. V našom prípade sme zvolili pripojenie za pomoci SSID a hesla k domácej sieti. Ako test, či je všetko funkčné, stačilo vytvoriť lokálnu stránku, ktorá zabezpečovala jednoduchú funkciu a to takú, že za pomoci tlačidla dokázala vypnúť alebo zapnúť LED diodu, ktorú sme pre tento účel pripojil na jeden z pinov arduina. Nemožno tvrdiť, že by tento proces hneď fungoval, no pri ďalšom študovaní príslušnej dokumentácie sa po chvíľke podarilo vyladiť kód a úspešne tak ukončiť testovaciu fázu komunikácie s arduinom za pomoci wifi siete.

1.3.8 Databáza a odosielanie dát

V tomto kroku realizácie projektu bolo hlavné zamerať sa na nájdenie vhodnej databázy, pre ukladanie dát zo senzorov. Na trhu existuje množstvo riešení, od tradičných relačných databáz až po moderné NoSQL databázy. Z dôvodu nákladovej efektívnosti a jednoduchosti použitia, bolo výhodnejšie sa zamerať na cloudové riešenia. Po porovnaní a testovaní niekoľkých cloudových databáz, sa ako najvhodnejšia pre tento účel ukázala databáza Firebase, od spoločnosti Google. Táto databáza ponúka niekoľko výhod, ako napríklad vysokú spoľahlivosť, jednoduchosť použitia a škálovateľnosť, čo sa hodí pre tento projekt. Firebase databáza sa navyše dokáže prispôsobiť potrebám projektu, vďaka svojej flexibilite a rôznym typom dátových štruktúr, ktoré umožňujú rýchle a efektívne ukladanie a spracovanie dát. Ďalšou výhodou je možnosť použitia cloudových funkcií a API, ktoré uľahčujú prístup k dátam z rôznych zariadení a platforiem. Avšak najväčšia z výhod Firebase databázy je jej real-time schopnosť, ktorá umožňuje okamžitú aktualizáciu dát v databáze po ich odoslaní. Táto funkcionalita je založená na tzv. "push" notifikáciách, ktoré umožňujú synchronizáciu dát medzi zariadeniami v reálnom čase. [10]

V projekte sme túto vlastnosť využili na odosielanie nameraných dát zo senzorov, ktoré boli za pomoci Arduino IDE spracované a tým pádom odosielanie do samotnej Firebase databázy bolo pomerne jednoduché. Keďže Firebase ponúka pripojenie na množstvo rôznych platforiem a zariadení, vrátane Arduino IDE, tak stačilo stiahnuť a inicializovať knižnicu, pridať v rámci inicializácie link na našu databázu, kam sa následne dáta odosielali -v tomto prípade to bol Firebase server a spojenie s databázov bolo zabezpečené. Na záver bolo potrebné ešte zabezpečiť overenie cez API kľúč a autentifikačný token. Štruktúru dát, ktoré boli odoslané do databázy, bližšie približuje nasledujúci obrázok:



Obr. 7 Štruktúra dát v databáze
Zdroj: Autor

1.3.9 Next JS a spracovanie dát

Next.js je veľmi flexibilný a rozšírený framework, ktorý môže byť použitý pre množstvo rôznych typov webových aplikácií. Jednou z jeho najväčších výhod je možnosť využitia server-side rendering, ktoré umožňuje vykresľovať stránky na strane servera, čo zlepšuje rýchlosť načítania. Okrem toho, Next.js podporuje automatickú generáciu statických stránok, čo poskytuje možnosť vytvárať webové stránky, bez nutnosti behu servera a tým zvyšuje rýchlosť načítania. To je veľmi užitočné pre jednoduché webové stránky,

ako je napríklad aj naša webová aplikácia, ktorá zobrazuje údaje z meteostanice. Next.js má tiež širokú podporu a množstvo pluginov, ktoré umožňujú jednoduchú integráciu s inými nástrojmi a technológiami, ako napríklad Redux, TypeScript, GraphQL a mnohé ďalšie. Tieto pluginy uľahčujú prácu vývojárom a zvyšujú flexibilitu a rozšíriteľnosť frameworku.

Po dokončení implementácie, bol nasledujúcim krokom vývoja zobrazenie dát vo webovej aplikácii. Na to, aby bolo možné sa úspešne pripojiť k databáze, bolo nevyhnutné importnúť si príslušnú knižnicu do projektu a vytvoriť súbor, v ktorom sme nakonfigurovali prístup k databáze. Tento súbor obsahoval jednu konštantu, v ktorej som presne určili rôzne parametre, ako napríklad APIKEY, URL databázy, APPID a ďalšie, ktoré boli potrebné pre spojenie s databázou. Týmto krokom sme následne mali možnosť overiť platnosť pripojenia a získať potrebné dáta z databázy. Po úspešnom pripojení k databáze sa venovala pozornosť k vypísaniu dát vo webovej aplikácii. Tento proces spočíval v určení, ktoré dáta sa majú zobraziť a na akom mieste v aplikácii. Posledný krokom bolo zabezpečiť design stránky.[11]

2 Výsledky a diskusia

Cieľom tejto práce bolo navrhnúť a zostrojiť meteostanicu, ktorá bude schopná monitorovať poveternostné podmienky a komunikovať v sieti IoT. V rámci práce sa podarilo úspešne splniť tento cieľ a vytvoriť zariadenie, ktoré dokáže efektívne zbierať a spracovávať dáta, ako sú teplota, tlak a vlhkosť vzduchu, pomocou platformy Arduino. Tieto dáta sú následne prenesené do Firebase databázy cez sieť IoT kde sa ukladajú a spracovávajú. Hostingovanie na platforme Vercel umožnilo rýchle a spoľahlivé nasadenie webovej aplikácie, ktorá používateľom umožňuje sledovať aktuálne dáta o počasí. Výsledky projektu ukázali, že použitie moderných technológií a frameworkov umožňuje vytvorenie spoľahlivého a efektívneho riešenia pre zber a spracovanie dát o počasí. Tento projekt môže byť využitý ako domáca meteostanica, ktorá dokáže informovať o aktuálnych poveternostných podmienkach priamo na danom mieste. Je dôležité zdôrazniť, že presnosť predpovedí počasia závisí od vzdialenosti meteostanice od danej lokality, preto táto meteostanica môže výrazne pomôcť ľudom, ktorý potrebujú mať aktuálnu a presnú predpoveď počasia, na konkrétnom mieste. Celkovo, moje riešenie nie je len efektívne, ale aj cenovo dostupné v porovnaní s komerčnými riešeniami. Toto môže byť výhodné a rozhodujúce aj pre individuálnych používateľov, ktorí hľadajú spoľahlivé a cenovo dostupné riešenie pre zber a spracovanie dát o počasí v ich oblasti.

Obr. 8 Senzory WH-SP-WS01 a WH-SP-WD umiestnené na streche
Zdroj: Autor

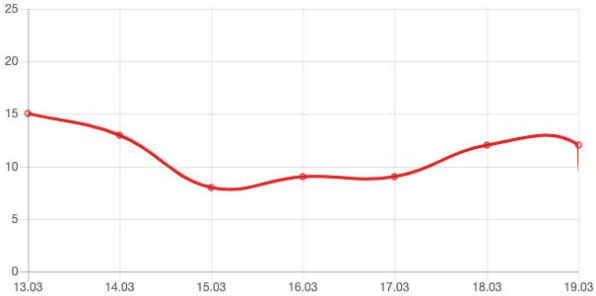
Obr. 9 Senzor WH-SP-RG a krabica, v ktorej je umiestnené arduino
Zdroj: Autor

Obr. 10 Výsledná webová aplikácia
Zdroj: Autor

```
-> Air_pressure: 1002
-> Humidity: 75
-> Percipitation: 0
-> Tempeture: 11
-> Wind_direction: SV
-> Wind_speed: 16
```

Obr. 11 Získané výsledky zo senzorov zobrazené v prostredí Arduino IDE
Zdroj: Autor

Získané dáta zo senzorov sme porovnali s dátami z komerčných meteostaníc a môžeme potvrdiť, že s miernou odchýlkou sa zhodujú. Tento fakt potvrdzuje, že naše riešenie meteostanice je spoľahlivé a môže byť použité na monitorovanie rôznych klimatických podmienok. Je dôležité poznamenať, že aj keď sú výsledky z meteostaníc podobné, môže existovať určitá odchýlka v závislosti na umiestnení danej meteostanice.



Obr. 12 Graf maximálnej nameranej teploty zostrojenou meteostanicou, za obdobie 13.03.2023 – 19.03.2023
Zdroj: Autor

Záver

V tomto článku sme sa zamerali na uvedenie čitateľa do danej problematiky a popísali sme zakonštruovanie meteostanice, ktorá komunikuje v sieti IoT za využitia Arudina, Firebase databázy, Vercelu ako hostingu a Next.js ako frameworku. Cieľom bolo ukázať, ako moderné technológie a frameworky môžu byť využité na vytvorenie efektívneho a spoľahlivého riešenia pre zber a spracovanie dát o počasí. Výsledky projektu ukázali, že použitie týchto technológií poskytuje robustné a spoľahlivé riešenie. Využitie arudina umožňuje snímanie rôznych parametrov počasia a prenos dát do cloudu pomocou siete IoT. Firebase databáza poskytuje vhodné riešenie pre ukladanie a spracovanie dát, zatiaľ čo Vercel hosting umožňuje rýchle a spoľahlivé nasadenie webovej aplikácie aj za využitia Next.js ako frameworku, ktorý v spojitosti Vercelom, veľmi uľahčuje vývoj a jednoduché implementovanie funkcionalít. Celkovo sme dokázali, že využitie moderných technológií a frameworkov umožňuje vytvorenie efektívneho a spoľahlivého riešenia pre zber a spracovanie dát o počasí.

Poďakovanie

Touto cestou by som chcel vyjadriť veľké poďakovanie môjmu školiteľovi doc. Ing, Štefanovi Koprdovi, PhD., za odbornú pomoc a podporu pri mojej práci a taktiež za poskytnutie senzorov.

Použitá literatúra

[1] Infogram: University of Massachusetts Amhers [online]. Infogram: 2017 [cit. 10.3.2023]. Dostupné z: https://ag.umass.edu/landscape/fact-sheets/what-is-weather-station-can-it-benefit-ornamental-growers
[2] Infogram: aem.eco [online]. Infogram: 2022 [cit. 20.3.2023]. Dostupné z: https://blog.aem.eco/weather-station-sensors
[3] Infogram: Weather station advisor [online]. Infogram: 2022 [cit. 20.3.2023]. Dostupné z: https://www.weatherstationadvisor.com/what-is-a-weather-station/
[4] Kalkar, A., Mattiyil, A., Modi, K., Moharir, S., & Chaudhari, A. 2018. Energy-Efficient Solar-Powered Weather Station and Soil Analyzer, 9 s. ISBN 978-981-10-8339-6_34
[5] Infogram: Researchgate [online]. Infogram: 2020 [cit. 20.3.2023]. Dostupné z: https://www.researchgate.net/profile/Andrea-Antonini/publication/342211981_A_Low_cost_automatic_weather_station_developed_at_school_opportunity_for_students_to_meet_the_job_world/links/5ee8e59e458515814a62e232/A-Low-cost-automatic-weather-station-developed-at-school-opportunity-for-students-to-meet-the-job-world.pdf
[6] Infogram: Arduino.cc [online]. Infogram: 2023 [cit. 10.3.2023]. Dostupné z: https://www.arduino.cc/

[7] Fred V. Brock, Scott J. Richardson. 2001. Meteorological measurement Systems. Oklahoma : Sience, 289 s. ISBN 0-19-513451-6.
[8] Infogram: Laskakit [online]. Infogram: 2023 [cit. 13.3.2023]. Dostupné z: https://www.laskakit.cz/
[9] Infogram: All data sheet [online]. Infogram: 2020 [cit. 13.3.2023]. Dostupné z: https://pdf1.alldatasheet.com/datasheet-pdf/view/1132060/BOSCH/BME280.html
[10] Infogram: Firebase [online]. Infogram: 2023 [cit. 14.3.2023]. Dostupné z: https://firebase.google.com/
[11] Infogram: Vercel [online]. Infogram: 2023 [cit. 14.3.2023]. Dostupné z: https://vercel.com/docs
Infogram: Next.js [online]. Infogram: 2023 [cit. 14.3.2023]. Dostupné z: https://nextjs.org/learn/foundations/about-nextjs/what-is-nextjs

Pripojenie hlasového asistenta od spoločností Google a Apple k mikrokontroléru Arduino

Connecting voice assistant from Google and Apple to Arduino microcontroller

Danis Gareev[1] – Danis Shangareev[2]
Školiteľ: Vladimír Siládi[3]
[1,2,3]Katedra informatiky, FPV UMB, Tajovského 40, 974 01 Banská Bystrica,
[1] danis.gareev@student.umb.sk, [2] danis.shangareev@student.umb.sk, [3] vladimir.siladi@umb.sk

Abstrakt

V tomto článku predstavujeme projekt, v ktorom hlasová asistentka Siri od Apple a hlasový asistent od spoločnosti Google pracujú v spoločnom systéme s mikrokontrolérom Arduino na budovaní inteligentnej domácnosti. Projekt je modelom domu vybaveného niekoľkými modulmi, ktoré je možné ovládať hlasom.
Na realizáciu tohto projektu boli použité nasledujúce technológie a nástroje:

Služba IFTTT sa použila na vytvorenie množstva akcií medzi hlasovým asistentom a službou Adafruit io pomocou integračnej služby Webhooks integrations.

Adafruit io bol použitý na vytvorenie monitorovania stavu modulov.

Služba Webhooks integrations v tomto projekte bola použitá na odosielanie údajov na server Adafruit io. Potom pomocou nami napísaného programu v Python boli tieto údaje odoslané do mikrokontroléra Arduino Uno pomocou knižnice PySerial.

Na ovládanie modulov a komunikáciu s Raspberry Pi 400 bol použitý mikrokontrolér Arduino Uno. Implementovali sme teda systém, ktorý umožňuje ovládať rôzne Arduino moduly pomocou hlasovej asistentky Siri a hlasového asistenta Google.

Kľúčové slová: Internet vecí. Hlasový asistent. Siri. Google. Inteligentný dom. Arduino.

Abstract

In this paper, we present a project in which Apple's Siri voice assistant and Google's voice assistant work in a joint system with an Arduino microcontroller to build a smart home. The project is a model of a house equipped with several modules that can be controlled by voice.

The following technologies and tools have been used to implement this project:

IFTTT service was used to create a number of actions between the voice assistant and Adafruit io using Webhooks integrations service.

Adafruit io was used to create status monitoring modules.

The Webhooks integrations service in this project was used to send data to the Adafruit io server. Then using a Python program written by us, this data was sent to the Arduino Uno microcontroller using the PySerial library.

The Arduino Uno microcontroller was used to control the modules and communicate with the Raspberry Pi 400. Thus, we have implemented a system that allows controlling different Arduino modules using Siri voice assistant and Google voice assistant.

Key Words: Internet of Things. Voice assistant. Siri. Google. Smart house. Arduino.

Úvod

V našej dobe sa internet a informačné technológie vyvíjajú rýchlym tempom a spadajú takmer do všetkých sfér nášho života. Väčšina týchto technológií sa používa na uľahčenie ľudského života, ako napríklad internet vecí.

Koncept internetu vecí je prenos dát medzi fyzickými objektmi vybavenými vysielačmi. Takáto koncepcia tiež často znamená vylúčenie potreby ľudskej účasti.

Pri zmienke o internete vecí väčšine ľudí hneď napadne systém inteligentnej domácnosti. Toto slovo označuje súbor vecí spojených do jedného systému za účelom automatizácie. Tento systém môže zahŕňať rôzne veci, ako sú napríklad smartfóny, inteligentné varné kanvice, žiarovky, pohybové senzory alebo videokamery.

Cieľom našej práce je preskúmať a analyzovať koncept inteligentnej domácnosti a vytvoriť vlastný funkčný prototyp pomocou mikrokontroléra Arduino a

hlasových asistentov od spoločností Google a Apple (Siri).

V prvej kapitole sa pozrieme na samotný koncept internetu vecí a uvedieme niekoľko príkladov, ako a kde ho možno využiť.

V druhej časti sa pokúsime vytvoriť vlastný model inteligentnej domácnosti v praxi.

1 Internet vecí

Internet vecí je spôsob prepojenia elektronických zariadení vybavených čipmi na prístup na internet a senzormi na zber informácií do jednej siete, v ktorej si tieto zariadenia môžu vymieňať informácie. Na základe informácií zo siete alebo z vlastných senzorov tieto zariadenia môžu meniť svoje správanie tak či onak bez zásahu človeka.

Slovo "zariadenia" by sa nemalo vzťahovať len na smartfóny alebo počítače. Súčasťou systému internetu vecí môže byť akékoľvek počítačové zariadenie, ktorému možno prideliť adresu IP a ktoré môže prenášať údaje cez sieť. Takýmto zariadením môže byť žiarovka, videokamera, rýchlovarná kanvica, kávovar alebo chladnička.

Slovo sieť sa najčastejšie vzťahuje na bezdrôtovú sieť, napríklad Wi-Fi alebo Bluetooth, ale na prepojenie zariadení sa môže použiť aj káblové pripojenie, napríklad ethernetový kábel. O spôsobe pripojenia sa rozhoduje v každom prípade individuálne pre každé riešenie a do veľkej miery závisí od vonkajších faktorov.

Vo väčšine prípadov sú zariadenia v inteligentnej domácnosti pripojené prostredníctvom siete Wi-Fi, ale v roku 2016 konzorcium 3GPP v rámci prác na sieťach novej generácie predstavilo nový bunkový štandard pre telemetrické zariadenia NB-IoT (NarrowBand - Internet of Things). Tento štandard je pokračovaním technológie LTE, ale s vlastnými funkciami. Je určený na prenos signálu nízkou rýchlosťou do ťažko dostupných alebo vzdialených miest a sieť podporujúca tento štandard môže obsahovať stovky zariadení. Výhodou tohto štandardu je aj nízka spotreba energie zariadenia, ktorá znásobuje jeho životnosť. Tento štandard sa používa napríklad pri navrhovaní inteligentných bytových komplexov, ktoré umožňujú obyvateľom na diaľku otvoriť závoru pomocou mobilnej aplikácie alebo otvoriť dvere ku vchodu pre kuriéra [1].

Zariadenia v takomto systéme môžu mať vlastný procesor, ktorý vykonáva výpočty s prijatými údajmi, ale nemusia. V takom prípade musí systém obsahovať server alebo cloud, na ktorý budú zariadenia posielať údaje, a server potom vykoná výpočet a pošle údaje tomu istému alebo inému zariadeniu v sieti.

1.1 Oblasti použitia internetu vecí

Internet vecí sa najčastejšie používa na vytváranie riešení na automatizáciu každodenných vecí, ale môže sa použiť aj na vytváranie oveľa globálnejších systémov, ako sú inteligentné mestá. Takéto mestá sú tiež vybavené rôznymi zariadeniami, ktoré v reálnom čase zbierajú informácie a posielajú ich na server, kde sa spracúvajú. Tieto informácie sa potom môžu použiť na zlepšenie mestských služieb, infraštruktúry a zníženie nákladov a spotreby zdrojov.

Nositeľné zariadenia, ako sú napríklad fitness trackery, inteligentné hodinky, inteligentné okuliare a smartfóny, sa tiež považujú za internet veci. Takéto zariadenia môžu byť užitočné v každodennom živote, napr. fitnes tracker vám môže povedať, koľko kalórií ste dnes minuli, ale môžu byť užitočné aj v podnikoch. Ak by mal každý zamestnanec fitnes tracker, informácie z neho by mohli pomôcť optimalizovať pracovné procesy a zostaviť lepší pracovný plán. Taktiež pri vybočení z pracovných zón môže tento náramok zamestnanca upozorniť. A ak sa na pracovisku vyskytne núdzová situácia, náramok môže byť vybavený tlačidlom SOS.

Bezpilotné automobily majú tiež obrovské množstvo senzorov, ktoré umožňujú systému monitorovať cestu, po ktorej sa vozidlo pohybuje, ako aj vnútorný stav vozidla. Údaje zo snímačov sa posielajú do procesora vozidla, po čom môže procesor prijímať rozhodnutia a meniť správanie vozidla bez zásahu človeka, takže bezpilotné vozidlá možno tiež zaradiť do kategórie internetu vecí.

Aj obchody môžu využiť potenciál internetu vecí. Takéto obchody vo väčšine prípadov neobsahujú predavačov a sú vybavené inteligentnými regálmi, ktoré informujú majiteľa o množstve zvyšného tovaru. Príkladom môže byť sieť obchodov Amazon, kde sa platí bezhotovostne, peniaze sa strhávajú z peňaženiek zákazníkov Amazonu a tovar sa automaticky pridá na účtenku, keď ho vyberiete z regálu.

Pravdepodobne hlavnou oblasťou použitia internetu vecí sú inteligentné domy. Takéto systémy sa používajú na automatizáciu každodenných činností a vo väčšine prípadov sa ovládajú na diaľku. Môžu to byť napríklad žalúzie, ktoré majú svetelný senzor a podľa neho upravujú svoju polohu, dvere, ktoré sa automaticky otvárajú a zatvárajú, inteligentné systémy osvetlenia, hudobné centrá a mnohé ďalšie zariadenia [3], [4].

2 Osobný projekt

Cieľom našej práce je vytvoriť prototyp inteligentnej domácnosti pomocou mikrokontroléra Arduino a

hlasového asistenta. Ako nástroje na realizáciu projektu boli zvolené AdafruitIO, IFTTT a programovací jazyk Python.

Od začiatku bola myšlienka komunikovať priamo medzi mikrokontrolérom Arduino a hlasovým asistentom a kúpili sme špeciálny Wi-Fi modul ESP-01, ktorý umožnil Arduinu pripojiť sa k sieti, avšak počas práce sme sa stretli s ťažkosťami pri pripájaní Arduina k sieti, možno bol modul chybný, preto sme sa rozhodli použiť viac nástrojov a vrstiev, čo nám však uľahčilo prácu.

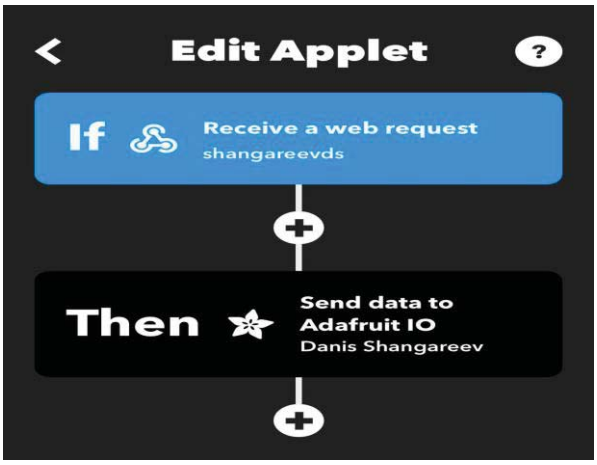
2.1 AdafruitIO

Adafruit IO je platforma internet vecí (IoT), ktorá nám umožňuje vytvárať aplikácie na zhromažďovanie, ukladanie a analýzu údajov z rôznych zariadení. S Adafruit IO môžeme vytvárať virtuálne zariadenia, merať dáta, odosielať dáta na server a mnoho iného. V našom prípade sme dáta posielali na server a následne sme ich prijímali do nášho programu pomocou API.

Adafruit IO API je aplikačné programovacie rozhranie (API), ktoré umožňuje vývojárom komunikovať s platformou Adafruit IO. Umožňuje nám vytvárať, upravovať a mazať údaje na serveri, ako aj prijímať údaje zo servera. API sa používa na prácu s rôznymi programovacími jazykmi a umožňuje nám vytvárať aplikácie, ktoré pracujú s Adafruit IO, v tomto projekte sme použili jazyk Python.

Keďže projekt obsahuje niekoľko modulov, ktoré sú zodpovedné za rôzne akcie v dome, rozhodli sme vytvoriť vlastný „Feed“ pre každý modul. Feeds je koncept používaný v Adafruit IO na opis toku údajov, ktoré sa prenášajú zo zariadení na server. Každý dátový tok je reprezentovaný ako informačný kanál a každý informačný kanál má jedinečný názov. Dáta, ktoré sa prenášajú cez feed, môžu byť čísla, reťazce alebo boolovské hodnoty a dajú sa čítať a upravovať cez API, v našom prípade posielame celé číslo typu Integer.

Aby bolo možné vizuálne sledovať zmenu údajov vo Feedoch a tiež meniť údaje, vytvorili sme widgety, konkrétne tlačidlá v sekcii Dashboards, ktoré boli naviazané na príslušné Feedy. Tlačidlo je synchronizované s hodnotami údajov v informačných kanáloch, takže po stlačení tlačidla sa hodnota tlačidla odošle na server, pri zmene na hodnotu „Turn On“ sa odošle do serveru celé číslo „1“, keď je hodnota „Turn Off“, číslo „0“. Tento systém funguje aj opačne, to znamená, že ak posielame dáta na server pomocou API, tlačidlo nadobudne hodnotu podľa odoslaných dát. Takže môžeme povedať dashboard je vizuálne rozhranie, ktoré nám umožňuje vytvárať vlastné widgety na zobrazenie a správu údajov, ktoré sa prenášajú cez Adafruit IO. Dashboard nám umožňuje vytvárať miniaplikácie, ktoré zobrazujú údaje v reálnom čase, ako aj prispôsobiť rozhranie na interakciu s údajmi.



Obrázok 1 Príklad hotového appletu

Zdroj: Autor

Adafruit IO Server pozostáva z niekoľkých komponentov, ktoré spolupracujú na poskytovaní funkčnosti platformy internet vecí. Srdcom servera Adafruit IO je databáza, ktorá sa používa na ukladanie všetkých údajov prenášaných zo zariadení na server. Údaje sú uložené vo formáte informačného kanála a každý informačný kanál má jedinečné ID a súbor atribútov, ktoré ho popisujú. Súčasťou servera je aj autentifikačný a autorizačný systém, ktorý umožňuje používateľom registrovať sa a prihlasovať sa a kontrolovať prístup k svojim vlastným údajom a údajom iných používateľov. Všetky komponenty servera Adafruit IO spolupracujú a poskytujú robustnú a škálovateľnú platformu pre aplikácie internetu vecí.

Aby sme mohli pracovať s Adafruit IO API, musíme sa najprv zaregistrovať na platforme Adafruit IO a vytvoriť si účet. Potom môžeme získať prístup k nášmu tokenu API, ktorý sa používa na autentifikáciu voči serveru API. Adafruit IO API používa protokol HTTP a pracuje s rôznymi typmi požiadaviek vrátane GET, POST, PUT a DELETE. Žiadosti je možné odosielať prostredníctvom rôznych knižníc a vývojových nástrojov vrátane Python, JavaScript, Arduino a mnohých ďalších.

Tu je niekoľko príkladov žiadostí, ktoré je možné odoslať cez Adafruit IO API:

- Odosielanie nových údajov do informačného kanála (Feeds):

POST
https://io.adafruit.com/api/v2/{username}/feeds/myfeed/data?X-AIO-Key={token} {"value": "123"}

- Získanie zoznamu všetkých informačných kanálov (Feeds) používateľa:

GET
https://io.adafruit.com/api/v2/{username}/feeds?X-AIO-Key={token}

Okrem toho Adafruit IO API podporuje mnoho ďalších metód a funkcií, ktoré možno použiť na prácu s údajmi na serveri. Dokumentácia Adafruit IO API poskytuje podrobné pokyny a príklady pre prácu s rôznymi funkciami a metódami API.[7]

2.2 IFTTT

Keďže cieľom nášho projektu je implementácia systému, ktorý nám umožní ovládať moduly pomocou nášho hlasu, rozhodli sme projekt realizovať pomocou online služby IFTTT, ktorá má možnosť posielať dáta do Adafruit io serveru.

IFTTT, čo je skratka pre If This Then That (ak toto, tak toto). Používa sa na automatizáciu akcií interakcie s rôznymi aplikáciami alebo systémami inteligentnej domácnosti a poskytuje pohodlné a prehľadné rozhranie a umožňuje vytvárať podmienky, napríklad "Ak sa stane A, urob B", kde A a B sú Spúšťač a Akcia. Pomocou tejto služby môžete napríklad vytvoriť podmienku "Zapni svetlo v dome po západe slnka" alebo "Pridaj riadok do tabuľky Excel, keď príde POST-požiadavka". Tieto podmienky možno vytvoriť pomocou appletov. V našom projekte sme vytvorili webové háčiky, ktoré sa spustia pri interakcii s hlasovým asistentom, a potom sa požiadavka odošle cloudovej službe AdafruitIO, ktorá prečíta údaje a zmení stav spínačov.

Počet možných variantov riešení využívajúcich túto službu je obmedzený len predstavivosťou a službami, ktoré podporuje.

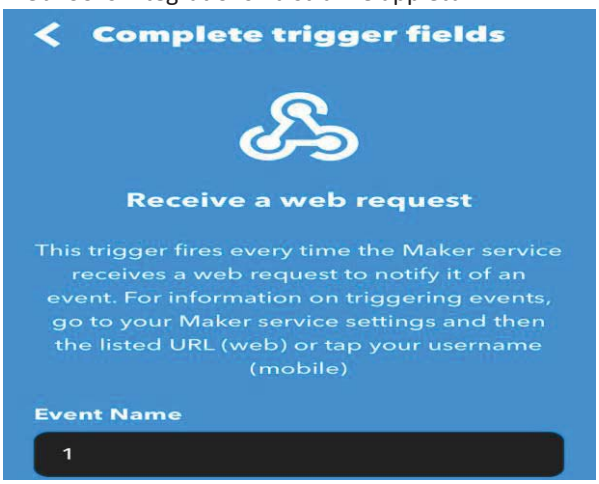
Na tomto obrázku môžeme vidieť applet, ktorý sme vytvorili na rozsvietenie žiarovky našim hlasom v dome.

Wehooks Integration je služba, ktorá nám umožňuje dostávať upozornenia o určitých udalostiach, ktoré sa vyskytujú v rôznych webových službách. Integrácia Webhooks nám umožňuje nastaviť odosielanie údajov do nášho systému v reálnom čase, keď na webovej službe dôjde k určitej udalosti. Takto vyzerá konfigurácia appletu, v poli “Event name” môžeme vidieť číslo 1, čo znamená, že pri volaní webhooku s hodnotou 1 bude tento spúšťač spustený a odošle dáta na server Adafruit io.

Na volanie tohto spúšťača musíme zadať požiadavku GET nasledujúcim spôsobom:

https://maker.ifttt.com/trigger/{event}/json/with/key/{key}

kde v poli „event“ nastavíme číslo 1 a v poli „key“ nastavíme kľúč, ktorý je priradený používateľovi služby, hodnotu kľúča nájdete kliknutím na ikonu služby Webhooks Integrations na stránke appletu.



Obrázok 2 Konfigurácia appletu

Zdroj: Autor

V našom prípade je kľúčom eQvloLQ3YyargLT8qgmMycUZC30o7EakJl6G2V-jd8j, takže dotaz bude vyzerať takto:

https://maker.ifttt.com/trigger/1/json/with/key/eQvloLQ3YyargLT8qgmMycUZC30o7EakJl6G2V-jd8j.

Poslanie tejto požiadavky manuálne nám nestačí, pretože cieľom je ovládať hlasom. Na vyriešenie tohto problému sme sa rozhodli použiť vstavanú aplikáciu „príkazy“ na zariadení od spoločnosti Apple. Na to musíme otvoriť aplikáciu a vytvoriť nový príkaz, ktorý bude mať 2 akcie. Prvá akcia je „URL“, jej úlohou je odovzdať vnorenú adresu ďalšej akcii, druhá akcia je „Získať URL“.

Jej úlohou je získať túto zadanú URL a vykonať HTTP požiadavku zadanou metódou (v našom prípade metódou GET). Ďalej zadáme názov príkazu a uložíme, zadali sme názov na zapnutie svetla v dome „Turn On“.

Ďalej musíme povedať „Hey Siri (Google), Turn On“ a budeme počuť odpoveď „To je hotovo!“. Príkaz sa vykoná, požiadavka sa odošle, služba IFTTT zachytí tento webhook a odošle údaje na server Adafruit io.

V prípade hlasového asistenta Google je tento postup jednoduchší, pretože služba IFTTT podporuje službu Google Assistant a umožňuje vytvoriť akciu, ktorej spúšťačom je priamo odoslanie hlasového

príkazu službe Google Assistant. To znamená, že v tomto prípade nie je potrebné používať Webhooks.[6], [8]

2.3 Python

Ďalšou vrstvou projektu je program napísaný v programovacom jazyku Python. Pomocou neho prepojíme službu AdafruitIO a náš mikrokontrolér Arduino. K službe AdafruitIO sa pripájame pomocou API, ktoré poskytuje, a kľúča (tokenu), ktorý tiež generuje služba. Potom získame stav všetkých spínačov, a ak sa stav niektorého z nich zmenil, použijeme knižnicu Serial na odoslanie údajov do Arduina.

Kód nájdete na nižšie uvedenom odkaze s použitím hesla:

Link: https://pastebin.com/xwk9U0bf

Heslo: TwLKLvaiAr

Pomocou tohto kódu sa pripojíme k službe IFTTT pomocou používateľského mena a kľúča a potom môžeme pristupovať k rozhraniu API služby a sledovať stav jednotlivých modulov.

Na komunikáciu so zariadením Arduino sme použili knižnicu Serial, ktorá nám umožňuje odosielať údaje do Serial Monitoru.

Softvér v nekonečnej slučke zhromažďuje údaje z jednotlivých modulov a potom ich posiela do nášho mikrokontroléra.

Tento program bol spustený na mikropočítači Raspberry Pi 400, ku ktorému bol pripojený mikrokontrolér Arduino Uno.

2.4 Arduino

Použili sme model domu, ktorý pripravil náš kolega ako svoj bakalársky projekt. Pre jednoduchšie pochopenie a realizáciu našej myšlienky sme ponechali pripojené len nevyhnutné komponenty, ktorými sú LED žiarovka a dva servopohony, ktoré ovládajú otváranie a zatváranie vchodových dverí a žalúzií.

Kód nájdete na nižšie uvedenom odkaze s použitím hesla:

Link: https://pastebin.com/XNcSwpfi

Heslo: JVSiKu7yiy

Podstata programu je jednoduchá a spočíva v tom, že keď konzola arduino dostane údaje, program ich musí prečítať a v závislosti od údajov nasmerovať napätie na konkrétne piny.

Môžete si tiež všimnúť, že sme v prípadoch serva pridali premenné s názvami doorIsOpen a zalIsOpen. Tieto premenné slúžia ako príznaky a menia svoju hodnotu, keď sú servá spustené. Použili sme ich na to, aby sme zabránili viacnásobnému spusteniu toho istého príkazu.

4 Hrozby

Systém inteligentnej domácnosti nepochybne uľahčuje ľuďom život tým, že preberá niektoré úlohy, ale ako každý systém má aj tento svoje nevýhody a slabé miesta. Medzi ne patrí aj zraniteľnosť voči kybernetickým útokom. Človek, v ktorého domácnosti je automatizovaná len jedna žiarovka, sa takýchto útokov nemusí obávať, pretože útočníci o vás nebudú môcť získať žiadne osobné informácie, nanajvýš budú môcť žiarovku zapnúť a vypnúť. Pre ľudí, ktorí majú v domácnosti kompletný automatizačný systém vrátane inteligentných dverí a kamier, to však môže predstavovať obrovské nebezpečenstvo, pretože po pripojení k takémuto systému môžu útočníci získať údaje z akéhokoľvek zariadenia, ako aj ho ovládať.

Aby sa predišlo takýmto útokom, inteligentné domáce systémy by mali inštalovať odborníci podľa bezpečnostných noriem a tieto systémy by sa mali pravidelne aktualizovať, aby sa odstránilo čo najviac zraniteľností.

Nepredpokladajte však, že uvedeným postupom budete v stopercentnom bezpečí, pretože kedykoľvek môže dôjsť k poruche systému alebo k chybe pri písaní softvéru, takže systém nemusí fungovať prinajmenšom správne.

5 Výsledky a diskusia

Je však dôležité zdôrazniť, že úspešné budovanie inteligentného domu vyžaduje určitú odbornosť a zručnosti v oblasti technológií inteligentných domov. Pre niektorých technicky menej zdatných jedincov môže byť tento projekt náročný na pochopenie a implementáciu. Z tohto dôvodu by bolo užitočné, ak by sa tieto technológie stali prístupnejšími a jednoduchšie použiteľnými pre všetkých.

Výsledky projektu tiež naznačujú potrebu širšej diskusie o tom, ako môžeme tieto technológie použiť na zlepšenie života ľudí a zároveň zabezpečiť, aby boli tieto technológie bezpečné a ochránili súkromie používateľov. Bezpečnosť a ochrana súkromia sú kľúčovými aspektmi v inteligentných domovoch, preto by sa mali brať veľmi vážne a musia byť integrované do návrhu a implementácie týchto technológií.

Celkovo je projekt, ktorý integruje hlasového asistenta s mikrokontrolérom Arduino na budovanie inteligentného domu, veľmi zaujímavým príkladom toho, ako môžeme využiť technológie inteligentných domov na zlepšenie kvality života ľudí. Zároveň však

ukazuje, že aby sme dosiahli úspech v budovaní inteligentných domov, potrebujeme viac odborných znalostí a zručností v tejto oblasti a musíme brať do úvahy otázky bezpečnosti a ochrany súkromia.

Záver

V našom článku sme sa venovali možnostiam konceptu internetu vecí, ako aj príkladom jeho využitia. Záverom tejto analýzy je, že potenciál internetu vecí je obrovský a že ho možno využiť takmer vo všetkých oblastiach života na automatizáciu bežných úloh.

Proces opätovného vytvorenia nášho projektu, ktorý sme opísali v našom príspevku, sa môže líšiť od toho nášho. To znamená, že čitateľ ho môže doplniť, zmeniť komponenty alebo znížiť či zvýšiť počet použitých vrstiev v závislosti od svojich požiadaviek. Samotný projekt je prototypom inteligentného domu, v ktorom sme študovali možnosti týchto systémov, ako aj spôsob ich vytvorenia. Skúmali sme aj možnosti vytvorenia tohto systému s rôznymi hlasovými asistentmi, ako sú Google a Siri.

Poďakovanie

Radi by sme poďakovali pánovi Vladimírovi Siládimu a pánovi Miroslavovi Melicherčíkovi za pomoc a rady pri písaní tohto článku.

Použitá literatúra

[1] TELEOFIS. Vývojár a výrobca telekomunikačných zariadení [online]. TELEOFIS: 2020 [cit. 10.03.2023]. Dostupné z: https://teleofis.ru/blog/tekhnologii/tekhnologiya-nb-iot-internet-veshchey-v-umnom-gorode/

[2] IBM. The little=known history of the first IoT device [online]. IBM: 2018 [cit. 10.03.2023]. Dostupné z: https://www.ibm.com/blog/little-known-story-first-iot-device/

[3] KASPERSKY. What is IoT [online]. Kaspersky [cit. 12.03.2023]. Dostupné z: https://www.kaspersky.ru/resource-center/definitions/what-is-iot

[4] TADVISER. Smart Cities [online]. TADVISER: 2022 [cit. 12.03.2023]. Dostupné z: https://www.tadviser.ru/index.php/Статья:Умные_города_(Smart_cities)

[5] RESEARCHGATE. Koncept internetu vecí [online]. ResearchGate: 2016 [cit. 14.03.2023]. Dostupné z: https://www.researchgate.net/publication/311863315_Koncepcia_internet_vesej

[6] IFTTT. Dokumentácia [online]. IFTTT [cit. 14.03.2023]. Dostupné z: https://ifttt.com/docs

[7] ADAFRUITIO. Dokumentácia [online]. AdafruitIO [cit. 15.03.2023]. Dostupné z: https://io.adafruit.com/api/docs

[8] WEBHOOKS INTEGRATIONS. Dokumentácia [online]. Webhooks Integrations [cit. 15.03.2023]. Dostupné z: https://ifttt.com/maker_webhooks

Sekcia

Odborová didaktika I.

Svojpomocné audiovizuálne nahrávanie vlastnej výučby

Self-help audiovisual recording of the teaching process

Armand Majer[1] – Miroslav Iliaš[1,2]
Školiteľ: Miroslav Iliaš[1,2]
[1]Katedra chémie, FPV UMB, Tajovského 40, 974 01 Banská Bystrica,
[2]Prievidzská chemická spoločnosť, M. Hodžu 10/16, 971 01 Prievidza
[1]Armand.Majer@student.umb.sk, [2]Miroslav.Ilias@umb.sk

Abstrakt

Práca sa zameriava na audiovizuálne nahrávanie výučby učiteľom samotným, ktoré je uskutočnené priamo v technických podmienkach, existujúcich v bežných učebniach na Fakulte prírodných vied Univerzity Mateja Bela v Banskej Bystrici.

Po prehľade literatúry o rôznych spôsoboch nahrávania výučbového procesu je opísaná jednoduchá technika – prenos a nahrávanie videa *(angl. streaming)* na YouTube kanál z prineseného učiteľovho notebooku, pripojeného na internet a zároveň premietajúceho obsah svojej obrazovky pre študentov v učebni. Predstavené sú aj odpovede a ich rozbor z dotazníkov určených pre učiteľov a študentov, ktoré mapujú ich postoje k nahrávaniu výučby učiteľom. V práci je tiež komunikovaný stav vybavenia fakultných učební z hľadiska možnosti tu prezentovaného, jednoduchého nahrávania výučby vyučujúcim samotným. Predmetom zisťovania bolo aj to, či je v každej výučbovej miestnosti možné pripojenie na projektor a či je prítomný internetový kábel pre prinesený notebook učiteľa.

Kľúčové slová: nahrávanie výučby, streaming, postoje učiteľov, postoje študentov, vybavenie učební

Abstract

The work focuses on the audio-visual recording of teaching by the teacher himself, carried out directly in the technical conditions existing in ordinary classrooms at the Faculty of Natural Sciences, Matej Bel University in Banská Bystrica.

After an overview of the literature on various methods of recording the teaching process, a simple technique is described – streaming to a YouTube channel from the teacher's laptop, connected to the Internet, while also projecting the content of its screen for students in the classroom. Answers obtained from questionnaires for teachers and students are also presented and analysed, which map their attitudes towards streaming and recording of the lessons. This paper also communicates the state of equipment of faculty classrooms focusing on the method presented, simple recording of teaching. The possibility of the connection to a projector in each classroom and the availability of an Internet cable for the teacher's laptop is also being dealt with.

Key Words: recording of the teaching process, video streaming, teachers' attitudes, students' attitudes, classroom equipment

Úvod

S rozvojom informačných technológií, najmä s dostupnosťou výkonnejších počítačov, rozmachom ich softvérového vybavenia, ako aj informačno-technického vybavenia vzdelávacích inštitúcií, vyvstáva otázka efektívneho (audiovizuálneho) nahrávania výučby učiteľa.

Obvyklá tradičná metóda vyučovacieho procesu (kolokviálne a súhrnne označovaná ako „stará škola“) je postavená na prednese pred tabuľou, pamätníci spomínajú na premietanie ručne popísaných fólií cez stolný spätný projektor (tzv. meotar). S príchodom výpočtovej techniky a najmä dostupných dataprojektorov prišla možnosť preniesť obsah obrazovky počítača na plátno pred študentov, dokonca na veľký externý monitor či televízor. Technologicky pokročilejší postup oproti premietaniu statického výučbového obsahu a zdieľaniu prezentácie je nahrávanie celého procesu výučby – prezentovaného učiva, ako aj živého výkladu učiteľa.

K tematike audiovizuálneho nahrávania výučby existuje rozsiahle spektrum literatúry. V nasledujúcej časti je venovaná pozornosť práve inštanciám vedeckého bádania v danej problematike.

Autori Odhabi a Nicks-McCaleb [1] vo svojej práci opísali technologicky veľmi pokročilé nahrávanie výučby učiteľom i študentmi, a to pomocou špeciálnych okuliarov s kamerou a mikrofónom. Aj keď je predmetné riešenie zaujímavé a potenciálne využiteľné v uzuálnych podmienkach výučby, je rozhodne finančne náročné.

Ďalej Kpanja [2] vo svojej práci skúmal v nigérijskom prostredí, či je používanie nahrávania efektívnou metódou vzdelávania budúcich učiteľov. Boli skúmané dve skupiny študentov. Prvá mala k dispozícii video-záznamové zariadenie. Druhá skupina sa vzdelávala bez pomoci nahrávania výučby. V práci sa zistilo, že skupina, ktorá používala zariadenie zaznamenávajúce video, dosahovala výraznejší pokrok v osvojovaní si vyučovaných zručností.

Lofthouse a Birmingham vo svojej práci [3] nechali študentov učiteľstva natáčať vlastné hodiny (a zaviedli termín „videointervencia"). Výsledky z dotazníkov ukazujú, že výsledky „videointervencie" väčšina účastníkov vníma ako pozitívne a podstatné.

Gromik [4] publikoval prípadovú štúdiu na japonskej národnej univerzite. V nej účastníci – študenti – nahrávali výučbu na svoje mobilné telefóny a zo záznamov následne vytvárali krátke videá na vybrané témy. Vyhodnotilo sa, že nahrávanie mobilným telefónom je užitočným nástrojom pre vzdelávaciu činnosť.

Fukkink a kolektív [5] urobili rozbor publikovaných prác zameraných na analýzu spätnej väzby z nahrávaní vyučovaných hodín. Autori štúdie zistili existenciu celkovo pozitívneho efektu na výučbu.

Technickú stránku audiovizuálneho nahrávania vyučovacieho procesu detailne popísal vo svojej práci Dharmadhikari [6]. Autor použil počítač ako hlavný nástroj pre výučbu. K tomu pridružil softvér pre nahrávanie činnosti obrazovky *(angl. screen recording)*, ktorý nahráva učiteľovu prácu na počítači vrátane obrazovo-zvukového záznamu z webkamery a mikrofónu. Nahrané video sa po prekonvertovaní ukladá na určený server, na ktorý majú študenti prístup.

Problematike nahrávania výučby sa venoval aj autor (MI) v zborníkovej práci z roku 2018 [7]. Skúsenosti a výsledky prezentované v predmetnej publikácii sa porovnávajú s poznatkami získanými v predkladanej práci.

V nasledujúcej časti *Metódy* je opísaný spôsob nahrávania výučby autorom (MI), vytvorenie dotazníkov a preskúmanie výučbových miestností pre potreby nahrávania.

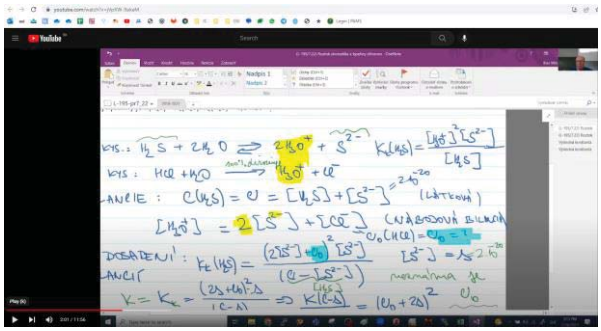
1 Metódy

Ako jednoducho a efektívne nahrávať vlastnú výučbu? Mať viaceré učebne s funkčným nahrávacím zariadením je v podmienkach bežných výučbových priestorov veľmi ťažko realizovateľné.

Všetky materiály používané v rámci edukačnej aktivity učiteľa musia byť v elektronickej podobe spustiteľné na obrazovke počítača. Ide o nutnú podmienku k nahrávaniu výučby. Počítač učiteľa sa pripojí na projektor alebo na veľký televízor v učebni. Výučbové materiály, študentom premietané z obrazovky učiteľského počítača, sú najčastejšie prezentácie. Potom sú používané rôzne statické dokumenty, obrázky, no i webové stránky a webové aplikácie. Osobitnou, pre niektoré predmety/odbory dôležitou kategóriou je výučba pomocou špecializovaných softvérov.

Klasické písanie kriedou na tabuľu bolo nahradené písaním pomocou grafického tabletu do poznámkového bloku programu Microsoft OneNote [8], ktorého obsah je z obrazovky počítača spolu s ostatnými aplikáciami premietaný študentom.

Činnosť na obrazovke je možné efektívne nahrávať, a to spolu s výkladom učiteľa, zachytávanom mikrofónom a kamerou počítača prítomného v danej učebni. Pre účely práce bol použitý voľne dostupný program Open Broadcaster Software (ďalej len OBS) [9]. Najnovšia verzia tohto softvéru umožňuje pripojiť si k aplikačnému rozhraniu súkromné YouTube (YT) konto, a tak si pomocou OBS plánovať vysielanie na vlastný YT kanál. Ďalej OBS umožňuje nastaviť si scény, v ktorých sa kombinuje záber kamery na vyučujúceho a záznam obrazovky z ďalšieho zariadenia. Autor (MI) využíva pri nahrávaní výučby scénu, v ktorej na primárnej obrazovke je zobrazená plocha hlavného monitora a v rohu je zobrazené okno kamery notebooku. Pozri Obrázok 1.



Obr. 1 Ukážka scény v OBS v nahrávanom videu výučby – v hornom rámiku je pohľad na učiteľa zaznamenávaný kamerou notebooku. Učiteľ píše do poznámkového bloku MS OneNote.
Zdroj: Autor (MI)

Učiteľ (MI) nosí so sebou aj vedľajší prenosný monitor, ktorý pripojí k svojmu notebooku, na ktorom

obsluhuje programy, nepremietané študentom – OBS, webové okno s YouTube prenosom vyučovania a podobne. Premietanie študentom je sprostredkované z hlavnej obrazovky prenosného notebooku učiteľa, v ktorom sú nainštalované potrebné softvéry.

Jednotlivé vyučované predmety si vyžadujú rozličné postupy a variabilné spektrum použitých softvérov či zohľadnených požiadaviek. Na predmete Chemická informatika využíva učiteľ (MI) širokú škálu programových prostriedkov – lokálne nainštalovaných i webových. Na predmete Anglický jazyk pre chemikov učiteľ využíva množstvo anglických textov z internetu. Okrem toho často využíva prekladaciu službu Google Translate, ktorá umožňuje demonštrovať aj správnu výslovnosť zadaných anglických textov. V rámci predmetov Chemické výpočty 2 a Seminár z fyzikálnej chémie 2 autor (MI) intenzívne používa pripojený grafický tablet, prostredníctvom ktorého píše do poznámkového bloku MS OneNote, okrem toho využíva program MS Excel pre interaktívne výpočty. Vo všetkých predmetoch okrem vyššie zmienených aplikácií autor (MI) aktívne využíva e-learningový systém LMS Moodle.

Uvedené požiadavky a simultánne používané softvéry určujú potrebu výkonného notebooku (prenosného počítača) s grafickou kartou, ako aj rýchleho internetového pripojenia, realizovaného buď bezdrôtovo, alebo v učebniach, v ktorých nie je dostupný vôbec alebo nie je stabilný WIFI signál, je potrebné ho zabezpečiť pomocou internetového LAN kábla pripojením sa do univerzitnej metropolitnej siete.

Čo sa týka kontaktu so študentmi pri nahrávanej prezenčnej výučbe, učiteľ obvykle sedí vpredu za stolom s notebookom, teda ponechávajú sa črty frontálneho vyučovania, pričom zároveň komunikuje so študentmi, obohacujúc tak vyučovací proces o vzájomnú interakciu. Študenti vidia učiteľa aj premietacie plátno alebo veľký monitor. Bežiace audiovizuálne nahrávanie z notebooku síce ústnu komunikáciu samotného učiteľa s publikom v miestnosti zachytí, no individuálne výstupy študentov z učebne nedokáže zreteľne nahrať. Väčšinou preto nie je potrebné si od nich pýtať ďalší súhlas na spracovanie osobných údajov – konkrétne hlasu a obrazu. Ako náhrada klasického písania po tabuli je písanie prostredníctvom grafického tabletu, pripojeným dlhším USB káblom, na stole, pri ktorom je vyvolanému študentovi umožnené písať do poznámkového bloku učiteľa. Tiež je možné použiť bezdrôtovú klávesnicu a myš na korekcie a dodatočné vysvetlenie problému.

1.1 Dotazníky, vybavenosť učební

V službe Google Forms boli pripravené dva dotazníky o svojpomocnom audiovizuálnom nahrávaní výučby pre akademickú obec UMB. Jeden bol určený pre zamestnancov – učiteľov – a druhý pre študentov. Odkazy na otvorené dotazníky boli sprístupnené v akademickom informačnom systéme (AIS) v mesiacoch január a február 2023. Prieskumu sa zúčastnilo 22 učiteľov a 621 študentov, ktorí zanechali cenné odpovede a využiteľné údaje pre predmetnú oblasť skúmania.

Ďalej v rámci práce je zmapovaná vybavenosť všetkých učební, ktoré sú v správe FPV UMB, pre nahrávanie vlastnej prezenčnej výučby učiteľom. Osobne sme si prešli všetky dostupné učebne fakulty, v ktorých sme sa zamerali na vybavenosť pre nahrávanie výučby pomocou prineseného počítača. V každej miestnosti sme hľadali možnosti pripojenia cez internetový LAN kábel, ako aj obrazový (displejový) konektor určený pre pripojenie na projektor alebo televízor.

Predmetné zistenia sú referované v časti *Výsledky a diskusia.*

2 Výsledky a diskusia

2.1 Dotazník pre študentov

V dotazníku pre študentov sme položili nasledovné otázky:

- „Mali ste niekedy predmet, v ktorom pedagóg použil/používa videonahrávanie/videostrímovanie svojej PREZENČNEJ výučby ?“ 60,5 % odpovedalo kladne.
- „Chceli by ste, aby Vaši pedagógovia nahrávali/strímovali svoju PREZENČNÚ výučbu a Vy z nej mali videozáznam, jednoducho dostupný na internete?“ Súhlasne odpovedalo 90,2 %.
- „Uprednostníte radšej živé vyučovanie učiteľa pred videonahrávkou?“ Najviac, teda 75,2 %, uviedlo: „Áno, uprednostním osobnú účasť na výučbe, ale aj uvítam videozáznam na spätné pozretie.“
- „Očakávate videonahrávku z DIŠTANČNEJ výučby?“ 84,2 % odpovedalo: „Áno, automaticky očakávam videozáznam z každej dištančnej hodiny, keďže je veľmi jednoduché záznam získať.“
- „Keď sa učíte na zápočty a skúšky, myslíte si, že videozáznamy z vyučovacích hodín

(prezenčných, alebo dištančných) by Vám pomohli lepšie sa pripraviť na hodnotenie vašich vedomostí ?“ Až 92,3 % študentov odpovedalo kladne.

Z voľných dotazníkových komentárov študentov k audiovizuálnemu nahrávaniu výučby vyberáme:

- *Video nahrávky zo seminárov a z prednášok mi veľmi pomohli pri mojom vzdelávaní. Aj keď som chodila prezenčne na vyučovanie vždy, som si potom pustila aj nahraté záznamy, čo mi veľmi pomohlo, lebo keď som nepochopila učivo, vedela som si to spätne pozrieť pomalšie občas aj zastaviť, a tak som to pochopila. Môžem povedať, že keby nemám prístup k nahrávke, tak by som mala horší výsledok, aký som mala.*

- *Myslím si, že je to výborný nástroj prípravy ku skúškam a opakovania, ale nenahrádza to klasickú prezenčnú výučbu a podľa môjho názoru ani nikdy nahrádzať nebude. Bolo by však skvelé mať záznamy aj z dôvodu, že by som sa nemohla jeden týždeň hodiny zúčastniť.*

- *Myslím, že je to skvelá pomôcka pri učení. Aj počas korony, keď sme sa učili na skúšku a niečo nám nebolo jasné, mohli sme si prejsť záznam z prednášky/cvičenia pre lepšie pochopenie učiva.*

- *Uvedomujem si, že mnohí by záznamy považovali za náhradu výučby a tým pádom sa častokrát nezúčastňovali, ale v prípadoch, kedy preberáme zložitejšiu látku a tlačí nás čas, by nám naozaj pomohlo môcť sa vrátiť k videozáznamom a látku lepšie pochopiť sami svojím tempom.*

- *Dobrý deň, veľakrát som sa stretol/stretla s prípadom, keď som si nestihol/nestihla niečo na hodine zaznačiť. Taktiež, ak by som musel/musela vynechať hodinu, radšej by som sa spoľahol/spoľahla na svoje poznámky ako na poznámky mojich spolužiakov. Ale tiež chápem, ak by to bolo niektorým učiteľom nepríjemné byť na videu. Ďakujem.*

- *Na jednej strane by som to veľmi uvítala. Určite by mi to osobne pomohlo pri učení sa na skúšky, pretože niekedy sa učivo rýchlo preberá a na jedno počutie nemusí byť zrozumiteľné. Avšak keď budem mať z prednášky videozáznam, môžem si ju vypočuť viackrát, čo mi pomôže aj pri zapamätaní viacerých informácií. Na strane druhej to študenti určite budú zneužívať a spoliehať sa na to, že im na prednášky netreba teda chodiť, keď sa im to poskytne ako na zlatom tanieri.*

- *Ja som za videonahrávanie výučby, pretože niekedy na hodine nestíham poriadne písať a zároveň si uvedomovať, a zapamätávať, čo vyučujúci vysvetľuje na hodine. Je pre mňa preto lepšie, keď si to potom ešte spätne prehrám aj viackrát doma, keď sa doma dané učivo učím.*

- *Pri učení na skúšky, testy mi vždy pomohlo si učivo lepšie pripomenúť z videozáznamu, pretože na hodine si niekedy nestihnem napísať všetko alebo mi príde niečo menej podstatné a nezapíšem si to. Takto mám možnosť sa k tomu opätovne vrátiť, čo mi dáva predpoklad na lepšiu prípravu.*

- *Videonahrávky mi veľmi pomohli počas štúdia a prípravy na skúšky. Keď niečo študent neporozumie, vie sa k tomu jednoducho vrátiť a učiť sa vo svojom tempe. Ak by sa hodiny nahrávali a videa následne zverejňovali LEN študentom, určite by to malo pozitívny dopad na štúdium.*

- *Ako externý študent, ktorý býva od BB 150 km, musím povedať, že nahrané prednášky, najmä z výučby denných študentov, mi veľmi pomohli počas štúdia.*

- *Naša fakulta záznamy zakazovala počas dištančnej výučby. Videl som, ako funguje prehrávanie takýchto nahrávok a ako tie nahrávky pomáhajú študentom pri samoštúdiu, takže som jednoznačne za*

videonahrávky z hodín a následne ich použitie a opätovné prehratie.

- *Mne sa nahrávanie hodín počas dištančného vyučovania veľmi pozdávalo. Študujem matematiku a niektoré dôkazy nepochopím hneď po prvom vysvetlení. Vďaka záznamu sa k nim môžem vrátiť aj so slovným komentárom.*

- *Bola som rada, keď nám vyučujúci sprístupnili nahrávku prednášky/seminára. Vedela som sa vrátiť a poznačiť si veci, ktoré som si počas hodiny nestihla. Poprípade keď som niečomu neporozumela na prvýkrát, tak som si nahrávku vedela prehrať niekoľkokrát, kým som danej veci pochopila. Veľa mi to pomohlo aj pri príprave na skúšky a priebežné hodnotenia.*

- *Videonahrávanie výučby môže žiakom uľahčiť prípravu na zápočty aj preto, pretože sa môžu spätne vrátiť k preberanej téme lepšie ako z prezentácii (ktoré sú bez sprievodného komentára alebo vysvetlenia prakticky takmer na nič, keďže chýba kontext).*

- *Videonahrávky uvítam najmä v prípade predmetov, v rámci ktorých pracujeme v nejakých počítačových programoch (QGIS, PowerBI, MS Excel...) a nie je možné výklad aj sledovať, zapisovať a aj pracovať v programe, ak do toho zarátame aj nejaké technické problémy, učiteľ na hodine častokrát iba naháňa čas a mnoho vecí prejdeme prirýchlo, čo znamená, že ak nemáme vlastné poznámky, prípadne fotografie z programu, je zložité učiť sa potom na výstup.*

- *Podľa môjho názoru nahrávanie výučby je veľmi dobrá vec. Hlavne pre externých študentov, ktorí nemajú vždy možnosť sa zúčastniť prezenčnej výučby, nakoľko pochádzajú aj z iných miest.*

Mgr. Andrej Kalčok na priamu otázku o zhodnotení audiovizuálneho nahrávania výučby autora (MI) počas jeho štúdia reagoval [10]: *„Výhodou používania videonahrávania lekcií priamo na hodine je možnosť, že po prvom počutí je možné sa k prednášaným témam vrátiť kedykoľvek počas ďalšieho štúdia. V čase zápočtového a skúškového obdobia je možnosť pustiť si video niekoľkokrát, poprípade si viackrát pustiť daný problémový úsek či zastaviť video v nejakom zložitejšom kroku, medzi študentmi určite vítaná. Nie je možné však zabúdať ani na primárnu interakciu žiak-učiteľ v rámci hodiny, a teda možnosť klásť otázky či vstúpiť do hodiny a prejsť problém iným spôsobom. Tieto vstupy sa tiež zaznamenávajú a môžu pomôcť k dodatočnému porozumeniu problému.“*

Ako údaje a výstupy zo študentského dotazníka korešpondujú s výsledkami z predchádzajúcej práce [7]? Podľa Tabuľky 2 článku [7] len 16 % študentov malo vtedy predmet, v ktorom pedagóg nahrával svoju výučbu, v tejto práci uviedlo odpoveď „Áno“ 60,5 %. Ďalej, kým v roku 2018 uviedlo 79 % študentov, že by privítali mať záznamy z výučby, dnes je to až 90,2 %. Na otázku, či by videozáznamy pomohli k príprave na skúšky, v roku 2018 odpovedalo súhlasne 85 %, dnes je to až 92,3 %. Celkovo konštatujeme nárast záujmu študentov o videozáznamy z výučby. Je možné poznamenať, že po období epidemiologických obmedzení, spojených s dištančnou výučbou počas COVID-u-19, študenti mali oveľa častejšie k dispozícii audiovizuálny materiál z výučby, a teda nadobudli s nimi pozitívne skúsenosti.

2.2 Dotazník pre učiteľov

V dotazníku pre učiteľov sme obdržali nasledovné odpovede na kladené otázky.

- „Robili ste niekedy videonahrávanie (videostrímovanie) Vašej vlastnej DIŠTANČNEJ výučby (napríklad v období kovidových obmedzení)?“ 36,4 % uviedlo: „Áno, svoju dištančnú výučbu som vždy nahrával.“ 36,4 % odpovedalo: „Svoju dištančnú výučbu som nahrával iba občas, keď som to uznal za vhodné“ a 27,3 % vybralo odpoveď: „Nie, nikdy som svoju dištančnú výučbu nenahrával.“

- „Keď Vás študenti požiadali o videonahrávanie (videostrímovanie) Vašej DIŠTANČNEJ výučby (napríklad v období kovidových obmedzení), aký bol Váš postoj ?“ 59,1 % uviedlo: „Študentom som vyhovel a dištančnú výučbu pre nich nahrával.“

- „Keď vidíte videonahrávky PREZENČNÝCH vysokoškolských prednášok a iných foriem PREZENČNEJ výučby na internete, aký je Váš postoj k tejto technológii?“ 45,5 % vybralo: „Podporujem technológiu videonahrávania prezenčnej výučby a chcel by som ju nejako využiť vo svojej pedagogickej činnosti“ a 31,8 % odpovedalo negatívne, t. j.: „Som proti používaniu videostrímovania/ videonahrávania v prezenčnej výučbe z rôznych dôvodov.“

- „Robili ste niekedy videonahrávanie (videostrímovanie) Vašej vlastnej PREZENČNEJ výučby ?“ Len 18,2 % odpovedalo kladne.

- „Aký je Váš postoj k videonahrávaniu (videostrímovaniu) DIŠTANČNEJ verzus PREZENČNEJ výučby.“ 45,5 % uviedlo, že: „Rovnako súhlasím s nahrávaním svojej prezenčnej, ako aj dištančnej výučby.“ 31,8 % sa vyjadrilo, že: „Nesúhlasím s nahrávaním mojej dištančnej a ani prezenčnej výučby“ a zvyšok, 22,7 %, uviedlo: „Svoju vlastnú dištančnú výučbu nemám problém nahrávať, no s nahrávaním vlastnej prezenčnej výučby nesúhlasím.“

- „Pri absencii konkrétneho video-nahrávacieho vybavenia v učebni je najjednoduchší spôsob videostrímovania PREZENČNEJ výučby z prineseného učiteľovho notebooku. Prinesený počítač musí byť pripojený rýchlou linkou na internet, na strímovaciu službu (napr. YouTube) a k dataprojektoru pre premietanie študentom. Všetky materiály pre výučbu (prezentácie, texty, okno na ručné písanie cez tablet a iné aplikácie) sú sústredené na obrazovke učiteľovho počítača. Autor dotazníka (MI) má pozitívnu skúsenosť s touto technológiou. Aký je Váš názor?“ 50 % uviedlo: „To znie zaujímavo, chcel by som to niekedy vyskúšať“ a 36,4 % zvolilo odpoveď: „Ďakujem, neprosím,“ a 13,6 %: „Neviem sa vyjadriť.“

Z voľných vyjadrení učiteľov vyberáme:

- *Najlepšie riešenie by bolo do učební umiestniť všesmerové mikrofóny, ktoré by automaticky zachytávali zvuk z miestnosti bez ohľadu na to, kde sa pohybuje pedagóg a „autotrackovacie“ PTZ kamery, ktoré sa na báze rozpoznávania tváre natáčajú na vyučujúceho, prípadne PTZ kamery staticky natočené na vyučujúceho a tabuľu. Určite priniesť riešenia, ktoré by nezaťažovali vyučujúcich ďalšími povinnosťami.*

- *Považujem dištančnú výučbu len za menej kvalitnú náhradu prezenčnej výučby. Výučba nie je výklad učiteľa/zapisovanie poznámok študenta. Výučba je aj o diskusii.*

- *Nahrávky výučby by mali byť doplnkovým materiálom pre študentov, aby sa mohli neskôr k prednáške vrátiť. Je to dobré i pre chýbajúcich študentov, ktorí sa z objektívnych príčin nemôžu zúčastniť prezenčnej výučby. Avšak je potrebná osobná účasť na prezenčných prednáškach, lebo osobný kontakt s vysokoškolským učiteľom, možnosť sa opýtať, hneď reagovať, technika nenahradí.*

- *Učím pre študentov náročné predmety s veľkou fluktuáciou študentov. Je podľa mňa korektné nahrávať dištančnú výučbu a aj v zásade nevyhnutné pre možnosť študentov sa následne pripraviť. Na nahrávanie prezenčnej výučby by to chcelo rozsiahlejšie technické vybavenie a premyslenie celého konceptu. Neviem si celkom predstaviť používanie tabule, projekcie prezentácie a nejakej spätnej väzby so študentmi.*

- *Počas prezenčnej výučby (špeciálne počas seminára) je priestor aj na viac osobné vystupovanie (či vyučujúceho, alebo študentov) a občas z toho vznikne aj úsmevná situácia. Nechcem, aby sa z toho stal trapas nahratý na nejakom videu.*

- *Prezenčná výučba je iný žáner než nahrávané prednášky. Pri nahrávaní sa snažím o efektivitu, nie hodinové videá, ale kratšie a jasné celky, prehľady. Prezenčná výučba je o umení komunikácie s publikom, hľadaní spätnej väzby a vysvetľovaní. Dá sa*

to nahrávať, ale vyžaduje to veľa techniky a súhlasu od všetkých študentov.

Ako výstupy z učiteľského dotazníka korešpondujú s výsledkami z predošlej práce [7]? Podľa Tabuľky 2 z [7] vtedy 24 % učiteľov použilo audiovizuálne nahrávanie vlastnej prezenčnej výučby, dnes len 18,2 % nahrávalo prezenčnú a 36,4 % dištančnú výučbu. Technológiu prenosu videa *(angl. streaming)* vtedy chcelo implementovať 43 % učiteľov, dnes uviedlo záujem 50 % učiteľov.

Z uvedených odpovedí učiteľov môžeme konštatovať len o málo väčší záujem o nahrávanie vlastnej výučby.

2.3 Vybavenosť učební pre nahrávanie

Stav vybavenosti miestností pre nahrávanie výučby učiteľovým notebookom sme zhrnuli v Tabuľke 1:

Tab. 1 Prehľad vybavenia učební na Tajovského 40 pre audiovizuálne nahrávanie výučby
Zdroj: Autori

Č.	Katedra miestnosť	Zobrazovacie zariadenie	VGA prip.	LAN prip.
1	KG-G1	dataprojektor	×	×
2	KTT-6	dataprojektor	×	√
3	KTT-7	dataprojektor	×	√
4	KTT-21	dataprojektor	×	√
5	KI-125	dataprojektor	√	√
6	KI-134	dataprojektor	√	×
7	KI-135	dataprojektor	√	√
8	KTT-136	televízor	√	√
9	KI-137	dataprojektor	×	√
10	KI-138	dataprojektor	×	×
11	KG-139	dataprojektor	×	×
12	KI-140	dataprojektor	×	×
13	KB-146	dataprojektor	×	√
14	KB-148	dataprojektor	×	×
15	KB-149	dataprojektor	×	×
16	KB-152	dataprojektor	×	√
17	KCH-213	dataprojektor	√	√
18	KM-225	dataprojektor	√	√
19	KM-234	dataprojektor	√	×
20	KM-235	dataprojektor	√	√
21	KM-236	dataprojektor	√	√
22	KM-237	dataprojektor	×	√
23	KM-241	dataprojektor	×	√
24	IT-248	dataprojektor	×	×
25	KTT-252	dataprojektor	×	×
26	KF-255	dataprojektor	×	×
27	KF-257	dataprojektor	×	√
28	KG-307	dataprojektor	√	√
29	Vš.313	dataprojektor	√	√
30	KCH-346	dataprojektor	×	×
31	Vš.353	televízor	√	√
32	KG-357	dataprojektor	√	√
33	KF-438	dataprojektor	×	×
34	DEK-zasad.	televízor	×	×

Ako je možné zistiť z Tabuľky 1, na fakulte existujú učebne (21 z 34 miestností v čase uzávierky článku), ktoré nemajú dostupný displejový kábel (VGA alebo HDMI) na pripojenie notebooku učiteľa. Je možné konštatovať, že ide o najvýznamnejšiu prekážku svojpomocného nahrávania výučby notebookom, keďže učiteľ potrebuje premietať študentom obsah zo svojho prenosného počítača. Existuje i možnosť neautorizovaného odpojenia videokábla z učebňového počítača, no predmetné mechanické odpájanie a opakované zasúvanie pripojenia môže viesť k jeho poškodeniu. V učebniach prítomný stolový počítač má slabší výkon, nemá nainštalovaný potrebný softvér pre multimediálnu prácu učiteľa, ku ktorej patrí nahrávanie činnosti obrazovky, nemá ani externú kameru s mikrofónom. Stolový počítač v učebniach, pripojený na miestny dataprojektor alebo televízor, je určený hlavne na premietanie prezentácií, dokumentov či webových aplikácií.

Ďalší dôležitý aspekt je internetové pripojenie, aby fungovalo nahrávanie cez prenos videa, ako aj prístup do webových aplikácií. Niektoré učebne nemajú voľnú či použiteľnú LAN zásuvku pre káblový internet. Bezdrôtový (WiFi) internet je síce dostupný vo väčšine učební, no internetové pripojenie môže kvalitatívne kolísať.

Problém vybavenosti učební pre svojpomocné nahrávanie výučby sme detailne rozoberali s technikom FPV UMB Mgr. Tomášom Valentom. Podľa Mgr. Valenta prítomnosť mechanických VGA prepínačov na projektor od prineseného notebooku učiteľa je improvizované technické riešenie. Na trhu ešte existujú VGA prepínače, no postupne ich predaj zaniká pre zastaranosť VGA obrazových konektorov. V súlade s predpismi všetky pripojenia učiteľovho notebooku do infraštruktúry učební musia byť schválené technikom. V rámci doteraz realizovaných projektov, zameraných na vybavenie učební FPV UMB informačno-komunikačnou technikou, nikto neuvažoval o situácii, že si učiteľ prinesie vlastný notebook, ktorý je potrebné pripojiť na projektor a internet v učebni.

Záver

Výsledky vyplývajúce z dotazníkov ukazujú, že študenti pristupujú k nahrávaniu výučby pozitívne, nakoľko im videozáznamy rozličnými spôsobmi pomáhajú v rámci štúdia. V pedagogickej obci neprevláda veľký záujem nahrávať prezenčnú výučbu, keďže ide o prácu navyše, obmedzenú aj nedostatočnou alebo absentujúcou vybavenosťou učební.

Obvyklú námietku, že videozáznamy asi spôsobia nižšiu účasť na prezenčnej výučbe, možno vylúčiť tým, že učiteľ, rešpektujúc študijné a iné inštitucionálne predpisy, určuje (prípadne pravidelne monitoruje) nevyhnutnú podmienku účasti študentov na hodine.

Čo sa týka etických aspektov nahrávania živej výučby, autor (MI) dodržiava ochranu osobných údajov, pričom citlivo a zodpovedne pristupuje k tomu, aby sa do nahrávky nedostali nevhodné situácie, napríklad slovné pokarhanie študenta v súvislosti s nesplnením požiadaviek či nenaplnením zadanej úlohy.

Autori práce tiež konštatujú, že vybavenosť učební FPV UMB pre audiovizuálne nahrávanie výučby nie je uspokojivá. Už v predchádzajúcej práci z roku 2018 autor (MI) v závere skonštatoval: *„Autor by minimálne uvítal rozdvojky VGA prípojok pre dataprojektor, aby premietačku zakaždým nemusel vyťahovať z počítača v učebniach a po skončení hodiny zase kábel zasúvať späť. Ideálne by bolo mať aj vynovené dataprojektory, lebo mnohé sú už na konci svojej životnosti.“* [7] Len asi tretina učební FPV UMB má pripravené multiplikačné prípojky pre prenos videa na projektor alebo televízor. Napriek uvedeným skutočnostiam autori práce zostávajú nadšencami svojpomocného nahrávania výučby a aj napriek nepriazni technického vybavenia dokážu účinne improvizovať, pracovať s dostupnými možnosťami.

Poďakovanie

Poďakovanie patrí technikovi Mgr. Tomášovi Valentovi za obetavú technickú pomoc pri realizácii audiovizuálneho nahrávania výučby v učebniach v správe FPV UMB.

Použitá literatúra

[1] H. Odhabi and L. Nicks-McCaleb, “Video recording lectures: Student and professor perspectives,” *British Journal of Educational Technology*, vol. 42, no. 2, pp. 327–336, 2011, doi: 10.1111/j.1467-8535.2009.01011.x.

[2] E. Kpanja, “A study of the effects of video tape recording in microteaching training,” *British Journal of Educational Technology*, vol. 32, no. 4, pp. 483–486, Sep. 2001, doi: 10.1111/1467-8535.00215.

[3] R. Lofthouse and P. Birmingham, “The camera in the classroom: video-recording as a tool for professional development of student teachers,” *Teacher Education Advancement Network Journal*, vol. 1, no. 2, Art. no. 2, Dec. 2010, Accessed: Jan. 04, 2023. [Online]. Dostupné na: https://ojs.cumbria.ac.uk/index.php/TEAN/article/view/59

[4] N. A. Gromik, “Cell phone video recording feature as a language learning tool: A case study,” *Computers & Education*, vol. 58, no. 1, pp. 223–230, Jan. 2012, doi: 10.1016/j.compedu.2011.06.013.

[5] R. G. Fukkink, N. Trienekens, and L. J. C. Kramer, “Video Feedback in Education and Training: Putting Learning in the Picture,” *Educational Psychology Review*, vol. 23, no. 1, pp. 45–63, Mar. 2011, doi: 10.1007/s10648-010-9144-5.

[6] V. B. Dharmadhikari, “Creating Educational Lecture Videos Compatible with Streaming Server Using Low Cost Resources,” in *2011 IEEE International Conference on Technology for Education*, Jul. 2011, pp. 116–120. doi: 10.1109/T4E.2011.26.

[7] M. Iliaš, “Videostrímovanie a Moodle e-learning ako účinná podpora vyučovania nielen výpočtovo orientovaných predmetov,” in *Inovatívne trendy v odborových didaktikách v kontexte požiadaviek praxe (elektronický dokument)*, Nitra, 2018, pp. 141–157. [Online]. Dostupné na: https://www.pf.ukf.sk/images/docs/projekty/2017/pC-Cp/Inovativne_trendy_e_2018.pdf

[8] “Microsoft OneNote, aplikácia na digitálne zapisovanie poznámok | Microsoft 365.” https://www.microsoft.com/sk-sk/microsoft-365/onenote/digital-note-taking-app (prístup 04. 03. 2023).

[9] “Open Broadcaster Software | OBS.” https://obsproject.com/ (prístup 04. 03. 2023).

[10] A. Kalčok, 09. 01. 2023. [Facebook Messenger]. Dostupné na: https://www.facebook.com/andrej.kalcok.5

Návrh vzdelávacích aktivít s využitím botanického výskumu vo výučbe biológie žiakov 6. ročníka základných škôl

Design of educational activities using botanical research in teaching biology to 6th grade elementary school students

Michal Marko[1]
Školiteľ: Ľudmila Galuščáková[2]
[1,2]Katedra botaniky a genetiky, FPVaI UKF, Nábrežie mládeže 91, 949 01 Nitra
[1] michal.marko@student.ukf.sk, [2]lgaluscakova@ukf.sk

Abstrakt

Hlavným cieľom konferenčného príspevku je navrhnutie vzdelávacích aktivít využiteľných na hodinách biológie. Jednotlivé vzdelávacie aktivity sú navrhnuté pre žiakov 6. ročníka základných škôl. Pri navrhovaní týchto aktivít sme využili fotoherbár a botanické charakteristiky, ktoré sme vytvorili na základe výsledkov získaných počas botanického výskumu. Výskum bol uskutočnený počas 2 vegetačných období vo Velickej doline vo Vysokých Tatrách. Súčasťou príspevku je navrhnutie 2 didaktických hier a 2 pracovných listov. Didaktické hry sme navrhli pre možnosti skupinovej práce a pracovné listy sme vytvorili k individuálnej činnosti žiakov. Navrhnuté vzdelávacie aktivity slúžia predovšetkým k motivovaniu a k aktivizácii žiakov, avšak zároveň rozvíjajú kritické a kreatívne myslenie žiakov 6. ročníka základných škôl.

Kľúčové slová: vzdelávacie aktivity, tvorivosť, kritické myslenie, didaktické hry, pracovné listy

Abstract

The main aim of this conference contribution is to design the educational activities that would be used in biology classes. Each educational activities are designed for the 6th-grade students of elementary schools. To design these activities, we used photo herbarium and botanical characteristics, which were made based on results acquired during botanical research. The research was done during two growing seasons in Velická dolina in Vysoké Tatry. Part of this contribution is to design 2 didactic games and two worksheets. We designed didactic games for purposes of group work, and worksheets were created for the individual activity of students. Proposed activities served mostly for motivation and activation of students. However, they also develop critical and creative thinking of the students of 6th grade in elementary school.

Key Words: educational activities, creativity, critical thinking, didactic games, worksheets

Úvod

V súčasnej dobe ovplyvnenej modernými technológiami, sociálnymi sieťami a rôznymi trendmi je pre učiteľa biológie čoraz náročnejšie upútať pozornosť žiakov. Ešte ťažšie je však pretvoriť tento záujem žiakov na zmysluplnú prácu, počas ktorej si osvoja nové vedomosti, zručnosti a schopnosti. K tomu, aby sme tento požadovaný výsledok boli schopní dosiahnuť, môžeme využiť rôzne netradičné formy vyučovania. Patrí sem aj vyučovanie prostredníctvom vzdelávacích aktivít, ako sú didaktické hry a pracovné listy.

Za návrhom vzdelávacích aktivít pozorujeme nielen možnosť zatraktívnenia botaniky vo výučbe biológie, ale aj možnosť využitia jednotlivých vzdelávacích aktivít v školskej praxi. Prostredníctvom aktivít sa žiaci dozvedia základné informácie o rastlinách a taktiež zistia, ktoré rastliny sú vzácne a ohrozené. K vytvoreniu didaktických hier a pracovných listov sme využili fotoherbár a charakteristiky rastlinných druhov, ktoré sme zaznamenali počas botanického výskumu. Navrhnuté vzdelávacie aktivity sú v súlade so Štátnym vzdelávacím programom ISCED 2A.

1 Motivovanie a zaktivizovanie žiakov

Motiváciu môžeme zadefinovať ako snahu alebo ochotu žiakov rozvíjať vlastné schopnosti a zručnosti počas výchovno-vzdelávacieho procesu [1]. Ako uvádza Petlák (2019), práve úlohou učiteľa je túto snahu čo najväčšmi rozvíjať a tým zvyšovať záujem žiakov o daný predmet a učivo. Nato, aby žiaci boli dostatočne motivovaní, je potrebné vytvárať zaujímavé hodiny, na ktorých budú mať žiaci možnosť učiť sa prostredníctvom rôznych činností a súťaženia [2]. Počas takýchto činností sú žiaci zároveň aj zaktivizovaní

a ich činnosť vedie k dosiahnutiu výchovno-vzdelávacích cieľov, a tak aj k očakávanému výsledku [3]. Práve Turek (1982) popisuje aktivitu ako veľmi dôležitý faktor vo vyučovacom procese. Aktivitu v tomto ponímaní chápe, ako uvedomelý postoj žiakov, ktorý je zameraný na osvojenie si nových poznatkov a ich využitie v praxi [4]. Na základe tejto definície môžeme aktivizáciu označiť ako proces usmerňovania aktivity žiakov vo vyučovacom procese [3]. Jej výsledkom je vytvorenie priaznivejších podmienok pre výchovno-vzdelávací proces, pričom tento proces vedie k rozvoju záujmov žiakov v danom vyučovacom predmete [5]. Práve didaktické hry radíme medzi vyučovacie metódy, prostredníctvom ktorých nielen motivujeme a aktivizujeme žiakov, ale taktiež rozvíjame ich kreativitu, kritické myslenie, vedieme ich ku vzájomnej komunikácii a podnecujeme ich k aktivite [6]. Na mieru motivácie a aktivizácie vplývajú taktiež pracovné listy, ktoré využívame najmä k samostatnej práci žiakov [7].

1.1 Didaktické hry v biológii

Didaktické hry definuje Vankúš (2012) ako určité hry s pravidlami, ktorých cieľom je dosiahnutie predom vytýčených výchovno-vzdelávacích cieľov. Zároveň ich popisuje ako zmysluplnú činnosť žiakov a učiteľa, ktorá je v súlade s didaktickými cieľmi. Počas vykonávania didaktických hier sú žiaci motivovaní a zaktivizovaní na základe ich súťaživosti a snahy k víťazstvu [8]. Veľkou výhodou didaktických hier je ich využiteľnosť na každom type škôl, ich schopnosť spestrenia vyučovania a taktiež ich schopnosť zapojenia pasívnejších žiakov [6].

1.2 Pracovné listy v biológii

Podľa Suchožovej (2010) sú pracovné listy učebnou pomôckou, ktorá nachádza uplatnenie v každom ročníku [9]. V pracovných listoch sa nachádzajú rôzne typy úloh, ktoré pomáhajú žiakom pochopiť biologické predmety, javy a procesy. Pracovné listy musia podľa Žáčka a Schlarmannovej (2005) spĺňať rôzne funkcie, ktoré sú v súlade so vzdelávacími programami [10]. Pri vytváraní pracovných listov musí pedagóg dbať na dodržiavanie určitých zásad, pričom musí mať prehľad v danej učebnej téme. Vytvorený pracovný list musí byť graficky prehľadný, pričom môže obsahovať rôzne typy úloh, ako napríklad hlavolamy, osemsmerovky, pojmové mapy, grafy, fotografie a rôzne iné [7].

1.3 Význam kritického a tvorivého myslenia

Motivácia je jedným z determinantov rozvíjajúcich tvorivé alebo aj kreatívne myslenie. Práve prostredníctvom pedagógovej činnosti možno dostatočne ovplyvniť mieru motivácie u žiakov, a tým aj rozvíjať ich kreatívne myslenie. Tvorivosť je v tomto prípade veľmi dôležitá, nakoľko v jej dôsledku sú žiaci vedení k hľadaniu originálnych prístupov, k experimentovaniu, tvoreniu nových riešení, ale taktiež aj ku kritickému mysleniu [11]. Kritické myslenie môžeme definovať ako schopnosť pristupovať k novým informáciám kriticky a pozorne. Žiaci sú pri ňom vedení k posudzovaniu významu rôznych informácií pre svoje potreby. Tento súbor myšlienkových operácií začína osvojením si novej informácie a končí prijatím istého rozhodnutia. Výsledkom rozvíjania kritického myslenia je zlepšenie komunikačných schopností žiakov, podpora vzájomných vzťahov v triede, schopnosť kriticky pristupovať k jednotlivým úlohám a iné [12].

2 Výsledky a diskusia

Pred samotným návrhom vzdelávacích aktivít sme absolvovali botanický výskum vo Velickej doline vo Vysokých Tatrách. Výskum prebiehal počas dvoch vegetačných období, v mesiacoch od apríla do októbra, v roku 2021 a 2022. Z dôvodu ochrany prírody sme na základe výskumu vytvorili fotoherbár s nájdenými rastlinnými druhmi. Pred samotným výskumom sme si vytýčili 15 lokalít, na ktorých sme skúmali zastúpenie jednotlivých druhov rastlín. Tie sa vyskytovali predovšetkým v biotopoch smrekových lesov, vysokosteblových horských nív a alpínskych travinno-bylinných porastov [13]. Nájdené rastlinné druhy boli následne zaradené do príslušných čeľadí a vyhodnotené podľa botanických kľúčov.

Pomocou fotoherbára a botanických charakteristík jednotlivých rastlinných druhov sme vytvorili vzdelávacie aktivity, ktoré sú zamerané na skupinovú a samostatnú prácu žiakov. Konkrétne ide o návrh 2 didaktických hier a 2 pracovných listov, pomocou ktorých žiakov nielen motivujeme a aktivizujeme, ale taktiež nám slúžia na preverenie nových vedomostí. Navrhnuté pracovné listy boli vytvorené na základe metodiky tvorby pracovných listov a spoločne s didaktickými hrami sú v súlade so Štátnym vzdelávacím programom ISCED 2A.

Skúmané územie patrí do pásma pohoria Tatry [14], ktoré patria k veľmi bohatým oblastiam, z hľadiska biodiverzity. Na území Tatier bolo zaznamenaných až 1400 druhov rastlín, čo predstavuje až polovicu všetkých rastlinných druhov na území celého

Slovenska. Z tohto počtu je endemických druhov až 10% [15]. Na území Tatier je veľmi rozvinutá aj riečna sieť, ktorá predstavuje až 9% vodnatosti všetkých riek na Slovensku [16]. Vďaka hornatému reliéfu na území celých Tatier sú klimatické podmienky veľmi premenlivé a časté sú aj extrémne zmeny počasia [17]. Pôdne typy majú rôzne zastúpenie. Sú tu podzoly, rendziny a rankre [18]. Z hľadiska fauny môžeme pozorovať na skúmanom území výskyt mnohých ohrozených druhov. Tie sa nachádzajú nielen v lesoch, ale aj v plesách, či na vysokohorských lokalitách [19]. Flóra celého regiónu je veľmi pestrá a bohatá. V nižších lokalitách sa pôvodné biotopy nachádzajú len vzácne, pričom tu dominujú monokultúry smreka obyčajného (*Picae abies*). Vysoko položené biotopy sú charakteristické výskytom ohrozených a otužilých druhov rastlín [15].

Vo vyučovaní musí pedagóg čeliť veľkému množstvu problémov a neočakávaných situácií. Patrí sem aj neochota žiakov zapojiť sa do vyučovacieho procesu. Na prekonanie ich nezáujmu môžeme využiť rôzne vzdelávacie aktivity, medzi ktoré radíme aj didaktické hry a pracovné listy. Využívaním rozličných inovatívnych metód môžeme nielen motivovať žiakov, ale taktiež ich viesť k aktivite a činnosti. Vedomosti, ktoré si žiaci osvoja prostredníctvom ich samostatnej činnosti, sú často kvalitnejšie a dlhodobejšie ako vedomosti nadobudnuté klasickou formou vyučovania.

Pred zhotovením jednotlivých vzdelávacích aktivít sme absolvovali botanický výskum. Podľa Dostál, Červenka (1991, 1992) [20,21] sme vyhodnotili 210 rastlinných druhov patriacich do 44 čeľadí. Čeľaď astrovité (*Asteraceae*) mala najviac zástupcov so 40 druhmi. Za ňou nasledovali čeľade bôbovité (*Fabaceae*), hluchavkovité (*Lamiaceae*), iskerníkovité (*Ranunculaceae*) a čeľaď ružovité (*Rosaceae*) s 11 zástupcami. Z celkového počtu rastlín radíme až 12 druhov medzi ohrozené druhy, ktoré sú chránené zákonom. Je to zbehovec ihlanovitý (*Ajuga pyrimidalis*), medvedica lekárska (*Arctostyphylos uva-ursi*), ostrica čierna (*Carex rupestris*), vstavačovec Fuchsov (*Dactylorhiza fuchsii*), stračonôžka tatranská (*Delphinium oxysepalum*), klinček pyšný (*Dianthus superbus*), horec ľadový (*Gentiana frigida*), horec snežný (*Gentiana nivalis*), zdravienok jarný (*Odonites vernus*), všivec Oederov (*Pedicularis oederi*), bieloprst belavý (*Pseudochoris albida*), rozchodnica ružová (*Rhodiola rosea*) a vŕba Kitaibelova (*Salix kitaibeliana*).

S pomocou fotoherbáru sme vytvorili návrhy vzdelávacích aktivít. V príspevku uvádzame 2 didaktické hry, ktoré slúžia na skupinovú prácu (Obr. 1), (Obr. 2), (Tab. 1), (Tab. 2), (Tab. 3), (Tab. 4), (Tab. 5). Okrem didaktických hier uvádzame aj návrhy 2 pracovných listov, ktoré slúžia výlučne k individuálnej práci žiakov (Obr. 3), (Obr. 4). Jednotlivé vzdelávacie aktivity boli vytvorené v súlade so Štátnym vzdelávacím programom ISCED 2A a s pomocou metodiky tvorby pracovných listov pre základné školy.

Navrhnuté vzdelávacie aktivity sme odskúšali u žiakov 6. ročníka ZŠ Škultétyho v Topoľčanoch, v rámci výberovej témy „Liečivé, jedovaté a chránené rastliny“. Pred samotnými aktivitami sme absolvovali spoločnú vyučovaciu hodinu zameranú na vzdelávanie žiakov o jednotlivých rastlinných druhoch, ktoré sa nachádzajú vo vzdelávacích aktivitách. Žiaci boli počas vykonávania didaktických hier a riešenia pracovných listov aktívni, jednotlivé hry boli pre nich zaujímavé a zábavné. Prostredníctvom týchto aktivít sme u žiakov rozvíjali nielen komunikačné, ale aj sociálne kompetencie, pričom žiaci si osvojili nové učivo na vysokej úrovni. V didaktickej hre „VIEŠ KTO SOM“ boli vytvorené tri skupiny žiakov. Žiakov sme do jednotlivých skupín zaraďovali na základe náhodného výberu. V prvej skupine bolo 8 žiakov. V druhej a tretej skupine bolo po 6 žiakov. Všetky tri skupiny hrali hru naraz. Prvá skupina získala 22 bodov, druhá skupina 30 bodov a tretia skupina 32 bodov. Celková dĺžka aktivity bola približne 25 minút, počas ktorých sme viedli žiakov k spolupráci a ku budovaniu vzájomných vzťahov v triede. Didaktická hra „NÁJDI MA“ trvala približne 15 minút. Na prvom mieste sa umiestnila dvojica s 25 bodmi, na nasledujúcej priečke bola dvojica s 10 bodmi a na treťom mieste sa umiestnila dvojica s 5 bodmi. Skupina, ktorá sa umiestnila na treťom mieste mala zhodný počet bodov s ďalšími dvomi skupinami, ale v porovnaní s nimi boli účastníci tejto skupiny aktívnejší a pohotovejšie reagovali na podnety. Prostredníctvom tejto aktivity sme u žiakov rozvíjali ich spoločenské a komunikačné kompetencie, ale taktiež aj ich kritické a kreatívne myslenie. Pozitívne výsledky priniesli aj pracovné listy, v ktorých žiaci vedeli odpovedať na jednotlivé otázky a úlohy. Vypracovanie každého pracovného listu, trvalo žiakom približne 2 minúty. Vypracované listy si žiaci nechali a budú im slúžiť, ako pomôcka na opakovanie. Žiaci považovali túto formu vyučovania za zábavnú a v budúcnosti by si ju radi zopakovali.

2.1 Didaktická hra VIEŠ KTO SOM?

Forma aktivity: skupinová práca

Ciele didaktickej hry: motivovanie a zaktivizovanie pasívnejších žiakov, využitie teoretických vedomostí

v praxi, posilnenie vzájomných vzťahov v triede, rozvoj tvorivého a kritického myslenia, preverenie vedomostí

Učebné pomôcky: farebné karty, hracia plocha, figúrky, fotoherbár, stopky

Hracia plocha:

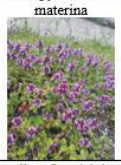
Obr. 1 Hracia plocha didaktickej hry „VIEŠ KTO SOM?“
Zdroj: Autor

Priebeh didaktickej hry: Žiakov rozdelíme na 2 skupiny, ktoré proti sebe budú súťažiť. V oboch skupinách musí byť rovnaký počet hráčov. Každá skupina bude mať jednu figúrku, s ktorou sa bude pohybovať po hracej ploche (Obr. 1). Hra začína na políčku „ŠTART“ a končí na políčku „CIEĽ“. Skupiny sa každé kolo pohybujú o jedno políčko. Po pohybe si žiaci v skupine vyberú kartu s príslušnou farbou políčka (zelené políčko – karta „Popíš“...). Každá farba predstavuje inú úlohu. Pri karte „Urči“ dostane jeden žiak v skupine informácie a fotografiu určitého rastlinného druhu (Tab. 1). Jeho úlohou bude popísať daný druh, pričom zbytok skupiny háda, o aký druh sa jedná. Pri druhej karte „Popíš“, dostane jeden žiak v skupine fotografiu s určitým rastlinným druhom a jeho úlohou bude pomocou rôznych indícií daný druh popísať (Tab. 2). Zvyšok skupiny háda, o aký rastlinný druh ide. Pri oboch kartách dostanú žiaci za správny druhový aj rodový názov 2 body. Pokiaľ uhádnu iba rodový alebo druhový názov, tak dostanú po 1 bode. Na uhádnutie majú 2 minúty. Pri karte „Bonus“ majú jednotlivé skupiny možnosť získať rôzny počet bodov. Žiaci na políčku s touto kartou budú odpovedať na otázku, ktorá sa na nej nachádza (Tab. 3). Vsadiť môžu minimálne 1 bod a maximálne všetky body, ktoré v danej chvíli skupina má. V prípade, že skupina zodpovie správne otázku, dostanú rovnaký počet bodov, ako stavili. Pokiaľ nezodpovedajú správne otázku, tak prídu o polovičný počet bodov, ako stavili. Pri nepárnom čísle dostanú vždy o 1 bod menej (napr. vstavili 5 bodov, dostanú späť 2 body). Posledná karta sa nachádza na hnedých políčkach „Risk“. Karta sa nazýva hádaj a na danom políčku hádajú obe skupiny. Otázka je v nej položená v taktom tvare, aby na ňu žiaci odpovedali buď áno, alebo nie (Tab. 4). Za správnu odpoveď dostane skupina 1 bod. Víťazom hry sa stáva skupina, ktorá ma najviac bodov na políčku „CIEĽ“.

Tabuľka 1 Indície a fotografie k žltým hracím kartám „Urči“
Zdroj: Autor

Angelica archangelica L. – archangelika lekárska		• Čeľaď mrkvovité • Dorastá do 2 metrov • V minulosti pestovaná • Jej koreň sa využíva v liečiteľstve
Doronicum austriacum Jacq. – kamzičník rakúsky		• Žlté kvety v úbore • Ich podzemky údajne konzumovali lovci kamzíkov • Listy – kopijovité, srdcovité
Leucanthemopsis alpina subsp. *tatrae* (Vierh.) Holub – pakrálik alpínsky tatranský		• Biele kvety v úbore • Stonka pokrytá drobnými chĺpkami • Listy – klinovito vajcovité, laločnaté
Matricaria discoidea DC. – rumanček diskovitý		• Rastie najmä na poliach • Listy – vajcovité, elipsovité • Súkvetie – úbor, stopkatý
Solidago canadensis L. – zlatobyľ kanadská		• Invázny druh • Listy – kopijovité, pílovité • Žlté jazykovité kvety v úbore • Pôvodne okrasná rastlina
Symphytum officinale L. – kostihoj lekársky		• Liečivá rastlina, účinná pri zlomeninách • Listy – vajcovité až kopijovité • Červenofialové kvety v závinku
Campanula tatrae Borbás – zvonček tatranský		• Rastie len v Západných Karpatoch • Vyskytuje sa hojne v Tatrách • Fialovomodré kvety v strapcoch • Listy – srdcovité, kopijovité
Rhodiola rosea L. – rozchodnica ružová		• Chránený druh • V minulosti považovaná za všeliek • Listy – vajcovité až pílovité • Kvety v hustých vrcholíkoch
Lupinus polyphylus Lindl. – lupina mnoholistá		• Známa aj ako vlčí bôb • Obohacuje pôdu o vzdušný dusík • Listy – dlaňovité, kopijovité • Súkvetie – vzpriamený strapec
Gentiana asclepiadea L. – horec luskačovitý		• Veľmi horký podzemok, využíva sa pri príprave tráviacich likérov • Listy rozložené po bokoch stonky • Kvety modré, vzácne ružové
Gentiana frigida Haenke – horec ľadový		• Rastie vo vysokých nadmorských výškach, jeden z najotužilejších druhov • Chránený druh • Listy – kopijovité, v prízemnej ružici • Bledo žltozelené päťpočetné kvety
Dactylorhiza fuchsii (Druce) Soó – vstavačovec Fuchsov		• Druh považovaný za slovenskú orchideu • Listy – oválne až kopijovité • Kvety – belavé, purpurové, pokryté bodkami a čiarami
Rhinanthus pulcher Günther et Schummel ex Opis – štrkáč alpínsky		• Poloparazit • Listy – pílovité • Koruna tvorená dvomi pyskami
Bistorta major S. F. Gray - hadovník väčší		• Liečivá rastlina, v minulosti využívaní pri pohryznutí hadom • Listy – podlhovasté, vajcovité • Ružové kvety

Tabuľka 2 Fotografie k zeleným hracím kartám „Popíš“
Zdroj: Autor

Vaccinium myrtillus L. – brusnica čučoriedková	*Acer pseudoplatanus* L. - javor horský	*Galium aparine* L. - lipkavec obyčajný
Hypericum maculatum Crantz – ľubovník škvrnitý	*Alchemilla xanthochlora* Rothm. - alchemilka žltozelená	*Anemone nemorosa* L. - veternica hájna
Mentha longifolia (L.) L.- mäta dlholistá	*Aconitum napellus* L. - prilbica tuhá	*Primula elatior* (L.) Hill. - prvosienka vyššia
Thymus serpyllum L. – dúška materina 	*Plantago media* L.- skorocel prostredný	*Picea abies* (L.) H. Karst. - smrek obyčajný
Veratrum album L. – kýchavica biela	*Larix decidua* Mill.- smrekovec opadavý	

Tabuľka 3 Otázky k oranžovým hracím kartám „Bonus“
Zdroj: Autor

Bonus
Vymenuj aspoň 2 rastlinné druhy, ktoré majú jedlé plody.
Akým iným názvom sa označuje rebríček obyčajný?
Ktorá rastlina sa využíva pri ochorení močových ciest?
Akým iným názvom sa označuje borovica horská?

Tabuľka 4 Otázky ku hnedým hracím kartám „Hádaj“
Zdroj: Autor

Risk
Je vŕba bylinná najmenšou drevinou na území Slovenska?
Môže spôsobiť ľubovník škvrnitý vyrážky na pokožke?
Patrí borievka obyčajná medzi jedovaté rastliny?
Môže človeku ublížiť vrátič obyčajný pri predávkovaní?

2.2 Didaktická hra NÁJDI MA

Typ aktivity: skupinová práca

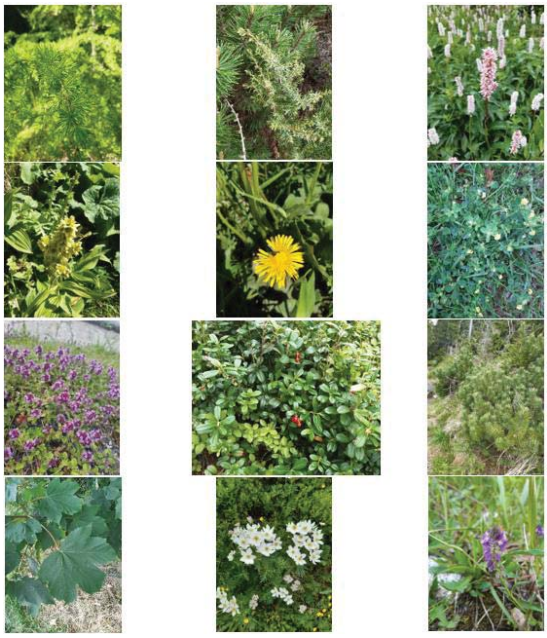
Ciele didaktickej hry: rozvoj sociálnych a komunikačných zručností, rozvoj kritického a tvorivého myslenia, vytváranie pozitívnej klímy v triede, motivovanie žiakov k činnosti, aktivizácia žiakov do procesu výučby

Učebné pomôcky: fotografie rastlinných druhov, papieriky s druhovými a rodovými názvami, papier, pero

Priebeh didaktickej hry: Didaktická hra sa skladá z 3 úloh, počas ktorých budú žiaci využívať svoje poznatky o jednotlivých rastlinách. V prvej úlohe si každý žiak vytiahne z vrecúška jednu kartu, na ktorej bude napísaný druhový alebo rodový názov určitej rastliny (Tab. 5). Úlohou žiakov bude vytvoriť s ostatnými spolužiakmi správne dvojice (napr. horec – ľadový). Na nájdenie správnych dvojíc majú žiaci 4 minúty, počas ktorých pedagóg kontroluje, či žiaci utvorili správne páry. Žiaci, ktorí vytvorili nesprávne dvojice, musia opätovne hľadať spolužiaka s príslušným rodovým alebo druhovým názvom. Po uplynutí časového intervalu pedagóg zadá žiakom druhú úlohu. Na lavicu rozdáme fotografie s jednotlivými rastlinnými druhmi, pričom fotografií bude viac ako je dvojíc (Obr. 2). Úlohou žiakov bude vybrať príslušnú fotografiu k utvorenej dvojici. Žiaci budú takouto formou vedení ku kritickému mysleniu počas aktivity. Na výber správnej fotografie budú mať žiaci 2 minúty, pričom žiakov upozorníme, že nesmú ostatným prezradiť názov svojej rastliny. Po uplynutí stanoveného intervalu zadá učiteľ žiakom poslednú úlohu. Žiaci budú mať za úlohu vymyslieť rôzne indície k danej rastline. Ostatní spolužiaci budú následne na základe popisu rastliny hádať, o aký druh ide (napr. javor horský – krídlatá dvojnažka, tvorí sa z neho sirup atď.). Na vytvorenie popisu majú 2 minúty. Po uplynutí časového intervalu sa jednotlivé skupiny postavia pred tabuľu a prezentujú svoje indície. Každá dvojica, ktorá uhádne správny rastlinný druh dostane 5 bodov. Víťazom aktivity sa stáva skupina, ktorá nazbierala najviac bodov spomedzi všetkých spolužiakov. Počas všetkých úloh v didaktickej hre upozorňujeme žiakov, aby ich vykonávali v čo najväčšej tichosti.

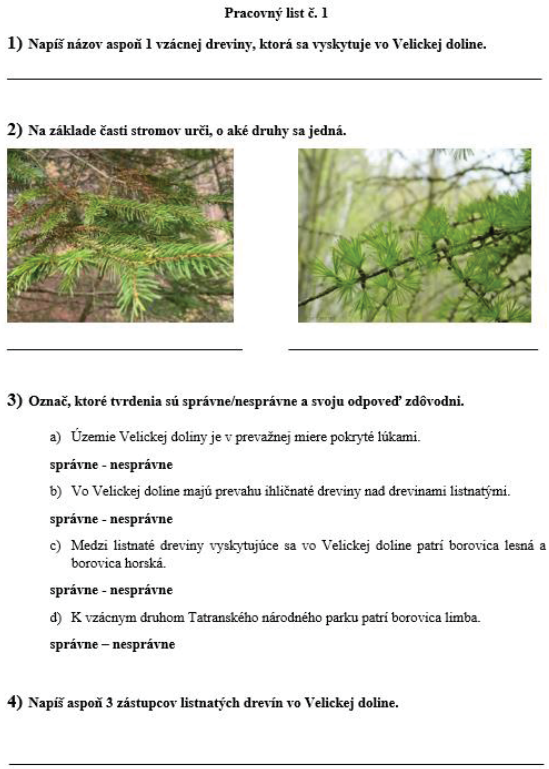
Tabuľka 5 Karty s rodovým a druhovým názvom rastlín
Zdroj: Autor

Rodový názov	Druhový názov
smrekovec	biela
kýchavica	obyčajná
dúška	horský
javor	ďatelinová
hadovník	lekárska
borievka	opadavý
púpava	obyčajná
brusnica	väčší
lucerna	horská
borovica	materina



Obr. 2 Fotografie s rastlinnými druhmi pre didaktickú hru „NÁJDI MA“
Zdroj: Autor

2.3 Pracovné listy pre 6. ročník ZŠ



Pracovný list č. 1

1) Napíš názov aspoň 1 vzácnej dreviny, ktorá sa vyskytuje vo Velickej doline.

2) Na základe časti stromov urči, o aké druhy sa jedná.

3) Označ, ktoré tvrdenia sú správne/nesprávne a svoju odpoveď zdôvodni.

a) Územie Velickej doliny je v prevažnej miere pokryté lúkami.

správne - nesprávne

b) Vo Velickej doline majú prevahu ihličnaté dreviny nad drevinami listnatými.

správne - nesprávne

c) Medzi listnaté dreviny vyskytujúce sa vo Velickej doline patrí borovica lesná a borovica horská.

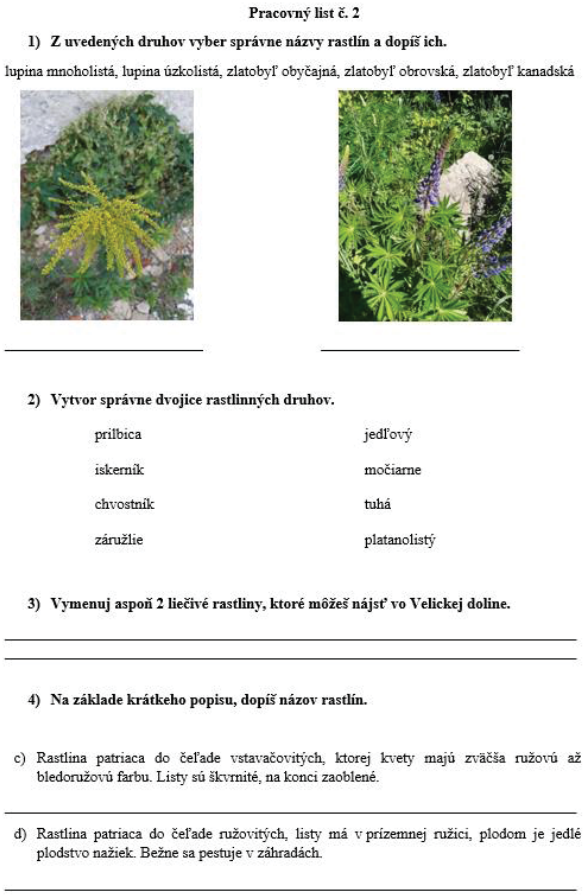
správne - nesprávne

d) K vzácnym druhom Tatranského národného parku patrí borovica limba.

správne – nesprávne

4) Napíš aspoň 3 zástupcov listnatých drevín vo Velickej doline.

Obr. 3 Pracovný list pre žiakov 6. ročníka ZŠ
Zdroj: Autor



Pracovný list č. 2

1) Z uvedených druhov vyber správne názvy rastlín a dopíš ich.

lupina mnoholistá, lupina úzkolistá, zlatobyľ obyčajná, zlatobyľ obrovská, zlatobyľ kanadská

2) Vytvor správne dvojice rastlinných druhov.

prilbica	jedľový
iskerník	močiarne
chvostník	tuhá
záružlie	platanolistý

3) Vymenuj aspoň 2 liečivé rastliny, ktoré môžeš nájsť vo Velickej doline.

4) Na základe krátkeho popisu, dopíš názov rastlín.

c) Rastlina patriaca do čeľade vstavačovitých, ktorej kvety majú zväčša ružovú až bledoružovú farbu. Listy sú škvrnité, na konci zaoblené.

d) Rastlina patriaca do čeľade ružovitých, listy má v prízemnej ružici, plodom je jedlé plodstvo nažiek. Bežne sa pestuje v záhradách.

Obr. 4 Pracovný list pre žiakov 6. ročníka ZŠ
Zdroj: Autor

Záver

Primárnym cieľom nášho konferenčného príspevku bolo vytvorenie vzdelávacích aktivít, ktoré by bolo možné využiť v školskej praxi. Vytvorili sme didaktické hry a pracovné listy, ktoré sme zároveň aj využili vo výučbe žiakov 6. ročníka ZŠ Škultétyho v Topoľčanoch, v rámci výberovej témy „Liečivé, jedovaté a chránené rastliny“. Vytvoreniu jednotlivých vzdelávacích aktivít predchádzalo absolvovanie botanického výskumu, počas dvoch vegetačných období. Na základe zaznamenaných druhov z botanického výskumu, sme vytvorili fotoherbár, ktorý bol hlavným podkladom pre tvorbu vzdelávacích aktivít. Vytvorené aktivity sú vhodné na motivovanie a zaktivizovanie žiakov počas výučby biológie, ako aj na rozvíjanie kritického a kreatívneho myslenia. Dúfame, že jednotlivé návrhy nájdu uplatnenie v školskej praxi a že budú slúžiť ako inovatívne formy vyučovania na hodinách biológie ZŠ.

Poďakovanie

Moja poďakovanie patrí školiteľke Ing. Ľudmile Galuščákovej, PhD. za jej pripomienky a za odbornú pomoc pri vypracovaní príspevku. Príspevok vznikol s podporou projektov APVV-18-0154 a VEGA 1/0073/20.

Použitá literatúra

[1] LOKŠOVÁ, Irena – LOKŠA, Jozef. 1996. Cez relaxáciu k tvorivosti v škole. Prešov: ManaCon, 194 s. ISBN 80-85668-32-7.

[2] PETLÁK, Erich. 2019. Motivácia v edukačnom procese. Bratislava: Wolters Kluwler, 104 s. ISBN 978-80-571-0-150-5.

[3] ZELINA, Miron. 2002. Aktivizácia a motivácia žiakov na vyučovaní. Banská Bystrica: Metodické centrum Banská Bystrica, 78 s. ISBN 80-8041-414-9.

[4] TUREK, Ivan. 1982. O problémovom vyučovaní. Bratislava: SPN, 352 s.

[5] LÁSZLO, Karol. 2004. Motivácia v edukačnom prostredí. Banská Bystrica: UMB Banská Bystrica, 90 s. ISBN 80-8055-975-9.

[6] PRŮCHA, Jan – WALTEROVÁ, Eliška – MAREŠ, Jiří. 2013. Pedagogický slovník. Praha: Portál, 400 s. ISBN 978-80-262-0403-9.

[7] OSVALDOVÁ, Zuzana. 2017. Pracovné listy ako prostriedok aktivizácie žiakov vo vyučovacom procese. In Edukácia Vedecko-odborný časopis, roč. 2, č. 1, s. 194-201. ISSN 1339-8725.

[8] VANKÚŠ, Peter. 2012. Didaktické hry v matematike. Bratislava: Univerzita Komenského, 144 s. ISBN 978-80-8147-002-8.

[9] SUCHOŽOVÁ, Eva. 2010. Využitie pracovných listov v globálnom rozvojovom vzdelávaní. Bratislava: Metodicko-pedagogické centrum, 68 s. ISBN 978-80-8052-349-7.

[10] ŽÁČOK, Ľubomír – SCHLARMANNOVÁ, Janka. 2005. Metodika tvorby pracovných listov pre základné školy. In Komenský, roč. 130, č. 2, s. 23. ISSN 0323-0449.

[11] DŽAČOVSKÁ, Slávka a kol. 2020. Podpora a rozvíjanie kreatívneho myslenia žiakov. Bratislava: Metodicko-pedagogické centrum, 18 s. ISBN 978-80-565-1465-8.

[12] ŠANDOROVÁ, Viera. 2013. Metódy a formy práce podporujúce kritické myslenie žiakov zo sociálne znevýhodneného prostredia. Bratislava: Metodicko-pedagogické centrum, 60 s. ISBN 978-80-8052-559-0.

[13] STANOVÁ, Viera – VALACHOVIČ, Milan. 2002. Katalóg biotopov Slovenska. Bratislava: DAPHNE, 225 s. ISBN 80-89133-00-2.

[14] LACIKA, Ján. 2010. Vymedzenie a poloha. In A. KOUTNÁ a B. CHOVANCOVÁ, eds. TATRY-príroda. Praha: Baset, s. 13-16. ISBN 978-80-8136-110-4.

[15] ZAJAC, Milan – DUCHOŇ, Mario. 2022. Ohrozené rastliny Tatier. Bratislava: Slovart, 567 s. ISBN 978-80-556-5302-0.

[16] PACL, Jiří. 2010. Hydrológia. In A. KOUTNÁ a B. CHOVANCOVÁ, eds. TATRY-príroda. Praha: Baset, s. 247-254. ISBN 978-80-8136-110-4.

[17] ŠAMAJ, Ferdinand. 2010. Podnebie. In A. KOUTNÁ a B. CHOVANCOVÁ, eds. TATRY-príroda. Praha: Baset, s. 255-264. ISBN 978-80-8136-110-4.

[18] KOREŇ, Milan – SKIBA, Stefan – KUKLA, Ján. 2010. Pôdy. In A. KOUTNÁ a B. CHOVANCOVÁ, eds. TATRY-príroda. Praha: Baset, s. 265-277. ISBN 978-80-8136-110-4.

[19] KRNA, Iľja – BITUŠÍK, Peter – ŠPORKA, Ferdinand. 2010. Benetická makrofauna. In A. KOUTNÁ a B. CHOVANCOVÁ, eds. TATRY-príroda. Praha: Baset, s. 423-434. ISBN 978-80-8136-110-4.

[20] DOSTÁL, Josef – ČERVENKA, Martin. 1991. Veľký kľúč na určovanie vyšších rastlín I. Bratislava: Slovenské pedagogické nakladateľstvo, 1991. 775 s. ISBN 80-08-00273-5.

[21] DOSTÁL, Josef – ČERVENKA, Martin. 1992. Veľký kľúč na určovanie vyšších rastlín II. Bratislava: Slovenské pedagogické nakladateľstvo, 1992. 1567 s. ISBN 80-08-00003-1.

Tráviaca sústava- tvorba a overovanie podporných vzdelávacích materiálov pre žiakov gymnázií

Digestive system- creation and verification of supporting educational materials for high school students

Dominika Mrugová[1]
Školiteľ: Anna Sandanusová[2]
[1,2]Katedra zoológie a antropológie, FPVaI UKF, Nábrežie mládeže 91, 949 01 Nitra
[1] dominika.mrugova@student.ukf.sk, [2] asandanusova@ukf.sk

Abstrakt

Cieľom príspevku je vytvorenie podporných vzdelávacích materiálov na tému Tráviaca sústava a ich následné overenie v 3. ročníku gymnázia. Navrhnuté materiály obsahujú rôzne inovatívne a aktivizujúce metódy s cieľom vzbudiť záujem žiakov o danú tému a rozvíjať ich vyššie kognitívne schopnosti. Jedným zo zámerov je premeniť učenie na zážitok. Modelová hodina je vytvorená na princípe metodiky E-U-R a tvoria ju rôzne aktivity a úlohy so zameraním sa na rozvoj kritického, kreatívneho a logického myslenia. Aktivitami u žiakov rozvíjame čitateľskú a prírodovednú gramotnosť. Okrem stavby a funkcie Tváriacej sústavy sa žiaci naučia najbežnejšie ochorenia tráviacej sústavy, získajú informácie o zdravom životnom štýle, význame vitamínov a minerálnych látok v potrave. Žiakom ponúkame rôzne problémové situácie, reálne situácie s ktorými sa môžu v priebehu života stretnúť.

Kľúčové slová: ochorenia TS, životný štýl, vitamíny, metodika E-U-R, kvalita výchovno-vzdelávacieho procesu

Abstract

The aim of the work is to create supporting educaional materials on the topic Digestive system and it´s subsequent verification among the 3rd year high school students. The materials contain various innovative and activating methods with the aim to captivate students' interest in the given topic and developing their higher cognitive abilities. One of the objectives is to turn out learning into an experience. The model lesson is based on E-U-R methodology and consists of various activities and tasks with a focus on the development of critical, creative and logical thinking. Through activities, we develop reading and science literacy among students. Additionally apart from structure and function of the digestive system, students will learn the most common diseases of the digestive system, get information about a healthy lifestyle, the importance of vitamins and minerals in food. We provide various problematic situations, real situations that students may confront in their lives.

Key words: diseases of the digestive system, lifestyle, vitamins, E-U-R methodology, quality of the educational process

Úvod

Pre každého pedagóga je nevyhnutné uvedomiť si, že každý žiak vstupuje do výchovno- vzdelávacieho procesu s určitými predpokladmi. Inštitucionalizovaný proces výchovy a vzdelávania formuje život každého z nás, preto by sa učiteľ mal snažiť o vytvorenie podmienok, ktoré pozitívne podporujú každého žiaka so zámerom rozvíjať jeho individuálny potenciál. Zároveň by mal poznať kognitívne schopnosti žiaka, spájajúce sa s jeho myslením a poznávaním. Súčasťou vyučovacieho procesu sú vlastne vzájomné interakcie, ktoré ovplyvňujú rôzne faktory. V súčasnej dobe máme k dispozícii veľké množstvo koncepcií a stratégií vyučovania.

Ako prostriedok na rozvíjanie kompetencií sa považujú vedomosti. To znamená, že výber metód a aplikácia v edukácii sú v rukách pedagóga. Ten by mal zohľadňovať individuálne schopnosti žiakov. Už v minulosti sa významní pedagógovia zaoberali touto problematikou a tvrdili, že ak učiteľ prispôsobí svoje vyučovanie tak, aby sa žiaci mohli efektívne učiť tak budú dosahovať dobré učebné výsledky.

Navrhnutá modelová hodina má slúžiť ako didaktický materiál nielen pre študentov učiteľstva biológie, ale aj pedagógom z praxe.

Pri písaní práce sme vychádzali zo štátneho vzdelávacieho programu ISCED 3A. Tieto metodiky sme overili na Spojenej škole Piaristickej sv. Jozefa Kalazanského v Nitre u žiakov 3. ročníka počas súvislej

pedagogickej praxe. Výsledky zistenia efektívnosti v edukácii prikladáme nižšie v kapitole číslo 5.

1 Motivácia u žiakov

V súčasnej edukácii hrá dôležitú úlohu to, aké je vzbudenie záujmu u žiaka o činnosť, aká je motivácia žiaka. Ide o významného činiteľa, ktorý má enormný vplyv na priebeh a výsledky vyučovania. Motivácia je definovaná ako súbor vonkajších aj vnútorných činiteľov, ktoré žiaka aktivujú a zároveň podnecujú aby prežíval určitú situáciu, obdobie [1].

Poznávacie potreby žiaka, potreba činnosti a radosti z jeho vykonávania, zvedavosť a dobrý pocit zo sociálnej interakcie sa zaradzujú medzi typické znaky vnútornej motivácie. Vnútorná motivácia vzniká zo samotnej zvedavosti učiaceho sa. Zaraďujú sa tu aktivity, ktoré prinášajú jednotlivcovi radosť a potešenie. Ako tvrdí vo svojej knihe Grofčíková (2021) jednotlivec respektíve žiak má zabudované motivačné mechanizmy, ktoré predovšetkým súvisia s biologicky determinovanými inštinktmi, potrebami a vzrušením. Zaujatie a pozornosť tak podnecuje vlastná skúsenosť [2].

Tabuľka 1 Metódy rozvíjania motivácie

Problémové vyučovanie	Vyvolanie záujmu o problém
Vyučovanie hrou	Didaktické hry, motivačná súťaživosť
Rozmanitosť vo vyučovaní	Variabilita vyučovania, zmena metód a foriem práce
Brainstorming	Produkovanie úsudkov, záverov
Tvorivosť	Tvorivé úlohy, riešenie podporujúce motiváciu
Imaginácia	Cvičenie na rozvoj fantázie
Aktuálnosť	Témy, ktoré bezprostredne vychádzajú zo skúseností žiakov, z ich života
Uplatňovanie princípu zmyslu a významu učiva	Vedomosti potrebné v praxi

Zdroj: [3]

2 Mastery Learning

Mastery learning je stratégia vo vzdelávaní prvýkrát navrhnutá americkým psychológom a pedagógom Benjaminom Bloomom v roku 1968. Znamená, že žiaci lebo študenti by mali v učení sa dosiahnuť level dokonalosti- mastery learning, dosiahnuť tzv. úroveň majstrovstva. Ako opisuje Grofčíková (2021) Benjamin Bloom kládol dôraz nato, aké dôležité je poznať učebné predpoklady žiakov ktorí vstupujú do vyučovacieho procesu a tiež navrhol formatívne testovanie žiakov v momente ako je ukončená vyučovacia jednotka a následne takto žiak získal možnosť opravy pri neúspešnom respektíve málo úspešnom záverečnom teste. To ako dokážu žiaci využiť získané informácie alebo ako dokážu porozumieť čítanému textu sú vo veľkej miere ovplyvňované práve predpokladmi. V tejto stratégii je pozornosť upriamená predovšetkým na rozvíjanie poznávacích procesov respektíve vyššiu úroveň myslenia a to aby ich pedagógovia podporovali a presadzovali počas edukácie. Samozrejme okrem rozvoja poznávacích a motorických schopností pedagóg takýmto spôsobom podporuje žiakov stať sa iniciatívnymi a tvorivými a tiež v samostatnosti. Úlohou pedagógov je vytvárať učebné podmienky pre žiakov, ktoré podporujú a rozvíjajú ich učebnú činnosť. Okrem toho by mali využívať metódy a stratégie so zámerom uľahčiť žiakom učenie a rozvíjať ich aktuálnu mentálnu úroveň a takýmto spôsobom vytvoriť čo najefektívnejšie vyučovanie. Ako príklad takéhoto vyučovania uvádzame mastery learning. Okrem koncepcie mastery learning môže ísť o kooperatívne vyučovanie, zážitkové vyučovanie, problémové vyučovanie a pod. (Petlák, Grofčíková, Zaťková, 2007) [4].

Tabuľka 2 Čo je a nie je Mastery learning

Mastery learning je	Mastery learning nie je
Proces vyučovania a učenia sa	Neobmedzené testovanie
Príležitosť na zodpovednosť za učenie nie je na učiteľovi, ale naopak prechádza na učiaceho sa- žiaka	Použitie rovnakého testu 2 krát
Každý žiak má schopnosti, zaručujúce istý výkon učiť sa výborne, jediný rozdiel je v tom, že každý žiak nato potrebuje odlišný čas	Utlmovanie žiakov disponujúcimi vedomosťami a rozvinutými schopnosťami

Zdroj: [5]

3 Konštruktivistické vyučovanie

Konštruktivizmus, behaviorizmus a humanizmus sa pre teóriu vzdelávania považujú za tri hlavné psychologické myšlienkové prúdy, ktoré napriek tomu, že majú odlišné stanovisko vzájomne sa dopĺňajú o ďalšie nové poznatky [6].

Piagetov model učenia a poznávania je založený na tom, že človek sa počas života neustále mení a vyvíja. Jeho model je zameraný na vývoj poznávacích procesov a na podstatu a vývoj ľudskej inteligencie. Jeho teória popisuje, že inteligencia je založená na skúsenostiach, činnosti a zážitkoch a práve pomocou vyučovacieho procesu sa tento rozvoj uskutočňuje medzi jedincom a prostredím [7].

Konštruktivizmus je názor, ktorý vyjadruje a opisuje tvorivý vzťah k životu a budovaniu spoločnosti. Jeho zakladateľom je švajčiarsky psychológ Jean Piaget. Zmyslom tejto metódy je naučiť žiakov myslieť a nie im prinášať hotové nové vedomosti. Konštruktivizmus vo vyučovaní znamená, že učiteľ je v pozícii poradcu, pri rôznych otázkach a problémoch s ktorými sa žiak stretne. Úlohou žiaka je konštruovať svoje poznanie, k vedomostiam sa dopracovať vlastnou činnosťou. Tento konštruktivistický prístup so sebou prináša viacero výhod, ktorými sú napríklad:

1. Ide o motivujúcu, aktivizujúcu a aj zábavnú metódu.
2. Umožňuje žiakom prežívať radosť a tešiť sa z toho, že samostatne vyriešili situáciu a takto sa zároveň posilňuje ich vnútorná motivácia.
3. Od žiakov sa vyžadujú myšlienkové pochody vyššieho radu: tvorivé myslenie, riešenie problémov, analýza, syntéza, hodnotenie.
4. Je veľkým prínosom pre žiakov súvisiacou s vývinom inteligencie.
5. Smeruje k pochopeniu učiva pomocou doterajších skúseností a zručností [8].

Tabuľka 3 Porovnanie konštruktivistického a transmisívneho vyučovania

Tradičné vyučovanie	**Konštruktivistické vyučovanie**
Predošlé znalosti ako vstup. Dôraz na základné zručnosti.	Orientácia na zručnosti vyššej úrovne. Rámcová úloha predošlých znalostí v poznávacom motivačnom zmysle.
Orientácia na odbornosť.	Dôraz na učebný proces.
Štrukturalistický prístup.	Samoregulovateľné učenie:
Vopred špecifikované ciele. Malé kroky , Upevňovanie, dosahovanie vysokého percenta zvládnutia obsahu	- „bohaté“ učebné prostredie - Vnútorná motivácia - Riešenie náročných problémov
Abstraktno-zovšeobecňujúce znalosti.	Špecifická znalosť situácie. Učenie sa na príkladoch.
Štandardizované výkonové testy.	Hodnotenie je menej obmedzujúce. Alternatívne procedúry.

Zdroj: [9]

Ako tvrdí Kozárová (2021) zámerom učiteľa v konštruktivistickej výučbe prebiehajúcej počas výchovno-vzdelávacieho procesu je to, aby úspešne docielil aktívnu kognitívnu činnosť žiakov. Jedným zo spôsobov ako ju získať je vo vyučovania zapojiť rôzne príklady zo života, rôzne praktické a problémové ukážky a sústrediť sa na rozvoj kreatívneho a kritického myslenia. Veľmi úzko súvisí so známym súčasným inovatívnym vyučovaním, kedy sa učitelia snažia dosiahnuť učenie na taký level, aby bolo čo najviac efektívne.

4 Aktivizujúce vyučovacie metódy

Zvyčajne sú založené na princípe riešenia rôznych problémových úloh alebo situácií vo vyučovaní, pôsobia na žiakov stimulačne, podporujú tvorivosť [10].

Aktivizujúce metódy sa stali aktuálnymi v 20. storočí z dôsledku vznikania rôznych koncepcií vyučovania a rôznych vyučovacích metód [11].

Cinquain

Je jedným z variantov metódy tzv. diamant. Názov Cinquain pochádza z francúzskeho slova, čo v preklade znamená päť. U nás sa táto metóda nazýva päťlístok. Ide o básnickú formu vytvorenú americkou poetkou Adelaide Crapsovou. Pravidlá vytváranie takejto 5 veršovej básne sú nasledovné: Prvý verš je v podstate téma, podstatné meno. V druhom verši sa popisujú jedinečné respektíve charakteristické vlastnosti, prídavné mená. V treťom verši je zaznamenaný dej, čo sa deje – slovesá. Do štvrtého veršu sa píše slogan – ten obsahuje ucelenú vetu pozostávajúcu zo štyroch slov. V poslednom, piatom verši je znova ako v prvom podstatné meno, ale musí to byť synonymum prvého verša [12].

1-2-3-4 My metóda („Numbered heads together“)
Je metóda využiteľná v ktoromkoľvek ročníku a v ľubovoľnom predmete. V tejto metóde učiteľ očísluje všetkých členov skupiny. Každý žiak dostane číslo 1 – 4. Následne im položí otázku a zadá úlohu. Každý člen v skupine participuje na úspechu. Metóda vedie žiakov k individuálnej zodpovednosti a k úzkej spolupráci v skupine [13].

5 Výsledky a diskusia

Našu výskumnú vzorku tvorí celkovo 16 žiakov. Sú to žiaci 3 ročníka Spojenej Piaristickej školy sv. Jozefa Kalazanského v Nitre. Z celkového počtu 16 sa v tejto triede nachádzalo 5 chlapcov a 11 dievčat. Výskum prebiehal počas súvislej pedagogickej praxe. Hlavným cieľom výskumu bolo naučiť tému Tráviaca sústava moderným štýlom. Predpokladali sme, že pomocou metodiky E-U-R sa žiaci naučia myslieť a uvažovať logicky správne, kriticky riešiť rôzne problémové situácie. Vytvorili sme dva modely vyučovacej hodiny, ktoré budú pre žiakov pestrejšie, originálnejšie a hlavne neobvyklé. Využili sme v nich totiž inovatívne a aktivizujúce metódy, rovesnícke a zážitkové učenie, aby získané vedomosti zostali v pamäti dlhodobo.

Na získanie výsledkov sme použili neštandardizovaný didaktický test pozostávajúci z 9 úloh rôznej úrovne obťažnosti. Test sme aplikovali u žiakov pred odučením modelových hodín a následne po odučení. Medzi pred-testom a post-testom išlo o časové rozpätie v priebehu 2 týždňov.

Získané výsledky sme kvalitatívne aj kvantitatívne analyzovali, zapísali do tabuliek a grafov.

6 Model vyučovacej hodiny- Vitamínia, krajina v ktorej padajú vitamínové bomby

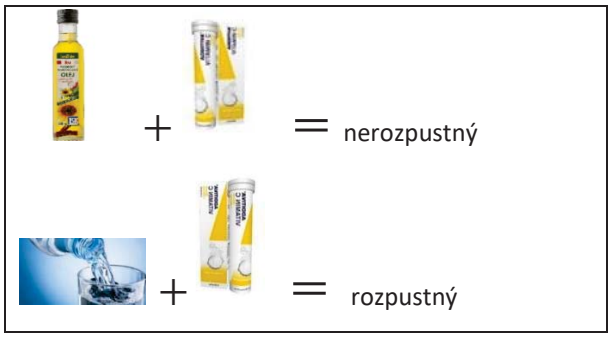
Riešený didaktický problém

Súčasťou tráviacej sústavy sú aj ochorenia. Pre žiakov je dôležité tieto ochorenia poznať, aby pochopili a naučili sa im v budúcnosti predchádzať. K tejto téme patrí aj metabolizmus živín, výživa, minerálne látky a vitamíny. Je dôležité pochopiť aký veľký význam v našom živote má výživa a všetky jej zložky. Žiaci by mali poznať denný príjem minerálnych látok, vypočítať si BMI index a kriticky zhodnotiť v akom stave sa ich organizmus nachádza. Keďže vitamíny sú životne dôležité látky, ktoré do organizmu dostávame práve potravou, žiaci by ich mali poznať. Pochopia ktoré vitamíny sú rozpustné v tukoch, ktoré vo vode, ktorými vitamínmi sa môžeme predávkovať, ktoré v nadmernom množstve sú pre organizmus zbytočné, lebo využije len také množstvo ktoré potrebuje. Naučia sa označovať vitamíny nielen písmenami ale aj celým názvom. Žiaci spoznajú zdroje, v ktorých sa vitamíny nachádzajú, naučia sa, ktoré vitamíny najviac podporujú imunitný systém človeka. Žiaci sa dozvedia o rôznych ochoreniach a zdravotných problémoch, ktoré môžu nastať, ak trpíme nedostatkom ale aj nadbytkom nejakého vitamínu.

Evokácia
Keďže v tejto časti metodiky je hlavným cieľom vzbudiť záujem u žiaka o danú tému, učiteľ začne experimentom respektíve dôkazom. Ide o jednoduchý experiment, ktorý samozrejme súvisí s témou hodiny- Vitamíny. Žiaci si zopakujú poznatky o vitamínoch z predošlých ročníkov. Experiment je o tom, že učiteľ dokazuje rozpustnosť vitamínu C vo vode a zároveň jeho nerozpustnosť v tukoch. Takto sa žiaci učia, lepšie si zapamätajú, majú to celý čas pred sebou počas toho ako učiteľ vysvetľuje a je to pre nich jednoduchšie pochopiť. Experiment bol pilotne realizovaný počas výstupovej pedagogickej praxe na Gymnáziu v Nitre, Golianova ulica. Správne riešenia sú v jednotlivých úlohách a aktivitách vyznačené zelenou farbou.

Experiment – Ako delíme vitamíny podľa rozpustnosti?

Dôkaz rozpustnosti vitamínu C vo vode.
Otázka: Ktoré vitamíny sú rozpustné vo vode?
Pomôcky: Šumivé tablety vitamín C, pohár, voda, olej.



Obr.1
Zdroj: Mrugová, 2023

Riešenie: Podľa rozpustnosti vitamíny delíme na:
- Vitamíny rozpustné v tukoch – D,E,K,A
- Vitamíny rozpustné vo vode – C a vitamíny skupiny B

- Vitamín C sa rozpustil v pohári, ktorý obsahoval vodu.

- Vitamín C sa nerozpustil v pohári, ktorý obsahoval tuk- olej [14].

Uvedomenie si významu

V tejto časti metodiky, učiteľ použije **výklad** učiteľa na tému Tráviaca sústava človeka, kde sa ale zameriava na ochorenia tráviacej sústavy, metabolizmus živín, životný štýl a vitamíny. Okrem samotného výkladu učiteľ použije obrázky, videá, tabuľky, rôzne motivačné otázky a úlohy.

AKTIVITA 1 – Brainstorming

Aké ochorenia Vám napadnú ak sa povie tráviaca sústava. Ktoré choroby sa Vám spájajú s touto sústavou človeka?

Riešenie: celiakia, žalúdočné vredy, zápal slepého čreva, zápal žalúdka, rakovina hrubého čreva, zápcha, hnačka a pod..

AKTIVITA 2 – Lekár- špecialista

Každý z nás sa v priebehu svojho života stretne s rôznymi ochoreniami. V tejto aktivite sa žiaci zamerajú na ochorenia Tráviacej sústavy. Úlohou žiakov je na základe obrázkov a pomocou odbornej literatúry určiť o akú chorobu tráviacej sústavy ide a do tabuľky na zadnej strane doplniť meno lekára, názov ochorenia, príčiny vzniku, prevenciu a nasledovnú liečbu. Je to vlastne nevyplnená lekárska karta. Táto karta respektíve informačný list ochorenia slúži špecialistom ako pomôcka pre ich pacientov. Žiaci pracujú v skupinách po 3. Zvolia si jedného zo skupiny, ktorý bude v pozícii lekára- špecialistu na tráviace ochorenie a ďalší 2 spolužiaci mu budú asistovať. Takýmto spôsobom žiaci získavajú cenné informácie týkajúce sa ochorení a budú vedieť, akého špecialistu majú navštíviť. V závere tejto aktivity skupiny žiakov prečítajú svoje karty obsahujúce informácie svojim spolužiakom.

Obr.2
Zdroj: [15]

Riešenie:

Informačný list ochorenia číslo 1:

Meno lekára	Gastroenterológ – MUDr. Jakub Štastný
Názov ochorenia	Žalúdočný vred
Príčina vzniku	Žalúdočná kyselina, ktorá pomáha v trávení jedla. Môže spôsobovať poškodenie žalúdočnej sliznice a následne sa môže vytvoriť vred. Je to spôsobené baktériou Helicobacter Pylori
Informácie o ochorení	Ide o zápalové ochorenie žalúdka, pri ktorom dochádza k poškodeniu žalúdočnej sliznice a to pôsobením kyseliny chlorovodíkovej, ktorá sa nachádza v žalúdočnej šťave.
Následná liečba	gastroskopia (endoskopia) lieky, antibiotiká na zníženie množstva žalúdočnej kyseliny
Prevencia	Správna životospráva Nie nadmerné požívanie alkoholu Domáci test na Helicobacter pylori

Informačný list ochorenia číslo 2:

Meno lekára	Gastroenterológ – MUDr. Martin Novák
Názov ochorenia	Celiakia
Príčina vzniku	Genetické faktory
Informácie o ochorení	Autoimunitné ochorenie postihujúce tenké črevo. Charakteristická je intolerancia lepku sprevádzaná bolesťami brucha a hnačkami.
Následná liečba	Bezlepková diéta
Prevencia	Dojčenie dieťaťa do jedného roku veku môže byť významným faktorom, aby sa u dieťaťa nevyvinula celiakia

Informačný list ochorenia číslo 3:

Meno lekára	Gastroenterológ – MUDr. Peter Novák
Názov ochorenia	Zápal žalúdka - gastrititída
Príčina vzniku	Spôsobuje nadmerná konzumácia alkoholu, príliš mastná strava alebo časté užívanie niektorých liekov.

Informácie o ochorení	Dôjde k zapáleniu sliznice žalúdka, respektíve k narušeniu hlienovej vrstvy, ktorá žalúdok ochraňuje pred pôsobením žalúdočných štiav sprevádzané silnými bolesťami brucha
Následná liečba	Endoskopia, krvné testy, vitamín B12, antibiotiká
Prevencia	Jesť pravidelne, menšie porcie nedráždivej stravy, Vyhýbať sa stresu

Informačný list ochorenia číslo 4:

Meno lekára	Gastroenterológ, chirurg – MUDr. Oliver Smutný
Názov ochorenia	Zápal slepého čreva - apendicitída
Príčina vzniku	Stravovacie návyky, upchatie slepého čreva (stolicou, cudzím telesom) Nečakaná bolesť v oblasti pupka.
Informácie o ochorení	Bolesť postupne prichádza do pravej časti podbruška, kde sa slepé črevo nachádza. Zápal sa tvorí v červovitom výbežku – apendixe.
Následná liečba	Ultrazvuk, CT vyšetrenie, rozbor krvi, Chirurgický zákrok- odstránenie apendixu.
Prevencia	Zmena životosprávy, prísun vlákniny, probiotické jogurty

AKTIVITA 3 – Zisti ako na tom si ...

Podľa základného vzorca, si vypočítaj svoje BMI a zisti ako na tom si. Počíta sa ako hmotnosť v kilogramoch delená druhou mocninou výšky v metroch.
BMI – Body Mass Index (Index telesnej hmotnosti)

$$BMI = \frac{\text{váha (v kg)}}{\text{výška (v m)}^2}$$

Vitamíny

Doplň do textu - Kto objavil prvý vitamín?

Prvý vitamín, ktorý bol objavený bol vitamín B1. Poľský biochemik **.....** ho izoloval z ryžových otrúb a pomenoval ho *„vitamín“* . V preklade z tohto latinského slova *vita,* znamená **„.....“.**

Riešenie: Kazimierz Funk, život

AKTIVITA 4 – Tabuľka- práca s odbornou literatúrou

Každý vitamín má svoj triviálny názov vitamínu, respektíve synonymum pre daný vitamín. Pozorne si pozri tabuľku a nájdi chybný názov , <u>ktorý nie je správny</u> pre daný vitamín v tabuľke nižšie a následne ich oprav tak, aby bol správny. Môžeš použiť odbornú literatúru.

Tabuľka 4 Vitamíny a ich triviálne názvy

Vitamín	Triviálny názov pre vitamín
Vitamín A	Kyselina askorbová
Skupina vitamínov D1-D7	Kyselina listová, folová
Vitamín E	Tokoferol
Vitamín K	Kobalamín
Vitamín B1	Thiamín, aneurin
Vitamín B2	Riboflavín, laktoflavín
Vitamín B5	Kyselina nikotínova, niacín
Vitamín B6	Kyselina pantotenová
Vitamín B12	Biotín
Vitamín PP	Ergokalciferol, cholekalciferol
Vitamín B9	Fylochinon
Vitamín H	Pyridoxín
Vitamín C	Retinol

Zdroj: upravené podľa Sandanusová a kol., 2020

Riešenie:

Vitamín A – Retinol
Skupina vitamínov D1-D7 – Ergokalciferol, cholekalciferol
Vitamín E – okoferol
Vitamín K - Fyochinon
Vitamín B1 – Thiamín, aneurin
Vitamín B2 – Riboflavín, laktoflavín
Vitamín B5 – Kyselina pantotenová
Vitamín B6 - Pyridoxín
Vitamín B12 - Kobalamín
Vitamín PP – Kyselina nikotínova, niacín
Vitamín B9 – Kyselina listová, folová
Vitamín H - Biotín
Vitamín C – Kyselina askorbová [16].

AKTIVITA 5 – Ktorý vitamín mám na mysli?

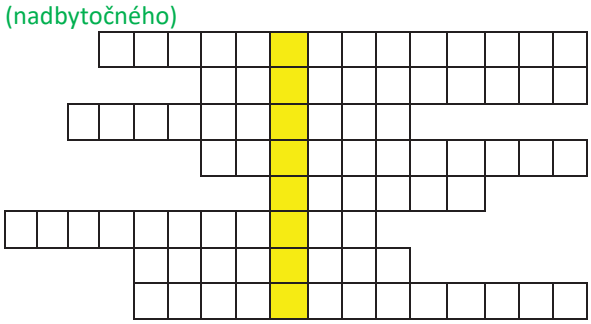
Po prečítaní týchto dvoch zaujímavostí ohľadom jedného z vitamínov, porozmýšľaj a zisti, o aký vitamín ide. Písmeno X v texte nahraď vitamínom.

Text: Telo si dokáže uložiť vitamín **X** v pečeni na dobu dlhú 3-5 rokov a že odborníci tento jav nazývajú ako rezervnú kapacitu. Alkoholizmus a užívanie liekov zaťažujúcich pečeň vyčerpáva zásoby vitamínu **X** v pečeni.

Riešenie: Vitamín E

Kriticky sa zamysli a nájdi riešenie pre túto tajničku, aby si mohol doplniť vetu: Látky, nevyhnutné pre správne fungovanie živých organizmov sú .....

1. Ochorenie zapríčinené nadmernou konzumáciou určitých vitamínov.(hyperavitaminóza)
2. Ochorenie zapríčinené dlhodobým a úplným nedostatkom vitamínov. (avitaminóza)
3. Vitamíny A,D,E,K sú ..... v tukoch. (rozpustné)
4. Označenie „K“ je odvodené od nemeckého slova ..... (zrážanie krvi, zrážanlivosť a pre správnu činnosť pečene. („Koagulation“)
5. Rastlinné produkty- provitamín A- betakarotén. Tieto látky si ľudské telo premení na vitamín A- najbohatším zdrojom toho vitamínu je ..... (mrkva)
6. Vitamín B2 inak nazývaný .....hrá dôležitú úlohu pri telesnom raste, obnove červených krviniek a uvolňovaní energie zo sacharidov. Dôležitým zdrojom je mäso, vajcia, orechy, listová zelenina a mliečne výrobky. (riboflavín)
7. Vitamín A sa nazýva ..... (retinol)
8. Potenie, horúčka a alergické reakcie vznikajú pri užívaní ..... množstva vitamínu K (nadbytočného)



Obr. 3 Tajnička na vitamíny
Zdroj: [17]

Preškrtni pojmy, ktoré sa do logického radu nehodia. Následne svoje tvrdenie zdôvodni.

a) vitamín A- vitamín D- vitamín E- vitamín C
b) B1- B2-B3-B20
c) avitaminóza- hypovitaminóza- hypervitaminóza- disvitaminóza
d) šeroslepota- zdravý zrak- opaľovanie- kosti

Riešenie:
a) nepatrí sem vitamín C pretože ten je v tukoch nerozpustný a prvé tri sú rozpustné v tukoch

b) nepatrí sem vitamín B20, pretože ani neexistuje.

c) nepatrí sem disvitaminóza- neznamená to nič, ďalšie 3 majú význam a definíciu

d) nepatria sem kosti, pretože ich rast a vývin je zodpovedný vitamín D, zatiaľ čo pri šero slepote, zraku a opaľovaní za to môže vitamín A

Zamysli sa a vysvetli prečo je vláknina nevyhnutná, mala by sa nachádzať v jedálničku pravidelne a konzumovaním akých potravín ju získame?

Riešenie: Vláknina znižuje riziko mnohých ochorení ako zápchy, cukrovky, srdcovocievnych chorôb, divertikulózy (tvorba výčnelkov na hrubom čreve) či obezity. Vysoké množstvo vlákniny obsahujú najmä strukoviny ako šošovica, čierna fazuľa či hrach a cícer, ale ovocie ako maliny, hrušky alebo avokádo.

Reflexia

V tejto časti modelovej hodiny, by si žiaci mali uvedomiť prínos získaných .poznatkov V tejto časti žiaci diskutujú, pýtajú sa na súvislosti, ktoré úplne nepochopili alebo im nerozumejú.

Záver

Cieľom tohto príspevku bolo vytvorenie podporných vzdelávacích materiálov (vrátane modelových hodín) na tému Tráviaca sústava a ich následné overenie v 3. ročníku gymnázia. Bola použitá metóda E-U-R, so zámerom rozvíjať u žiakov vyššie kognitívne schopnosti. Návrh modelovej hodiny je vytvorený a prispôsobený tak, aby čo najefektívnejšie aktivizoval žiakov a podporoval ich kritické, logické a kreatívne myslenie. Našim cieľom bolo teda obohatiť výchovno-vzdelávací proces o zážitkové učenie, priniesť do výučby inovatívne aktivizujúce metódy, ktoré vzbudia záujem u žiakov o danú látku a hlavne žiaci sa dokážu učiť efektívne. Bol vytvorený pracovný list aj didaktický test na tému tráviaca sústava.

Výskumu sa zúčastnilo spolu 16 žiakov, ktorí písali pred-test a v dvojtýždňovom rozpätí následne post-test. Úspešnosť žiakov v post-teste bola **88,13 %** zatiaľ čo v pred-teste to bolo **65,83%.** Môžeme teda tvrdiť, že v našom kvalitatívnom výskume sme dosiahli úspešnosť zlepšenia o **22,3%.**

Poďakovanie

Moje poďakovanie patrí pani konzultantke PaedDr. Anne Sandanusovej, Ph.D. Chcela by som sa poďakovať za cenné rady, ochotu a korigovanie pri písaní tohto príspevku.

Tento príspevok vznikol v rámci projektu: „Skvalitňovanie praktickej prípravy budúcich pedagogických zamestnancov na UKF v Nitre“ (kód ITMS2014+ 312011Z815). Tento projekt sa realizuje vďaka podpore z Európskeho sociálneho fondu a Európskeho fondu regionálneho rozvoja v rámci Operačného program Ľudské zdroje.

Použitá literatúra

[1] STODŮLKOVÁ, E., ZAPLETALOVÁ, E., 2015. Pedagogika pro střední školy. Beroun: Machart, 2015. 203 s. ISBN 978-80-87938-32-4

[2] GROFČÍKOVÁ, S., 2021. Didaktická koncepcia mastery learning. Nitra: PF UKF v Nitre, 2021. 80 s. ISBN 978-80-558-1847-4

[3] KLEIN, V., 2003. Motivácia k celoživotnému vzdelávaniu. Školiaci program o multikulturalizme a motivácií pre učiteľov, žiakov stredných škôl pochádzajúcich zo sociálne znevýhodneného a výchovne menej podnetného prostredia. EUROFORMES, s.r.o, 2003. 60 s. ISBN 80-89266-07-X

[4] PETLÁK, E., GROFČÍKOVÁ, S., ZAŤKOVÁ, T., 2007. Modernizácia didaktických postupov vo vyučovaní. Nitra: CCV PF UKF, 2007. 89 s. ISBN 978-80-8094-250-2

[5] GROFČÍKOVÁ, S., 2021. Didaktická koncepcia mastery learning. Nitra: PF UKF v Nitre, 2021. 80 s. ISBN 978-80-558-1847-4

[6] KOZÁROVÁ, N., 2021. Metóda pojmového mapovania ako prostriedok hodnotenia v edukačnom procese. Nitra: DMC, 2021. 173 s. ISBN 978-80-558-1743-9

[7] HANUŠ, R., CHYTILOVÁ, L., 2009. Zážitkově pedagogické učení. Praha: Grada, 2009. 192 s. ISBN 978-80-247-2816-2

[8] BEDERKOVÁ, K., 2021. Konštruktivizmus a jeho uplatnenie vo vyučovaní. Štátna školská inšpekcia. [online]. [cit. 2023-02-21]. Dostupné na internete: https://www.ssi.sk/wp-content/uploads/2021/06/Konstruktivizmus-a-jeho-uplatnenie-vo-vyucovani.pdf

[9] TOMENGOVÁ, A., 2012. Aktívne učenie sa žiakov – stratégie a metódy. [online]. [cit. 2023-02-20]. Dostupné na internete: https://mpc-edu.sk/sites/default/files/publikacie/aktivne_ucenie_tomengova_web.pdf

[10] LOKŠOVÁ, I., 2002. Nové koncepce učení, obsahu a forem. Koncepcia tvorivého vyučovania. [online]. [cit. 2023-02-10]. Dostupné na internete: https://journals.muni.cz/pedor/article/view/8310/7476

[11] IŠTVAN, I., 2016. Vybrané kapitoly z didaktiky. Prešov: Prešovská univerzita, 2016. 197 s. ISBN 978-80-555-1730-8

[12] ČAPEK. R., 2015. Moderní didaktika: Lexikón výukových a hodnoticích metod. Praha: Grada Publishing, a.s., 2015. 604 s. ISBN 978-80-247-3450-7

[13] IŠTVAN, I., 2016. Vybrané kapitoly z didaktiky. Prešov: Prešovská univerzita, 2016. 197 s. ISBN 978-80-555-1730-8

[14] Viki.iedu, Kukurica. [online]. [cit. 2023-03-13]. Dostupné na internete: https://viki.iedu.sk/resources/resource/reso-6f79f216-4d45-4439-a827-4c473a48a8bf/play?userResourceContext=false

[15] KOČÁREK, E., 2010. Biologie člověka 1. Praha: Nakladatelství scientia, 2010. 336 s. ISBN 978-80-8690-47-0

[16] SANDANUSOVÁ, A., a kol., 2020. Biológia. Nitra: Enigma Publishing, 2020. 352 s. ISBN 978-80-8133-095-7

[17] Mrugová, D., 2023. Tajnička na vitamíny

Didaktická tvorba modelových hodín a materiálov pre žiakov gymnázií na tému Hormonálna sústava človeka

Didactic creation of model lessons and materials for high school students on the topic The human hormonal system

Veronika Mrugová[1]
Školiteľ: Anna Sandanusová[2]
[1]Katedra zoológie a antropológie, FPVaI UKF v Nitre, Nábrežie mládeže 91, 949 01 Nitra
[1]veronika.mrugova@student.ukf.sk , [2]asandanusova@ukf.sk

Abstrakt
Cieľom príspevku je zistiť ako inovatívne vyučovacie metódy vplývajú na úspešnosť žiakov vo vyučovaní. Taktiež našim zámerom je poukázať na aktivizujúce metódy, ktoré žiakov motivujú a učenie sa pre nich stáva nezabudnuteľným. Teoretická časť zahŕňa stručnú charakteristiku kvality vyučovacieho procesu v súčasnej dobe, didaktické hry a kritické uvažovanie u žiakov. V príspevku sme predstavili druhý model vyučovacej hodiny Ochorenia hormonálnej sústavy, ktorý obsahuje rôzne aktivity a jednotlivé úlohy rozvíjajú u žiakov kritické a logické myslenie, čitateľskú gramotnosť a tvorivosť. Okrem toho predkladáme nami vytvorený pracovný list, ktorý pozostáva zo 7 úloh. Podporné a vzdelávacie materiály sú neoddeliteľnou súčasťou každej vyučovacej hodiny, a preto sme aj my aplikovali takýto inovatívny spôsob výučby žiakom s cieľom upevniť a následne dlhodobo uchovať učivo v pamäti.
Kľúčové slová: ochorenia hormonálnej sústavy, model vyučovacej hodiny, didaktické hry, inovatívne metódy, pred-test a post-test

Abstract
The aim of the work is to find out how innovative teaching methods affect the success of students in teaching. Our intention is also to emphasize activating methods that motivate students and make learning unforgettable. The theoretical part covers a brief description of the quality of the teaching process at this time, didactic games and critical thinking among students. We provide the second model of the Hormonal System Disease lesson in this work, which includes various activities and individual tasks that develop students' critical and logical thinking, literacy and creativity. Additionally we offer a worksheet created by us, which consists of 7 tasks. Supporting and educational materials are an essential part of every lesson, and that is the reason why we also applied such an innovative way of teaching students with the aim of consolidating and subsequently recalling the topic in the memory for a long time.
Key words: diseases of the hormonal system, model of the lesson, didactic games, innovative methods, pre-test and post-test

Úvod

Vraví sa, že škola by nás mala pripraviť na život po jej skončení. Je to naozaj pravda? Je pravdou, že po ukončení školy budeme pripravení na skutočný život? To, že máme vedomosti, nemusí hneď znamenať, že im aj rozumieme. Aj napriek tomu mnohí zo žiakov v súčasnosti nedospeli ku skúmaniu danej informácie a rozvíjaniu kompetencií. Naučili sa veriť tradícií, že to, čo sa im predkladá, je pravda bez toho, aby sami rozmýšľali o pravdivosti daného faktu.

Modely vyučovania, ktoré sme predniesli sú súčasťou stratégie E-U-R. Našou snahou bolo poukázať na zaujímavé aktivity pri učení sa o hormónoch a úplne vynechať tradičný spôsob memorovania vo výchovno-vzdelávacom procese.

Nami vytvorené dve metodiky sme pilotne overovali na Piaristickej spojenej škole sv. Jozefa Kalazanského v Nitre. Súčasťou práce bola tvorba didaktického testu (pred-test a post-test) za použitia Bloomovej taxonómie. Pred-test žiaci písali pred odučením modelových hodín a naopak post-test po ich odučení. Takto sme zistili aké doterajšie vedomosti žiaci mali a ako sa menili výsledky po odučení modelov. Konkrétne úlohy a výsledky sme analyzovali vo forme grafov a tabuliek.

1 Kvalita vyučovacieho procesu

Slovo kvalita predstavuje nejednoznačný pojem, ktorý má viacero významov. Kvalitná škola a kvalitný učiteľ charakterizujú dobrú školu (s vysokou úrovňou)

a dobrého učiteľa. Hospodársky vyspelé štáty berú do úvahy, že jediným riešením konkurencie a zachovania prosperity občanov sú kvalita a inovácia. Na kvalitu vzdelávania zdôrazňuje Rada Európy tým, že musí byť zabezpečená vo všetkých oblastiach a na všetkých úrovniach [1].

Gadušová a kol. (2014) tvrdia, že rozhodujúcim faktorom, ktorý je zodpovedný za kvalitu vyučovania je učiteľ aj žiak. Učiteľ vzhľadom na metódy, ktoré používa a žiak v závislosti ako dané metódy vníma, ako spolupracuje a aké sú jeho nadobudnuté poznatky a zručnosti. Domnievame sa, že neexistuje vzťah 1:1 medzi metódami či formami vyučovacieho procesu a výkonnosťou učenia [2].

Integrácia pre 21. storočie zohráva významnú rolu. Súčasťou vyučovania sú rôzne technológie, ktoré sú integrované do školského, ale aj mimoškolského učenia. Vedomosti žiaci získajú prostredníctvom multimediálnych techník, e-mailovou komunikáciou a rôznymi inštitúciami poskytujúcimi informácie. V minulosti žiak vedel iba to, čo mu učiteľ v škole povedal alebo si to zistil z učebnice. Dnes, podobne ako integrácia je aj globalizácia realitou 21. storočia. Človek rozumie svetu, uvedomuje si spojitosť krajín v rôznych oblastiach ako je veda, šport, umenie, a najmä ochranu sveta pred rôznymi ekologickými katastrofami [3].

2 Význam didaktických hier vo vyučovaní

Už od čias Platóna, Pestalozziho, Rousseaua, Foresta, Froebela, Webera, Isaacsovej, Montessoriovej, Eriksona, Piageta a mnohých ďalších, mala hra svoju funkciu v tradícii výchovy v ranom detstve, pretože tvorí akési okno do detského ponímania sveta. Ako tvrdí Zelina, tvorivá hra maximálne obohacuje žiaka v škole aj vo voľnom čase a stáva sa liekom proti stresu v živote [4].

Didaktickú hru podľa pedagogického slovníka (Prucha, Walterová, Mareš, 2009) charakterizujeme ako spontánnu činnosť žiakov, ktorej výsledkom sú didaktické ciele. Každá hra má svoje pravidlá a tie sa musia dodržiavať. Žiaci ju môžu hrať v školskom prostredí – v telocvični, v učebni, na školskom ihrisku a pod. Učiteľ vie didaktickú hru aplikovať na každom type školy a takisto aj v rôznych častiach vyučovacej hodiny. Hra môže byť použitá ako motivačná časť, pri osvojovaní a upevňovaní učiva alebo pri opakovaní učiva. Dôležité sú však ciele vyučovacej hodiny, ktoré sa musia uskutočniť [5].

Hanuš a Chytilová (2009) tvrdia, že v každodennej pedagogickej praxi sa stáva hra nenahraditeľným prostriedkom výučby. Jej používaním vytvárame rôzne príbehy, situácie, deje, role v ktorých sa žiaci vedomostne zlepšujú a rozvíjajú svoje skúsenosti. Hra je prostriedok, pri ktorom si overujeme teoretické poznatky, získavame životnú skúsenosť a prepájame ju s reálnym dianím vo svete. Veľmi dôležité a podstatné je odpovedať si na otázky: Čo je cieľom hry? Čo dosiahnem? Čo u žiaka rozvíjam? Aký vplyv to má na žiaka? Cieľ musí byť presne a jasne definovaný a najmä dosiahnuteľný a uskutočnený. Dôraz treba klásť na jeho pochopiteľnosť a vyjadrený by mal byť niekoľkými nekomplikovanými výrazmi [6].

Pri realizácií hry fungujú určité pravidlá. Tie organizujú ich aktivitu a určujú spôsob činností žiakov. Zvyčajne sú súčasťou hravých prvkov, kde sa preukazuje súťaživosť žiakov a snaha dosiahnuť najlepší výsledok [7].

Vankúš (2012) opisuje postup hry ako realizáciu, pri ktorej učiteľ usmerňuje žiakov, a tí sa aktívne zapájajú. Je potrebné, aby činnosť, ktorú vykonávajú žiaci bola zaujímavá a motivovalo ich to k aktivite. Náležitá je primeranosť veku a schopnosť žiakov pre dosiahnutie výsledkov. V záverečnej fáze hru vyhodnotíme. Žiaci získavajú body za aktivitu, pochvaly, známky a pod. Dosiahnutý výchovno-vzdelávací cieľ má za úlohu žiakov motivovať aj v ďalších činnostiach [8].

Hra Board Race

Board race je hra, ktorú môže učiteľ využiť na viaceré účely. Slúžiť môže ako opakovacia a precvičovacia forma alebo ako prostriedok, ktorým je možné zistiť znalosti žiakov v danej oblasti ešte pred začatím jej výučby. Podstatou hry je, že proti sebe súperia dva tímy. Na tabuli sú napísané slovné spojenia a témy pre oba tímy na každej z polovíc tabule. Hráči v tíme sa postupne po jednom striedajú pri tabuli, pričom napísať môžu vždy iba jeden výraz. Žiak po tom čo napíše na tabuľu konkrétne slovo alebo slovné spojenie sa vráti späť k tímu a odovzdá štafetu ďalšiemu spoluhráčovi. Cieľom hry je čo najrýchlejšie a hlavne bezchybne napísať najviac výrazov. Hra končí vypršaním stanoveného času. Pri tejto hre sa vytvára tímová spolupráca, budujú sa priateľské vzťahy a tvorí sa pozitívna klíma v triede [9].

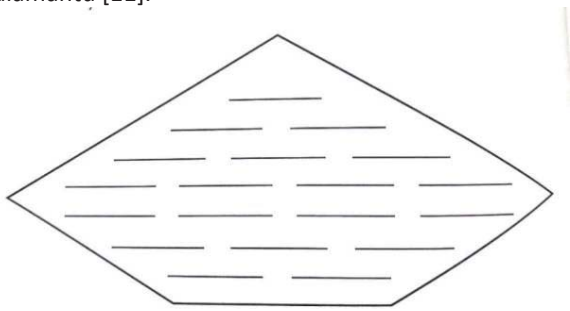
Hra Domino

Túto hru vieme využiť vo všetkých ročníkoch a taktiež aj v každom tematickom celku na rôznych predmetoch. Najčastejšie sa používa vo fixačnej a diagnostickej časti vyučovacej hodiny. Na výkres si nakreslíme tabuľku s dvomi stĺpcami. Počet riadkov je ľubovoľný, záleží na nás koľko si zvolíme. Do prvého políčka v riadku

napíšeme odpoveď, do druhého riadku otázku, pričom odpoveď na jednej kartičke neodpovedá otázke na tej istej kartičke. Výkres musíme postrihať po riadkoch tak, aby sme dostali dominové kartičky, čiže s dvomi políčkami [10].

Hra Diamant

Je to brainwritingová metóda, ktorá využíva písanie pojmov, viet, synoným a opozít, aby najlepšie vystihla hlavné slovo. Môže sa realizovať ako skupinová práca, práca vo dvojiciach alebo ako samostatná práca. Predmetom je zvyčajne jedna téma. Ako prvé učiteľ vysvetlí pravidlá a na tabuľu nakreslí grafickú schému diamantu [11].



Obr. 1 Štítna žľaza
Zdroj: Čapek, 2015

3 Kritické myslenie

Kritické myslenie definujeme ako schopnosť skúmať problém na základe analýzy, hodnotenia, relevantných dôkazov i argumentov. V osobnom, ale aj profesionálnom živote sú zručnosti kritického myslenia rozhodujúce. Aký dôležitý je vlastne kritický mysliteľ? Človek mysliaci kriticky musí pochopiť určité súvislosti medzi myšlienkami a faktami. Z pedagogického hľadiska ide o zvyšovanie schopností pri posudzovaní nových informácií, vytváraní úsudkov, hodnotení informácií a ich zdrojov [12].

Kritické myslenie zahŕňa komplexný proces myslenia a schopnosti žiakov sú nasledovné :

- schopnosť argumentov a vytvorenia záverov iných ľudí,
- schopnosť hodnotenia z rôzneho uhlu pohľadu,
- schopnosť spravodlivosti a pravdivých dôkazov,
- schopnosť čitateľskej gramotnosti, identifikácie pojmov,
- schopnosť využívať logiku a uvažovať o problémoch štruktúrovaným spôsobom,
- schopnosť vyvodzovať závery,
- schopnosť presviedčať iných opodstatnenými verziami [13].

4 Metodika práce

Strategické pre nás bolo vybrať si tému, naštudovať relevantnú odbornú aj didaktickú literatúru, oboznámiť sa so štátnym vzdelávacím programom ISCED (3A), vytvoriť dve modelové hodiny, k nim pracovné listy a didaktický test. Prvý model Hormonálna sústava a druhý model Ochorenia hormonálnej sústavy boli overované na Piaristickej spojenej škole sv. Jozefa Kalazanského v Nitre v 3. ročníku gymnnázia v rámci predmetu Seminár z biológie. Didaktický pred-test nám pomáhal odhaliť doterajšie vedomosti žiakov na tému Hormonálna sústava. Po odučení modelovej hodiny sme použili post-test, kde sme zistili mieru nadobudnutých vedomostí žiakov, ich spôsoby zmýšľania a vyjadrovania sa v písomnej podobe. Výsledky zistení sme analyzovali, zhotovili sme grafy, tabuľky a vyvodili závery.

5 Výsledky a diskusia

Cieľom tejto práce bolo vytvoriť a overiť podporné vzdelávacie materiály pre tematický celok Hormonálna sústava človeka na gymnáziách.

Na výskume sa zúčastnilo 16 žiakov 3.B triedy. Z toho bolo 10 dievčat a 6 chlapcov. Pred overením našich modelových hodín sme žiakom rozdali didaktické pred-testy, na ktoré mali časovú dotáciu 30 minút. Rovnako písali didaktické testy po odučení nami navrhnutej modelovej hodiny, teda post-testy. Test pozostával z 8 úloh, ktoré boli zamerané na prírodovednú a čitateľskú gramotnosť, logické a tvorivé myslenie, kritické myslenie a spôsoby riešenia problémových úloh. Testové úlohy si vyžadovali sústredenosť a formuláciu zmysluplnej odpovede, pretože okrem spájacích a grafických úloh mali otázky charakter voľnej odpovede. U žiakov dochádza k jednoduchšiemu osvojovaniu učiva vtedy, ak sa aktívne zapájajú do vyučovacieho procesu. Navrhnuté modelové hodiny sa vymykali tradičnému spôsobu vyučovania, a snahou bolo vytvoriť čo najviac didaktických hier a aktivít vo dvojiciach či v skupinách.

Naše oba modely sú založené na stratégiách rozvíjajúcich pamäť a myslenie, spôsoboch riešenia problémov a predstavujú ucelený systém metód, foriem a prostriedkov, ktorými by sa malo vyučovanie realizovať. Počas súvislej pedagogickej praxe sa nám naše očakávania a tvrdenia naplnili. Žiaci boli aktívni, zapájali sa do skupinových hier, kriticky uvažovali a chápali pojmy, súvislosti a vzťahy medzi nimi.

5.1 Druhý model vyučovacej hodiny
Ochorenia hormonálnej sústavy

Druhá modelová hodina je zameraná na viac aktivít s cieľom upevniť informácie, ktoré žiaci získali na prvej hodine. Tiež je zameraná najmä na poznanie ochorení Hormonálnej sústavy, ktoré sú súčasťou tematického celku. Využívame trojfázový model E-U-R a modelová hodina je vytvorená v súlade so štátnym vzdelávacím programom (ISCED 3). Obidva modely sú vhodné na vyučovaciu hodinu biológie, prípadne seminára z biológie pre žiakov 3. a 4. ročníka gymnázií.

Evokácia

Vyučovaciu hodinu začneme experimentom, kedy u žiakov vzbudzujeme zvedavosť a motivujeme ich záujem o danú tému. Meraním cukru v krvi si žiaci uvedomujú aké riziká a nástrahy spôsobujú ochorenia endokrinných žliaz. Dôležité je, aby sa žiaci zamysleli a pouvažovali, aké potraviny konzumujú a čo môžu spôsobiť ľudskému organizmu. Okrem toho je potrebné spomenúť vonkajšie faktory ako stres, alkohol, návykové látky spôsobujúce zmenu hladiny hormónov v tele. Takisto využívame aktivizujúce metódy a žiaci si učivo z predchádzajúcej hodiny opakujú a utvrdzujú.

EXPERIMENT

Poznámka: Žiakov vopred upozorníme, že na najbližšej vyučovacej hodine sa bude realizovať experiment — Zisti si svoju glykémiu v krvi. Experiment bude prebiehať na báze dobrovoľnosti. Žiaci, ktorí sa rozhodnú experiment absolvovať budú upozornení, aby neraňajkovali, pretože hladina glukózy z krvi sa meria nalačno. Meranie sa vykonáva minimálne 8 hodín po poslednom jedle. Učiteľ prinesie do školy glukometer a ihly, ktoré sú vysterilizované. Dodržané budú všetky zásady hygieny a bezpečnosti práce. Žiaci si zapíšu svoje namerané hodnoty a na konci experimentu prichádza diskusia. Učiteľ sa pýta žiakov aké sú normálne a hraničné hodnoty glykémie, ako by sme sa mali vyhýbať sladkostiam a aké náhradné alternatívy obsahujúce sacharidy by sme mali konzumovať [14].

Obr. 2 Meranie glukózy
Zdroj: [15]

Aby si žiaci učivo lepšie osvojili z predošlej hodiny, pripravili sme pre nich tabuľku s endokrinnými žľazami a ich funkciou. Je veľmi dôležité poznať význam žliaz a hormóny, ktoré sa tam produkujú.

Cvičenie č. 1

Do prázdnych stĺpcov napíš funkciu alebo názvy jednotlivých endokrinných žliaz.

Poznámka : všetky uvádzané cvičenia sú prezentované ako správne riešenia a sú vyznačené modrou alebo červenou farbou.

Tabuľka 1 Endokrinná žľaza a jej funkcia
Zdroj: [16]

Endokrinná žľaza	*Funkcia*
Hypofýza	Ovplyvňuje činnosť iných žliaz s vnútorným vylučovaním.
Epifýza	Vytvára sa melatonín, ktorý pôsobí na sekréciu pohlavných hormónov, ovplyvňuje režim spánku a bdenia.
Štítna žľaza	Udržiavanie bazálneho metabolizmu, hospodárenie s vodou.
Prištítne telieska	Pôsobí na obsah vápnika v krvi, reguluje tvorbu kostného tkaniva.
Nadobličky	Zabezpečujú látkovú premenu, hospodárenie s vodou a soľami, prekonávanie stresu, záťaže.
Pankreas	Vylučovanie tráviacich enzýmov, premena cukru.
Týmus	Zabezpečuje obranné schopnosti organizmu.
Pohlavné žľazy	Mužské: vývin sek. pohl. znakov – maskulinizačný účinok.
	Ženské: menštruačný cyklus ženy.

Uvedomenie si významu

Pre túto fázu je charakteristický samotný výklad, kedy sa žiaci snažia počúvať učiteľa čo najviac a zapamätávajú si rôzne pojmy a súvislosti. Okrem výkladu a vysvetľovania je použitá metóda riadenej diskusie, skupinová práca a práca s textom. Našim

cieľom je prinútiť žiakov čo najviac uvažovať, zisťovať príčiny a dôsledky jednotlivých ochorení hormonálnej sústavy.

AKTIVITA 1. Didaktická hra ÁNO/NIE

Zakrúžkuj či ide o správne (ÁNO) alebo nesprávne (NIE) tvrdenie

1. Parathormón je zodpovedný za premenu vápnika v organizme a udržiavanie jeho stálej hladiny v krvi. ÁNO/NIE

Riešenie: ÁNO

2. V Langerhansových ostrovčekoch pankreasu sa tvorí estrogén. ÁNO/NIE

Riešenie: NIE

3. Dreň nadobličiek tvoria hormóny adrenalín a noradrenalín. ÁNO/NIE

Riešenie: ÁNO

4. Odpoveď organizmu na vylúčenie hormónu je pomalšia ako pri nervovej regulácií. ÁNO/NIE

Riešenie: ÁNO

AKTIVITA 2. Zhlukovanie

Do stredu papiera si žiaci napíšu *Diabetes mellitus.* Ich úlohou bude okolo kľúčového slova napísať všetky slová či slovné spojenia, ktoré im napadnú a zakrúžkujú ich. Časová dotácia bude 10 minút. Slová, ktoré budú so sebou súvisieť nám žiaci odôvodnia a vysvetlia aké vzťahy sú medzi nimi.

Poznámka: Pri tejto jednoduchej vyučovacej metóde sú žiaci nútení zamýšľať sa nad ochorením a zistiť čo najviac slov spojených s diabetom. Ide o aktívne premýšľanie a mapovanie, ktoré podnecuje žiakov k aktívnemu rozvíjaniu svojich nápadov a myšlienok.

Obr. 3 Zhlukovanie
Zdroj: [17]

Otázka:* *Kriticky zhodnoť prečo vzniká ochorenie Diabetes mellitus a napíš aké typy diabetu poznáš.

Riešenie: Inzulín napomáha svalom, tukovému tkanivu a pečeni vo využívaní cukru z krvi. Tento hormón tvoria B-bunky v pankrease (podžalúdkovej žľaze) a tá ho vylučuje. Diabetes mellitus vzniká v dôsledku toho, že pankreas neprodukuje dostatok inzulínu alebo bunky tela nevedia správne reagovať na produkovaný inzulín. Existuje Diabetes mellitus I. typu, Diabetes mellitus II.typu a Gestačný diabetes.

Problémová úloha

Soňa má tridsaťpäť rokov, je vydatá a pracuje ako ekonómka. Spolu s manželom sa snažia roky o dieťa, ale nedarí sa im to. Soňa sa jedného dňa odhodlá a pôjde na lekárske vyšetrenie, aby zistila prečo nemôže mať deti.

1. Pouvažuj a napíš čo by sa stalo, ak by lekár povedal Soni, že všetky lekárske vyšetrenia sú v norme a je schopná mať potomstvo.

Riešenie: V tom prípade by musel ísť aj jej manžel na lekárske vyšetrenie, kde by sa potvrdil problém v stimulácií pohlavných žliaz, čiže k nefunkčnosti semenníkov.

2. Napíš aké hormóny sú dôležité pre správne fungovanie pohlavnej sústavy.

Riešenie: Dôležité sú hormóny, ktoré patria do skupiny gonadotropínov, konkrétne folikulostimulačný a luteinizačný hormón. Pri zvýšenom alebo zníženom stave tohto hormónu môžu v tele žien znamenať nefunkčnosť vaječníkov, a u mužov zas nefunkčnosť semenníkov.

3. Vymenuj najmenej 2 vonkajšie faktory, ktoré môžu vplývať na plodnosť.

Riešenie: Stres, poruchy výživy, vystavovanie RTG žiareniu, dlhodobé užívanie niektorých liekov, preťaženie organizmu a pod.

AKTIVITA 3. Zisti kto som

Možno, že teraz v dospelosti si uvedomuješ ako ti chýbam. Som párový lymfatický orgán. Zdá sa, že odkedy si dospelý akoby si bol náchylnejší na choroby a rôzne poranenia. Pamätám si, že najväčšiu slávu som dosiahol v tvojich detských časoch. Uľahčoval som dozrievanie T-lymfocytov, ktoré sú dôležitou súčasťou imunitného systému. Taktiež som zohrával dôležitú úlohu pri tvojom raste a brzdil vývinu pohlavných orgánov. Snažil som sa tvoj organizmus chrániť najviac ako som vedel, ale keď si rástol a prišla puberta, cítil som sa nepotrebný a musel som sa zmeniť tukové tkanivo. **Pouvažuj a napíš o aký lymfatický orgán ide.**

Riešenie: detská žľaza -týmus

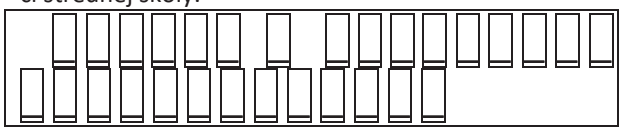
AKTIVITA 4. Určite ti to páli !

Žiakov si rozdelíme do 3 skupín. Tí si medzi sebou zvolia svojho rozhodcu, ktorý ich bude zastupovať pri hádaní tajničky. Žiaci sedia v troch skupinách a v dostatočnej

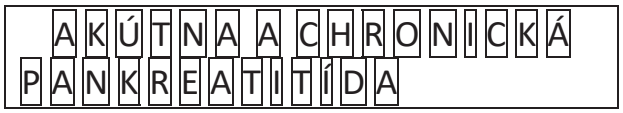
vzdialenosti od seba. Jeden zo žiakov je asistent, ktorý zapisuje do tajničky písmená. Poradie skupín sa určuje podľa hodenia kocky a vylosovania čísel. Pri tejto hre je viacero kôl a môže sa aj rozdeliť na 2 časti:

A) *Prvá je hádanie písmen v tajničke a zistenie celého znenia tajničky.*
B) *Druhá časť je vysvetlenie uhádnutého pojmu.*

Poznámka: Čím je väčší počet slov v tajničke, tým aj počet kôl a časová dotácia. Závisí to najmä od šikovnosti žiakov či uhádnu a vysvetlia skrytý pojem v tajničke. Táto metóda má univerzálny charakter a dokážeme ju využiť aj na iných predmetoch základnej či strednej školy.



Obr. 4 Nevyplnená tajnička (Zdroj: Mrugová, 2023)

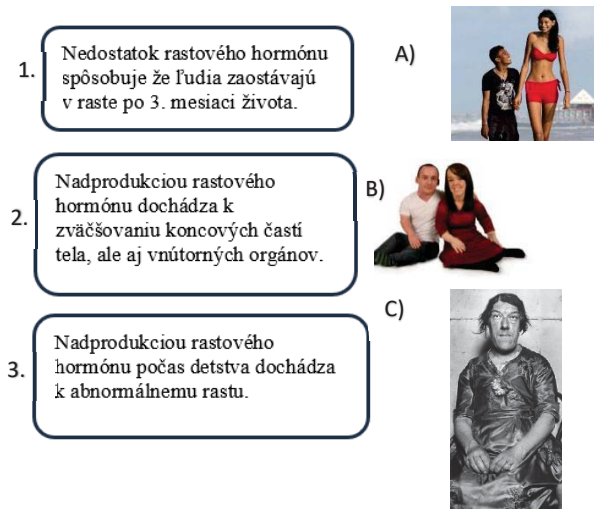


Obr. 5 Vyplnená tajnička (Zdroj: Mrugová, 2023)

Riešenie:

A) Akútna a chronická pankreatitída.
B) Zápalové ochorenie pankreasu nazývame pankreatitída. Poznáme 2 druhy a každá z nich môže viesť ku komplikáciám. Akútna pankreatitída je nebakteriálny zápal pankreasu a vedie k postihnutiu s okolitého tkaniva, samotnej žľazy či iných orgánov. Chronická pankreatitída je charakterizovaná postupnými zmenami a ireverzibilnou náhradou žľazy konkrétne fibrotickým tkanivom.

Prečítaj si text a správne spoj definíciu s obrázkom.



Riešenie: 1-B, 2-C, 3-A

Reflexia

Všetky dôležité ciele boli na tejto hodine naplnené. Žiaci sa dozvedeli viac informácií o endokrinných ochoreniach a zapamätali si ich názvy. Taktiež si uvedomili dôležitosť správnej hladiny hormónov v tele a dôsledky, ktoré môžu nastať. V závere vyučovacej hodiny ponechá učiteľ priestor na diskusiu pre žiakov, aby sa pýtali otázky, ktoré im boli nejasné a nepochopili ich.

Pracovný list

Pracovný list *Ochorenia hormonálnej sústavy* tvorí 7 úloh a zahŕňajú aj správne riešenia (označené červenou farbou). Nachádzajú sa tu rôzne úlohy na kritické a tvorivé myslenie, čitateľskú gramotnosť, súčasťou sú aj grafické úlohy a úlohy zamerané na riešenie problémov.

1. Zamysli sa a zhodnoť podľa seba, ktorá žľaza ti svojim tvarom pripomína motýlie krídla:

a) hypofýza
b) štítna žľaza
c) šuškovité telieska
d) prištítne telieska

2. Zisti čo do logického radu nepatrí a odôvodni prečo:

a) hypotyreóza – Basedowova choroba – ~~nanizmus~~ – struma
Odôvodnenie: nepatrí nanizmus, pretože je to ochorenie hypofýzy a všetky ostatné sú ochorenia štítnej žľazy

b) ~~kretenizmus~~ – nanizmus – gigantizmus – akromegálie
Odôvodnenie: nepatrí kretenizmus, je to ochorenie štítnej žľazy, ostatné sú ochorenia spôsobené poruchou rastového hormónu, ktorý sa tvorí v hypofýze

c) estrogén – estradiol – gestagén – ~~testes~~
Odôvodnenie: nepatrí testes, pretože je to latinský názov semenníkov, ostatné sú ženské pohlavné hormóny

d) inzulín – ~~gestagén~~ – glykogén – glukagón
Odôvodnenie: nepatrí gestagén, pretože je to ženský pohlavný hormón, ostatné slová súvisia a vytvárajú vzťahy s podžalúdkovou žľazou

3. Pozri sa na obrázky, porozmýšľaj a napíš o aké ochorenia hormonálne sústavy ide:

Basedowova choroba ***Diabetes mellitus*** **Cushingov syndróm**

4. Porozmýšľaj a napíš k definícií správne ochorenie:
Diabetes mellitus 2. typu je komplexná metabolická porucha pri ktorej je znížená citlivosť na inzulín v pečeni, tzv. inzulínová rezistencia pri ktorej dochádza pri poruche sekrécie inzulínu v beta bunkách pankreasu. Diabetes mellitus 1. typu vzniká pri absolútnom nedostatku inzulínu a postihuje beta bunky Langerhansových ostrovčekov pankreasu.
Gigantizmus je nadbytok rastového hormónu a spôsobuje nadmerný rast v mladosti.
Nanizmus je nedostatok rastového hormónu a zapríčiňuje trpasličí vzrast.
Akromegália je zvýšená produkcia rastového hormónu spôsobuje rast neproporčných častí tela – rast nosa, nadočnicové oblúky i konce prstov.
Hypertyreóza vyvoláva stav Basedowova choroba, ide o nadprodukciu hormónov štítnej žľazy.

5. Kamarát Fero má *diabetes mellitus*. V škole si pichá inzulín každý deň. Vie akú dávku inzulínu jeho telo potrebuje a ako si udržať optimálnu glykémiu. Včera sa však stalo niečo vážne, pretože Ferovi po pichnutí inzulínu prišlo zle. Začalo mu silno búšiť srdce, mal studený pot na čele, zbledol v tvári, spomalili sa mu reakcie, bol zmätený a pomaly začal strácať vedomie.

a) Popremýšľaj a kriticky zhodnoť čo mohlo spôsobiť, že sa Fero cítil zle. Napíš aké faktory mohli ovplyvniť glykémiu:

Riešenie: Príčinou prečo sa Fero cítil zle bola hypoglykémia — nízka hladina glukózy v krvi. Existuje viacero variant ako k nej môže dôjsť. Najviac pravdepodobné je, že Fero si pichol viac inzulínu ako si zvykne podávať iné dni, čo aj spôsobilo náhly pokles hladiny cukru v krvi. Avšak dôležité je spomenúť aj ostatné faktory ovplyvňujúce hladinu cukru v krvi, napr. či si Fero pred pichnutím inzulínu zmeral glykémiu, pretože existuje možnosť , že práve v tom čase už prebiehal pokles glykémie, čo Fero spočiatku nepociťoval a podaná dávka inzulínu to ešte urýchlila. Do úvahy treba brať aj fakt v akom časovom rozpätí od podania inzulínu Fero prijal jedlo , pretože sa mohlo stať, že sa Fero po podaní inzulínu zabudol najesť, resp. zjedol menej ako mal. V neposlednom rade glykémiu ovplyvňuje aj šport, a teda pre náš prípad je dôležité či Fero nevykonával po podaní inzulínu nejakú náročnú fyzickú aktivitu napr.na hodine telesnej výchovy a dávka inzulínu tomu nebola prispôsobená.

b) Na základe určenia diagnózy rozhodni, či máme pacientovi podať cukor alebo inzulín:

Riešenie: Pacientovi je potrebné podať cukor, ktorý mu pomôže. Hoci sa telo pokúša s hypoglykémiou bojovať tým, že produkuje hormón glukagón, musíme zakročiť aj my sami. Glukagón zvyšuje hladinu cukru v krvi, no začne pôsobiť v priebehu dvoch až piatich hodín, čo nerieši akútne nepríjemnosti. Preto je nutné čím skôr cukor do tela prijať. Odporúčané je vypiť ovocnú šťavu, prípadne sladený nápoj alebo priamo kocku cukru. Samotný cukor predstavuje výhodu v tom, že nie je naviazaný na iné látky, ako napr. tuky, a tým rýchlejšie sa dostane do krvného obehu v dôsledku čoho sa hladina cukru v krvi zvýši.

6. Britský lekár Thomas Addison popísal vzácne endokrinné ochorenie. Uvádza sa, že toto ochorenie postihne 4 ľudí zo 100 000 a súvisí to s nedostatočnou produkciou hormónov v nadobličkách. Príznakmi sú nevoľnosť, zvracanie, bolesti brucha, slabosť, znížený krvný tlak či chudnutie. **Zamysli sa a napíš ako sa nazýva ochorenie a hormóny, ktoré neodkážu produkovať dostatočné množstvo:**

Riešenie: Ochorenie sa nazýva Addisonova choroba a prejavuje sa nedostatočným množstvom hormónu kortizolu a aldosterónu. Príčinou je deštrukcia tkaniva nadobličiek spôsobená autoimunitným procesom, zápalom ako aj krvácaním do nadobličiek.

7. Spoj správne dvojice. Uvedom si, že môžu byť spojené aj viaceré ochorenia s 1 endokrinnou žľazou:

1. Gigantizmus	A) Pankreas
2. Basedowova choroba	B) Nadobličky
3. Diabetes mellitus	C) Hypofýza
4. Addisonova choroba	D) Pohlavné žľazy
5. Erektilná dysfunkcia	E) Prištítne telieska
6. Hyperparatyreóza	F) Štítna žľaza
7. Cushingov syndróm	
8. Nanizmus	
9. Pankreatitída	

Riešenie: 1-C, 2-F, 3-A, 4-B, 5-D, 6-E, 7-B, 8-C, 9-A

Záver

Stanovený cieľ v tomto príspevku bol overiť neštandardizovaný didaktický test na hodine biológie.

Od klasickej štruktúry sa didaktický test líšil, pretože obsahoval úlohy rozvíjajúce logické a kritické myslenie, prírodovednú a čitateľskú gramotnosť, úlohy zahŕňajúce riešenie problémov a pod. Žiaci museli uvažovať logicky a nadobudnuté vedomosti nezískali mechanickým spôsobom.

Priemerná úspešnosť v pred-teste bola **54,79%.** Pre porovnanie s post-testom bol priemer **75,21%**, z čoho vyplýva, že priemerný rozdiel úspešnosti žiakov stúpol o **20,42%.** Úspešnosť zlepšenia vedomosti žiakov sa nám potvrdila a jednotlivé úlohy sme detailne analyzovali vo forme tabuliek a grafov v programe Microsoft Excel. Výskum, na ktorom sme sa podieľali nás takisto utvrdil v tom, že vyššie poznávacie funkcie sa u žiakov pred odučením modelu nerozvíjali na takej úrovni ako po odučení modelových hodín. Pre pedagógov je relevantné žiakom neustále poskytovať a vytvárať úlohy podporujúce a rozvíjajúce kritické, logické a kreatívne myslenie spolu s čitateľskou a prírodovednou gramotnosťou.

Poďakovanie

Týmto by som sa chcela poďakovať mojej pani konzultantke PaedDr. Anne Sandanusovej, Ph.D. za jej cenné rady, konzultácie, podporu a usmerňovanie pri písaní práce.
Tento príspevok vznikol v rámci projektu: „Skvalitňovanie praktickej prípravy budúcich pedagogických zamestnancov na UKF v Nitre“ (kód ITMS2014+ 312011Z815). Tento projekt sa realizuje vďaka podpore z Európskeho sociálneho fondu a Európskeho fondu regionálneho rozvoja v rámci Operačného program Ľudské zdroje.

Použitá literatúra

[1] TUREK, I. (2014) Didaktika. Tretie prepracované a doplnené vydanie. Bratislava: Wolter Kluwer, 618 s. ISBN 978-80-8168-004-5
[2] GADUŠOVÁ a kol., (2014). Formovanie kompetencií uvádzajúceho učiteľa. Nitra: UKF, Filozofická fakulta, 2014. 186 s. ISBN 978-80-558-0643-3
[3] PETLÁK, E., (2020). Inovácie v edukácií. 1. vydanie. Bratislava: Wolters Kluwer SR, 2020. 193 s. ISBN 978-80-571-0267-0
[4] MANNIOVÁ, J., (2001). Tvorivosť a didaktická hra vo vyučovaní. [online]. [cit. 2023-03-10]. Dostupné na internete: file:///C:/Users/Veronika/Downloads/8592-Text%20%C4%8Dl%C3%A1nku-15017-1-10-20171203.pdf
[5] DECHTÁROVÁ, M., (2014). Využitie didaktických hier pri fixácii prebraného učiva. [online]. [cit. 2023-03-11]. Dostupné na internete: https://mpc-edu.sk/sites/default/files/projekty/vystup/7_ops_dechtarova_miroslava_-_vyuzitie_didaktickych_hier_pri_fixacii_prebraneho_uciva.pdf
[6] HANUŠ, R., CHYTILOVÁ, L., (2009). Zážitkově pedagogické učení. Praha: Grada, 2009. 192 s. ISBN 978-80-247-2816-2
[7] PELÁNEK, R., (2008). Příručka instruktora zážitkových akcí. Praha: Portál, 2008. 205 s. ISBN 978-80-7367-353-6
[8] VANKÚŠ, P., (2012). Didaktické hry v matematike. [online]. [cit. 2023-03-11]. Dostupné na internete: http://www.comae.sk/Hry/e_DidaktickeHry_Vankus.pdf
[9] BADEGRUBER, B., (2006). 101 More Life Skills Games for Children : Learning, Growing, Getting Along. Hunter House, 2006. 160 s. ISBN 1630268089
[10] LAZOROVÁ, Ľ., (2015). Využitie didaktických hier na hodinách biológie. [online]. [cit. 2023-03-10]. Dostupné na internete: https://archiv.mpc-edu.sk/sites/default/files/projekty/vystup/13_ops_lazorova_ludmila_-_vyuzitie_didaktickych_hier_na_hodinach_biologie.pdf
[11] ČAPEK. R., (2015). Moderní didaktika: Lexikón výukových a hodnoticích metod. Praha: Grada Publishing, a.s., 2015. 604 s. ISBN 978-80-247-3450-7
[12] KOLEŇÁKOVÁ, R. Š., (2021). Fenomén kritického myslenia v edukácii: rozvoj hodnotiaceho myslenia. [online]. [cit. 2023-03-11]. Dostupné na internete: https://www.grantjournal.com/issue/1101/PDF/1101kolenakova.pdf
[13] KALISKÝ, J., (2020). Kritické myslenie a filozofická reflexia v edukácii. Banská Bystrica: Belianum, 2020. 229 s. ISBN 978-80-557-1673-2
[14] KOČÁREK, E., (2010). Biologie člověka 2. Praha: Nakladatelství scientia, 2010. 194 s. ISBN 978-80-86960-48-7
[15] KAJAN, M., (2016). *Meranie glukózy.* [online]. [cit. 2023-03-12]. Dostupné na internete: https://slovenskypacient.sk/meranie-glukozy-glykemie-bezpecnost/
[16] Mrugová V. (2023), Tabuľka-Endokrinná žľaza a jej funkcia
[17] Mrugová V. (2023), Zhlukovanie

Pracovné listy a didaktické hry s botanickou tématikou vo výučbe biológie
Worksheets and didactic games with a botanical theme in teaching biology

Lenka Tomovičová[1]
Školiteľ: Ľudmila Galuščáková[2]
[1,2]Katedra botaniky a genetiky, FPVaI UKF, Nábrežie mládeže 91, 949 01 Nitra
[1]lenka.tomovicova@student.ukf.sk, [2]lgaluscakova@ukf.sk

Abstrakt
Cieľom príspevku bolo vytvoriť pracovné listy a didaktické hry pre žiakov piateho a šiesteho ročníka základnej školy. Pracovné listy sú zamerané na rozvoj samostatnej práce žiakov počas vyučovacej hodiny, slúžia na precvičenie a opakovanie už známych poznatkov. Didaktické hry rozvíjajú skupinovú prácu a komunikačné schopnosti žiakov. Prostredníctvom didaktickej hry dochádza k opakovaniu, ale aj získavaniu nových poznatkov. Na zhotovenie pracovných listov a hier nám poslúžila vlastná fotodokumentácia, fotoherbár a herbár zhotovené počas floristického výskumu v roku 2022 pri obciach Kostoľany pod Tribečom, Velčice a Mankovce. Pracovné listy sme dali vypracovať žiakom piateho a šiesteho ročníka Piaristickej základnej školy sv. Jozefa Kalazanského v Nitre. Po vyhodnotení sme zistili, že problematika pomenovania rastlín nebola pre žiakov náročná. Didaktické hry boli obohatením a spestrením vyučovacieho procesu a žiaci ich hodnotili pozitívne.

Kľúčové slová: základná škola, pracovné listy, didaktické hry, botanika, botanický výskum

Abstract
The aim of the paper was to create worksheets and didactic games for fifth and sixth grade elementary school students. Worksheets are aimed at developing students' independent work during classes, they are used for practicing and repeating already known knowledge. Didactic games develop group work and students' communication skills. The result of the didactic game is repetition, but also acquisition of new knowledge. To create worksheets and games, we used our own photo documentation, photo herbarium and herbarium made during floristic research in 2022 near the villages of Kostoľany pod Tribečom, Velčice and Mankovce. We had the fifth and sixth year pupils of the Piaristic elementary school of St. Jozef Kalazanský in Nitra. After the evaluation, we found out that the task of naming plants was not difficult for the students. Didactic games enriched and diversified the teaching process, and the students evaluated them positively.

Key Words: elementary school, worksheets, didactic games, botany, botanical research

Úvod

Príroda nám ponúka nesmierne pestrú paletu rozličných druhov rastlín aj živočíchov. Je veľmi dôležité bádať, objavovať a poznávať prírodu okolo seba a viesť k tomu aj žiakov základných škôl. Je potrebné učiť žiakov nielen teoretické poznatky, ale poskytnúť im priestor nato, aby sami s radosťou skúmali a poznávali flóru vo svojom okolí. Na prepájanie teoretických poznatkov získaných z výkladu s praktickými poznatkami môžu slúžiť pracovné listy a didaktické hry. V príspevku uvádzame návrhy pracovných listov a hier zameraných na zvýšenie záujmu žiakov o botaniku. Uvedené fotografie s rastlinami v pracovných listoch a hrách sme zaznamenali počas floristického výskumu, ktorý sme realizovali v mesiacoch marec až september roku 2022 na vybraných lokalitách pri obciach Kostoľany pod Tribečom, Velčice a Mankovce.

1 Vzdelávanie na druhom stupni základnej školy

Na druhom stupni základnej školy (šiesty až deviaty ročník) sa vzdelávanie realizuje na základne úrovne ISCED 2, to je úroveň nižšieho sekundárneho vzdelávania [1].

Obsah vzdelávania na úrovni nižšieho sekundárneho vzdelávania ISCED 2 je určený na dokončenie základného vzdelávania, ktoré začalo na úrovni primárneho vzdelávania ISCED 1. Typický vek vstupu žiakov do úrovne nižšieho sekundárneho vzdelávania je 10-12 rokov. Na tejto úrovni dochádza k predmetovému usporiadaniu vzdelávania s viacerými špecializovanými učiteľmi [1].

Počas primárneho vzdelávania žiaci nadobudnú schopnosti systematického učenia, sú schopní čítať, písať a využívať základné operácie matematiky. Počas

nižšieho sekundárneho vzdelávania dochádza k zdokonaľovaniu získaných schopností z primárneho vzdelávania. Základom nižšieho sekundárneho vzdelávania je vytváranie kľúčových vedomostí a základov pre celoživotné učenie [1]. Na úrovni nižšieho sekundárneho vzdelávania sa očakáva osvojenie si základného všeobecného vzdelania, využívanie stratégií efektívneho učenia, nadobudnutie komunikačných spôsobilostí a schopnosti spolupráce. Žiaci sa učia poznávať, hodnotiť, dorozumievať sa a začleňovať do spoločenských vzťahov, čo znamená, že sa začínajú učiť aj mimo školy a následne sú schopní uplatniť svoje nadobudnuté vedomosti v pracovnom, rodinnom, občianskom a osobnom živote [2].

1.1 Vyučovacie metódy

Vyučovacie metódy sú spôsoby, akými učiteľ organizuje proces osvojovania nových vedomostí a zručností žiakov na dosiahnutie výchovno- vzdelávacích cieľov. Je to koordinovaná činnosť učiteľa v prepojení s činnosťou žiakov. Vyučovacie metódy rozdeľujeme podľa poznania na slovné, názorné a praktické. Podľa fázy vyučovacej hodiny rozdeľujeme metódy na motivačné, expozičné, fixačné, diagnostické a hodnotiace [3]. Funkciou vyučovacích metód je sprostredkovanie vedomostí a zručností. Prostredníctvom metód učiteľ motivuje a aktivizuje žiakov, vychováva ich, rozvíja u žiakov komunikačné schopnosti a zároveň aj formuje osobnosti žiakov [4].

Na doplnenie tradičnej výučby učitelia v súčasnosti používajú inovatívne vyučovacie metódy nazývané aj ako aktivizačné vyučovacie metódy. V porovnaní s tradičnými metódami sú aktivizačné metódy náročnejšie na prípravu a vyžadujú materiálne zabezpečenie. Pri využívaní aktivizačných metód sú žiaci aktívni, vyhľadávajú informácie a samostatne ich spracovávajú, spolupracujú so spolužiakmi, pracujú v skupine a tým nadobúdajú schopnosť organizovať svoju prácu alebo aj prácu v skupine. Rozvíja sa u nich samostatnosť, aktivita, tvorivosť a zodpovednosť za vlastnú prácu. Aktivizačnými metódami sú didaktické hry (interakčné, simulačné, scénické), diskusné metódy (diskusia, Philips 66, Hobo), inscenačné metódy (hranie rolí) a situačné metódy (riešenie konkrétnej reálnej situácie zo života) [4].

1.2 Pracovné listy

Pracovné listy sú tlačené učebné pomôcky určené pre samostatnú prácu žiakov [5]. Pracovné listy môžu byť využívané v rôznych fázach vyučovacieho procesu. Predstavujú súbor učebných úloh určitej témy alebo tematického celku na voľných listoch. Slúžia na aplikovanie, opakovanie a upevňovanie učiva. Rozvíjajú u žiakov samostatnosť, myslenie a tvorivosť [6] Pracovné listy majú motivačnú funkciu [5].

Pracovné listy obsahujú inštrukcie, podľa ktorých žiaci vypracovávajú a riešia zadania jednotlivých úloh [6]. Žiaci v pracovných listoch odpovedajú na otázky a riešia zadané úlohy. Podľa typu zadanej úlohy žiaci do pracovných listov dopisujú, dokresľujú, vystrihujú alebo vlepujú chýbajúce a potrebné odpovede [5].

Pri tvorbe pracovných listov je dôležité dodržiavanie nasledujúcich zásad. Úlohy musia byť dobre zoradené, a preto by mali byť prvé otázky čo najjednoduchšie. Otázky by mali byť rozdelené na časti a pri číslovaní úloh je potrebné dať každej časti otázky vlastné číslo. Žiakov sa nesnažíme prostredníctvom pracovných listov nachytať, ale dávame im príležitosť na aplikovanie nových nadobudnutých schopností a znalostí, a preto je potrebné, aby boli úlohy jasné a aby bola obtiažnosť úloh dobre odstupňovaná. Zložitejšie úlohy aplikujeme až po pochopení a precvičení základných postupov. Na precvičovanie zložitejších úloh používame viac ako jeden príklad a postupujeme krok po kroku. Pracovné listy by mali byť čo najzaujímavejšie. Využívame v nich rôzne schémy, grafy, tabuľky, fotografie. Môžeme ich zhotoviť ručne, na stroji alebo na počítači [7]

1.3 Didaktické hry

Didaktické hry sú aktivity, ktorých úlohou je osvojenie si, upevnenie a fixácia učebnej látky. Didaktické hry aktivizujú a motivujú žiakov, rozvíjajú ich myšlienkové a poznávacie procesy. Prostredníctvom didaktických hier dochádza u žiakov k zvyšovaniu tvorivosti, súťaživosti a kooperácii. Žiaci dokážu prepájať teóriu s praxou, využívajú rôzne poznatky, vedomosti a situácie z reálneho života [8].

Každá didaktická hra musí mať svoj cieľ, pravidlá, pomôcky, obsah a hodnotenie. Hry zostavujeme tak, aby boli primerané veku a vedomostiam žiakov a aby mali vždy jasné, stručné a presné pravidlá [3]. Predtým ako začneme so samotnou hrou oboznámime všetkých žiakov s pravidlami a cieľom hry, rozdelíme žiakov do tímov, určíme si vedúceho hry, stanovíme si časový priebeh hry a spôsob hodnotenia [9].

Didaktické hry rozdeľujeme podľa dĺžky trvania na krátkodobé a dlhodobé. Podľa miesta konania môžeme hry rozdeliť na základe toho, či sa vykonávajú v triede, v prírode alebo na ihrisku. Podľa prevládajúcej činnosti môžu byť hry zamerané na osvojovanie vedomostí alebo rozvíjanie pohybových schopností. Podľa

hodnotenia môžu byť hry zamerané na kvalitu, kvantitu, čas výkonu alebo závisia od hodnotiteľa hry [8].

2 Výsledky a diskusia

Zhotovené a navrhnuté pracovné listy a didaktické hry môžu slúžiť ako vhodná učebná pomôcka pri výučbe biológie v piatom a šiestom ročníku druhého stupňa základnej školy. Pri tvorbe pracovných listov a aktivít sme využívali vlastnú fotodokumentáciu, herbár, fotoherbár a zoznamy nájdených rastlín, ktoré sme zaznamenali počas floristického výskumu.

Floristický výskum sme realizovali v mesiacoch marec až september roku 2022 v teréne na 20 lokalitách pri obciach Kostoľany pod Tribečom, Velčice a Mankovce. V obci Kostoľany pod Tribečom sme mali vymedzených 8 lokalít a v obciach Velčice a Mankovce po 6 lokalít. Skúmané územie obcí Kostoľany pod Tribečom, Velčice a Mankovce sa nachádzajú v Nitrianskom kraji, v okrese Zlaté Moravce. Kostoľany pod Tríbečom sú súčasťou Kostolianskej doliny. Územie obce spadá do mierne teplej klimatickej oblasti a preteká ňou potok Drevenica [10]. Velčice spadajú do Žitavskej pahorkatiny. Vo Velčiciach prevláda teplá klimatická oblasť, ktorá prechádza až do mierne teplej klimatickej oblasti. Obcou preteká Čerešňový potok [11]. Mankovce sú orientované severovýchode od Žitavskej pahorkatiny a lemované zo severu Tribečom. Pre obec Mankovce je typické nížinne, mierne suché klimatické pásmo. Obcou preteká potok Stránka [12].

Na zachytenie diverzity rastlín nám slúžili rôzny typy biotopov. Vybrané lokality predstavovali nasledujúce biotopy: teplomilné lémy, nížinná a podhorská lúka, suchomilné trávinno-bylinné a krovinové porasty na vápnitom substráte, bylinný brehový porast tečúcich vôd, xerotermné travinno-bylinné spoločenstvá a dubovo-hrabové lesy. Prevládajúcim biotopom boli teplomilné lemy s počtom druhov 190 a najmenej zastúpené boli dubovo-hrabové lesy (68 druhov). Na základe botanických kľúčov (Dostál, Červenka, 1991, 1992) [13,14] sme počas floristického výskumu určili 273 rastlinných druhov, ktoré sme zaradili do 60 čeľadí. Najviac zastúpenou čeľaďou bola čeľaď astrovité (*Asteraceae)* s počtom druhov 38, čeľaď lipnicovité (*Poaceae,* 25 druhov), čeľaď bôbovité (*Fabaceae,* 21 druhov*),* hluchavkovité (*Lamiaceae,* 20 druhov), ružovité (*Rosaceae*, 15 druhov), mrkvovité (*Apiaceae*, 13 druhov). Zvyšné čeľade boli zastúpené menej ako desiatimi druhmi. Určili sme 6 druhov chránených rastlín podľa (Eliáš, 2015) [15] červenohlav obyčajný (*Anacamptis morio*), veternicu lesnú (*Anemone sylvestris*), snežienku jarnú (*Galanthus nivalis)*, ľan chlpatý (*Linum hirsutum*), vstavač trojzubý (*Neotinea tridentata*), neotineu počernú (*Neotinea ustulata*), vstavač purpurový (*Orchis purpurea*), žltušku lesklú (*Thalictrum lucidim)* a 12 druhov inváznych rastlín.

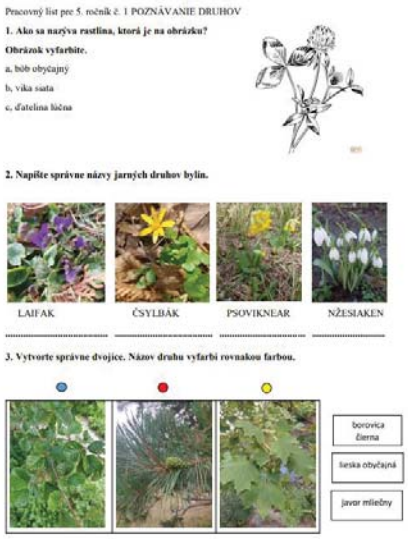
Zhotovili sme pracovné listy a didaktické hry pre piaty a šiesty ročník základnej školy. Pracovné listy sú vypracované podľa metodiky [7]. Prispôsobené veku a vedomostiam žiakov a sú zamerané na rozvoj samostatnej práce žiakov. Pracovný list pre piaty ročník slúži na poznávanie rastlinných druhov.

Pracovný list pre šiesty ročník obsahuje úlohy zamerané na liečivé, jedovaté a chránené rastliny.

Na rozvoj skupinovej práce sme zhotovili didaktické hry. Prostredníctvom didaktických hier chceme u žiakov zvýšiť záujem o botaniku. Zhotovili sme návrh jednej stolovej hry Botanika v kocke a dve kartové hry Rastlinné kvarteto a Pexeso.

2.1 Pracovný list pre piaty ročník základnej školy

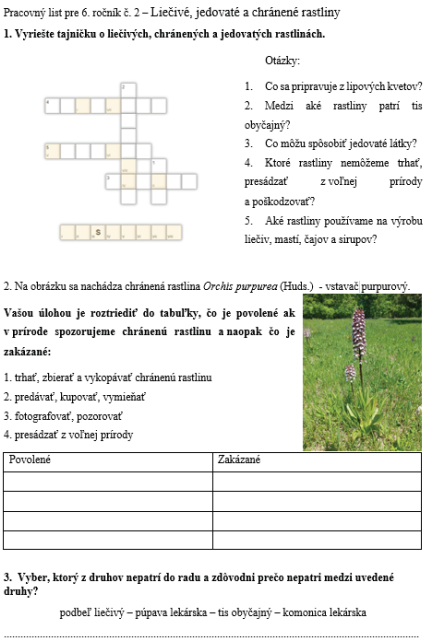
Ukážka pracovného listu č. 1 (Obr. č. 1) pre žiakov piateho ročníka základnej školy - Poznávanie druhov.



Obr. č. 1 Pracovný list pre 5. ročník ZŠ
Zdroj: Autor

2.2 Pracovný list pre šiesty ročník základnej školy

Ukážka pracovného listu č. 2 (Obr. č. 2) pre žiakov šiesteho ročníka základnej školy – Liečivé, jedovaté a chránené rastliny.



Pracovný list pre 6. ročník č. 2 – Liečivé, jedovaté a chránené rastliny

1. Vyriešte tajničku o liečivých, chránených a jedovatých rastlinách.

Otázky:

1. Co sa pripravuje z lipových kvetov?
2. Medzi aké rastliny patrí tis obyčajný?
3. Co môžu spôsobiť jedovaté látky?
4. Ktoré rastliny nemôžeme trhať, presádzať z voľnej prírody a poškodzovať?
5. Aké rastliny používame na výrobu liečiv, mastí, čajov a sirupov?

2. Na obrázku sa nachádza chránená rastlina *Orchis purpurea* (Huds.) - vstavač purpurový.

Vašou úlohou je roztriediť do tabuľky, čo je povolené ak v prírode spozorujeme chránenú rastlinu a naopak čo je zakázané:

1. trhať, zbierať a vykopávať chránenú rastlinu
2. predávať, kupovať, vymieňať
3. fotografovať, pozorovať
4. presádzať z voľnej prírody

Povolené	Zakázané

3. Vyber, ktorý z druhov nepatrí do radu a zdôvodni prečo nepatrí medzi uvedené druhy?

podbeľ liečivý – púpava lekárska – tis obyčajný – komonica lekárska

Obr. č. 2 Pracovný list pre 6. ročník ZŠ
Zdroj: Autor

2.3 Didaktická hra Botanika v kocke

Didaktické hry sú vypracované podľa metodiky [3, 9].

Didaktická hra Botanika v kocke (Obr. č. 3) je stolová hra určená pre 4-5 hráčov. Hra je zameraná na opakovanie stavby tela rastlín, určovanie a pomenovávanie známych druhov rastlín na základe fotografie a slovného opisu. Na realizáciu hry je potrebné hracie pole, hracie karty, figúrky a kocka.

Hracie karty sú rozdelené podľa farieb na tri okruhy – *Uhádni čo som? Uhádni kto som? Uhádni aký mám názov?* Na zelených kartičkách (*Uhádni čo som?*) sa nachádzajú otázky ohľadom stavby tela bylín a drevín. Oranžové kartičky (*Uhádni kto som?*) sú zamerané na určovanie názvu rastlinného druhu podľa slovného opisu. Na modrých kartičkách (*Uhádni aký mám názov?*) sa nachádzajú fotografie rastlín, ktoré sme zaznamenali počas floristického výskumu a je potrebné ich pomenovať.

Na začiatku hry všetci hráči stoja na štarte a hádžu kockou. Začína ten hráč, ktorý hodí najväčšie číslo. Hráči sa figúrkami pohybujú po hracom poli, ťahajú si kartičky s otázkami, podľa toho na akej farbe hracieho poľa sa nachádzajú. Ak uhádnu posúvajú sa ďalej, ak je ich odpoveď nesprávna zostávajú na hracom políčku. Na hracom poli sa nachádzajú okrem zelených, oranžových a modrých políčok aj červené a čierne políčka. Ak sa hráč dostane na políčko červenej farby, môže sa posunúť podľa pokynu dopredu, ak sa dostane na čierne políčko musí sa vrátiť dozadu. Víťazom hry je ten hráč, ktorý sa ako prvý dostane do cieľa.

Obr. č. 3 Didaktická hra Botanika v kocke
Zdroj: Autor

2.4 Rastlinné kvarteto

Rastlinné kvarteto (Obr. č. 4) je kartová hra zameraná na opakovanie známych rastlinných druhov, ale aj poznávanie nových druhov. Prostredníctvom hry sa oboznámime so zaradením jednotlivých rastlinných druhov do čeľadí. Hra je určená pre 3-6 hráčov. Obsahuje 32 kariet, ktoré sú rozdelené do 8 štvoríc. Štvorice kartičiek sú rozdelené podľa čeľadí na vstavačovité (*Orchidaceae*), kapustovité (*Brassicaceae*), hluchavkovité (*Lamiaceae*), ružovité (*Rosaceae*), lipnicovité (*Poaceae*), iskerníkovité (*Ranunculaceae*), bôbovité (*Fabaceae*), astrovité (*Asteraceae*). Fotografie na kartičkách boli zaznamenané počas floristického výskumu.

Na začiatku hry si hráči rozdajú všetky karty. Ak má hráč aspoň jednu kartu zo štvorice, tak si ďalšie karty pýta od ostatných hráčov. Postupne sa počas hry hráči striedajú v smere hodinových ručičiek a vymieňajú si karty medzi sebou. Karty si pýtajú tak, že povedia celý názov rastlinného druhu a čeľaď do ktorej patrí. Ak má hráč všetky štyri karty, odloží ich na stôl. Vyhráva ten hráč, ktorý má najviac štvoríc. V závere hry si žiaci prečítajú aké čeľade sa im podarilo získať.

Obr. č. 4 Didaktická hra Rastlinné kvarteto
Zdroj: Autor

Obr. č. 5 Pexeso
Zdroj: Autor

2.5 Pexeso

Kartová hra Pexeso (Obr. č. 5) je pre dvoch a viacerých hráčov. Pexeso je zamerané na poznávanie nových rastlinných druhov. V pexese sa nachádzajú fotografie vyhotovené počas nášho floristického výskumu. Do pexesa sme zradili chránené a invázne druhy rastlín, lúčne a lesné druhy, rastliny rastúce pri brehu stojatých a tečúcich vôd. Pexeso obsahuje 48 kartičiek, teda 24 párov.

Hráči zamiešajú kartičky a poukladajú ich na stôl tak, aby bola fotografia rastlinného druhu dole a aby nikto nevedel, kde sa ktorý druh nachádza. Úlohou hráčov je hľadať dvojice. Hráči otáčajú kartičky tak, aby všetci videli aký druh je na kartičke a zároveň prečítajú jeho názov. Ak dvojica kartičiek k sebe patrí, hráč si berie kartičky pred seba a má možnosť hľadať ďalšiu dvojicu. V prípade, že kartičky k sebe nepatria hráč ich otočí naspäť a pokračuje ďalší. Vyhráva ten, kto má najviac párov. V závere hry si žiaci prečítajú, aké rastlinné druhy sa im podarilo získať.

Záver

Navrhnuté pracovné listy a didaktické hry sme dali vypracovať žiakom piateho a šiesteho ročníka Piaristickej základnej školy sv. Jozefa Kalazanského v Nitre. Na základe vypracovaných pracovných listov sme dospeli k záverom, že pre žiakov piateho ročníka základnej školy nebolo náročné pomenovanie vybraných rastlinných druhov a vypracovali ich takmer všetci žiaci bez chyby.

Pracovný list o liečivých, jedovatých a chránených rastlinách bol pre žiakov šiesteho ročníka jednoduchý a všetci žiaci ho vypracovali správne.

Didaktické hry zamerané na botaniku boli pre žiakov spestrením vyučovacieho procesu, pretože doposiaľ nemali možnosť na vyučovacích hodinách hrať podobné hry. Prostredníctvom hier si žiaci zopakovali rastlinné druhy, ktoré sú pre nich známe, ale spoznali aj nové druhy. Žiakov najviac zaujali chránené rastliny.

Poďakovanie

Poďakovanie patrí mojej školiteľke Ing. Ľudmile Galuščákovej, PhD., za odborné vedenie, konzultácie a odporúčania, ktoré mi počas písania vedeckého článku poskytla.

Príspevok vznikol s podporou projektov APVV-18-0154 a VEGA 1/0073/20.

Použitá literatúra

[1] JANÍKOVÁ, M. a kol., 2009. Základy školní pedagogiky. Brno: Paido, Masarykova univerzita, 2009. 19-22 s. ISBN 978-80-7315-183-6.

[2] VALIHOROVÁ, M., 2013. Psychologické aspekty výchovy. 1. vydanie. Žilina: EUROKÓDEX, 2013. 67-70 s. ISBN 978-80-8155-029-4.

[3] ŠIMONÍK, O., 2003. Úvod do školní didaktiky. Brno: MSD Brno, spol. s.r.o., 2003. 64s. ISBN 80-86633-04-7.
[4] ZORMANOVÁ, L., 2014. Obecná didaktika. Praha: Grada Publishing, a.s., 2014. 150 s. ISBN 978-80-247-4590-9.
[5] NĚMEČEK, M. a kol., 1985. Stručný slovník didaktické techniky a učebních pomůcek A-Z. Praha: Státni pedagogické nakladatelství, 1985. 106 s. 14-612-85.
[6] VALIŠOVÁ, A. – KOVAŘÍKOVÁ, M., 2021. Obecná didaktika a její širši pedagogické souvislosti v úkolech a cvičeních. Praha: Grada, 2021. 66, 97 s. ISBN 978-80-271-3249-2.
[7] PETTY, G., 2008. Moderní vyučovaní. Praha: Portál, s.r.o., 2008. 145-146 s. ISBN 978-80-7367-427-4.
[8] ZORMANOVÁ, L., 2012. Výukové metody v pedagogike s praktickými ukázkami. Praha: Grada Publishing, a. s., 2012. 64-65 s. ISBN 978-80-247-4100-0.
[9] ZORMANOVÁ, L., 2014. Obecná didaktika. Praha: Grada Publishing, a.s., 2014. 150 s. ISBN 978-80-247-4590-9.
[10] BAXA, P. a kol., 2013. Kostoľany pod Tribečom (Monografia obce). Bratislava: i+i print, spol. s.r.o.,2013. 9-24 s. ISBN 978-80-971437-4-9.
[11] ELIÁŠ, S., 2007. Velčice 1232 – 2007. Martin: Vydavateľstvo Matice slovenskej, s.r.o., 2007. 10-11s. ISBN 978-80-89208-63-0.
[12] ŤAŽKÝ, J. a kol., 2016. Mankovce 1345 – 2016. Nitra: ForPress NITRIANSKE TLAČIARNE s. r. o., 2016. 12-45 s. ISBN 978-80-972586-8-9.
[13] DOSTÁL, J. – ČERVENKA, M. 1991. Veľký kľúč na určovanie vyšších rastlín Ⅰ. Bratislava: Slovenské pedagogické nakladateľstvo, 775s. ISBN 80-08-00273-5.
[14] DOSTÁL, J. – ČERVENKA, M. 1992. Veľký kľúč na určovanie vyšších rastlín Ⅱ. Bratislava: Slovenské pedagogické nakladateľstvo, 1567 s. ISBN 80-08-00003-1.
[15] ELIÁŠ, P., - DÍTĚ, D., - KLIMENT, J., - HRIVNÁK, R., - FERÁKOVÁ, V. 2015. Red list of ferns and flowering plants of Slovakia, 5th edition (October 2014). Biologia, Vol. 70, no. 2 (2015), p. 218–228. ISSN 0006-3088.

Didaktické spracovanie školských biologických pokusov zo zoológie stavovcov

Didactic processing school biological experiments from Vertebrate Zoology

Dominik Kubaník[1]
Školiteľ: Janka Schlarmannová[2]
[1,2]Katedra zoológie a antropológie, FPVaI UKF, Nábrežie mládeže 91, 949 01 Nitra
[1] dominik.kubanik@student.ukf.sk, [2] jschlarmannova@ukf.sk

Abstrakt
Aplikácia školských biologických pokusov do priebehu vyučovania biológie na základných školách môže byť jedným z pozitívnych spôsobov, ako motivovať žiakov k učeniu. Cieľom tohto príspevku je odprezentovať sériu školských biologických pokusov zameraných na stavbu tela, povrch a poznávanie vybraných druhov stavovcov. Vytvorili sme 4 metodické listy a 4 pracovné listy pre žiakov, na témy – ryby, obojživelníky a plazy, vtáky, cicavce. Na základe návrhov vyučovacích hodín sme ich následne odučili v 7. ročníku na základnej škole. Pri realizácii praktických cvičení sme využívali metódy – diskusia, skupinová práca, samostatná práca a taktiež metódy zamerané na demonštráciu a prax, ako pozorovanie a pokus/experiment. Pracovné a metodické listy boli navrhnuté tak, aby boli žiaci aktivizovaní počas celého priebehu vyučovacej hodiny, využili čo najviac zmyslov a získavali nové poznatky na základe vlastných praktických skúseností.

Kľúčové slová: biologické pokusy, stavovce, pracovné listy, pozorovanie

Abstract
The application of biology experiments in biology classes in elementary schools can be one of the positive ways that motivate pupils' learning. The goal of this material is to present a series of school biology experiments focused on body structure, body surface and recognition of mammals. We have created four methodological materials and four worksheets for pupils regarding the topics of fish, amphibians and reptiles, birds and mammals. Based on the lessons we had designed, we subsequently taught the mentioned lessons in grade 7 in an elementary school. During the execution of the practical exercises, we used methods such as discussion, group work, individual work as well as methods focused on demonstration and practice - experiments and observation were used. Worksheets and methodological materials were designed to activate pupils throughout the whole lesson, help them use as many senses as possible as well as gain new knowledge through their own practical experience.

Key Words: biology experiments, vertebrate, worksheets, observation

Úvod

Školské biologické pokusy v podobe praktických cvičení majú nezastupiteľné miesto vo výchovno-vzdelávacom procese. Vedomosti, ktoré žiaci nadobudnú aktívnym spôsobom rozvíjajú schopnosti a zručnosti, využiteľné aj v praktickom živote. Poznatky overené vlastnou prácou či skúsenosťou si žiaci lepšie zapamätajú a sú pre nich trvalejšie. Okrem intelektuálneho rozvoja si žiaci rozvíjajú aj jemnú motoriku pri práci s preparátmi či krehkými laboratórnymi pomôckami.

Praktické cvičenia na hodinách biológie sa často utláčajú do pozadia, čo môže mať za následok viacero faktorov. Jedným z nich je napríklad nízka dotácia hodín biológie na základných školách, nedostatočné vybavenie škôl alebo časová náročnosť prípravy pre učiteľa.

Nami navrhnuté praktické cvičenia sú vytvorené tak, aby si všetky potrebné pomôcky mohol pedagóg vytvoriť sám a boli pre neho bežne dostupné.

1 Pozorovanie

Pozorovanie, ako jedna z najstarších a najpoužívanejších metód pri štúdiu prírody sa vo veľkej miere využíva aj pri školských biologických pokusoch na hodinách biológie. Počas pozorovania, sa žiaci oboznámia s určitým biologickým javom alebo objektom, pričom ich úlohou je skúmať tieto javy či objekty za prirodzených podmienok bez akéhokoľvek zásahu do priebehu [1].

Pozorovanie môže byť veľmi prínosnou metódou v prípade, že nejde iba o jednoduché sledovanie javov,

dejov a predmetov, ale o skutočnú snahu z pozorovania získať a odvodiť jednotlivé vzťahy a zákonitosti, pričom sa žiaci aktívne zapájajú a prezentujú svoje myšlienky a nápady [2].

Dôležitá je aj práca učiteľa so žiakmi počas samotného pozorovania. Neľahkou úlohou, avšak veľmi dôležitou, je predstavenie a priblíženie problematiky, vysvetlenie pozorovaného javu a v neposlednom rade udržanie pozornosti žiakov [1].

Stretnúť sa môžeme s rôznymi formami pozorovania. Žiaci pozorujú objekt/jav krátkodobo (počas trvania jednej vyučovacej jednotky) alebo dlhodobo (napríklad počas jedného mesiaca). Popri klasickom pozorovaní je možné do výučby zaradiť aj pozorovanie komparatívne, kedy je žiakom umožnené porovnať javy alebo predmety a hľadať rozdiely či zhody medzi nimi [3].

Pre úspešnú realizáciu pozorovania je však veľmi dôležitá samotná príprava na túto aktivitu. Stanovenie cieľa, vytvorenie plánu či správnych metodických postupov je nevyhnutnou súčasťou pre splnenie výchovno-vzdelávacích plánov. Súčasťou toho je správny výber úloh a cvičení určených pre žiakov, ktoré musia byť prispôsobené ich zručnostiam, možnostiam a samozrejme dovtedy nadobudnutých poznatkov [4].

2 Experiment/Pokus

Podľa niektorých autorov sú experiment a pokus totožné metódy vyučovania a uvádzajú, že experiment je za účelom vzdelávania zámerne vytvorený proces, v ktorom sú žiakom alebo učiteľom ovplyvňované podmienky, kde na záver vyhodnotíme priebeh a výsledky. Zásadným prvkom je, že musí splniť výchovno-vzdelávacie funkcie [5].

Ďalší autori však nepovažujú experiment a pokus za synonymum. Podľa nich, je experiment špecifická situácia vytvorená na skúšanie a testovanie hypotéz. Pri experimentovaní žiak zisťuje pre neho nové a nepoznané poznatky [6].

Pri pokuse si však žiak overuje pravdivosť faktického poznatku, ktorý už má osvojený, alebo mu bol nejakým spôsobom predstavený alebo odprezentovaný. Pokus dáva žiakovi možnosť uvedomiť si vzťahy jednotlivých úkonov, dejov, javov ako aj príčinno-následkové súvislosti [7].

Viacerí autori rozdeľujú pokusy do dvoch kategórii, a to školské pokusy, počas ktorých žiaci pod vedením vyučujúceho vykonávajú určitú činnosť, pričom dochádza k rozvíjaniu tvorivej činnosti, logickému mysleniu, osvojeniu si vedecko-technologických predstáv o objektoch, pozitívne a realistické postoje k praxi, odhaľovaniu zákonitostí a pod. Druhou kategóriou sú pokusy vedecké, tie sú súčasťou vedeckej a odbornej práce pri skúmaní nových poznatkov z biológie [8].

Pokusy a experimenty realizované na hodinách biológie by mali byť v prvom rade bezpečné pre žiakov, ako aj pedagóga, jednoduché pre úplne porozumenie riešenej problematiky, s reprodukovateľnými a ľahko vysvetliteľnými výsledkami prostredníctvom žiakov [7].

3 Bádanie

Bádateľsky orientované vyučovanie (BOV) je určené najmä na rozvíjanie a podnecovanie vlastného záujmu a bádateľského prístupu [9].

BOV je vyučovacia metóda, ktorej hlavným zámerom je, aby žiaci prirodzene rozmýšľali nad problematikou a súčasne žiakov podnecuje k aktivite a zapájaniu sa do vyučovacieho procesu samovoľne. Jeho základnými prvkami sú aktivizačné metódy, pretože bádanie je zámerný proces, pri ktorom dochádza k stanoveniu problémov, kritizovaniu experimentov a rozlišovaniu možností, výskumom hypotéz, hľadaniu informácií a diskusii s rovesníkmi [10].

Žiaci v procese bádania nadobúdajú rôzne nové kompetencie, a to najmä čo sa týka objavovania, kladenia otázok, plánovania postupu, skúmania, tvorenia záverov a formulácii argumentov [9].

Postavenie učiteľa vo vyučovaní sa v tomto prípade mení. Učiteľ už nie je ten, ktorý formuje a vedie edukačný proces, ako sme zvyknutý pri klasickom type vzdelávania, ale stále je zodpovedný za priebeh vyučovacej jednotky. Jej náplň je však formovaná žiakmi. Pedagóg je ten, ktorý vzbudzuje u žiakov záujem o skúmanie a podporuje ich rastúcu zodpovednosť, súčasne sa snaží, aby žiak hľadal dôkazy, bol schopný si klásť bádateľské otázky a na základe dôkazov dokázal obhájiť a zdôvodniť svoje tvrdenie [11].

4 Materiál a metodika

Článok je zameraný na tvorbu a prezentáciu série školských biologických pokusov zo zoológie stavovcov. V súlade so Štátnym vzdelávacím programom sme vytvorili 4 metodické listy, 4 pracovné listy pre žiakov, podľa ktorých sme realizovali 4 vyučovacie hodiny v 7. ročníku na základnej škole.

Teoretické poznatky sme čerpali z viacerých literárnych zdrojov a rôznych oblastí, ako je biológia, všeobecná didaktika, didaktika biológie a pedagogika.

Nami navrhované vyučovacie hodiny boli odučené na základe trojfázového vyučovacieho modelu E-U-R (evokácia, uvedomenie si významu, reflexia). V úvode hodín si žiaci pomocou rôznych aktivít zopakovali teoretické poznatky, potrebné k úspešnému zvládnutiu praktických cvičení.

Praktické cvičenia boli vytvorené tak, aby materiál potrebný k týmto hodinám bol pre učiteľa či žiakov ľahko dostupný. Všetky preparáty, ktoré boli použité pri výučbe, sme si vytvorili vlastnoručne. Niektoré sú však časovo náročnejšie na prípravu, ako napríklad preparát makrely.

Pracovné listy boli prispôsobené potrebám žiakov, ale aj pedagógov. Pri jednotlivých pokusoch sa nachádza potrebný materiál a pomôcky, pracovný postup a priestor pre zápis alebo nákres zistených výsledkov.

Pri realizácii pokusov si žiaci vyskúšali prácu v skupine, ale tiež aj samostatné činnosti. Ako motivačný prvok sme využili pri práci nové technológie, ako napríklad školské tablety, ktoré žiakom slúžili na vyhľadávanie nových informácii v bádateľsky orientovaných úlohách.

5 Výsledky a diskusia

V tejto kapitole uvádzame výber zo série školských biologických pokusov. V každom pracovnom liste sa pri úlohách nachádzajú potrebné pomôcky, materiál a pracovný postup, podľa ktorého žiaci vykonávajú potrebné úkony.

5.1 Ryby

Téma zameraná na ryby patrí do tematického celku Stavba a funkcie tela stavovcov. Zaradenie praktických cvičení k tejto téme môže pomôcť žiakom s porozumením a poznávaním najmä povrchu a stavby tela rýb.

Pracovný list pozostáva zo šiestich úloh. V úvode praktického cvičenia a zároveň v prvej aktivite si žiaci zopakovali teoretické poznatky, ktoré o rybách mali. Ich úlohou bolo priradiť druh ryby k správnemu tvaru tela a miestu jeho výskytu (stojaté vody, tečúce vody,...). V druhej úlohe spoločne popísali pomocou obrázka stavbu tela makrely obyčajnej. Obrázok nebol vybraný náhodou, pretože na toto cvičenie nadväzuje priamo praktická aktivita.

Ukážka úlohy

Materiál a pomôcky: makrela obyčajná (údená), papier na podloženie, vidlička, špáradlo

Postup:

1. Z makrely opatrne odstránime kožu. Kožu si odložíme bokom, neskôr ju môžeme pozorovať.
2. Jemnou prácou postupne oddelíme „mäso"/svaly od kostí, rebier a chrbtice tak, aby sa nám preparát nepoškodil.
3. Preparát bude takto pripravený na pozorovanie a poznávanie jednotlivých častí tela.
4. Pozorované časti tela zapíš.

Výsledok:

Výsledkom bol funkčný a použiteľný preparát ryby (Obr. 1.), na ktorom bolo jednoduché pozorovať jednotlivé časti tela. Žiaci tak videli rebrá, chrbticu, stavce, plutvy a hlavu.

Obr. 1 Preparát makrely
Zdroj: autor

Ukážka úlohy

Materiál a pomôcky: šupiny kapra, šupiny makrely, šupiny zubáča, koža, lupa (mikroskop), podložka – čistý hárok papiera (podložné sklíčko), preparačná ihla, anatomická pinzeta

Postup:

1. Polož na podložky (čistý hárok papiera) šupinu kapra, zubáča a pozoruj pomocou lupy (mikroskopu).
2. Do rámčekov zakresli tvary šupín a prírastkové kruhy.
3. Pomenuj časti šupín.
4. Pomocou anatomickej pinzety zober z preparátu makrely jednu šupinu.
5. Porovnaj šupiny z makrely s preparátmi šupín kapra a zubáča.
6. Rozdiely zapíš.

Výsledok:

Informácie získané pozorovaním si žiaci zapíšu do pracovného listu. Výsledkom pozorovania má byť štruktúra jednotlivých šupín, ktoré si žiaci zakreslia. Pri porovnaní žiaci zistia či ide o cykloidnú alebo ktenotidnú šupinu.

V nadväzujúcej úlohe mali žiaci na základe počtu prírastkových kruhov zistiť približný vek ryby, z ktorej šupina pochádza. Posledná úloha v pracovnom liste pozostávala z poznávania vybraných druhov rýb, pričom si spoločne charakterizujú ich základné vonkajšie črty.

5.2 Obojživelníky a plazy

V ďalšom pracovnom liste sme sa zamerali na obojživelníky a plazy. Aktivitami, ktoré sme do tejto vyučovacej jednotky zahrnuli, sme chceli žiakom priblížiť kryciu sústavu tela obojživelníkov a plazov, pretože porozumenie tejto problematike môže byť častokrát náročné. Zamerali sme sa najmä na rozdiely medzi nimi.

V prvej úvodnej teoretickej úlohe v pracovnom liste si žiaci preopakovali už nadobudnuté poznatky, pričom si do vopred pripravenej tabuľky (Obr. 2.) dopĺňali základné informácie týkajúce sa obojživelníkov a plazov. Takto vyplnená tabuľka žiakom následne slúži ako rýchly prehľad informácii potrebných k úspešnému zvládnutiu praktických úloh.

OBOJŽIVELNÍKY	PLAZY		
Žaby a mloky	Hady	Jašterice	Korytnačky

Obr. 2 Tabuľka v pracovnom liste
Zdroj: autor

Prvá zaujímavá praktická úloha v tomto pracovnom liste má názov „Jemné ruky výskumníka“. Aktivita môže byť náročnejšia na prípravu pre vyučujúceho, nakoľko jeho úlohou je zohnať zvlek hada a zvlek jaštera. Nám sa podarilo zohnať pekné zvleky z užovky červenej a agamy bradatej. Zo zvleku užovky je následne potrebné odobrať kúsok vo veľkosti asi 1x1 cm, ktorý mierne navlhčíme a spravíme z nej malý šúľok alebo guličku. Nakoľko zvleku agamy nie je tak veľa ako z užovky, taký postup použijeme len pri užovke. Úlohou žiakov bolo v Petriho miske s vlažnou vodou pomocou sklenenej tyčinky vyrovnať zvlek užovky a pripraviť si tak vhodný preparát na pozorovanie.

Ukážka úlohy

Materiál a pomôcky: zvlek užovky červenej, zvlek agamy bradatej, Petriho miska, vlažná voda, sklenená tyčinka (2x), podložné sklíčko, krycie sklíčko

Postup:

1. Do Petriho misky si nalej vlažnú vodu.
2. Zober guličku/zvlek užovky červenej a pomaly ho ponor do pripravenej vody.
3. Pomocou sklenených tyčiniek jemne a opatrne rozprestieraj zvlek, aby nezostal pokrčený.
4. Pripravený rovný plávajúci zvlek zarovno s hladinou opatrne prelož na podložné sklíčko, kde ho ešte povystieraj a nechaj 2-3 minúty stáť.
5. Pre prípravu preparátu zvleku agamy bradatej si priprav podložné sklíčko, na ktoré kvapni kvapku vody.
6. Do kvapky vody na podložnom sklíčku opatrne vlož kúsok zvleku agamy a prikry ho krycím sklíčkom.

Výsledok:

Žiaci si takto pripravili preparáty vhodné na následné pozorovanie (Obr. 3). Na túto úlohu hneď nadväzuje ďalšia, v ktorej sa pripravené preparáty pozorovali.

Obr. 3 Príprava a pozorovanie preparátov užovky a makrely
Zdroj: autor

Ukážka úlohy

Materiál a pomôcky: preparát zvleku užovky červenej, preparát zvleku agamy červenej, mikroskop

Postup:

1. Preparát zvleku užovky červenej zakry krycím sklíčkom a pozoruj pod mikroskopom.
2. Obraz mikroskopu zakresli do rámčeka.
3. Preparát zvleku agamy bradatej taktiež pozoruj pod mikroskopom.
4. Obraz mikroskopu zakresli do rámčeka.
5. Viditeľné rozdiely zapíš.

Výsledok:

Žiaci svoje zistenia zakreslili a zapísali do pracovného listu. Pozorovaním preparátov nadobudli nové znalosti ohľadom stavby a štruktúry povrchu tela obojživelníkov a plazov. Pri týchto úlohách žiaci rozvíjali svoju jemnú motoriku a taktiež praktické zručnosti pri práci s laboratórnou technikou.

Vo štvrtej a piatej úlohe si žiaci zopakovali svoje vedomosti týkajúce sa jednotlivých zástupcov tried a taktiež chránené druhy formou tajničky, či vytvorením tzv. vizitiek (Obr. 4.).

Meno:
Ropucha zelená
Trieda:
Obojživelníky
Vlastnosti:
Belavé sfarbenie chrbta so zelenými škvrnami. V období párenia s červenými škvrnami, ktoré sa strácajú.

Obr. 4 Vizitka ropuchy zelenej
Zdroj: autor

5.3 Vtáky

Treťou témou, ktorej sme sa venovali v rámci sérii školských biologických pokusov, sú vtáky. Zamerali sme sa na jedny z ich základných determinačných znakov, a to nohy a perie.

V prvej úlohe sme sa zamerali na zopakovanie hospodársky významných vtákov prostredníctvom osemsmerovky. V osemsmerovke sa nachádzali názvy samcov, samíc ale aj mláďat. Žiakov táto úloha veľmi zaujala a počas nej vládla v triede veľmi zábavná a príjemná atmosféra.

Druhá úloha pozostávala z pozorovania nôh vtákov (Obr. 5.). Zvolili sme zástupcov, ktorých nohy sa nám podarilo získať či už z obchodu v podobe sušených kusov alebo zo súkromného chovu. Teoretická príprava k tejto úlohe môže byť pre žiakov náročnejšia.

Ukážka úlohy

Materiál a pomôcky: sušené (alebo mrazené) nohy vtákov – kura domáca, prepelica, kačica, pravítko (alebo krajčírsky meter), písacie potreby, lupa, podložka (biely papier)

Obr. 5 Nohy vtákov potrebné k pozorovaniu
Zdroj: autor

Postup:

1. Na podložku (biely čistý papier) si polož vedľa seba nohu kury domácej, prepelice a kačice.
2. Pozoruj rozdiely vo veľkosti – odmeraj dĺžku každej nohy a zistenia zapíš.
3. Pozoruj rozdiely vo farbe.
4. Porovnaj nohy kury domácej a prepelice s nohou kačice. Uveď aký je medzi nimi rozdiel. Zistenia zapíš do tabuľky.
5. Priraď ich nohy k správnemu obrysu vtákov.

Výsledok:

Svoje zistenia žiaci zapísali do pracovných listov. Ako hlavné znaky, ktoré žiaci zistili, boli rozdiely vo veľkosti či farbe, spôsobe využitia nôh (hrabavá hydina) a nohy prispôsobené na plávanie (plávacia blana). Úloha sa im veľmi páčila, počas celého priebehu ich pozorovanie bavilo, nakoľko podľa ich slov ešte nikdy tak zblízka nevideli nohy žiadnych vtákov.

Stavbu pera vtákov mali žiaci možnosť pozorovať v tretej úlohe pracovného listu.

Ukážka úlohy

Materiál a pomôcky: pero z kury domácej, husacie pero, mikroskop, podložné sklíčko, preparačná ihla, nožnice

Postup:

1. Voľným okom pozoruj stavbu pera kury a husi.
2. Stavbu pera zakresli a pomenuj jednotlivé časti.
3. Simuluj úpravu peria, ktoré robia vtáky zobákom. Poruš zástavicu preparačnou ihlou a následne prechádzaj ihlou v smere perútok.
4. Zo zástavice odstrihni cca 1cm^2 a pozoruj jej štruktúru pod mikroskopom.
5. Zistené informácie zapíš, štruktúru viditeľnú pod mikroskopom zakresli a pomenuj jednotlivé časti.

Výsledok:

Pri tejto praktickej aktivite žiaci pretavili svoje už nadobudnuté teoretické vedomosti do praxe, pričom si ich dostatočne upevnili. Svoje zistenia zapísali do pracovného listu, taktiež obraz mikroskopu, kde pekne videli stavbu peria.

Poslednou praktickou úlohou v pracovnom liste venovanom vtákom, bolo pozorovanie stavby vtáčieho vajca. Opäť mali žiaci k dispozícii vajcia viacerých druhov, ktoré pochádzali z domáceho chovu (Obr. 6.).

Ukážka úlohy

Materiál a pomôcky: vtáčie vajcia – prepeličie, slepačie, husacie; Petriho miska, pinzeta, preparačná ihla, lupa

Obr. 6 Prepeličie, husacie a kuracie vajce
Zdroj: autor

Postup:

1. Voľným okom porovnaj všetky tri vajcia. Rozdiely zapíš.

2. Lupou pozoruj povrch vajec. Zisti ako sa do nich dostáva vzduch.

3. Urob na oboch stranách vajíčok pomocou preparačnej ihly dierky a opatrne obsah vajíčka vyfúkni do Petriho misky.

4. Pozoruj vyfúknutý obsah – bielok a žĺtok. Nájdi zárodočný disk a pútko. Porovnaj bielok a žĺtok všetkých troch vajec a rozdiely zapíš.

5. Zakresli pozorované časti vajec, označ ich a pomenuj. Porovnaj svoj nákres s obrázkom v pracovnom liste.

6. Z každého vajca odlúp časť škrupiny, porovnaj ich medzi sebou. Nájdi papierovú blanu a porovnaj jej pevnosť s pevnosťou škrupiny.

Výsledok:

Žiaci najskôr pozorovali vajcia voľným okom, pričom už vtedy zaznamenali rozdiely, či už vo farbe alebo veľkosti. Bližším pozorovaním zistili, že do vajíčka sa dostáva vzduch cez póry vo vápenatej šupinke. Poznatky z pozorovania následne žiaci zapísali a zakreslili do pracovných listov.

5.4 Cicavce

Poslednou štvrtou vyučovacou hodinou, ktorú sme realizovali bola zameraná na cicavce. Počas tejto vyučovacej jednotky, sme sa žiakom snažili ukázať aj ďalšie iné možnosti ako získavať nové informácie. Využili sme rôznu odbornú literatúru a encyklopédie, avšak väčší priestor dostali nové technológie využívané počas výučby, konkrétne tablety.

Prvou aktivitou na preopakovanie vedomostí o cicavcoch bol vedomostný kvíz (Obr. 7.), v ktorom každý žiak súťažil sám za seba. Na záver kvízu žiaci v rebríčku videli, kto koľko získal bodov a na akom mieste sa umiestnil. Žiakov aktivita veľmi bavila, dokonca hovorili, že takéto opakovanie by prijali aj každú vyučovaciu hodinu.

Obr. 7 Kvíz
Zdroj: autor

Nasledovala praktická aktivita, ktorá bola zameraná na pozorovanie ľudského vlasu a zvieracieho chlpu. My sme zvolili chlp psíka.

Ukážka úlohy

Materiál a pomôcky: mikroskop, podložné sklíčko, ľudský nefarbený vlas, zvierací chlp

Postup:

1. Z hrebeňa alebo kefy si odober jeden vlas. Odstrihni z neho malý kúsok.

2. Pri procese pĺznutia psíka ľahko získaš zvierací chlp.

3. Chlp polož na podložné sklíčko, tak isto aj vlas.

4. Štruktúru oboch pripravených preparátov pozoruj pod mikroskopom.

5. Porovnaj ich stavbu a štruktúru, ktorú zakresli do pracovného listu.

6. Rozdiely a zistenia zapíš.

Výsledok:

Žiaci zakreslili štruktúru vlasu aj chlpu viditeľnú pod mikroskopom do svojich pracovných listov, pričom popísali rozdiel medzi nimi. Na vlase sa nedala sledovať vnútorná štruktúra pretože ľudský vlas má povrchovú vrstvu tzv. vonkajšiu vrstvu veľmi hrubú. Tak sa môže na prvý pohľad zdať, že je vlas hrubší a pevnejší. Pri chlpe mohli žiaci vidieť aj vnútornú štruktúru a skladanie jednotlivých vrstiev keratínu.

Druhá úloha bola zameraná na zisťovanie chuti.

Ukážka úlohy

Materiál a pomôcky: cukor, soľ, citrón, grapefruitový džús, 5x pohárik pre každého žiaka, voda, slamka, uterák, lyžička

Postup:

1. Zober si so sebou pracovný list a prejdi k pohárikom.

2. Opatrne ochutnaj malé množstvo roztoku.

3. Zisti či ide o sladkú, slanú, kyslú alebo horkú chuť.

4. Svoje zistenia v tichosti zapíš do pracovného listu.

5. Na záver sa o svojom zistení porozprávaj v triede so spolužiakmi, pričom porovnáte svoje výsledky.

6. Poháriky s roztokmi zakresli do rámčekov a napíš pod svoje obrázky, o ktorú chuť ide a čo roztok tvorí.

Výsledok:

Žiaci otestovali svoje chuťové bunky, pričom svoje výsledky porovnali spoločne v triede.

Poslednou aktivitou v tejto vyučovacej jednotke bolo vyhľadávanie informácii či už na internete alebo v odbornej literatúre na zadané otázky súvisiace s témou.

Ukážka úlohy

Materiál a pomôcky: tablet (alebo iné zariadenie, napríklad PC, notebook, mobil), odborná literatúra, encyklopédie

Postup:

1. Prečítaj si otázky.
2. Pomocou tabletu na internete vyhľadaj informácie, vďaka ktorým budeš vedieť správne odpovedať na otázky.
3. Svoje zistenia zapíš do pracovného listu.
4. Po uplynutí 10 minút diskutuj v triede so spolužiakmi a porovnajte si svoje výsledky.

Otázky:

1. Ktorý cicavec je najväčší a ktorý najmenší?
2. Ako sa nazýva vedný odbor skúmajúci cicavce?
3. Aké môžu byť funkcie jazyka?
4. Čo znamená pojem gravidita?
5. Ktorý suchozemský cicavec je najväčší?
6. Na internete vyhľadaj ďalšiu zaujímavosť o cicavcoch, ktorá zaujme teba aj tvoju triedu.

Výsledok:

Vyhľadávanie správnych informácii môže byť častokrát náročné, a to si vyskúšali aj žiaci. Odpovede na otázky boli: 1. vráskavec obrovský/netopierik najmenší, 2. teriológia, 3. premiešavanie potravy, trhanie trávy, pitie, artikulácia, 4. obdobie vývinu mláďaťa v tele matky, 5. slon africký. Následne v triede prebehla diskusia, kde si žiaci porovnali svoje nájdené informácie.

Záver

Návrhom série školských biologických pokusov zo zoológie stavovcov sme sa žiakom snažili priblížiť a ukázať predmet biológia na základnej škole aj z iného uhľa pohľadu, ako len klasické frontálne vyučovanie. Žiaci boli aktivizovaní počas celej realizácie vyučovacích hodín.

Zaradenie pozorovaní, pokusov a bádateľských aktivít považujeme za dôležitú súčasť výučby predmetu. Takýmto spôsobom žiaci prejavujú väčší záujem o biológiu a na netradičné hodiny sa tešia.

Teoretické poznatky, ktoré žiaci už ovládajú si môžu žiaci prostredníctvom praktických aktivít upevniť a zopakovať. Získané informácie prostredníctvom praktických zručností sú pre žiakov taktiež ľahšie zapamätateľné a v pamäti sa uchovajú dlhšie.

Počas nami realizovaných vyučovacích hodín vládla v triede príjemná pracovná atmosféra, u žiakov bol viditeľný záujem. Do takto pripraveného vyučovacieho procesu sa veľmi aktívne zapojili aj žiaci, ktorí počas bežného vyučovania neprejavovali interes o riešené problematiky, čo považujeme za úspech. Pretože tak sme navrhovali aj úlohy v pracovnom liste, aby bol aktivizovaný a motivovaný každý žiak. Vďaka skupinovým úlohám sa zlepšujú aj vzťahy v triede a kolektíve.

Žiakom sme tiež priblížili používanie moderných technológii pri učení sa biológie. Ukázali sme im, že napríklad tablety alebo smartfóny, môžu využívať aj na vyhľadávanie zaujímavých informácii, a nielen na četovanie a hry.

Preparáty využívané počas praktických cvičení sme si vlastnoručne vopred alebo počas hodiny pripravili. Zostavené boli tak, aby boli voľne dostupné pre každého pedagóga či žiaka, ktorí by si chceli takéto pokusy vyskúšať alebo realizovať priamo v školskej praxi.

Poďakovanie

Touto cestou by som sa chcel poďakovať doc. PaedDr. Janke Schlarmannovej, PhD. za jej vedenie, cenné rady, odbornú pomoc a konzultácie, ktoré mi poskytla počas realizácie návrhov vyučovacích hodín a písaní tohto článku.

Použitá literatúra

[1] PAVLASOVÁ, L. *Prehľad didaktiky biológie.* Univerzita Karlova v Praze, Pedagogická fakulta, 2014. Praha: s. 57.

[2] ČAPEK, R. Moderná didaktika: lexikón výukových a hodnotiacich metód. Grada, 2015. Praha: s. 624.

[3] MAŇÁK, J., ŠVEC, V. *Výukové metody*. Brno: Paido, 2003, s. 2019 ISBN 80- 7315-039-5.

[4] ROBERTS, R. *Using different types of practical within problem-solving model of science*. School Science Review, 2004. 85(312): 113-119.

[5] DOSTÁL, J. Experimentování žáků při výuce - nové možnosti a perspektivy. E-Pedagogium, 2014. 14(1): 7-19.

[6] KOLLÁRIKOVÁ, Z. PUPALA, B. *Predškolská a elementárna pedagogika.* Portál 2001. s. 416.

[7] ALTMANN, A. *Metody a zásady ve výuce biologii.* SPN, Praha, 1975, s. 288.

[8] PRŮCHA, J. *Moderná pedagogika.* PORTÁL, s.r.o. 2009. s.488 ISBN 978-80-7367-503-5.

[9] DOORMAN, M. et. al. *Matematika a přírodní vědy pro život: 45 badatelsky orientovaná výuka a svět práce: čtyři roky evropské spolupráce v rámci projektu MaSciL.* Hradec Králové: Gaudeamus, 2016. ISBN 978-80- 7435-662-9.

[10] VOTÁPKOVÁ, D., *Průvodce pro učitele badatelsky orientovaným vyučováním*. Praha: Sdružení Tereza, 2013. ISBN 978-80- 87905-02-9.

[11] PAPÁČEK, M. *Badatelsky orientované přírodovědné vyučování – cesta pro biologické vzdělávání generací Y, Z A ALFA?* Scientia in educatione, 2010. ISSN 1804-7106.

Aplikácia environmentálnej výchovy do vyučovania geografie

Application of environmental education to the teaching of geography

Patrícia Hricová[1]
Školiteľ: Daša Oremusová[2]
[1,2]Katedra geografie, geoinformatiky a regionálneho rozvoja, FPVaI UKF, Tr. A. Hlinku 1, 949 01 Nitra
[1]patricia.hricova@student.ukf.sk, [2]doremusova@ukf.sk

Abstrakt

Environmentálne problémy a nutnosť ich riešenia v súvislosti s čoraz väčším vplyvom človeka na jeho životné prostredie, v ktorom sa pohybuje, predstavujú jednu z najaktuálnejších a najdôležitejších tém súčasnej doby. Príspevok sa svojím obsahom venuje začleneniu environmentálnej výchovy do vyučovania geografie na druhom stupni základných škôl. Hlavným zámerom je zvýšenie aktuálnych vedomostí a poznatkov o environmentálnych problémoch, ktorým ľudstvo čelí ako aj snaha zlepšiť environmentálne povedomie u žiakov základných škôl. Cieľom príspevku je predstaviť súbor didaktických aktivít, ktoré umožnia žiakom vzdelávať sa hravou a pútavejšou formou. Pri tvorbe návrhov bolo pre nás prioritou zážitkové učenie, rovnako ako aj rôznorodosť použitých foriem a metód pri prevedení jednotlivých aktivít. Medzi použitými formami sme uplatnili individuálne, skupinové i hromadné prevedenie, realizáciu vo vnútornom ale aj vonkajšom prostredí. Aplikované boli viaceré, najmä aktivizujúce a rozvíjajúce metódy, ako napr. diskusné, problémové, situačné či inscenačné metódy ale aj obľúbené didaktické hry.

Kľúčové slová: environmentálna výchova, geografia, environmentálna geografia, didaktické aktivity, formy a metódy vyučovania

Abstract

Environmental problems and the necessity of solving them in connection with the increasing influence of the man on his environment in which he moves, represents one of the most current and important topics of the present time. The article deals with the inclusion of environmental education to the teaching of geography in the higher secondary education in primary schools. The main aim is to increase current knowledge and understanding of environmental problems that humanity faces, as well as an effort to improve environmental awarness among to primary school students. The goal of this article is to present a set of didactic activities that enabling to educate students in an interesting and more playful way. When we creating proposals, learning through the experience was a priority for us, as well as the variety of forms and methods used in the implementation of individual activities. Among the forms used, we applied individual, group and collective execution, implementation in an internal as well as an external environment. Several methods were applied, especially activating and developing, such as discussion, problem, situational and staging methods but also popular didactic games.

Key Words: environmental education, geography, environmental geography, didactic activities, forms and methods of teaching

Úvod

Problémy, ktoré ovplyvňujú naše životné prostredie sa týkajú každého jedného z nás. Vedome či nevedome sa podieľame mnohými faktormi na znečistení prostredia. Žijeme v dobe, kedy sa niektorí ľudia snažia žiť zero waste život (život bez odpadkov), na druhej strane je medzi nami stále veľa ľudí, ktorým je naše životné prostredie ľahostajné. Preto je z nášho hľadiska veľmi dôležité dostávať túto problematiku ľuďom do povedomia, vzdelávať deti v tejto oblasti od skorého veku, aby sa stali ohľaduplnými a uvedomelými obyvateľmi Zeme. Práve tu vedia zakročiť školy a učitelia ako významní činitelia pri aplikácii problematiky environmentálnej výchovy (ENV) do edukačného procesu a ovplyvniť tak environmentálne povedomie žiakov o dôležitosti týchto problémov. Vyučovací predmet geografia je výborným miestom pre implementáciu širokého množstva environmentálnych problémov do jednotlivých vyučovacích tém a okruhov prostredníctvom jednej z 8 prierezových tém – environmentálnej výchovy. Vďaka tejto prierezovej téme má učiteľ možnosť prispieť k rozvoju osobnosti žiaka tak, aby chápal vzťah medzi človekom a životným prostredím. V prvom rade však sám učiteľ nemôže byť

len sprostredkovateľom informácií a faktov o danej problematike, ale svojim správaním a konaním by mal byť vzorom a príkladom pre svojich žiakov.

Cieľom tohto príspevku je predstaviť možnosti aplikácie environmentálnych tém do predmetu geografia zážitkovou formou, aby poznanie tejto problematiky bolo pre žiakov zaujímavým a pútavým edukačným procesom.

Venovať sa environmentálnogeografickej téme so zameraním na tvorbu nových didaktických materiálov bolo podmienené aj faktom nepostačujúcej praktickej aplikácie problematiky do edukačného procesu napriek tomu, že ide o aktuálne a potrebné témy súčasnej doby.

1 Teoreticko-metodické východiská

Pri spracovaní vybranej problematiky sme využili odborné knižné publikácie a internetové stránky, pomocou ktorých sme priblížili problematiku environmentálnych tém a ich zaradenie do vyučovacieho procesu geografie.

Informácie o vyučovacom predmete geografia a jej postavení v edukačnom procese sme čerpali z rámcového učebného plánu pre ZŠ s vyučovacím jazykom slovenským [1] a Inovovaného štátneho vzdelávacieho programu Geografia [2]. Pri objasnení pojmov environmentálna geografia, environmentálna výchova a environmentálna gramotnosť sme vychádzali z publikácií od Hubu [3], Kancíra a kol. [4] a Millerovej [5]. Dôležitosť aplikácie prierezových tém, hlavne prierezovej témy environmentálna výchova, sme objasnili na základe Štátneho vzdelávacieho programu – Environmentálna výchova (prierezová téma) [6]. Spôsoby realizácie ENV v rámci školských vzdelávacích programov a jednotlivých predmetov sme spracovali na základe výskumu od Suchej [7].

Pri tvorbe didaktických aktivít sme využili viaceré vyučovacie metódy, čím sme zabezpečili rôznorodosť jednotlivých aktivít. Využili sme napríklad metódu praktickej činnosti, metódu bádania, pokusu, dramatizácie, práce s textom, kartografickú metódu, pričom sa medzi aktivitami nachádzajú pohybové aj didaktické prevedenia hier. Aktivity sú taktiež realizovateľné viacerými formami v podobe skupinovej, hromadnej či samostatnej práce žiakov.

2 Geografia a jej postavenie v edukačnom procese na základných školách

Geografia je povinným predmetom počas 5 rokov školskej dochádzky na druhom stupni základnej školy. V priebehu týchto rokov je povinných 6 hodín geografie, pričom v piatom ročníku sú to dve hodiny geografie týždenne, v nasledujúcich ročníkoch 1 hodina týždenne. Každá škola však disponuje voliteľnými (disponibilnými) hodinami, ktoré môžu využiť podľa potreby a navýšiť tak počet hodín ľubovoľného predmetu. Prípadné využitie týchto hodín je v kompetencii každej školy [1].

Jednotlivé výkonové a obsahové štandardy rovnako ako aj cieľ predmetu geografia nájdeme v Inovovanom štátnom vzdelávacom programe pre nižšie stredné vzdelávanie – ISCED 2, ktorý obsahuje 8 vzdelávacích oblastí. Predmet geografia patrí do vzdelávacej oblasti Človek a spoločnosť [2].

2.1 Environmentálna geografia

Geografia ako veda rieši problematiku environmentálnych problémov prostredníctvom geografickej disciplíny environmentálna geografia. Environmentálna geografia sa zaoberá aspektami interakcie medzi človekom a prírodou. Zahŕňa dôležitý súbor analytických nástrojov na hodnotenie vplyvu človeka na životné prostredie nie len v ich priestorovej ale aj časovej premenlivosti [3].

Environmentálne problémy nie je možné pochopiť bez poznania fyzickogeografických a humánnogeografických procesov. Práve preto vytvára predmet geografia vhodný priestor pre implementáciu environmentálnej výchovy do edukačného procesu. Z tohto dôvodu sme sa rozhodli pre implementáciu environmentálnych problémov do vyučovania práve v rámci predmetu geografia.

3 Environmentálna výchova a environmentálna gramotnosť

Environmentálna výchova, z anglického jazyka „environmental education“, predstavuje výchovno-vzdelávací proces zameraný na problematiku životného prostredia, ako aj vytváranie pozitívneho vzťahu k samotnému životnému prostrediu. Environmentálna výchova má prierezový charakter, v ktorom sa syntetizujú poznatky z prírodných, technických a spoločenských vied. Okrem pojmu environmentálna výchova sa v pedagogickej a inej odbornej literatúre môžeme stretnúť i s pojmami ako ekologická výchova či výchova k trvalo udržateľnému rozvoju (TUR), resp. k udržateľnému rozvoju. Cieľom environmentálne výchovy je prispieť k rozvoju osobnosti žiaka v oblasti vedomostí, zručností a návykov natoľko, aby bol schopný chápať, analyzovať a hodnotiť vzťahy medzi človekom a jeho životným prostredím [4].

Pod pojmom environmentálna gramotnosť rozumieme schopnosť pozorovať a pochopiť aktuálnu situáciu životného prostredia a následne uskutočňovať kroky, ktoré sú potrebné na zlepšenie alebo obnovenie životného prostredia [5].

3.1 Prierezové témy v štátnom vzdelávacom programe

Povinnou súčasťou štátneho vzdelávacieho programu sú i prierezové témy. V štátnom vzdelávacom programe nájdeme 8 prierezových tém, medzi ktoré patrí aj environmentálna výchova. Zvyšnými prierezovými témami sú: multikultúrna výchova, mediálna výchova, osobnostný a sociálny rozvoj, dopravná výchova - výchova k bezpečnosti v cestnej premávke, ochrana života a zdravia, regionálna výchova a tradičná ľudová kultúra a tvorba projektu a prezenčné zručnosti [6].

Zavedenie prierezových tém do procesu vyučovania je možné viacerými spôsobmi. Prvým spôsobom je zavedenie danej prierezovej témy v rámci integrácie do obsahu vzdelávania vhodného vyučovacieho predmetu. V našom prípade zavedenie prierezovej témy ENV do vyučovacieho predmetu geografia. Druhou možnosťou ako zaviesť prierezovú tému do procesu edukácie je spôsobom samotného vyučovacieho predmetu v rámci rozširujúcich hodín. V rámci edukácie na druhom stupni ZŠ by mali žiaci počas piatich rokov štúdia absolvovať 146 hodín, z toho 115 hodín tvoria predmety povinné, 31 hodín je vyhradených na voliteľné predmety [1]. Učiteľ tak môže v rámci voliteľných predmetov požiadať o zavedenie napríklad hodiny environmentálnej výchovy do riadneho rozvrhu. Okrem týchto dvoch spôsobov máme možnosť o zaradenie ENV do východno-vzdelávacieho procesu napríklad v podobe exkurzie, výletu či projektového vyučovania týkajúceho sa danej prierezovej témy.

3.2 Prierezová téma environmentálna výchova

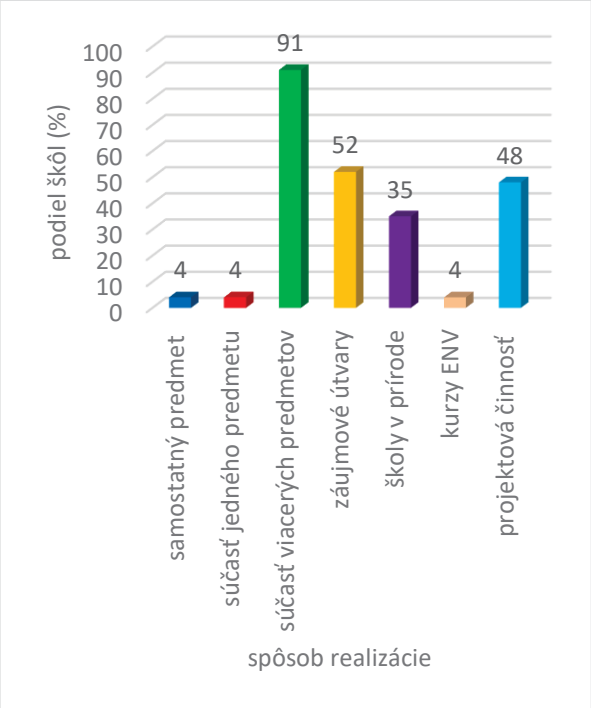
Environmentálna výchova vedie žiakov ku komplexnému pochopeniu vzájomných vzťahov medzi organizmami rovnako ako ku vzťahom človeka k životnému prostrediu. Dôležité je rozvíjanie a najmä pochopenie pre dnešnú dobu nevyhnutného prechodu k udržateľnému rozvoju spoločnosti, ktorý umožňuje sledovať a uvedomovať si dynamicky sa vyvíjajúce vzťahy medzi človekom a prostredím, kde sú vzájomne prepojené aspekty nie len ekologické, ale aj ekonomické a sociálne.

Environmentálna výchova má prínos v rozvoji osobnosti žiaka v oblasti vedomostí, zručností a schopností ako i v oblasti postojov a hodnôt.

Prierezová téma environmentálna výchova má 5 tematických okruhov: ochrana prírody a krajiny, zložky životného prostredia, prírodné zdroje, ľudské aktivity a problémy životného prostredia a vzťah človeka k prostrediu [6].

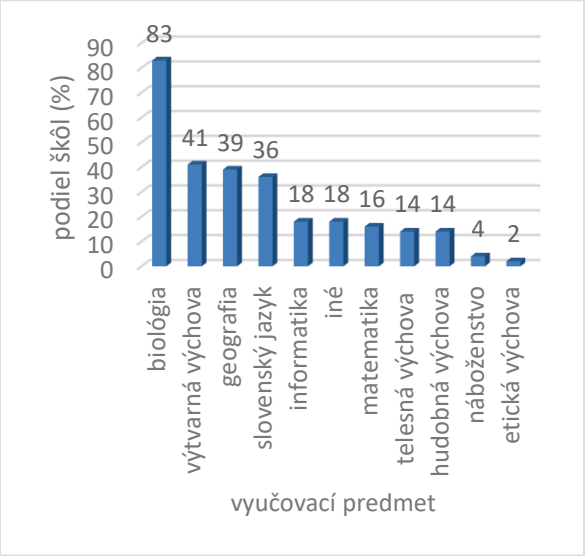
3.3 Stav realizácie environmentálnej výchovy na Slovensku

V rámci zistenia miery a spôsobu aplikovania environmentálnej výchovy do vyučovacieho procesu uskutočnila Suchá [7] dotazníkový prieskum realizácie environmentálnej výchovy (ENV) na školách v regióne východného Slovenska. Jednotlivé spôsoby realizácie ENV môžeme vidieť v grafe 1. Vo väčšine škôl je environmentálna výchova zavádzaná len ako prierezová téma. V 91 % prípadov je ENV súčasťou viacerých predmetov, v 4 % prípadov je ENV súčasťou len jedného vyučovacieho predmetu. Ako samostatný predmet je ENV realizovaná len v 4 %. Viac ako polovica, konkrétne 52 % škôl, realizuje ENV prostredníctvom záujmových útvarov, 35 % škôl prostredníctvom škôl v prírode, 4 % škôl prostredníctvom kurzov environmentálnej výchovy a 48 % škôl realizuje projekty týkajúce sa ENV.



Graf 1 Spôsoby realizácie ENV v rámci školských vzdelávacích programov
Zdroj: [7], spracovala autorka

V grafe 2 je z rovnakého prieskumu spracovaná implementácia environmentálnej výchovy do jednotlivých vyučovacích predmetov. V školách, ktoré boli východiskovým pozorovaním tohto prieskumu sa v najväčšom zastúpení realizovala ENV v rámci predmetu biológia, a to až v 83 % škôl. Na druhom mieste stojí výtvarná výchova, do ktorej problematiku environmentálnej výchovy zapája 41 % škôl. Vyučovací predmet geografia sa nachádza až na tretej priečke a v rámci tohto predmetu aplikuje ENV do vyučovacieho procesu 39 % škôl. Za zmienku stojí i slovenský jazyk, v ktorom má ENV hodnotné miesto až v 36 % prípadov. V rámci ostatných predmetov je aplikácia ENV zastúpená menším percentuálnym podielom. V prípade informatiky je to 18 %, matematiky 16 %, telesnej a hudobnej výchovy 14 %, náboženskej výchovy 4 %, etickej výchovy 2 % a pri 18 % škôl bolo zapojenie ENV do vyučovania prostredníctvom iného predmetu.



Graf 2 Implementácia ENV v rámci vyučovacích predmetov
Zdroj: [7], spracovala autorka

I keď integrovanie environmentálnej výchovy do vzdelávania je stále nedostačujúce, v rámci Slovenskej republiky máme množstvo organizácií či občianskych združení (OZ), ktoré sa venujú environmentálnym problémom. Poskytujú tak ľuďom ale i žiakom a študentom širší prehľad o aktuálnej situácii, umožňujú im zapájať sa do rôznych projektov či udalostí a v neposlednom rade, niektoré tvoria i edukačný obsah pre materské či základné školy, alebo pre rodiny s deťmi, ktoré chcú vo vlastnom záujme vzdelávať svoje deti i v oblasti environmentalistiky. Ako príklad uvádzame neziskovú organizáciu „OZ Strom života“ [8] alebo Inštitút aplikovanej ekológie „Daphne“ [9].

4 Súbor didaktických aktivít pre implementáciu environmentálnej výchovy do vyučovania geografie

V záujme aplikovania environmentálnej výchovy do vyučovania geografie sme vytvorili súbor 19 aktivít rôznorodého charakteru so zameraním na environmentálne problémy, ktoré je možné realizovať na vybraných hodinách geografie (tab. 1). Ku každej aktivite boli spracované metodické inštrukcie a postupy, ktoré obsahujú názov aktivity, dĺžku trvania aktivity, tematický okruh prierezovej témy ENV, v rámci ktorého vieme aktivitu začleniť do vyučovania, ďalej je to aplikácia v rámci predmetu geografia, kde máme pri každej hre určený ročník a tému, v rámci ktorej vieme aktivitu uplatniť vo vyučovacom predmete geografia. Okrem toho obsahujú metodické inštrukcie zoznam pomôcok, ktoré sú potrebné na realizáciu aktivity, formu aktivity a priestor, v ktorom sa realizuje (tab. 2, 3 a 5). Ku každej aktivite je taktiež uvedený jej cieľ, podrobný metodický postup a záver. Pri niektorých aktivitách je doplnený aj alternatívny spôsob realizácie.

Tabuľka 1 Zoznam navrhnutých aktivít environmentálnej výchovy

poradie	názov aktivity	tematický okruh prierezovej témy ENV
1.	Pokus – čistiareň odpadových vôd	*2
2.	Ekokalendár	*5
3.	Drevorubač	*1
4.	„Starý“ vs „Nový“ svet	*1
5.	Recyklačný príbeh	*4
6.	Lastovičky	*4
7.	Spotreba vody v domácnosti	*2; *5
8.	NIMBY	*4
9.	Znamenie	*2
10.	Pantomimický reťazec	*4

11.	Hlas prírody	*5
12.	Pokus – havária ropného tankera	*3; *4
13.	Pokus – horniny a kyslé dažde	*4
14.	Pavučina	*1; *5
15.	3 vs 5	*1; *5
16.	Záchranná flotila	*1; *4
17.	Plody lesa	*1
18.	Trimino	*1; *2
19.	Vtáčie kŕmidlo	*1

Tematický okruh prierezovej témy ENV

*1 Ochrana prírody a krajiny; *2 Zložky životného prostredia; *3 Prírodné zdroje, ich využitie a ochrana; *4 Ľudské aktivity a problémy životného prostredia; *5 Vzťah človeka k prostrediu

V nasledujúcich troch podkapitolách uvádzame 3 vybrané aktivity zo súboru, pomocou ktorých je zabezpečený rozvoj environmentálneho povedomia a aplikácia environmentálnej výchovy do edukačného procesu.

4.1 Záchranná flotila

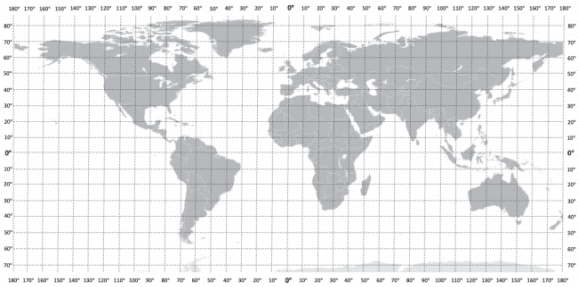
Cieľom aktivity je poukázanie na najväčšie ropné havárie v histórii a uvedomenie si ich environmentálnych dopadov na prírodu s prepojením a precvičením si orientácie na mape sveta pomocou geografických súradníc.

Tabuľka 2 Aktivita č. 16

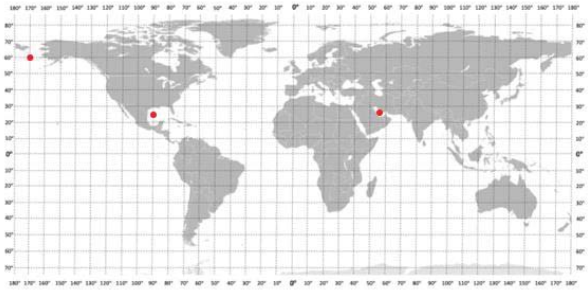
Názov aktivity	Záchranná flotila
Dĺžka trvania aktivity	15 – 20 min.
Tematický okruh prierezovej témy ENV	Ochrana prírody a krajiny; ľudské aktivity a problémy životného prostredia
Aplikácia v rámci predmetu geografia (ročník a téma)	5. ročník – Mapa a glóbus – meranie na mapách 9. ročník – Problémy Ameriky
Pomôcky	Pero, mapa sveta s poludníkmi a rovnobežkami
Forma	Skupinová
Priestor	Indoor

Postup aktivity

1. Učiteľ prečíta žiakom krátky príbeh o ropných haváriách, ktoré sa v minulosti stali a aký mali dopad na okolie.
   „Prevoz ropy vo veľkých tankeroch po moriach a oceánoch je častým spôsobom jej prepravy. Rizikom sú však havárie ropných tankerov, ku ktorým môže pri preprave dôjsť. Skúsme sa preniesť do minulosti, nájsť na mape najväčšie ropné tankery a zamedziť ich haváriám, ktoré by spôsobili veľké škody. Medzi najväčšie ropné katastrofy, ktoré sa stali, patrí Kuvajtská ropná škvrna, keď v roku 1991 vylialo Irácke vojsko počas vojny ropu v Perzskom zálive. Tanker Exxon Valdez v roku 1989 havaroval na pobreží Aljašky. Veľké množstvo ropy uniklo do mora a zničilo biotu aljašského pobrežia. V roku 1979 vybuchla v Mexickom zálive ropná veža Ixotoc I, ktorá spôsobila na pobreží Texasu veľké škody. Skús nájsť spomenuté miesta na mape a zabráň týmto katastrofám.“
2. Žiaci sa rozdelia do dvojíc, učiteľ rozdá každej dvojici dve mapy sveta s poludníkmi a rovnobežkami. Jeden žiak dostane čistú mapu (obr. 1), druhý bude mať na nej vyznačené body, ktoré predstavujú ropné havárie, ktoré sa stali v minulosti (obr. 2). Žiak s vyznačenými ropnými haváriami na mape nesmie obrázok ukázať spolužiakovi.
3. Úlohou žiaka s čistou mapou bude na základe počutých miest spomenutých v príbehu nájsť s využitím súradníc presnú polohu ropných tankerov na spolužiakovej mape a tak zabrániť ich poškodeniu a následnému znečisteniu okolitej prírody.
4. Spoluhráč skontroluje súradnice, či sa na nich nachádza jeho tanker. Ak áno, protihráč ho včas našiel a zabránil tak vyliatiu ropy do mora.



Obrázok 1 Geografická sieť
Zdroj: [10]



Obrázok 2 Príklad umiestnenia záchranných flotíl
Zdroj: [10], upravené

Záver aktivity

Hra končí po vopred dohodnutom čase alebo po nájdení a zachránení všetkých tankerov. V závere aktivity môže viesť učiteľ so žiakmi riadený rozhovor o dopadoch ropných havárií na okolitú prírodu, možnosti jej ochrany a vrátenia do pôvodného stavu.

4.2 Plody lesa

Cieľom aktivity je uvedomenie si možnosti využitia produktov lesa a následné dôsledky využívania týchto produktov na ekosystém. Cieľom je tiež dosiahnuť zhodu v názore či postoji, čo podnecuje k diskusii a prejavovaniu vlastného názoru na danú problematiku.

Tabuľka 3 Aktivita č. 17

Názov aktivity	Plody lesa
Dĺžka trvania aktivity	15 – 20 min.
Tematický okruh prierezovej témy ENV	Ochrana prírody a krajiny; ľudské aktivity a problémy životného prostredia
Aplikácia v rámci predmetu geografia (ročník a téma)	5. ročník – Cestujeme a spoznávame našu Zem – dažďové pralesy 9. ročník – Amerika – príroda Ameriky
Pomôcky	Kartičky s plodmi lesa, kancelársky papier, pero
Forma	Individuálna/skupinová
Priestor	Indoor

Postup aktivity

1. Učiteľ rozdá žiakov (jednotlivcovi/skupine) kartičky „Plody lesa“ (tab. 4) a kancelársky papier.
2. Žiaci sa rozhodnú umiestniť kartičky Plody lesa na papier postupne, v škále od 1 po 12, pričom číslo 1 predstavuje prijateľné využitie a číslo 12 neprijateľné využitie.
3. Keď sa skupina/jednotlivec dohodne na finálnej verzii umiestnenia kartičiek podľa ich vlastného názoru, každý člen si zoberie pero a rozhodne sa, kde by umiestnil hranicu oddeľujúcu prijateľné od neprijateľného. Na tom mieste urobí čiaru medzi dvomi kartičkami a označí ju svojimi iniciálami.
4. Následne môže aktivita pokračovať a žiaci sa môžu zlúčiť do väčších skupín (4, 6 členných). Zopakujú rovnaké kroky a skúsia sa tak dohodnúť a utvoriť škálu prijateľného a neprijateľného spoločne vo väčšej skupine, kde sa môžu už názory na dané problematiky značne líšiť. Treba tak vynaložiť isté úsilie, presadiť svoj názor, či naopak urobiť kompromis.

Záver aktivity

V závere aktivity by mal učiteľ zdôrazniť, že všetky z uvedených činností rôznym rozsahom vyčerpávajú a ničia lesy a zasahujú tak do rovnováhy ekosystému. Vybrané skupiny môžu prezentovať svoju vytvorenú škálu kariet a umiestnenie hranice medzi prijateľným a neprijateľným. Na konci diskusie môžeme žiakov podnietiť k myšlienke udržateľného rozvoja a prísť na spôsoby ako obmedziť jednotlivé problémy z kariet.

Alternatívny spôsob realizácie

Pre šetrenie s materiálom môžeme aktivitu pripraviť i v elektronickej podobe. Učiteľ pripraví už očíslované kartičky a premietne ich na tabuľu cez dataprojektor. Skupiny v rámci aktivity pracujú len so svojim zošitom, kde si vytvoria škálu podľa čísiel kartičiek a následne medzi ne doplnia každý svoju hranicu medzi prijateľným a neprijateľným. Tak nebude potrebné tlačiť kartičky pre každú skupinu.

Tabuľka 4 Kartičky Plody lesa

Dobytok Veľké plochy lesov či tropických dažďových pralesov sú vyrubované, aby sa vytvorilo miesto na pasenie dobytka.	**Potrava** Veľa bežných potravín ako je káva, banány, kakao či ryža, má svoj pôvod v tropickom pralese.
Papier Na svete sa veľké množstvo dreva spotrebuje na výrobu papiera. Odhaduje sa, že ročne sa na výrobu papiera zrúbu 4 miliardy stromov.	**Kože / kožušiny** Kožušiny z pralesných mačkovitých šeliem sa používajú k výrobe drahých kožuchov či iných doplnkov. Na jeden kožuch je treba cca 10 koží z ocelota.
Lieky	**Vzácne drevo**

Výťažky z lesných rastlín a plodov sú základom pre veľa liekov. Napríklad chinín, pochádzajúci z kôry stromu chinínovníka, je široko využívaný proti malárii.	Niektoré tropické a vzácne druhy driev (mahagónové, ebenové či teakové) sú využívané na výrobu kvalitného nábytku, okenných rámov, lodí či hudobných nástrojov.
Palivové drevo Až jedna tretina ľudstva využíva drevo na získanie tepla alebo pre potreby varenia.	**Lekárske výskumy** Farmaceutické spoločnosti skúmajú tisíce tropických druhov rastlín, pre potenciálne využitie v medicíne.
Ťažba nerastných surovín Veľa nerastných surovín (zlato, železná ruda) sa ťaží v oblasti tropických dažďových pralesov. Povrchová ťažba na týchto miestach spôsobuje intenzívne ničenie lesov.	**Elektrická energia** V povodí rieky Amazon je plánovaná výstavba viac než 30tich obrovských vodných elektrární, ktorá spôsobí zaplavenie rozsiahlych oblastí pralesa.
Domáce zvieratá V dnešnej dobe je populárny chov tropických druhov zvierat ako domácich zvierat (papagáj Ara, leguán).	**Doprava** Ťažba dreva a nerastných surovín vyžadujú realizáciu a stavbu ciest či železníc v tesnej blízkosti pralesov.

Zdroj: [11], upravené

4.3 Lastovičky

Cieľom aktivity je osvojenie si správnych techník triedenia a recyklácie odpadu hravou formou prostredníctvom pohybovej hry.

Tabuľka 5 Aktivita č. 6

Názov aktivity	Lastovičky
Dĺžka trvania aktivity	20 min.
Tematický okruh prierezovej témy ENV	Ľudské aktivity a problémy životného prostredia
Aplikácia v rámci predmetu geografia (ročník a téma)	7. ročník – Prírodné a človekom vytvorené osobitosti Európy – problémy Európy 8. ročník – Slovensko – hospodárstvo, znečistenie prírody
Pomôcky	Papiere, tabuľka na zatriedenie odpadu, pero
Forma	Individuálna
Priestor	Indoor/outdoor

Postup aktivity

1. Na začiatku si každý žiak poskladá z papiera lastovičku, môže i viac, počet záleží od učiteľa, ako dlho chce, aby aktivita trvala.
2. Keď budú lastovičky hotové, na krídlo napíšu názov nejakého odpadu, ktorý produkujeme (napr. šupka z banánu, obal od chipsov, rolka z toaletného papiera a pod.). Učiteľ môže nechať žiakov samých, aby každý napísal odpad podľa svojho uváženia, v tomto prípade sa však môže stať, že sa na lastovičkách vyskytne viac krát rovnaký odpad. Aby učiteľ predišiel tomuto problému, môže pripraviť lístočky s názvami odpadu, kedy si každý žiak vylosuje svoj lístoček a odpad z neho napíše na krídlo lastovičky.
3. Keď budú lastovičky pripravené, rozdá učiteľ každému žiakovi tabuľku (tab. 6) s pripravenými stĺpcami na zatriedenie. Každý žiak si zoberie svoju tabuľku, pero a lastovičky a spoločne sa presunú na voľné priestranstvo (školský dvor, telocvičňa).
4. Žiaci sa rozmiestnia vo vopred určenom priestore a každý vypustí svoju lastovičku.
5. Keď všetky lastovičky dopadnú na zem, učiteľ odštartuje žiakov a ich úlohou bude behať k lastovičke, u ktorej práve nikto nie je a odpad, ktorý sa na nej nachádza správne zatriediť do svojej tabuľky. Takto musia za stanovený čas nájsť čo najviac lastovičiek a správne zatriediť odpad alebo sa čas nestanoví a ich úlohou bude zozbierať do tabuľky všetky odpady z lastovičiek (v tom prípade by počet políčok v tabuľke súhlasil s počtom odpadov, aby žiaci vedeli, že už zozbierali všetky).

Záver aktivity

V závere aktivity sa žiaci presunú naspäť do triedy, alebo si posadajú do kruhu a skontrolujú si ich výsledky, či sa im podarilo správne zatriediť odpady z lastovičiek.

Alternatívny spôsob realizácie

Pre zvýšenie náročnosti môže učiteľ zaviesť pravidlo, že vždy, keď žiak dobehne k lastovičke a zatriedi odpad nachádzajúci sa na nej, zoberie lastovičku a nechá

ju „uletieť“ inam. Tak žiaci nebudú vedieť, pri ktorej lastovičke už boli a hra tak bude trvať dlhšie.

Tabuľka 6 Zatriedenie odpadu

Zatrieďte odpad					
papier	**sklo**	**plast**	**kov**	**komunál**	**bio**
Meno a priezvisko:				Trieda:	

Záver

Človek a príroda sú spolu v neoddeliteľnom vzťahu počas celej evolúcie života na Zemi. V 21. storočí je na mieste, aby sme sa zamýšľali nad osudom našej planéty. Kľúčovým krokom je zmena našich činov voči životnému prostrediu. U detí a žiakov to môžeme dosiahnuť práve aplikáciou prierezovej témy Environmentálna výchova do vyučovacieho procesu a tým u žiakov rozvíjať zdravý postoj k životnému prostrediu. Čím skôr dostaneme problematiku environmentálnej výchovy do povedomia žiakov, tým rýchlejšie si osvoja vhodné správanie v neskoršom živote.

Cieľom príspevku je rozvoj environmentálnej gramotnosti a povedomia u žiakov druhého stupňa základných škôl v podobe implementácie environmentálnej výchovy ako prierezovej témy do vyučovania geografie. Tento cieľ sme sa pokúsili naplniť vytvorením komplexného súboru 19 didaktických aktivít s environmentálnou tematikou a následným predstavením niektorých z nich. Aktivity sú rôznorodého charakteru a zamerania, využívajúc viaceré formy a metódy s upriamením na prevládajúce environmentálne problémy nie len na Slovensku ale i vo svete. Predovšetkým sú však realizovateľné hravou formou, aby žiaci nepociťovali povinnosť a znechutenie zúčastniť sa ich realizácie.

To v akom prostredí žijeme a ako sa k nemu správame, záleží aj na nás, budúcich učiteľoch. Spôsob, akým sa budeme stavať k životnému prostrediu my, bude vzorom pre našich žiakov. Malo by byť našou povinnosťou vychovávať žiakov ku kladnému postoju k životnému prostrediu, aby jeho ochranu považovali za jednu zo základných životných potrieb a hodnôt. Práve v tomto smere nám najlepšie pomôže aplikácia environmentálnej výchovy do každodenného procesu výchovy a vzdelávania.

Použitá literatúra

[1] Štátny pedagogický ústav: Rámcový učebný plán pre ZŠ s vyučovacím jazykom slovenským [online]. Štátny pedagogický ústav: 2023 [cit. 9.3.2023]. Dostupné z: https://www.statpedu.sk/files/articles/dokumenty/inovovany-statny-vzdelavaci-program/rup_zs_pre-z-s-vyu_ovac_m-jazykom-slovensk_m.pdf.

[2] Štátny pedagogický ústav: Inovovaný štátny vzdelávací program Geografia [online]. Štátny pedagogicky ústav: 2023 [cit. 9.3.2023]. Dostupné z: https://www.statpedu.sk/files/articles/dokumenty/inovovany-statny-vzdelavaci-program/geografia_nsv_2014.pdf.

[3] HUBA, Mikuláš. 2008. Výskum životného prostredia v slovenskej geografii s dôrazom na Geografický ústav SAV. In Geografický časopis, roč. 60, č. 4, s. 363-394. ISSN 0016-7193.

[4] KANCÍR, Ján. a kol. 2020. Environmentálna výchovy pre predškolské a elementárne vzdelávanie. 1. vyd. Prešov : Prešovská univerzita v Prešove, 2020. 212 s. ISBN 978-80-555-2610-2.

[5] MILLER, Kathryn. 2010. Public libraries going green. 1. vyd. Chicago : American Library Association, 2010. 120 s. ISBN 978-08-389-1018-4.

[6] Štátny pedagogický ústav: Štátny vzdelávací program – Environmentálna výchova (prierezová téma) [online]. Štátny pedagogický ústav: 2023 [cit. 9.3.2023]. Dostupné z: https://www.statpedu.sk/files/articles/dokumenty/statny-vzdelavaci-program/environmentalna_vychova.pdf.

[7] SUCHÁ, Ivana. 2011. Otázky environmentálnej výchovy na základnej škole. In Medzinárodná vedecká elektronická konferencia pre doktorandov, vedeckých pracovníkov a mladých vysokoškolských učiteľov. Prešov : Katedra pedagogiky FHPV PU, s. 629-637. ISBN 978-80-555-0482-7.

[8] Strom života: Zasaďte sa medzi nás [online]. Strom života: 2023 [cit. 11.3.2023]. Dostupné z: https://stromzivota.sk/.

[9] Daphne: Inštitút aplikovanej ekológie [online]. Daphne: 2023 [cit. 11.3.2023]. Dostupné z: https://daphne.sk/.

[10] Purpose Games: Geografická sieť [online]. Purpose Games: 2023 [cit. 6.3.2023]. Dostupné z: https://www.purposegames.com/game/gegorafick a-siet.

[11] PIKE, Graham., SELBY, David. 2000. Cvičení a hry pro globální výchovu. 1. vyd. Praha : Portál, 2000. 256 s. ISBN 80-7178-369-2.

Overovanie modelov hodín a úloh na rozvíjanie tvorivosti, čitateľskej gramotnosti a na rozvoj kritického a logického myslenia žiakov

Verification of models of lessons and tasks to develop creativity, better reading literacy and to develop students' critical and logical thinking

Dominik Holingyák[1]
Školiteľ: Anna Sandanusová[3]
[2]Katedra botaniky a genetiky, FPVaI UKF, Nábrežie mládeže 91, 949 01 Nitra
[1] dominik.holingyak@student.ukf.sk, [3]asandanusova@ukf.sk

Abstrakt

Táto vedecká práca je pokračovaním vedeckej práce z roku 2022, ktorej úlohou bola tvorba moderných vzdelávacích materiálov pre tematický celok „Obehová sústava človeka“. Táto vedecká práca sa zaoberá overovaním, už spomenutých, nami vytvorených moderných vzdelávacích materiálov v školskej praxi. Cieľom práce je skúmať efektívnosť nami vytvorených modelov a podporných materiálov, ako aj skúmanie a zároveň riešenie najčastejších problémov a ťažkostí spojených s vyučovaním témy „Obehová sústava človeka“.

Práca vznikla v rámci projektu „Skvalitňovanie praktickej prípravy budúcich pedagogických zamestnancov na UKF v Nitre“ (kód ITMS2014+ 312011Z815). Tento projekt sa realizuje vďaka podpore Európskeho sociálneho fondu a Európskeho fondu regionálneho rozvoja v rámci Operačného programu Ľudské zdroje.

Kľúčové slová: model, overovanie, biológia, výskum, pretest, posttest

Abstract

This scientific work is a continuation of the scientific work from 2022, the task of which was the creation of modern educational materials for the thematic unit "Human Circulatory System". This scientific work is about the verification of these already mentioned modern educational materials in school practice. The object of the work is about studying the effectiveness of the models and supporting materials created by us, as well as to investigate and at the same time solve the most common problems and difficulties associated with teaching the topic "Human Circulatory System".

The work was created within the project "Improving the practical training of future teaching staff at UKF in Nitra" (code ITMS2014+ 312011Z815). This project is implemented thanks to the support of the European Social Fund and the European Regional Development Fund within the Operational Program Human Resources.

Key Words: model, verification, biology, research, pretest, posttest

Úvod

Tému práce sme si vybrali, kvôli dôležitosti obehovej sústavy, ale aj náročnosti témy a častým ťažkostiam pri vyučovaní témy „Obehová sústava človeka“.

Práca nadväzuje na výsledky, ktoré sme prezentovali na vedeckej konferencii v roku 2022. V predošlej práci sme sa venovali tvorbe moderných vyučovacích postupov pri vyučovaní biológie na tému Obehová sústava na stredných školách. Okrem teoretickej časti boli vytvorené viaceré typy učebných úloh a aktivít, podporujúcich logické a kritické myslenie žiakov, čitateľskú gramotnosť a tvorivosť. Vytvorené úlohy boli využité pri konštrukcii pracovného listu a didaktického testu na danú tému.

Táto práca je pokračovaním predošlej, teda je našou úlohou overiť pripravené moduly, postupy,

učebné stratégie a vytvorené materiály v školskej praxi. Takisto sme sledovali a zisťovali najčastejšie chyby a ťažkosti v žiackom chápaní „Obehová sústava človeka“. Na vykonanie výskumu sme vybrali Strednú odbornú školu veterinárnu v Nitre. Pani učiteľka Mgr. Hana Pšenková nám umožnila v rámci súvislej pedagogickej praxe z biológie realizovať výskum na vzorke 57 žiakov 3. ročníka uvedenej školy. Overovanie účinnosti pripravených podporných vzdelávacích materiálov bolo realizované za využitia tzv. pretestu a po odučení danej témy aj tzv. posttestu. Výsledky boli analyzované kvalitatívne aj kvantitatívne. Podrobne sme zisťovali, ktoré úlohy boli pre žiakov najťažšie a ktoré im naopak nerobili problém.

1 Model hodín

Pred odučením témy „Obehová sústava človeka“ boli žiakom rozdané neštandardizované pracovné listy, ktoré sme vopred vytvorili. Na ich vypracovanie mali žiaci 10 minút. Úlohy zisťovali úroveň vedomostí žiakov z obehovej sústavy z predošlých ročníkov.

Tému „Obehová sústava človeka“ sme rozdelili do dvoch vyučovacích jednotiek, na každú z nich bola vypracovaná metodika hodiny podľa metódy EUR (vysvetlenie metódy v predošlej práci).

Prvá vyučovacia jednotka:

Tabuľka 1 - Metodika č. 1

Zdroj: [2]

Tematický celok / Téma	***ISCED / Odporúčaný ročník***
Orgánové sústavy človeka/ Obehová sústava	ISCED 3 / 3.ročník
Ciele	
Žiakom osvojované vedomosti a zručnosti	***Žiakom rozvíjané spôsobilosti***
• poznať pojem orgánová sústava • poznať pojem obehová sústava • vedieť popísať časti krvného obehu • poznať anatomickú stavbu srdca • vedieť popísať činnosť srdca, poznať prejavy srdcovej činnosti. • poznať princíp činností ciev v ľudskom tele • vedieť rozdeliť cievy • poznať rozdiely medzi žilou, tepnou a vlásočnicami • poznať základné funkcie ciev • poznať rozdiel medzi veľkým a malým krvným obehom • poznať funkcie krvi • poznať jednotlivé zložky krvi a ich funkcie • poznať jednotlivé krvné elementy rozlišovať aj graficky • poznať rozdiel medzi okysličenou a odkysličenou krvou	• vedieť pracovať s dátami • vedieť analyzovať výsledky • rozvíjať schopnosť pozorovať biologické objekty/elementy • rozvíjať schopnosť vyhľadávať informácie na internete, v encyklopédií, či vedeckých časopisov • rozvíjať čitateľskú gramotnosť v oblasti práce s odborným biologickým textom • rozvíjať schopnosť tvorivo riešiť úlohy, poukazovať na príčiny problémov, navrhovať ich riešenia • rozvíjať schopnosť prakticky riešiť úlohy, interpretovať fakty a vyvodzovať závery • rozvíjať schopnosť tvoriť vlastné závery
Požiadavky na vstupné vedomosti a zručnosti	
• poznať pojmy krv, srdce, obehová sústava, cievy • poznať mikroskop a postup práce s nim • vedieť zhotoviť jednoduchý preparát na sledovanie • poznať zásady práce v laboratóriu, prípadne v biologickej učebni	
Riešený didaktický problém	
Cieľom hodiny bolo oboznámiť žiakov so základnými informáciami na tému „Obehovej sústavy človeka“. Dôležité je aby pedagóg danej téme rozumel po odbornej stránke a aby bol na vyučovaciu jednotku dobre pripravený metodicky aj didakticky. Ako didaktický problém vidíme nepochopenie a miskoncepcie žiakov v pochopení funkcie a úlohy okysličenej a odkysličenej krvi v tele človeka, či veľkého a malého krvného obehu. Pre riešenie problému sme navrhli využitie didaktických postupov súvislého výkladu spojenú s demonštráciou obrázkov	

alebo modelov. Je zjavné, že žiaci si informácie uchovávajú najlepšie, ak ich pedagóg prednesie v podobe konkrétnych príkladov a demonštrácií. Aj preto sme vybrali tieto vyučovacie metódy.	
Dominantné vyučovacie metódy a formy	***Príprava učiteľa a pomôcky***
• riadené bádanie • súvislý výklad • rozprávanie • metóda otázok a odpovedí • demonštrácia obrázkov • demonštrácia modelov • práca v skupinách • didaktická hra	• počítač, notebook, tablet • pracovný list • prezentácia • učebnica • odborná literatúra • metodika vyučovacej hodiny • projektor
Diagnostika splnenia vzdelávacích cieľov	
pracovný list	

V evokácii vyučovacej hodiny sme využili didaktickú metódu „brainstorming“ na slovo krv. Úlohou žiakov bolo uviesť čo najviac slov a slovných spojení, ktoré súvisia so slovom krv. Žiaka s najviac slovami bol ocenený „plusovým bodom“ (zbierali si ich počas hodiny popri aktivitách).

V sekcii uvedomenie si významu sme sa venovali pojmom krv, krvné elementy, srdce, cievy, ich deleniu a významu. V závere hodiny bola realizovaná riadená demonštrácia a výkladom princípu fungovania veľkého a malého krvného obehu. Počas hodiny sme využívali aj aktivity, za ktoré dostali úspešní žiaci plusové body (napr. nájdi srdce medzi slimákmi, riešenie hádanky). Na aktiváciu žiakov sme po odučení polovice teórie využili hru „obesenec“, didakticky modifikovanú na tému obehová sústava človeka.

V reflexii bola využitá didaktická hra „bingo“, ktorej úlohou je opakovanie a učenie sa nových pojmov k danej, novej téme. Podľa Čapeka [1] môže aktivita rozvíjať aj skupinovú prácu žiakov, ale najmä problémové myslenie žiaka. Pripravil sme tabuľku slov a slovných spojení súvisiacich s témou obehová sústava. V tabuľke sa nachádzalo 16 slov a slovných spojení súvisiacich s témou „Obehová sústava človeka“. Úlohou žiakov bolo si z tejto tabuľky vybrať 4 ľubovoľné slová alebo slovné spojenia. Učiteľ číta slová z pripravenej tabuľky v ľubovoľnom poradí. Ak zaznie slovo, ktoré si žiak zapísal do zošita, dá ho do kruhu. Žiak, ktorý ako prvý bude mať všetky slová v kruhu zakričí „bingo“ a stáva sa víťazom hry.

Druhá vyučovacia jednotka:

Tabuľka 2 - Metodika č. 2

Zdroj: [2]

Tematický celok / Téma	***ISCED / Odporúčaný ročník***
Orgánové sústavy človeka/ Krvné skupiny, ochorenia obehovej sústavy človeka	ISCED 3 / 3.ročník
Ciele	
Žiakom osvojované vedomosti a zručnosti	***Žiakom rozvíjané spôsobilosti***
• poznať pojem krvná skupina • poznať princíp dedenia krvných skupín • poznať patológiu obehovej sústavy • poznať jednotlivé ochorenia a možnosti ich diagnostiky a liečby • poznať rozdiel medzi anémiou a trombózou	• vedieť pracovať s dátami • vedieť analyzovať výsledky • schopnosť pozorovať biologické objekty/elementy • schopnosť vyhľadávať informácie na internete, encyklopédií, či vedeckých časopisov • rozvíjať čitateľskú gramotnosť v oblasti odborného biologického textu • schopnosť tvorivo riešiť úlohy, poukazovať na príčiny problémov, navrhovať ich riešenia • schopnosť prakticky riešiť úlohy,

	interpretovať fakty a vyvodzovať závery • schopnosť tvoriť vlastné závery

Požiadavky na vstupné vedomosti a zručnosti
• poznať pojem orgánová sústava • poznať pojem obehová sústava • vedieť popísať časti krvného obehu • poznať anatomickú stavbu srdca • vedieť popísať činnosť srdca, poznať prejavy srdcovej činnosti • poznať princíp činností ciev v ľudskom tele • vedieť rozdeliť cievy • poznať rozdiely medzi žilou, tepnou a vlásočnicami • poznať základné funkcie ciev • poznať rozdiel medzi veľkým a malým krvným obehom • poznať funkcie krvi • poznať jednotlivé zložky krvi a ich funkcie • poznať jednotlivé krvné elementy, vedieť ich rozlišovať aj graficky • poznať rozdiel medzi okysličenou a odkysličenou krvou
Riešený didaktický problém
Cieľom hodiny je oboznámiť žiakov so základnými informáciami na tému krvných skupín a patológie obehovej sústavy. Problémom v tomto prípade môže byť princíp dedičnosti krvných skupín, ktoré majú za úlohu žiaci vedieť určiť podľa princípov a pravidiel dedenia krvných skupín. Na riešenie problému navrhujeme metódu práce s tabuľou, kde vyzveme žiakov aby pri tabuli riešili jednotlivé príklady súvisiace s dedením krvných skupín.

Dominantné vyučovacie metódy a formy	***Príprava učiteľa a pomôcky***
• riadené bádanie • súvislý výklad • rozprávanie • metóda otázok a odpovedí • demonštrácia	• počítač, notebook, tablet • pracovný list • prezentácia • učebnica • odborná literatúra
obrázkov • demonštrácia modelov • práca v skupinách • didaktická hra	• metodika vyučovacej hodiny • projektor

Diagnostika splnenia vzdelávacích cieľov
pracovný list

Keďže témou tejto vyučovacej jednotky bolo vysvetliť pojem a fungovanie dedičnosti krvných skupín a demonštrovať najčastejšie ochorenia obehovej sústavy, na evokáciu bola využitá aktivita, v ktorej mali žiaci na jeden papier postupne napísať svoju krvnú skupinu. Po tom čo krvné skupiny napísali všetci žiaci v triede, ich úlohou bolo vyhodnotiť, aký percentuálny podiel majú jednotlivé skupiny v ich triede. Túto aktivitu sme ukončili záverom, kedy sme si vzájomne povedali, kto komu by mohol krv darovať, samozrejme za predpokladu kompatibility Rh faktoru.

Témou hodiny boli teda krvné skupiny a najčastejšie ochorenia obehovej sústavy, kde sme si spomenuli napr. anémiu, infarkt myokardu, trombózu a ďalšie. Takisto sme využili aktivitu podporujúcu samostatnú aj skupinovú prácu žiakov, pri ktorej využívali odbornú literatúru, informačné technológie vrátane internetu. Úlohou žiakov bolo zistiť početnosť nimi vybraného ochorenia obehovej sústavy.

Po odučení tematického celku „Obehová sústava“ žiaci samostatne riešili úlohy pracovného listu, ktorý sme považovali za posttest.

Podmienky sme stanovili rovnaké ako v preteste. Náš predpoklad bol, že po odučení tematického celku sa výsledky z pretestu zlepšia.

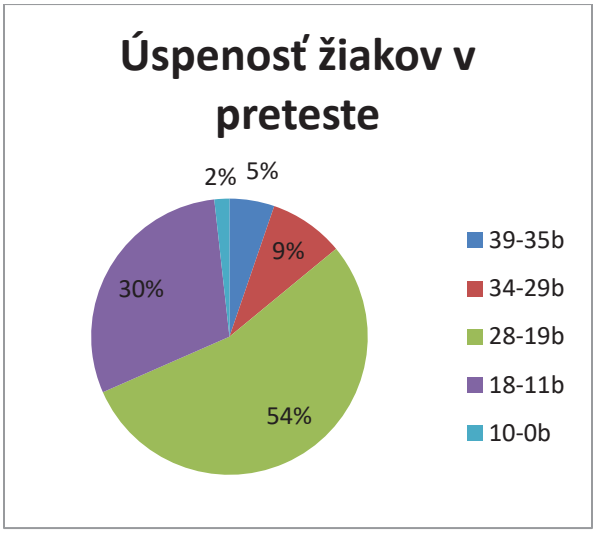
2 Výsledky a diskusia

Našou úlohou bolo spracované metodiky aplikovať do školskej praxe. Hodiny boli odučené podľa nami vytvorených metodík na Strednej odbornej škole veterinárnej v Nitre. Pred vyučovaním danej témy sme zhotovili pracovný list, ktorý bol použitý ako tzv. pretest. Úlohy v pracovnom liste boli rôznych typov a rôznej úrovne náročnosti. Zisťovali sme, čo robí stredoškolákom v téme „Obehová sústava“ najväčšie problémy. Skúmanou vzorkou bolo 57 žiakov rozdelených v 2 triedach.

Tabuľka 3 - úspešnosť žiakov v preteste
Zdroj: [2]

Počet bodov	Počet žiakov
39-35b	3
34-29b	5
28-19b	31
18-11b	17
10-0b	1

Úspešnosť žiakov v preteste celkovo:



Graf 1 Úspešnosť žiakov v preteste
Zdroj: [2]

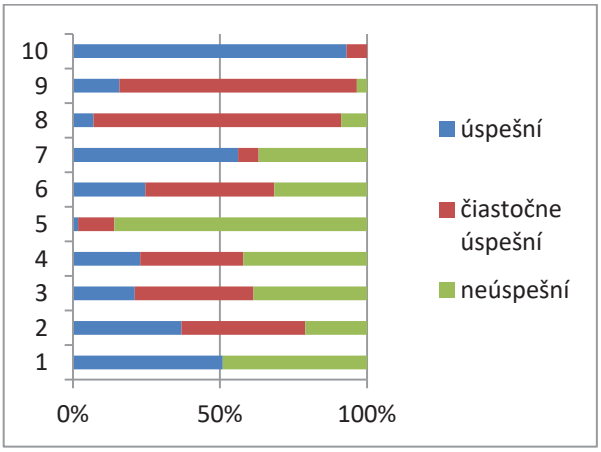
Po ukončení pretestu vieme povedať, že počiatočné vedomosti k danej téme nie sú ani najlepšie, ale ani najslabšie. Najviac žiakov malo v preteste vedomosti na hodnotenie dobrý. Pozitívom je, že iba jeden žiak je v téme absolútne nezorientovaný.

Ak sa pozrieme na jednotlivé úlohy v pracovnom liste a úspešnosť žiakov v daných úlohách, tak najúspešnejší boli žiaci v otázke číslo 10, ktorá bola zameraná na vytvorení správnych dvojíc latinských a slovenských pojmov. Predpokladom úspešnosti v tejto úlohe môže byť aj tip žiakov, keďže tento typ úloh umožňuje žiakovi si tipnúť, pri nedostatku vedomosti na rozdiel od otázok s otvorenou odpoveďou. Naopak najmenej správnych odpovedí sme zaznamenali v úlohe číslo 5, ktorá sa venovala demonštrácii a pomenovaniu jednotlivých častí srdca. Žiaci si v tejto otázke nevedeli vybaviť jednotlivé časti uvedené na obrázku. Problém robilo aj správne riešenie úlohy číslo 8. Problém nastal najmä pri vysvetlení svojho výberu. Opäť to môže mať súvis s tipom žiakov (neviem-tipnem). Ak by vedeli prečo vybrali práve dané slová, vedeli by aj svoj výber zdôvodniť.

Tabuľka 4 - Výsledok pretestu
Zdroj: [2]

	Počet žiakov		
č. úlohy	**úspešní**	**čiastočne úspešní**	**neúspešní**
1	29	0	28
2	21	24	12
3	12	23	22
4	13	20	24
5	1	7	49
6	14	25	18
7	32	4	21
8	4	48	5
9	9	46	2
10	53	4	0

Úspešnosť žiakov v jednotlivých otázkach:



Graf 2 Úspešnosť žiakov v preteste
Zdroj: [2]

Výskum pokračoval vyučovaním danej problematiky podľa pripravených metodík a dodržaním postupov. Pri vyučovaním sme využívali aj ďalšie učebnice a obrázky, ktoré sme vyhľadali na internete alebo práve v daných učebných pomôckach. Učebnica, ktorú sme využili, má názov Biológie pre gymnáziá 6, [3] no cvičná učiteľka p. Mgr. Hana

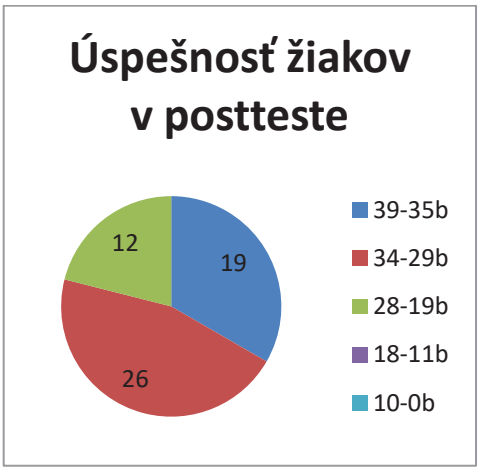
Pšenková používa počas vyučovania témy „Obehová sústava človeka“ aj českú literatúru pod názvom Biológie člověka od autora Eduarda Kočáreka. [4] Ako sme už uviedli aj v predošlej práci, pre kvalitnejšie informácie k danej téme sme využili aj rôzne vedecké články, či vedeckú literatúru, ako napríklad knižnú publikáciu pod názvom „Anotómia človeka pre nelekárske študijne programy“. [5] Potrebná vizualizácia bola najmä pri vysvetľovaní anatomickej stavby srdca, či pri demonštrácii veľkého a malého krvného obehu. Pri demonštrácii anatomickej stavby srdce sme mali k dispozícii aj model srdca. Pri vyučovaní sme potvrdili naše obavy ohľadom najväčších ťažkostí pri vyučovaní danej témy. Najväčší problém žiakom robí uviesť rozdiely medzi okysličenou a odkysličenou krvou a takisto rozdiely medzi veľkým a malým krvným obehom. Výskumom sme zistili, že napríklad pri vysvetľovaní krvných obehov je najmenej účinný súvislý výklad, pretože sa žiaci veľmi rýchlo zamotajú a rovnako tak stratia pozornosť. Najúčinnejším spôsobom je využívanie vizuálnych pomôcok, pri jednej skupine som využil portréty, ktoré mi poskytla p. Mgr. Pšenková a pri druhej skupine som na túto tému vyhľadal krátku videosekvenciu. Žiaci si teda informácie lepšie zapamätajú, keď sú podané zaujímavým a zároveň hravým spôsobom, takisto ak sú tieto vedomosti odovzdávane vtipným spôsobom. Naopak, žiakom sa najľahšie učili ochorenia obehovej sústavy. U žiakov bol pozorovaný aj záujem o danú tému, ale aj záujem o širšie informácie napr. popri definícii ich zaujímali aj možnosti liečby, či diagnostiky. Pri tejto téme si pedagóg ľahko vie nájsť aj rôzne zaujímavosti, či tému vie prepájať s príbehmi zo života.

Pri konzultácii s cvičnou učiteľkou nám tieto zistenia takisto potvrdila. Počas praxe takisto zistila, že práve tieto časti danej témy robia najväčší problém nie len študentom, ale aj niektorým pedagógom. Nie sú problémom ich vedomosti, ale skôr cit pre odovzdávanie vedomostí. K danému problému totižto, podľa slov cvičnej učiteľky Mgr. Hane Pšenkovej prispievajú aj pedagógovia, kedy sa téme nevenujú dostatočným spôsobom alebo využívajú nevhodné didaktické metódy. Problém vidí aj v časovej náročnosti, keďže je v oficiálnych osnovách vymedzený čas pre tému obehová sústava iba jedna vyučovacia hodina. Tento problém sa snažia pedagógovia riešiť, aj využitím praktických hodín – cvičení. K vypracovaným úlohám a pracovnému listu pripomienky nemala.

Po odučení prvej aj druhej vyučovacej jednotky bola zisťovaná aj účinnosť použitých vyučovacích metód. Na zistenie tejto skutočnosti sme využili tzv. posttest, teda ten istý pracovný list, ktorý bol použitý aj v preteste.

Tabuľka 5 - Úspešnosť žiakov v postteste celkovo
Zdroj: [2]

Počet bodov	Počet žiakov
39-35b	19
34-29b	26
28-19b	12
18-11b	0
10-0b	0



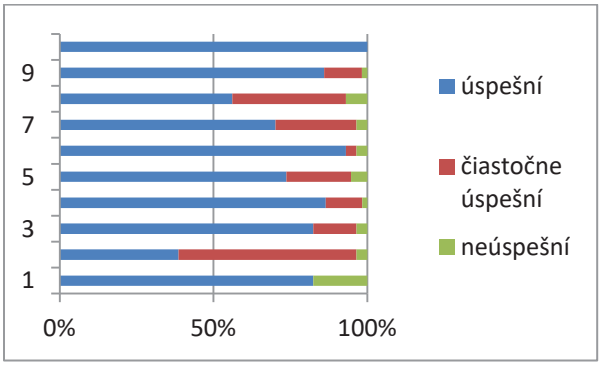
Graf 3 Úspešnosť žiakov v postteste
Zdroj: [2]

Výsledky posttestu sú potešujúce, keďže vidíme jednoznačné zlepšenie. Potešujúcou správou je, že vedomosti na hodnotenie dostatočné a nedostatočné, už nemal ani jeden zo žiakov. Zaujímavý bol progres žiaka, ktorý v preteste patril ako jediný do skupiny pod 10 bodovým ziskom a v postteste získal, až 32 bodov. Čo sa týka jednotlivých úloh, tak sme zlepšenie zaznamenali v každej úlohe, pochopiteľne najväčšie zlepšenie nastalo v najhoršej hodnotenej úlohe z pretestu (číslo 5), následne najväčšie zlepšenie

nastalo v úlohách číslo 3 a 4, ktoré sú venované krvným skupinám.

Tabuľka 6 - Úspešnosť žiakov v postteste podľa úloh
Zdroj: [2]

	Počet žiakov		
č. úlohy	úspešní	čiastočne úspešní	neúspešní
1	47	0	10
2	22	33	2
3	47	8	2
4	51	7	1
5	42	12	3
6	53	2	2
7	40	15	2
8	32	21	4
9	49	7	1
10	57	0	0



Graf 4 Úspešnosť žiakov v postteste – konkrétne úlohy
Zdroj: [2]

Záver

Výskumom sme zistili najväčšie ťažkosti pri učení danej témy u žiakov, ale aj problémy, s ktorými sa pedagógovia stretávajú pri vyučovaní danej témy. Ťažkosti, s ktorými sa pedagógovia stretávajú pri vyučovaní témy „Obehová sústava človeka“ sú spojené s demonštráciou rozdielu veľkého a malého krvného obehu. Pedagógovia stále hľadajú vhodný spôsob odovzdávania informácií v danej problematike. V našom výskume sme došli k záveru, že sa táto problematika najlepšie rieši využitím audiovizuálnych pomôcok.

Takisto sme overili nami pripravené vyučovacie metódy a overovali sme ich účinnosť pomocou pretestu a posttestu. Výskumom sme zistili pozitívnu zmenu vedomostí a výsledkov u žiakov. Takisto sme zvolenými metódami vyvolali u žiakov záujem o danú tému. Nami zvolené aktivity plnili zábavnú, ale hlavne odbornú a didaktickú funkciu.

Poďakovanie

Z tohto miesta by som sa chcel poďakovať PaedDr. Anne Sandanusovej, Ph.D. za jej odbornú pomoc a pripomienky pri vypracovaní práce, za podnety a cenné informácie, ktoré boli smerodajné a pomohli mi pri vypracovaní danej témy.

Takisto sa chcem poďakovať mojej cvičnej učiteľke pedagogickej odbornej súvislej praxe, pani Mgr. Hane Pšenkovej, za možnosť overiť dané materiály a testy na jej vyučovacích hodinách, ako aj za jej odborné pripomienky k danej tematike.

Použitá literatúra

[1] ČAPEK, Róbert. 2015. Moderní didaktika. Praha:Grada Publishing, a.s. 215-216 s. ISBN 978-80-247-3450-7
[2] HOLINGYÁK, Dominik. 2023.
[3] UŠÁKOVÁ, Katarína. a kol. 2015. Biológie pre gymnáziá 6. Bratislava:Expol pedagogika. 31-41 s. ISBN 978-80-8091-402-8
[4] KOČÁREK, Eduard. 2010. Biológie človeka. Praha:Scienta. ISBN 978-80-86960-47-0
[5] MELLOVÁ, Yvetta. a kol. 2018. Anatómia človeka pre nelekárske štúdijné programy. Martin:Osveta, 109-111 s. ISBN 978-80-063-454-4.

Overovanie podporných vzdelávacích materiálov a analýza výsledkov pre tematický celok Dýchacia sústava človeka

Validation of educational support materials and analysis of results for the thematic unit Human respiratory system

Adam Lenčéš[1]
Školiteľ: Anna Sandanusová[2]
[1,2]Katedra zoológie a antropológie , FPVal UKF v Nitre, Nábrežie mládeže 91, 949 74 Nitra,
adam.lences@student.ukf.sk[1], asandanusova@ukf.sk[2]

Abstrakt

Článok je zameraný na pokračovanie v tvorbe a overovaní podporných vzdelávacích materiálov a využitie metódy E-U-R z tematického celku Dýchacia sústava človeka pre žiakov strednej odbornej školy.

Našou snahou je rozvíjať kritické a logické myslenie žiakov a zlepšiť ich čitateľskú a prírodovednú gramotnosť. Na tento účel využívame rôzne pedagogické metódy, formy a stratégie, ktoré nám umožňujú dosiahnuť tieto ciele. Súčasťou článku sú spracované výsledky z pretestu, ktorý bol súčasťou článku z minulého roka a posttestu v rámci aktuálneho článku. Štátny vzdelávací program ISCED 3A bol základným pilierom, z ktorého sme vychádzali počas vypracovávania modelu hodiny.

Zameriavanie sa na hodnotenie výsledkov, ktoré sme získali prostredníctvom pretestu a posttestu, je dôležitou súčasťou článku. Našim cieľom je poskytnúť detailnú analýzu týchto výsledkov a zhodnotiť účinnosť našich vyučovacích metód a postupov. Vytvorený model hodiny sme si overili v pedagogickej praxi a následne kvalitatívne aj kvantitatívne sme analyzovali pretest a posttest.

Kľúčové slová: metóda E-U-R, pretest, posttest

Abstract

The article focuses on the continuation of the development and validation of supporting educational materials and the use of the E-U-R method from the thematic unit Human Respiratory System for grammar school students.

Our aim is to develop pupils' critical and logical thinking and to improve their reading and science literacy. To this end, we use a variety of pedagogical methods, forms and strategies that enable us to achieve these goals. The results from the pretest that was part of last year's article and the posttest in the current article are processed as part of the article. The ISCED 3A state curriculum was the main pillar on which we based the development of the lesson model.

Focusing on the assessment results we obtained through the pretest and posttest is an important part of the article. Our aim is to provide a detailed analysis of these results and to evaluate the effectiveness of our teaching methods and practices. We validated the lesson model we developed in teaching practice and then analyzed the pretest and posttest qualitatively and quantitatively.

Key Words: E-U-R method, pretest, posttest

Úvod

Tento príspevok slúži ako pokračovanie článku z roku 2022 na tému: Tvorba a overovanie podporných vzdelávacích materiálov pre tematický celok Dýchacia sústava človeka na gymnáziách, ktorý bol prezentovaný na Študentskej vedeckej konferencii.

Výskum a analýzu výsledkov z pretestu a posttestu sme realizovali na Strednej odbornej škole veterinárnej v Nitre. Z kapacitných dôvodov sme nemohli absolvovať súvislú pedagogickú prax z biológie v žiadnych okolitých gymnáziách. Môžeme však konštatovať, že rozsah učiva z tejto témy je zodpovedajúci rozsahu učiva na gymnáziách.

Dýchacia sústava človeka je jedným z kľúčových orgánových systémov, ktorý má zásadný vplyv na celkové zdravie a funkčnosť organizmu [1]. Téma dýchacej sústavy človeka sa preto zaraďuje do vzdelávacieho obsahu biológie na stredných školách, vrátane gymnázií. Keď chceme, aby sa učitelia dokázali efektívne pripraviť na vyučovanie tejto témy, potrebujeme vhodné podporné vzdelávacie materiály, ktoré umožnia lepšie porozumenie zložitých konceptov a procesov v dýchacej sústave.

V súčasnosti existuje mnoho nástrojov a aplikácií, ktoré môžu byť užitočné pre tvorbu a overenie podporných vzdelávacích materiálov pre dýchaciu sústavu človeka. V prechádzajúcom článku sme využili

didaktické hry ako sú Bingo a pexeso, v aktuálnom aj metódu na rozvoj kritického myslenia CINQUAIN.

Článok sa zaoberá vyhodnotením účinnosti vzdelávacieho programu, ktorý bol vyvinutý pre tematický celok Dýchacia sústava človeka. Sú využité pretesty a posttesty na meranie vedomostí a ďalších kompetencií žiakov pred a po aplikovaní vzdelávacieho programu.

1 Materiál a metodika

Materiál a metodika sú veľmi dôležité prvky pri tvorbe a overovaní podporných vzdelávacích materiálov pre tematický celok Dýchacia sústava človeka. V tejto kapitole sme sa zamerali na popis použitých materiálov a metód pri vývoji a testovaní podporných materiálov.

Materiály použité pri tvorbe podporných vzdelávacích materiálov zahŕňali učebnice, odbornú literatúru, internetové stránky ako aj materiály vytvorené v rámci projektu. Bolo potrebné zabezpečiť, aby použité zdroje boli aktuálne, spoľahlivé, relevantné pre cieľovú skupinu študentov a v súlade s ISCED 3A.

Pri tvorbe podporných materiálov bola použitá aj metóda testovania a hodnotenia. Materiály boli testované na skupine študentov, ktorí reprezentovali cieľovú skupinu. Testovanie pozostávalo z pretestu a posttestu, čo umožnilo získať spätnú väzbu a identifikovať oblasti, kde boli potrebné úpravy a zlepšenia.

V rámci metodiky bolo tiež dôležité zabezpečiť prístupnosť a použiteľnosť materiálov. Všetky podporné vzdelávacie materiály boli navrhnuté tak, aby boli pre študentov ľahko prístupné a aby boli pre nich jasné a zrozumiteľné.

Využili sme čo najaktuálnejšie zdroje, aby informácie, ktoré článok obsahuje sa zaoberali aktuálnou problematikou. Príkladom sú aktuálne didaktické hry a metódy zamerané na rozvoj kritického myslenia.

Spolupráca na postupnom vytváraní článku bola vopred odsúhlasená so školiteľkou. Pri tvorbe modelovej hodiny sme sa opierali o základné princípy Štátneho vzdelávacieho programu ISCED 3A. Z témy Dýchacia sústava sme sa zamerali na vysvetlenie vonkajšieho a vnútorného dýchania a rozdielov medzi nimi, podstatou dýchania a vysvetlenia pojmov ako frekvencia dýchania, respiračný vzduch, minútový objem, vitálna kapacita pľúc a spirometer.

Vytvorenú modelovú hodinu a podporné vzdelávacie materiály sme si následne aj pilotne overili v rámci našej diplomovej práce na súvislej pedagogickej praxi.

2 Dýchacia sústava- metodika

Mnohí ľudia nepripisujú dostatočnú dôležitosť funkčnosti dýchacej sústavy, až do chvíle, keď sa u nich prejavia zdravotné problémy. Naša pozornosť sa v nasledujúcej časti hodiny zameria na opakovanie ochorení dýchacích ciest, ktoré žiakom pomôžu lepšie pochopiť ich príznaky a priebeh, a tým si uvedomiť, ako zabezpečiť zdravie dýchacej sústavy. Žiakom robia problémy aj rozlíšenie vonkajšieho a vnútorného dýchania. Na začiatku hodiny využijeme metódu na rozvoj kritického myslenia CINQUAIN, aby si žiaci pripomenuli pojmy, ktoré sa už učili na predchádzajúcej hodine.

Pri tvorbe modelovej hodiny sme sa rozhodli využiť stratégiu E-U-R, ktorá zahŕňa evokáciu, uvedomenie si významu a reflexiu [2]. Detailné informácie o tejto stratégii sme uviedli v článku z minulého roku. Táto metodika bola vypracovaná s cieľom poskytnúť podporné a vzdelávacie materiály pre žiakov 3. ročníka strednej školy. Predtým, než sme ju začali používať, sme ju odkonzultovali a prediskutovali so školiteľkou a cvičnou učiteľkou, ktoré nám poskytli spätnú väzbu a rady na jej optimalizáciu.

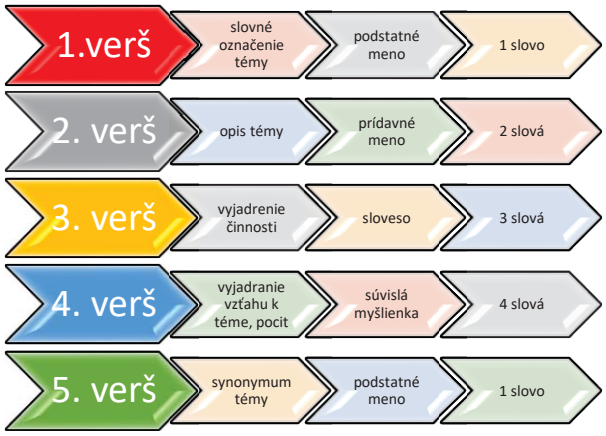
Evokácia

Cieľom evokácie je overenie, resp. zopakovanie si vedomostí z predchádzajúcej hodiny [3].

Na úvod učiteľ zvýši motiváciu žiakov metódou podporujúcou rozvoj kritického myslenia – CINQUAIN. Pri metóde CINQUAIN si žiaci rozvíjajú kritické myslenie, pretože je to metóda, ktorá umožňuje syntetizovať vedomosti a zhrnúť myšlienky a informácie do krátkych výrazov, ktoré popisujú jednu tému. Jedná sa o päťriadkovú báseň, ktorá je výstižná a veľmi krátka. Pozostáva z trinástich slov a je väčšinou nerytmická. Nachádza sa v nej päť veršov. Prvý verš obsahuje jedno slovo, kde je vystihnuté slovné označenie témy. Druhý verš pozostáva z dvoch slov a slúži nám na opis témy. Vyjadrenie činnosti je zmysel tretieho veršu a v tejto časti využijeme 3 slová. Predposledný verš bude najdlhší, vyjadrujeme v ňom vzťah k téme a pozostáva až zo štyroch slov. Básničku ukončíme jedným slovom, ktoré bude synonymum k danej téme [4].

Učiteľ ukáže cez dataprojektor schému pravidiel, alebo schému vytlačí a rozdá žiakom do dvojíc. Postup zvolenej metódy je veľmi jednoduchý. Schému pravidiel vysvetlíme žiakom a necháme im určitý čas na vypracovanie básne. Učiteľ následne vyzve žiakov, aby svoju báseň prečítali. Cieľom tejto metódy je aktivizovať žiakov, rozšíriť ich vedomosti na konkrétnu tému, podporiť ich v diskusii, zdieľať svoje nápady a

myšlienky s ostatnými spolužiakmi, aby sa dohodli na výbere najvhodnejších slov pre opis danej témy. Taktiež sa vďaka tejto metóde žiaci učia prezentovať a obhajovať svoje myšlienky pred skupinou ľudí a tiež vyjadriť komplexnú informáciu pomocou niekoľkých slov.



Obr. 1 Schéma pravidiel
Zdroj: [5]

Po ukončení metódy CINQUAIN, rozvíjajúcej kritické myslenie, učiteľ žiakom položí jednoduché otázky, aby ich zaktivizoval a zvýšil motiváciu.

Aktivita 2:

Otázky učiteľa budú nasledovné:

1. Aké sú dva základné prvky dýchania?

(Predpokladaná odpoveď: nádych a výdych)

2. Ktoré dva svaly sú primárne zapojené pri kontrole nádychu a výdychu?

(Predpokladaná odpoveď: bránica a medzirebrové svaly)

3. Aký je rozdiel medzi nádychom a výdychom?

(Predpokladaná odpoveď: pri nádychu sa využívajú bránica a vonkajšie medzirebrové svaly, zatiaľ čo pri výdychu bránica a vnútorné medzirebrové svaly) [6].

Žiaci by mali zvládnuť odpovedať na dané otázky. Pri nepresných formuláciách odpovedí ich navedieme k správnym odpovediam. Dva základné prvky dýchania sú nádych a výdych. Po vysvetlení rozdielov medzi týmito dvoma základnými prvkami dýchania sa dostávame k hlavnej problematike metodiky. Učiteľ upozorní žiakov na rozdelenie dýchania, kde rozoznávame vonkajšie a vnútorné dýchanie. Žiaci si často neuvedomujú, že existuje aj vnútorné dýchanie, pretože poznajú len výmenu dýchacích plynov (O_2 a CO_2).

Obrovský problém robí žiakom vysvetlenie podstaty dýchania a aj preto sa na to zameriame v ďalšej časti hodiny.

Uvedomenie si významu

Uvedomenie si významu považujeme za hlavnú časť vyučovacej hodiny. Učiteľ napíše na tabuľu slovné spojenie „výmena plynov“, čím sa otvára priestor pre diskusiu. Žiakom je dôležité vysvetliť dôvod, prečo dýchame a usmerniť ich myslenie tak, aby pochopili, že látka sa za prítomnosti kyslíka rozloží v mitochondriách, kde vzniká energia, ktorú bunky potrebujú na životné procesy [6].

Výklad:

Pri výklade učiva sa začnú vysvetľovať jednotlivé informácie o vonkajšom a vnútornom dýchaní, až sa učiteľ dostane k podstate vnútrobunkového dýchania [7]. Zložité názvy budú napísané buď v prezentácií, ktorá bude prezentovaná žiakom, alebo na tabuli. Je dôležité, aby žiaci mali zložité názvy, nové pojmy a cudzie slová neustále pred sebou. Ľahšie si zapamätajú správne gramatické tvary názvov tým, že si ich precvičia a zopakujú s učiteľom.

Pri závere výkladu je nevyhnutné žiakov upozorniť aj na pojmy ako frekvencia dýchania, respiračný vzduch, minútový objem, vitálna kapacita pľúc a spirometer [8].

Po vysvetlení významu týchto pojmov prejde učiteľ k slovnému opakovaniu celej dýchacej sústavy. Následne sa dostávame do poslednej časti hodiny a tou je reflexia.

Reflexia

V rámci reflexie využijeme posttest na zopakovanie učiva a overenie novovzniknutých vedomostí. Výsledky z posttestu porovnáme s pretestom a zisťujeme mieru zlepšenia výsledkov graficky. Očakávame, že výsledok z posttestov bude výrazne lepší ako z pretestov, vďaka inovatívnym vzdelávacím materiálom pre tematický celok Dýchacia sústava človeka.

3 Výsledky a diskusia

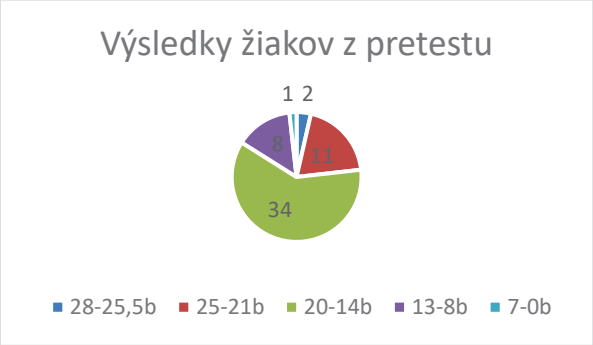
Pri analyzovaní výsledkov sme pozorovali výrazné zlepšenie výkonu, pozitívny vývoj poznatkov a porozumenia žiakov strednej odbornej školy. Pretest aj posttest písalo 56 žiakov tretieho ročníka vo veku od 17 do 18 rokov. V preteste sme zistili, že väčšina študentov mala určité nesprávne predstavy o fungovaní dýchacej sústavy. Avšak, po absolvovaní celého tematického bloku, v ktorom boli využité moderné vyučovanie metódy, postupy a stratégie, rôzne typy učebných úloh a aktivít, sme pozorovali výrazné zlepšenie výkonu žiakov. V porovnaní s

pretestom, posttest ukázal, že žiaci nezískali len nové poznatky, ale dokázali ich aj úspešne aplikovať v praxi.

Tento signifikantný nárast poznatkov a vedomostí u našich žiakov je výsledkom kvalitného a cieľavedomého vytvorenia podporných a vzdelávacích materiálov na základe stratégie E-U-R, ktoré sme použili počas celého vyučovania tematického celku Dýchacia sústava človeka. Tento úspech nás motivuje k tomu, aby sme aj v budúcnosti používali podobné vyučovacie metódy a postupy, ktoré môžu viesť k rovnako výrazným výsledkom v iných biologických témach a oblastiach.

Tab. 1 Úspešnosť žiakov v preteste
Zdroj: [9]

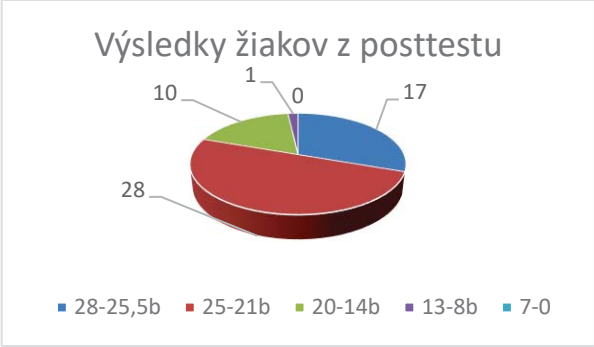
Počet bodov	Počet žiakov
28-25,5	2
25-21	11
20-14	34
13-8	8
7-0	1



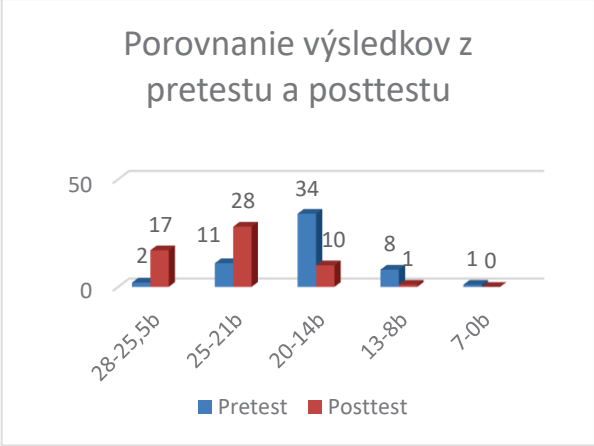
Graf 1 Výsledky žiakov z pretestu [9].

Tab. 2 Úspešnosť žiakov v postteste
Zdroj: [9]

Počet bodov	Počet žiakov
28-25,5	17
25-21	28
20-14	10
13-8	1
7-0	0



Graf 2 Výsledky žiakov z posttestu [9].



Graf 3 Porovnanie výsledkov z pretestu a posttestu [9].

Záver

Článok je logickým pokračovaním výskumu z minulého roka. Dokončili sme metodiku dýchacej sústavy a žiakom sme dali na záver hodiny posttest. Úlohy boli rôzneho typu a rôznej náročnosti na vypracovanie. Posttest je vhodný pre nadpriemerne inteligentných, ale aj tých slabších žiakov. Pozorovali sme výrazné zlepšenie výsledkov v postteste v porovnaní s pretestom. Dôvodov zlepšených výsledkov je viacero. Prvý dôvod je ten, že test je opakovaný, a preto je očakávaný zlepšený výsledok z posttestu. Miera zlepšenia výsledkov je ale výrazne lepšia, ako bolo očakávané. Prisudzujeme to skutočnosti, že vo vyučovacom procese boli intenzívne využívané inovatívne metódy a didaktické hry, podporujúce kritické myslenia, žiaci riešili rôzne typy učebných úloh.

Vytvorený model hodiny na tému Dýchacia sústava, a posttest sme pilotne overili v rámci našej súvislej pedagogickej praxe. Výsledky sme vyhodnotili a porovnali sme úspešnosť žiakov a ich zlepšenie medzi pretestom a posttestom. Jednotlivé otázky sú v súlade s ISCED 3A.

Poďakovanie

Chcel by som sa úprimne poďakovať mojej školiteľke PaedDr. Anne Sandanusovej, Ph.D. za jej nekonečnú trpezlivosť, pomoc, cenné rady a korigovanie pri písaní tohto článku.

Moja vďaka patrí, samozrejme, aj mojej cvičnej učiteľke v rámci súvislej pedagogickej praxe. Pani Mgr. Hana Pšenková si upravila svoj rozvrh, aby ho prispôsobila mojím potrebám. Vďaka nej sme mali možnosť si overiť účinnosť podporných vzdelávacích materiálov.

Článok vznikol v rámci projektu „Skvalitňovanie praktickej prípravy budúcich pedagogických zamestnancov na UKF v Nitre“ (kód ITMS2014+ 312011Z815). Tento projekt sa realizuje vďaka podpore Európskeho sociálneho fondu a Európskeho fondu regionálneho rozvoja v rámci Operačného programu Ľudské zdroje.

Použitá literatúra

[1] TORTORA, Gerard J., NIELSEN, Mark, 2016. Principles of Human Anatomy. 14th ed., s. 735. ISBN 978-1-119-32059-3

[2] KOVÁČOVÁ, A. (2015) E-U-R ako trojfázový model učenia. [online]. [cit. 7.marec. 2023]. Dostupné z: http://projektstepahead.sk/interaktivne-obrazovky/vytvor_si/EUR_model.pdf

[3] ČAPEK, Robert. 2015. Moderní didaktika – lexikon výukových a hodnotících metod. Grada Publishing, s. 465, 257. ISBN 978-80-247-9934-6

[4] KONÍČKOVÁ, Jaroslava (2014), 5 tipov, ako prebrať unudených žiakov. [online]. [cit. 11.marec. 2023]. Dostupné z: https://eduworld.sk/cd/jaroslava-konickova/1748/5-tipov-ako-prebrat-unudenych-ziakov

[5] LENČÉŠ, Adam, 2023. Schéma pravidiel pre didaktickú metódu CINQUAIN

[6] UŠÁKOVÁ, Katarína. A kol. 2015. Biológia pre gymnáziá 6. 4. vyd. Bratislava:Expol Pedagogika, 27-30 s. ISBN 978-80-8091-402-8

[7] KOČÁREK, Eduard. 2010. Biologie člověka. Praha: NAKLADATELSTVÍ SCIENTIA, s. 80. ISBN 978-80-86960-48-7

[8] SANDANUSOVÁ, Anna. A kol. 2020. Biológia. Nitra: ENIGMA PUBLISHING, s. 276-278. ISBN 978-80-8133-0965-7

[9] LENČÉŠ, Adam, 2023. Grafy a tabuľky spracovaných výsledkov

Realizácia technologických postupov pri výrobe marionety

Implementation of technological procedures in the production of marionette

Tobiáš Kubovič[1]
Školiteľ: Martin Kučerka[2]
[1,2]Katedra techniky a technológií, FPV UMB, Tajovského 40
[1]tkubovic@student.umb.sk, [2]martin.kucerka@umb.sk

Abstrakt

Téma článku je zameraná na získanie vedomostí, zručností a overenie si technologických postupov pri výrobe prototypu výrobku. Jedná sa o klasickú drevenú marionetu zostrojenú podľa vlastného výtvarného a technického návrhu. Má teoretickú aj praktickú časť. V teoretickej časti sa dotýka popisu podstaty marionety. Praktická časť pozostáva zo samotnej výroby marionety so stručným popisom technologického procesu výroby. Článok obsahuje aj didaktickú časť, v ktorej hľadá východiská pre budúcu prax a využitie v predmete Technika na základnej škole.

Kľúčové slová: marioneta, technika, výroba, práca s drevom, didaktika

Abstract

The aim of this paper is to gain knowledge, skills and to verify the use of technological procedures in the process of production of a prototype. The product is a classical wooden marionette, created based on author's custom art design and technical design. The paper is of both theoretical and practical character. The theoretical part concerns description of the nature of the marionette. The practical part consists of the production of marionette itself with brief description of the technological procedures of the production. The Paper likewise covers didactic part in which it seeks to offer pedagogical recommendations and to set foundation for future use in the subject Technology at elementary schools.

Key words: marionette, technology education, production, woodwork, didactics

Úvod

„Začnite tým, že urobíte potrebné; potom urobte, čo je možné; a zrazu robíte nemožné."

František z Assisi

Mohli by sme povedať, že motiváciou pre našu prácu je osobná výzva. Kreatívna činnosť s materiálom nás od detstva fascinovala, a to hlavne skutočnosť, že sa pod rukami mení, pretvára a získava podobu, ktorú mu sami určíme. Človek s vekom získava poznanie, skúsenosti, nadobúda zručnosti a prirodzene posúva hranice svojich možností. Túži zhmotniť svoje predstavy a nápady, ktoré sa mu črtajú v mysli.

Už od mladého veku sme tvorili z rôznych materiálov ako papier, plast, hlina a iné. Žiadny z nich si nás však nezískal tak ako drevo. Je to veľmi jedinečný materiál. Tomu, kto mu rozumie, poskytne nenapodobniteľné, unikátne možnosti estetickosti a celkového stvárnenia myšlienky. Aj v duchu zachovania tradície drevených bábok, sme aj my rovnako ako Geppetto pri výrobe Pinocchia, zvolili tento úžasný materiál pre naplnenie cieľov našej práce:

- Výroba marionety podľa vlastného výtvarného a technického návrhu,
- Overiť si technologické postupy a získanie vedomostí aj zručností v danej oblasti,
- Nájsť východiská pre budúcu prax a využitie v predmete Technika na ZŠ.

Najskôr sa pozrieme na samotnú podstatu marionety, jej vzhľad, použitie.

V druhej kapitole, kde opisujeme proces tvorby výrobku, sa pozrieme na naše postupy použité pri výrobe bábky. V úvode kapitoly sa zaoberáme výtvarným návrhom. Autor poskytne vysvetlenie, prečo napriek tradícii ľudového bábkarstva a tradičnému materiálu neostal aj pri tradičnom výbere charakteru postavy, ale naopak siahol po čarodejníkovi, ktorý svojím zjavom pripomína animovanú postavu z obľúbenej počítačovej hry Skyrim. Zvolením si tejto témy, ktorá je pre dnešnú mládež známa a príťažlivá, chceme ukázať, že rovnako ako vo virtuálnom svete nie sú obmedzenia, ani nám nie sú kladené žiadne medze. Pokiaľ takáto fiktívna postavička existuje v našej predstave, môžeme ju oživiť aj v podobe marionety vďaka získaným kompetenciám z absolvovaných predmetov, a následne ju pomocou bábkohry preniesť z 3D sveta do nášho fyzického.

Učiteľstvo techniky pripravuje absolventov na pedagogickú prax v rovnomennom predmete na základných školách. Poslednú kapitolu sme venovali aplikácii získaných poznatkov a skúseností pri výrobe prototypu marionety pri vyučovaní tohto predmetu. Načrtli sme návrh projektového vyučovania, medzipredmetových vzťahov a možnosť zaradenia tejto témy do osnov techniky pre druhý stupeň základných škôl. Poskytli sme možné zmeny zjednodušenia technického procesu výroby tak, aby žiaci získali potrebné kompetencie a pritom sa naplnili ciele predmetu. Opierali sme sa o bohaté skúsenosti učiteľky výtvarného odboru na ZUŠ v Slovenskej Ľupči.

1 Marioneta

Marioneta je bábka zavesená na drôte a ovládaná zhora tenkými špagátikmi alebo niťami. Z hľadiska ovládania patrí medzi najnáročnejšie bábky. Bábkoherec, ktorý je súčasne manipulátorom marionety, drží v jednej ruke vahadlo na vrchnom konci drôtu a druhou pohybuje nitkami uviazanými na končatinách, čím dostáva bábku do pohybu. Marioneta však „ožíva“ aj prepožičaním hlasu bábkoherca.

Priestor, v ktorom sa táto dokonalá premena neživého predmetu na ilúziu živej postavičky uskutočňuje, sa nazýva bábkové divadlo. „V bábkovom divadle je teda všetko ilúzia. Mŕtva hmota sa pretvára na svet, ktorý existuje len zdanlivo, diváci ho vnímajú ako svet pravdepodobný“ [1]. Je to osobitý druh umenia. Bábkové divadlo predstavuje špecifický druh zábavy, ktorý rozvíja tvorivosť a fantáziu človeka. Predstavenia bábkového divadla sú síce adresované najmä deťom, ale potešia aj starších divákov. Zaujímavé je, že bábky vedia vytvoriť nezvyčajný rozsah dojmov a zároveň zvládnuť oveľa náročnejšie efekty ako živí herci.

Marionety sa používajú pri divadelných predstaveniach ale aj vo filme či televíznych inscenáciách a sú spomedzi najrôznejších bábok tie najobľúbenejšie [2].

2 Proces tvorby výrobku

V kapitole sa zameriame na jednotlivé postupy tvorby marionety, voľbu materiálu a pracovné postupy opracovávania týchto materiálov.

2.1 Výtvarný návrh

Počiatkom každého tvorivého procesu je myšlienka, nápad, predstava. Keď tvorca svoju predstavu vizualizuje, zobrazí, vznikne výtvarný návrh. Jedným z najpoužívanejších spôsobov výtvarného vyjadrenia je kresba. V dnešnej dobe nemusí byť prirodzené médium kresby papier, ale výtvarný návrh môže vzniknúť aj počítačovou grafikou. To je aj náš prípad keďže výtvarný návrh sme kreslili pomocou grafického tabletu v programe SAI.

Ale späť k myšlienke. V minulosti deti milovali bábkové predstavenia. Naši rodičia vyrastali na televíznych bábkových inscenáciách. Tie postupne nahradili animované kreslené rozprávky, kde ilúzia pohybu bola reálnejšia. Marioneta je postavička, ktorá ožíva v rukách bábkoherca a kreslená postavička vďaka moderným technológiám ožíva vo virtuálnom priestore. V jednom aj v druhom prípade ide o vytvorenie ilúzie, dojmu, že neživá postavička žije. Moderné počítačové technológie idú každým rokom závratnou rýchlosťou dopredu a s nimi aj dokonalosť kreslených animácií. Mládež dnes žije interaktívnymi počítačovými hrami, kde dokonalosť ilúzie presvedčivo pripomína realitu. Prečo to spomíname? Lebo práve tu sa zrodila myšlienka priblížiť sa k záľubám dnešných detí a zaradiť spätný chod stelesnením virtuálnej postavy do fyzickej podoby marionety.

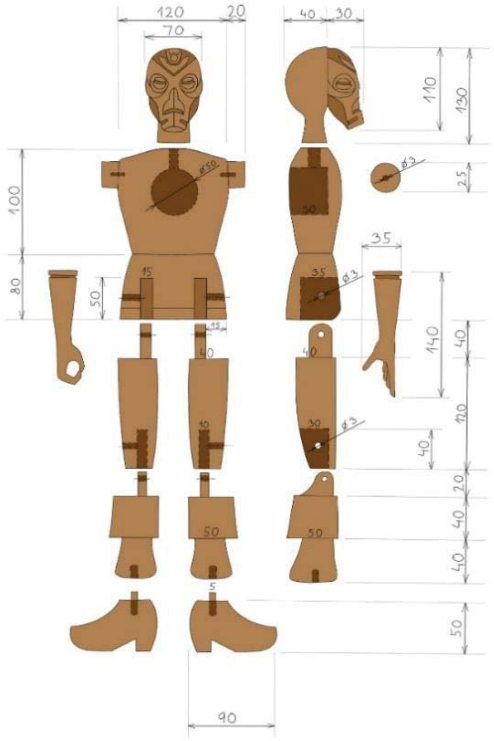
Vo výtvarnom prevedení sme si zvolili pre náš výrobok charakter, ktorý nápadne pripomína hrdinov z populárnej počítačovej hry z detstva našej generácie, Skyrim. Skyrim je hra, ktorá fantázii nekladie žiadne medze. Je plná neobyčajných bytostí ako sú draci, trpaslíci, elfovia či čarodejníci a ich kúzla. Zvolením si tejto témy pre našu marionetu chceme ukázať aj to, že rovnako ako takéto počítačové hry, ani nám nie sú kladené žiadne medze. Pokiaľ takáto fiktívna postavička existuje v našej hlave a predstave, môžeme ju oživiť aj v podobe marionety a pomocou bábkohry.

Dalo by sa povedať, že sme sa rozhodli priam vytrhnúť túto postavičku zo súčasnej 3D virtuálnej reality, preniesť ju v čase niekoľko generácií dozadu a doslova ju vystrúhať pôvodnými technikami ručného opracovania dreva. Napokon ju synonymicky animovať pomocou pohybového mechanizmu klasickej marionety.

2.2 Technická dokumentácia

Aby výtvarný návrh marionety mohol byť úspešne zrealizovaný, je nutné zrozumiteľné technické zobrazenie výrobku. Keďže marioneta v našom poňatí je viac menej vždy jedinečná a svoju podobu získava kreatívnym prístupom tvorcu, nemusí byť nevyhnutne potrebný k jej realizácii technický výkres. Úplne postačí autorovi technický náčrt jednotlivých dielov figúry a pohybových mechanizmov kolenných a bedrových

kĺbov a približných rozmerov. Technický náčrt si môžeme všimnúť na obrázku číslo 1.



Obr. 1 Technický náčrt marionety

2.3 Výber materiálu

V minulosti sa využívali tradičné materiály ako drevo, hlina, textil, papierová hmota. Dnes sa bežne používajú aj novodobé materiály ako polystyrén, silikónové a polymérové hmoty, odpadový či recyklovaný materiál.

My vychádzame z faktu, že marioneta je vlastne „oživený drevený človiečik“, čiže hlavným materiálom na jej výrobu je drevo.

Drevo je pre človeka cennou surovinou, ktorú mu od nepamäti poskytovala príroda. Drevo ako materiál má veľa výhod aj nevýhod. V praxi to znamená, že pri jeho spracovaní treba využiť všetky jeho dobré vlastnosti. Okrem príjemnej farby, vône, kresby, ktoré sú veľmi inšpirujúce, za prednosti dreva môžeme považovať malú hustotu, pomerne veľkú pevnosť, ľahkú opracovateľnosť nástrojmi a jednoduchú povrchovú úpravu. Keďže pri výrobe charakterovej postavičky záleží na najmenších detailoch, na výrobu marionety je vhodné drevo na jemné vyrezávanie. Ideálne druhy dreva na vyrezávanie sú lipa a topoľ, keďže sú mäkké a rovnorodé. Obľúbená je aj jelša a drevo ovocných stromov. Sú o niečo tvrdšie ako prvé menované, ale takisto sú homogénne a navyše s krásnou farbou červenkastých odtieňov a kresbou. K používaným patrí tiež drevo tvrdých listnatých stromov ako dub a buk. Dub vyniká svojou pevnosťou a pružnosťou, nevýhodou pre rezbárov je však jeho väčšia hmotnosť. Buk je ešte pevnejší, pritom sa ľahko štiepa a dobre sa impregnuje aj morí. Z tvrdých drevín je ešte zaujímavý hrab, aj keď je to naše najťažšie drevo. Práve preto sa často používa na drobné predmety ako úchytky rukoväte, šachové figúrky, sošky a malé umelecké výtvory. Dobrý rezbár nepohrdne ani drevom javora či jaseňa. Drevo ihličnanov je najmenej vhodné. Je mäkšie, ale veľmi nerovnorodé, ľahko sa pri vyrezávaní štiepa, a to pre veľký rozdiel v tvrdosti jarného a letného dreva v rámci ročného kruhu. Napriek tomu sa v niektorých prípadoch používa smrekové drevo na výrobu tela a stehien, ktoré bývajú zvyčajne zakryté oblečením a nemusia znázorňovať detaily. Dôvodom je zníženie celkovej váhy marionety, keďže sa jedná o veľmi ľahké drevo.

Ostaneme pri tom, že najvhodnejším druhom pre vyrezávanie marionety je lipové drevo. Má bielu farbu s nevýraznými svetlými ročnými kruhmi. Veľmi ľahko sa opracováva, hobľuje, štiepa a leští. Kvalitne vysušené drevo už nepracuje. Je mäkké, pritom dostatočne pevné a hlavne ľahké, čo je pre vodenie bábky veľmi dôležitý faktor.

My sme sa rozhodli všetky drevené časti marionety zhotoviť práve z doskového reziva lipy. Toto doskové rezivo bolo približne 5 centimetrov hrubé, čo bolo dostačujúce pre väčšinu častí tela bábky.

Okrem dreva sa používajú pri výrobe klasickej drevenej marionety aj iné materiály, zväčša na spájanie jednotlivých komponentov, na vodiace prvky a na dotvorenie charakteru postavičky prostredníctvom jej oblečenia.

Na spájanie drevených komponentov sa používajú rôzne druhy kovových klincov, skrutiek, prípadne plieškov. Vodiaci drôt môže byť podľa dostupnosti medený, zinkový, mosadzný o priemere cca 3-5 mm.

Ďalšou neodmysliteľnou súčasťou bábky je jej kostým. Najčastejšie sa naň používajú rôzne druhy textilných materiálov a kože. Jeho úlohou je dokresliť a vhodne dotvoriť celkový charakter marionety. Textil sa používa aj na vrchnú časť ruky, ramennej časti, aby bábke umožňoval pohyb horných končatín. K pohybu sú tiež dôležité nite a na to je najvhodnejšia obuvnícka dratva.

2.4 Obrábanie materiálu

Klasická drevená marioneta sa skladá minimálne z ôsmich drevených častí – z hlavy, trupu, dvoch

predlaktí s dlaňami, dvoch stehenných častí a dvoch spodných lýtkových častí spojených s chodidlom. My sme si však pridali niekoľko ďalších. Lýtka a chodidlá sme rozdelili na dve oddelené časti, aby sme predišli riziku nežiadúceho štiepenia pri tvarovaní topánky. Ďalej plecia vytvárajú celkovo realistickejší anatomický dojem a hlavu sme rozdelili na masku a zadnú časť hlavy, najmä z dôvodu využitia už spomínaného doskového reziva, ktoré nebolo dostatočne široké jedine pre tento jeden komponent. Na výrobu jednotlivých drevených častí nám postačili nástroje a spôsoby ručného opracovania, čiže sme sa zaobišli bez zložitejších strojových zariadení.

Základom a jednoznačným začiatkom každej práce pri ručnom opracovaní materiálov na konkrétny výrobok je meranie a obrysovanie. Použili sme na to obyčajnú ceruzku, oceľové meradlo a uholník.

Po obrysovaní na pripravený materiál nasleduje rezanie. Rezanie považujeme za základný spôsob trieskového delenia technického materiálu. Možné je naň použiť píly rôznych tvarov a konštrukcií, my sme si však vystačili len s jedným druhom ručnej chvostovej píly. S týmto spôsobom opracovania materiálu sme sa najčastejšie stretávali pri oddeľovaní jednotlivých častí z doskového reziva alebo pri hrubom určovaní tvaru.

Ďalšie opracovanie materiálu, ktoré neodmysliteľne patrí k výrobe marionety, je dlabanie. Použili sme rôzne druhy dlát pre rôzne účely. Ploché dláto najčastejšie pre ďalšie hrubé odoberanie materiálu a taktiež na vytváranie čapových spojov, ako je znázornené na obrázku číslo 2. Duté a rohové dláto na citlivejšie tvarovanie dreva, stvárňovanie rúk, záhybov látky a tvaru masky.

Obr. 2 Vytváranie bedrového kĺbu

Rašpľovanie, pilníkovanie a brúsenie sú pracovné činnosti, ktoré patria medzi dokončovacie práce obrábania materiálu a cieľom je získať finálny tvar výrobku. Na hrubšie opracovanie sme použili rašpľu, na jemnejšie pilník a brúsny papier.

Kovové materiály, ktoré sa používajú pri výrobe bábky, delíme strihaním, štikaním, ale aj pílením. V našom prípade išlo o tenké klinčeky, ktoré sme v stolovom zveráku ohýbali pomocou zámočníckeho kladiva do tvaru háčikov, a neskôr používali v systéme vodiacich prvkov. Rovnakým pracovným postupom sme ohýbali aj drôt slúžiaci ako hlavný vodiaci prvok - nosný drôt.

2.5 Povrchová úprava

Povrchová úprava je súhrn pracovných postupov na zdokonalenie a zušľachtenie materiálu nanášaním rôznych náterov a povlakov. Cieľom je jednak ochrana proti škodcom a poveternostným vplyvom, ale hlavne požiadavka estetického vzhľadu výrobku. Pre našu marionetu sme použili niekoľko rôznych náterov.

Najjednoduchšími boli časti marionety, ktoré nie sú viditeľné, teda sa nachádzajú pod kostýmom, oblečením. Tými sú telo a ramená. Ošetrili sme ich dvomi nátermi vodou riediteľným lakom na drevo.

Na viditeľné časti ako ruky, nohy a hlava, sme použili akrylové farby. Po vyschnutí prvej vrstvy farby sme na čižmách technikou patinovania zvýraznili tiene v záhyboch a taktiež svetlé miesta pomocou jemného brúsneho papiera. Následne sme na vystupujúce časti prstom naniesli bielu farbu. Konečnou úpravou všetkých farbených dielov bolo zabezpečenie trvácnosti farby jedným neriedeným náterom laku na drevo.

Na rozdiel od ostatných dielov marionety, kde sme sa snažili pomocou akrylových farieb vytvoriť dojem, že sa jedná o iný materiál ako drevo, pri maske sme práveže chceli zdôrazniť drevenú štruktúru. Lazúra na drevo nám poskytla presne taký efekt, aký sme potrebovali.

2.6 Spájanie materiálov a vodiace prvky

Spájanie materiálov priamo podlieha pohybovému mechanizmu a vodiacim prvkom marionety. Len minimum spojov je pevných, viaceré spoje sú prispôsobené tak, aby priamo umožňovali pohyb jednotlivých častí bábky.

Pevné spoje nájdeme pri spojení chodidla s lýtkovou časťou, pliec s telom a masky so zadnou časťou hlavy. Tieto spoje sme vyhotovili pomocou lepidla na drevo a drevených kolíkov.

Spoj pliec s rukami môžeme považovať za polovične pevný aj pohyblivý. Keďže naša marioneta nemá reálne, drevené ramená, nahradíme ich kusom látky, ktorá je na jednej strane pevne spojená s dreveným predlaktím a na druhej s plecom. Samotné látkové rameno vytvára pohyblivý spoj.

Pohyblivé spoje sa nachádzajú v bedrových a kolenných kĺboch, a taktiež pri kontakte hlavy s telom.

Vo všetkých prípadoch sa jedná o otočný pohyb. Pri výrobe spoja v kĺboch sme postupovali rovnako. Najskôr sme čap zasadili do dlabu, potom sme cez obe spájané časti marionety prevŕtali dieru do ktorej sme vložili klinec. Čap sa tak otáča v dlabe a predstavuje pohyb kolena, či bedrového kĺbu. Ukážku funkčného bedrového aj kolenného kĺbu si môžeme všimnúť na obrázku číslo 3.

Obr. 3 Ukážka výrobku v procese výroby

Špecifický spoj nachádzame na hlave marionety. Vertikálne, priamo stredom prechádza vodiaci drôt, ktorý je k tomuto dielu v spodnej časti pevne prichytený tak, aby sa v dreve samovoľne nepretáčal, ale umožňoval pohyb hlavy do bokov. Mechanizmus pohybu hlavy a natáčanie bábky do strán sa nachádza na chrbte, teda v otvore zadnej časti trupu. Tento mechanizmus si môžeme všimnúť na obrázku číslo 4. Na hornej časti drôtu sa nachádza rukoväť, vahadlo a očko.

Obr. 4 Spoj tela s hlavou

Do vahadla sme priviedli vodiace nite (dratvu) od stehien marionety, kde sú uchytené háčikmi. Preklápaním vahadla je teda možné dvíhať raz jednu alebo druhú nohu. Cez očko pred vahadlom sme prevliekli vodiacu niť, smerujúcu od predlaktí.

Na obrázku číslo 5 si môžeme všimnúť hotový výrobok.

Obr. 5 Ukážka konečného stavu marionety

3 Aplikácia poznatkov a skúseností v pedagogickej praxi

Absolvent učiteľstva predmetu Technika je kompetentný vyučovať predmet Technika na úrovni nižšieho sekundárneho vzdelávania. V tejto kapitole sa preto budeme venovať problematike ako možno využiť nadobudnuté skúsenosti z výroby prototypu marionety v praxi učiteľa na hodinách techniky na základnej škole. Ako žiakov motivovať, ako zjednodušiť činnosti pri výrobnom procese, ako rozvrhnúť prácu, ako využiť medzipredmetové vzťahy.

3.1 Motivácia, zásada názornosti, rola učiteľa

Domnievame sa, že prvotne najdôležitejšie vo výchovno-vzdelávacom procese každého predmetu je žiakov zaujať, motivovať k činnosti či vzbudiť záujem o danú problematiku.

Potreba motivácie priam kričí v tradične chápanej koncepcii vyučovania. „Motivácia je komplex psychických procesov, ktoré aktivizujú (vyvolávajú), usmerňujú a udržujú ľudské správanie v určitom smere. Motivácia je teda odpoveď na otázku: Prečo človek robí práve túto činnosť? Obvykle sa rozlišuje vonkajšia a vnútorná motivácia“ [3]. Na rozdiel od vonkajšej motivácie, pri ktorej konáme len na základe vonkajších podnetov, pri vnútornej konáme pre vlastný zážitok,

pre vlastné uspokojenie. Je zrejmé, že vo vyučovacom procese je hodnotnejšia motivácia vnútorná.

Popri teoretických predmetoch je predmet Technika výbornou alternatívou v rôznorodosti výchovno-vzdelávacích činností. Nerozvíja len ich poznávacie funkcie, manuálne zručnosti ale vnáša aj prvky tvorivosti a zážitkového učenia čo je výborným predpokladom vnútornej motivácie žiaka.

V tomto predmete sa dokonale uplatňuje aj zásada názornosti, ktorá aj podľa J. A. Komenského patrí medzi najstaršie požiadavky v pedagogickej praxi. „Nech je pre učiacich sa zlatým pravidlom, aby sa všetko podávalo všetkým možným zmyslom. Totiž veci viditeľné zraku, počuteľné sluchu, čuchateľné čuchu, chutnateľné chuti a hmatateľné hmatu, a ak možno niektoré veci vnímať súčasne viacerými zmyslami, nech sa podávajú súčasne viacerým“ [4]. Sme presvedčení, že prototyp bábky, ktorý vznikol pri realizácii tejto práce je nie len potvrdením zásady názornosti, ale predovšetkým motivácie pre žiakov. Postava z interaktívneho sveta hier je dnešným deťom blízka a určite si ich získa svojim zjavom a naštartuje ich motiváciu k činnosti.

Turek píše: „podmienkou rozvoja tvorivosti, sú tvoriví učitelia“ [3]. Alebo inak: čím sa nadchýna učiteľ, k tomu vie doviesť aj svojich žiakov, pretože výchovno-vzdelávací výsledok nie je len o stratégiách a metódach, ale aj o osobnom prístupe učiteľa. Overili sme si technologický postup výroby konkrétnej marionety, lebo sme presvedčení, že práca na vzniku podobnej bábky by bola pre žiakov, rovnako ako pre nás motivačná a tvorivá zároveň [5].

3.2 Tvorba marionety v podmienkach výchovno-vzdelávacieho procesu na hodinách Techniky na ZŠ

Technologický postup výroby marionety, ako sme sa sami presvedčili, nie je jednoduchý. Pre žiakov druhého stupňa je dosť náročný, a práve preto by bol pre nich výzvou, ktorá by ich motivovala, fascinovala. Preto predpokladáme, že zaradenie výroby bábky do vyučovacieho procesu Techniky na ZŠ by napomohlo rozvoju osobnosti žiakov po stránke vedomostnej, emocionálnej aj skúsenostnej.

Vznik marionety, by sa dal realizovať na viacerých predmetoch, projektovo s viacerými žiakmi. To znamená, že by sme sa nevyhli medzipredmetovým vzťahom ani skupinovej práci. Pri takejto tematickej práci by sa naplnili viaceré ciele, vyberáme z nich napríklad:

- rozlíšiť a bezpečne použiť prírodné a technické materiály, nástroje, náradie a zariadenia,
- opísať proces vzniku výrobku,
- nadobudnúť technické zručnosti pri tvorbe výrobku,
- zrealizovať na výrobku vybrané pracovné postupy ručného opracovania dreva, plechu, drôtu podľa technického výkresu,
- vedieť spracovať aj iné technické materiály (textil),
- experimentovať s nápadmi, materiálmi, technológiami a technikami,
- chápať prácu ako príležitosť sebarealizácie a pri spoločnej skupinovej práci,
- cítiť zodpovednosť za kvalitu svojich i spoločných výsledkov.

Pokiaľ by sme volili projektové vyučovanie v skupine, trieda by sa mohla rozdeliť na tri až štyri skupiny podľa počtu žiakov (päť, šesť žiakov v skupine).

Projektová metóda je „metóda pri ktorej sú žiaci vedení k riešeniu komplexných problémov a získavajú skúsenosti praktickou činnosťou a experimentovaním“ [6], podporuje kreativitu a samostatnosť.

V skratke spomenieme štyri etapy projektu podľa Tureka [3].

1. Podnet

V našom prípade by to bola voľba témy, zbieranie informácií, hľadanie charakterových postáv. A určite by bola vhodná aj návšteva bábkového predstavenia, prípadne múzea bábok. Táto časť projektu by sa mohla realizovať napr. na hodine etiky, prípadne slovenského jazyka a literatúry. Tu prichádza na scénu aj náš prototyp, ktorý môže žiakov motivovať a poskytnúť im podnet.

2. Plánovanie

Druhá etapa zahŕňa plánovanie, riešenie projektu, vypracovanie postupu, rozdelenie na čiastkové úlohy, prípravu materiálu, pomôcok, rozdelenie do skupín a rozdelenie úloh jednotlivým žiakom, rozplánovanie časového harmonogramu výroby počas roka (prípadne polroka). Dôležité je, aby s touto časťou boli upovedomení aj vyučujúci iných predmetov, ktorí by boli do projektu nejakým spôsobom zapojení.

3. Realizácia

Riešenie projektu, kde hlavnú úlohu zohráva žiak, učiteľ hrá rolu pomocníka, podnecovateľa. V procese výroby marionety, ide v prvom rade o vytvorenie konceptu, výtvarného návrhu (výborné by bolo návrh realizovať na hodinách výtvarnej výchovy, aj niektoré časti výroby - uvedieme v nasledujúcej podkapitole) a technického náčrtu, a následne realizácia bábky, podľa požadovanej chronológie výroby.

4. Prezentácia

Prezentácia hotovej marionety, zhodnotenie výsledkov projektu, práce. Možná výstava, prípadne inscenácia krátkeho scenáru.

3.3 Zjednodušenie výrobného procesu marionety

Pretože výroba niektorých častí marionety, ako ich popisujeme v predchádzajúcej kapitole, je pre žiakov druhého stupňa veľmi náročná a aj nebezpečná, vzhľadom na používané nástroje, je možné výrobu značne zjednodušiť tak, aby žiaci mohli zvládnuť špecifickosť technologického postupu. Jedná sa hlavne o výrobu hlavy, rúk, chodidiel, prípadne topánok a spájanie jednotlivých komponentov, kĺbových častí.

Výroba hlavy, chodidiel či rúk, tak ako ich popisujeme v štvrtej kapitole si vyžaduje zručnosti, ktoré presahujú kompetencie žiakov druhého stupňa. Hlavne použitie dlát pri ručnom opracovaní je pre nich nebezpečné. Preto uvedieme iný spôsob výroby týchto dielov bábky. Zároveň žiaci môžu týmto spôsobom, ktorý uvádzame, po dohode vykonávať na hodinách výtvarnej výchovy. Umožní to elegantne zvládnuť časovú náročnosť výroby a využiť efektivitu medzipredmetových vzťahov.

Samotná technika spočíva v tom, že na zložitejšie modelované časti nepoužijeme drevo ale papierovú hmotu, tento proces nazývame kašírovanie papierom. Výroba kašírovanej hmoty je časovo náročná, ale možno ju nahradiť dobre stlačeným pokrčeným papierom, ktorý sa následne oblepuje kúskami papiera v niekoľkých vrstvách. Výroba týmto spôsobom, zároveň zabezpečuje nízku hmotnosť celej bábky.

Obr. 6 Zjednodušené modelovanie hlavy
Zdroj: [7]

Hlavu žiaci modelujú spolu s krkom. Na krk použijú papierovú rolku, ku ktorej prilepia dobre pokrčený papier do oválneho tvaru, ako nosič tvaru hlavy. Ďalej naň vrstvia papier tak, aby postupne vymodelovali základný tvar hlavy. Následne lepením menších kúskov papiera postupne modelujú oči, vytvarujú nos a ústa, pričom úzko spolupracujú s výtvarným návrhom. Nakoniec pre spevnenie celého tvaru, oblepujú hlavu dookola tenšími prúžkami papiera. Môžeme si všimnúť na obrázku číslo 6.

Horné a dolné končatiny žiaci vyrobia z dreva okrem rúk a chodidiel – topánok. Pre zjednodušenie a uľahčenie práce je možné použiť násady na ručné a dielenské náradie rôznych dĺžok a hrúbky, ktoré pripomínajú anatomický tvar častí tela. Po odrezaní správnej dĺžky k nim prilepia ruky (dlane s prstami) a chodidlá či topánky. Pre tieto zložité časti je potrebné vystrihnúť dvojrozmerný tvar z hrubšej lepenky, na ktorú žiaci opäť, pomocou lepidla, vrstvia stlačený papier, aby dosiahli trojrozmernosť a pracujú podobným spôsobom ako pri hlave.

Táto technika je časovo náročnejšia, pretože treba rešpektovať dobu schnutia spájaného materiálu. Po dostatočnom vytvrdnutí lepenej hmoty, je možné obrúsiť nerovnosti povrchu brúsnym papierom [7].

Trup žiaci môžu vyrobiť rovnakým spôsobom aký sme opísali v štvrtej kapitole. Alebo si tento proces môžu uľahčiť tým, že použijú širší koniec násady na čakan, ktorý skrátia na potrebnú dĺžku. Otvory na vodiace prvky v tele (chrbtový dlab) môžu robiť podobne ako sme už opísali v štvrtej kapitole, ale keďže tento úkon je pomerne zložitý a vyžaduje aj použitie dláta, odporúčame vyhotovenie dlabu dlabacou frézou učiteľom. V spodnej časti trupu stačí na obidvoch stranách spraviť dva dlhšie výrezy, na ktorých predné hrany spredu zaoblia, aby umožnili hladké ohýbanie dolných končatín. V tomto mieste prevŕtajú cez trup otvor na spojovací materiál, ktorým pripevnia k trupu stehenné časti nôh [7]. Pochopiteľne žiaci vynechajú aj čapovanie v hornej časti stehna a tiež urobia len výrez po vnútornej strane dielu.

Povrchovú úpravu modelovaných častí žiaci robia akrylovými farbami, čo sa dá opäť praktizovať na hodinách výtvarnej výchovy. Maľovanie si vyžaduje od žiaka trpezlivosť a precíznosť. Aby sa potlačila farebná nerovnosť vzniknutá použitím rôznorodého papierového materiálu, je potrebné natrieť modelované časti bábky najprv bielou farbou. Akrylová farba má veľmi dobré krycie vlastnosti. Na základný náter, žiaci maľujú farebnú vrstvu tak, aby sa čo najvernejšie priblížili k výtvarnému návrhu a charakteru postavy marionety. Vlasy, ktoré žiaci vymodelujú z papierovej hmoty zároveň s hlavou, je tiež potrebné domaľovať. Avšak vlasy je možné prilepiť aj z iných materiálov ako bavlna, vlna či umelé vlasy, atď.

3.4 Spájanie jednotlivých dielov marionety

Aj túto etapu výrobného procesu vieme žiakom značne zjednodušiť. Horné končatiny pripevnia k trupu podobne ako je uvedené v kapitole štyri. Pokiaľ žiaci robia zjednodušene trup z násady, je užší, treba dorobiť a priskrutkovať plecia, napr. z korkovej zátky, pre voľnejší pohyb horných končatín.

Pri spájaní dolných končatín, žiaci najprv začnú prácu prilepením topánky k lýtkovej časti, ďalej pokračujú kolenami. Kolenný kĺb však nevytvárajú zložito za pomoci čapovania, ale plieškom, ktorý je vsadený pevne do zárezu z vrchu lýtkovej časti. Vyčnievajúcu tretinu pliešku následne vsadia do zárezu na spodnej strane stehna. Zárez musí byť širší a pliešok musí mať zvrchu tvar polkruhu, aby sa koleno plynule ohýbalo. Potom spoja kolenný kĺb skrutkou a maticou, ktorú vsunú do vopred pripravených otvorov (obrázok číslo 8).

Obr. 7 Zjednodušený bedrový kĺb
Zdroj: [7]
Obr. 8 Zjednodušený kolenný kĺb
Zdroj: [7]

Spájanie dolných končatín s trupom taktiež spočíva v zavesení na skrutku. Skrutku vedú opäť cez pripravené otvory v trupe a vrchnej časti stehien (obrázok číslo 7). Maticu nezakrútia príliš pevne, aby sa nohy ľahko pohybovali a bábka si tak vedela sadnúť a kráčať [7].

Záver

„Najmenšia čiastka vlastnej skúsenosti má väčšiu hodnotu ako milión cudzích skúseností.“

George Gordon Byron

Výzvy sú k tomu, aby nás robili lepšími, aby nás nútili plniť si svoje sny a posúvať naše hranice možností. Osobná výzva, ktorá nás na začiatku práce motivovala k výrobe drevenej marionety, umožnila naplnenie stanovených cieľov.

Výroba marionety podľa vlastného výtvarného a technického návrhu, nám pomohla rozšíriť si obzor.

Osobná skúsenosť pri výrobe prototypu marionety od myšlienky cez návrh, až po vyhotovenie, je pre tvorcu nenahraditeľná. Otvorila priestor k tomu, aby sme mohli teoretické znalosti o materiáloch a technológiách ich spracovania uplatniť v praxi a získať tak všetky potrebné kompetencie pre ručné obrábanie dreva aj kovov. Technologické postupy aplikované v praxi zdokonalili naše zručnosti a schopnosti v danej oblasti. Samostatnosť riešenia úloh, ktoré niekedy priniesli aj nečakané komplikácie, nám pomohla k rozvoju kritického aj technického myslenia. Dodržiavanie zásad bezpečnosti priviedli našu prácu do konečného úspešného stavu.

V neposlednej miere nás táto osobná skúsenosť naučila pracovnej vytrvalosti a zodpovednosti dotiahnuť veci od začiatku až do ukončenia výrobku na patričnej estetickej aj technickej úrovni.

Keďže jedným z cieľov našej práce bolo od začiatku nájsť východiská pre budúcu prax a využitie v predmete Technika na ZŠ, je pochopiteľné, že sme ho mali na zreteli po celý čas pri výrobe prototypu výrobku. A sme presvedčení, že nami vytvorená marioneta čarodejníka „prenesená“ z 3D virtuálneho sveta by bola pre žiakov veľkou motiváciou a aktivujúcim prvkom k praktickým činnostiam.

Poďakovanie

Touto cestou sa chcem poďakovať môjmu školiteľovi Ing. Martinovi Kučerkovi, PhD., za poskytnutú pomoc, odborné rady, užitočné pripomienky a ochotný prístup.

Použitá literatúra

[1] JURKOWSKI, Henryk. 2004. Metamorfózy bábkového divadla v 20. storočí. Bratislava : Divadelný ústav, 275 s. ISBN: 80-88987-51-2.
[2] JAŠOVÁ, Hana. 2017. Stražanovo bábkové divadlo kedysi a dnes : bakalárska práca. Brno : Masarykova univerzita, 52 s.
[3] TUREK, Ivan. 2014. Didaktika. Bratislava : Wolters Kluwer, s.r.o., 618 s. ISBN: 978-80-8168-004-5.
[4] KOMENSKÝ, Ján Amos. 1991. Veľká didaktika. Bratislava : SPN, 271 s. ISBN: 80-08-01022-3.
[5] KUBOVIČOVÁ, Bohuslava. 2015. Podnety tradičného remesla vo výtvarnej výchove v 5. ročníku : atestačná práca. Košice : MPC, 36 s.
[6] PRÜCHA, Jan – WALTEROVÁ, Eliška – MAREŠ, Jiří. 2008. Pedagogický slovník. Praha : Portál, 322 s. ISBN: 978-80-7367-416-8.
[7] KRAJANOVÁ, Jana. 2019. Výrobou marionet k zachovaniu tradičného bábkového divadla : atestačná práca. Ružomberok : KU, 25 s.

Vplyv pandémie Covid-19 na vzdelávanie

Impact of the Covid-19 pandemic on education

Peter Kuzma[1]
Školiteľ: Marta Urbaníková[2]
[1,2]Katedra prírodných vied a informatiky, FPVaI UKF, Tr. A. Hlinku 1, 949 01 Nitra,
[1]peter.kuzma@student.ukf.sk, [2]murbanikova@ukf.sk

Abstrakt

Pandémia COVID-19 predstavuje celosvetovú hrozbu s výrazným dopadom takmer na všetky oblasti každodenného života ľudí, na národné hospodárstvo, zahraničný obchod, cestovný ruch, v neposlednom rade aj na vzdelávanie. Vlády zasiahnutých krajín museli s neustále meniacou sa situáciou prijímať tvrdé opatrenia, aby spomalili šírenie COVID-19 a zmiernili vplyv pandémie vo všetkých oblastiach. Nielen na Slovensku, ale v školách takmer na celom svete bola zrušená prezenčná výučba a pedagógovia spolu so študentmi sa museli premiestniť do virtuálneho priestoru. Cieľom práce je na základe dotazníkového prieskumu zmapovať ako sa učitelia stredných škôl vyučujúcich predmety s ekonomickým zameraním vysporiadali s dištančnou výučbou. Zistili sme, že v porovnaní s prezenčným vyučovaním museli učitelia stráviť omnoho viac času prípravou na online hodiny a zlepšiť svoje zručnosti s informačno-komunikačnými technológiami. Takmer všetci učitelia si myslia, že vďaka dištančnému vzdelávaniu v čase pandémie Covid-19 by sa v budúcnosti vedeli s vyučovaním vo virtuálnom priestore vysporiadať lepšie.

Kľúčové slová: pandémia Covid-19, vzdelávanie, dištančné vyučovanie.

Abstract

The Covid-19 pandemics represents a global threat which has a deep impact on almost all aspects of every-day human life, national economy, international business, travel, and even education. Governments of impacted countries had to adapt to the ever-changing situation and take strict precautions to slow down the spread of Covid-19 and lessen its impact in each of these life aspects. In schools all around the world, including Slovakia, presence study was forbidden and teachers as well as students had to move into virtual classrooms. The aim of this work is to survey how the secondary school teachers of economy related subjects dealt with the distant learning. We found out that teachers had to spend much more time on the preparation for online teaching compared to their preparation for presence teaching. Also, they had to improve their skills in using information-communicative technologies. Almost all teachers think that thanks to experiencing distance teaching during the Covid-19 pandemics, in the future they would be able to execute virtual teaching much better.

Key Words: Covid-19 pandemic, education, distant learning.

Úvod

Koncom roka 2019 sa v čínskom meste Wu-chan objavil nový koronavírus. Choroba sa počas nasledujúcich dní a týždňov začala nekontrolovateľne šíriť po celom svete. Postihovala ako mužov, tak aj ženy, deti, dospelých i ľudí v dôchodkovom veku. Napádala dýchacie cesty a u každého jednotlivca mala nepredvídateľný priebeh. Niektorým príznaky prešli po pár dňoch, iným sa priebeh ochorenia nezlepšoval ani po týždni či dvoch, no mnohí boli odkázaní na hospitalizáciu, intenzívnu starostlivosť v nemocniciach. V nemalom počte občanov skončilo ochorenie fatálne, niektorým zostali dlhodobé ťažkosti s dýchaním či s nervovou sústavou. 11. marca 2020 vyhlásila Svetová zdravotnícka organizácia pandémiu Covid-19 [1].

V Slovenskej republike sa boju s koronavírusom venovala vláda SR, spolu s hlavným hygienikom Jánom Mikasom, so zriadeným krízovým štábom a ďalšími odborníkmi. Dynamicky, spolu s vyvíjajúcou sa situáciou v krajine boli prijímané rôzne opatrenia a nariadenia, ktoré sa zároveň rýchlo menili s neustále sa vyvíjajúcou situáciou. Cieľom prijímaných opatrení a nariadení bola ochrana zdravia obyvateľov Slovenska, avšak aj snaha o skrátenie doby trvania pandémie v krajine, aby bolo možné minimalizovať dopady Covid-19 na všetky oblasti národného hospodárstva. Prijímané opatrenia zasiahli do každodenného života občanov, mali výrazný vplyv na fungovanie všetkých sektorov a oblastí. Výrazný vplyv mali protipandemické opatrenia aj na vzdelávanie. 16. marca 2020 boli v Slovenskej republike prvýkrát

zatvorené školy, pričom museli v krátkom čase prejsť z prezenčného vyučovania na dištančné [2].

Škola ako inštitúcia vzdelávania a života je miestom, kde si žiaci osvojujú obsah vzdelávania a podieľajú sa na spoločenskom živote školy [3]. Jadro školského vzdelávania tvoria vyučovacie hodiny plné interakcie. Počas pandémie Covid-19 sa školy snažili pokračovať vo vyučovaní tak, aby dokázali napĺňať školské osnovy [4].

Dištančná forma vzdelávania je založená na individuálnom štúdiu účastníkov (žiakov alebo študentov), pričom je proces vzdelávania usmerňovaný učiteľom a účastníci vzdelávacieho procesu sa nachádzajú na rovnakom mieste a v rovnakom čase. Učitelia zadávajú úlohy, sprostredkúvajú študijné materiály, kontrolujú a hodnotia prácu študentov, oznamujú výsledky či riešia rôzne problémy, ktoré v procese vzdelávania vzniknú. Na vypracovanie zadaní, prác, projektov či testov dostávajú študenti presne stanovený čas. Komunikácia medzi študentmi, žiakmi a učiteľmi prebieha prostredníctvom využívania online komunikačných platforiem (Zoom, MsTeams, atď.), e-mailu, telefonicky a podobne [5].

Pri dištančnom vzdelávaní si musia pedagógovia dávať veľký pozor, aby neskĺzli k iba preposielaniu materiálov a sprostredkovaniu informácií, ale musia ku vzdelávaniu žiakov pristupovať v rovnakej kvalite, akú vyžaduje klasické prezenčné vyučovanie [6].

Rovnako ako iné formy vzdelávania aj dištančné vzdelávanie má svoje výhody a nevýhody. K plusom dištančného vyučovacieho procesu môžeme zaradiť časovú flexibilitu, prístupnosť pre účastníkov nezávisle od bydliska, poskytnutie softvérových programov študentom zdarma, finančná úspora študentov (náklady na dopravu, internát, stravovanie), finančná úspora škôl (energie), zvýšená angažovanosť študentov vo vzdelávacom procese, využívanie online kvízov, testov a vzdelávacích videí, uvoľnené domáce prostredie, ľahšia dostupnosť pre zdravotne znevýhodnených účastníkov vzdelávania a iné. Naopak k nevýhodám by sme mohli zaradiť nutnosť technického vybavenia, ovládané informačno-komunikačných technológií, nestabilné internetové pripojenie, chyby softvéru, poruchy webkamery či mikrofónu, náročné kontrolovanie nadobudnutých vedomostí prostredníctvom online testov (zvýšené riziko podvádzania), vznik rozdielov v úrovni osvojených vedomostí, chýbajúci kontakt s učiteľom a s rovesníkmi či vznik negatívnych emócií z izolovanosti a podobne.

1 Cieľ, metodika a metódy

Cieľom práce bolo zistiť, ako sa učitelia stredných škôl vyučujúci predmety s ekonomickým zameraním vysporiadali s dištančnou výučbou. Pre splnenie cieľa sme si v práci zvolili metódu dotazníkového prieskumu. Vyplnenie dotazníka bolo anonymné. Dotazník obsahoval dvanásť otázok, pričom desať z nich bolo uzavretých a dve boli otvorené. Tu mali respondenti priestor na špecifikáciu odpovede. Prieskum bol zameraný, tak ako sme už spomenuli, na učiteľov stredných škôl, vyučujúcich predmety s ekonomickým zameraním. Dotazník sme vytvorili pomocou online platformy Google Forms, pričom sme e-mailovou komunikáciou oslovili riaditeľov gymnázií, obchodných akadémií i stredných odborných škôl po celom Slovensku, so žiadosťou o spoluprácu. Tí následne rozposlali dotazníkový prieskum svojim kolegom vyučujúcim ekonomické predmety. V priebehu jedného mesiaca sa nám podarilo získať 85 platných odpovedí. Respondentom zabralo vyplnenie dotazníkového prieskumu približne 10 až 15 minút.

Pred vytvorením otázok vhodných do dotazníkového prieskumu sme zhromaždili teoretické východiská pre jasné definovanie podstatných pojmov, akými bolo vzdelávanie, online a offline vzdelávanie, e-learning, dištančné vyučovanie a iné. Taktiež sme zhromaždili dostupné informácie ohľadom pandémie Covid-19 v spojitosti s dištančným vzdelávaním vo svete i na Slovensku. Využili sme odborné knižné publikácie a vedecký portál Web of Science.

V zahraničí prebehlo od začiatku pandémie Covid-19 veľa prieskumov zameraných na zmeny a vplyvy pandémie na vzdelávanie. Na Slovensku sa danej problematike venovalo niekoľko autorov, avšak téma je neustále veľmi aktuálna a je dôležité ju podrobnejšie spracovať. Jej skúmaním a novými poznatkami o vplyve Covid-19 na vzdelávanie môžeme v budúcnosti, v prípade nastatia obdobnej situácie, prispieť ku skvalitneniu dištančnej výučby, predídeniu jej výrazných nechcených dopadov.

2 Výsledky a diskusia

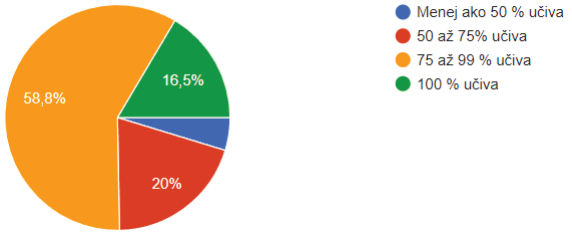
Reprezentatívnu vzorku vo vykonanom dotazníkovom prieskume tvorilo 85 respondentov. Z toho sa do prieskumu zapojilo 7 mužov a 78 žien, pričom najviac účastníkov prieskumu bolo vo veku 51-60 rokov (56,6%). Druhú najpočetnejšiu skupinu tvorili účastníci s vekom 41-50 rokov (24,7%), Vekové skupiny 31-40 rokov a viac ako 60 rokov boli zastúpené po 8,2%. Iba dvaja respondenti (2,4%) boli vo vekovom rozmedzí 24-30 rokov. Najviac učiteľov sa

zapojilo z obchodných akadémií (44,7%) a stredných odborných škôl (30,6%). Z gymnázií pochádzalo 9,4% respondentov a 15,3% respondentov uviedlo možnosť iné, pričom išlo o participantov zo spojených stredných škôl.

2.1 Prebratý objem plánovaného učiva

Prvá zmena z prezenčnej na dištančnú výučbu prebehla v školskom roku 2019/2020 v marci veľmi nečakane. V školskom roku 2020/2021, kedy učitelia očakávali možné zopakovanie situácie už boli poučení a pripravenejší. Aj napriek tomu, že pri prvej vlne Covid-19 bolo dištančné vyučovanie pre takmer všetkých pedagógov niečím novým, tak nadpolovičná väčšina učiteľov (58,8%) dokázala prebrať takmer všetko plánované učivo školského roku a až 16,5% učiteľov sa dokázalo zmenenej forme výučby prispôsobiť natoľko, že prebrali dokonca všetko plánované učivo. Avšak našli sa aj takí, ktorým presun na virtuálnu výučbu v domácnostiach spôsoboval väčšie problémy či už s prípravou, osvojovaním učiva žiakmi alebo prácou s informačno-komunikačnými technológiami, že dokázali prebrať iba polovicu až tri štvrtiny plánovaného učiva v jednotlivých ročníkoch. Túto možnosť v našom prieskume uviedla až pätina opýtaných, čo predstavuje naozaj vysoké percento. Pri návrate do školských lavíc na prezenčnú výučbu, tak mali učitelia dvojnásobnú prácu. Najskôr dobehnúť zameškané učivo predošlých ročníkov, a zároveň zaradiť do vzdelávacieho plánu nové učivo. 4,7% opýtaných pedagógov uviedlo, že počas dištančného vzdelávania nedokázali prebrať viac ako 50% naplánovaného učiva, ktoré by si žiaci osvojili v školských triedach prezenčne. Ani toto percento nie je zanedbateľné a je žiaduce zistiť čo zapríčinilo tento stav.

Na nasledujúcom obrázku (Obr. 1) môžete v grafe vidieť presný stav objemu plánovaného učiva, ktoré dokázali učitelia ekonomických predmetov na stredných školách reálne prebrať počas dištančného vyučovania.



Obr. 1 Prebratý objem plánovaného učiva počas dištančného vyučovania

Zdroj: Peter Kuzma

2.2 Problémy dištančného vzdelávania s ktorými sa stretli učitelia

Vyučovanie z domácností učiteľov so sebou prinieslo viaceré komplikácie. Online hodiny so žiakmi prebiehali zväčša prostredníctvom online platforiem Zoom a Ms Teams. Najviac opýtaných (71,8%) uvádzalo, že mali so žiakmi nízku interakciu, nevideli reakcie žiakov pri vysvetľovanom učive, či pri vypracovávaní rôznych úloh a cvičení. Príčinou boli neraz chýbajúce webkamery študentov ale aj výpadky internetu či elektrickej energie, s ktorými sa stretli aj samotní pedagógovia (až 58,8%). Ďalej učitelia uvádzali problémy s chýbajúcim technickým vybavením (49,4%), s udržiavaním vzťahov so študentmi, ich rodičmi i s kolegami (43,5%) a nedostatočné skúsenosti s technológiami (37,6%). Technické vybavenie si pedagógovia museli neraz riešiť vo vlastnej réžii, na vlastné náklady. Našli sa však aj takí, kde sa o riešenie situácie snažili školy. Narušenie socializácie a vzájomných vzťahov neosobným kontaktom prinieslo so sebou ďalšie ťažkosti v podobe zlej nálady a psychickej nepohody, čo uviedla v prieskume tiež nemalá časť opýtaných (29,4%), ale aj ťažkosti so zaradením sa späť do kolektívu pri návrate prezenčnej výučby.

Učitelia ďalej uvádzali, že mali problémy s nedostatočnými zručnosťami v oblasti informačno-komunikačných technológií a s chýbajúcimi školeniami v danej oblasti (18,8%), s organizáciou dištančného vzdelávania (14,1%), ale aj s neochotou študentov, nepružným vedením a postupnou degradáciou úrovne vzdelania, návykov a v neposlednom rade sociálnych zručností.

2.3 Problémy dištančného vzdelávania na strane študentov

Problémy počas dištančného vzdelávania nevznikali len u pedagógov ale aj na strane študentov.

V prieskume sme zisťovali, aké ťažkosti si učitelia všimli u svojich študentov. Takmer 80% študentov malo podľa našich respondentov problém s nízkou pozornosťou, za čím mohol stáť najmä faktor domáceho prostredia, kde na študentov číhalo množstvo rušivých vplyvov (sociálne siete, netflix, rodina a pod.). U 72,9% žiakov učitelia pozorovali nízku mieru motivácie a až 67,1% žiakov malo podľa učiteľov problémy s pomalým či vypadávajúcim internetovým pripojením. Žiaci boli taktiež nedostatočne samostatní pri vypracovávaní rôznych úloh a učení sa nových vedomostí (57,6%), chýbala im interakcia so spolužiakmi a učiteľmi (57,6%), alebo nemali dostatočné technické vybavenie (54,1%). Problémy s technickým vybavením vznikali najmä pri žiakoch zo sociálne slabších rodín alebo pri žiakoch, ktorí mali viacero súrodencov, pričom každý potreboval tráviť čas a vzdelávať sa prostredníctvom techniky. 22,4% učiteľov uviedlo, že študenti mali nedostačujúce zručnosti v oblasti informačno-komunikačných technológií, čo značne sťažovalo zapájanie sa do vzdelávacieho procesu.

2.4 Problém s chýbajúcim technickým vybavením alebo s výpadkami internetového pripojenia či s nízkou kvalitou internetového pripojenia u študentov

Už so spomínanou problematickou oblasťou nestabilného či nekvalitného internetového pripojenia a chýbajúceho technického vybavenia sa v priebehu dištančného vzdelávania stretli všetci učitelia. Avšak v týchto situáciách sa pedagógovia snažili využívať alternatívne spôsoby spojenia sa so študentmi a výučby. Až 58,8% opýtaných uviedlo, že si so žiakmi, ktorí sa nemohli pripojiť k online vzdelávaniu, dohodli individuálnu komunikáciu cez mobilné telefóny. Druhým najviac využívaným spôsobom bola príprava papierových zadaní a ich následné zasielanie do dohodnutého času, najčastejšie prostredníctvom e-mailov. V 14,1% prípadov riešili vzniknutú nepriaznivú situáciu učitelia dohodnutím osobného stretnutia so žiakmi na vopred dohodnutom mieste. A v neposlednom rade si učitelia dohodli v takmer 5% osobnú komunikáciu cez počítač v komunitnom centre.

2.5 Emócie

Výrazná zmena spôsobu výučby vyvolávala v prevažnej väčšine respondentov skôr negatívne emócie spojené s neistotou (57,6%), bezmocnosťou (50,6%) a so stresom (47,1%). Je však nutné podotknúť, že na prežívanie neistoty a bezmocnosti mala vo veľkej miere vplyv najmä pandémia Covid-19, jej ťažko predvídateľný priebeh a nedostatočná podpora zo strany štátu, než priamo dištančné vzdelávanie vo virtuálnom priestore. 22,4% opýtaných uvádzalo, že počas dištančnej výučby pociťovali hnev. Avšak našli sa aj takí učitelia, ktorí cítili pohodu (22,4%) a pokoj (18,8%). Išlo pravdepodobne o pedagógov, ktorým vyhovovalo pohodlie a domáce prostredie, ale aj znížený priamy kontakt so študentmi či kolegami. Ďalej učitelia uvádzali cítenie úzkosti (14,1%), radosti (4,7%), nadšenia (3,5%), ale aj depresiu, vyhorenie, tlak, nepochopenie, únavu, preťaženie či nádej, že vzniknutá situácia raz skončí.

2.6 Rozdiely v príprave na dištančné vyučovanie od klasického prezenčného vyučovania

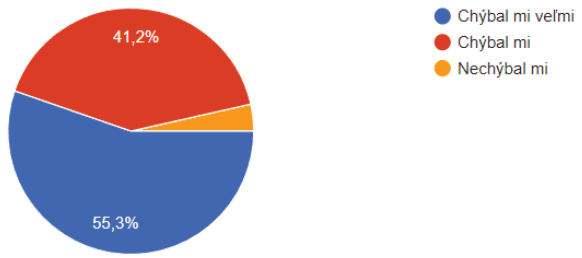
Príprava na dištančné vzdelávanie bola oproti príprave na prezenčné vyučovanie, na ktoré boli učitelia a žiaci zvyknutí, časovo omnoho náročnejšia. Obsahovala prípravu mnohých materiálov, prezentácií, viacerých variantov testov. Veľa času si žiadalo aj opravovanie odovzdaných prác a následná komunikácia so žiakmi. Taktiež bolo technicky náročnejšie pripraviť obsah vzdelávacích hodín. Hodiny museli byť dopredu dôkladne naplánované a zorganizované. Časová a technická náročnosť tak viacerých učiteľov oberala o ich voľný čas.

Pokiaľ sa nejakí žiaci nedokázali pripojiť na hodinu a pracovať spoločne online, učiteľ musel vytvoriť podrobnejšie materiály v papierovej forme, všetko potrebné z hodín napísať na papier a poslať daným žiakom.

Našli sa však aj učitelia, ktorí v príprave nebadali signifikantné rozdiely alebo sa im zdala dokonca jednoduchšia nakoľko prebiehala v pokojnom domácom prostredí.

2.7 Chýbajúci osobný kontakt so študentmi

Ako môžete vidieť na obrázku 2, až 96,5% učiteľov zapojených do prieskumu uviedlo, že im v určitej miere chýbal osobný kontakt so študentmi. Iba 3,5% opýtaných uvádzalo, že im naopak kontakt so žiakmi vôbec nechýbal.



Obr. 2 Osobný kontakt so študentmi

Zdroj: Peter Kuzma

2.8 Pozitíva dištančného vyučovania

Tak ako aj prezenčné vyučovanie má svoje plusy a mínusy, tak aj dištančné vzdelávanie so sebou prinieslo niekoľko pozitív i negatív. Za najväčší prínos dištančnej výučby učitelia označili zlepšenie svojich zručností v oblasti informačno-komunikačných technológií (69,4%), v ktorých by väčšina z opýtaných bez nástupu dištančného vyučovania nemala motiváciu sa vzdelávať a zlepšovať. Ďalší prínos videli v možnosti vyučovania z pokojného domáceho prostredia (45,9%) a v možnosti vytvárať pre žiakov efektívne spôsoby učenia sa (31,8%). Približne štvrtina opýtaných považuje za priaznivý dopad dištančnej výučby aj ušetrenie nákladov na dopravu do a zo zamestnania a necelých 19% učiteľov v prieskume uviedlo, že ďalším z pozitív vyučovania počas pandémie Covid-19 bola možnosť individuálnej spolupráce medzi učiteľom a žiakom.

Pedagógovia uviedli aj fakt, že žiaci vďaka dištančnej výučbe vo virtuálnom prostredí úplne nevypadli zo vzdelávacieho procesu, alebo že na mnohých žiakov s introvertnejšou povahou vyučovanie v domácom prostredí vplývalo pozitívne, a tak dokázali zlepšiť svoje výsledky, v čom sa im darilo pokračovať aj po návrate k prezenčnej výučbe. Taktiež sa využívaním online výučby počas dištančného vzdelávania odstránili aktivity, pri ktorých bežne prezenčné vyučovanie odpadlo, ako napríklad kino, divadlo, beseda či workshop, vďaka čomu bolo možné odučiť väčšinu plánovaného učiva.

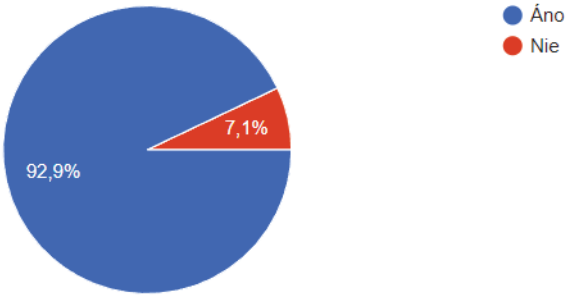
2.9 Negatíva dištančného vyučovania

Na druhej strane za najväčšie negatíva dištančného vyučovania učitelia označovali náročnosť prípravy na jednotlivé hodiny, vytváranie prezentácií a chystanie materiálov, čo uviedlo až 76,5% opýtaných. Ďalším početne označovaným mínusom bol nárast podvádzania u žiakov (72,9%), najmä počas písania online testov. Taktiež zaznamenávali u študentov nižší pokrok v učení v porovnaní s prezenčnou výučbou (67,1%). Približne polovica opýtaných videla negatívum aj v slabšej úrovni vzdelávania sa u študentov, ktorí nemali vhodné technické vybavenie. Dištančné vzdelávanie so sebou prinieslo aj postupné zhoršovanie vzťahov medzi učiteľom a žiakmi (19,8%) i nesplnenie stanovených vzdelávacích cieľov (18,6%).

Nemožnosť priameho kontaktu, chýbajúca sociálna interakcia medzi spolužiakmi, zlenivenie niektorých žiakov i nedostatočná podpora zo strany vedenia škôl neprispievala k jednoduchšiemu priebehu vzdelávacieho procesu. Nemôžme nespomenúť aj dopad dištančného vzdelávania na zdravie učiteľov a žiakov, pričom niekoľkí učitelia uviedli, že zaznamenali zhoršenie zraku či problémy s chrbticou.

2.10 Pripravenosť na dištančné vyučovanie

Zaujímali sme sa aj o to, či si učitelia myslia, že by boli v prípade nastatia obdobnej situácie niekedy v budúcnosti lepšie pripravení na prechod z prezenčného vyučovania na dištančné. Ako môžete vidieť na obrázku 3 uviedlo 92,2% pedagógov, že by boli lepšie pripravení, avšak stále tam zostáva približne 7% učiteľov, ktorí by aj napriek skúsenostiam s učením v pandemickom období Covid-19 na opätovný prechod z prezenčnej na dištančnú výučbu lepšie pripravení neboli. Otázkou však zostáva prečo?



Obr. 3 Lepšia pripravenosť učiteľov na zmenu výučby z prezenčnej na dištančnú

Zdroj: Peter Kuzma

2.11 Zmeny v správaní študentov či kolegov po návrate k prezenčnému vyučovaniu

Zatiaľ čo niektorí pedagógovia nezaregistrovali žiadnu zmenu správania sa študentov či kolegov, iní ich uviedli niekoľko. Mnohí žiaci sa začali tešiť do školy, mali radosť z osobného kontaktu so spolužiakmi i s učiteľmi. Avšak učitelia na žiakoch spozorovali aj problémy s komunikáciou, častejšie používanie

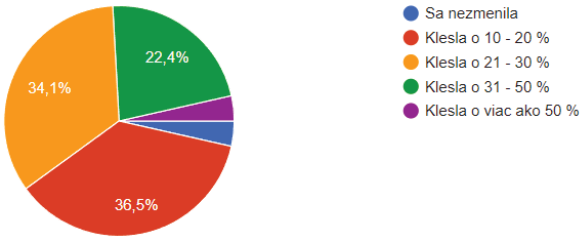
smartfónov, väčšiu lenivosť, uzavretosť, nízku motiváciu do učenia, vyčerpanosť a nesústredenosť na hodinách. Došlo aj k zvýšeniu snahy žiakov podvádzať pri písomkách, k vyhováraniu sa a posúvaniu termínov odovzdania prác a k nárastu chorobnosti.

Na strane učiteľského kolektívu, pedagógovia uvádzali, že sa s kolegami odcudzili, znížila sa spolupráca v pracovnom kolektíve, chýbal tímový duch a často sa k sebe správali arogantne a sebecky.

2.12 Úroveň vedomostí študentov oproti rokom z predpandemického obdobia

Čo sa týka vedomostnej úrovne žiakov, až 93% učiteľov uviedlo, že vedomostná úroveň sa v porovnaní s rokmi pred pandémiou Covid-19, znížila. K jej poklesu došlo z mnohých dôvodov. Jedným z nich je znížený objem učiva, ktoré sa stihlo vo virtuálnom priestore prebrať, znížená pozornosť a motivácia žiakov, či náročné prípravy a organizácia hodín odučených dištančne. Signifikantné zníženie vedomostnej úrovne o 31-50%, uviedlo 22,4% opýtaných. To spôsobilo, že v období nástupu späť na prezenčnú výučbu musia učitelia venovať zvýšenú pozornosť a úsilie na dobehnutie a vyváženie rozdielov vo vedomostiach žiakov. 3,5% opýtaných učiteľov dokonca uviedlo, že sa vzdelanostná úroveň v porovnaní s predpandemickým obdobím znížila o viac ako polovicu. Iba 3,5% zapojených pedagógov označilo, že sa vzdelanostná úroveň študentov vôbec nezmenila.

Na nasledujúcom obrázku (Obr. 4) môžeme vidieť o koľko sa približne znížila úroveň vedomostí študentov oproti obdobiu spred pandémie Covid-19.



Obr. 4 Úroveň vedomostí študentov oproti rokom z predpandemického obdobia

Zdroj: Peter Kuzma

Záver

Pandémia ochorenia Covid-19 zapríčinila nevyhnutnosť zmeny prezenčného vzdelávania na školách na jeho dištančnú formu. S náhlou premenou výučby sa učitelia museli vysporiadať vo veľmi krátkom čase a bez výraznejšej pomoci a usmernení zo strany štátu. Našim cieľom, ktorý považujeme za splnený, bolo zmapovať ako sa učitelia stredných škôl s ekonomickým zameraním vysporiadali s dištančnou výučbou.

Dištančná forma výučby so sebou priniesla mnohé ťažkosti, ale mala aj svoje pozitíva. Učitelia i žiaci sa mohli na vzdelávacom procese zúčastňovať z pohodlia svojich domovov, mali pokojné prostredie na prípravu. Pedagógovia boli motivovaní k zlepšeniu svojich informačno-komunikačných zručností a k vytváraniu efektívnych spôsobov učenia, aby si žiaci osvojili nové vedomosti. Avšak na druhej strane museli riešiť časté technické problémy, vypadávanie internetového spojenia, zvýšenú snahu o podvádzanie pri testoch či časovú náročnosť prípravy hodín. V neposlednom rade sa museli vysporiadať s radom emócií či dobiehaním zameškaného učiva po návrate žiakov späť do školských lavíc.

Napriek všetkým prekážkam, ktoré učiteľov počas dištančného vyučovania zasiahli, nadobudli množstvo cenných skúseností a v prípade nastatia obdobnej situácie by boli na náhly prechod z prezenčnej výučby na dištančnú omnoho lepšie pripravení.

Výsledky našej práce môžu využiť najmä noví pedagógovia, ktorí počas dištančného vzdelávania ešte študovali. Na základe nášho prieskumu by v prípade nastatia obdobnej situácie, kedy by bolo potrebné opäť prejsť z prezenčného vzdelávania na dištančné, do virtuálneho priestoru, sa mohli zamerať na prínosy dištančnej výučby a minimalizovať jej negatívne dopady.

Poďakovanie

Na tomto mieste by som chcel vyjadriť úprimné poďakovanie mojej školiteľke, doc. RNDr. Marte Urbaníkovej, CSc., za jej odborné konzultácie, rady, usmernenia a metodickú pomoc, ktoré mi poskytla pri vypracovávaní práce.

Taktiež by som chcel vysloviť veľké poďakovanie všetkým pánom riaditeľom/riaditeľkám, ktorí/é boli nápomocní/é pri distribúcii dotazníka svojim kolegom.

V neposlednom rade ďakujem aj každému respondentovi, ktorý si našiel čas a úprimne odpovedal na všetky otázky prieskumu.

Použitá literatúra

[1] Korona.gov.sk [online]. [15.3.2023]. Dostupné z: https://korona.gov.sk/co-je-covid-19/

[2] Health.gov.sk [online]. [15.3.2023]. Dostupné z: https://www.health.gov.sk/?koronavirus-covid-19

[3] SÁMELOVÁ, S. 2016. Pedagogická terminológia. In Kováčiková. D. – Sámelová, S. Filozofické, sociálne a pedagogické základy edukácie. Vysokoškolské učebné texty. Banská Bystrica: Belianum, vydavateľstvo Univerzity Mateja Bela. 77-88 s. ISBN 978-80-557-1099-0.
[4] STRENAČIKOVÁ, M. 2020. Vzdelávanie v čase pandémie. 1. vydanie. EQUILIBRIA, s.r.o. 2020. 16 s. ISBN 978-80-814-276-7.
[5] ZLÁMALOVÁ, H. 2008. Distanční vzdělávaní a eLearning. Praha: Univerzita Jana Amose Komenského, 144 s. ISBN 978-80-86723-56-3.
[6] GAZDÍKOVÁ, V. 2003. Základy dištančného elektronického vzdelávania. Trnava: PdF TU, 1-27 s. ISBN 80-89074-67-7.

Zážitkové učenie z botaniky v školskom a mimoškolskom prostredí

Experiential learning of botany in school and in extracurricular environment

Patrícia Kollárová[1]
Školiteľ: Svetlana Gáperová[2]
[1,2] Katedra biológie a ekológie, FPV UMB, Tajovského 40, 974 01 Banská Bystrica,
[1] patricia.kollarova@student.umb.sk, [2] svetlana.gaperova@umb.sk

Abstrakt

Realizovaním zážitkového učenia môžeme do vyučovacieho procesu priniesť nové možnosti chápania súvislostí medzi teoretickými poznatkami a ich praktickým využitím. V mimoškolských aktivitách zážitkovým učením zdokonalíme zručnosti žiakov a vzbudíme záujem aj o menej atraktívne témy, ktorými sú napríklad aj témy z botaniky. Navrhli sme preto aktivity s úlohami, ktoré zážitkovou formou žiakov učia o potravných nárokoch koní a tiež poukazujú na významnú úlohu výživy pre zdravie a výkon koní.

V príspevku navrhujeme rôzne alternatívy práce v rámci tém z botaniky s využitím zážitkovej pedagogiky priamo vo vyučovaní i v mimoškolskej činnosti. Žiakov chceme aktivizovať prostredníctvom úloh zameraných na žiacku skúsenosť a súčasne sa zamerať na následnú reflexiu skúsenosti.

Kľúčové slová: botanika, zážitkové učenie, metódy učenia

Abstract

By implementing experiential learning, we can bring new possibilities of understanding the connections between theoretical knowledge and its practical application into the teaching process. In extracurricular activities, experiential learning can improve student's skills and generate interest even in less attractive topics, such as botany. Therefore, we have designed activities with tasks that teach students about the nutritional requirements of horses through experiential learning, while also highlighting the significant role of nutrition for the health and performance of horses.

In the article, we propose various alternatives for working on botany topics using experiential pedagogy directly in teaching and in extracurricular activities. We aim to activate students through tasks focused on their own experiences and, at the same time, focus on subsequent reflection of the experience.

Key words: botany, experiential learning, teaching strategy

Úvod

Už od pradávna sa učitelia snažili nájsť čo najvhodnejšie metódy, ako sprostredkovať informácie svojim žiakom a ďalším generáciám. Jedným zo spôsobov zefektívnenia vyučovacieho procesu je aj využitie zážitkovej pedagogiky. Zatiaľ čo v tradičnej škole učitelia často preklápajú informácie na žiakov, ktorí nové poznatky preberajú staticky a pasívne, zážitková pedagogika je typická zapojením celého človeka – fyzicky, intelektuálne, aj emočne. Vo všeobecnosti sa k základom zážitkovej pedagogiky viaže vlastná aktivita, prostredníctvom ktorej vychovávaný získava zážitky a s nimi spojené poznatky. Tento proces sa tak stáva omnoho dynamickejším. Pri správnej interpretácií môže učeného obohatiť o viac, ako len o novo získané poznatky. Účinnosť zážitkových aktivít je nesporná, pretože nie je nič efektívnejšie, ako zažiť niečo na vlastnej koži a spolu s novými znalosťami byť obohatený aj o zážitky [1].

Cieľom predloženého príspevku je poskytnúť rôzne alternatívy práce v rámci botanických tém v mimoškolskom prostredí. Zameriava sa na využitie zážitkovej pedagogiky a aktivizáciu žiakov prostredníctvom nami vytvorených úloh zameraných na ich skúsenosti a následnú reflexiu.

1 Teoretické východiská zážitkového učenia

Zážitková pedagogika je vyučovací prístup, ktorý zdôrazňuje dôležitosť učenia sa prostredníctvom priamych skúseností. Táto metóda povzbudzuje študentov k zapojeniu sa do praktických aktivít, reflexívnych cvičení a interaktívnych projektov a k prehĺbeniu pochopenia odborných pojmov. Zážitkové učenie zahŕňa teórie, ktoré vznikli z diel filozofov a pedagógov. Hlavnou ideou zážitkovej

pedagogiky a jej učenia je prepojenie teoretických poznatkov s praktickým zážitkom a následnou reflexiou tejto skúsenosti. Celý proces je pritom založený na aktivite učiaceho sa. V skutočnosti je tento typ učenia často pre deti oveľa náročnejší, pretože musia nielen veci „robiť" ale zároveň sa od nich vyžaduje, aby sa nad samotným procesom a výsledkom danej skúsenosti aj zamýšľali, zatiaľ čo pri tradičných spôsoboch výučby je základom získavať nové informácie od učiteľa a následne si ich zapamätať [2].

Aktívne vytváranie poznatkov spojené so zapojením celého človeka (fyzicky, emocionálne aj intelektuálne) tak môže zanechať v učiacom sa dlhotrvajúce skúsenosti a poznatky. Názory o potrebe celkového rozvoja osobnosti boli prezentované aj Jánom Ámosom Komenským, ktorý zastával potrebu vzdelávať ducha, srdce, jazyk i ruku, čím naznačil, že človek získava dlhodobé skúsenosti prostredníctvom vlastných zmyslov [1]. Je však dôležité upozorniť na fakt, že k samotnému osvojovaniu poznatkov, t.j. k učeniu dochádza až vo fáze, ktorá nasleduje po samotnom zážitku resp. skúsenosti. Aktivita bez nasledovnej reflexie alebo prípadného upevnenia zážitku (či získaného poznatku) nemá pre učiaceho sa jedinca význam [3].

Schematický postup zážitkového učenia zhrňuje Kolbov cyklus, ktorý je konštituovaný na základe skúseností získaných aj v bežnom živote (za predpokladu, že ide aj o neintencionálne učenie). Kolbova teória zážitkového učenia vychádza z predpokladu, že 80% ľudského poznávania pochádza z vlastných, neprenosných zážitkov, ktoré zásadným spôsobom zvyšujú zapamätateľnosť ďalších nových poznatkov [4].

Metódy zážitkového učenia napomáhajú k vytváraniu zážitku emocionálnym prežívaním situácie. Možno aj to je jeden z dôvodov, prečo Cicero tvrdil, že „skúsenosť je učiteľom všetkých vecí". Zážitkové učenie môže byť realizované mnohými spôsobmi, niektorí autori dokonca samotné zážitkové učenie považujú za jednu z metód učenia [5].

2 Metodika a materiál

Vytvorili sme aktivity k zážitkovému učeniu, pozostávajúce z viacerých čiastkových úloh. Pri tvorbe sme vychádzali z teoretických východísk a z osobnej skúsenosti. Úlohy sú využiteľné priamo vo vyučovacom procese (napr. pri bádateľských aktivitách, pri vychádzke, exkurzii a pod.), ale aj v rôznej mimoškolskej činnosti (napr. krúžková činnosť, biologická olympiáda a pod.). Každá aktivita je členená na tieto časti: názov, zaradenie (konkrétne na hodiny biológie alebo v mimoškolskej činnosti), ciele, materiál a metódy, stručný postup, očakávané výsledky žiaka a záver. Úlohy, ktoré sme zrealizovali uvádzame aj s výsledkami niektorých žiakov.

Aktivity boli realizované so skupinou žiakov navštevujúcich jazdecký krúžok v Námestove, ktorý je určený najmä pre žiakov základnej školy. Krúžok je organizovaný dvakrát týždenne, v stredu a v sobotu. Žiaci počas týchto dní pracujú s viacerými ošetrovateľmi a inštruktormi jazdectva, ktorí im odovzdávajú získané vedomosti a rokmi nadobudnuté zručnosti potrebné pri starostlivosti o kone. Ako dlhoročná súčasť kolektívu miestnych koniarov sa preto podieľam na organizácii rôznorodých záujmových činností pre žiakov v tomto odbore aj ja, či už ako inštruktor jazdenia alebo animátor.

K úlohám je potrebné zabezpečiť výtvarnícke a písacie potreby, uzatvárateľné nádoby a rastlinný materiál (rôzne plody a byliny, konkrétne uvádzané pri úlohách). Tento materiál sme si zabezpečovali sami.

3 Výsledky a diskusia

Na základe našich skúseností žiaci prejavujú záujem o také témy z biológie, ktoré sú blízke ich voľnočasovým záujmom. V rámci svojho voľného času sa starajú o zvieratá, pestujú liečivé bylinky, sú amatérski mykológovia a pod. Ak túto ich záujmovú biologickú činnosť učiteľ správne podchytí, tak je pripravená cesta na realizovanie zážitkového učenia, ktoré je u žiakov obľúbené. K populárnym aktivitám patrí aj jazdectvo a s ním súvisiaca starostlivosť o kone. Niektorí žiaci tento záujem orientujú na čisto fyzické tréningy jazdectva, iných zaujíma aj starostlivosť o kone, nakoľko by sa v budúcnosti radi stali chovateľmi týchto ušľachtilých zvierat. Možnosti pre záujemcov sú preto rôzne. Žiaci môžu navštevovať individuálne jazdecké tréningy, byť súčasťou jazdeckého krúžku počas školských mesiacov alebo môžu absolvovať letné tábory v sedle počas letných mesiacov.

Z uvedeného dôvodu sme sa rozhodli pripraviť dve aktivity pre žiakov základnej školy, ktoré môžu učitelia využiť aj priamo vo vyučovacom procese na hodinách biológie alebo v mimoškolskej činnosti, v rámci krúžkov, biologickej olympiády a pod.

3.1 Aktivita: Jedálny lístok pre kone

Aktivita Jedálny lístok pre kone pozostáva z viacerých úloh, ktoré žiaci riešia. Zoznam úloh uvádzame v poradí, v akom sú realizované: Potrava na zamyslenie I. (pre-test), Triedenie bezpečnej a nebezpečnej

potravy pre kone (zaradenie potravy do kategórii podľa obrázkov), Skúmanie reakcií koní (skúmanie a pozorovanie reakcií koní po skonzumovaní rôznych druhov ovocia a zeleniny), Tvorba jedálneho lístka pre kone, Potrava na zamyslenie II (post-test).

Zaradenie aktivity:

A) vyučovací proces: Biológia 6. ročník (ISCED 2); tematický celok: Život s človekom a v ľudských sídlach; téma: Chovateľsky významné zvieratá (možnosť alternácie aktivity na Jedálny lístok pre vybrané zviera); čas potrebný na realizáciu: 2 – 3 vyučovacie hodiny; organizačná forma: hodina klasického typu

B) mimoškolská činnosť: chovateľský krúžok, jazdecký krúžok; vekové zloženie žiakov: od 10 do 15 rokov (nižšie sekundárne vzdelávanie); počet žiakov: 12;

Ciele: Kognitívny: vedieť diferencovať medzi jedlou a jedovatou potravou pre kone.

Afektívny: budovať kladný vzťah k zvieratám, vedieť komunikovať na spoločnú tému.

Psychomotorický: vytvoriť jedálny lístok (zoznam) pre kone vhodnej, prípadne nevhodnej potravy na konzumáciu.

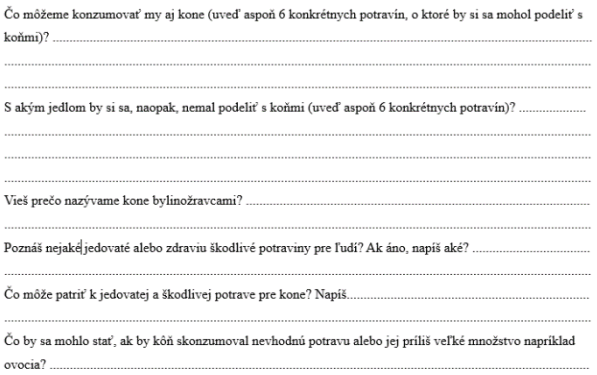
Očakávaný výstup žiaka: žiak vie identifikovať potravu vhodnú (prípadne nevhodnú) pre kone. Žiak rešpektuje kŕmne dávky a stravné návyky koní.

Materiál a metódy: Pred realizovaním aktivity sme venovali čas štúdiu informácii týkajúcich sa potravových návykov koní. Čerpali sme z odborných zdrojov skúsených veterinárnych pracovníkov [6], [7], [8], [9]. Následne sme vytvorili pomôcky: pre-test a post-test zameraný na vhodnú a nevhodnú potravu pre kone a tiež človeka, kartičky s obrázkami vhodnej aj nevhodnej potravy pre kone a záznamový hárok ku skúmaniu experimentu s kŕmením (pod dohľadom ošetrovateľa). Pred realizáciou aktivity bolo potrebné pripraviť a zhromaždiť materiál na vytváranie plagátov a tiež zabezpečiť rôzne druhy ovocia a zeleniny, ktoré sú vhodné na konzumáciu koňmi. Po analýze vyššie spomenutej literatúry sme vybrali tieto **druhy plodín**: banán, cuketa, uhorka, mrkva, pomaranč, kivi, reďkovka a mango. Z didaktických **metód** sme uplatnili: diskusné metódy, výklad, triedenie, bádateľsky orientované učenie, výtvarné a grafické aktivity, problémové vyučovanie. Dôležitou súčasťou celého procesu bolo sebahodnotenie a sebareflexia žiakov a celková reflexia práce.

Postup:

Na základe skúseností a vedomostí získaných navštevovaním jazdeckého krúžku v predchádzajúcich mesiacoch sa žiaci zamyslia, nad tým, čo kone konzumujú, aká potrava je pre kone vhodná a diskutujú o potravných návykoch koní.

Prvá úloha s názvom **Potrava na zamyslenie I.** prebieha nasledovne: žiaci dostanú krátky pre-test (obr. 1), ktorý samostatne vyplnia, čím si overia a zhodnotia svoje doterajšie znalosti, prípadne zistia nedostatky v tejto oblasti.


Čo môžeme konzumovať my aj kone (uveď aspoň 6 konkrétnych potravín, o ktoré by si sa mohol podeliť s koňmi)? .....

.....

.....

S akým jedlom by si sa, naopak, nemal podeliť s koňmi (uveď aspoň 6 konkrétnych potravín)? .....

.....

.....

.....

Vieš prečo nazývame kone bylinožravcami? .....

.....

Poznáš nejaké jedovaté alebo zdraviu škodlivé potraviny pre ľudí? Ak áno, napíš aké? .....

.....

Čo môže patriť k jedovatej a škodlivej potrave pre kone? Napíš.....

.....

Čo by sa mohlo stať, ak by kôň skonzumoval nevhodnú potravu alebo jej príliš veľké množstvo napríklad ovocia? .....

Obr. 1 Vzor pre-testu k úlohe Potrava na zamyslenie I.

Po vyplnení a odovzdaní pre-testov nasleduje krátka prednáška o správnom kŕmení koní, kde sú žiakom sprostredkované základné informácie o kŕmnom režime a prirodzenej strave koní. Žiaci si týmto spôsobom utvrdia informácie a získajú nové poznatky, ktoré budú môcť uplatniť pri riešení ďalších úloh.

Nasleduje skupinová práca s využitím metódy triedenia obrázkov (obrázky sú použité z voľne dostupných internetových zdrojov). Úloha má názov **Triedenie bezpečnej a nebezpečnej potravy pre kone**. Žiaci sú rozdelení do dvoch skupín, obe skupiny dostanú kartičky s obrázkami rôznej potravy (napr. obr. 2 a obr. 3, obrázky sú pri práci rozstrihané a zmiešané). Ich úlohou je roztriediť kartičky do kategórií:

A potrava "jedlá = vhodná" pre kone (obr. 2, obrázky sú pri práci rozstrihané);

B potrava "jedovatá = nevhodná" pre kone (obr. 3, obrázky sú pri práci rozstrihané);

C potrava „jedlá = vhodná" pre človeka (obr. 4, obrázky sú pri práci rozstrihané);

D potrava "jedovatá = nevhodná" pre človeka (obr. 5, obrázky sú pri práci rozstrihané).

Po zatriedení potravy nasleduje spoločná diskusia a porovnanie výsledkov, prípadné opravenie nesprávneho zaradenia. Žiakom kladieme otázky na zamyslenie nad jednotlivou potravou (napr. čo by mohlo byť pre kone nebezpečné pri konzumácii celého banánu alebo celej broskyne). V závere aktivitu spoločne vyhodnotíme.

Predpokladané riešenie:

A potrava "jedlá = vhodná" pre kone: ľanové semená, soľ, seno, banán (pozor na šupku), kukurica, dyne, broskyne (pozor na kôstky), púpava lekárska, slnečnica

Obr. 2 Správne zaradená potrava do kategórie A potrava "jedlá = vhodná" pre kone
Zdroj: [10]

B potrava "jedovatá = nevhodná" pre kone: tis obyčajný, ľuľkovec zlomocný, krekery, muchotrávka zelená, javor červený, ľuľok zemiakový, pizza, obložený chlebíček, starček Jakubov, čokoládový rez, avokádo, mliečne výrobky, klobásy, čokoláda

Obr. 3 Správne zaradená potrava do kategórie B potrava "jedovatá = nevhodná" pre kone
Zdroj: [10]

C potrava „jedlá = vhodná" pre človeka: ľanové semená, soľ, obložený chlebíček, banán, kukurica, dyne, broskyňa, krekery, slnečnica, pizza, čokoládový rez, avokádo, mliečne výrobky, čokoláda, klobásy

Obr. 4 Správne zaradená potrava do kategórie C potrava „jedlá = vhodná" pre človeka
Zdroj: [10]

D potrava "jedovatá = nevhodná" pre človeka: tis obyčajný (jedovatý okrem mieška), ľuľkovec zlomocný, muchotrávka zelená, javor červený, ľuľok zemiakový (konzumujeme iba uvarenú hľuzu), seno, starček Jakubov

Obr. 5 Správne zaradená potrava do kategórie D potrava "jedovatá = nevhodná" pre človeka
Zdroj: [10]

Žiaci sa presunú do priestorov stajne, kde dostanú pokyny k ďalšej úlohe s názvom **Skúmanie reakcií koní**. Rozdáme im záznamové hárky a pracujú v trojiciach. Pripravíme debničku s potravou vhodnou pre kone, z ktorých si žiaci vyberú 3 druhy. Tie ponúknu vybraným koňom, u ktorých budú skúmať ich reakcie pri konzumácii. Svoje pozorovania a skúsenosti zapisujú do

záznamového hárku (obr. 6), pričom diskutujú o reakciách koní na rôzne druhy plodín. Do záznamového hárku zapíšu výsledky svojho skúmania a pozorovania – ktoré druhy zeleniny alebo ovocia najviac, poprípade najmenej chutili vybranému jedincovi a ako kone reagovali, keď im boli ponúknuté jednotlivé druhy ovocia alebo zeleniny.

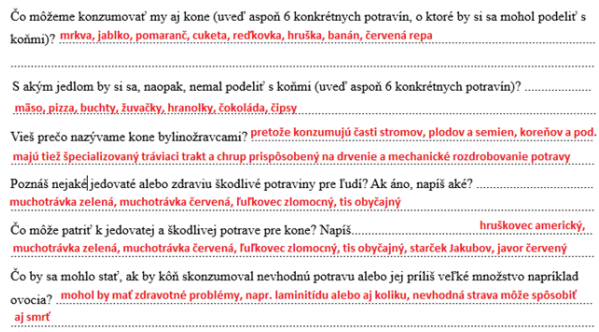
Záznamový hárok
Meno ochutnávača (koňa): Sanny
Vybrané potraviny: banán, reďkovka, uhorka
Potravina 1. (názov) reďkovka
Ako na ňu reagoval kôň? chutila jej
Ako mu podľa vás chutila (zakrúžkuj) ?
Potravina 2. (názov) uhorka
Ako na ňu reagoval kôň? nechcela
Ako mu podľa vás chutila (zakrúžkuj) ?
Potravina 3. (názov) banán
Ako na ňu reagoval kôň? chutil
Ako mu podľa vás chutila (zakrúžkuj) ?
Záver: Sanny najviac chutila reďkovka a banán uhorku iné jedla.

Obr. 6 Ukážka žiakmi vypracovaného záznamového hárku k úlohe Skúmanie reakcií koní

Pokračujeme úlohou **Tvorba jedálneho lístka pre kone.** Žiakom pripravíme materiál, pri tvorbe jedálneho lístka (obr. 7) uplatňujú získané znalosti z predchádzajúcich úloh i z teoretickej prednášky v úvode. Pracujú v skupinách.

Obr. 7 Ukážka žiackej práce z úlohy Tvorba jedálneho lístka pre kone

Záverečná úloha je **Potrava na zamyslenie II (post-test).** Pred záverečnou reflexiou celej aktivity žiakom rozdáme test, ktorý vypĺňali na začiatku. Vo funkcii **post-testu** (obr. 8) žiaci odpovedajú na rovnaké otázky, už však s novými znalosťami a skúsenosťami.


Čo môžeme konzumovať my aj kone (uveď aspoň 6 konkrétnych potravín, o ktoré by si sa mohol podeliť s koňmi)? mrkva, jablko, pomaranč, cuketa, reďkovka, hruška, banán, červená repa

S akým jedlom by si sa, naopak, nemal podeliť s koňmi (uveď aspoň 6 konkrétnych potravín)? mäso, pizza, buchty, žuvačky, hranolky, čokoláda, čipsy

Vieš prečo nazývame kone bylinožravcami? pretože konzumujú časti stromov, plodov a semien, koreňov a pod. majú tiež špecializovaný tráviaci trakt a chrup prispôsobený na drvenie a mechanické rozdrobovanie potravy

Poznáš nejaké jedovaté alebo zdraviu škodlivé potraviny pre ľudí? Ak áno, napíš aké? muchotrávka zelená, muchotrávka červená, ľuľkovec zlomocný, tis obyčajný

Čo môže patriť k jedovatej a škodlivej potrave pre kone? Napíš hruškovec americký, muchotrávka zelená, muchotrávka červená, ľuľkovec zlomocný, tis obyčajný, starček Jakubov, javor červený

Čo by sa mohlo stať, ak by kôň skonzumoval nevhodnú potravu alebo jej príliš veľké množstvo napríklad ovocia? mohol by mať zdravotné problémy, napr. laminitídu alebo aj kolíku, nevhodná strava môže spôsobiť aj smrť

Obr. 8 Možné riešenie post-testu v úlohe Potrava na zamyslenie II. (červenou farbou vyznačené možné odpovede).

Aktivitu ukončíme spoločnou reflexiou. Žiakov vyzveme, aby sa vyjadrili, ako sa im pracovalo, čo sa im páčilo na aktivite najviac, čo naopak najmenej a prečo, čo nové sa dozvedeli, čo ich prekvapilo alebo o čom by sa chceli dozvedieť viac. Žiakom odpovedáme na ich prípadne dotazy.

Vyhodnotenie a porovnanie pre-testov a post-testov: Priemerná úspešnosť žiakov v pre-teste bola 61,5 %. Výsledky post-testov však v priemere dosiahli úspešnosť až 91,7 %. Najviac problémová otázka pre žiakov bola otázka: "Vieš, prečo nazývame kone bylinožravcami?" Častokrát v tejto kolónke neuviedli nič alebo napísali: „preto, že jedia byliny". Otázku sme preto pre lepšie pochopenie doplnili podotázkou: „Ako je ich organizmus prispôsobený na príjem danej potravy?" V pre-teste sme zaznamenali aj problém vymenovať 6 konkrétnych druhov potravy, ktoré kone môžu konzumovať. Pri jedovatých alebo zdraviu škodlivých potravinách mnohí zo žiakov neuviedli žiadne riešenie. Naopak, otázka s najväčšou úspešnosťou sa týkala následkov konzumácie nevhodnej potravy koňmi.

Vypĺňanie rovnakého testu v závere aktivity preukázalo, že žiaci si osvojili nové poznatky a dokázali odpovedať aj na otázky, ku ktorým predtým neudali riešenie. V prípade vymenovania určitého počtu potravy vymenovali aj viac, ako bol minimálny počet. Pozitívne výsledky boli pozorované aj pri jedovatej a zdraviu škodlivej potrave, nakoľko každý žiak uviedol aspoň jeden organizmus rastlinného alebo hubového pôvodu.

Záver aktivity: Celková realizácia aktivity trvala 4 hodiny (60 minútové). Kolektív pozostával z 12 žiakov vo vekovom rozmedzí od 10 do 15 rokov. Žiakov najviac zaujala skupinová aktivita s obrázkami a ich zaraďovaním do kategórií a tiež skúmanie reakcií koní pri kŕmení ovocím a zeleninou. Prejavilo sa to samovoľnou aktivitou, zapájaním sa, pýtaním sa žiakov a záujmom o skúmanie viacerých potravín. Porovnanie počiatočných a konečných vedomostí o potravných návykoch koní sme vyhodnotili porovnaním výsledkov pre-testu a post-testu. Vytvorením jedálnych lístkov pre kone si žiaci upevnili a zafixovali získané vedomosti. Pri záverečnej reflexii sa žiaci najviac vyjadrovali k úlohe, kedy skúmali reakcie koní pri kŕmení rôznymi druhmi plodov. Žiakov prekvapilo, čo všetko môžu kone konzumovať a páčila sa im možnosť experimentovať. Nakoľko aj reakcie koní boli autentické a každý jedinec mal iné preferencie, žiaci si uvedomili, že aj kone môžu uprednostňovať niektoré druhy potravy pred inými, podobne ako ľudia.

3. 2 Aktivita: Prírodná medicína pre kone

Aktivita Prírodná medicína pre kone pozostáva z 3 úloh, ktorých názvy uvádzame v poradí ich realizácie: Zdravotný záznam koňa, Tvorba liečivej zmesi a Kľúč symptómov a možných liečivých prostriedkov.

Zaradenie:

A) vyučovací proces: Biológia 6. ročník (ISCED 2);

tematický celok: Život s človekom a v ľudských sídlach; téma: výberová téma – Liečivé, jedovaté a chránené rastliny (možnosť alternácie aktivity na Prírodná medicína pre vybrané zviera);

čas potrebný na realizáciu: 1 – 2 vyučovacie hodiny; organizačná forma: hodina klasického typu

B) mimoškolská činnosť: chovateľský krúžok, jazdecký krúžok; vekové zloženie žiakov: od 11 do 15 rokov (nižšie sekundárne vzdelávanie); počet žiakov: 12;

Ciele: Kognitívny: analyzovať zdravotný stav jednotlivých koní dlhodobým pozorovaním a konzultovaním s ošetrovateľom. Navrhnúť zoznam domácich a prírodných liečiv vhodných pre daného koňa. Poznať aspoň 5 domácich a prírodných liečiv pre kone a ich vplyv na organizmus.

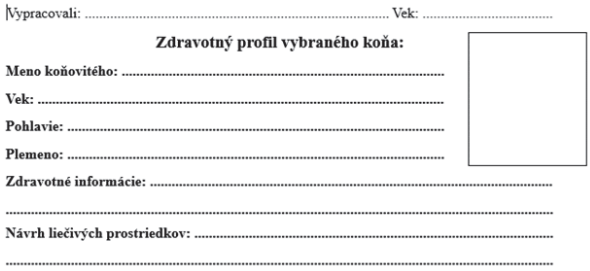
Afektívny: budovať kladný vzťah k zvieratám. Komunikovať na spoločnú tému.

Psychomotorický: vytvoriť zoznam prírodných a domácich liečiv vhodných pre jednotlivé kone. Vytvoriť liečivú zmes z prírodnín pre vybraného koňa.

Očakávaný výstup žiaka: Žiak vypracuje v skupine zdravotný záznam vybraného jedinca. Žiak vytvorí zoznam prírodných liečiv vhodných pre kone. Žiak vytvorí prírodnú liečivú zmes pre vybraného koňa.

Materiál a metódy: Pred realizovaním aktivity sme venovali čas štúdiu informácií týkajúcich sa liečivých prostriedkov pre kone. Nosnou literatúrou bola pre nás monografia Cornelie Wittek [11], s ktorou pracovali aj žiaci. Následne sme vytvorili pomôcky: zdravotný záznam koňovitého. Pred realizáciou aktivity je potrebné pripraviť a zhromaždiť prírodný materiál, ktorý sme zvolili po analýze vyššie spomenutej literatúry. Pri tvorbe liečivej zmesi boli použité nasledovné **domáce a prírodné liečivá**: pohánka, ľan siaty, cibuľa kuchynská, cesnak kuchynský, žihľava dvojdomá, petržlen kučeravý, ostružina malinová, mäta prieporná, ruža šípová. Prírodniny boli sprístupnené v sušenej forme. Z didaktických **metód** sme pri práci uplatnili: diskusné metódy, skupinovú prácu, samoštúdium, pozorovanie. Sebahodnotenie a sebareflexia žiakov boli dôležitou súčasťou celého procesu, avšak nevyhnutná bola aj celková reflexia práce.

Postup: Žiaci dostanú za úlohu informovať sa o zdravotných problémoch jedinca o ktorého sa starajú. V priebehu týždňa pozorujú alebo sa u ošetrovateľa informujú o rôznych zdravotných komplikáciách vybraného koňa. Na nasledujúcom stretnutí dostanú záznamy (obr. 9), ktoré sú kľúčové pri úlohe **Zdravotný záznam koňa**. Pracujú v trojiciach. Do kolónky zdravotné informácie doplnia, čo odpozorovali alebo zistili pri rozhovore s ošetrovateľom o zdravotnom stave vybraného jedinca, respektíve o zdravotných komplikáciách a ochoreniach.


Vypracovali: ..... Vek: .....

Zdravotný profil vybraného koňa:

Meno koňovitého: .....

Vek: .....

Pohlavie: .....

Plemeno: .....

Zdravotné informácie: .....

.....

Návrh liečivých prostriedkov: .....

.....

Obr. 9 Vzor zdravotného profilu vybraného koňa k úlohe Zdravotný záznam koňa

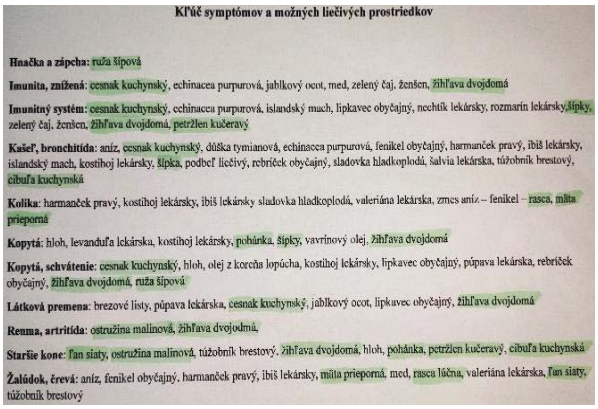
Na základe vytvorených profilov vyhľadávajú formou samoštúdia vhodné liečivá pre daného koňa. Informácie o možných domácich a prírodných liečivách im sprístupníme v podobe vybraných textov z monografie Cornelie Wittek [11]. Žiaci si texty preštudujú, zanalyzujú a následne z nich vyberú a do záznamu zapíšu tie prírodné liečivá, ktoré majú pozitívny vplyv pri danom symptóme. Údaje, ktoré žiaci

zistili si nechajú odkontrolovať a schváliť ošetrovateľom.

Po vyplnení záznamu o zdravotnom stave nasleduje úloha **Tvorba liečivej zmesi**. Žiaci si vytvoria vlastnú liečivú zmes z bezpečných, dostupných liečiv a označia ju údajmi: meno koňa pre ktorého je zmes určená, vlastný názov zmesi a jej obsah. Kontrolu množstva prírodných a domácich liečiv zabezpečuje počas celého procesu ošetrovateľ. Vyrobená zmes (obr. 10) sa môže okamžite použiť a pridať do krmiva podľa inštrukcii ošetrovateľa. Zároveň sa používa až do jej minutia.

Obr. 10 Ukážky žiakmi vytvorených liečivých zmesí pre kone v úlohe Tvorba liečivej zmesi

Aktivitu ukončíme poslednou úlohou, ktorou je tvorba spoločného **Kľúča symptómov a možných prírodných liečiv** (obr. 11), o ktorých sa žiaci dočítali pri riešení predchádzajúcich úloh. Kľúč vytvoríme v počítači vo forme dokumentu.



Kľúč symptómov a možných liečivých prostriedkov

Hnačka a zápcha: ruža šípová

Imunita, znížená: cesnak kuchynský, echinacea purpurová, jablkový ocot, med, zelený čaj, ženšen, žihľava dvojdomá

Imunitný systém: cesnak kuchynský, echinacea purpurová, islandský mach, lipkavec obyčajný, nechtík lekársky, rozmarín lekársky, šípky, zelený čaj, ženšen, žihľava dvojdomá, petržlen kučeravý

Kašeľ, bronchitída: aníz, cesnak kuchynský, dúška tymianová, echinacea purpurová, fenikel obyčajný, harmanček pravý, ibiš lekársky, islandský mach, kostihoj lekársky, šípka, podbeľ liečivý, rebríček obyčajný, sladovka hladkoplodá, šalvia lekárska, túžobník brestový, cibuľa kuchynská

Kolika: harmanček pravý, kostihoj lekársky, ibiš lekársky sladovka hladkoplodá, valeriána lekárska, zmes aníz. – fenikel – rasca, mäta prieporná

Kopytá: hloh, levanduľa lekárska, kostihoj lekársky, pohánka, šípky, vavrínový olej, žihľava dvojdomá

Kopytá, schvátenie: cesnak kuchynský, hloh, olej z koreňa lopúcha, kostihoj lekársky, lipkavec obyčajný, púpava lekárska, rebríček obyčajný, žihľava dvojdomá, ruža šípová

Látková premena: brezové listy, púpava lekárska, cesnak kuchynský, jablkový ocot, lipkavec obyčajný, žihľava dvojdomá

Reuma, artritída: ostružina malinová, žihľava dvojdomá,

Staršie kone: ľan siaty, ostružina malinová, túžobník brestový, žihľava dvojdomá, hloh, pohánka, petržlen kučeravý, cibuľa kuchynská

Žalúdok, črevá: aníz, fenikel obyčajný, harmanček pravý, ibiš lekársky, mäta prieporná, med, rasca liečna, valeriána lekárska, ľan siaty, túžobník brestový

Obr. 11 Vytvorený Kľúč symptómov a možných liečivých prostriedkov (zeleno podčiarknuté sú liečivá, ktoré boli k dispozícii)

Po ukončení aktivity sa uskutoční záverečná reflexia. Pred ňou zdôrazníme zásady používania domácich a bylinných liečiv, ktoré by žiaci mali rešpektovať. Pripomenieme, že liečivé prostriedky nikdy nenahrádzajú veterinárnu/odbornú pomoc v prípade zdravotných komplikácii a že aj užívanie niektorých bylín v nevhodnom množstve, dlhom intervale alebo za určitých podmienok (napr. gravidita), môže mať na jedinca negatívny vplyv. Žiakov vyzveme k vyjadreniu svojho názoru na priebeh aktivity, čo sa im páčilo najviac, čo najmenej a prečo, čo nové sa naučili, čo ich prekvapilo alebo o čom by sa chceli dozvedieť viac. Odpovieme na ich prípadné otázky.

Záver aktivity: Realizácia aktivity trvala 2 hodiny (60 minútové). Samotnej aktivite predchádzalo dlhodobé pozorovanie a informovanie sa o zdravotnom stave koní, ktoré žiaci dostali za „domácu úlohu“. Kolektív pozostával z 10 žiakov vo vekovom rozmedzí od 11 do 15 rokov. Vypĺňanie zdravotných záznamov žiakom pomohlo zlepšiť svoje schopnosti v hľadaní a spracovaní informácií. Žiakom sa najviac páčila práca s bylinami, vyjadrili mnohé pozitívne názory, napr. že aj oni majú radi byliny v podobe čajov. Skupiny, ktoré mali možnosť zmes vybranému jedincovi pridať do krmiva ju využili a pozorovali, ako ju kôň konzumuje spolu s krmivom. Žiakov zaujali dostupné liečivá, preto na záver vytvorili spoločnú zmes na podporu imunity. Mnohých žiakov zaujala pri práci napríklad pohánka, nakoľko ju predtým nepoužili a ani nevideli.

Záver

Udržiavanie a neustále zlepšovanie zážitkového vzdelávania predstavuje bránu do vonkajšieho života učiacich sa, kde koncepty a osvojené poznatky ožívajú v rôznorodých oblastiach ich každodenného života. Na základe výsledkov nami vytvorených aktivít môžeme konštatovať, že mimoškolské aktivity zamerané na prácu s domácimi a hospodárskymi zvieratami môžu mať výrazný vplyv na rozvoj kognitívnych, afektívnych a psychomotorických zručností u detí, ak pri ich výučbe uplatníme zážitkovú pedagogiku. V prípade jazdeckého krúžku sme sa zamerali na tému stravovania koní, ktorá je úzko prepojená s botanikou. Žiaci získali vedomosti v oblasti vhodnej a nevhodnej stravy pre kone, liečivých prírodnín a bylín pre kone, učili sa budovať kladný vzťah k zvieratám a tiež získali praktické skúsenosti pri tvorbe jedálneho lístka a liečivej zmesi pre kone.

Výsledky môžu byť využité v praxi pri výučbe v rámci tematickej oblasti Život s človekom a v ľudských sídlach, ale aj v rámci mimoškolských aktivít.

Poďakovanie

Poďakovanie by som chcela vyjadriť mojej školiteľke doc. RNDr. Svetlane Gáperovej, PhD. za jej rady, konzultácie a odbornú pomoc.

Použitá literatúra

[1] KAPŠOVÁ, Jaroslava. 2008. Zážitková pedagogika. In Zoom-M, zaostrené na mladých [online]. Bratislava : Rada mládeže Slovenska, č. 3. s. 4-6. [cit. 27.2.2023]. Dostupné na internete: https://silo.tips/download/tema-uenie-zaitkom-3-2008 . ISSN 1336–4340.

[2] BATES, Anthony William. Methods of teaching: campus-focused. In BATES, Anthony William. Teaching in a Digital Age: Guidelines for Designing Teaching and Learning [online]. Vancouver BC : Tony Bates Associates Ltd, 2015, [cit. 28.2.2023]. Dostupné na internete: https://opentextbc.ca/teachinginadigitalage/chapter/4-4-models-for-teaching-by-doing/ ISBN: 978-0-9952692-0-0.

[3] BOUD, David – KEOGH, Rosemary – WALKER, David. 1985. Reflection: Turning Experience into Learning [online]. New York : Nichols Publishing Company, 170 s. [cit. 28.2.2023]. Dostupné na internete: https://craftingjustice.files.wordpress.com/2017/04/david-boud-rosemary-keogh-david-walker-reflection_-turning-experience-into-learning-routledge-1985-pp-1-165.pdf ISBN 0-85038-864-3.

[4] KOLB, David Allen. 2006. Experiential learning: Experience as the source of learning and development. Englewood Cliffs, NJ : Prentice Hall, 256 s. ISBN 0132952610.

[5] OKUAKAJI, Michelle Mmaez. 2020. Effect of Experiential learning strategy on biology students. In Journal of Education [online]. vol. 7, num. 1. s. 166-172. [cit. 28.2.2023]. Dostupné na internete: https://www.alhikmah.edu.ng/ajhir/index.php/aje_path/article/view/103/103 E-ISSN 2705-2508.

[6] BLOCKSDORF, Katherine. 2022. What to Feed a Horse to Keep It Healthy [online]. [cit. 2.2.2023]. Dostupné na internete: https://www.thesprucepets.com/what-horses-eat-that-keep-them-healthy-1886504#citation-7

[7] CONRAD, Sarah Evers. 2019. Horse Feeding Basics [online]. [cit. 2.2.2023]. Dostupné na internete: https://thehorse.com/111874/horse-feeding-basics/

[8] DESTREZ, Alexandra a kol. 2015. Changes of the hindgut microbiota due to high-starch diet can be associated with behavioral stress response in horses. In Physiology & Behavior [online]. vol. 149, s. 159-164. [cit. 2.2.2023]. Dostupné na internete: https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S0031938415003339?via%3Dihub ISSN 0031-9384.

[9] National Research Council (NRC). 2007. Nutrient Requirements of Horses. Washington, DC : The National Academies Press, 360 str. [cit. 2.2.2023]. Dostupné na internete: https://dokumen.tips/documents/nutrient-requirements-of-horses-sixth-revised-edition-2007.html?page=1 ISBN 978-0-309-48895-2.

[10] Zdroje obrázkov [online]. [cit. 25.1.2023]
Ľanové semená. Seno. Dostupné z: https://www.farmavel.sk/vsetko-pre-kone/krmenie-koni/
Čokoláda. Dostupné z: https://www.restartchudnutie.sk/blog/item/57-nie-je-cokolada-ako-cokolada
Klobásy. Dostupné z: https://dobruchut.aktuality.sk/clanok/37828/domace-klobasky/
Soľ. Dostupné z: https://www.woman.sk/wp-content/uploads/2019/12/1200_AdobeStock_172563451-1024x576.jpg
Mliečne výrobky. Dostupné z: https://www.centrallecheraasturiana.es/vitaminas-y-minerales-en-los-lacteos/
Tis obyčajný. Dostupné z: https://upload.wikimedia.org/wikipedia/commons/thumb/2/2c/Eibe_2009.JPG/250px-Eibe_2009.JPG
Hruškovec americký. Dostupné z: https://www.dobrenoviny.sk/images/article/197778/920/410/1616078351.jpg
Banán. Dostupné z: https://cdn.myshoptet.com/usr/www.yummy.sk/user/shop/big/9159_hlavni-nahled--28.png?62cd6581
Muchotrávka zelená. Dostupné z: https://www.mykoweb.com/CAF/photos/Amanita_phalloides%28mgw-22%29.jpg
Ľuľkovec zlomocný. Dostupné z: https://www.kamzakrasou.sk/lifestyle/zdravie/lulkovec-zlomocny/26684
Kukurica siata. Dostupné z: https://fitastyl.sk/clanky/vyziva/kukurica-a-chudnutie-ano-alebo-nie
Broskyňa. Dostupné z: https://ovocnestromyjesen.sk/wp-content/uploads/2019/03/dixired-broskyna-1.png
Pizza. Dostupné z: https://kuchynalidla.sk/storage/app/uploads/public/5fa/c0f/1ad/5fac0f1adee2e338293624.jpg
Javor červený. Dostupné z: https://www.urbanforestdweller.com/in-praise-of-the-red-maple/
Dyne. Dostupné z: https://zdravopedia.sk/assets/images/Ovocie/_clanok/5516/melon.jpg
Starček Jakubov. Dostupné z: http://www.naturalmedicinalherbs.net/thumbnails/wendys/senecio-jacobaea=ragwort.jpg
Slnečnica roľná. Dostupné z: https://www.thespruce.com/save-sunflower-seeds-385625
Obložený chlebíček. Dostupné z: https://www.lahudkyzlatykriz.cz/static/media/uploads/product/.thumbnails/s%CC%8Cunkovy%CC%811.jpg/s%CC%8Cunkovy%CC%811-340x260.jpg
Ľuľok zemiakový. Dostupné z: http://www.urbannatur.eu/de/assets/File.ashx?id_org=451032&id_dokumenty=1158

[11] WITTEK, Cornelia. 2008. Prírodná medicína pre kone. Bratislava : Slovart. 176 s. ISBN 978-80-8085-550-5.

Sekcia

Odborová didaktika II.

Návrh didaktických aktivít pre žiakov základných škôl vo vyučovaní geografie miestnej krajiny v MAS Miloj Spiš

Proposal of didactic activities for primary schools pupils in teaching local landscape geography at the LAG Miloj Spiš

Romana Krajňáková[1]
Školiteľ: Hilda Kramáreková[2]
[1,2]Katedra geografie, geoinformatiky a regionálneho rozvoja,
FPVaI UKF, Tr. A. Hlinku 1, 949 01 Nitra
[1]romana.krajnakova@student.ukf.sk, [2]hkramarekova@ukf.sk

Abstrakt

Dôležitou súčasťou výchovno-vzdelávacieho procesu na základných školách je vyučovanie geografie miestnej krajiny. Jednou z metód, ktorá sa dá pri tom uplatňovať, je didaktická hra.

Cieľom príspevku je navrhnúť didaktické aktivity pre žiakov základných škôl vo vyučovaní geografie miestnej krajiny v MAS Miloj Spiš.

Článok je tvorený z piatich kapitol. V prvej kapitole sme sa venovali teoreticko-metodickým východiskám problematiky. Druhá kapitola prináša informácie o vymedzení mikroregiónu a jeho stručnú charakteristiku. V tretej kapitole sme poukázali na vyučovanie geografie miestnej krajiny na základných školách. Hra vo vyučovaní bola náplňou štvrtej kapitoly. Piata kapitola sa zaoberala výsledkami - vlastnými návrhmi didaktických aktivít vo vyučovaní geografie miestnej krajiny v MAS Miloj Spiš a diskusiou.

Počas písania článku sme využívali rozličné metódy – metódu vysvetľujúceho opisu, terénny výskum a systémovú metódu, pomocou ktorých sme sa snažili vystihnúť podstatu témy, dodržať jej logickú postupnosť. Informácie sme vizualizovali prostredníctvom kartografickej metódy a vlastnými návrhmi hier.

Kľúčové slová: MAS Miloj Spiš, didaktická hra, aktivizujúca a rozvíjajúca metóda

Abstract

An important part of the educational process at primary schools is the teaching of the geography of the local landscape. One of the methods that can be applied to this is a didactic game.

The aim of the paper is to propose didactic activities for primary schools pupils in teaching local landscape geography at the LAG Miloj Spiš.

The article consists of five chapters. In the first chapter we dealt with theoretical and methodological issues. The second chapter provides information on the definition of the microregion and its brief characteristics. In the third chapter, we pointed out the teaching of local landscape geography at Primary Schools. The game in the classroom was the content of the fourth chapter. The fifth chapter dealt with the results-own proposals of didactic activities in teaching local landscape geography at the LAG Miloj Spiš and a discussion.

During the writing of the article, we used various methods – the method of explanatory description, field research and the system method, through which we tried to capture the essence of the topic, to observe its logical sequence. We visualized the information through the cartographic method and our own game designs.

Key words: LAG Miloj Spiš, didactic game, activating and developing method

Úvod

O miestnej krajine sa žiaci učia najmä na predmetoch vlastiveda a geografia, ale táto téma má veľké uplatnenie aj v rámci prierezových tém či medzipredmetových vzťahov. Miestna krajina je totiž miestom, ktoré sa so životom žiakov úzko spája, keďže v ňom vyrastajú, poznajú ho z vlastnej skúsenosti a majú k nemu citovú väzbu. Hoci sa dieťa už v mladom veku stretáva so základnými poznatkami o území, v ktorom žije, aj počas žiakovho štúdia je veľmi dôležité jeho poznatky o miestnej krajine rozširovať, prehlbovať a posilňovať pozitívny vzťah k miestu svojho bydliska. Vieme, že v dnešnej dobe je veľmi ťažké žiakov zaujať, preto jednou z možností, ako zatraktívniť vyučovanie, je zaradiť do vyučovania činnosti, ktoré žiaci robia dobrovoľne a radi, napríklad aktivity.

Cieľom príspevku je tak navrhnúť didaktické aktivity pre žiakov základných škôl vo vyučovaní geografie miestnej krajiny v MAS Miloj Spiš.

1 Teoreticko-metodické východiská problematiky

Dôležitou súčasťou vyučovania geografie na základných školách je aj geografia miestnej krajiny. Miestnu krajinu môžeme chápať ako časť skutočného sveta, v ktorom sa človek nachádza, dochádza tam k jeho vývoju a formovaniu, teda je to priestor, ktorý človek dobre pozná po racionálnej i emocionálnej stránke [1].

Pri lokalizácii mikroregiónu sme vychádzali z mapy územia. Základné informácie o rozlohe sme získali zo Štatistického úradu SR [2]. Pri vypracovávaní fyzickogeografickej charakteristiky sme využívali Geomorfologické členenie Slovenska [3], Klimatický atlas SR [4], mapy pôd [6], mapu fytogeograficko-vegetačného členenia [7] a na zhodnotenie ochrany prírody sme využili webovú stránku Ministerstva životného prostredia SR [10]. Humánnogeografickú charakteristiku sme spracovali na základe údajov Sčítania obyvateľov domov a bytov z roku 2021 [8] a mapy priemyslu [9]. Prierezovo sme používali aj publikáciu Spiš – turistický sprievodca [5].

Na zhodnotenie vyučovania geografie miestnej krajiny sme využívali oficiálnu webovú stránku Národného inštitútu vzdelávania a mládeže (NIVAM) [11], ale aj publikácie didaktík geografie od Čižmárovej [12], Madzikovej a Kancíra [13] a Likavského [14].

Pri charakteristike didaktických hier sme využívali publikácie uverejnené na webovej stránke NIVAM od autorov Labjaková [15], Šupka a kol. [16], Folvarčíková [17] a oficiálnu stránku Ministerstva školstva, vedy, výskumu a športu SR [18].

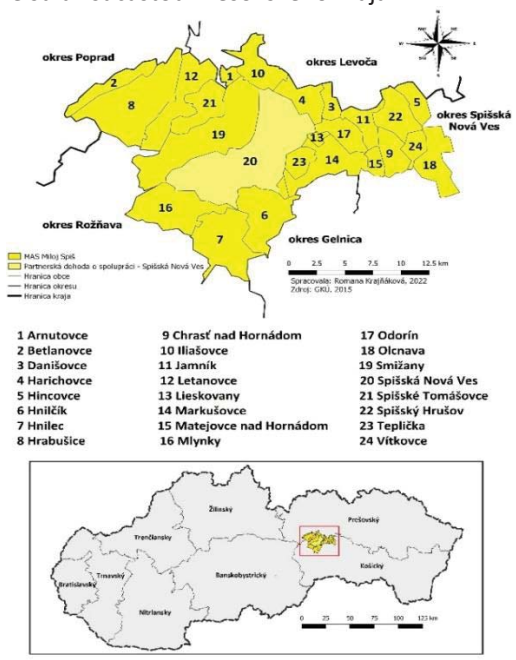
Článok vznikol na základe viacerých metód. Začali sme zberom a zhromažďovaním informácií súvisiacich s témou práce z printových a elektronických zdrojov, ako aj z terénneho výskumu, pričom sme brali do úvahy hodnotu študovaných materiálov. Následne sme pristúpili k metóde analýzy, pomocou ktorej sme z množstva informácií vybrali tie najpodstatnejšie a podali ich metódou vysvetľujúceho opisu.

Prácu sme doplnili kartografickou metódou o mapu mikroregiónu, ktorú sme zhotovili prostredníctvom programu QGIS.

Prostredníctvom systémovej metódy sme článok rozdelili na kapitoly a podkapitoly tak, aby bola dodržaná ich logická nadväznosť.

2 Vymedzenie a stručná charakteristika mikroregiónu MAS Miloj Spiš

Územie MAS Miloj Spiš sa rozprestiera na východnom Slovensku v severozápadnej časti Košického kraja (mapa 1), pričom je súčasťou okresu Spišská Nová Ves s celkovou rozlohou 33 525,107 ha [2]. Na juhu mikroregión hraničí s okresmi Gelnica a Rožňava a jeho severnú hranicu tvoria okresy Poprad a Levoča, ktoré sú už súčasťou Prešovského kraja.



Mapa 1 Lokalizácia MAS Miloj Spiš v Košickom kraji
Zdroj: Krajňáková, 2023

Podstatnú časť územia MAS Miloj Spiš zaberá Hornádska kotlina. Na západe sa rozprestiera Spišsko-gemerský kras a na juhu Volovské vrchy [3]. Okrem severovýchodnej časti územia, ktorú radíme do mierne teplej klimatickej oblasti, leží celý mikroregión v chladnej klimatickej oblasti [4]. Z hľadiska hydrogeografických pomerov celé územie patrí do povodia Hornádu, ktorého najväčším prítokom je rieka Hnilec [5]. V blízkosti vodných tokov sú rozšírené fluvizeme, avšak najrozšírenejším pôdnym typom mikroregiónu sú kambizeme [6]. Podľa fytogeograficko-vegetačného členenia územie leží na rozhraní bukovej a ihličnatej zóny [7]. Z fauny sú pre územie typické jelene, diviaky, vlci, rysy, líšky a pod. [5]. Veľkú časť MAS Miloj Spiš zaberajú chránené územia. Celú západnú časť pokrýva Národný park Slovenský raj. Okrem toho sa tu nachádza päť ďalších maloplošných chránených území, a to Národná prírodná rezervácia Červené skaly v obci Olcnava,

Národná prírodná pamiatka Markušovské steny v obciach Markušovce a Odorín, Prírodná rezervácia Čintky na území Iliašoviec, Prírodné pamiatky Markušovská transgresia paleogénu v Markušovciach a Farská skala v obci Chrasť nad Hornádom. Na území sa nachádzajú dve chránené vtáčie územia, a to CHVÚ Volovské vrchy a CHVÚ Slovenský raj [10].

Čo sa týka obyvateľstva tohto územia, počet obyvateľov má v posledných rokoch tendenciu mierne stúpať. Podľa Sčítania obyvateľov, domov a bytov z roku 2021 v mikroregióne žije 35 100 ľudí na rozlohe 335,25 km^2. Najviac obyvateľov sa hlási k rímskokatolíckemu vierovyznaniu a slovenskej národnosti [8].

Poľnohospodárska pôda zaberá z celkovej rozlohy mikroregiónu 41%, z toho 53% je orná pôda. Výmera lesných porastov je 17 780,21 ha [2]. V súčasnosti prebieha zlepšovanie skladby lesa cieľavedomým hospodárením a výsadbou stromov.

Z hľadiska priemyslu sa na území MAS Miloj Spiš nachádzajú priemyselné podniky strojárskeho priemyslu, potravinárskeho priemyslu a priemyslu stavebných hmôt [9]. K najvýznamnejším zamestnávateľom územia patrí Embraco Slovakia s.r.o. Je to nadnárodná spoločnosť, ktorá vyrába kompresory pre chladiace systémy [5].

Dopravnú infraštruktúru územia tvoria cestné a železničné trate. V každej obci mikroregiónu sa nachádzajú malé obchody, ale najväčšie možnosti nákupu na území poskytuje mesto Spišská Nová Ves. V MAS Miloj Spiš sa nachádza dostatok ubytovacích a stravovacích zariadení a medzi ďalšie služby patrí zdravotníctvo, školstvo či sociálna starostlivosť. V mikroregióne sa nachádzajú 3 turistické informačné centrá - v Spišskej Novej Vsi, Hrabušiciach a Smižanoch [5].

Centrum Mikroregiónu MAS Miloj Spiš tvorí okresné mesto Spišská Nová Ves a tvorí ho aj ďalších 23 spišských vidieckych sídel, ktorými sú Arnutovce, Betlanovce, Danišovce, Harichovce, Hincovce, Hnilčík, Hnilec, Hrabušice, Chrasť nad Hornádom, Iliašovce, Jamník, Letanovce, Lieskovany, Markušovce, Matejovce nad Hornádom, Mlynky, Odorín, Olcnava, Smižany, Spišské Tomášovce, Spišský Hrušov, Teplička a Vítkovce.

3 Vyučovanie geografie miestnej krajiny na základných školách

Z hľadiska edukačného systému základných škôl je miestna krajina súčasťou obsahu učiva primárneho vzdelávania (ISCED 1) a nižšieho sekundárneho vzdelávania (ISCED 2). Na 1. stupni ZŠ sa geografiou miestnej krajiny zaoberá predmet Vlastiveda. Celý 3. ročník sa vyučuje téma Moja obec, pomocou ktorej žiaci spoznávajú miesto, v ktorom žijú, rozprávajú o ňom, dokážu ho opísať a porovnať, učia sa identifikovať jednotlivé prvky územia a pod., pričom využívajú aj poznatky zo svojich pozorovaní a skúseností. V rámci 2. stupňa ZŠ sa miesta krajina vyučuje v predmete Geografia v 8. ročníku prostredníctvom projektu Slovensko a miestna krajina [11].

Význam vyučovania geografie miestnej krajiny spočíva predovšetkým v tom, že konkrétne geografické javy miestnej krajiny, o ktorých sa žiaci učia, môžu slúžiť ako model všeobecných geografických javov, ktoré im umožnia lepšie chápať vzťahy a súvislosti geografickej sféry. Zároveň poznávanie miestnej krajiny nerozvíja len vedomosti žiakov, ale aj ich osobnosť, solidaritu a spoluzodpovednosť za stav životného prostredia na území, v ktorom žijú [12].

Významnou súčasťou vyučovania sú aj prierezové témy či medzipredmetové vzťahy. Pri vyučovaní miestnej krajiny môže byť využitá napríklad prierezová téma Regionálna výchova a tradičná ľudová kultúra, keďže jej cieľom je pestovať a rozvíjať cit ku krásam svojho regiónu alebo prierezová téma Environmentálna výchova, vďaka ktorej si žiaci posilňujú pocit zodpovednosti vo vzťahu k životnému prostrediu a podporuje ich aktívny prístup k jeho ochrane. Miestnou krajinou sa vo vyučovacom procese zaoberajú napríklad aj vyučovacie predmety ako dejepis, občianska náuka, biológia i výtvarná výchova [11].

Dôležitými činiteľmi ovplyvňujúcimi účinnosť vyučovacieho procesu sú metódy a formy vyučovania. Optimalizácia ich výberu, usporiadania a praktického využívania prispievajú k zvyšovaniu efektívnosti vyučovania [13]. Podľa viacerých geografov je práve geografická vychádzka najefektívnejšou formou vyučovania geografie miestnej krajiny. Jej význam spočíva predovšetkým v tom, že žiaci si na základe priameho pozorovania krajiny v teréne oveľa rýchlejšie a jednoduchšie osvoja potrebné vedomosti [14]. Pri tejto forme výučby geografie miestnej krajiny sa využívajú najmä názorné metódy vyučovania, konkrétne geografické pozorovania, pretože pri pozorovaní ide o sledovanie objektov priamo v teréne [12]. Z ďalších vyučovacích metód pri vyučovaní geografie miestnej krajiny môže byť využitá napríklad projektová metóda alebo aj didaktická hra.

4 Hra vo vzdelávaní

V publikáciách sa stretávame s rôznymi definíciami a funkciami didaktických hier vo vyučovacom procese. Všetky však hovoria o tom, že zaradenie didaktických hier do vyučovania pozitívne vplýva na samotný proces vyučovania a učenia sa. Dokonca už starogrécki filozofi ako Platón či Aristoteles považovali didaktickú hru za účinný vzdelávací prostriedok [15]. Didaktická hra je tak už oddávna súčasťou vzdelávania a aj v súčasnosti sa považuje za neoddeliteľnú súčasť moderného školstva. Platí to aj pri vyučovaní geografie miestnej krajiny. Likavský [14] zaraďuje didaktickú hru medzi významné aktivizujúce a rozvíjajúce metódy v rámci celej geografie.

Všeobecne sa didaktická hra môže definovať ako sebarealizácia žiakov, riadená určitými pravidlami a sledujúca výchovno-vzdelávacie ciele [17]. V Didaktike geografie od Šupku, Hofmanna a Ruxa [16] nájdeme informácie, že geografická hra rozvíja logické myslenie, pozorovaciu schopnosť žiakov, podnecuje ich získavať ďalšie vedomosti, pomáha vytvárať praktické zručnosti a návyky žiakov.

Didaktické aktivity umožňujú realizovať proces učenia nielen verbálnym a pojmovým učením, ale hlavne senzomotorickým učením, emocionálnym učením, zážitkom, sociálnym učením i skúsenosťou, kde je úroveň zapamätania vyššia [15]. Považuje sa za veľmi efektívnu vyučovaciu metódu, keďže okrem toho, že vedie k dosiahnutiu edukačných cieľov, tak žiakom prináša aj potešenie z jej priebehu. Prostredníctvom vhodne zvolených didaktických hier sa rozvíja pamäť žiakov, ich predstavivosť, zvyšuje sa koncentrácia pozornosti. Ak má hra primeranú náročnosť, tak umožňuje rozvoj reči, zvyšuje aktivitu myslenia, rozvíja tvorivý spôsob uvažovania. Dôležitú úlohu plní aj vôľová a citová stránka žiaka, tá poskytuje dobré podmienky pre vytváranie sociálnych vzťahov nielen medzi žiakmi, ale aj formovanie vzťahu medzi učiteľom a žiakom [15].

Didaktická aktivita musí mať didaktický cieľ a presne vymedzené pravidlá. Pedagóg by mal v úvode aktivity žiakom detailne priblížiť jej pravidlá a počas priebehu aktivity by nemal zabúdať na pozitívnu motiváciu žiakov. Aj vďaka aktivite dostáva pedagóg spätnú väzbu, aká je vedomostná úroveň žiakov. Ďalej umožňuje aj poznať sociálne roly a pozíciu každého žiaka v triede, čo je pre vyučovanie veľmi dôležité [18].

5 Výsledky a diskusia

Výsledkami našej práce je vytvorenie didaktických aktivít pre žiakov základných škôl vo vyučovaní geografie miestnej krajiny v MAS Miloj Spiš.

Didaktické aktivity sú zamerané na poznatky ako z fyzickej, tak aj z humánnej geografie miestnej krajiny mikroregiónu. Tieto návrhy sme sa pokúsili zostaviť tak, aby sme motivovali žiakov, posilnili ich aktivitu, rozvíjali tvorivé a kritické myslenie žiakov a dospeli k vopred stanoveným výchovno-vzdelávacím cieľom, teda aby si žiaci nielen zopakovali, ale aj rozšírili vedomosti o mikroregióne, v ktorom žijú.

Keďže sme mali možnosť počas písania tohto článku absolvovať súvislú pedagogickú prax na základnej škole, tak sme si so žiakmi 8. ročníka, v ktorom sa miestna krajina vyučuje, tieto didaktické aktivity vyskúšali. So žiakmi sme realizovali tie aktivity, v ktorých sami vymýšľali otázky, keďže sme žiakov až tak dobre nepoznali a nevedeli sme, na akej úrovni sú ich poznatky o miestnej krajine. Môžeme však konštatovať, že žiakov jednotlivé aktivity bavili, motivovali ich k záujmu o nové poznatky o mieste, kde žijú a radi by si tieto aktivity zopakovali aj v budúcnosti.

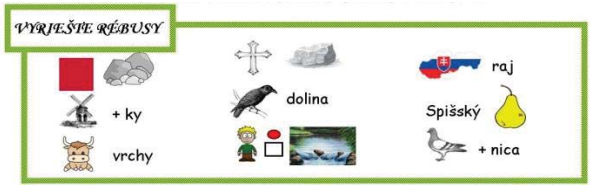
5.1 Návrh didaktických aktivít po zopakovaní tematického celku Príroda

Didaktické aktivity sú navrhnuté na zopakovanie tematického celku Príroda, po prebratí tém geologická stavba a nerastné suroviny, reliéf, podnebie, vodstvo, rastlinstvo a živočíšstvo a ochrana prírody v MAS Miloj Spiš.

Didaktická aktivita: Rébusy

Cieľ aktivity: Nájsť zašifrované názvy geografických pojmov.

Postup realizácie aktivity: V úvode učiteľ oboznámi žiakov s cieľom aktivity a jej pravidlami. Každý žiak najprv sám popremýšľa nad rébusmi. Potom spolu s učiteľom spoločne skontrolujú správne riešenia. Nimi sú: Červené skaly, Mlynky, Volovské vrchy, Farská skala, Havrania dolina, Matejovce nad Hornádom, Slovenský raj, Spišský Hrušov, Holubnica.



Obr. 1 Rébusy
Zdroj: Krajňáková, 2023

Didaktická aktivita: Prešmyčka

Cieľ aktivity: Správne usporiadať poprehadzované písmená.

Postup realizácie aktivity: V úvode učiteľ oboznámi žiakov s cieľom aktivity a jej pravidlami. Nechá žiakom čas na prezretie si pojmov v prešmyčke a správne zoradenie písmen. Následne žiaci hovoria správne riešenia – Blajzloch, Čintky, vápence, Slovenský raj, kambizeme, Hornád, medvede, Klauzy, Brusník, Kačelák.

Obr. 2 Prešmyčka
Zdroj: Krajňáková, 2023

Didaktická aktivita: Kvietok

Cieľ aktivity: Vymenovať geografické pojmy súvisiace s mikroregiónom podľa jednotlivých lupeňov kvietka.

Postup realizácie aktivity: V úvode učiteľ oboznámi žiakov s cieľom aktivity a jej pravidlami. Následne žiaci vymenúvajú geografické pojmy, ktoré súvisia so zadaním v lupeňoch kvietka.

Ako príklady môžeme uviesť:

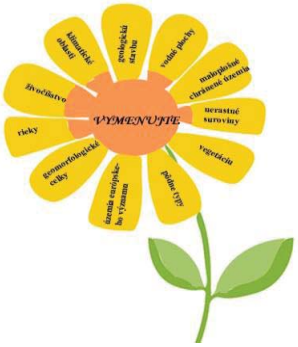
Geomorfologické celky: Hornádska kotlina, Slovenský raj, Volovské vrchy

Klimatické oblasti: mierne chladná, mierne teplá

Rieky: Hornád, Hnilec, Levočský potok, Poráčsky potok, Rudniansky potok, Holubnica, Brusník

Vodné plochy: Blajzloch, Klauzy, Palcmanská Maša

Živočíšstvo: jelene, srnky, diviaky, medvede, vlci, rysy, líšky, jastraby, ďatle, pstruhy



Obr. 3 Kvietok
Zdroj: Krajňáková, 2023

Didaktická aktivita: Čo viem o symboloch?

Cieľ aktivity: Zistiť, čo predstavujú jednotlivé symboly a diskutovať o nich.

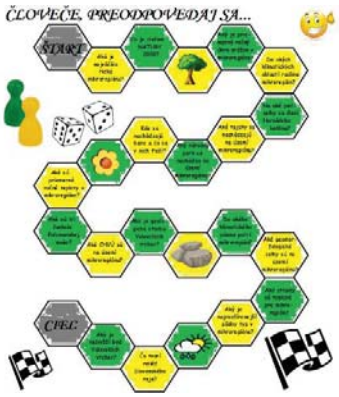
Postup realizácie aktivity: V úvode učiteľ oboznámi žiakov s cieľom aktivity a pravidlami. Najprv žiaci povedia, čo podľa nich jednotlivé pojmy predstavujú. Potom o príslušnej téme spoločne diskutujú a hovoria, čo sa o nej naučili. Žiaci sa môžu aj navzájom dopĺňať. Témami sú: Podnebie, Pôdy, Geologická stavba, Ochrana prírody.

Obr. 4 Čo viem o symboloch?
Zdroj: Krajňáková, 2023

Didaktická aktivita: Človeče, preodpovedaj sa...

Cieľ aktivity: Žiaci sa snažia odpovedaním na otázky dosiahnuť cieľové pole.

Postup realizácie hry: V úvode učiteľ oboznámi žiakov s cieľom aktivity a pravidlami. Hra je určená pre 2 hráčov a potrebné k nej sú hracia kocka a panáčiky. Obaja hráči sa postavia na štartovacie políčko. Začína ten hráč, ktorému na kocke padne väčšie číslo. Po políčkach sa hráči posúvajú podľa toho, aké číslo padne na kocke. Ak hráč správne odpovie na otázku, tak môže tam ostať stáť, v opačnom prípade sa vracia späť na najbližšie políčko s kresleným obrázkom. Ak hráč hodí číslo, ktoré ho posunie na kreslený obrázok, tak odpovedá na otázku, ktorá sa nachádza políčko pred kresleným obrázkom. Ak sa hráč postaví na políčko s otázkou, na ktorú už odpovedal jeho protihráč, tak odpovedá na otázku políčko dopredu. Ten hráč, ktorý príde do cieľa prvý, je víťaz.



Obr. 5 Človeče, preodpovedaj sa
Zdroj: Krajňáková, 2023

5.2 Návrh didaktických aktivít po zopakovaní tematického celku Človek a spoločnosť

Navrhnuté didaktické aktivity sú vhodné po prebratí tematického celku Človek a spoločnosť, ktorého súčasťou sú témy obyvateľstvo, sídla, poľnohospodárstvo a lesné hospodárstvo, priemysel, doprava a služby, cestovný ruch.

Didaktická aktivita: Hádankovo

Cieľ aktivity: Zistiť slová, ktoré sú ukryté v hádankách.

Postup realizácie aktivity: V úvode učiteľ oboznámi žiakov s cieľom aktivity a pravidlami. Žiaci sa snažia zistiť, ktoré pojmy sú ukryté v hádankách.

Riešenia predstavujú pojmy: Markušovský skalný hríb, rómska národnosť, zoologická záhrada v Spišskej Novej Vsi, kaštieľ Betlanovce, Spišská Nová Ves, veža kostola Nanebovzatia Panny Márie.

Obr. 6 Hádankovo
Zdroj: Krajňáková, 2023

Didaktická aktivita: Poskladaj si obrázok

Cieľ aktivity: Poskladať obrázok a popísať, čo je na obrázku.

Postup realizácie aktivity: V úvode učiteľ oboznámi žiakov s cieľom aktivity a pravidlami. Každý žiak má poskladať obrázok, pomenovať, čo je na obrázku a povedať, čo všetko o tom vie. Na obrázku sú časti, ktoré sa týkajú: horný riadok zľava – kaštieľ Markušovce, Embraco, Stála muzeálna expozícia, dolný riadok zľava – Miloj Spiš, Spišská Nová Ves, ľadopád Šikľavá skala.

Obr. 7 Poskladaj si obrázok
Zdroj: Krajňáková, 2023

Didaktická aktivita: Výroky

Cieľ aktivity: Opraviť tvrdenia a vyriešiť rébusy.

Postup realizácie hry: V úvode učiteľ oboznámi žiakov s cieľom aktivity a pravidlami. Vysvetlí im, že v oznamovacích vetách majú nájsť chybu a prečítať ju potom správne. Zároveň majú rozšifrovať slová schované v rébusoch.

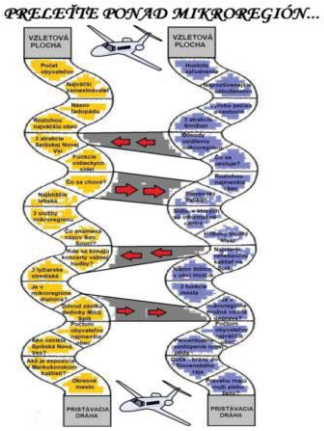
Správne riešenia sú: Rodný dom kpt. Jána Nálepku sa nachádza v obci Smižany. Vo vekovej pyramíde má prevahu obyvateľstvo v produktívnom veku. V blízkosti mikroregiónu leží veľmi významné cirkevné mestečko, ktoré sa označuje aj Slovenský Vatikán. Som najstarší renesančný kaštieľ na Spiši, nazývajú ma aj Korunky.

Obr. 8 Výroky
Zdroj: Krajňáková, 2023

Didaktická aktivita: Preleťte ponad mikroregión

Cieľ aktivity: Žiaci sa snažia odpovedaním na otázky dosiahnuť cieľové pole.

Postup realizácie aktivity: V úvode učiteľ oboznámi žiakov s cieľom aktivity a pravidlami. Tento prelet je vhodný pre dvoch hráčov. K hre budú hráči potrebovať dve figúrky a kocku. Víťazom je ten pilot, ktorý prvý preletí svojím lietadlom ponad celým mikroregión a prvý odparkuje svoje lietadlo na pristávacej dráhe. Každý hráč sa po vzájomnej dohode postaví na jednu vzletovú plochu. Táto hra je zaujímavá aj tým, že niektoré políčka hráčov zavedú aj z cesty a hráči budú musieť letieť po trase iného lietadla. Začína ten hráč, ktorému na kocke padne väčšie číslo. Po hracom poli sa hráči posúvajú po políčkach podľa toho, aké číslo im padne na kocke. Na políčku môže ostať stáť hráč len vtedy, keď správne odpovie na otázku. Ak odpovie nesprávne, tak sa musí vrátiť späť na predošlé políčko, na ktorom stál naposledy. Ak nastane taká situácia, že protihráč už na príslušnú otázku odpovedal, tak hráč odpovedá na otázku, ktorá sa nachádza o jedno políčko vpredu.



Obr. 9 Preleťte ponad mikroregión
Zdroj: Krajňáková, 2023

5.3 Návrh didaktických aktivít v rámci záverečného opakovania

Navrhnuté didaktické aktivity sú vhodné na zopakovanie poznatkov o mikroregióne MAS Miloj Spiš ako z fyzickej, tak aj z humánnej geografie.

Didaktická aktivita: MAS Miloj Spiš kolotoč

Cieľ aktivity: Odpovedať na spolužiakove otázky.

Postup realizácie aktivity: V úvode učiteľ oboznámi žiakov s cieľom aktivity a pravidlami. Najprv si žiaci nachystajú kartičky. Na čisté papieriky napíšu otázky z prebratého učiva o mikroregióne MAS Miloj Spiš. Každý zo žiakov vyrobí 5 takých kartičiek. Žiaci sa rozdelia do dvoch skupín. Jedna bude tvoriť vonkajší kruh a druhá vnútorný kruh. Na pokyn učiteľa (zatlieskanie) sa začne vnútorný kruh pohybovať smerom doprava a vonkajší kruh smerom doľava. Keď učiteľ opäť zatlieska, tak kruhy sa zastavia. Hráči, ktorí budú stáť oproti sebe, si navzájom položia otázky z kartičiek. Potom sa ďalej kruhy roztočia. Hra sa opakuje až kým sa nezodpovedajú otázky zo všetkých kartičiek.

Didaktická aktivita: MAS Miloj Spiš aktivity

Cieľ aktivity: Uhádnuť pojmy z kartičiek.

Postup realizácie aktivity: V úvode učiteľ oboznámi žiakov s cieľom aktivity a pravidlami. Túto hru žiaci hrajú vo dvojiciach. Každá dvojica napíše na kartičky pojmy, ktoré súvisia s mikroregiónom MAS Miloj Spiš. Potom sa žiaci dajú do štvoríc. Hrajú proti sebe dve dvojice. Prvá dvojica hodí hracou kockou a druhá dvojica vysvetľuje pojem z jednej vyrobenej kartičky nasledujúcim spôsobom. Ak na kocke padne číslo 1 alebo 2, na vysvetlenie pojmu využijú pantomímu. Ak padne 3 alebo 4, pojem musia nakresliť. Ak padne číslo 5 alebo 6, pojem musia vysvetliť slovne, samotný pojem však nemôže byť použitý. Prvá dvojica háda, ktorý pojem má druhá dvojica na mysli. Vymedzia si to časom napríklad 1 minútou, potom si úlohy vymenia.

Didaktická aktivita: Zlý sluch v MAS Miloj Spiš

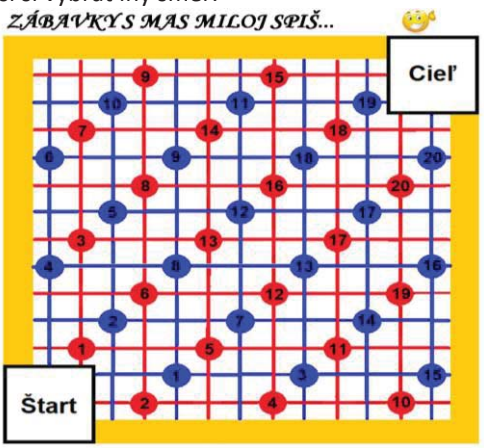
Cieľ aktivity: Zopakovať poznatky o MAS Miloj Spiš.

Postup realizácie aktivity: V úvode učiteľ oboznámi žiakov s cieľom aktivity a pravidlami. Žiaci sedia v kruhu. Jeden zo žiakov sa hrá na nepočujúceho dedka a ostatní žiaci na jeho tlmočníkov. Učiteľ nepočujúcemu dedkovi hovorí nejaké informácie, ktoré súvisia s učivom o mikroregióne. Nepočujúci dedko sa tvári, že nedobre počuje a učivo učiteľovi nesprávne opakuje. Dedkovi tlmočníci mu dovtedy vysvetľujú učivo, kým to nepočujúci dedko nepochopí. Tlmočníci môžu nepočujúcemu dedkovi učivo zopakovať aj päťkrát, vďaka niekoľkonásobnému opakovaniu sa učivo o mikroregióne uloží do ich dlhodobej pamäte.

Didaktická aktivita: Zábavky s MAS Miloj Spiš

Cieľ aktivity: Žiaci sa snažia odpovedaním na otázky dosiahnuť cieľové pole.

Postup realizácie aktivity: V úvode učiteľ oboznámi žiakov s cieľom aktivity a pravidlami. Na hru sú potrebné dve figúrky. Ešte pred začatím hry každý zo žiakov vymyslí na 20 papierikov (očíslovaných od 1-20) 20 otázok o mikroregióne. Následne si žiaci náhodne v triede vymenia kartičky. Túto hru hrajú dvaja hráči. Jeden hráč sa pohybuje po červených políčkach, druhý po modrých (na farbe aj na poradí sa žiaci vopred dohodnú). Víťaz je ten, kto sa prvý dostane do cieľa. Každý z hráčov si vyberie smer, ktorým sa chce dostať do cieľa. Postaví sa na políčko a odpovie na otázku z kartičky s číslom políčka. Ak odpovie správne, môže tam ostať stáť. Ak odpovie nesprávne, vracia sa späť a musí si vybrať iný smer.



Obr. 10 Zábavky s MAS Miloj Spiš
Zdroj: Krajňáková, 2023

V našom článku sme sa venovali didaktickej hre ako kľúčovej vyučovacej metóde pri vyučovaní geografie miestnej krajiny. Tým, že sme navrhli vlastné didaktické aktivity, ktoré sme si mali možnosť aj vyskúšať so žiakmi, tak môžeme skonštatovať, že súhlasíme s autormi ako sú Likavský, Šupka, Hoffman, Labjaková, či mnohí ďalší, ktorí tvrdia, že didaktická hra je veľmi efektívnou vyučovacou metódou a poukazujú na jej veľký význam vo vyučovacom procese. Na základe nadobudnutých teoretických poznatkov počas tvorby článku a ich aplikovaní v praxi sme zistili, že medzi pozitíva didaktických hier určite patrí to, že slúžia k spríjemneniu učiva, motivácii

a aktivizácii žiakov, prispievajú k rozvoji osobnosti žiaka, jeho vedomostí, zručností, schopností, vedú k tréningu sebareflexie a sebaovládania, ponúkajú okamžitú spätnú väzbu umožňujúcu diagnostiku a pod. K nevýhodám môžeme radiť napríklad ich časovú náročnosť. Zistili sme, že veľa pedagógov ich kvôli väčšej príprave a časovej náročnosti do vyučovacieho procesu nezaraďuje. Na základe našich zistení môžeme všetkým pedagógom odporúčať, aby sa nebáli využívať didaktické hry vo vyučovacom procese, pretože didaktická hra je jedným z najvhodnejších prostriedkov motivácie a je výbornou voľbou, ak učiteľ chce vyučovací proces zatraktívniť. Naše výsledky tak majú praktickú hodnotu nielen pre učiteľov základných škôl mikroregiónu MAS Miloj Spiš, ale môžu byť inšpiráciou aj pre pedagógov iných.

Záver

Jedným z hlavných cieľov vyučovania geografie a vlastivedy na školách je naučiť žiakov vnímať miesto, v ktorom žijú, spoznávať ho a vytvoriť si k nemu pozitívny vzťah. Tento cieľ sa dá najlepšie dosiahnuť začlenením vyučovania geografie miestnej krajiny do obsahu výchovno-vzdelávacieho procesu. Jednou z metód, ktorá sa dá využiť pri vyučovaní geografie miestnej krajiny je aj didaktická hra. Rôzne didaktické aktivity totiž posilňujú u žiakov záujem o vyučovanie, podnecujú ich tvorivosť, spoluprácu a súťaživosť.

Hlavným cieľom nášho článku bolo vytvoriť návrhy aktivít pre žiakov základných škôl vo vyučovaní geografie miestnej krajiny v MAS Miloj Spiš, čo sa nám podarilo naplniť vytvorením trinástich didaktických aktivít. Tieto návrhy didaktických aktivít sa stanú aj súčasťou pripravovanej učebnice geografie miestnej krajiny pre základné školy mikroregiónu MAS Miloj Spiš v rámci našej diplomovej práce.

Poďakovanie

Ďakujem mojej školiteľke RNDr. Hilde Kramárekovej, PhD. za jej cenné rady, pomoc, vedenie a podporu pri písaní článku.

Použitá literatúra

[1] KANCÍR, Ján. [online]. pulib.sk: 2013 [cit. 11.2.2023]. Dostupné z: https://www.pulib.sk/web/kniznica/elpub/dokument/kancir1/subor/Kancir.pdf

[2] Štatistický úrad Slovenskej republiky: Datacube [online]. slovak.statistics.sk: 2022 [cit. 11.2.2023]. Dostupné z:http://datacube.statistics.sk/#!/lang/sk

[3] Geomorfologické členenie Slovenska [online]. apl.geology.sk: 2022 [cit. 11.2.2023]. Dostupné z:https://apl.geology.sk/mapportal/img/pdf/tm19a.pdf

[4] Klimatický atlas SR [online]. klimat.shmu.sk: 2022 [cit. 11.2.2023]. Dostupné z: http://klimat.shmu.sk/kas/

[5] KUCHARÍK, Juraj. 2018. Spiš – turistický sprievodca. Bratislava : DAJAMA. ISBN 978-80-8136-082-4.

[6] PÔDNY PORTÁL. Pôdna mapa Slovenska. 1: 400 000. Bratislava: VÚPOP, 2019.

[7] ČEMAN, Róbert. 2010. Slovenská republika – geografický atlas. Nitra: Mapa Slovakia, 88 s. ISBN 978-80-8067-231-7.

[8] Sčítanie obyvateľov domov a bytov [online]. scitanie.sk: 2021 [cit. 13.2.2023]. Dostupné z: https://www.scitanie.sk/

[9] TOLMÁČI, Ladislav. a kol. 2019. Školský geografický atlas Slovensko. 1. vyd. Nitra: Mapa Slovakia Plus, s.r.o., 82 s. ISBN 978-80-8067-324-6.

[10] Ministerstvo životného prostredia Slovenskej republiky [online]. minzp.sk: 2022 [cit. 19.2.2023]. Dostupné z: https://www.minzp.sk/

[11] Národný inštitút vzdelávania a mládeže [online]. nivam.sk: 2023 [cit. 11.2.2023]. Dostupné z: https://nivam.sk/.

[12] ČIŽMÁROVÁ, Katarína. 2000. Didaktika geografie. Banská Bystrica: Univerzita Mateja Bela, 2000. 166 s. ISBN 80-8055-334-3.

[13] MADZIKOVÁ, Alena, KANCÍR, Ján. 2015. Didaktika geografie. Prešov : Prešovská univerzita v Prešove, Fakulta humanitných a prírodných vied, 2015. 198 s. ISBN 978-80-555-1500-7.

[14] LIKAVSKÝ, Peter. 2006. Všeobecná didaktika geografie. Bratislava: Univerzita Komenského v Bratislave, 2006. s. 80. ISBN 80-223-2254-7.

[15] LABJAKOVÁ, Iveta [online]. mpc-edu.sk: 2013 [cit. 11.2.2023]. Dostupné z: https://mpc-edu.sk/sites/default/files/publikacie/i._labjakov__didaktick__hra_vo_vyu_ovan__matematiky_b_prim_rnom_vzdel_van_.pdf

[16] ŠUPKA, Jan a kol. 1993. Didaktika geografie I. Brno: Masarykova univerzita, 1993.

[17] FOLVARČÍKOVÁ, Zuzana [online]. mpc-edu.sk: 2013 [cit. 15.2.2023]. Dostupné z:https://mpc-edu.sk/sites/default/files/projekty/vystup/5_ops_folvarcikova_zuzana__didakticke_hry_a_aktivity_na_hodinach_anglickeho_jazyka.pdf

[18] Ministerstvo školstva, vedy, výskumu a športu Slovenskej republiky [online]. minedu.sk: 2023 [cit.19.2.2023]. Dostupné z:https://www.minedu.sk/data/files/7152_filipkova_didakticke-hry.rtf

Učebnica geografie miestnej krajiny mikroregiónu Bystrická dolina

A textbook of geography of the local landscape of the Bystrická valley microregion

Nina Jakubcová[1]
Školiteľ: Hilda Kramáreková[2]
[1,2]Katedra geografie, geoinformatiky a regionálneho rozvoja,
FPVaI UKF, Tr. A. Hlinku 1, 949 01 Nitra,
[1] nina.jakubcova@student.ukf.sk , [2]hkramarekova@ukf.sk

Abstrakt

Vyučovanie geografie miestnej krajiny je súčasťou vyučovania Regionálnej geografie Slovenska. Na základe Inovovaného štátneho vzdelávacieho programu môžeme konštatovať, že žiaci prichádzajú do styku s touto témou v 3. a 4. ročníku základnej školy na predmete vlastiveda a vo 8. ročníku na predmete geografia. Ďalší priestor na vyučovanie geografie miestnej krajiny nám poskytuje prierezová téma Regionálna výchova a tradičná ľudová kultúra.

Cieľom príspevku je predstaviť pripravovanú učebnicu geografie miestnej krajiny o Bystrickej doline pre základné školy mikroregiónu. V článku sa zameriavame na definíciu učebnice, jej obsah a funkcie. Učebnica má predpoklady skvalitniť výchovno-vzdelávací proces na predmetoch vlastiveda a geografia na základných školách mikroregiónu, môže byť použitá aj pri upevňovaní medzipredmetových vzťahov s predmetmi dejepis, občianska náuka alebo biológia.

Pri tvorbe príspevku sme použili metódy, ako napríklad metódu vysvetľujúceho opisu, terénny výskum, systémovú metódu, ktorou sme článok rozdelili na jednotlivé časti. Pri tvorbe mapy sme využili kartografickú metódu prostredníctvom programu ArcGis 10.1.

Kľúčové slová: učebnica, miestna krajina, mikroregión Bystrická dolina, vyučovanie geografie miestnej krajiny

Abstract

Teaching the geography of the local landscape is a part of teaching the Regional Geography of Slovakia. On the basis of the Innovative State Education Program, we may state that students come across with this topic in the 3rd and 4th grade of primary school in National History and in the 8th grade in the subject of Geography. Another space for teaching Geography of the local country is provided by the cross-curricular topic Regional Education and Traditional Folk Culture.

The aim of the contribution is to present a prepared textbook of geography of the local landscape about Bystrica valley for primary schools of the micro region. In the article, we focus on the definition of the textbook, its content and functions. The textbook has the prerequisites to improve the quality of the educational process in the subjects of Local History and Geography in primary schools of the micro region. It can also be used to strengthen inter curricular relationships with the subjects of History, Civics or Biology.

When writing the paper, we used methods, such as the method of explanatory description, field research, the system method, which we used to divide the article into individual parts. When creating the map, we used the cartographic method through the ArcGis 10.1 program.

Key words: textbook, local landscape, Bystrica valley micro region, teaching the geography of the local landscape

Úvod

Geografia miestnej krajiny je významnou zložkou výchovno-vzdelávacieho procesu na základných školách. Prostredníctvom informácií o nej žiak pochopí vzťahy medzi zložkami krajinnej sféry. Mnohí obyvatelia si vzťah k miestnej krajine vytvorili až v období pandémie COVID-19, ktorá nás na istý čas uväznila v našich regiónoch. U detí je však potrebné vyvíjať a podporovať tento vzťah už od malička, čo môže viesť k prirodzenej ochrane územia a zveľaďovaniu prírody aj z ich strany.

Definície miestnej krajiny sa v učebniciach rôznia. Učebnica vlastivedy pre 3. ročník základných škôl prináša nasledovnú definíciu: „Keď opisujeme obec, jej

okolie, hovoríme o miestnej krajine. Miestnu krajinu môžu tvoriť lesy, rieky, polia, cesty, priemyselné závody a pod.“ [1].

Stotožňujeme sa však s názorom Tutokyovej (2012) [2], ktorá hovorí, že miestna krajina je tá časť reálneho sveta, ktorá nás obklopuje od útleho detstva, ponúka nám možnosti kognitívneho rozvoja, podnety pre emocionálny rozvoj, formovanie názorov, je jednou z tém, ktorú možno efektívne využívať v medzipredmetových vzťahoch.

Učebnica je významná didaktická pomôcka, ktorá je súčasťou výchovno-vzdelávacieho procesu od nepamäti, pomáha učiteľovi riadiť vyučovanie a zefektívňuje ho. Navrhovaná učebnica geografie miestnej krajiny o Bystrickej doline by mala preto spĺňať všeobecné požiadavky, zaužívanú štruktúru, obsah a funkcie.

Cieľom príspevku je predstaviť pripravovanú učebnicu geografie miestnej krajiny o Bystrickej doline pre základné školy mikroregiónu. Ide o originálne dielo, ktoré zahŕňa zrozumiteľný a graficky prehľadný text. Ten bude doplnený o otázky, úlohy a zaujímavosti, ktoré prirodzene podnecujú zvedavosť a motiváciu žiakov. Našou víziou je, aby publikácia slúžila nielen žiakom a učiteľom, ale aj širokej verejnosti, keďže takéto komplexné dielo o Bystrickej doline v učebnicovej podobe neexistuje.

1 Teoreticko-metodické východiská problematiky

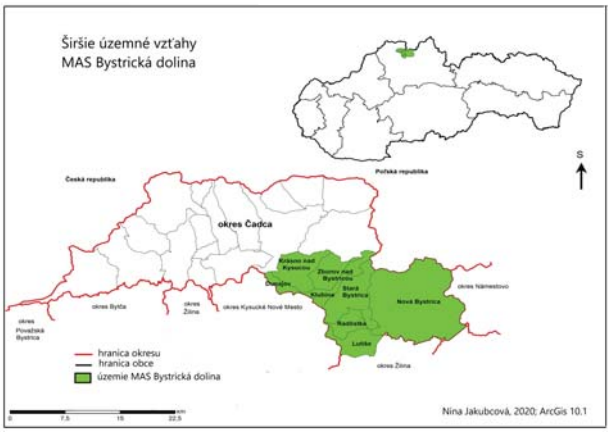
Pri tvorbe článku sme využili viaceré elektronické i printové zdroje informácií.

Definíciu miestnej krajiny, ktorá sa nachádza v učebnici pre 3. ročník základných škôl, sme prebrali z publikácie od Kožuchovej a Matuškovej [1]. Náš názor na miestnu krajinu sa zhoduje s názorom Tutokyovej [2]. Vymedzenie a stručnú charakteristiku mikroregiónu Bystrická dolina sme spracovali na základe informácií zo Štatistického úradu SR [3] a z vlastného článku [4]. Keďže sa pojmy región a krajina často používajú ako synonymá, pojem región sme charakterizovali podľa Bašovského a Lauka [5] a krajinu podľa Drdoša [6]. Definíciu pojmu mikrogeografia sme prebrali z publikácie od Dubcovej a kol. [7]. Predmety vlastiveda a geografia spolu s ich vzdelávacími štandardmi sme uviedli podľa Inovovaného štátneho vzdelávacieho programu (IŠVP) pre 1. a 2. stupeň základných škôl [8, 9]. Podobným spôsobom sme spracovali aj informácie o prierezovej téme Regionálna výchova a tradičná ľudová kultúra [10]. Základné informácie o učebniciach a ich štruktúre sme čerpali z publikácií od Petláka [11] a Tureka [12]. Rozdiel medzi učebnicami a učebnicami geografie nájdeme v publikácii Madzikovej a Kancíra [13]. Pri vzniku našej učebnice sme sa inšpirovali už existujúcimi učebnicami ťažiskovo ako súčastí diplomových prác – napr. Medzihorie – môj malý svet [14], Kraj pod Malými Karpatmi – môj malý svet [15], Kľakovská dolina – môj malý svet [16], Rajecká dolina – môj domov [17], Radošinka – môj malý svet [18] alebo Kraj okolo Duchonky – môj malý svet [19], resp. Mikroregión Horné Kysuce [20], v ktorom autorka spracovala jedno z území regiónu Kysuce, v ktorom sa nachádza aj náš mikroregión.

Pri vypracovávaní článku sme využili najmä metódu zberu a triedenia informácií z printových a elektronických zdrojov, ako aj metódu vysvetľujúceho opisu, ktorá je dôležitá pri tvorbe učebného textu. Zozbierané dáta sme doplnili aj vlastným terénnym výskumom. Používanie kartografickej metódy bolo dôležité pri vyhotovení mapy prostredníctvom geografického informačného systému ArcGis 10.1. Dôležitou súčasťou práce je systémová metóda, ktorá zabezpečuje logickú nadväznosť príspevku a jeho rozpracovanie do kapitol a podkapitol.

2 Vymedzenie a stručná charakteristika mikroregiónu Bystrická dolina

MAS Bystrická dolina leží vo východnej časti regiónu Kysuce. Tvorí ju 7 vidieckych obcí (Dunajov, Zborov nad Bystricou, Klubina, Stará Bystrica, Nová Bystrica, Radôstka, Lutiše) a jedno mesto (Krásno nad Kysucou), ktoré sú súčasťou občianskeho združenia MAS Bystrická dolina (mapa 1). V mikroregióne aktuálne žije 17 515 obyvateľov (k 1.1.2021) na ploche 302,08 km^2, pri hustote 57,98 obyvateľov/ km^2 [3].



Mapa 1 Poloha mikroregiónu Bystrická dolina
Zdroj: [4]

Územie patrí do Žilinského kraja a v rámci neho do okresu Čadca. Mikroregión má dobrú dopravnú dostupnosť. Prechádza ním významná európska cesta E75, ktorá spája krajské mesto Žilina s hraničným prechodom Svrčinovec do Českej republiky. Zároveň sa táto cesta napája pred okresným mestom Čadca na už dokončenú diaľnicu D3. Ďalším dopravným spojením je cesta II. triedy 520, ktorá spája regióny Orava a Kysuce a prechádza celým územím Bystrickej doliny. Železničná trať je vybudovaná len v obci Dunajov a Krásno nad Kysucou. To je aj jedným z dôvodov, prečo obyvatelia viac využívajú osobnú a autobusovú dopravu. Z hľadiska geomorfologických celkov do územia zasahujú Javorníky, Kysucké Beskydy a Kysucká vrchovina. Bystrická dolina sa rozprestiera v 2 klimatických oblastiach, pričom sever a východ územia patrí do chladnej klimatickej oblasti, západ a juh do mierne teplej klimatickej oblasti. Územím pretekajú 3 väčšie vodné toky – rieka Kysuca, Bystrica a potok Vychylovka. Z pôdneho hľadiska prevládajú kambizeme na flyši a v okolí riek fluvizeme. Z fytogeograficko-vegetačného hľadiska patrí Bystrická dolina do bukovej zóny, flyšovej podzóny, do oblasti Kysucká vrchovina. Vývoj počtu obyvateľov nie je priaznivý, pretože v posledných 5-tich rokoch len klesá. Bystrická dolina je pre mladších obyvateľov z pracovného hľadiska neatraktívna, čo spôsobuje ich emigráciu do väčších miest, kde je lepšia aj občianska vybavenosť. V primárnom sektore hospodárstva dominuje poľnohospodárstvo a lesné hospodárstvo. Najviac ekonomicky aktívnych obyvateľov Bystrickej doliny pracuje v priemyselnej výrobe, resp. v drevospracujúcom priemysle. Mikroregión má dostatočne rozvinuté služby. V každej obci sa nachádza materská škola so základnou školou. Stredná škola sa nachádza v meste Krásno nad Kysucou. Zariadenia zdravotnej starostlivosti nájdeme v obciach Stará Bystrica, Nová Bystrica, Zborov nad Bystricou a v meste Krásno nad Kysucou, kde sa nachádza poliklinika [4].

3 Výsledky

3.1 Vyučovanie geografie miestnej krajiny

Geografia miestnej krajiny je v niektorých prípadoch nahrádzaná pojmami ako miestny región alebo miestna oblasť. Zo subjektívneho hľadiska je možné tieto pojmy považovať za synonymá, ale čo sa týka objektívneho hľadiska, je potrebné ich rozlišovať. Región ako objekt skúmania regionálnej geografie je chápaný ako zložitý dynamický, priestorový systém, ktorý vznikol na zemskom povrchu na základe interakcie prírodných a socioekonomických javov. Je výsledkom procesu regionalizácie, t. j. členenia územia na regióny na základe určitého hľadiska, vyjadrujúceho účel regionalizácie [5]. Krajinu možno chápať ako prírodný a kultúrny jav; materiálny a duchovný priestor človeka; polarizovaný objekt záujmu človeka (človek – príroda); objekt študovaný z komplexného hľadiska; výskumný priestor vyžadujúci prierezovú spoluprácu [6]. S miestnou krajinou súvisí aj odvetvie geografie – mikrogeografia, t. j. moderná regionálna geografia miestnej krajiny. Mikrogeografiu miestnej krajiny chápeme ako komplexnú (regionálnu) geografiu územia na lokálnej úrovni (na úrovni obce/obcí) [7].

V súčasnej dobe sa geografia miestnej krajiny začína vyučovať v 3. a následne aj 4. ročníku základnej školy na predmete vlastiveda a pokračuje vo 8. ročníku na predmete geografia v tematickom celku Slovensko – naša vlasť, konkrétne v téme Projekt Slovensko a miestna krajina. Následne sa s jej výučbou pokračuje aj na stredných školách – ťažiskovo na gymnáziách v 3. ročníku (tematicky celok Slovensko) i na niektorých vysokých školách, ktoré majú fakulty prírodných vied, napr. UKF v Nitre, UMB v Banskej Bystrici alebo UPJŠ v Košiciach.

Vzdelávanie sa považuje za úspešné ak sú dosiahnuté vzdelávacie ciele. Tie sú sformulované ako požiadavky v sekcii Vzdelávacie štandardy v Inovovanom štátnom vzdelávacom programe (IŠVP). Vzdelávacie štandardy pomáhajú učiteľovi zorientovať sa v tom, čo má žiaka naučiť, resp. čo sa očakáva, že žiak bude vedieť. Delíme ich na obsahové a výkonové.

Vlastiveda ako predmet sa začína plnohodnotne vyučovať v 3. a následne vo 4. ročníku základnej školy prostredníctvom tematického celku Moja obec. Tá je obsahovo naplnená emotívnym (dobrodružným) poznávaním, pozorovaním a hodnotením javov a celkovo dojmami z vlastnej obce (okolie školy) v časových premenách jednotlivých ročných období (aj s aspektom starostlivosti o bezpečnosť a zdravie). Nezastupiteľná je vlastivedná vychádzka, ktorá má motivačno-heuristický charakter [8]. Podľa výkonového vzdelávacieho štandardu by mal žiak na konci 3. ročníka vedieť napríklad:

- napísať presný názov svojej obce,
- zaradiť obec, kde býva, medzi mestá alebo dediny,
- identifikovať svetové strany v krajine,
- orientovať sa v okolí školy a bydliska,
- opísať spôsob života obyvateľov obce, iné v meste, iné na dedine, ako sa starať o svoje okolie, ako tráviť voľný čas [8].

Vo vzdelávacom štandarde geografie pre 8. ročník základných škôl (ZŠ) je miestna krajina zaradená ku Geografii Slovenska, v rámci témy Projekt Slovensko a miestna krajina. Na konci 8. ročníka by mal žiak podľa výkonového vzdelávacieho štandardu vedieť napríklad:

- identifikovať na mape najväčšie pohoria, nížiny a kotliny Slovenska i svojej obce,
- vymedziť a porovnať podľa mapy povodia najväčších slovenských riek,
- v tematickej mape rozlíšiť oblasti s vysokým výskytom zdrojov podzemnej vody,
- uviesť päť typických rastlinných a živočíšnych druhov žijúcich v jednotlivých vegetačných stupňoch,
- zdôvodniť rozmiestnenie národností na území Slovenska,
- na základe tematickej mapy vytvoriť zoznam desiatich najľudnatejších miest Slovenska,
- vymedziť na mape administratívneho členenia Slovenska hranice jednotlivých krajov (VÚC) a určiť ich hlavné mestá [9].

Podrobnejší obraz o vyučovaní miestnej krajiny na druhom stupni ZŠ nám prináša vzdelávací štandard prierezovej témy Regionálna výchova a tradičná ľudová kultúra. Tá obsahuje tri tematické celky, z ktorých sa miestnej krajine venuje špeciálne jeden z nich (Môj rodný kraj). Vzhľadom na to, že učebnice geografie pre základné školy neposkytujú dostatočný priestor na preberanie učiva o miestnej krajine do hĺbky, má učiteľ možnosť využiť práve túto prierezovú tému.

Cieľom zaradenia prierezovej témy do vyučovania je vytvárať u žiakov predpoklady na pestovanie a rozvíjanie citu ku krásam svojho regiónu, prírody, staviteľstva, ľudového umenia a spoznávanie kultúrneho dedičstva našich predkov [10]. Keďže obsahuje aj témy o prírode či kultúrnom dedičstve, je možné ju použiť aj na predmetoch biológia a dejepis.

Podľa Štátneho pedagogického ústavu (ŠPÚ) obsahuje 15 tém, z ktorých primárne sú pre nás zaujímavé napr. nasledovné:

- moja rodina,
- škola a jej okolie,
- obec, mesto, v ktorom žijem,
- tradičné regionálne zvyky a tradície,
- kultúrne pamätihodnosti, monumenty mesta, obce,
- náučné chodníky v regióne [10].

3.2 Základné informácie o učebnici ako didaktickom prostriedku

Učebnica alebo školská kniha obsahuje didaktické spracovanie učiva vymedzené učebnými osnovami a je základným didaktickým prostriedkom pri realizácii výchovno-vzdelávacieho procesu [11].

Pod pojmom učebnica rozumieme didaktický text, ktorý prezentuje učivo s cieľom jeho osvojenia si žiakmi. Učebnica má vychádzať z učebných osnov, konkretizovať to, čo učebné osnovy predpisujú. Učebnica zohráva rozhodujúcu úlohu vo vyučovacom procese, je najdôležitejšou učebnou pomôckou pre žiakov a oporou práce učiteľa [12].

V porovnaní s učebným plánom a učebnými osnovami sa uplatňujú aj ďalšie zásady, napr. zásada názornosti – obrázky, schémy, typy písma; zásada trvácnosti – systém úloh a cvičení pre samostatnú prácu, zásada uvedomelosti a aktivity – žiaci pristupujú k učebnej činnosti uvedomele a vlastnou aktívnou činnosťou získavajú nové vedomosti, spôsobilosti, zručnosti a návyky, zásada primeranosti – obsah a rozsah učiva sú prispôsobené biologicko-psychologickým schopnostiam žiakov, zásada systematickosti – logicky usporiadaný didaktický systém učiva so zreteľom na vekové osobitosti žiakov [11].

3.2.1 Obsah učebnice

Spracovanie vedeckých poznatkov a faktov do reči učebnice je pre autora mimoriadne zložité. Okrem toho, že musí zohľadňovať vekové osobitosti žiakov, je veľmi dôležité, aby učebnicu spracovával v súlade so ŠVP. Každá učebnica musí mať svoju štruktúru, ktorú môžeme vidieť v schéme 1.

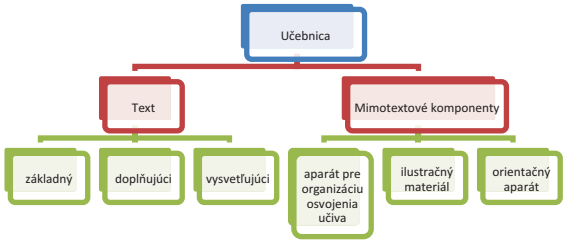


Schéma 1: Štruktúra učebnice
Zdroj: [11]

Najdôležitejšiu štruktúrnu zložku učebnice tvorí text. Ten je zložený zo slov a viet, ktoré vytvárajú odseky, podkapitoly a kapitoly. Text by mal spĺňať niekoľko požiadaviek, ako sú napríklad jasnosť, zrozumiteľnosť, primeranosť veku žiakov a iné.

Základný text obsahuje učivo, ktoré je v súlade s učebnými osnovami. Tvoria ho najmä fakty, pojmy, zákony, teórie, princípy a pravidlá, metódy a postupy práce. Funkciu základného textu v niektorých vyučovacích predmetoch, najmä technických a prírodovedných, môžu mať aj ilustrácie (výkresy, schémy, obrázky,...). Doplňujúci text slúži na upevnenie a prehĺbenie učiva obsiahnutého v základnom texte. Umožňuje realizovať diferencovaný a individuálny prístup k žiakom, prehlbuje vedeckosť a emocionálny dosah učebnice. Doplňujúci text tvoria dokumenty, štatistické informácie, tabuľky a iné. Vysvetľujúci text sa využíva najmä pri samostatnom štúdiu žiakov. Tvoria ho poznámky a vysvetlivky, komentáre k schémam, diagramom a grafom, súhrnné tabuľky vzorcov,... [12].

Aparát pre organizáciu osvojenia učiva obsahuje rôzne otázky, grafy či tabuľky. Obrázky, ilustrácie, schémy, náčrty tvoria ilustračný materiál učebnice. Orientačný aparát zahŕňa úvody, obsah, typy písma, menné a vecné registre a iné.

Učebnice geografie sa mierne odlišujú od učebníc ostatných predmetov. Ich základ tvoria geografické poznatky. Výkladový text s geografickým obsahom nie je všetko, čo robí učebnicu geografie inou od ostatných. Spoločným znakom geografických učebníc je vysoký plošný podiel neverbálnych geografických informácií - mapy, grafy, tabuľky [13].

3.2.2 Funkcie učebnice

Funkcie učebníc nemajú vymedzené presné delenie. Podľa Petláka [11] sa funkcia učebníc často redukuje len na jej vzdelávaciu funkciu. Dôležité sú však aj iné funkcie, ktoré ovplyvňujú priebeh a výsledky učebnej činnosti žiakov:

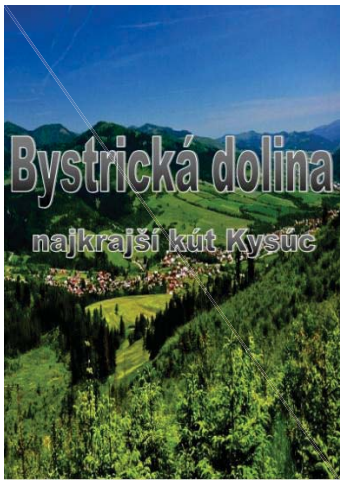
a) motivačná – dobre spracovaná kniha vzbudzuje záujem, učiaci po nej siaha so záujmom,
b) komunikačná – rozvíja slovnú zásobu, učiaci sa s knihou „pracuje“, t. j. podčiarkuje text, dotvára a prispôsobuje si ho,
c) regulačná – učivo je členené do častí podľa logickej nadväznosti,
d) aplikačná – obsahuje námety na využitie učiva v praxi, uvádza príklady zo života,
e) integračná – neobmedzuje sa len na svoj predmet, ale odkazuje aj na iné predmety (medzipredmetové vzťahy), vedie ku komplexnejšiemu poznávaniu predmetov a javov,
f) inovačná – podáva najnovšie poznatky vedy a techniky, avšak vzhľadom na to, že tieto rapídne pribúdajú a z ekonomických a technických príčin nie je možné ihneď vydávať nové učebnice a knihy, je úlohou učiteľa sústavne ich obsah inovovať,
g) kontrolná a usmerňujúca – učiaci sa využíva text, kontrolné otázky a úlohy na vlastnú kontrolu, ide tu o spätnú väzbu, zisťuje, čo pochopil a čo nie, opätovne si opakuje učivo,
h) rozvíjajúca a výchovná – text pomáha žiakovi rozvíjať si schopnosti či vytvárať postoje.

Okrem uvedených funkcií sú na učebnice kladené aj určité požiadavky, ako sú vedeckosť, zhoda s učebnými osnovami, tematická usporiadanosť, možnosť individuálneho učenia, rozvíjanie kognitívnych schopností, využívanie medzipredmetových vzťahov, jazyková správnosť a primeraná grafická, estetická úprava.

4 Učebnica mikroregiónu Bystrická dolina

Tvorba učebnice je dlhý a zložitý proces. Napriek tomu sme sa rozhodli vytvoriť originálnu učebnicu mikroregiónu Bystrická dolina, keďže dosiaľ tak nikto neurobil. Na základe pripravených ukážok z učebnice sme sa z rozhovoru s predsedom MAS Bystrická dolina PhDr. Jurajom Hlavatým dozvedeli, že o takéto dielo by bol veľký záujem.

Na obrázku 1 je zobrazená obálka pripravovanej učebnice o geografii miestnej krajiny.



Obrázok 1: Obálka učebnice
Zdroj: vlastná tvorba

Učebnica je obsahovo rozdelená do 4 tematických celkov: 1. Poloha a vymedzenie, 2. Príroda (geologická stavba, povrch, podnebie a počasie, vodstvo, pôdy, rastlinstvo a živočíšstvo, ochrana prírody, opakovanie),

3. Obyvateľstvo a jeho aktivity (história obcí mikroregiónu, obyvateľstvo, jeho pohyb a štruktúry, sídla, hospodárstvo, doprava a služby, cestovný ruch, kvalita životného prostredia, opakovanie). Posledný 4. tematický celok Spoznávame mikroregión v teréne obsahuje návrhy aktivít a projektov pre žiakov a učiteľov.

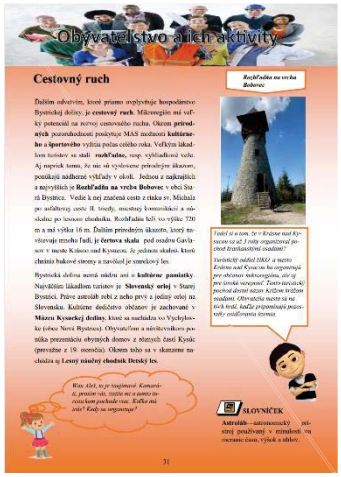
V prvom tematickom celku definujeme základnú polohu mikroregiónu v rámci kraja a okresu (obrázok 2). Zároveň rozdeľujeme sídla územia na mestské a vidiecke, charakterizujeme dopravnú dostupnosť a vznik mikroregiónu.

Obrázok 2: Stránka z učebnice, kapitola Poloha a vymedzenie/6
Zdroj: vlastná tvorba

Druhý tematický celok sa zaoberá prírodou Bystrickej doliny (obrázok 3). Vzhľadom na jeho rozsiahlosť sme vybrali jednu tému – Vodstvo. V nej charakterizujeme riečnu sieť Bystrickej doliny, povrchové (tečúce, stojaté) i podpovrchové vody.

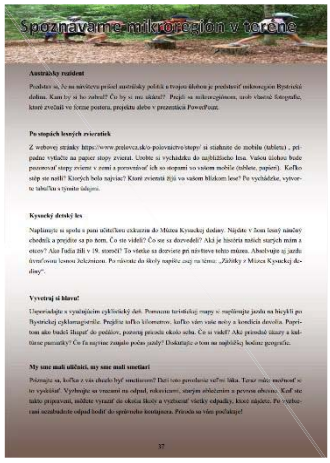
Obrázok 3: Stránka z učebnice, kapitola Príroda/13
Zdroj: vlastná tvorba

V rámci kapitoly Obyvateľstvo a jeho aktivity sme vybrali tému o cestovnom ruchu mikroregiónu (obrázok 4), keďže práve ten má najvyššie predpoklady na rozvoj územia. V nej uvádzame prírodné pozoruhodnosti, ako aj možnosti kultúrneho a športového vyžitia počas celého roka.



Obrázok 4: Stránka z učebnice, kapitola Obyvateľstvo a jeho aktivity/31
Zdroj: vlastná tvorba

Posledná 4. kapitola (obrázok 5) je pre učebnicu geografie miestnej krajiny špecifická, pretože obsahuje návrhy aktivít pre učiteľov a žiakov, ktoré môžu realizovať v okolí školy. Pri jej tvorbe sme sa zamerali jednak na rozvoj prezentačných schopností žiakov, ale aj na podporu ich fyzickej kondície. V kapitole môžete nájsť 5 aktivít.



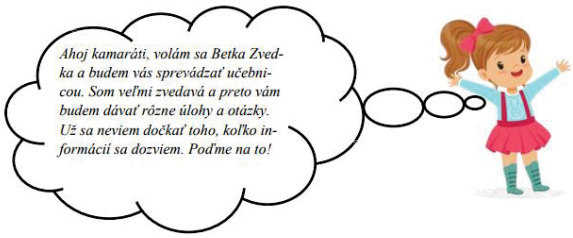
Obrázok 5: Stránka z učebnice, kapitola Spoznávame mikroregión v teréne/37
Zdroj: vlastná tvorba

Prvá z nich s názvom Austrálsky rezident poskytuje žiakom priestor na tvorbu projektu, v ktorom predstavia mikroregión Bystrická dolina. Jej súčasťou je aj tvorba vlastných fotografií, čo núti žiakov vyjsť do terénu. Druhá aktivita má názov Po stopách lesných zvieratiek. Jej podstatou je usporiadanie školskej vychádzky do najbližšieho lesa a prostredníctvom pripravených stôp lesných zvierat (na papieri, v tablete, mobile) identifikovať ich výskyt v Bystrickej doline. Tretia aktivita sa týka exkurzie do Múzea Kysuckej dediny vo Vychylovke, v ktorom sa nachádza náučný chodník Kysucký detský les. Počas nej budú žiaci nielen na čerstvom vzduchu, ale dozvedia sa aj množstvo informácií o histórii, prírode a kultúre mikroregiónu. Štvrtá aktivita má preveriť fyzickú kondíciu žiakov, keďže v nej majú spolu s učiteľmi usporiadať cyklistický deň na Bystrickej cyklomagistrále. Zároveň žiaci budú rozvíjať zručnosti pri práci s turistickou mapou. Výsledkom tejto aktivity bude diskusia o tom, čo žiaci počas tohto dňa videli (prírodné úkazy, kultúrne pamiatky). Posledná aktivita mnohých prenesie do útleho detstva, kedy väčšina z nich chcela byť smetiarmi. Počas realizácie tejto aktivity si to budú môcť vyskúšať, keďže sa týka zberu odpadu v okolí školy.

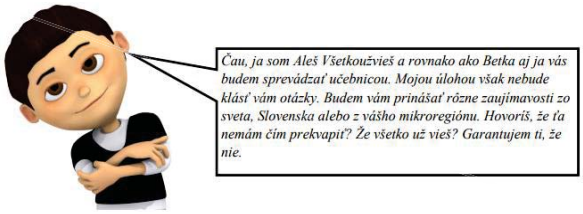
Každá téma učebnice obsahuje základný text (napr. vznik mikroregiónu, najväčšie vodné toky, prírodné úkazy), doplňujúci text, v ktorom je slovníček pojmov, ktoré si žiaci musia osvojiť, resp. si prostredníctvom neho tieto pojmy zopakujú (vodný tok, astroláb, mikroregión) a úlohy na opakovanie. Zhrnutie učiva na konci každej témy prezentuje vysvetľujúci text učebnice.

V učebnici sa nachádzajú aj mimotextové zložky, napríklad obrázok vodomernej stanice, vodnej nádrže a mapa vodných tokov Bystrickej doliny.

Súčasťou každej kapitoly sú Betka Zvedka (obrázok 6) a Aleš Všetkoužvieš (obrázok 7), ktorí žiakom poskytujú priestor na ich realizáciu alebo uspokojujú ich zvedavosť. Ich text taktiež definujeme ako doplňujúci.



Obrázok 6: Betka Zvedka
Zdroj: online obrázky z Publisher-a



Obrázok 7: Aleš Všetkoužvieš
Zdroj: online obrázky z Publisher-a

Sme toho názoru, že učebnica geografie miestnej krajiny, ktorú sme navrhli, bude prispievať k utvrdeniu a obohateniu poznatkov žiakov o ich blízkom okolí. Vzhľadom na názory autorov publikácií [11, 12, 13] si myslíme, že naša pripravovaná učebnica spĺňa všetky predpoklady, aby sa stala plnohodnotnou a použiteľnou publikáciou v mikroregióne.

Učebnica je pripravovaná v súlade s Inovovaným štátnym vzdelávacím programom, boli v nej dodržané zásady tvorby učebnice a jej všeobecná štruktúra. Vlastným prínosom učebnice sú aj sprievodcovia ňou - postavičky Betka Zvedka a Aleš Všetkoužvieš, ktorí podporujú motiváciu žiakov k osvojeniu si učiva.

Pri práci s učebnicou geografie miestnej krajiny mikroregiónu Bystrická dolina odporúčame učiteľom využívať najmä sekciu Bomba úlohy pre múdre hlavičky, ktorá podporuje kognitívne myslenie žiakov a taktiež v mnohých prípadoch rozvíja ich technické zručnosti. Samozrejmosťou je aj využitie poslednej kapitoly Spoznávame mikroregión v teréne, ktorá má za úlohu zdokonaliť samostatnú prácu žiakov, prezentačné schopnosti, fyzickú zdatnosť a v neposlednom rade aj sociálne väzby medzi nimi.

Záver

Vyučovanie geografie miestnej krajiny významným spôsobom prispieva k oboznámeniu žiakov s geografiou mikroregiónu a vytvára pozitívny vzťah žiakov nielen k prírode ako takej, ale aj k miestu ich bydliska.

Príspevkom sme chceli poukázať na dôležitosť edukácie o krajine, ktorá je žiakom najbližšia. V minulosti, keď ľudia nepoznali cestovanie, sa väzby medzi človekom a krajinou tvorili prirodzene. V súčasnosti je nutné ich u ľudí vytvárať a upevňovať aj prostredníctvom vyučovania v školách.

To sú tiež dôvody vzniku učebnice ako zdroja potrebných i zaujímavých informácií nielen pre žiakov, ale aj pre širokú verejnosť. Zároveň veríme, že sa stane

ďalším propagačným materiálom mikroregiónu Bystrická dolina.

Poďakovanie

Moje poďakovanie patrí RNDr. Hilde Kramárekovej, PhD., ktorá mi poskytla cenné rady a odbornú pomoc pri písaní článku.

Použitá literatúra

[1] KOŽUCHOVÁ, Mária - MATUŠKOVÁ, Renáta. 2018. Vlastiveda pre 3. ročník základných škôl. Prievidza : Patria I., 64 s. ISBN 978-80-85674-54-5

[2] TUTOKYOVÁ, Mária. 2012. „Krok za krokom po regióne“ – Pracovné listy na vyučovanie regionálnej výchovy [online]. Bratislava: Metodicko-pedagogické centrum [cit. 1.3.2023]. Dostupné z: https://archiv.mpc-edu.sk/sites/default/files/projekty/vystup/2_ops_tutokyova_maria_-_krok_za_krokom_po_regione_-_pracovne_listy_na_vyucovanie_regionalnej_vychovy.pdf

[3] DATACUBE [online]. Bratislava: Štatistický úrad SR, 2023 [cit. 6.3.2023]. Dostupné z: https://datacube.statistics.sk/

[4] JAKUBCOVÁ, Nina. 2022. Poznáte Bystrickú dolinu? (exkurzia ako organizačná forma vyučovania geografie miestnej krajiny). In Študentská vedecká konferencia 2022. Banská Bystrica, Nitra : FPV UMB v Banskej Bystrici, FPVaI UKF v Nitre, s. 328-335. ISBN 978-80-557-1984-9

[5] BAŠOVSKÝ, Oliver – LAUKO, Viliam. 1990. Úvod do regionálnej geografie. Bratislava : Slovenské pedagogické nakladateľstvo, 118 s. ISBN 80-0800-27-86

[6] DRDOŠ, Ján. 1999. Geoekológia a environmentalistika, 1. časť: Krajinná ekológia – geoekológia, krajina, životné prostredie. Prešov : Prešovská univerzita v Prešove, 152 s. ISBN 80-8872-26-91

[7] DUBCOVÁ, Alena a kol. 2012. Mikrogeografia – krajina okolo nás. Nitra : FPVaI UKF v Nitre, 185 s. ISBN 978-80-558-0112-4

[8] Inovovaný štátny vzdelávací program pre 1. stupeň ZŠ – Vlastiveda [online]. Bratislava: Štátny pedagogický ústav, 2023 [cit. 1.3.2023]. Dostupné z: https://www.statpedu.sk/files/articles/dokumenty/inovovany-statny-vzdelavaci-program/vlastiveda_pv_2014.pdf

[9] Inovovaný štátny vzdelávací program pre 2. stupeň ZŠ – Geografia [online]. Bratislava : ŠPÚ, 2023 [cit. 6.3.2023]. Dostupné z: https://www.statpedu.sk/files/articles/dokumenty/inovovany-statny-vzdelavaci-program/geografia_nsv_2014.pdf

[10] Prierezové témy – Regionálna výchova a tradičná ľudová kultúra [online]. Bratislava: Štátny pedagogický ústav, 2023 [cit. 1.3.2023]. Dostupné z: https://www.statpedu.sk/files/articles/dokumenty/statny-vzdelavaci-program/regionalna_vychova.pdf

[11] PETLÁK, Erich. 2016. Všeobecná didaktika. Bratislava : IRIS, 322 s. ISBN 978-80-8153-064-7

[12] TUREK, Ivan. 2008. Didaktika. Bratislava : Iura Edition, 598 s. ISBN 978-80-8078-198-9

[13] MADZIKOVÁ, Alena – KANCÍR, Ján. Didaktika geografie. Prešov : Prešovská univerzita v Prešove, 2015, s. 94-95. ISBN 978-80-555-1500-7

[14] ZAJAČKOVÁ, Kristína. 2022. Vyučovanie geografie miestnej krajiny v mikroregióne Medzihorie (návrh učebnice pre základné školy) : diplomová práca. Nitra : UKF, 120s.

[15] SILNÁ, Kristína. 2021. Vyučovanie geografie miestnej krajiny v MAS Malokarpatské partnerstvo (návrh učebnice pre základné školy) : diplomová práca. Nitra : UKF, 95 s.

[16] LÁSKOVÁ, Kristína. 2020. Vyučovanie geografie miestnej krajiny v mikroregióne Kľakovská dolina (návrh učebnice) : diplomová práca. Nitra : UKF, 89 s.

[17]ÚRADNÍKOVÁ, Katarína. 2017. Vyučovanie geografie miestnej oblasti v Združení obcí Rajecká dolina (návrh učebnice pre základné školy) : diplomová práca. Nitra : UKF, 101 s.

[18] PEŇAŠKO, Marek. 2016. Vyučovanie geografie miestnej oblasti v OZ Radošinka (návrh učebnice pre základné školy) : diplomová práca. Nitra : UKF, 62 s.

[19] HAUPTVOGELOVÁ, Dáša. 2018. Vyučovanie geografie miestnej krajiny v MAS SOTDUM (návrh učebnice pre základné školy) : diplomová práca. Nitra : UKF, 89 s.

[20] HEGLASOVÁ, Ivana. 2019. Učebnica geografie miestnej krajiny mikroregiónu Horné Kysuce : diplomová práca. Nitra : UKF, 91 s.

Návrhy terénneho vyučovania geografie miestnej krajiny v Miestnej akčnej skupine Termál

Geography Field Teaching Proposals in the Local Landscape of LAG Termal

Stela Boriková[1]
Školiteľ: Hilda Kramáreková[2]
[1,2]Katedra geografie, geoinformatiky a regionálneho rozvoja,
FPVaI UKF, Tr. A. Hlinku 1, 949 01 Nitra,
[1]stela.borikova@student.ukf.sk, [2]hkramarekova@ukf.sk

Abstrakt

Nezastupiteľnou formou propagácie územia je aj geografické vzdelávanie. Súčasťou geografického vzdelávania je i terénne vyučovanie, ktoré môže byť pre žiakov efektívnym spôsobom spoznávania miestnej krajiny.

Cieľom článku je na báze stručnej geografickej charakteristiky územia predstaviť jednak zistenia, akým spôsobom učitelia informujú žiakov o miestnej krajine v MAS Termál, ako aj ponúknuť spôsoby možného vyučovania, resp. spoznávania miestnej krajiny formou terénneho vyučovania.

Pri tvorbe príspevku sme využili metódu vysvetľujúceho opisu, terénny výskum, komparačnú metódu, dotazník, štatistickú a systémovú metódu. Jednotlivé prírodné i kultúrno-historické zaujímavosti sú vizualizované vo forme obrázkov, resp. máp.

Kľúčové slová: MAS Termál, vyučovanie, exkurzia, turistika, cykloturistika

Abstract

Geographical education is also an irreplaceable form of territory promotion. A part of geographical education is field teaching, which can be an effective way for students to get to know the local landscape.

The aim of the article is to present, on the basis of a brief geographical characterization of the territory, the findings of how teachers inform pupils about the local landscape in LAG Termál, as well as to offer methods of possible teaching, or getting to know the local landscape in the form of field teaching.

While creating the paper, we used the methods of explanatory description, field research, comparative method, questionnaire, statistical and system method. Various natural and cultural-historical peculiarities are visualized by means of pictures or maps.

Key Words: LAG Termal, teaching, field trip, hiking, bicycle tours

Úvod

Mikroregión TERMÁL je jedným z najnavštevovanejších temálnych kúpalísk a wellnes na Slovensku. Mikroregión je dobrovoľné združenie miest a obcí a miestna akčná skupina (skratka „MAS“) je partnerstvo zástupcov verejného, súkromného a občianskeho sektora, ktoré fungujú na princípoch LEADER [8]. Územie je príťažlivé nielen pre domácich, ale aj zahraničných turistov, ktorí ho navštevujú najmä kvôli termálnej vode [1].

Zoskupenie sa 13 obcí do združenia im výrazne pomohlo v rozvoji. Hoci najznámejšou atrakciou mikroregiónu je termálne kúpalisko a wellnes (Aquamarin) v Podhájskej, v každej obci sa nachádzajú pozoruhodnosti, ktoré pomáhajú rozvoju cestovného ruchu i spoločnej propagácii územia.

Nezastupiteľné miesto v spoločnosti má školstvo, keďže je jedným z východiskových faktorov rozvoja spoločnosti [2]. V deviatich obciach mikroregiónu sa nachádzajú základné školy, väčšinou plnoorganizované. Súčasťou ich edukačného procesu sú aj predmety vlastiveda, geografia, resp. prierezové témy ako napr. regionálna výchova a tradičná ľudová kultúra alebo environmentálna výchova. Preto cieľom príspevku bolo prostredníctvom dotazníka zistiť, akým spôsobom učitelia informujú žiakov o miestnej krajine, ako aj ponúknuť spôsoby možného vyučovania, resp. spoznávania miestnej krajiny formou terénneho vyučovania (napr. exkurzia, vychádzka), ale aj prostredníctvom pešej turistiky i cykloturistiky.

1 Teoreticko-metodické východiská problematiky

Pri spracovaní článku sme preštudovali viacero informačných zdrojov.

V úvode sme využili stránku Leader NSK [1] a publikáciu od Križana [2]. V kapitole o stručných geografických informáciách sme charakteristiku a význam mikroregionálnych združení čerpali z článku od Pustej [3]. Základné informácie o území sme spracovali na základe článkov od Oremusovej a kol. [4] a Némethovej a kol. [5], z dokumentu Program hospodárskeho a sociálneho rozvoja Združenia obcí Termál na roky 2014-2020 [6], z monografie o mikroregióne od Oremusovej [7] a bakalárskej práce Borikovej [8]. Definíciu MAS sme prebrali zo stránky www.arr.sk [9] a údaje o rozlohe a obyvateľstve z webovej stránky Štatistického úradu SR [10]. Územie sme zaradili do klimatickej oblasti podľa mapy od Kočického a Ivaniča [11].

Pri vypracovaní tretej kapitoly a jej podkapitol sme tiež využili rôzne printové a elektronické zdroje. Charakteristiku vzdelávania sme prebrali z publikácií od Madzikovej a Kancíra [12] a Svobodovej [13], terénneho vzdelávania od Dubcovej a kol. [14]. Pešiu turistiku a cykloturistiku sme charakterizovali podľa Matlovičovej [19]. Na vytvorenie obsahovej náplne jednotlivých zaujímavostí sme využili elektronické zdroje [15,16,17 18, 20, 21].

Príspevok vznikol prostredníctvom využitia viacerých metód - vysvetľujúceho opisu, terénneho výskumu, komparačnej metódy, dotazníka, štatistickej a systémovej metódy. Informácie sú vizualizované prostredníctvom tabuľky, grafov, máp a obrázkov.

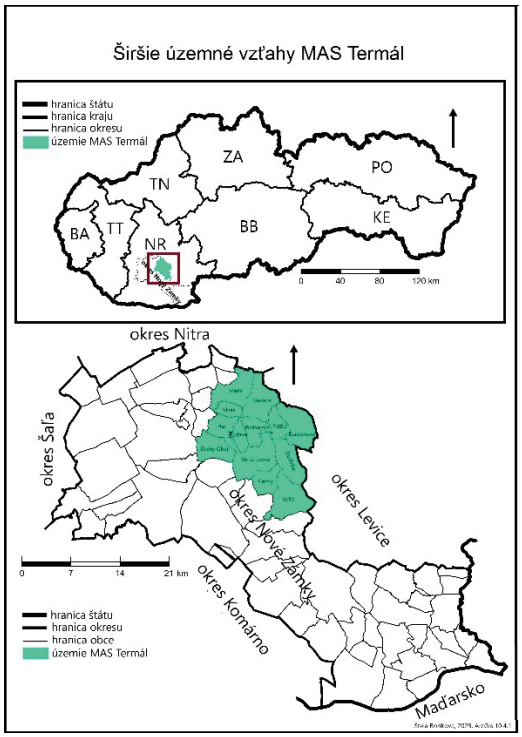
2 Stručné geografické informácie o MAS Termál

Význam mikroregionálnych združení obcí môžeme vo všeobecnosti vidieť v tom, že v dôsledku prenosu kompetencií na lokálnu úroveň sa obce začali intenzívnejšie stretávať s mnohými problémami. Tým sa zároveň výrazne zvýšila potreba spolupráce vidieckych sídel a tak zoskupovanie obcí do mikroregiónov preto predstavuje efektívne riešenie k zvýšeniu kvality života na vidieku [3].

Mikroregión Termál vznikol 4. októbra 1999 v okolí Termálneho kúpaliska Podhájska [4]. Postupne sa mikroregión z hľadiska svoje vnútornej spolupráce transformoval na miestnu akčnú skupinu (MAS). Je to partnerstvo zástupcov verejného, súkromného a občianskeho sektora, ktoré funguje na princípoch LEADER. MAS spolupracuje na rozvoji svojho územia a získavaní finančných prostriedkov zo zdrojov EÚ a z národných programov [8,9]. MAS Termál bola zapísaná na Ministerstve vnútra SR dňa 11.4.2008 [1].

MAS Termál sa nachádza v Nitrianskom kraji, presnejšie v severovýchodnej časti okresu Nové Zámky (mapa 1), v severovýchodnej časti Podunajskej nížiny. Patrí sem 13 obcí: Trávnica, Čechy, Kolta, Bardoňovo, Pozba, Maňa, Podhájska, Dedinka, Hul, Dolný Ohaj, Veľké Lovce, Vlkas a Radava. Na rozlohe 213,09 km² v roku 2021 žilo 12 920 obyvateľov (pri priemernej hustote 60,63 obyvateľov na km²). Vzhľadom na dopravnú polohu sa v MAS nachádzajú cesty I. a II. triedy. Všetky obce majú zabezpečenú autobusovú dopravu, ktorú zabezpečujú spoločnosti Arriva Nové Zámky, a.s a Arriva Nitra, a.s. Železničná doprava je možná iba v obciach Hul, Maňa, Radava a Podhájska [5,6,7,8,10].

Na základe regionálneho geologického členenia je územie MAS Termál zaradené do oblasti vnútrohorských panví a kotlín, do Podunajskej panvy, zastúpenej Trnavsko-dubnickou čiastkovou panvou, konkrétne komjatickou a železovskou priehlbinou [8].



Mapa 1 Širšie územné vzťahy MAS Termál
Zdroj: Boriková, 2021

Z hľadiska geomorfologických celkov do územia zasahuje Hronská pahorkatina, Nitrianska niva a Žitavská niva. Mikroregión leží v subtype teplej nížinnej klímy a v subtype prevažne teplej nížinnej klímy [11]. Žitava, ľavostranný prítok Nitry s dĺžkou 99,3 km, je najväčším vodným tokom územia a taktiež je najväčším prítokom Nitry. Najväčšia vodná plocha sa nachádza v obci Dedinka s rovnomenným názvom. V obci

Podhájska sú geotermálne vrty v hĺbke 1470 – 1900 m s výdatnosťou 28,0-53,0 l/s. Dosiahnuté maximálne teploty sú až 80 ˚C [7]. Z hľadiska pôdnych typov sú plošne v území najrozsiahlejšie černozeme. Najviac zastúpené z hľadiska potenciálnej vegetácie sú dubové a dubovo-cerové lesy a z hľadiska reálnej vegetácie polia a lúky. Územie MAS Termál patrí do pôsobnosti Štátnej ochrany prírody SR CHKO Dunajské luhy so sídlom v Bratislave [6,7,8,21].

Územie bolo osídlené už v období neolitu (mladšia doba kamenná), čoho dôkazom sú nálezy sekier, kamenných klinov a pod. Najstaršie písomné zmienky sú z roku 1075 o obciach Podhájska a Trávnica. Najmladšia písomná zmienka je z roku 1419 o obci Čechy. Z hľadiska morfogenetického členenia ide najmä o obce radové alebo prícestné, kde hlavná cesta, ktorá prechádza územím, pôsobila koncentračnou silou na usporiadanie bytov a domov. Hospodárskou základňou územia je poľnohospodárstvo, ktoré sa rozvíjalo v úzkej nadväznosti na prírodné pomery. Obec Podhájska využíva najmä zdroje termálnych vôd, na ktorých bol postavený rozvoj termálneho kúpaliska a cestovného ruchu MAS Termál [6,7,8]. V území sa nachádza množstvo subjektov zameraných na poskytovanie rôznych služieb. Mikroregión má aj pomerne dostatočne rozvinuté služby [6,7,8].

3 Výsledky a diskusia

V tejto časti prezentujeme výsledky výskumu a vlastné návrhy terénneho spoznávania miestnej krajiny.

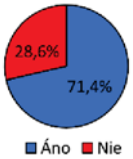
3.1 Charakteristika výskumu a jeho výsledky

Výskum sme realizovali na piatich školách mikroregiónu z ich celkového počtu 9, všetky sú s vyučovacím jazykom slovenským. Prvým až deviatym ročník disponujú školy Dedinka, Dolný Ohaj, Hul, Kolta, Maňa, Trávnica a Veľké Lovce. V Radave a Podhájskej je možné navštevovať školu iba v 1. – 4. ročníku. Zamerali sme sa na učiteľov, ktorí na nich vyučujú geografiu resp. vlastivedu.

Prvá časť dotazníka je zameraná na identifikačné otázky o respondentoch. Na výskume sa zúčastnilo 7 učiteľov, ktorí vyučujú na školách MAS Termál, konkrétne 5 žien (71,4 %) a 2 muži (28,6 %). Ich priemerný vek je 43 rokov. Traja respondenti vyučujú na prvom stupni (42, 9 %), zvyšok na druhom stupni (57,1 %) z čoho sú traja vyštudovaní geografi. Z hľadiska miesta bydliska 71, 4 % opýtaných žije v MAS Termál, konkrétne v obciach Veľké Lovce, Dolný Ohaj, Trávnica a Maňa. Počet rokov ich praxe bol rôznorodý - 10, 35, 24, 3, 9, 31 a 25 rokov.

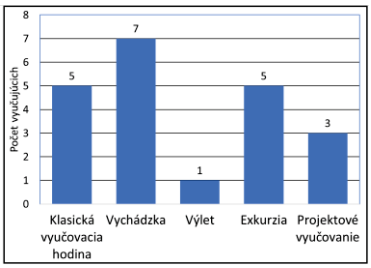
Analýza odpovedí učiteľov na 4 otázky o vyučovaní miestnej krajiny je nasledovná:

1. Učíte žiakov o miestnej krajine? Z celkového počtu respondentov 71,4 % odpovedalo na otázku áno - učia žiakov o miestnej krajine (graf 1).



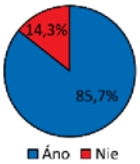
Graf 1 Výučba žiakov o miestnej krajine
Zdroj: Vlastný výskum, 2023

2. Aké formy vyučovania používate na vyučovanie miestnej krajiny? Vyberte 3 najčastejšie: Všetci respondenti (7) sa jednoznačne zhodli na vychádzke. Päť respondentov uviedlo klasickú vyučovaciu hodinu a exkurziu; traja projektové vyučovanie a jeden výlet (graf 2).



Graf 2 Formy vyučovania používané pri miestnej krajine
Zdroj: Vlastný výskum, 2023

3. Keby mali žiaci záujem o terénne vyučovanie geografie v mikroregióne, učili by ste aj takouto formou? Väčšina respondentov (85,7 %) odpovedala, že áno (graf 3). Na odpoveď prečo áno, odpovedali nasledovne: Spoznávali by svoje okolie. Lepšie raz vidieť ako 100x počuť. Lebo majú záujem. Bolo by to niečo nové a isto aj zaujímavé. Na odpoveď prečo nie, odpovedali: Väčšina roka je nevhodné počasie. Pri pobyte v teréne cez zimu sú chorí. Rodiča sa boja kliešťov.



Graf 3 Záujem o terénne vyučovanie
Zdroj: Vlastný výskum, 2023

4. Pri vyučovaní geografie miestnej krajiny považujem za prioritné: Respondenti sa so 100 % jednoznačnosťou

zhodli na odpovedi, že je to formovanie pozitívneho vzťahu k miestnej krajine (graf 4).

Graf 4 Priority pri vyučovaní geografie miestnej krajiny
Zdroj: Vlastný výskum, 2023

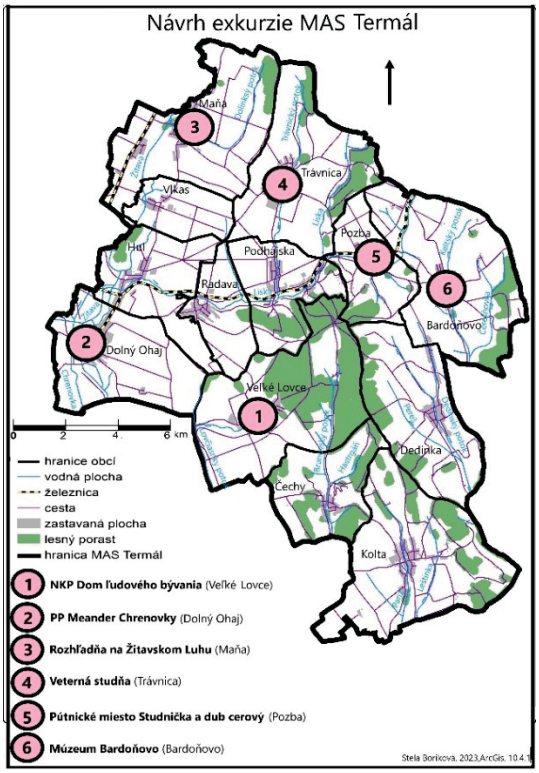
3.2 Návrhy terénneho vyučovania geografie miestnej krajiny

Súčasťou všeobecného vzdelávania je aj geografické vzdelávanie. Možno ho charakterizovať ako proces formovania geograficky gramotného jedinca, ktorý by disponoval geografickými vedomosťami, zručnosťami, postojmi a odborovo špecifickým uvažovaním (geografickým myslením). Medzi hlavné aspekty v hodnotení významu geografického vzdelávania patrí jeho komplexný charakter a využiteľnosť v bežnom živote [12].

Edukácia v teréne môže mať rôzne organizačné formy - didaktické vychádzky, exkurzie, terénne cvičenia, terénny výskum. Aby toto vzdelávanie malo mať pre žiakov výhody, musia aktívne vykonávať viaceré činnosti, napr. zber a spracovanie informácií [13]. Vyučovanie v teréne je neoddeliteľnou súčasťou edukačného procesu geografie, ktorý výraznou mierou prispieva k atraktivite geografie. Vychádzky, exkurzie, práca v teréne umožňujú rozvíjať spoluprácu nielen medzi prírodovednými i spoločenskovednými disciplínami, ale využívať aj klasické i alternatívne vyučovacie metódy, napr. projektové vyučovanie, integrované tematické vyučovanie. Pôsobí i v ďalších oblastiach – vychováva k záujmu o prírodné a kultúrnohistorické dedičstvo v území, k pozitívnej hrdosti na hodnoty územia. Poznanie identity územia vplýva na formovanie vzťahu mladých ľudí k svojmu rodisku, či k miestu svojho bydliska [14].

3.2.1 Exkurzia

Návrh exkurzie je síce spracovaný pre žiakov obce Veľké Lovce, ale využitá môže byť aj ostatnými školami mikroregiónu. Má 6 zastávok (mapa 2). Pretože zastávky exkurzie sú od seba značne vzdialené, vhodné je si prenajať autobus.



Mapa 2 Návrh exkurzie MAS Termál
Zdroj: Boriková, 2023

1. Veľké Lovce – **Národná kultúrna pamiatka Dom ľudového bývania** (obr. 1) je zrekonštruovaný hlinený gazdovský dom predstavujúci jedinečnú ukážku tradičnej ľudovej architektúry Požitavia. Od septembra 2021 je vyhlásený za národnú kultúrnu pamiatku. Funguje ako malé súkromné múzeum približujúce návštevníkom ako sa žilo a bývalo za starých čias nielen v obci Veľké Lovce, ale aj v Požitavskom regióne. Dom sa okrem turistických prehliadok využíva i na usporadúvanie rôznych kultúrnych podujatí [15].

2. Dolný Ohaj – **Prírodná pamiatka Meander Chrenovky** (obr. 2) bol za chránený vyhlásený v roku 1984. Predmetom ochrany je uzavretý, osamostatnený meander potoka Chrenovka s brehovými porastami, ktorý je významným biologickým objektom v poľnohospodárskej krajine [6,7,8,21].

Obr. 1 Dom ľudového bývania vo Veľkých Lovciach
Zdroj: Boriková, 2021

Obr. 2 Prírodná pamiatka Meander Chrenovky v Dolnom Ohaji
Zdroj: Boriková, 2021

3. Maňa – **Rozhľadňa na Žitavskom luhu** je situovaná na okraji atraktívnej Prírodnej rezervácie Žitavský luh (obr. 3), ktorá je súčasťou chráneného vtáčieho územia Žitavský luh patriacej do európskej siete chránených území Natura 2000. Nachádza medzi obcami Veľká Maňa a Žitavce hneď vedľa cesty. Rozhľadňa je prístupná pre verejnosť a umožňuje vidieť krajinu Požitavia z vtáčej perspektívy. Atypické schodisko rozhľadne lemuje boky veže a výstup je tak plynulejší, s výhľadmi na okolitú krajinu. V prípade záujmu je možné objednať (gugh@vtaky.sk) pre menšie skupiny odborný výklad k trvalo žijúcemu i migrujúcemu vtáctvu [15].

4. Trávnica – **Železná konštrukcia veternej studne** (obr. 4) s veľkým kolesom, ktorá sa používala na čerpanie vody do spádového vodovodu. Naň bol napojený kaštieľ, liehovar a koniareň. Na území Slovenska boli len tri podobné veterné studne. Dnes je unikátnou technickou pamiatkou, jedinou svojho druhu na území Slovenska [15].

Obr. 3 Rozhľadňa Žitavský luh
Zdroj: Boriková, 2023

Obr. 4 Veterná studňa v Trávnici
Zdroj: Boriková, 2023

5. Pozba – **Pútnické miesto Studnička** (obr. 5). Táto lokalita v okolí Pozbianskeho lesa bola už oddávna obľúbeným miestom, kde sa v minulosti pre odpočinok radi zastavovali veriaci, ktorí chodievali na cirkevnú púť do paulínskeho kláštora na Máriačaláde (v súčasnosti nazývaného tiež Mariánska Čeľaď). Takto bol pútnikmi objavený prameň, ktorý, ako sa zakrátko ukázalo, mal zázračné uzdravujúce účinky. Kláštor v Máriačaláde bol poškodený úderom blesku a tak sa začali v Studničke organizovať cirkevné púte. V roku 1841 bola v blízkosti prameňa postavená prvá kaplnka, ktorá vydržala až do roku 1885, kedy sa rozpadla. Prvá svätá omša sa na Studničke uskutočnila v roku 1869. Vďaka horlivosti vtedajšieho farára Jozefa Hariša bola kaplnka v roku 1914 znovu postavená a zasvätená Sedembolestnej Panne Márii. V roku 1926 pričinením toho istého farára bola postavená druhá kaplnka na počesť svätého mena Panny Márie. [16]. V obci Pozba sa nachádza aj 200-ročný dub cerový (obr. 6) s obvodom 317 cm, výškou 13 m a priemerom koruny 13 m. Za chránený bol vyhlásený v roku 1996. Pomenovanie Tankošský cer dostal podľa vrchu Tankoš, na ktorom rastie a keďže ide o najvyšší bod obce Pozba, lokalita ponúka krásne výhľady na okolitú krajinu [6,7,8,15,21].

Obr. 5 Pútnické miesto Studnička v Pozbe
Zdroj: Boriková, 2023

Obr. 6 Dub cerový v Pozbe
Zdroj: Boriková, 2023

6. Múzeum v Bardoňove (obr. 7) sídli v ľavom krídle zrekonštruovaného kaštieľa rodiny Kelecsényi (obr. 8). Múzeum dokumentuje a zbiera predmety viažuce sa k histórii obce, najmä zo života nižšej a vyššej šľachty a významných osobností, ktoré formovali históriu obce Bardoňovo (rodiny Kelecsényi, Mirbach a Ambró). Okrem predmetov po šľachtických rodinách múzeum dokumentuje aj históriu a pôsobenie cirkví na pôde obce, zvyky a obyčaje roľníckych rodín, hmotnú kultúru obyvateľov. V priestoroch múzea je inštalovaná výstava venovaná majiteľom kaštieľa - rodinám Kelecsényi a Mirbach. Návštevníci majú možnosť vidieť predmety pochádzajúce priamo z kaštieľa. Múzeum v Bardoňove je zapísané do registra múzejných zariadení Slovenského národného múzea [15].

Obr. 7 Expozícia múzea v Bardoňove
Zdroj: [15]

Obr. 8 Kaštieľ rodiny Kelecsényi v Bardoňove
Zdroj: Boriková, 2021

3.2.2 Pešia turistika

V súvislosti s edukačným procesom je zaujímavá aj pešia turistika. Patrí k základným a zároveň najrozšírenejším druhom turistiky u nás. Motiváciou je hlavne príťažlivé prírodné prostredie a nenáročné vybavenie a pomerne ľahko osvojiteľná pohybová činnosť – turistická chôdza. Základ je poznávanie prírodných a kultúrno-historických atraktivít navštíveného miesta. Neoddeliteľnou súčasťou turistiky je kultúrno-poznávacia zložka – získavanie nových informácií o navštívenej lokalite a formovanie osobnostnej stránky turistu [19].

V krajine rôznou formou vyznačené turistické a exkurzné trasy rôznej dĺžky a zamerania, ktoré sú vytvorené v prírodne, krajinársky, ale aj kultúrne či historicky zaujímavých alebo typických územiach, nazývame náučné chodníky (NCH). V rámci týchto trás sú niektoré vybrané objekty, fenomény alebo

zaujímavosti osobitne vysvetlené, väčšinou na informačných paneloch, ktoré sú postavené na trase náučného chodníka. Náučné chodníky možno klasifikovať podľa rôznych kritérií [4].

Náučné chodníky sú tiež vhodnou formou terénneho vyučovania. Žiaci sa autobusovou dopravou dostanú do jednotlivých obcí. **NCH „História a súčasnosť obce Trávnica“** (obr. 9) je situovaný v intraviláne i v extraviláne obce. Má 24 zastávok osadených informačnými panelmi. Tematicky je zameraný na historické, prírodné a súčasné zaujímavosti obce. Medzi ne nepochybne patria štyri kaštiele, parky, dva rybníky a mnohé ďalšie pozoruhodnosti obce Trávnica. Terén je nenáročný a je vhodný na pešiu, ale aj na cyklistickú turistiku. Niektoré časti trasy sú vedené po poľných prašných cestách, ich stav sa môže meniť a spôsobiť obťažnejšiu schodnosť v prípade, že je po daždi. Terén však umožňuje prejsť chodník aj v zimnom období [17].

V obci sa nachádza aj NCH „Fauna a flóra Trávnice“ (obr. 10). Tematicky je zameraný na prírodné pomery obce Trávnica, ktoré sú charakterizované na 7 tabuliach [8,15].

NCH Žitavský luh (obr. 11) sa nachádza na trase okolo Prírodnej rezervácie Žitavský luh, známeho aj pod názvom Gedrianske lúky. Dĺžka NCH je 3,6 km s časom prechodu 1 – 1,5 hod.

Obr. 9 Tabuľa História a súčasnosť obce Trávnica
Zdroj: Boriková, 2023

Obr. 10 Náučná tabuľa Fauna a flóra Trávnice
Zdroj: Boriková, 2023

Súčasťou chodníka je 6 zastávok, ktoré obsahujú témy: Mlynárstvo, Poľné mláky, Živočíchy, Rastliny, Súhrnné informácie o území a Príroda Kmeťova. Pohyb v prírodnej rezervácii je možný iba po vyznačenej trase pešo alebo na bicykli, keďže severná vetva trasy je zároveň aj oficiálnou cyklotrasou. Najatraktívnejšia skupina živočíchov v rezervácii sú vtáky, ktorých tu bolo zistených až 189 druhov. Viaceré z nich sú ohrozenými druhmi [4].

V roku 2020 pribudol v obci Maňa **NCH „História a súčasnosť obce Maňa“.** Informácie o rozličných miestach sú na 10 zastávkach (obr. 12). V súčasnosti má pribudnúť NCH aj v obci Vlkas [1, 15].

Obr. 11 Informačná tabuľa NCH Žitavský luh
Zdroj: Boriková, 2023

Obr. 12 Informačná tabuľa NCH „História a súčasnosť obce Maňa“
Zdroj: Boriková, 2023

3.2.3 Cykloturistika

Ďalším možným spôsobom terénneho poznávania krajiny je aj cykloturisticka. Reliéf mikroregiónu je obzvlášť vhodný na nenáročnú cykloturistiku. Rozvoj cykloturistiky v území podporuje NSK v rámci finančného nástroja LEADER NSK. Na území mikroregiónu je vytýčených a vyznačených **13 cykloturistických trás** - zo všetkých trás majú 2 trasy charakter SPORT (náročnejšie športové okruhy alebo cykloturistické trasy) a ostatné trasy majú charakter REKREA (menej náročné cykloturistické trasy a okruhy) [4]. Pri rekreačnej cykloturistike prevláda kultúrno-poznávacia činnosť, na fyzickú prípravu sa nekladú veľké nároky, podobne ani na špeciálne vybavenie bicykla [19].

Trasa 1 „Veľký cyklokruh mikroregiónu Termál“ má dĺžku 55,6 km, prevýšenie 491 m, modré značenie a charakter SPORT. Prepája obce mikroregiónu, ich najkrajšie miesta a pamiatky, ponúka aj panoramatické výhľady.

Trasa 2 „Veľké Lovce - Čechy“ má dĺžku 22,7 km, prevýšenie 221 m, zelené značenie a charakter REKREA. Predstavuje nenáročnú trasu spájajúcu obce Veľké Lovce, Radava, Podhájska a Čechy [4]. Trasa začína pri obci Veľké Lovce na križovatke s modrou cykloturistickou trasou č. 2102. Prechádza centrom obce, popri trase sa nachádza kostol Materstva Panny Márie. Smerom do obce Radava (obr. 13) pokračuje po poľnej ceste do obce Podhájska. Ňou vedie spoločne s veľkým modrým cyklookruhom. V miestnej časti Belek pri kostolíku odbočuje smerom na obec Čechy. Pri trase medzi Podhájskou a Čechmi sa nachádza zrúcanina kedysi mohutného kláštora Máriačalád (obr. 14). Z tohto pôsobivého miesta je bohužiaľ dnes iba ruina. Trasa končí v obci Čechy, opäť na križovatke s modro značenou cyklotrasou č. 2102. Trasa je nenáročná, výlet po nej zvládnu aj menej zdatní cyklisti [20].

Trasa 3 „Spojka Hul“ s dĺžkou 2,55 km, prevýšením 21 m, žltým značením a charakterom REKREA tvorí krátku spojku medzi ďalšími cyklotrasami regiónu a je možné ju využiť pre plánovanie výletov po dlhších cyklotrasách v regióne.

Obr. 13 Drevená galéria sôch popri trase 2 „Veľké Lovce - Čechy“
Zdroj: Boriková, 2023

Obr. 14 Zrúcanina kláštora Máriačalád v území obce Veľké Lovce
Zdroj: Boriková, 2023

Trasa 4 „Do Bardoňova“ je dlhá 1,8 km s prevýšením 30 m. Predstavuje žltú trasu typu REKREA za účelom spoznania pamiatok v obci Bardoňovo [4].

Trasa 5 „K meandrom Chrenovky“ má dĺžku 1,2 km bez prevýšenia, v žltom značení a charakter REKREA. Tvorí krátku trasu vedúcu k Prírodnej pamiatke Meandru Chrenovky.

Trasa 6 „Okruh Dolný Ohaj“ má dĺžku 2,1 km pri nulovom prevýšení. Trasa je značená zelenou farbou, má charakter REKREA a tvorí okruh po obci Dolný Ohaj (or. 15) [4]. Na trase si môžu cyklisti pozrieť pekný kostol s Kalváriou. Odporúčame výlet spojiť s cykloturistickou trasou č. 8104 – meandrom Chrenovky [20].

Trasa 7 „Podhájska - Radava - Podhájska“ má pri dĺžke 5,6 km prevýšenie 141 m. Trasa má modré značenie a charakter REKREA. Keďže prechádza z časti aj po poľných cestách, pri daždivom počasí sú niektoré jej úseky ťažšie prejazdné [4]. Táto modrá trasa začína v obci Podhájska na križovatke s Veľkým okruhom Mikroregiónu Termál. Prechádza po poľnej ceste do obce Radava, kde kúsok popri kostole a rezbárskej galérii vedie spolu so zelenou trasou č. 5102. Za Radavou však odbočuje na poľnú cestu a vracia sa akoby späť ponad obce Radava a Podhájska (obr. 16). V týchto miestach sú, najmä pri peknom počasí, pekné výhľady na okolie. Trasa v tomto úseku križuje dve žlté cykloturistické trasy. Končí v Podhájskej v miestnej časti Belek [18,20].

Krátka rekreačná trasa 8 „Veľké Lovce - Podhájska“ dosahuje celkovú dĺžku 5,6 km, prevýšenie 113 m a je značená žltou farbou [4]. Trasa začína v Podhájskej, vedie popri termálnych kúpaliskách. Prechádza najmä po poľných a lesných cestách, z ktorých sú pekné výhľady na okolité obce. Vo Veľkých Lovciach stoja za návštevu dva pekné kostoly. Trasu je možné spojiť s ďalšími cyklotrasami (obr. 17) a vytvoriť tak okruh [20].

Ďalšia krátka rekreačná trasa 9 „Spojka na Podhájsky majer“ je dlhá 1,8 km pri prevýšení 42 m a je značená žltou značkou.

Trasa 10 „K vodnej nádrži Trávnica“ má dĺžku 8,3 km, prevýšenie 77 m, žlté značenie a charakter SPORT. Ide o miestnu trasu, ktorá tvorí krátky okruh v obci Trávnica.

Trasa 11 „Žitavský luh“ je dlhá 6,3 km s prevýšením 14 m má žlté značenie a charakter REKREA. Je to krátka trasa z obce Maňa k Prírodnej rezervácii Žitavský luh. Nachádza sa tu aj náučný chodník, ktorého informačné panely sú situované aj pri cykloturistickej trase.

Trasa 12 „Maňa - Trávnica“ sprostredkuje v dĺžke 7,8 km pri 116 m prevýšení zaujímavé výhľady. Predstavuje žltú rekreačnú trasu.

Krátka trasa 13 „K vinohradom“ má dĺžku 2,83 km, prevýšenie 30 m, zelené značenie a charakter REKREA [4].

Pri poznávaní územia žiakmi základných škôl, formou cykloturistiky by sme využili trasy REKREA. Všetky spomínané trasy sú na stránke: https://www.cykloportal.sk/. K cyklotrasám boli taktiež vybudované oddychové zóny (obr. 18).

Obr. 15 Kostol s Kalváriou v Dolnom Ohaji
Zdroj: Boriková, 2023

Obr. 16 Kostol Nanebovzatia Panny Márie v Podhájskej
Zdroj: Boriková, 2023

Obr. 17 Cykloznačenie k trasám č. 5102, 2102
Zdroj: Boriková, 2023

Obr. 18 Oddychová zóna popri trase č. 5102 v Radave
Zdroj: Boriková, 2023

3.3 Diskusia

Vzdelávanie v prírode je nielen efektívne, ale aj veľmi príjemnou súčasťou vzdelávania pre všetkých účastníkov vzdelávacieho procesu [13]. Na potvrdenie pravdivosti tejto formy vyučovania sme realizovali výskum vo forme dotazníka. Respondenti boli učitelia na základných školách MAS Termál. Jedna z otázok dotazníku znela: Ak by mali žiaci záujem o terénne vyučovanie využívali by ste túto formu? Na ňu kladne odpovedala väčšina respondentov, následne sme sa dozvedeli, že využívajú formy vychádzky aj exkurzie, čo nás utvrdilo v tom, že vzdelávanie v teréne je vhodnou formou vyučovania. Taktiež im záleží na formovaní pozitívneho prístupu k miestnej krajine.

Záver

MAS Termál je vidiecke územie, ktoré okrem termálneho kúpaliska a wellness zaujme aj inými atribútmi – množstvom prírodných a kultúrno-historických pamiatok. Za prínos tohto príspevku považujeme zistenie, že učitelia v mikroregióne informujú žiakov o miestnej krajine. Jedným zo spôsobov, ako môžu žiaci spoznať svoju miestnu krajinu, je vyučovanie v teréne, napr. vo forme exkurzie, turistiky či pomocou cyklotrás. Navrhnutá exkurzia ponúka 6 miest rôzneho charakteru, ktorá žiakom formou terénneho vyučovania priblíži miestnu krajinu. V území sa nachádzajú cyklotrasy, ktoré sú tiež vhodnou formou spoznávania krajiny. Pešia turistika s prepojením na náučné chodníky by mohla by, taktiež vhodnou formou vyučovania. Súčasne by tieto formy mohli prispieť k zvyšovaniu povedomia o území.

Poďakovanie

Za podporu pri vzniku tohto článku ďakujem mojej školiteľke RNDr. Hilde Kramárekovej, PhD.

Použitá literatúra

[1] Leadernsk. [online]. [cit. 27.02.2023]. Dostupné z: https://www.leadernsk.sk

[2] KRIŽAN, František a kol. 2022. Vidiek ako investičná príležitosť. Národný projekt: Podpora kvality sociálneho dialógu, 176 s.

[3] PUSTÁ, Beáta. 2011. Mikroregionálne združenia obcí ako jedna z možností rozvoja vidieckych sídel v kontexte ich transformácie. In Folia Geographica 17, Vol. LII. Prešov 2011. ISSN 1336-6157.

[4] OREMUSOVÁ, Daša a kol. 2017. Trails for discovering the Termal microregion, 2017. In. Aktuální problémy cestovního ruchu „Cestovní ruch jako křižovatka poznatků“ : recenzovaný sborník z mezinárodní konference, Jihlava 22. - 23. února 2017. - Jihlava : Vysoká škola polytechnická, 2017, s. 457-466. ISBN 978-80-88064-30-5.

[5] NÉMETHOVÁ, Jana a kol. 2016. Aspekty dopravnej obslužnosti verejnou autobusovou a železničnou dopravou v mikroregióne Termál. In: Region v rozvoji společnosti : sborník ze 7. ročníka mezinárodní vědecké konference. Brno : Mendelova univerzita, 2016. ISBN 978-80-7509-459-9, P. 679-691.

[6] DUBCOVÁ Alena, KRAMÁREKOVÁ, Hilda, OREMUSOVÁ Daša. 2015. Program hospodárskeho a sociálneho rozvoja Združenia obcí Termál na roky 2014-2020

[7] OREMUSOVÁ, Daša. 2009. Geografické aspekty regionálneho rozvoja mikroregiónu Termál. Nitra : UKF, 2009. 146 s. ISBN 978-80-8094-559-6.

[8] BORIKOVÁ, Stela. 2021. Komplexná regionálna geografia MAS Termál: bakalárska práca. Nitra: UKF, 110 s.

[9] Agentúra na podporu regionálneho rozvoja Košice, n.o. [online]. [cit. 27.02.2023]. Dostupné z: https://www.arr.sk/co-je-miestna-akcna-skupina/

[10] Štatistický úrad SR. [online]. [cit. 27.02.2023]. Dostupné z: http://datacube.statistics.sk/

[11] KOČICKÝ, Dušan a IVANIČ, Boris. 2011. Klimatickogeografické typy [online]. Bratislava: Štátny geologický ústav Dionýza Štúra, 2014. Dostupné z: http://apl.geology.sk/temapy

[12] MADZIKOVÁ, Alena – KANCÍR, Ján. 2015. Didaktika geografie. Prešov: Prešovská univerzita, s.198. ISBN 978-80-555-1500-7

[13] SVOBODOVÁ, Hana. 2019. Outdoor education in geography: a specific educational strategy. Brno: Masaryk university press. s. 198. ISBN 978-80-210-9522-9

[14] DUBCOVÁ, Alena a kol. 2012. Mikrogeografia - krajina okolo nás. Nitra: FPV UKF v Nitre, 2012. s. 185 ISBN 978-80-558-0112-4

[15] VisitPodhajska. [online]. [cit. 27.02.2023]. Dostupné z: http://www.visitpodhajska.sk/

[16] Pozba studnička [online]. [cit. 27.02.2023]. Dostupné z:http://studnickapozba.sk/historia-2/].

[17] Obec Trávnica. [online]. [cit. 27.02.2023]. Dostupné z: www.obectravnica.sk

[18] Obec Podhájska. [online]. [cit. 27.02.2023]. Dostupné z: https://www.obecpodhajska.sk/

[19] MATLOVIČOVÁ, Kvetoslava - KLAMÁR, Radoslav - MIKA, Miroslav. 2015. Turistika a jej formy. Prešov: Prešovská univerzita, s. 550. ISBN: 978-80-555-1530-4,

[20] Cykloportal. [online]. [cit. 27.02.2023]. Dostupné z: https://www.cykloportal.sk/trasy/

[21] Štátna ochrana prírody SR [online]. [cit. 27.02.2023]. Dostupné z: https://www.sopsr.sk

Využitie vybraných didaktických prostriedkov NASA vo vyučovaní geografie

Usage of selected NASA didactic tools in the process of teaching geography

Jakub Bajnok[1]
Školiteľ: Jana Vojteková[2]
[1,2]Katedra geografie, geoinformatiky a regionálneho rozvoja,
FPVaI UKF, Tr. A. Hlinku 1, 949 74 Nitra,
[1]jakub.bajnok@student.ukf.sk, [2]jvojtekova@ukf.sk

Abstrakt

Príspevok sa zaoberá využívaním vybraných didaktických prostriedkov *Národného úradu pre letectvo a vesmír* (skrátene NASA) vo vyučovaní geografie s využitím aktivizujúceho vyučovania a aktivizujúcich metód. V úvodnej časti príspevku sú priblížené základné východiská – definícia učebného predmetu geografia, základné princípy vzdelávacích štandardov *Národného inštitútu vzdelávania a mládeže* (NIVaM) a predstavenie NASA. Teoreticko-metodické východiská v sebe zahŕňajú základnú terminológiu, ktorá tvorí neoddeliteľnú súčasť príspevku v podobe definícií aktivizujúceho vyučovania a aktivizujúcich metód, didaktických (vyučovacích) prostriedkov, digitálnych technológií a rozšírenej reality. Samostatná kapitola je venovaná vybraným prostriedkom NASA. Praktická časť príspevku spočíva v sledovaní atraktivity využívania didaktických prostriedkov prostredníctvom vopred pripravenej klasickej hodiny využívajúcej aktivizujúce vyučovanie a metódy, ukážok planét, vesmírnych telies a práce s rozšírenou realitou pomocou inteligentných mobilných zariadení. Atraktivita vyššie spomenutého výchovno-vzdelávacieho procesu bola zisťovaná prostredníctvom dotazníkového prieskumu. Cieľom príspevku je poukázať na efektívne využitie didaktických prostriedkov Národného úradu pre letectvo a vesmír vo výučbe geografie na základných školách.

Kľúčové slová: aktivizujúce vyučovanie, aktivizujúce metódy, digitálne technológie, rozšírená realita, NASA

Abstract

The paper deals with the use of selected didactic (teaching) tools of *The National Aeronautics and Space Administration* (NASA, for short) in the teaching of geography with the use of activating teaching and activating methods. In the introductory part of the article, the essential starting points, such as the definition of the geography subject, the basic principles of the educational standards of the *National Institute of Education and Youth*, and the presentation of NASA are brought closer. The theoretical and methodological starting points include basic terminology, which forms an integral part of the paper in the form of definitions of activating teaching and activating methods, didactic (teaching) tools, digital technologies, and augmented reality (AR). A separate chapter in the article is dedicated to selected NASA's didactic tools. The practical part of the paper consists in tracking the attractiveness of using didactic (teaching) tools through a pre-prepared classical lesson using activating teaching and methods, demonstrations of planets, and space bodies, and work with augmented reality using smart mobile devices. The attractiveness of the above-mentioned educational process was determined through a questionnaire survey. The paper aims to point out the effective use of didactic tools of NASA in the teaching of geography in primary/elementary schools.

Key Words: activating teaching, activating methods, digital technologies, augmented reality, NASA

Úvod

Geografia ako učebný predmet nerozvíja u žiakov iba poznanie týkajúce sa jedinečnosti a výnimočnosti planéty Zem, ale pomáha aj správne chápať podstatu javov a procesov, ktoré prebiehajú na Zemi a na ktorých stojí samotná existencia života [1].

Vzdelávací štandard podľa *Národného inštitútu vzdelávania a mládeže* [1] predstavuje program istých príležitostí pre rozvíjanie individuálnych učebných možností žiakov. Vzdelávací program pre predmet geografia je zostavovaný tak, aby vytváral možnosti rozvoja viacerých kognitívnych činností žiakov spolupracujúcimi s pojmami, medzi ktoré zaraďujeme

hľadanie, pátranie, skúmanie alebo objavovanie. Práve v nich sa objavuje základný predpoklad pre poznávanie a porozumenie; žiaci nesmú byť pasívnymi aktérmi výučby, stali by sa tak konzumentmi hotových poznatkov.

Ideálnym nástrojom pre učiteľa, ktorého cieľom je nielen zvýšenie účinku svojho pôsobenia, ale aj isté komplexné zefektívnenie výchovno-vzdelávacieho procesu, sú práve didaktické (vyučovacie) prostriedky [2].

Národný úrad pre letectvo a vesmír (The National Aeronautics and Space Administration, skrátene NASA) sústreďuje svoju pozornosť na tvorbu rôznych edukačných materiálov, ktoré je možné uplatniť vo vyučovaní geografie.

NASA je americký civilný vesmírny program, ktorý je zároveň i globálnym lídrom v prieskume vesmíru. Nachádza sa v 20 centrách a zariadeniach po celej krajine, má jedno národné laboratórium vo vesmíre. Študuje Zem, klímu Zeme, Slnko, slnečnú sústavu i priestor mimo nej [3].

Cieľom NASA je vykonávanie výskumu, testovanie a následný vývoj spojený nielen s cieľom napredovania v letectve, ale aj vo vyvíjaní a financovaní vesmírnych technológií, ktoré umožnia ďalší budúci výskum a budú i prospešné pre život na Zemi [3].

1 Teoreticko-metodické východiská

Príspevok sa v teoreticko-metodických východiskách zaoberá definíciami aktivizujúceho vyučovania, metódami aktivizujúceho vyučovania, definíciami a uplatnením didaktických (vyučovacích) prostriedkov, digitálnych technológií a rozšírenou realitou v edukácii.

1.1 Aktivizujúce vyučovanie a metódy

Hanuliaková [4] vo svojej publikácii chápe aktívne a kreatívne vyučovanie ako proces, prostredníctvom ktorého dochádza nielen k maximálnemu aktivizovanému vnímaniu, ale aj k maximálnemu procesu spracovávania a pochopenia informácie.

Šutovcová [5] považuje využívanie aktivizujúcich metód za ideálny nástroj pre rozvíjanie tvorivého a kritického myslenia žiakov v edukačnom procese. Michel et. al. [6] poukazujú na aktivizujúce metódy ako na didaktické postupy, ktorých cieľom je viesť vyučovanie tak, aby sa jednotlivé edukačné ciele dosahovali prostredníctvom vlastnej učebnej aktivity žiakov.

Pri využívaní aktivizujúcich metód dochádza k zmene postavenia žiakov z pasívnych prijímateľov na aktívnych účastníkov výchovno-vzdelávacieho procesu. Na základe existujúcich teórií psychológie učenia bolo prostredníctvom využívania aktivizujúcich metód počas edukačného procesu zistené, že človek sa omnoho rýchlejšie a lepšie naučí, ak si sám daný jav i vyskúša. Týmto sa žiak aktívne zapája do výchovno-vzdelávacieho procesu [5].

Aktivizujúce metódy v edukačnom procese podľa Mistríka [7], Kotrbu a Lacinu [8] rozvíjajú nielen komunikačné schopnosti a sebaprezentáciu žiakov, ale aj schopnosť obhajovať svoje názory.

1.2 Didaktické (vyučovacie) prostriedky

Na základe Madzikovej a Kancíra [2] je možné chápať pojem didaktické prostriedky v širšom a užšom význame. Za didaktický prostriedok v širšom (univerzálnom) význame je možné považovať všetky faktory, ktoré nielen korešpondujú so svojou cieľovou funkciou, ale tiež výrazne prispievajú k splneniu vopred stanovených výchovno-vzdelávacích cieľov.

Takéto didaktické prostriedky sú si vedomé akceptácie istej systémovej usporiadanosti vyučovacieho procesu, pričom svoju pozornosť venujú i didaktickému stmeľovaniu a v neposlednom rade podporujú aj súčinnosť faktorov do komplexne zjednoteného didaktického systému. Vyššie spomínaný pojem teda výrazne prispieva okrem optimalizácie didaktického procesu i k efektívnemu dosahovaniu výchovno-vzdelávacích cieľov [2].

Faktory didaktického procesu materiálnej povahy (materiálne didaktické prostriedky) je možné považovať za didaktické prostriedky v užšom význame. Autori medzi ne zaraďujú učebné pomôcky a didaktickú techniku, ktoré nie je možné od seba odlúčiť. Avšak vyššie uvedený pojem sa v prostredí didaktiky používa vo väčšine prípadov v jeho užšom význame [2].

1.3 Digitálne technológie

Digitálne technológie v súčasnosti predstavujú silný vplyv na vzdelávací systém. Danú skutočnosť potvrdila i nedávna pandémia covidu-19, ktorá inštitucionalizovala viaceré aplikácie digitálnych technológií vo vzdelávaní. Digitálne technológie v dôsledku prítomnosti pandémie covidu-19 spôsobili zmenu paradigmy v celom vzdelávacom systéme [9].

Nestávajú sa výlučným poskytovateľom vedomostí, ale spolutvorcom, mentorom alebo posudzovateľom informácií. Je na mieste uviesť skutočnosť, že študenti v súčasnosti využívajú na vytváranie prezentácií alebo projektov rôzne nástroje. Okrem uľahčovania života

študenta pomáhajú digitálne technológie zároveň zvyšovať záujem o vedu a výskum [9].

Do digitálnych technológií zaraďujeme aj rozšírenú realitu, ktorá predstavuje neoddeliteľnú súčasť nášho výskumu.

1.4 Rozšírená realita (Augmented Reality, AR)

Rozšírená realita sa na rozdiel od virtuálnej reality (*Virtual Reality*, skrátene *VR*), s ktorou sa často spája, výrazne odlišuje. Od virtuálnej reality sa očakáva zažívanie virtuálneho prostredia, ktoré je vytvorené prostredníctvom počítača. Avšak, prostredie, zobrazené v rozšírenej realite je reálne a rozšírené o viaceré ďalšie informácie alebo obrázky [10].

Chang, Morreale a Medicherla [11] predstavujú rozšírenú realitu ako priepasť medzi reálnym a virtuálnym svetom bezproblémovým spôsobom. Uvádzajú i skutočnosť, že niekoľko výskumníkov upozornilo na posilnenie svojej motivácie k učeniu a zlepšeniu praktík práve v dôsledku pôsobenia rozšírenej a virtuálnej reality [10].

Dôkazom uvedených vyjadrení sú i viaceré štúdie. Tie navrhli aj vyvinuli niekoľko mobilných aplikácií rozšírenej reality, ktoré študentom uľahčili učenie sa geometrie. Niektoré z nich pomohli študentom zlepšiť 3D geometrické myslenie (Ibli, Çat, Resnyansky, Sahin and Billinghurst (2019) – *AR Geometry Tutorial System* (*ARGTS*)) alebo im pomohli zlepšiť vizualizačné schopnosti pri ortografickej projekcii (Omar, Ali, Mokhtar, Zaid, Jambari a Ibrahim (2019) – *Mobile Augmented Reality* (*MAR*)) [12].

2 Vybrané didaktické prostriedky Národného ústavu pre letectvo a vesmír (NASA)

Medzi významné didaktické technológie z prostredia NASA zaraďujeme nasledovné aplikácie: vzdelávacia aplikácia *NASA, ISS Explorer, ISS Live Now, SpaceCraft AR, NASA Selfies,* a iné [13, 14]. Na účely tohto príspevku sú priblížené iba niektoré z nich.

2.1 Aplikácia NASA

NASA prostredníctvom svojej vzdelávacej aplikácie *NASA* sprístupňuje svojim používateľom obrovskú zbierku najnovšieho obsahu. Pod týmto obsahom je možné si predstaviť viac ako 19 000 obrázkov, množstvo videí vrátane viacerých zaujímavých funkcionalít. Medzi zaujímavé funkcionality zaraďujeme sledovanie najnovších udalostí NASA v reálnom čase prostredníctvom *NASA TV*, sledovanie vzdelávacieho obsahu alebo skúmanie simulovaného pohľadu na našu slnečnú sústavu. Používatelia majú prístup k sledovaniu živého pohľadu na Zem, a to z *Medzinárodnej vesmírnej stanice* (*International Space Station*, skrátene ISS). Ďalej majú k dispozícii najnovšie fotografie, videá a príbehy z prostredia NASA [15].

Aplikácia je bezplatná. Je dostupná v zariadeniach s operačným systémom iOS, pričom sa vyžaduje *iOS 14.0* alebo novší [15], a operačným systémom Android, v prípade ktorého sa vyžaduje *Android 5.0* a vyšší [16].

2.2 ISS Explorer

Ideálnym didaktickým prostriedkom na skúmanie jednotlivých častí ISS je interaktívny nástroj, ktorý sa nazýva *ISS Explorer*.

Aplikácia ponúka používateľom možnosť zobraziť 3D model ISS. Pomocou tejto aplikácie je možné skúmať 3D model ISS okrem približovania a vzďaľovania predmetu aj vybratím konkrétnej časti ISS. Používateľom aplikácie *ISS Explorer* sa naskytá možnosť po jej spustení zobraziť pohľad na celú ISS vrátane označení jednotlivých kategórií [17].

Karty, ktoré používateľom uľahčujú prístup k daným informáciám, hierarchiám, ale aj rozličným nastaveniam alebo iným informáciám o aplikácii, sú dostupné na ľavej strane obrazovky digitálnych zariadení. K ISS a jej konkrétnym častiam, usporiadaným na základe istej postupnosti, majú používatelia možnosť pristupovať z viacerých uhlov [17].

Aplikácia je bezplatná. Je dostupná v zariadeniach s operačným systémom iOS, pričom sa vyžaduje *iOS 11.0* alebo novší [17], a operačným systémom Android, v prípade ktorého sa vyžaduje *Android 5.0* a vyšší [18].

2.3 ISS Live Now

Jednoduchý prístup k živému vysielaniu videa Zeme z ISS, ktorá obieha približne 400 kilometrov nad planétou, prináša záujemcom o vesmír alebo astronómiu aplikácia s názvom *ISS Live Now*. Jednou z významných funkcionalít tejto aplikácie je využívanie natívnej mapy od spoločnosti *Google*, ktorá používateľom sprostredkováva sledovanie obežnej dráhy ISS okolo našej planéty. S mapou je možné aktívne pracovať prostredníctvom približovania, vzďaľovania alebo nakláňania sprostredkovaného obrazu. Vyššie uvedený digitálny prostriedok ponúka používateľom živý prenos Zeme, viaceré zábery astronautov z kamier mimo ISS vo vysokom rozlíšení [19].

Aplikácia je bezplatná. Je dostupná v zariadeniach s operačným systémom iOS, pričom sa vyžaduje *iOS 9.3* alebo novší [19], a operačným systémom Android, v prípade ktorého sa vyžaduje *Android 4.1* a vyšší [20].

2.4 Spacecraft AR

Mobilná vzdelávacia aplikácia *Spacecraft AR* ponúka svojim používateľom možnosť umiestňovať virtuálne 3D modely robotických vesmírnych prieskumníkov do akéhokoľvek prostredia, a to s použitím najnovšej technológie rozšírenej reality a rovného povrchu [21].

Spacecraft AR svojim používateľom taktiež ponúka interaktívne prezeranie 3D modelov prieskumníkov kozmických lodí nielen v mierke stolovej veľkosti ale aj v skutočnej mierke. S jednotlivými 3D modelmi prieskumníkov kozmických lodí je možné sa tiež odfotiť a následne tento obsah šíriť na sociálnych sieťach. Vyššie spomínaný nástroj je vynikajúcim prostriedkom pre učiteľov, vesmírnych nadšencov, no i pre začínajúcich astronautov [21].

Aplikácia je bezplatná. Je dostupná v zariadeniach s operačným systémom iOS, pričom sa vyžaduje *iOS 11.0* alebo novší [21], a operačným systémom Android, v prípade ktorého sa vyžaduje *Android 7.0* a vyšší [22].

2.5 NASA Selfies

NASA Selfies umožňuje vesmírnym nadšencom prostredníctvom rozšírenej reality vytvárať snímky samých seba v skafandri. Nadšenci vesmíru majú možnosť vybrať si z množstva kozmických miest (napr. hmlovina Orion alebo centrum Galaxie Mliečna dráha), pričom tieto si môžu zvoliť ako tapetu týchto snímok.

Pre tento didaktický prostriedok je typické jednoduché rozhranie, čo v praxi znamená, že sa používateľ v aplikácii odfotí, vyberie si pozadie a jednoducho šíri fotografiu na sociálnej sieti medzi svojimi priateľmi [23].

Aplikácia je bezplatná. Je dostupná v zariadeniach s operačným systémom iOS, pričom sa vyžaduje *iOS 11.0* alebo novší [23], a operačným systémom Android, v prípade ktorého sa vyžaduje *Android 4.0.3* a vyšší [24].

3 Výsledky a diskusia

Klasická vyučovacia hodina podporujúca aktivizujúce vyučovanie, využívajúca prislúchajúce metódy a orientovaná na tému Vesmír, bola pripravovaná v súlade s vzdelávacím štandardom *Inovovaného štátneho vzdelávacieho programu pre druhý stupeň základných škôl (ISCED 2)* pre 5. ročník z predmetu geografia a tematického celku Planéta Zem.

Na základe vzdelávacieho štandardu tematického celku *Planéta Zem* by mal žiak na konci piateho ročníka základnej školy dokázať na jednoduchom náčrte rozpoznať základné prvky slnečnej sústavy; prostredníctvom obrázkov a náčrtov opísať zdanlivú dráhu Slnka a Mesiaca na oblohe; uviesť dôvody a príčiny striedania dňa a noci na Zemi; na základe mapy časových pásem určiť, kde na Zemi je viac/menej hodín ako na Slovensku; poukázať na dôvody a príčiny vzniku teplotných pásem na Zemi; poukázať na striedanie ročných období; a to vrátane poukázania na rozdiely medzi svetadielmi a oceánmi na Zemi prostredníctvom glóbusu, príp. mapy [1].

Teoretická časť vyučovacej hodiny bola rozdelená do štyroch blokov – Vesmír (Pozorovanie vesmíru, Veľkosť vesmíru); Slnečná sústava, Planéty slnečnej sústavy; Predstavenie NASA, jej aktivity a výskum; NASA a jej didaktické prostriedky.

Príprava praktickej časti vyučovacej hodiny spočívala v prepojení mobilného zariadenia – smartfónu – s počítačom, prostredníctvom softvéru *Zoom*, na základe čoho bolo možné vyskúšať dané technológie počas vyučovacej hodiny geografie.

Prezentácia na vyučovaciu hodinu, bola vytvorená prostredníctvom programu z balíčka kancelárskych potrieb spoločnosti *Microsoft*, *PowerPoint*.

Vyučovacia hodina na tému Vesmír bola prezentovaná 9. novembra 2022 o 10.45 žiakom 5.B triedy *Spojenej katolíckej škole v Nitre – Základnej školy sv. Svorada a Benedikta*.

V prvom bloku teoretickej časti klasickej vyučovacej hodiny bolo žiakom priblížené chápanie vesmíru vo všeobecnosti. Následne bolo všeobecné chápanie vesmíru prepojené s pozorovaním a veľkosťou vesmíru. Aby sa žiaci 5.B dokázali lepšie orientovať v prezentovaných súvislostiach, bol im vysvetlený aj kľúčový pojem – svetelný rok.

V druhom bloku vyučovacej hodiny bola žiakom priblížená slnečná sústava. V rámci tejto časti mali žiaci možnosť lepšie pochopiť okrem procesu vzniku slnečnej sústavy i základné delenie planét vrátane charakteristík k nim patriacim.

V treťom bloku klasickej vyučovacej hodiny sme svoju pozornosť sústredili na ozrejmenie primárnych aktivít NASA, vesmírnych sond a základného didaktického prostriedku tohto úradu, za ktorý možno považovať aplikáciu *NASA*.

V poslednom bloku teoretickej časti klasickej vyučovacej hodiny podporujúcej aktivizujúce vyučovanie sme sa venovali prostriedkom, ktoré tvoria neoddeliteľnú súčasť aktivít NASA (obrázok 1).

Obrázok 1 Prezentácia počas klasickej vyučovacej hodiny podporujúcej aktivizujúce vyučovanie a prislúchajúce metódy
zdroj: Bajnoková, 2022

Prostredníctvom internetového sídla NASA – *Solar System Exploration* [25] boli žiakom priblížené ukážky planét i vesmírne telesá. Ukážky planét a vesmírnych telies boli doplnené o viaceré nové informácie.

V rámci pripravenej klasickej vyučovacej hodiny podporujúcej aktivizujúce vyučovanie a aktivizujúce metódy mali žiaci možnosť vyskúšať dve aplikácie.

Prvou z nich bola aplikácia *Spacecraft AR*, založená na princípe rozšírenej reality. Žiaci si tak priblížili jednu z viacerých vesmírnych sond, pričom si ju zobrazili nielen v jej stolovej mierke, ale aj v skutočnej veľkosti.

Na záver vyučovacej hodiny mali žiaci priestor nahliadnuť do prostredia aplikácie *NASA Selfies*. Prostredníctvom nej mali možnosť sa odfotografovať ako kozmonauti, a to s pozadím podľa vlastného výberu (obrázok 2).

Obrázok 2 Využitie didaktického prostriedku *NASA Selfies* vo vyučovaní geografie
zdroj: Bajnoková, 2022

V rámci procesu získania spätnej väzby, ktorá sa týkala klasickej vyučovacej hodiny zameranej na aktivizujúce vyučovanie s bližším zameraním na vesmír, prvky slnečnej sústavy, NASA a jej aktivity a v neposlednom rade na didaktické prostriedky pochádzajúce z prostredia NASA, sme na základe vopred pripraveného dotazníka oslovili vybranú vzorku žiakov *Spojenej katolíckej školy v Nitre – Základnej školy sv. Svorada a Benedikta*.

Tvorili ju dievčatá a chlapci 5.B, ktoré/ktorí boli 9. novembra 2022, počas 4. vyučovacej hodiny prítomné/prítomní na hodine geografie.

Dotazník spokojnosti mal papierovú formu a bol vytvorený prostredníctvom programu z balíčka kancelárskych potrieb spoločnosti *Microsoft, Word*. Zúčastnení žiaci mali možnosť vyplniť dotazník počas posledných 5 minút vyučovacej hodiny alebo krátko po jej ukončení.

Dotazník obsahoval dohromady 5 otázok. Pri zostavovaní otázok a odpovedí boli zohľadnené kognitívne schopnosti žiakov. Otázky a odpovede boli primerané ich veku. Pri vypĺňaní dotazníka mala vybraná vzorka žiakov možnosť rozhodovať sa medzi viacerými možnosťami.

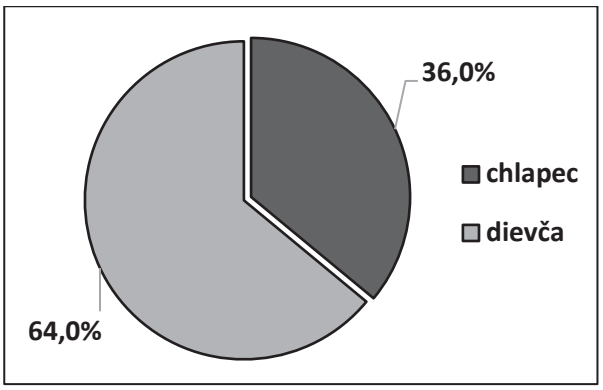
V otázke č. 1, pri ktorej sme sledovali pohlavie participantov, mala vyššie spomínaná vzorka na výber z dvoch možností – *dievča, chlapec*.

V otázkach č. 2, 4 a 5, v rámci ktorých sme svoju pozornosť zamerali na atraktivitu klasickej vyučovacej hodiny, mali participanti na výber z dvoch možností – *áno, nie* – pričom pri otázkach č. 2 a 5 mala vybraná vzorka žiakov možnosť svoju označenú odpoveď rozšíriť o svoj názor.

Pri otázke č. 3, ktorou sme u participantov zisťovali najvyšší záujem o konkrétnu časť pripravenej klasickej vyučovacej hodiny využívajúcej aktivizujúce metódy, mali na výber až z 8 možností, a to: *informácie o celom vesmíre* (A); *informácie o planétach* (B); *ukážka vesmírnych družíc, sond, lodí pomocou rozšírenej reality* (C); *fotenie sa pomocou rozšírenej reality ako kozmonaut* (D); *informácie o vesmírnej stanici ISS* (E); *informácie o NASA* (F); *všetko* (G) a v neposlednom rade aj nič (H).

Uvedený dotazník bol následne vyhodnotený i percentuálne vyjadrený prostredníctvom grafov a príslušných analýz.

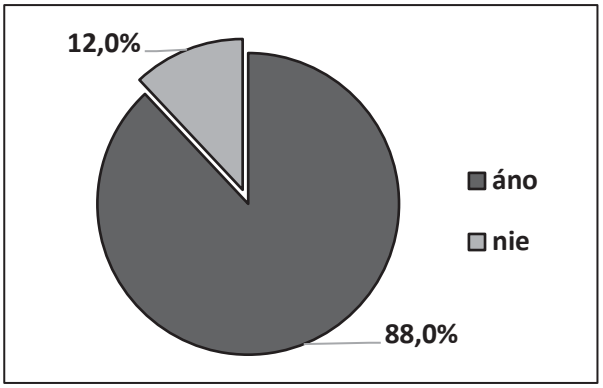
Dotazník vyplnilo 25 žiakov. Na základe spracovania jednotlivých informácií z prieskumu nie je možné hovoriť o rovnomernom zastúpení pohlaví, nakoľko tento dotazník vyplnilo 16 dievčat (64,0 %) a 9 chlapcov (36,0 %) (graf 1).



Graf 1 Percentuálne zastúpenie žiakov 5. ročníka *Spojenej katolíckej školy v Nitre – Základnej školy sv. Svorada a Benedikta* zapojených do prieskumu
zdroj, spracovanie: autor

Otázkou číslo 2 z dotazníkového prieskumu sme sledovali, či sa zapojená vzorka žiakov, podľa svojho názoru naučila doposiaľ nepoznané fakty a zaujímavosti o vesmíre, planétach slnečnej sústave, Národnom úrade pre letectvo a vesmír i prostriedkoch.

Možnosť *áno* označilo 22 žiakov, čo predstavuje 88,0 % z celkového počtu opýtaných; pre možnosť *nie* sa rozhodli 3 opýtaní, čo je 12,0 % z celkového počtu vybranej vzorky. V rámci tejto otázky mali žiaci 5.B možnosť svoju odpoveď doplniť o vlastné postrehy. Žiakom sa na vyššie spomínanej vyučovacej hodine najviac páčili aplikácie od NASA; zaujímavosti o Slnku; zaujímavosti o Zemi, Saturne či Neptúne (graf 2).



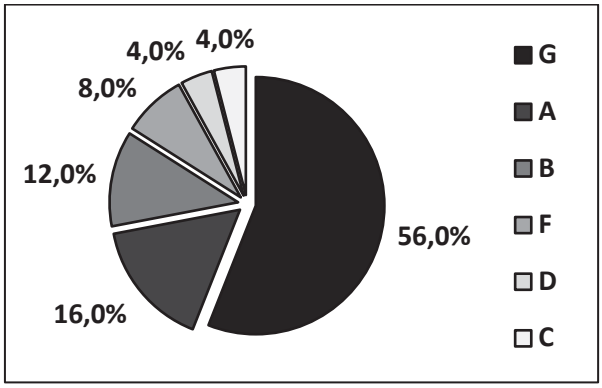
Graf 2 Grafické vyhodnotenie otázky č. 2
zdroj, spracovanie: autor

Nasledujúcou otázkou sme sledovali, ktorá časť vyučovacej hodiny zaujala vybranú vzorku najviac.

Najviac označenou možnosťou v rámci otázky č. 3 bola odpoveď *všetko* (G), tú označilo až 14 respondentov (56,0 % opýtaných).

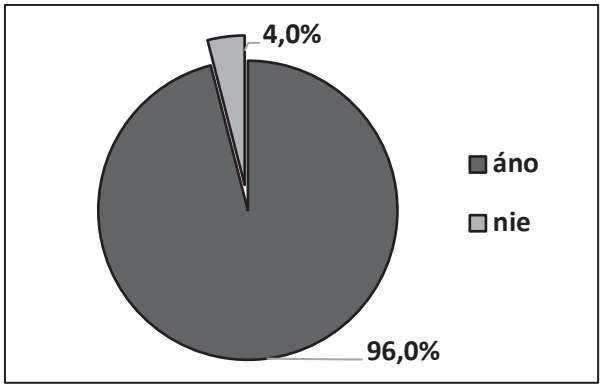
Vybraná vzorka žiakov svoju odpoveď i konkretizovala – príkladom sú 4 žiaci (16,0 %), pre ktorých sa časť o *informáciách celého vesmíru* (A), stala tou najzaujímavejšou. Na podobný priebeh odpovedí je možné poukázať aj pri ďalšej zastúpenej možnosti – *informácie o planétach* (B). Túto možnosť si vybrali traja žiaci (12,0 %).

Medzi menej zastúpené možnosti je možné zaradiť *informácie o NASA* (F) – 2 žiaci (8,0 %); *fotenie sa pomocou rozšírenej reality ako kozmonaut* (D) – 1 žiak (4,0 %); *ukážka vesmírnych družíc, sond a lodí* (C) – 1 žiak (4,0 %). Možnosť *informácie o ISS* (E) a možnosť *nič* (H) neboli zastúpené (graf 3).



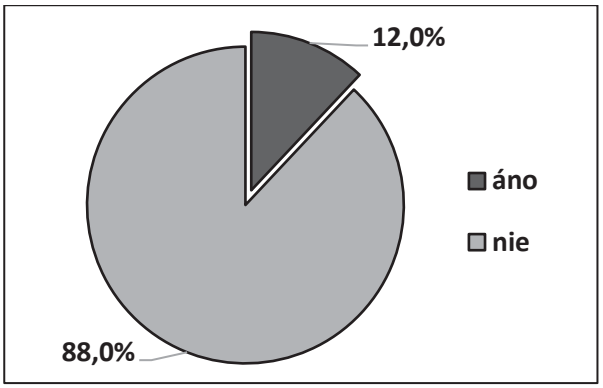
Graf 3 Grafické vyhodnotenie otázky č. 3
zdroj, spracovanie: autor

Pri otázke č. 4 sme svoje bádanie zamerali na atraktivitu využívania aplikácií, podporujúcich rozšírenú realitu počas výchovno-vzdelávacieho procesu. Až 96,0 % opýtaných preferuje používanie aplikácií počas výchovno-vzdelávacieho procesu. Iba 4,0 % nevyhovuje používanie aplikácií podporujúcich vyššie spomínané technológie (graf 4).



Graf 4 Grafické vyhodnotenie otázky č. 4
zdroj, spracovanie: autor

Poslednou otázkou sme v prieskume zisťovali, či vybraná vzorka využívala aplikácie, ktoré by podporovali rozšírenú realitu aj na vyučovacích hodinách iných predmetov. Z celkového počtu opýtaných nevyužívalo rozšírenú realitu 22 žiakov (88,0 %), pričom traja žiaci (12,0 %) sa vyjadrili, že takéto aplikácie používali, a to práve na hodinách geografie (graf 5).



Graf 5 Grafické vyhodnotenie otázky č. 5
zdroj, spracovanie: autor

Prostredníctvom dotazníka sme dospeli k viacerým záverom. Žiakom 5. B sa v rámci pripravovanej klasickej vyučovacej hodiny podporujúcej používanie interaktívnych prvkov a aktivizujúcich metód páčilo viacero elementov. Uvádzajú, že sa na vyučovacej hodine naučili viacero nových, nepoznaných poznatkov.

Na základe dotazníka sme zistili aj skutočnosť, že vybranej vzorke žiakov sa práca s rozšírenou realitou prostredníctvom aktivizujúceho vyučovania počas výchovno-vzdelávacieho procesu veľmi páčila. Považujeme za významné doplniť fakt, že väčšina žiakov sa s používaním moderných didaktických (vyučovacích) prostriedkov počas iných vyučovacích hodín nestretla.

Dôležité je ale skonštatovať, že niektorým žiakom robili isté otázky problém, a to i napriek veku primeranej podobe dotazníka. Z tohto dôvodu je možné poukázať na isté protikladné závery vo výsledkoch.

Záver

Ako poukazuje *Národný inštitút vzdelávania a mládeže* prostredníctvom svojho *Inovovaného štátneho vzdelávacieho programu pre druhý stupeň základných škôl (ISCED 2)* [1], uvedený program ponúka nesmierne veľké množstvo príležitostí na rozvíjanie kognitívnych procesov žiakov. Avšak Madziková a Kancír [2] upozorňujú na skutočnosť, že level efektívnosti využitia didaktickej techniky závisí nielen od didaktickej úrovni učiteľa, ale aj od úrovne kvalifikácie a možností školy.

Didaktické prostriedky predstavujú učiteľovi k splneniu vopred stanoveného cieľa značnú pomoc. Ale aj tie majú svoje limity. I napriek veľkému počtu vykonaných výskumov za posledné dve desaťročia, je veľmi náročné prijať rozšírenú realitu vo vzdelávaní, a to z viacerých dôvodov. Možno sem zaradiť problém s tradičnými metódami učenia, s nákladmi na vývoj a údržbu týchto systémov alebo so všeobecnou odolnosťou proti novým technológiám [10].

Na základe vopred naštudovanej odbornej literatúry, ktorá nebola významná len z hľadiska použitia aktivizujúceho vyučovania, aktivizujúcich metód, digitálnych technológií, rozšírenej reality a didaktických prostriedkov, ale aj z hľadiska novonadobudnutých poznatkov z tematického celku Planéta Zem, ktorý sa vyučuje podľa *Inovovaného školského vzdelávacieho programu pre druhý stupeň základných škôl (ISCED 2)* pre 5. ročník, bolo možné dosiahnuť cieľ tohto príspevku.

Cieľom príspevku bolo poukázať na využitie didaktických prostriedkov *Národného úradu pre letectvo a vesmír* (The National Aeronautics and Space Administration, skrátene NASA) vo vyučovaní geografie.

Poďakovanie

Svoje poďakovanie by som rád vyjadril školiteľke, *doc. RNDr. Jane Vojtekovej, PhD.,* za jej odborné vedenie, pripomienky a cenné rady smerujúce k tomuto príspevku. Ďalej by som svoju vďaku rád vyslovil *PaedDr. Vlaste Štefanovičovej* za štylistickú a gramatickú úpravu textu. Vrúcnu vďaku za možnosť prezentácie vyučovacej hodiny podporujúcej aktivizujúce vyučovanie venujem *pedagogickým zamestnancom Spojenej katolíckej školy v Nitre – Základnej školy sv. Svorada a Benedikta***.** Za vyhotovenie fotografického materiálu veľmi pekne ďakujem *Bc. Nikole Bajnokovej.*

Použitá literatúra

[1] Inovovaný štátny vzdelávací program - Geografia. [online]. Národný inštitút vzdelávania a mládeže: 2014 [cit. 01. 01. 2023]. Dostupné z: https://www.statpedu.sk/files/articles/dokumenty/inovovany-statny-vzdelavaci-program/geografia_nsv_2014.pdf

[2] MADZIKOVÁ, Alena. – KANCÍR, Ján. 2020. Didaktika geografie. Prešov : PU v Prešove, 198 s. ISBN 978-80-555-2574-7.
[3] About NASA. [online]. NASA: 2022. [cit. 01. 01. 2023]. Dostupné z: https://www.nasa.gov/about/index.html
[4] HANULIAKOVÁ, Jana. 2015. Aktivizujúce vyučovanie. Bratislava : Iris, 128 s. ISBN 978-80-8153-036-4.
[5] ŠUTOVCOVÁ, Lenka. 2021. Aktivizujúce metódy ako nástroj rozvíjajúci tvorivé a kritické myslenie. In Edukácia, roč. 4, č. 2, str. 109-122. ISSN 1339-8725.
[6] MICHEL, N., et. al. 2009. Active Versus Passive Teaching Styles: An Empirical Study of Student Learning Outcomes. In Human resource development quarterly, vol. 20, no. 4, pp. 397-418. ISSN 1532-1096.
[7] MISTRÍK, Erich. 2014. Zmysel a možnosti rozvojového vzdelávania. Rozvojové vzdelávanie. Témy a metódy. Bratislava: Pontis. s. 6-34. ISBN 978-80-971310-2-9.
[8] KOTRBA, Tomáš. – LACINA, Lubor. 2015. Aktivizační metody ve výuce. Brno : Barrister & Principal, 188 s. ISBN 978-80-87474-34-1.
[9] HALEEM, Abid. – JAVAID, Mohd. – QADRI, Mohd Asim. – SUMAN, Rajiv. 2022. Understanding the role of digital technologies in education: A review. In Sustainable Operations and Computers, vol. 3, pp. 275-285. ISSN 2666-4127.
[10] KANGDON, Lee. 2012. Augmented Reality in Education and Training. In TechTrends, vol. 56, no. 2, pp. 13-21. ISSN 1559-7075.
[11] CHANG, George. – MORREALE, Patricia. – MEDICHERLA, Padmavathi S. 2010. Applications of augmented reality systems in education. In D. Gibson & B. Dodge (Eds.), Proceedings of Society for Information Technology & Teacher Education International Conference, vol. 2010, no. 1, pp. 1380-1385. ISBN 978-1-880094-78-5.
[12] YANIAWATI, Poppy. – SUDIRMAN. – MELLAWATY. – INDRWAN, Rully. – MUBARIKA, Melinda Putri. 2023. The potential of mobile augmented reality as a didactic and pedagogical source in learning geometry 3D. In Journal of Technology and Science Education, vol. 13, no. 1, pp. 4-22. ISSN 2013-6374.
[13] NASA Apps for Smartphones, Tablets and Digital Media Players. [online]. NASA: 2021. [cit. 01. 01. 2023]. Dostupné z: https://www.nasa.gov/connect/apps.html>
[14] NASA App for Smartphones, Tablets and Digital Media Players. [online]. NASA: 2021. [cit. 01. 01. 2023]. Dostupné z: https://www.nasa.gov/nasaapp
[15] NASA on the App Store. [online]. Apple – App Store: 2023. [cit. 02. 01.2023]. Dostupné z: https://apps.apple.com/us/app/nasa/id33432551
[16] NASA – Apps on Google Play. Google Play: 2023. [cit. 02. 01.2023]. Dostupné z: https://play.google.com/store/apps/details?id=gov.nasa&hl=en&gl=US
[17] ISS Explorer on the App Store. [online]. Apple – App Store: 2023. [cit. 02. 01. 2023]. Dostupné z: https://apps.apple.com/us/app/iss-explorer/id1429876038
[18] ISS Explorer – Apps on Google Play. [online]. Google Play: 2023. [cit. 02. 01. 2023]. Dostupné z: <https://play.google.com/store/apps/details?id=gov.nasa.jsc.igoal.ISSExplorer&hl=en&gl=US&pli=1>
[19] ISS Live Now on the App Store. [online]. Apple – App Store: 2023. [cit. 02. 01. 2023]. Dostupné z: <https://play.google.com/store/apps/details?id=com.nicedayapps.iss_free/us/app/iss-live-now/id1138994692>
[20] ISS Live Now – Apps on Google Play. [online]. Google Play: 2023. [cit. 2.1.2023]. Dostupné z: https://play.google.com/store/apps/details?id=com.nicedayapps.iss_free&hl=en_GB
[21] Spacecraft AR on the App Store. [online]. Apple – App Store: 2023. [cit. 02. 01. 2023]. Dostupné z: https://apps.apple.com/us/app/spacecraft-ar/id1452909829
[22] Spacecraft AR – Apps on Google Play. [online]. Google Play: 2023. [cit. 02. 01. 2023]. Dostupné z: https://play.google.com/store/apps/details?id=gov.nasa.jpl.spacecraftAR
[23] NASA Selfies on the App Store. [online]. Apple – App Store: 2023. [cit. 02. 01. 2023]. Dostupné z: https://apps.apple.com/us/app/nasa-selfies/id1423796149
[24] NASA Selfies – Apps on Google Play. [online]. Google Play: 2023. [cit. 02. 01. 2023]. Dostupné z: https://play.google.com/store/apps/details?id=com.nasa.selfies
[25] NASA Solar System Explorations. [online]. NASA: 2023. [cit. 01. 01. 2023]. Dostupné z: https://solarsystem.nasa.gov

Analýza finančného stavu vybraného podniku

Analysis of the financial status of the selected company

Tomáš Knížat[1]
Školiteľ: Michal Levický[2]
[1,2] Ústav Ekonomiky a manažmentu, FPVaI UKF, Tr. A. Hlinku 1, 949 01 Nitra,
[1] tomas.knizat@student.ukf.sk, [2] *mlevicky@ukf.sk*

Abstrakt
Finančná analýza predstavuje jeden zo základných nástrojov diagnostiky finančného stavu podniku. Cieľom záverečnej práce bude na základe aplikácie vybraných metód finančnej analýzy popísať finančné postavenie podniku a vysloviť odporúčania, ktoré by mohli podniku napomôcť k zlepšeniu jeho finančného zdravia, respektíve k zvýšeniu finančnej výkonnosti. Zdrojmi informácií z ktorých sme čerpali boli hlavne účtovné závierky spoločnosti, ale aj ďalšie interné a externé zdroje informácií. Na základe dosiahnutých výsledkov môžeme skonštatovať, že vybraný podnik je vo veľmi dobrom finančnom stave a má dobré vyhliadky do budúcnosti.
Kľúčové slová: finančná analýza, pomerové ukazovatele, účtovná závierka, súvaha predikcia finančného stavu podniku

Abstract
Financial analysis is one of the basic tools for diagnosing the financial state of a company. The aim of the final thesis will be to describe the financial position of the company based on the application of selected methods of financial analysis and to make recommendations that could help the company to improve its financial health, or to increase financial performance. The sources of information from which we drew were mainly the company's financial statements, but also other internal and external sources of information. Based on the achieved results, we can conclude that the selected company is in a very good financial condition and has good prospects for the future.
Key words: financial analysis, ratio indicators, financial statement, balance sheet, prediction of the company's financial status

Úvod

V súčasnosti je podnikanie riskantné je potrebné neustále vymýšľať nové výrobné metódy a produkty, aby sme zaujali potencionálnych zákazníkov alebo nadviazali nové spolupráce s inými podnikmi. To znamená, že zmenám, ktoré každoročne prichádzajú a tým vystavujú podniky pod určitý tlak sa nedá vyhnúť a je dôležité ,aby sme ich využili pre náš prospech a zareagovali sme na ne v správny čas, tým môžeme byť lepší ako konkurencia v odvetví v ktorom sa skúmaný podnik nachádza. Finančná analýza podniku je založená na určitých metódach podľa ktorých vieme zistiť ako sa danému podniku momentálne darí alebo aj darilo v predchádzajúcom období. Taktiež porovnaním zistíme ako sa podnik zlepšil alebo naopak zhoršil oproti minulým rokom. Údaje o finančnom stave podniku sme získali z účtovných závierok alebo z poznámok k nim, ktoré sme následne analyzovali a využili sme ich pri praktickej časti našej diplomovej práce. Na základe diplomovej práce bude našou úlohou zistiť pomocou vybraných metód analyzovať finančný stav podniku a taktiež zistiť jeho slabé stránky. Na základe získaných informácii mu pomôcť k zlepšeniu jeho finančného zdravia a k dosiahnutiu cieľov, ktoré si podnik stanovil, či už na najbližší rok alebo sú to ciele z dlhodobého hľadiska. Veľmi dôležitú úlohu zohrávajú údaje, ktoré vstupujú do samotnej finančnej analýzy, ktorú budeme vykonávať vo vybranom podniku, či sú údaje korektné a nie sú ovplyvnené za nejakým účelom. Z uvedeného vyplýva, že finančná analýza závisí z veľkej časti od analytika, ktorý ju vykonával a či je dostatočne skúsený a či nie je nejako ovplyvnení. Skúmaným podnikom v našej diplomovej práci bude podnik STAVEX Nitra, s.r.o, ktorý sa aktuálne nachádza v Nitre na ulici Jakuba Haška 1. Vznikol v roku 1997 a podnik je zameraný najmä na výrobu betónových modulárnych kúpeľní, čiže sa nachádza v odvetví stavebníctva. Tieto kúpeľne sa dovážajú do celej EÚ, ale podnik má zákazníkov s najväčšími odbermi z Nemecka, pretože tam dlhoročne spolupracuje s viacerými veľkými stavebnými firmami pre ktoré náš skúmaný podnik dodáva modulárne kúpeľne, ktoré dodáva už v kompletnom stave do rôznych nových projektov alebo aj pri prestavbách.

1 Metódy

Ak je predmetom skúmania ekonomický proces alebo jav, hovoríme o ekonomickej analýze. Ekonomická analýza, kde peniaze a čas hrajú hlavnú úlohu, sa nazýva finančná analýza. Pôvodné chápanie finančnej analýzy bolo založené na zobrazovaní rozdielov v absolútnych metrikách v peňažných jednotkách. Finančná analýza sa postupne zamerala na skúmanie účtovnej závierky z pohľadu hodnotenia bonity podniku, až neskôr vyplávali na povrch otázky ako likvidita podniku, prežitie a životaschopnosť podniku, ziskovosť a ekonomika. Finančná analýza sa najčastejšie vykonáva v účtovnom oddelení podniku, teda ide o komplexnú analýzu finančnej situácie podniku. Na základe analyzovaných údajov rozlišujeme[1]:

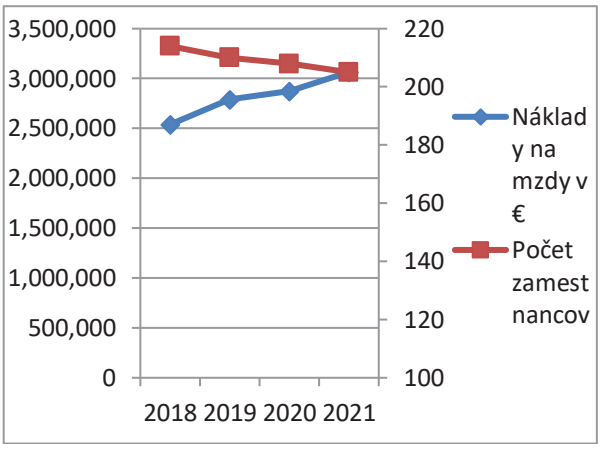
- analýzu ex post- posúdenie finančného zdravia spoločnosti na základe údajov z minulosti.
- analýzu ex ante- využivajú sa aktuálne informácie s prognózami do budúceho vývoja.

2 Zdroje údajov pre finančnú analýzu

Medzi základné vstupné údaje pre finančnú analýzu patrí účtovná závierka alebo výročné správy, ak má účtovná jednotka povinnosť vyhotovovať výročné správy, preto sa v tomto prípade finančná analýza nazýva aj analýza účtovnej závierky. Číselné údaje účtovnej závierky sú ukazovatele, ktoré samy o sebe majú nejakú vypovedaciu schopnosť. Ten, kto analyzuje účtovnú závierku, musí poznať obsah, štruktúru a zásady zostavovania účtovnej závierky, aby vedel, čo konkrétne ukazovatele finančnej analýzy znamenajú. Účtovná závierka jednotky podvojného účtovníctva pozostáva z troch častí: súvaha, výkaz ziskov a strát a poznámky. V rámci poznámok sú niektoré účtovné jednotky povinné vyhotoviť dodatočné výkazy, a to prehľad o zmenách vlastného imania a prehľad o peňažných tokoch. Výkaz peňažných tokov poskytuje informácie o zmenách vo finančnej situácii účtovnej jednotky, t.j. o príjmoch a platbách peňažných prostriedkov a prírastkoch [1].

Personálne vybavenie spoločnosti

Graf 1 znázorňuje vývoj počtu zamestnancov v rokoch 2018 až 2021 a nákladov spoločnosti na mzdy. Môžeme z neho vidieť, že v celom sledovanom období počet zamestnancov miene klesá, ale neudiali sa tam nejaké veľké zmeny v počte zamestnancov. Čo sa týka ročných nákladov na mzdy tak tam môžeme vidieť priebeh, kde každoročne tieto náklady rastú Priemerná mzda je približne 990€ v roku 2018 a v roku na 2021 vzrástla na hodnotu 1245€. Mzdové náklady rastú intenzívne, je to zapríčinené rôznymi druhmi príplatkov a nákladov spojených so zamestnávaním pracovníkov na základe legislatívy.



Graf 1: znázorňuje počet zamestnancov a ročné náklady na mzdy, zdroj: vlastne spracovanie na základe účtovný závierok a výročných správ

1.1Finančná analýza ex-post

Analýza finančného stavu je základom analýzy ekonomickej výkonnosti podniku a zvyčajne sa rozvíja smerom k hlavným oblastiam a výsledkom, akými sú efektívnosť, prínos, miera využitia kapacít a riadenie zvyšovania produkcie. Finančná analýza odhaľuje slabé a silné stránky firmy, je nástrojom na diagnostiku „zdravia“ a poskytuje základné informácie pre manažment a vlastníkov firmy[2] .

Prehodnotenie finančnej situácie podniku sa deklaruje súborom finančných ukazovateľov, ktoré musia byť štruktúrované a zostavené tak, aby odrážali všetky podstatné aspekty finančnej situácie. Preto sa na popis finančnej situácie používajú pomerové ukazovatele. Indexové ukazovatele vám umožňujú porovnávať vašu spoločnosť s inými spoločnosťami alebo s ukazovateľmi pre danú oblasť. Súčet pomerov ukazovateľov, ktoré uvádzame, môže byť súčet reprezentatívnych ukazovateľov. Pôjde najmä o najčastejšie používané ukazovatele charakteristík finančnej situácie. Spolu s praktickou aplikáciou sa však používajú desiatky ukazovateľov a nie je možné ich všetky vymenovať [3].

Metódy analýzy finančných výkazov zvyčajne pozostávajú z nasledujúcich chronologicky súvisiacich krokov [4]:

- analýza absolútnej hodnoty
- časová analýza
- vertikálna analýza
- horizontálna (bilančná) analýza

1.2 Analýza pomerových ukazovateľov

Pomerové finančné ukazovatele sú najčastejšie používaným metodickým nástrojom finančnej analýzy. Sú formou číselného vzťahu pre finančné a účtovné údaje. Umožňujú nám rýchlo a lacno pochopiť základné finančné charakteristiky spoločnosti. Sú sitom, ktoré zachytáva oblasti, ktoré si vyžadujú hlbšiu analýzu. Medzi ich ďalšie výhody patrí [5]:

- možnosť porovnávania spoločností rôznych veľkostí (patria do relatívnych ukazovateľov, intenzity),
- možnosť porovnania s rozpočtovanými hodnotami,
- schopnosť vykonávať analýzu časového vývoja finančnej situácie podniku,
- využitie v internom prostredí spoločnosti na porovnanie efektívnosti centier,
- možnosť ich využitia ako vstupných údajov do matematických modelov, ktoré umožňujú popísať vzťahy medzi javmi, klasifikovať stavy, hodnotiť hrozby a predpovedať budúci vývoj,
- možnosť ich využitia na hlbšie prierezové analýzy spočívajúce v porovnaní finančnej situácie podniku s finančnou situáciou podobných podnikov a pod.

1.3 Finančná analýza ex-ante

Rýchly test

Ako už názov napovedá, ide o model, ktorého sila spočíva v rýchlosti predikčných výpočtov. V roku 1990 ju navrhol P. Králíček. Výpočtová rýchlosť a jednoduchosť však nie sú len výhodami modelu, ale aj jeho nevýhodami, keďže čím je model rýchlejší a jednoduchší, tým sú výsledky menej presné. Rýchly test teda môže len naznačiť, či v budúcnosti nenastanú finančné problémy [6].

Tafflerov model

Model využíva najmenší počet ukazovateľov spomedzi ostatných známych modelov a zaujímavé je, že nevyužíva rentabilitu aktív, ktoré zohrávajú kľúčovú úlohu v iných modeloch. Upravený variant modelu má podobu [7]:

$$T = 0{,}53 \times X1 + 0{,}13 \times X2 + 0{,}18 \times X3 + 0{,}16 \times X4$$

Altmanovo Z-skóre

Jeho autorom je profesor Altman, v roku 1966 spracoval štatistické údaje na vzorke náhodne vybraných 66 podnikov, z ktorých 33 prešlo v posledných 20 rokoch konkurzným konaním a 33 podnikov, ktoré dovtedy konkurzné konanie neabsolvovali. Snažil sa podniky rozdeliť sledované skupiny podnikov na dve množiny- podniky zdravé a bankrotujúce. Pracoval s údajmi dostupnými účtovnej evidencie, odhadol parametre diskriminačnej funkcie a stanovil hodnoty ukazovateľa Z. Kritické hodnoty ukazovateľa Z, ktoré odvodil Altman, mali nasledujúce hodnoty a interpretácie[8]:

ak Z > 2,99 podnik je v dobrej finančnej situácii, bez ohrozenia bankrotom,

ak 1,81 < Z < 2,99 situácia podniku je nejednoznačná,

ak Z < 1,81 finančná situácia podniku môže viesť k jeho bankrotu.

In 05 index

Pomocou indexu IN05 môžeme odpovedať na niekoľko otázok, napríklad, či je spoločnosť bonitná, či sa nachádza v šedej zóne alebo či ju nemožno s dostatočnou pravdepodobnosťou zaradiť do žiadnej z týchto skupín tým pádom jej hrozí bankrot, čo v konečnom dôsledku znamená, že spoločnosť môže inklinovať k jednej z troch možných alternatív [7].

2 Výsledky a diskusia

Na základe hodnôt ukazovateľov likvidity, ktoré uvádza tabuľka 1, je možné konštatovať, že spoločnosť by nemala mať problém s platením svojich záväzkov. V každom prípade dosahovali hodnoty vybraných ukazovateľov likvidity vyššie hodnoty, ako tie, ktoré sú minimálne na dosiahnutie spodné hranice odporúčaných intervalov. Počas všetkých rokov sa hodnoty ukazovateľov nachádzali v odporúčanom intervale a horná hranica nebola prekročená, najvyššie hodnoty dosiahol podnik v roku 2020.

Tabuľka 1 vývoj hodnôt základných ukazovateľov likvidity

Ukazovateľ	Hodnota ukazovateľa				Odporúčane hodnoty
	2018	2019	2020	2021	
Celková likvidita	2,28	1,91	2,38	1,55	1,5-2,5
Bežná likvidita	2,28	1,85	2,33	1,43	1-1,5
Pohotová likvidita	0,27	0,25	0,95	0,55	0,2-1

Ukazovatele aktivity nám dávajú informáciu o tom, či podnik efektívne využíva svoj majetok. Hodnoty základných ukazovateľov aktivity, sú zobrazené v tabuľke 2 .Podľa tabuľky 2 hodnota ukazovateľa doba obratu zásob vo vzťahu k tržbám má klesajúci trend, ale v roku 2021 sme zaznamenali nárast zo 4 na 14 dní. Tento vývoj nie je priaznivý, ideálne by bolo znižovanie hodnoty ukazovateľa, čo by znamenalo, že podnik dokáže vyrobiť a zrealizovať produkciu rýchlejšie. Za dôvod tohto stavu možno pokladať to, že v roku 2021 sa oproti predchádzajúcemu obdobiu zvýšila hodnota výrobkov na sklade, ktoré podnik nestihol zrealizoval. Totožný trend vývoja bol pri ukazovateli dobra obratu zásob, ktorý sme počítali vo vzťahu k nákladom. Čo sa týkalo doby inkasa pohľadávok sme zaznamenali kolísavý trend od roku 2018 až po rok 2020 klesal a v roku 2021 bol nárast o 12dni oproti prechádzajúcemu roku. Uvedené hodnoty nás informujú o tom, za akú dobu sa priemerne splácajú faktúry odberatelia, podniku. Ukazovateľ doba splácania záväzkov vo vzťahu k tržbám dosahuje klesajúci trend, čo môžeme považovať pozitívne, až po rok 2021 kedy sme zaznamenali nárast zo 45 dní na 68 dní. Táto hodnota vyjadruje, akú dobu podnik priemerne potrebuje na to aby zaplatil faktúry, ktoré má od dodávateľov. Podnik na základe uvedeného má veľmi priaznivé hodnoty. V roku 2018 bola hodnota ukazovateľa 34 dní a na základe informácií z poznámok k účtovnej závierke tiež možno skonštatovať, že podnik nemal žiadne záväzky po lehote splatnosti. Vývoj ukazovateľa počítaného k nákladom mal rovnaký trend ako hodnoty ukazovateľa počítaného k tržbám. Taktiež v roku 2021 sme zaznamenali výrazný nárast vo vzťahu k nákladom a to z 81 dní na 119 dní.

Tabuľka 2 Hodnoty vybraných ukazovateľov aktivity(v dňoch)

Ukazovateľ	Hodnota ukazovateľa			
	2018	2019	2020	2 2021
Doba obratu zásob	x	x	x	x
vo vztahu k tržbám	8	5	4	14
vo vztahu k nákladom	8	5	4	14
Doba inkasa pohľadávok	147	137	110	122
Doba splácania záväzkov	x	x	x	x
vo vzťahu k tržbám	66	50	45	68
vo vzťahu k nákladom	106	81	81	119

Predikcia finančného stavu podniku

Zhodnotenie doterajšieho vývoja spoločnosti prostredníctvom metód finančnej analýzy ex post doplníme aj o predpoveď finančného stavu podniku do budúcnosti. Pre naše potreby sme si zvolili nasledujúce 2 modely a to Rýchly test, a Altmanovo Z-score. Prvý zo zvolených modelov bol zostrojený bodovou metódou a je založený na súčte bodov pre rôzne hodnoty vybraných ukazovateľov Jednotlivé ukazovatele rýchleho testu a bodovanie za skúmané obdobie sú zobrazené v tabuľke 3.

Tabuľka 3 výpočet a predikcia finančného stavu podniku Rýchlym testom

Ukazovateľ	2019		2020		2021	
	Hodnota	Body	Hodnota	Body	Hodnota	Body
Podiel vlastného kapitálu	0,839	1	0,852	1	0,780	1
Doba splácania dlhov	2,760	1	2,770	1	1,920	1
Podiel cash flow na výnosoch	0,090	2	0,138	1	0,009	2
Rentabilita celkového kapitálu	0,022	4	0,051	4	0,035	4
Spolu body		8		7		8

Na základe modelu Rýchly test sa k jednotlivým hodnotám ukazovateľov určujú body od 1 do 5. Podnik celkovo môže získať najmenej 4 body a najviac 20 bodov. Je potrebné povedať aj to ,že čim menši počet bodov podnik dosiahne tým je jeho budúci stav z hľadiska financií lepší. Aby sme mohli povedať, že finančná situácia podniku je veľmi dobrá, hodnota rýchleho testu musí byť maximálne 8. Podľa toho, teda môžeme povedať, že náš podnik splnil tento počet bodov v každom roku sledovaného obdobia. V roku 2020 bola hodnota testu najnižšia, kde podnik dosiahol celkovo 7 bodov. Podnik dosahoval zlé hodnotenie len pri ukazovateli rentabilita celkového kapitálu kde mal v každom roku 4 body. Ale celkovo môžeme zhodnotiť, že podniku by sa malo v budúcnosti dariť ďalej a nemal by mu hroziť bankrot.

Predikcia finančného stavu Altmanovo Z-score

V tabuľke 4 môžeme vidieť, že najhoršie hodnoty dosahoval podnik v roku 2021, výsledná hodnota Z, bola najnižšia počas sledovaného obdobia v tomto roku, avšak podnik dosiahol hodnotu 2,88, čo je stále nad hodnotou 2,6, čiže podnik môžeme považovať ako podnik s dobrou finančno-ekonomickou situáciou. Keď sa pozrieme na vývoj hodnoty Z-score za prvé tri roky tak hodnota stále rastie, dokonca v roku 2020 skoro dosiahol hodnotu 4,0, čiže v tomto roku sa podniku najviac darilo. Môžeme teda do budúcna skonštatovať, že podniku by sa malo dariť a naďalej by mal zostať v takzvanej zelenej zóne. Znamená to, že podnik má menej dlhov ako je majetok firmy. Navyše sa podniku darí každoročne produkovať zisk.

Tabuľka 4 Predikcia finačného stavu Altmanovo Z-score

Ukazovateľ	Váha faktora	Skutočná hodnota			Prepočítaná hodnota		
		2019	2020	2021	2019	2020	2021
Čistý prevádzkový kapitál/celkový kapitál	0,72	0,21	0,26	0,21	0,15	0,19	0,15
Nerozdelený zisk/celkový kapitál	0,85	0,79	0,78	0,72	0,67	0,66	0,61
EBIT/celkový kapitál	3,11	0,04	0,07	0,05	0,12	0,21	0,17
Vlastný kapitál/cudzí kapitál	0,42	4,75	5,24	3,26	2,00	2,20	1,37
Tržby/celkový kapitál	1,00	0,69	0,68	0,58	0,68	0,68	0,58
Zeta-koeficient	x	x	x	x	**3,62**	**3,94**	**2,88**

Návrhy a odporúčania

Môžeme povedať po zhodnotení všetkých pomerových ukazovateľov je na tom podnik celkom dobre, ale stále má čo zlepšovať. Predikčné modely patria medzi ďalšie indikátory finančného zdravia. Podľa vykonanej analýzy môžeme za najlepší rok považovať rok 2020. Všetky modely hodnotia podnik za prosperujúci s dobrými hodnotami, podnik je finančne zdravý a stabilný bez ohrozenia bankrotu. Bonitné modely zobrazujú, že schopnosť splácať záväzky v spoločnosti sa každým rokom znižuje. Kralickov rýchli test, v každom sledovanom roku dosiahol súčet bodov menej než 8, to znamená pre podnik veľmi dobrú finančnú situáciu. Altmanovo Z-score má taktiež veľmi dobré hodnoty ktoré sú vyššie ako 2,6, čo predstavuje, že podnik má dobrú finančno-ekonomickú situáciu, je silný a zdravý. Ďalším návrhom k zlepšeniu finančného zdravia je zvýšenie propagácie spoločnosti na sociálnych sieťach ako facebook alebo instagram, kde by mohli získať, či už nových odberateľov predávaného tovaru alebo nadviazať nové spolupráce, či získať investorov. Aj keď spoločnosť dlhoročne pôsobí na trhu, konkurencia je silná. Podnik by mohol prísť s nejakým novým produktom a to prilákalo nových zákazníkov a tiež by to privítali aj stáli odberatelia.

Prínos pre odbornú didaktiku

Rozvoj matematicko-ekonomických výpočtov, pre žiakov a taktiež sa dá využiť ako pomoc pri riešení finančnej analýzy konkrétneho podniku, pri ktorom potrebujeme poznať základné metódy podľa, ktorých vieme túto analýzu vykonať. Alebo sa dá táto práca použiť pri výučbe na stredných školách, na pochopenie postupu riešenia ex- post a ex- ante analýzy.

Záver

Na základe uvedeného možno konštatovať, že podnik STAVEX Nitra, s.r.o., možno považovať za výkonný podnik s veľmi dobrým finančným zdravím. Napriek uvedenému sme podniku, však navrhli odporúčania spočívajúce v propagácii a odporúčame znížiť dobu obratu pohľadávok čo by podniku mohlo pomôcť si naďalej držať veľmi dobrý finančný stav, zdravie a naďalej odolávať konkurencii aj v budúcom období.

Poďakovanie

Touto cestou chcem poďakovať môjmu školiteľovi Ing. Michalovi Levickému, PhD. za cenne rady a nasmerovanie, ktoré mi pomohli pri tejto analýze finančného stavu podniku STAVEX Nitra s.r.o.

Použitá literatúra

[1]ŠLOSAROVÁ, Anna, BLAHUŠIAKOVÁ, Miriama, 2017, Analýza účtovnej závierky. Bratislava: Wolters Kluwer, s. 280-286. ISBN:978-80-816-8589-7

[2]VLACHYNSKÝ, Karol. Podnikové financie. Bratislava: IURA EDITION, 2009. Ekonómia, zv. 319. ISBN 978-80-8078-258-0.

[3]BARAN D.,PASTÝR A., 2017. Use Of Financial-Economic Analysis In Industrial Companies In The Metal, Metallurgy And Engineering Sector In The Slovak Republic. ISSN 1339-9403. Dostupnéna: https://www.forummanazera.sk/item.php?id=8[cit. 29.10.2022]

[4]LEVICKÝ, M., 2022. Finančná analýza podniku. Univerzita Konštantína Filozofa v Nitre. 114. s.38-39. ISBN:978-80-558-1861-0.

[5]KOTULIČ Rastislav a spol., 2018. Finančná analýza podniku, Vydavateľstvo: WoltersKluwer. s.32-35. ISBN 978-80-8168-888-1.

[6]KABÁT, Ladislav, Monika SOBEKOVÁ MAJKOVÁ a Zuzana VINCÚROVÁ. Hodnotenie podniku a analýza jeho finančného zdravia. Bratislava: Iura Edition, 2013. Ekonómia, 466. ISBN 978-80-8078-608-3.

[7]VOCHOZKA, M. (2020). Metody komplexního hodnocení podniku. Praha : Grada Publishing. 479 s. ISBN 978-80-271-1701-7. s.44

[8]FINANČNÝ MANAŽÉR Periodikum Slovenskej asociácie podnikových finančníkov 2011., ISSN 1335-5813.

„Hore na Šarišský hrad“ – návrh geografickej vychádzky pomocou platformy Wherigo

“Up to Šariš Castle” – the proposal of a geographical walk using the Wherigo platform

Anna Timková[1]
Školiteľ: Hilda Kramáreková[2]
[1,2]Katedra geografie, geoinformatiky a regionálneho rozvoja,
FPVaI UKF, Tr. A. Hlinku 1, 949 01 Nitra
[1] anna.timkova@student.ukf.sk, [2] hkramarekova@ukf.sk

Abstrakt

Šarišský hrad, okrem bohatej histórie a krásneho prírodného prostredia, ponúka aj možnosť terénnej výučby. V areáli tejto prírodnej rezervácie sa nachádza náučný chodník s informáciami, ktoré sa dajú v edukačnom procese výborne využiť.

V príspevku charakterizujeme základné informácie o Šarišskom hrade z geografického i historického hľadiska, prezentujeme postavenie geografickej vychádzky v edukácii a vysvetľujeme, čo ponúka platforma Wherigo. Cieľom príspevku je vytvorenie návrhu geografickej vychádzky pomocou platformy Wherigo.

Počas vypracovania príspevku sme zhromaždené informačné zdroje aj terénnym výskumom spracovali metódami analýzy, komparácie a vysvetľujúceho opisu. Pri vzniku obsahovej štruktúry sme použili systémovú metódu. Informácie boli vizualizované pomocou obrázkov a vlastných fotografií.

Kľúčové slová: geografická vychádzka, Šarišský hrad, Wherigo

Abstract

Šariš Castle, in addition to its rich history and beautiful natural environment, also offers the possibility of field training. In the area of this nature reserve there is an educational trail with information that can be used very well in the education process.

In the article, we characterize the basic information about Šariš Castle from a geographical and historical point of view, present the position of geographical walks in education and explain what the Wherigo platform offers. The aim of the post is to create a proposal of a geographical walk using the Wherigo platform.

During the preparation of the article, we also processed the collected information sources through field research using the methods of analysis, comparison and explanatory description. When creating the content structure, we used the system method. The information was visualized using images and own photos.

Key words: geographical walk, Šariš Castle, Wherigo

Úvod

Geografia je vo všeobecnosti predmetom o krajine. Nemala by sa preto viazať iba na výučbu v triede. Možnosti na vyučovanie mimo triedy alebo školy ponúka aj špecifická organizačná forma, akou je geografická vychádzka. Geografická vychádzka vytvára priestor učiteľovi i žiakom byť priamo v teréne a skúmať, či študovať objekty a javy v ich prirodzenom prostredí [1].

Moderná doba umožňuje využívať moderné technológie, ktoré nám ponúkajú počítače, tablety, či smartfóny. Tieto si našli svoje miesto aj v školách. Napriek nezhodám, či už odmietania alebo prijatia technológií v školách, dnes málokto poprie, že by tieto technológie v oblasti vzdelávania, hoci iba do určitej miery, neboli prínosné [2].

Cieľom príspevku je vytvorenie návrhu geografickej vychádzky pomocou platformy Wherigo na príklade Šarišského hradu.

1 Teoreticko-metodické východiská

Prvým krokom pri vytváraní tohto príspevku bolo zhromažďovanie informácií v printovej a elektronickej podobe súvisiacich so Šarišským hradom a platformou Wherigo, ako aj terénnym výskumom.

Základnými zdrojmi pre získavanie informácií o Šarišskom hrade boli online stránky Severovýchod [3] a Atlas krajiny Slovenskej republiky [4]. Informácie o možných prístupoch k hradu sme čerpali zo Stratégie miestneho rozvoja vedeného komunitou [5] a portálu Cestovné poriadky [6]. Informácie o histórii Šarišského

hradu nám poskytli dva internetové zdroje [7, 8]. Z publikácie od Michalovej [1] a Madzikovej a Kancíra [9] sme získali poznatky pre kapitolu o postavení a význame geografickej vychádzky v edukačnom procese. O platforme Wherigo sme infomácie získali z online stránok [10, 11], rovnako tak aj o programe Urgiwo [12] a aplikácii WhereYouGo [13] pre Android.

Zhromaždené informačné zdroje sme spracovali metódami analýzy, komparácie a vysvetľujúceho opisu. Pri vzniku obsahovej štruktúry príspevku sme použili systémovú metódu. Vizualizáciu obsahu sme zabezpečili pomocou obrázkov a vlastných fotografií.

2 Základné informácie o Šarišskom hrade

2.1 Vymedzenie a charakteristika

Šarišský hrad sa nachádza na východnom Slovensku na území mesta Veľký Šariš v okrese Prešov. Zastavaná plocha hradu je 2,4 ha.

Šarišský hradný vrch patrí do geomorfologického celku Spišsko-šarišské medzihorie, podcelku Šarišské podolie a časti Šarišský vrch. Hradný vrch je budovaný neogénnymi vulkanitmi, vznikol sopečnou činnosťou. Utuhnutím lávy vznikli sopečné horniny sivej farby – andezity. Zvláštnosťou týchto andezitov sú ružovo-hrdzavé oká tvoriace granáty. Šarišský hradný vrch svojím geologickým zložením a geomorfologickým tvarom vytvára výnimočný prvok – sopečný exot. Územie Šarišského hradného vrchu patrí do teplej, mierne vlhkej oblasti s chladnou zimou. Ročne tu spadne 600-700 mm zrážok a priemerné teploty vzduchu v lete dosahujú okolo 17°C a v zime okolo -4°C. Pod severným úpätím Šarišského vrchu preteká rieka Torysa. Z pôdnych typov sa na území vrchu nachádzajú pseudogleje. Lesné porasty môžeme začleniť do dvoch vegetačných stupňov – dubovo-hrabového a bukového. Na južných svahoch prevláda vegetácia dubovo-hrabových lesov, v ktorých prevláda dub zimný a hrab obyčajný. Na severných svahoch dominuje buk lesný. Strmšie svahy Šarišského vrchu sú pokryté lipovo-javorovým lesom. Svahy hradného vrchu sú z hľadiska fauny a flóry zaujímavou lokalitou. Z rastlinných druhov sa tu nachádza ďatelina šarišská, ľalia zlatohlavá, chlpaňa hájna, zubačka žliazkatá alebo taričník skalný. Zo živočíchov sú zastúpené najmä vtáky, ako napríklad orol krikľavý, výr skalný, sova dlhochvostá, z dravcov napríklad myšiak lesný a sokol myšiar, ďalej sú to drobné cicavce, obojživelníky a plazy.

Šarišský hrad bol v roku 1963 vyhlásený za národnú kultúrnu pamiatku. Areál hradu sa nachádza na území národnej prírodnej rezervácie Šarišský hradný vrch, ktorá má rozlohu 145,74 hektára. Rezervácia bola vyhlásená v roku 1964 a platí v nej 5. stupeň ochrany. V roku 1989 tu bol otvorený náučný chodník s jedenástimi zastávkami [3, 4].

Šarišský hrad ako súčasť mesta Veľký Šariš je dobre dostupný viacerými spôsobmi – autobusovými spojmi SAD, MHD, vlakom (napr. z Prešova, Košíc, Kysaku alebo z opačného smeru z miest Lipany a Sabinov). Pod hradom je k dispozícii parkovisko pre autá, ku ktorému je cesta v meste veľmi dobre značená [5, 6].

2.2 História Šarišského hradu

Od dávnych čias bol Šarišský hradný vrch kultovou a posvätnou horou. Vo voľnej prírode sa tam konali náboženské obrady a slávnosti. Archeologický prieskum dokázal osídlenie Šarišského vrchu už v neolite.

Presné obdobie výstavby pôvodnej stavby nie je známe, avšak prvá zmienka o hrade menom Sarus pochádza z roku 1245. Po tatárskom vpáde túto pôvodnú pevnosť nahradila novostavba kamenného hradu spomínaná v listine kráľa Bela IV. z roku 1262. Hrad bol postavený z dôvodu ochrany severojužnej obchodnej cesty údolím rieky Torysy, ale taktiež aj kvôli strategicky významnej polohe. Od začiatku svojej existencie bol hrad kráľovským hradom.

Na hrade sa príležitostne zdržiavali uhorskí králi Belo IV., Štefan V. alebo Ladislav IV. Postupne však hrad prechádzal z majetku kráľa do vlastníctva šľachtických rodín a naopak. Prví šľachtickí majitelia hradu zo začiatku 14. storočia boli z rodu Omodejovcov. Tí hrad rozšírili a zosilnili jeho opevnenie. V roku 1312 po Bitke pri Rozhanovciach sa hrad znova stal kráľovským majetkom. Neskôr, v roku 1405, daroval kráľ Žigmund hrad Petrovi Perényimu a od neho ho potom získali Soósovci. Na krátky čas v rokoch 1441 - 1460 obsadil Šarišský hrad Ján Jiskra z Brandýsa s jeho kapitánmi. Po neúspešnom obliehaní, hrad dohodou nakoniec získal kráľ Matej Korvín. Ten hrad vrátil Perényiovcom, ktorí znova hrad rozšírili a opevnili. Neskôr, v roku 1537, hrad dobylo vojsko kráľa Ferdinanda I. Habsburského.

V 16. storočí bol hrad sídlom komory Horného Uhorska, a to od roku 1538 po dobu 20 rokov. Z obáv nájazdov Turkov po bitke pri Moháči sa uskutočnilo posilnenie obranného systému hradu. Šarišský hrad sa stal s 200 pešiakmi a 14 baštami nedobytnou stredovekou pevnosťou.

V roku 1645 noví majitelia Rákocziovci si za sídlo zvolili honosný kaštieľ v podhradí a hrad sa stal vojenským objektom. Šarišský hrad postupom času

strácal svoje výsadné postavenie. Výbuch skladu pušného prachu v roku 1660 hrad značne poškodil. V roku 1687 bol hrad úmyselne zničený, vyhorel a už viac nebol obnovený.

Obnova hradu a rozsiahlejšie archeologické výskumy sa začali v 70. a 80. rokoch 20. storočia [7, 8].

3 Geografická vychádzka v edukačnom procese

Geografia ako veda o krajinnej sfére Zeme by nemala byť obmedzená iba na výučbu v triede. Túto možnosť ponúkajú špecifické organizačné formy vyučovania – geografická vychádzka, prípadne geografická exkurzia, ktoré sú zamerané na vyučovanie v teréne, teda mimo triedy, či školy. Žiaci si často pod pojmami vychádzka alebo exkurzia myslia, že nejde o vyučovanie, ale o zábavu. Práve preto je dobré pripraviť si také aktivity, aby žiaci nezistili, že sa vlastne učia. Z toho vyplýva, že veľmi dôležitá je kvalitná príprava učiteľa, a to pre akýkoľvek druh geografickej vychádzky.

Rozdiel medzi geografickou vychádzkou a exkurziou, keďže obe sa radia k špecifickým organizačným formám vyučovania, je v čase trvania a v ich zameraní. Zatiaľ, čo geografická vychádzka je charakterizovaná pre vyučovanie zväčša v prírodnom prostredí v rozsahu 1,5 – 3 hodín, exkurzia je časovo náročnejšia a môže byť realizovaná v prírodnom, výrobnom, alebo v spoločenskom prostredí.

Význam týchto organizačných foriem je nielen v ich poznávacej hodnote, ale aj v ich výchovnom charaktere. Obe umožňujú možnosť uplatňovania medzipredmetových vzťahov alebo prierezových tém. Ich veľkou výhodou je aj to, že žiaci spolupracujú, komunikujú, precvičujú si zručnosti, poznávajú, získavajú trvácnejšie vedomosti a v neposlednom rade je to aj pobyt na čerstvom vzduchu [1, 9].

3.1 Druhy geografickej vychádzky

Geografické vychádzky sa členia podľa viacerých kritérií [1, 9].

Podľa prostredia poznáme:

a) vychádzky v teréne – žiaci poznávajú bežné prírodné, spoločenské a kultúrne prostredie, či už v užšom alebo širšom okolí.

Podľa vzťahu k obsahu učiva ich delíme na:

a) tematické vychádzky – týkajú sa jednej témy, prípadne vymedzeného problému;
b) komplexné vychádzky – žiaci získavajú poznatky z jedného alebo viacerých predmetov.

Podľa umiestnenia vo vyučovacom procese sú to:

a) úvodné vychádzky – žiaci získané poznatky a skúsenosti uplatňujú na nasledujúcich vyučovacích hodinách;
b) záverečné vychádzky – žiaci si overujú teoretické poznatky, vytvárajú závery z predchádzajúcich vyučovacích hodín.

3.2 Etapy geografickej vychádzky

Úspešný priebeh a výsledok geografickej vychádzky závisí od prípravy a organizácie, preto má nasledujúce etapy.

Prvou je prípravná etapa, ktorá má dve fázy – prípravu učiteľa a prípravu žiakov. Učiteľ určuje trasu, ktorú aj osobne prejde, zabezpečí potrebné pomôcky a pripraví celý projekt pre konkrétnu vychádzku, pri čom vychádza z cieľov a obsahového zamerania geografickej vychádzky. Učiteľ osobne oboznámi žiakov o vychádzke a potrebnom vybavení – oblečenie, obuv, pomôcky. Žiaci sa v tejto fáze oboznámia s cieľom a trasou danej vychádzky.

Druhou etapou je realizačná etapa s troma fázami – práca pred začatím, počas trasy a na stanovišti. Vo fáze „práca pred začatím“ učiteľ skontroluje potrebné vybavenie, ako napríklad výstroj, oblečenie, pomôcky a žiaci sa podrobnejšie oboznamujú s trasou. Počas fázy „práca počas trasy“ sa v prípade potreby žiaci rozdelia do skupín a učiteľ im zadá skupinové, resp. individuálne úlohy, aby si precvičili potrebné zručnosti. V tejto fáze sa uskutočňujú rôzne druhy pozorovaní, sleduje sa trasa na mape, pláne, náčrte a zaznamenávajú sa priebežné informácie. V priebehu fázy „práca na stanovišti“ sa využívajú rôzne vyučovacie metódy, sústreďuje sa pozornosť žiakov na objekty a skutočnosti, ktoré sú cieľom pozorovania, pracuje sa s kartografickým materiálom, uskutočňujú sa merania a zhotovuje sa fotodokumentačný materiál.

Poslednou, treťou etapou, je vyhodnotenie geografickej vychádzky, kde sa vyhodnocuje priebeh a aktivita žiakov. Môže to byť formou rozhovoru, besedy, rozprávania alebo projektami žiakov, čo sa v priebehu vychádzky dozvedeli, resp. naučili. Učiteľ spolu so žiakmi vytvorí záverečnú správu, ktorá sa vyvesí na nástenku, stránku školy alebo sa uverejní v školskom časopise [1, 9].

4 Platforma Wherigo

Platforma Wherigo (logo na obr. 1) predstavuje geolokačnú hru založenú na používaní GPS navigácie, ktorá je zabudovaná v mobilných zariadeniach. Vznikla v roku 2008 rovnakými autormi ako Geocaching. V prípade, že má hráč založený účet v Geocaching-u,

prihlasovacie údaje má tiež platné vo Wherigo. Rozdiel medzi Wherigo a Geocachingom je v tom, že zatiaľ čo v Geocachingu hráč hľadá kešku na konkrétnom mieste, vo Wherigo to funguje tak, že hráč po úspešnom ukončení hry dostane kód, ktorý je dôkazom, že hru splnil, ukončil ju. Vytvorenie Wherigo hier sa realizuje v programe Urwigo a pre hranie takejto hry je potrebný Wherigo Player. Program obsahuje sadu nástrojov na vytváranie rôznych dobrodružných hier v exteriéri. Je možné vytvárať napríklad aj prehliadky s virtuálnym sprievodcom alebo náučné a fiktívne príbehy s misiami, pričom sa hráč pohybuje v priestore a čase. V programe je možné nastavenie časového obmedzenia, ale i zvukových či vizuálnych efektov. Cieľom hry je plnenie zadaných úloh, ktoré môžu taktiež aj rozhodnúť o ďalšom priebehu hry [10, 11].

Obr. 1 Logo Wherigo
Zdroj: [10]

4.1 Program Urwigo

Urwigo (logo na obr. 2) je program, kde môžeme vytvoriť cartridge – kód programu hry, ktorý interpretuje prehrávač – Wherigo player. Môžeme povedať, že cartridge je podstata celej Wherigo platformy, pretože je to súbor s výstupom konkrétnej hry. Program je voľne stiahnuteľný na oficiálnych stránkach www.wherigo.com, či www.urwigo.com, ale aj na českej stránke www.urwigo.cz v českom jazyku. Nevýhodou je, že sa na mobilných zariadeniach nezobrazuje diakritika.

Ešte pred vytváraním samotnej hry je dôležité nastaviť základné parametre cartridge, ktoré však možno upravovať aj počas programovania hry. V prvom rade sa napíše názov hry a jej popis, ďalej je potrebné vybrať typ aktivity a štart. Existujú štyri typy aktivity:

1) „Průvodce“ – hra sa viaže na určité miesto;
2) „Puzzle“ – bližšie nešpecifikovaná hra;
3) „Fikce“ – dobrodružná hra vo fiktívnom svete;
4) „Geocache“ – hra bez bližšej špecifikácie na www.wherigo.com pod pojmom „other“.

V programe sa ďalej jednotlivo nastavujú zóny, vytvárajú sa postavy, predmety, úlohy, udalosti, vkladajú sa média, ale i ďalšie objekty ako premenné, vstupy alebo časovače [12].

Obr. 2 Logo Urwigo
Zdroj: [11]

4.2 Wherigo player

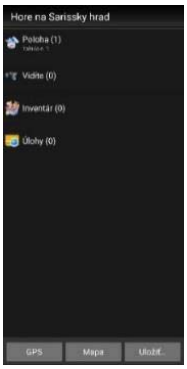
Wherigo player je podmienkou hrania Wherigo hry. Je to aplikácia, ktorá je voľne stiahnuteľná do mobilných zariadení. Pre operačný systém iOS nesie aplikácia názov „Wherigo“ a pre Android „WhereYouGo“. Aplikácia umožňuje hráčom hrať interaktívne hry, uskutočňovať informatívne výlety, ale aj ďalšie aktivity v exteriéri. Pre spustenie konkrétnej hry je potrebné mať danú cartridge stiahnutú v mobile.

V prehrávači, pri zobrazení už konkrétnej hry, sa nachádzajú štyri objekty (obr. 3):

1) „Poloha“ – kde možno vidieť viditeľné a aktívne zóny;
2) „Vidíte“ – postavy a veci, ktoré sú aktuálne viditeľné;
3) „Inventár“ – veci a postavy, ktoré sú v hráčovom inventári;
4) „Úlohy“ – zoznam nesplnených úloh.

V spodnej časti sa zobrazujú ďalšie tri tlačidlá:

1) „GPS“ – momentálne umiestnenie hráča;
2) „Mapa“ – mapa s aktívnymi zónami;
3) „Uložiť...“ – uloženie hry [13].



Obr. 3 Wherigo Player
Zdroj: [13]

5 Výsledky a diskusia

V tejto časti článku je obsiahnutý návrh geografickej vychádzky pomocou platformy Wherigo. Keďže v dnešnej dobe si človek nevie predstaviť život bez

mobilných telefónov, počítačov, či tabletov, namiesto tradičnej geografickej vychádzky sme zvolili vychádzku, kde bude potrebné mobilné zariadenie s podporou GPS navigácie.

Klasická výučba v školskom prostredí nepotrebuje, v niektorých prípadoch dokonca zakazuje používanie mobilných telefónov. V návrhu našej geografickej vychádzky je mobilný telefón nevyhnutný a myslíme si, že pre žiakov by táto vychádzka bola priam potešujúca. Nezabúdame však, že k prírode sa mobilný telefón nehodí, ale v našej vychádzke urobíme výnimku.

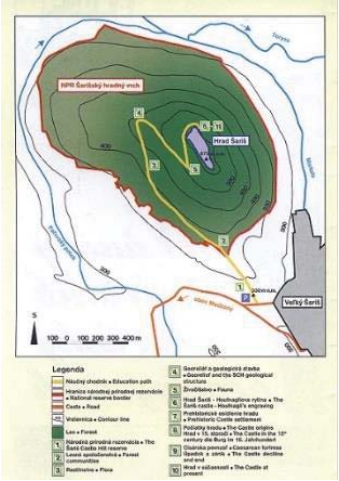
5.1 Návrh geografickej vychádzky pomocou platformy Wherigo

Návrh geografickej vychádzky vychádza z informačných tabúľ náučného chodníka cestou na Šarišský hrad. Keďže informácie na tabuliach sa týkajú aj iných vyučovacích predmetov, vrátane geografie, vychádzku možno považovať za medzipredmetovú.

Prvým krokom pri plánovaní geografickej vychádzky bolo určiť jednotlivé zastávky na trase. V tomto prípade to bola jasná voľba z dôvodu, že nami vybraná trasa je trasou náučného chodníka. Ďalšia fáza prípravy bolo zmapovanie územia a dôkladné štúdium informačných tabúľ. Ďalej bolo potrebné premyslieť si otázky, v našom prípade aj jednoduchý scenár. Nasledovala fáza tvorenia samotnej vychádzky v programe Urwigo. Ďalší, veľmi dôležitý, krok je zoznámenie žiakov s aplikáciou WheYouGo – inštalácia, stiahnutie cartridge s našou vychádzkou, práca s aplikáciou a s tým spojené oboznámenie s cieľom a trasou vychádzky.

Náučný chodník (obr. 4) má dĺžku 2,8 km a 11 zastávok, pričom 6 z nich je v areáli hradu. V našej vychádzke sme zvolili prvých 5 zastávok, ktoré sa nachádzajú pred vstupom do areálu hradu. Vstupom do areálu hradu aplikácia ukončí svoju trasu, žiaci nahlásia svoje skóre (počet chýb) učiteľovi. Nasleduje vstup na vežu Donjon so sprievodcom a voľný program podľa času. Keďže sa na hrad a vežu Donjon, okrem obyvateľov Veľkého Šariša, platí vstupné, je na to potrebné upozorniť a vyzbierať peniaze od žiakov vopred.

Predpokladané časové rozmedzie vychádzky je 7:45 – 12:30 a primárne by bola organizovaná pre žiakov ZŠ Veľký Šariš. Stretnutie by bolo na parkovisku pod Šarišským hradom o 7:45. Geografická vychádzka je realizovateľná aj pre žiakov z iných obcí a miest, v takomto prípade by bolo vhodné použiť MHD spoj na zastávku Veľký Šariš a odtiaľ pešo na parkovisko pod hrad.



Obr. 4 Náučný chodník Šarišský hradný vrch
Zdroj: [14]

Hore na Šarišský hrad

Štart našej geografickej vychádzky je o 8:00 na parkovisku pod Šarišským hradom pri informačnej tabuli s názvom Hrad Šariš – cesta dejinami (obr. 5). Na štartovnej lokácii sa na obrazovke mobilného telefónu zobrazí nasledovná správa: *„Vitajte na ceste ´Hore na Šarišský hrad´. Správnym splnením úloh cestou na hrad pomôžete rytierovi Sarusovi dostať sa do hradu. Veľa šťastia!“*

Obr. 5 Štart geografickej vychádzky
Zdroj: Timková, 2023

Následne aplikácia navádza cestu k prvej zastávke. Po vstupe do jednotlivých zón, teda zastávkam nachádzajúcim sa pri informačných tabuliach, sa na obrazovke zobrazí nasledujúci text: *„Pozorne si prečítajte tabuľu č. 1 a odpovedajte na otázky.“*

Postupne sa na obrazovke zobrazia dve otázky, ktoré je potrebné zodpovedať. Pri nesprávnej odpovedi, ktoré sa zároveň aj rátajú, je potrebné odpovedať znova, až kým odpoveď nebude správna. Po vpísaní/označení správnej odpovede sa zobrazí ďalšia zóna a aplikácia k nej znova navádza cestu.

Týmto spôsobom je nastavená naša geografická vychádzka na každú zo zastávok.

1. zastávka – Národná prírodná rezervácia Šarišský hradný vrch

Na tejto tabuli (obr. 6) sa nachádzajú informácie o náučnom chodníku, národnej prírodnej rezervácii a jej vzniku. Vedľa sa nachádza tabuľa s mapou trasy náučného chodníka. Otázky sme zvolili nasledovne:

1. *V ktorom roku bol prvýkrát otvorený náučný chodník na Šarišský hradný vrch?* – očakávaná odpoveď (otvorená): 1989;
2. *V akej nadmorskej výške sa nachádza hrad Šariš? (pozrite sa na tabuľu vpravo)* – očakávaná odpoveď (otvorená): 570.

Obr. 6 - 1. zastávka
Zdroj: Timková, 2023

2. zastávka – Lesné spoločenstvá

Tabuľa (obr. 7) obsahuje informácie o lesných spoločenstvách Šarišského hradného vrchu. Na tejto zastávke sme zakomponovali aj postavu rytiera, ktorý sa pýta na plod duba zimného. Po zodpovedaní správnej odpovede sa vložia žalude do inventára v aplikácii, ktoré sa neskôr na inej zastávke odovzdajú inej postave. Otázky sú nasledovné:

1. *Aký druh stromov je dominantný na severných svahoch kopca?* – očakávaná odpoveď (výber z možností): buk lesný;
2. *Rytier Sarus si spomenul, že cestou určite stretneme Lesného muža, ktorý bude chcieť zopár plodov z duba zimného. Ako sa tento plod volá?* – očakávaná odpoveď (otvorená): žaluď.

Obr. 7 - 2. zastávka
Zdroj: Timková, 2023

3. zastávka – Rastlinstvo

Tabuľa (obr. 8) upozorňuje čitateľov na to, že svahy hradného vrchu sú zaujímavou floristickou lokalitou a opisuje významné rastlinné druhy. Otázky v tejto zóne:

1. *Je pravda, že botanik Friedrich Hazslinszky našiel v týchto lesoch nový rastlinný druh ďatelinu šarišskú? (áno/nie)* – očakávaná odpoveď (áno/nie): áno;
2. *Aký sa volá rastlina zdobiaca hradné múry?* – očakávaná odpoveď (výber z možností): taričník skalný.

Obr. 8 - 3. zastávka
Zdroj: Timková, 2023

4. zastávka – Georeliéf a geologická stavba

Tabuľa (obr. 9) na tejto zastávke charakterizuje svahy z geologického hľadiska a ich geomorfologický tvar. Otázky sme zvolili nasledovné:

1. *Ak sa pozriete na „Prierez Šarišským hradným vrchom“, na ktorej z horninových vrstiev leží hrad?* – očakávaná odpoveď (výber z možností): sopečné horniny;
2. *Ako sa nazýva prvok, ktorý svojím geologickým zložením a geomorfologickým tvarom tvorí Šarišský hradný vrch?* – očakávaná odpoveď (otvorená): sopečný exot.

Obr. 9 - 4. zastávka
Zdroj: Timková, 2023

Zóna Meč

Medzi zastávkami 4. a 5. sa nachádza zóna (obr. 10), do ktorej po vstupe sa na obrazovke zobrazí nasledujúci text:

„Našli ste meč. Vezmite si ho.“

Meč sa vloží do inventára a neskôr sa na inej zastávke odovzdá postave.

Obr. 10 Zóna meč
Zdroj: Timková, 2023

5. zastávka – Živočíšstvo

Na poslednej zastávke (obr. 11) je informačná tabuľa, ktorá charakterizuje živočíchy žijúce na hradnom vrchu. Otázky sú nasledovné:

1. *Čo ovplyvňuje druhovú pestrosť živočíšstva v okolí hradu?* – očakávaná odpoveď (otvorená): rieka Torysa;
2. *Ktorý z nasledujúcich živočíchov nie je na obrázku?* – očakávaná odpoveď (výber z možností): sova snežná.

Obr. 11 - 5. zastávka
Zdroj: Timková, 2023

Ďalej nasledujú dve miesta, ktoré obsahujú taktiež informačné tabule. Tu sme však využili postavy, ktoré sú umiestnené pri tabuliach. Na jednej z nich (obr. 12) je postava, nazvali sme ju *Lesný muž*. Po vstupe do zóny sa na obrazovke zobrazí text a následne sa lesnému mužovi odovzdajú žalude, ktoré sú uložené v inventári aplikácie. Zobrazený text:

„Lesný muž: Ale, ale, koho to tu máme... Dnes je veľmi pekný deň, čo tak si uvariť žaluďovú polievku...“

Obr. 12 Zastávka s lesným mužom
Zdroj: Timková, 2023

Na ďalšej zastávke je postava, ktorú sme nazvali *strážca hradu*. Po vstupe do zóny (obr. 13) sa opäť na obrazovke zobrazí text a odovzdá meč, ktorý je v inventári. Zobrazený text:

„Strážca hradu: Nemôžem vás pustiť dnu, ibaže ste cestou našli môj meč.“

Obr. 13 Zastávka so strážcom hradu
Zdroj: Timková, 2023

Po opustení poslednej zóny, za ktorou je vstup do hradného areálu, sa zobrazí na obrazovke nasledujúci text a za ním počet chybných odpovedí:

„Podarilo sa vám pomôcť rytierovi Sarusovi dostať sa do hradu. Po odkliknutí sa zobrazia vaše výsledky.“

Predpokladaný príchod do areálu hradu je 9:30. Následne by bola pauza na desiatu a o 10:00 vstup na vežu Donjon so sprievodcom, čo trvá 25-35 minút. Následne by bol voľný program do 11:00 a šlo by sa naspäť do školy. Predpokladaný príchod pred školu je 12:30.

5.2 Diskusia

Rozhodnutie vytvoriť geografickú vychádzku pomocou platformy Wherigo bolo z dôvodu našej predošlej skúsenosti s vytvorením matematickej prechádzky cez portál MathCityMap. Pre realizovanie matematickej prechádzky cez tento portál je potrebné

mobilné zariadenie s GPS navigáciou. Napadlo nám prepojiť túto skúsenosť s geografiou a geografickou vychádzkou.

Avouris a Yiannoutsou [15] v kontexte oblasti prepojenia hry mobilným zariadením s GPS navigáciou a vzdelávania píšu, že takéto hry sú zvyčajne spojené s miestami bohatými na informácie – múzeá, kultúrne pamiatky a pod. Podľa nich takéto typy hier podporujú socializáciu, spoluprácu, flexibilitu, riešenie problémov, ale i občiansku angažovanosť a sú vhodné na výučbu zručností. Koniec-koncov, spájajú zábavné s užitočným.

Využívanie informačno-komunikačných technológie vo vyučovaní, ako píše Kovalík [2], si na prípravu aktivít síce vyžaduje dôkladnú prípravu učiteľa, ale vyplatí sa, pretože vyučovanie naberie nový rozmer a predovšetkým vzbudí záujem žiaka o predmet a podporí jeho tvorivosť.

Záver

V príspevku sme stručne informovali o Šarišskom hrade z geografického i historického hľadiska, o význame geografickej vychádzky a platforme Wherigo.

Naše predchádzajúce skúsenosti a získané informácie sme aplikovali do návrhu geografickej vychádzky „Hore na Šarišský hrad“ využitím spomínanej platformy. Vychádzka môže byť využitá ako terénne vyučovanie nielen pre geografiu, ale aj biológiu a dejepis. Geografickú vychádzku plánujeme vytvoriť pomocou platformy Wherigo s voľnou dostupnosťou aj na Geocaching.com. Vychádzku bude potrebné prejsť v teréne pomocou aplikácie na viacerých mobilných zariadeniach, aby sa mohli zachytiť chyby a doladiť detaily. Veríme, že v blízkej budúcnosti sa nám podarí sprístupniť túto geografickú vychádzku nielen pre využitie na základných školách, ale aj ako zábavný výstup na Šarišský hrad pre širokú verejnosť.

Poďakovanie

Touto cestou by som sa chcela poďakovať mojej školiteľke RNDr. Hilde Kramárekovej, PhD. za rady a odbornú pomoc pri písaní článku.

Použitá literatúra

[1] MICHALOVÁ, Jaroslava. 2015. Príprava vzdelávania v teréne. Bratislava: Metodicko-pedagogické centrum v Bratislave. 42 s. ISBN 980-80-565-1054-4

[2] KOVALÍK, Jozef [online]. 2015. Využitie mobilného telefónu a grafického editora vo vyučovaní náboženskej výchovy. Metodicko-pedagogické centrum v Bratislave. [cit. 11.03.2023]. Dostupné z: https://archiv.mpc-edu.sk/sites/default/files/projekty/vystup/13_ops_kovalik_jozef_-_vyuzitie_mobilneho_telefonu_a_grafickeho_editora_vo_vyucovani_nabozenskej_vychovy.pdf

[3] Hrad Šariš [online]. Severovýchod: 2022 [cit. 06.03.2023]. Dostupné z: https://www.severovychod.sk/vylet/sarissky-hrad

[4] Atlas krajiny Slovenskej republiky [online]. Enviro portál: 2022 [cit. 06.03.2023]. Dostupné z: https://app.sazp.sk/atlassr/

[5] Stratégia miestneho rozvoja vedeného komunitou (Stratégia CLLD). 2018

[6] Cestovné poriadky [online]. Cestovné poriadky: 2022 [cit. 06.03.2023]. Dostupné z: https://cp.hnonline.sk/vlakbusmhd/spojenie/

[7] Šarišský hrad [online]. Hrady a zámky na Slovensku: 2023 [cit. 07.03.2023]. Dostupné z: https://www.hrady-zamky.sk/sarissky-hrad/

[8] Hrad Šariš [online]. Šarišská hradná cesta: 2020 [cit. 07.03.2023]. Dostupné z: https://www.sarisskahradnacesta.sk/pamiatka/hrad-saris/

[9] MADZIKOVÁ Alena – KANCÍR Ján. 2015. Didaktika geografie. Prešov: Fakulta humanitných a prírodných vied Prešovskej univerzity v Prešove. 198 s. ISBN 978-80-555-1500-7

[10] About Wherigo [online]. Wherigo: 2023 [cit. 09.03.2023]. Dostupné z: https://wherigo.com/about.aspx

[11] Urwigo [online]. Urwigo: 2022 [cit. 09.03.2023]. Dostupné z: https://www.urwigo.cz/

[12] Program Urwigo. Urwigo: 2023

[13] Aplikácia WhereYouGo pre Android. WhereYouGo: 2023

[14] Náučný chodník Šarišský hradný vrch [online]. Náučné chodníky: 2023 [cit.09.03.2023]. Dostupné z: http://naucnechodniky.eu/naucny-chodnik-sarissky-hradny-vrch/

[15] AVOURIS, Nikolaos – YIANNOUTSOU, Nikoleta. 2012. A Rewiev of Mobile Location-based Games for Learning across Physical and Virtual Spaces. In Journal of Universal Computer Science, vol. 18, no. 15, pp. 2120-2142. ISSN 0948-6968

Medzinárodná a vnútroštátna migrácia vo vybranom regióne SR

International and domestic migration in a selected region of the Slovak Republic

Annamária Kozloková[1]
Školiteľ: Michal Levický[2]
[1,2]Ústav ekonomiky a manažmentu, FPVaI UKF, Tr. A. Hlinku 1, 949 01 Nitra,
[1] annamaria.kozlokova@student.ukf.sk, [2] mlevicky@ukf.sk

Abstrakt
Hlavným cieľom práce je popísať a analyzovať vývoj migračných trendov na Slovensku a v rámci neho vo vybranom regióne. V rámci práce sme pozorovali migráciu obyvateľov do zahraničia, v rámci krajiny a na regionálnej úrovni. Na základe rôznych štatistických údajov analyzujeme príčiny a vývoj aktuálnych migračných trendov. Túto analýzu najprv vykonávame na celoštátnej úrovni a potom ju zúžime na určitý región – región Gemer. Nakoniec po analýze súčasného stavu určíme aj hlavné príčiny migrácie vo vybranom regióne. Samotná práca sa skladá z troch častí. V prvej časti sa pozrieme na Slovensko ako celok a preskúmame migráciu obyvateľstva celej krajiny. V druhej časti urobíme to isté, ale pozrieme sa na obyvateľov regiónu Gemer. V tretej časti vyhodnotíme odpovede na dotazník, ktoré nám pomôžu identifikovať faktory, ktoré najviac ovplyvňujú tendenciu obyvateľov regiónu migrovať.
Kľúčové slová: migrácia, medzinárodná migrácia, vnútroštátna migrácia, región Gemer

Abstract
The main aim of the thesis is to describe and analyse the development of migration trends in Slovakia and within it in the selected region. In the framework of the work, we have observed the migration of the population abroad, within the country and at the regional level. On the basis of various statistical data, we analyse the causes and development of the current migration trends. We first carry out this analysis at the national level and then narrow it down to a specific region - the Gemer region. Finally, after analysing the current situation, we also identify the main causes of migration in Gemer region. The work itself consists of three parts. In the first part we will look at Slovakia as a whole and examine the migration of the population of the whole country. In the second part we do the same, but we will look at the population of the Gemer region. In the third part, we will evaluate the answers of the questionnaire, which will help us identify the factors, that most influence the tendency of the region's residents to migrate.
Key Words: migration, international migration, internal migration, Gemer region

Úvod

Migrácia je proces, pri ktorom jednotlivci alebo skupiny ľudí z rôznych dôvodov opúšťajú svoje domovy. Na Slovensku má migrácia najmä ekonomický charakter a úzko súvisí s pracovnými príležitosťami, nezamestnanosťou a celkovou ekonomickou situáciou krajiny alebo regiónu. V našej práci budeme analyzovať migračné trendy na Slovensku a identifikovať hlavné príčiny migrácie vo vybranom regióne.

Migrácia - migráciu v globálnom kontexte môžeme chápať ako pohyb osoby cez medzinárodnú hranicu alebo v rámci štátu na obdobie dlhšie ako jeden rok [1]. Vnútorná migrácia je pohyb migrantov v rámci krajiny. Medzinárodná migrácia je situácia, keď migrant opustí svoju krajinu pôvodu a migruje do inej krajiny [6].

Migrant - za migranta považujeme ľudí, ktorí sa pohybujú v geografickom priestore. Presnejšie povedané, prekračuje hranice svojej domovskej krajiny. V prípade, že osoba opustí svoju krajinu, tak na jeho označenie budeme používať pojem emigrant. A v opačnom prípade keď príde do cudzej krajiny, pomenováva sa imigrantom [3].

1 Ciele a metódy práce

Hlavným cieľom práce bolo na základe primárnych a sekundárnych dát zhodnotiť vývoj a príčiny migrácie obyvateľstva na Slovensku a vo vybranom regióne SR. V našom prípade sú primárne dáta odpovede a výsledky získané prostredníctvom dotazníka, zatiaľ čo sekundárne sú informácie získané z viacerých kníh a internetových zdrojov.

Metódy zberu dát - Na zber údajov sa použili dva hlavné zdroje:

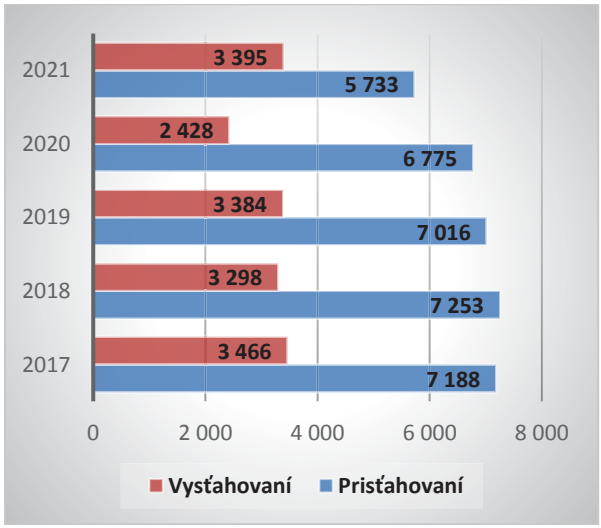
Prvým hlavným zdrojom boli internetové médiá. Hlavným online zdrojom bola internetová stránka Štatistického úradu, pretože práve odtiaľ sme získali sekundárne údaje pre túto prácu. Tieto sekundárne údaje boli získané zo Štatistických ročeniek SR 2018, 2019, 2020, 2021 a 2022, ako aj z regionálnych štatistických ročeniek SR vydaných v rovnakých rokoch.

Druhým hlavným zdrojom údajov pre náš výskum je náš vlastný dotazník. Týmto spôsobom sa získali primárne údaje, ktoré slúžili na identifikáciu hlavných dôvodov migrácie obyvateľstva gemerského regiónu.

2 Migrácia na Slovensku

V tejto časti našej práce sme hodnotili migráciu občanov SR do zahraničia a v rámci krajiny pomocou rôznych ukazovateľov. Pozorovanie sa vykonáva za určité časové obdobie na základe údajov nameraných v rokoch 2017 až 2021 resp. 2016 až 2020. Tieto údaje sme získali zo Štatistických ročeniek Štatistického úradu SR (2018-2022) a Regionálnych ročeniek (2018-2022).

2.1 Medzinárodná migrácia na Slovensku



Graf 1 Migrácia na Slovensku v rokoch 2017 až 2021
Zdroj: [9]. [11]. [12]. [13]. [14].

Graf 1 zobrazuje počet osôb, ktoré sa prisťahovali alebo vysťahovali zo Slovenska počas sledovaných rokov 2017-2021.

V prvých dvoch rokoch mal počet prisťahovalcov stúpajúcu tendenciu, hoci nárast bol veľmi minimálny. Od tretieho roku sa tento nárast zmenil na trvalý a čoraz drastickejší pokles. Kým v rokoch 2019 až 2020 si Slovensko ako cieľovú krajinu zvolilo len o 241 osôb menej, v rokoch 2020 až 2021 sa počet prisťahovaných znížil o 1 042 osôb. Dôvodom bola najmä vtedajšia zdravotná situácia, keďže v roku 2020 zasiahla pandémia COVID 19.

Počty emigrantov sa okrem jedného roka výrazne nezmenili. V prvom sledovanom roku bol medián počtu emigrantov 3 384 a priemer 3 383. Potom sme v roku 2020 pozorovali veľký skok v údajoch. Tento pokles bol spôsobený vyššie opísanou pandémiou a jej negatívnymi dôsledkami. Počet emigrantov sa medzi rokmi 2019 a 2020 znížil o 956. Do roku 2021 sa však situácia opäť stabilizovala a údaje sa opäť priblížili mediánu a priemeru z predchádzajúcich rokov.

Z grafu jasne vyplýva, že počet prisťahovaných je vždy oveľa vyšší ako počet vysťahovaných. V rokoch 2017 až 2021 sa v priemere prisťahovalo o 3 599 osôb viac ako vysťahovalo. To naznačuje, že Slovensko je pre mnohých ľudí atraktívnou destináciou z ekonomického, sociálneho, demografického a kultúrneho hľadiska.

Objem migrácie je súčet počtu prisťahovaných a vysťahovaných osôb. Môže sa nazývať aj hrubá migrácia. Údaje namerané za sledované roky sú uvedené v Tab 1 v prílohách. Tento objem migrácie bol počas sledovaného obdobia najvyšší v roku 2017, teda v prvom roku. Potom začal postupne klesať. Migračné sadlo, nazývané aj čistá migrácia – je to rozdiel medzi počtom ľudí, ktorí sa prisťahovali, a počtom ľudí, ktorí sa odsťahovali. V prvých troch rokoch sa hodnota tohto ukazovateľa pohybovala okolo 3 700, potom sa zvýšila na 4 347 v roku 2020. Tento nárast bol spôsobený väčším poklesom počtu vysťahovaných ako prisťahovaných. Nakoniec migračné sadlo dosiahlo najnižšiu hodnotu v roku 2021. Bolo to spôsobené tým, že v roku 2021 sa v porovnaní s predchádzajúcim rokom znížil počet sťahujúcich sa a zvýšil počet vysťahovaných.

2.2 Vnútroštátna migrácia na Slovensku

Tab 2 v prílohe nám ukazuje vnútroštátnu migráciu v členení podľa smeru migrácie. Ak zoberieme priemer migrácie v rokoch 2017 až 2021, môžeme povedať, že väčšina ľudí - konkrétne 45 % vnútornej migrácie - sa uskutočnila v rámci jedného okresu. Ďalších 29 % osôb zapojených do vnútroštátnej migrácie sa presťahovalo z jedného okresu do druhého v rámci kraji. Zvyšných 26 % sa prisťahovalo z jedného kraja do druhého v rámci Slovenska.

Vnútroštátnu migráciu možno rozdeliť aj na ďalšie podrobnosti. To sa dá dosiahnuť tak, že sa na Slovensko nebudeme pozerať ako na celok, ale rozdelíme ho na kraje. Vnútroštátnu migráciu možno skúmať aj na

regionálnom základe. Tieto údaje sú uvedené v Tab 3 prílohe. Najväčší migračný prírastok za dlhé obdobie bol zaznamenaný v Bratislavskom kraji. Tieto čísla sú oveľa vyššie ako v iných krajoch. Z toho vyplýva, že táto oblasť, ktorá sa nachádza v blízkosti hlavného mesta, je pre občanov najatraktívnejšia, hoci je to časť krajiny, ktorá priťahuje najviac ľudí, a napriek tomu tu v priebehu rokov došlo k poklesu o takmer 50 %. V roku 2021 hrubá miera migračného salda sa v prepočte na 10 000 obyvateľov bola 56,7. Táto hodnota je v porovnaní s poslednými rokmi a rokom 2019 výrazne nízka.

Druhá najvyššia hrubá miera migračného prírastku (28,6 osôb na 10 000 obyvateľov) bola v Trnavskom kraji, kde sa hrubá miera v roku 2021 oproti predchádzajúcemu roku zvýšila.

Iba tieto dva regióny boli z hľadiska migrácie počas sledovaných piatich rokov ziskové. Ostatné kraje sú dlhodobo migračne stratové, t. j. počet vysťahovaných prevyšoval počet prisťahovaných vo všetkých sledovaných rokoch. Najväčšie migračné úbytky boli zaznamenané v Banskobystrickom a Prešovskom kraji, v oboch krajoch v roku 2021 pripadlo 16,4 hrubých migrantov na 10 000 obyvateľov.

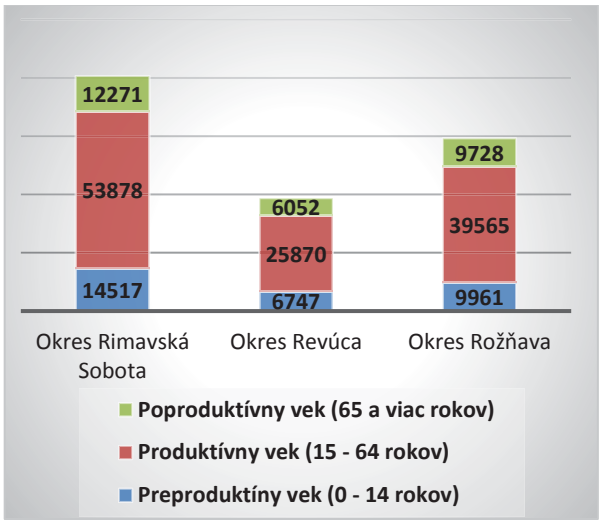
3 Migrácia vo vybranom regióne SR

V druhej časti našej práce sa zaoberáme zmenami v migrácii obyvateľstva v rámci hraníc nášho vybraného regiónu.

3.1 Charakteristika regiónu Gemer

Gemer sa nachádza v juhovýchodnej časti Slovenska a zahŕňa okresy Rimavská Sobota, Revúca a Rožňava. Tieto okresy sú nielen geograficky podobné, ale spája ich aj spoločná história, podobná sociálna štruktúra a kultúra života. Hoci sú súčasťou toho istého regiónu, Rimavská Sobota a Revúca patria do Banskobystrického kraja, zatiaľ čo Rožňava patrí do Košického kraja[2].

Na základe údajov SODB (Sčítanie obyvateľov, domov a bytov) za rok 2021 sme vypracovali graf 2, ktorý ukazuje, koľko obyvateľov je napočítaných v jednotlivých okresoch a vekovú kategóriu týchto obyvateľov. Aby sme z týchto údajov získali hodnoty pre región Gemer, stačí hodnoty pre jednotlivé okresy sčítať.



Graf 2 Obyvateľstvo Gemera podľa vekových kategórií
Zdroj: [7]

Z hore uvedených údajov môžeme usúdiť, že podľa SODB z roku 2021 má región Gemer celkovo 178 680 obyvateľov.

Takmer polovicu obyvateľov regiónu Gemeri - 45 percent - tvoria obyvatelia okresu Rimavská Sobota. Týchto 45 % v aritmetickom vyjadrení predstavuje 80 666 obyvateľov. V poradí nasleduje okres Rožňava, ktorý má podľa údajov SODB 2021 59 345 obyvateľov. Napokon okresom s najnižším počtom obyvateľov je Revúca v regióne - 38 669.

Dôležité je tiež sledovať, kto z týchto obyvateľov sa nachádza v akej fáze svojho života. Obyvateľstvo môžeme rozdeliť do troch veľkých vekových skupín. Prvú skupinu tvoria obyvatelia pred produktívnym vekom. Do tejto kategórie patria osoby vo veku od 0 do 14 rokov. Podľa výpočtov SODB 2021 patrí do prvej kategórie 17 % obyvateľov regiónu Gemer. Druhá kategória sa nazýva produktívny vek. Zahŕňa časť obyvateľstva vo veku 15 až 64 rokov. Do tejto kategórie patrí 67 % obyvateľov. Je to kategória s najväčším počtom obyvateľov vo všetkých okresoch regiónu Gemer. Tretia kategória sa týka obyvateľov vo veku 65 rokov a viac, t. j. tých, ktorí sú už na dôchodku. Táto kategória obsahuje najmenej ľudí, len 16 % z celkového počtu obyvateľov Gemeri.

3.2 Vývoj migračných trendoch v regióne Gemer

V každom okrese Gemerského regiónu sme sledovali, ako sa menil počet vysťahovalcov a prisťahovalcov. Prisťahovaných a vysťahovaných sme ďalej rozdelili do dvoch skupín: prisťahovaní z/do Slovenska a prisťahovaní zo/do zahraničia

Po vyhodnotení údajov za každý okres osobitne sú v súhrnnej tabuľke zhrnuté údaje za región Gemer. Táto tabuľka sa nachádza v štvrtej prílohe.

Ako vidno z Tab 4, z regiónu Gemer každoročne odchádza viac ľudí, ako doň prichádza. To znamená, že počet vysťahovaných každoročne prevyšoval počet prisťahovaných. Viditeľne viac ľudí sa sťahovalo do iných častí Slovenska ako do zahraničia.

V prípade prisťahovaných sa do regiónu Gemer prisťahovalo v sledovaných rokoch v priemere päťkrát viac osôb z iných častí Slovenska ako zo zahraničia. Do iných častí Slovenska sa prisťahovalo osemnásťkrát viac osôb ako do zahraničia.

- Medián počtu osôb sťahujúcich sa zo Slovenska: 882
- Medián počtu osôb, ktoré sa prisťahovali zo zahraničia: 173
- Medián počtu osôb sťahujúcich sa do iných častí Slovenska: 1 388
- Medián počtu osôb sťahujúcich sa do zahraničia: 84

Čistá migrácia vykazuje každoročne striedavý vzostupný a klesajúci trend. Zatiaľ čo v rokoch 2017 a 2019 sa čistá migrácia v porovnaní s predchádzajúcim rokom zvýšila. Zatiaľ čo v rokoch 2016, 2018 a 2020 sa znížila na približne -370.

4 Migrácia vo vybranom regióne SR

Hlavným cieľom poslednej časti našej práce je identifikovať dôvody migrácie vo vybranom regióne - regióne Gemer - na základe odpovedí v dotazníku, ktorý sme vytvorili. Náš dotazník sa skladal z troch hlavných častí:

Osobné údaje súvisiace s migráciou - tu mali respondenti odpovedať na otvorené a uzavreté otázky týkajúce sa ich osobných údajov, ako je vek, pohlavie, miesto bydliska. Okrem toho tu boli zaradené otázky na zistenie vzťahu medzi jednotlivcom a migráciou.

Push fakrory - v tejto časti sme hodnotili vplyv rôznych negatívnych faktorov vytvorených v regióne na obyvateľstvo, faktorov, ktoré "vytlačili" obyvateľstvo z regiónu.

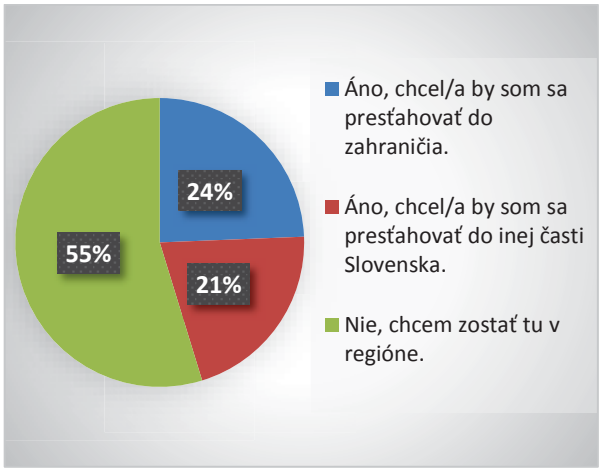
Pull faktory - v tejto časti sme hodnotili vplyv faktorov, ktoré "priťahujú" obyvateľov regiónu Gemer do iných krajín, do iných častí Slovenska.

V druhej a tretej časti dotazníka boli respondenti oboznámení s časťami tzv. teórie "push - pull". O tejto teórii stojí za to vedieť, že zahŕňa faktory, ktoré motivujú sklon jednotlivca k migrácii. Push faktory sú faktory, ktoré z rôznych dôvodov nútia niekoho opustiť miesto svojho narodenia a hľadať nové príležitosti inde. Na druhej strane pull faktory sú také faktory, ktoré priťahujú migrantov na konkrétne miesto a ponúkajú rôzne výhody, benefity a výhodnejšie životné podmienky. Kombinácia týchto dvoch faktorov pomáha určiť dôvody migrácie a imigrácie ľudí z jednej krajiny do druhej [5].

Push a pull faktory sú väčšinou protichodné. Napr. push faktor nedostatok pracovných príležitostí na vidieku v je protipólom k pull faktoru veľa voľných pracovných miest mestách [4].

V dotazníku boli uvedené tieto push a pull faktory: *Vysoký počet nezamestnaných v regióne; Málo možností kariérneho rastu; Zlá zdravotná starostlivosť v regióne, Diskriminácia v regióne; Zlé podmienky bývania v regióne; Nedostatok politickej alebo náboženskej slobody v regióne* – push faktory. *Príležitosti na lepšie zamestnanie v cieľovom regióne/ kraje; Vyššie mzdy v cieľovom regióne/ kraje; Lepšie pracovné podmienky v cieľovom regióne/ kraje; Lepšie životné podmienky v cieľovom regióne/ kraje; Politická a náboženská sloboda v cieľovom regióne/ kraje; Lepšia zdravotná starostlivosť v cieľovom regióne/ kraje; Lepšie vzdelávanie v cieľovom regióne/ kraje; Atraktívna klíma v cieľovom regióne/ kraje; Rodinné väzby v cieľovom regióne/ kraje* – pull faktory.

Po pilotnom testovaní, keď bol dotazník vyhodnotený ako vhodný na zverejnenie, 2. januára 2023 sme zverejnili dotazník na viacerých sociálnych platformách. Dotazník bol aktívny do 2. marca, t. j. 60 dní. Počas tohto obdobia ho vyplnilo celkovo 316 ľudí z rôznych častí regiónu Gemer. Z tých, ktorí dotazník vyplnili, bolo 56,6 % žien a 43,4 % mužov, t. j. dotazník vyplnilo 179 žien a 137 mužov.



Graf 3 Dôvody migrácie obyvateľov regiónu Gemer
Zdroj: Vlastný dotazník

55 % respondentov uviedlo, že by nechceli opustiť Gemer a chceli by zostať v regióne. Týchto 55 % zahŕňa 173 ľudí, z toho 69 z okresu Rimavská Sobota, 55 z okresu Rožňava a 49 z okresu Revúca.

24 % respondentov by chcelo opustiť Slovensko a presťahovať sa do inej krajiny. Týchto 24 % zahŕňa 77 ľudí, z toho 37 z okresu Rimavská Sobota, 28 z okresu Rožňava a 18 z okresu Revúca.

21 % respondentov by sa chcelo presťahovať do iného kraja na Slovensku. Týchto 24 % zahŕňa 66 ľudí, z toho 22 z okresu Rimavská Sobota, 19 z okresu Rožňava a 25 z okresu Revúca.

Ani jeden respondent si nevybral možnosť: Neviem, ešte som o tom nepremýšľal.

Respondenti, ktorí by chceli z regiónu odísť, uviedli aj svoje dôvody. V dvanástej otázke si respondenti mohli vybrať z troch preddefinovaných možností (Ekonomický dôvod - nízky príjem a nedostatok voľných pracovných miest v regióne atď., Demografický dôvod - rozpad rodiny, rozpad rodiny v inom štáte/regióne, Sociálno-kultúrne a politické dôvody - diskriminácia, vojna, politické obavy) alebo uviesť vlastnú odpoveď. Z tých, ktorí sa chceli presťahovať 64 % uviedlo, že prevažujú ekonomické dôvody, 15 % demografické a 13 % sociálno-kultúrne a politické dôvody. Zvyšných 9 % uviedlo vlastnú odpoveď. Tieto odpovede zahŕňali nasledovné: *Kvôli práce; Kvôli štúdiu, lepšie pracovné podmienky; Nechcem sa presťahovať, ale robím takú prácu že musím cestovať; Nízka životná úroveň; Rodinné väzby; Slabá dopravná infraštruktúra, slabá ponuka komerčných služieb, slabá ponuka kultúry, športovísk a kvalitných škôl pre deti, rušenie štátnych inštitúcií v regióne (napr. daňový úrad)*

4.1 Chí-kvadrát test

Z dotazníka sme vybrali tri otázky (Pohlavie, Najvyššie dosiahnuté vzdelanie, Ktoré slovo najlepšie vystihuje oblasť, kde bývate?), ktorých výsledky sme porovnali s výsledkami otázky: Už ste niekedy uvažovali o odchode z regiónu, v ktorom žijete?

Vzťah vybraných otázok sme overovali Chíkvadrát testom. Získali sa nasledujúce výsledky: Najprv sa porovnali tieto dve otázky: *Akého pohlavia je respondent? - Už ste niekedy uvažovali o odchode z regiónu, v ktorom žijete?*

Cieľom analýzy bolo zistiť: Existuje štatisticky významný rozdiel v sklone k migrácii vzhľadom na pohlavie respondenta?

- H0: Sklon nie je závislá na pohlaví.
- H1: Sklon je závislá na pohlaví.
- Hladina významnosti: 0,05

Po výpočtoch sme získali P hodnotu Chíkvadrát testu, čo bolo: 0,02 Z nich môžeme konštatovať, že: 0,02 < 0,05 - môžeme zamietnuť H0 a prijať H1: Sklon je závislá na pohlaví.

Ďalej sme porovnávali tieto dve otázky: *Aké je najvyššie dosiahnuté vzdelanie respondenta? - Už ste niekedy uvažovali o odchode z regiónu, v ktorom žijete?*

Cieľom analýzy bolo zistiť: Existuje štatisticky významný rozdiel v sklone k migrácii vzhľadom na úroveň dosiahnutého vzdelania?

- H0: Sklon nie je závislá od dosiahnutej úrovne vzdelávania.
- H1: Sklon je závislá od dosiahnutej úrovne vzdelávania.
- Hladina významnosti: 0,05
- P hodnota Chi-testu je: 0,44

Z ntoho môžeme konštatovať, že: 0,44 > 0,05 – môžeme zamietnuť H1 a prijať H0: Sklon nie je závislá od dosiahnutej úrovne vzdelávania.

V konečnom porovnaní sme vybrali tieto dve otázky: *Ktoré slovo najlepšie vystihuje oblasť, kde bývate? - Už ste niekedy uvažovali o odchode z regiónu, v ktorom žijete?*

Cieľom analýzy bolo zistiť: : Existuje štatisticky významný rozdiel v sklone k migrácii vzhľadom na miesta bydliska respondenta?

- H0: Sklon nie je závislá od miesta bydliska
- H1: Sklon je závislá od miesta bydliska
- Hladina významnosti: 0,05
- P hodnota Chi-testu je: 0,09

Z nich môžeme konštatovať, že: 0,09 > 0,05 – môžeme zamietnuť H1 a prijať H0: Sklon nie je závislá od miesta bydliska

Záver

V priebehu našej práce sme použili rôzne metódy na identifikáciu aktuálnych migračných trendov v rámci Slovenska a vybraného regiónu. V prvej časti našej práce sme sledovali vnútroštátnu migráciu, ktorú sme rozdelili na dve hlavné časti: zahraničnú a vnútroštátnu migráciu. Pre ďalšie upresnenie sme sa pozreli nielen na to, do ktorých iných krajín sa obyvatelia sťahujú, ale aj na to, ktoré kraje sú v rámci Slovenska najaktívnejšie.

Najväčší migračný prírastok za dlhé obdobie bol zaznamenaný v Bratislavskom kraji. Najväčšie migračné úbytky boli zaznamenané v Banskobystrickom a Prešovskom kraji, v oboch krajoch v roku 2021 pripadlo 16,4 hrubých migrantov na 10 000 obyvateľov.

V druhej časti našej práce sme analyzovali vybraný región, ktorým bol región Gemer. Vyhodnotili sme ho na základe primárnych a sekundárnych údajov a zistili

sme, že hlavnými príčinami migrácie v tomto okrese sú ekonomické faktory, ako napr. nedostatok pracovných miest v regióne, zlé hospodárske podmienky v regióne a nízka životná úroveň v regióne. Zistili sme tiež, že sklon jednotlivcov k migrácii závisí od ich pohlavia, ale nie je ovplyvnený miestom bydliska ani úrovňou dosiahnutého vzdelania.

V budúcnosti sa vykoná štatistické vyhodnotenie dotazníka s cieľom podrobnejšie preskúmať tento problém.

Aby sa v budúcnosti znížil počet ľudí odchádzajúcich z regiónu Gemer a aby sa do regiónu prilákalo viac ľudí, bude potrebné zlepšiť súčasnú ekonomickú situáciu regiónu. Je potrebné riešiť najmä vyššie uvedené problémy

Poďakovanie

Touto cestou by som sa poďakovala môjmu školiteľovi Ing. Michalovi Levickému, PhD., za ochotu, vedenie, cenné rady a trpezlivosť pri písaní príspevku.

Použitá literatúra

[1] EMN: Migration and Home Affairs. Europan Migration Network. [online] EMN: 2008 [cit.: 21. 7 2022.]. Dostupné z: https://home-affairs.ec.europa.eu/networks/european-migration-network-emn/emn-asylum-and-migration-glossary_en

[2] KUCHAŘ, Pavel - VASKA, Ladislav. 2014. Regionálne aspekty nezamestnanosti v Českej republike a na Slovensku. Bratislava: IRIS, 233s. ISBN 978-80-89238-99-6.

[3] LETAVAJOVÁ, Silvia. a kol. 2020. Novodobé migrácie vo verejnej, mediálnej a politickej diskusii. Nitra : Univerzita Konštantína Filozofa, 198s. ISBN 978-80-558-1631-9.

[4] MILOŠ, Ondrušek. 2010. Medzinárodná migrácia ako odozva na disparity v sociálno-ekonomickom rozvoji svetových regiónov. In Krízový manažment : vedecko-odborný časopis Fakulty špeciálneho inžinierstva Žilinskej univerzity v Žiline, roč.9 . ISSN 1336-0019.

[5] Pull and Push Factors of Migration: A Case Study in the Urban Area of Monywa Township, Myanmar. . [online] KYAING: 2012 [cit.: 15. 9 2022.] Dostupné z: https://www.worldofstatistics.org/files/2014/03/Pull-and-Push-Factors-of-Migration-Thet.pdf.

[6] Rozumne o migrácii - Manuál pre organizátorov. [online] KADLEČÍKOVÁ: 2016. [cit.: 21. 7 2022.] Dostupné z: http://cvek.sk/rozumne-o-migracii-manual-pre-organizatorov-verejnych-podujati/ [cit.: 21. 7 2022.]

[7] Sčítanie obyvateľov, domov a bytov 2021. [online] SOBD: 2021 [cit.: 4. 2. 2023.] Dostupné z: https://www.scitanie.sk

[8] Štatistická ročenka regiónov Slovenska 2021. [online] ŠÚRS: 2022 [cit.: 20. 2. 2023.] Dostupné z: https://slovak.statistics.sk/wps/portal/ext/home/!ut/p/z1/04_Sj9CPykssy0xPLMnMz0vMAfIjo8ziA809LZycDB0NLPyCXA08QxwD3IO8TAwNTEz1wwkpiAJKG-AAjgZA_VFgJc7ujh4m5j4GBhY-7qYGno4eoUGWgcbGBo7GUAV4zCjIjTDIdFRUBADse0bP/dz/d5/L2dBISEvZ0FBIS9nQSEh/

[9] Štatistická ročenka Slovenskej republiky. [online] ŠÚSR: 2022 [cit.: 4. 1. 2023.] Dostupné z: https://slovak.statistics.sk/wps/portal/!ut/p/z1/tVFNT8JAEP01HJed7ke3PRYhpYhG0Ardi9lut7JCP4AK8u9tjQcNgcSDc5jMTN6bvJeHJV5iWaqDfVWNrUq1afdEui8zEXmDgRMACD6EaBIPZ-Gj7wADvPgN8O7nI4iegodwPmEtgGN5nf-MJZa6bOpmhZMq3asV2q9R_Z72oG0bu1bamh4cTulOlQb9vOVEaJ9qg5jrUMSISpGXG4KoMYqC9nmWm-57rW2GE8MNuJkQCIC3FMFypHJCEXeylGnNfeafuTmX27mBCxV0fPkFuQmDMRNTAG8acoiCcTz3Z5RCQL8BV34krQZxUcMtwYuDNUccl9WuaBN6_KPFMeAJljYt-kdd9KHvEE-4jDjM8wlt5y5y-7bdyqDNpSob89Hg5T8EUxdx4dETWud3I8pk8gk-sCtk/dz/d5/L2dBISEvZ0FBIS9nQSEh/

[10] Štatistika v regiónoch: Kraje v číslach 2021 [online] ŠÚSR: 2023 [cit.: 20. 2. 2023.] Dostupné z: https://slovak.statistics.sk/wps/portal/ext/home/!ut/p/z1/04_Sj9CPykssy0xPLMnMz0vMAfIjo8ziA809LZycDB0NLPyCXA08QxwD3IO8TAwNTEz1wwkpiAJKG-AAjgZA_VFgJc7ujh4m5j4GBhY-7qYGno4eoUGWgcbGBo7GUAV4zCjIjTDIdFRUBADse0bP/dz/d5/L2dBISEvZ0FBIS9nQSEh/

[11] ŠÚSR. 2018. Štatistická ročenka Slovenskej republiky 2018. Bratislava : Veda, 687s. ISBN 978-80-224-1700-6

[12] ŠÚSR. 2019. Štatistická ročenka Slovenskej republiky 2019. Bratislava : Veda, 690s. ISBN 978-80-224-1792-1

[13] ŠÚSR. 2020. Štatistická ročenka Slovenskej republiky 2020. Bratislava : Veda, 690s. ISBN 978-80-224-1859-1

[14] ŠÚSR. 2021. Štatistická ročenka Slovenskej republiky 2021. Bratislava : Veda, 700s. ISBN 978-80-224-1925-3

Prílohy

Tab 1 Objem migrácie a migračné sadlo na Slovensku v rokoch 2017 až 2021

Rok	2017	2018	2019	2020	2021
Prisťahovaní	7 188	7 253	7 016	6 775	5 733
Vysťahovaní	3 466	3 298	3 384	2 428	3 395
Objem migrácie	10 654	10 551	10 400	9 203	9 128
Migračné sadlo	3 722	3 955	3 632	4 347	2 338

Zdroj: *Vlastné spracovanie na základe* [9]. [11]. [12]. [13]. [14].

Tab 2 - Vnútroštátna migrácia podľa smeru migrácie na Slovensku (2017-2021)

	2017	2018	2019	2020	2021
V SR spolu	**95 132**	**98 414**	**98 677**	**87 853**	**92 768**
z obce do obce v okrese	42 590	44 222	42 837	39 343	41 772
z okresu do okresu v kraji	27 800	28 809	28 854	25 478	27 019
z kraja do kraja	24 742	25 383	26 986	23 032	23 977

Zdroj: *Vlastné spracovanie na základe* [9]. [11]. [12]. [13]. [14].

Tab 3 - Regionálna migrácia na Slovensku (2017-2021)

Územie	Hrubá miera migračného salda (na 10 000 obyv.)				
	2017	2018	2019	2020	2021
Bratislavský kraj	103,2	98,8	118,7	83,9	56,7
Trnavský kraj	25,4	28,2	23,9	22,1	28,6
Trenčiansky kraj	-8,3	-8,0	-10,4	-4,0	-10,6
Nitriansky kraj	-8,7	-4,4	-13,1	-3,7	2,4
Žilinský kraj	-5,9	-6,2	-9,3	-4,0	-5,8
Banskobystrický kraj	-15,2	-15,2	-22,4	-10,2	-16,4
Prešovský kraj	-18,5	-17,7	-20,4	-15,0	-16,4
Košický kraj	-4,6	-5,8	-4,2	1,3	-2,3

Zdroj: Vlastné spracovanie na základe [10].

Tab 4 Vývoj migračných trendov v regióne Gemer (2016-2020)

	Prisťahovaní			Vysťahovaní			Čistá migrácia
Rok	Zo SR	Zo zahraničia	Spolu	Do SR	Do Zahraničia	Spolu	
2016	882	148	1030	1297	100	1397	-367
2017	918	164	1082	1427	84	1511	-429
2018	911	173	1084	1388	88	1476	-392
2019	841	174	1015	1460	83	1543	-528
2020	801	216	1017	1315	52	1367	-350

Zdroj: Vlastné spracovanie na základe [8].

Komparácia a elektronické spracovanie učebníc matematiky
Comparation and electronic processing of mathematics textbooks

Natália Blahušiaková[1]
Školiteľ: prof. RNDr. Pavol Hanzel, CSc.[2]
[1,2]Katedra matematiky, FPV UMB, Tajovského 40, 97401, Banská Bystrica
[1] nblahusiakova2@student.umb.sk, [2] pavol.hanzel@umb.sk

Abstrakt
Práca je zameraná na elektronické spracovanie a porovnanie dvoch učebníc matematiky „Učebnica matematiky pre 7. ročník základných škôl“ od prof. Ondreja Šedivého a „Učebnica matematiky pre 9. ročník ZŠ a 4. ročník gymnázia s osemročným štúdiom“, ktorej autorkou je dr. Viera Kolbaská na tému Lineárne rovnice na základnej škole. Obidve učebnice sú spracované v elektronickej podobe v e-learningovom softvéri Moodle a pri tvorbe riešenia úloh sa využíva geometricko-algebrický softvér GeoGebra. Grafické prevedenie elektronickej verzie učebnice je rovnaké ako papierová verzia. Žiak si môže preklikávať jednotlivé kroky postupu riešenia kedykoľvek v prípade jeho potrieb. Záver práce obsahuje zhrnutie a komparáciu získaných informácií.
Kľúčové slová: lineárna rovnica, učebnica, úloha, matematika, porovnávanie.

Abstract
The work is focused on electronic processing and comparison of two mathematics textbooks, "Mathematics textbook for 7th grade of primary school" by Prof. Ondrej Šedivý and "Mathematics textbook for 9th grade of primary school and 4th year of high school with eight-year study" authored by Dr. Viera Kolbaská on the topic of Linear Equations in Primary School. The textbooks are processed in electronic form using the e-learning software Moodle and the geometrical-algebraic software GeoGebra is used to create problem solutions. The graphic version of the electronic version of the textbook is the same as the paper version. The student can navigate through individual steps of the solution process at any time according to his or her needs. The conclusion of the work includes a summary and comparison of the acquired information.
Keywords: linear equation, textbook, problem, mathematics, comparison.

Úvod
Súčasná doba si vyžaduje nové postupy vo vyučovacom procese, ktorých cieľom je zvyšovanie aktívnej činnosti žiakov, viesť ich k hlbšiemu pochopeniu učiva na konkrétnych príkladoch s využitím v praxi pri riešení rôznych problémov. Prechod od pasívnej k aktívnej činnosti žiakov dosahujeme aplikovaním rôznych prístupov pri vyučovaní matematiky, ktoré prispievajú k lepšiemu porozumeniu preberaného učiva. Aktívnou činnosťou skvalitňujeme vzdelávanie, čím podporujeme rozvoj kompetencií na lepšiu pripravenosť na budúce zamestnanie alebo k ďalšiemu štúdiu. Jedným z takýchto úspešných prístupov pri vyučovaní matematiky je používanie učebných pomôcok v elektronickej podobe. Učebné pomôcky v elektronickej podobe prinášajú možnosť budovania nových poznatkov aj počas dištančnej výučby alebo neprítomnosti žiaka na vyučovaní, čím zvyšujeme dostupnosť získavania nových poznatkov alebo pri opakovaní preberaného učiva.

Medzi najčastejšie používané textové učebné pomôcky vo vyučovaní matematiky patria učebnice a pracovné listy. Učebnica zohráva významnú pozíciu vo vyučovacom procese a je najdôležitejšou učebnou pomôckou pre žiakov. Učiteľ matematiky používa učebnicu ako oporu pri tvorbe materiálov na vyučovaciu hodinu, pričom sa musí oboznámiť so symbolmi a pojmami, ktoré sú použité v učebnici. Učebnica ako hlavný zdroj informácií slúži na upevňovanie učiva, či už v škole alebo doma.

Cieľom našej práce je elektronické spracovanie a porovnanie dvoch učebníc matematiky „Učebnica matematiky pre 7. ročník základných škôl“ od prof. Ondreja Šedivého a „Učebnica matematiky pre 9. ročník ZŠ a 4. ročník gymnázia s osemročným štúdiom“, ktorej autorkou je dr. Viera Kolbaská na tému Lineárne rovnice na základnej škole. Žiaci spoznávajú matematiku ako súčasť ľudskej kultúry a dôležitý nástroj pre spoločenský pokrok, počítaním zaujímavých príkladov rozvíjajú svoje logické a kritické myslenie. Taktiež rozvíjajú čitateľskú gramotnosť, naučia sa vyhodnocovať reálnu situáciu a interpretovať výsledok vlastnej práce. [1]

1 Porovnanie učebníc

Matematika je veda, ktorá sa využíva takmer vo všetkých vedných odboroch. Nedá sa naučiť za jeden deň. V škole je preto dôležitý kvalitný výklad učiteľa a k tomu aj textový podklad v podobe učebníc. Učebnica slúži ako sprievodný text k učiteľovmu výkladu, ale tiež je užitočná pri samoštúdiu z dôvodu absencie žiaka alebo ak je výklad učiteľa nedostatočný.

Učiteľ matematiky má možnosť využívať viacero učebníc matematiky od rôznych autorov. Učebnice obsahujú tie isté tematické celky predpísané podľa štátneho vzdelávacieho štandardu, no napriek tomu majú inú štruktúru. Ich štruktúra môže byť rozdielna v obsahu, v usporiadaní tém, v kapitolách, vo výklade, v grafickom spracovaní ako sú obrázky, v štruktúre textu, vo formáte a farbách, čo tiež výrazne ovplyvňuje kvalitu učenia sa žiakov. Vzhľadom na dostupné učebnice z matematiky sme sa rozhodli tematicky porovnávať učebnice určené pre základné školy v rámci témy Lineárne rovnice.

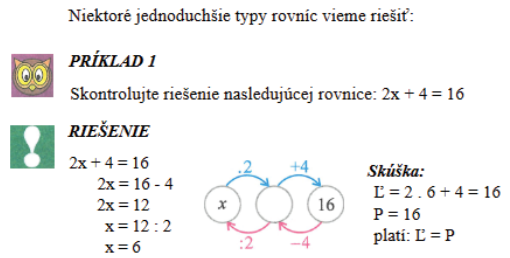
V našej komparácii sme použili učebnice matematiky „Učebnica matematiky pre 7. ročník základných škôl, druhá časť" od prof. Ondreja Šedivého z roku 2000 a „Učebnica matematiky pre 9. ročník ZŠ a 4. ročník gymnázia s osemročným štúdiom, prvá časť", ktorej autorkou je dr. Viera Kolbaská. Táto učebnica vyšla v roku 2012. Obidve učebnice boli schválené Ministerstvom školstva, vedy, výskumu a športu Slovenskej republiky.

1.1 Analýza témy Lineárne rovnice od prof. Ondreja Šedivého

V tejto podkapitole nájdeme rozbor témy Lineárne rovnice v učebnici matematiky „Učebnica matematiky pre 7. ročník základných škôl, druhá časť“ od prof. Ondreja Šedivého. Táto učebnica vyšla v dvoch dieloch. Téma Lineárne rovnice je začlenená už pre siedmy ročník základnej školy, pretože učebnica bola koncipovaná podľa štátneho vzdelávacieho štandardu platného pre rok 2000. V učebnici sú kapitoly Lineárne rovnice, Významné prvky trojuholníka, Percentá, Stredová a osová súmernosť, Kombinatorika, Mnohosteny, Zhodné zobrazenia, Topografické práce v teréne, Diagramy a Cvičenia na opakovanie. Kapitola Lineárne rovnice je rozdelená na štyri podkapitoly, a to sú Rovnosť a rovnica, Úpravy lineárnych rovníc, Riešenie jednoduchých lineárnych rovníc, Slovné úlohy vedúce na riešenie lineárnych rovníc. Na konci každej témy sa nachádza Vyskúšajte sa!

Podkapitola Rovnosť a rovnica začína opakovaním už prebratého učiva s následnými jednoduchými úlohami na overenie a doplnenie znamienka. Ďalej nasleduje zopakovanie si pojmov s grafickým znázornením. Po zopakovaní nasleduje zhrnutie a niekoľko definícii doplnené poznámkou. Po tejto časti nasleduje niekoľko úloh na zopakovanie. Po úlohách je zaradená problémová úloha, ktorá má riešenie. Riešenie je znázornené aj graficky pre lepšie zapamätanie. Postup je doplnený poznámkou a ďalšími úlohami. Nasleduje riešenie jednoduchých typov rovníc:

Príklad 1: *„Skontrolujte riešenie nasledujúcej rovnice:* $2x + 4 = 16$*“.*



Obr. 1: Ukážka riešenia príkladu 1
Zdroj: autor

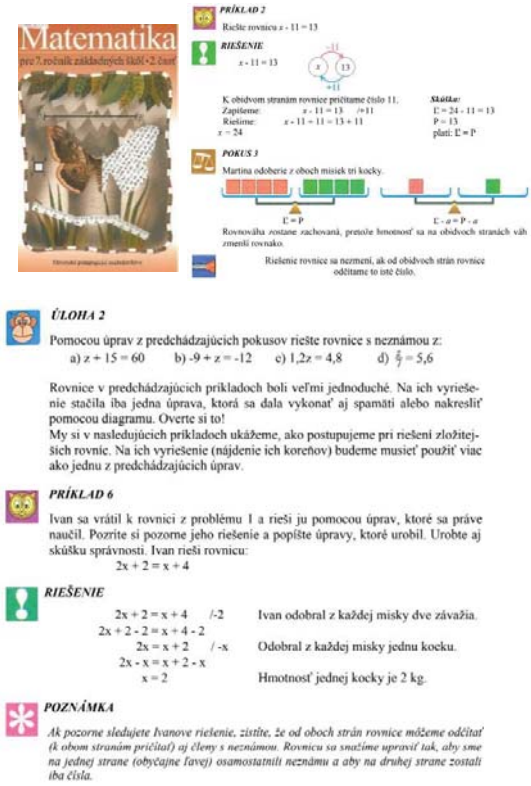
Ďalej pokračujú náročnejšie úlohy a cvičenia na zopakovanie a utvrdenie učiva.

Druhá podkapitola sa nazýva Úpravy lineárnych rovníc. Táto podkapitola začína problémovou úlohou s názorným obrázkom a riešením doplnené o slovné vysvetlenie. Úpravy lineárnych rovníc sú vysvetľované pomocou modelu váh. V podkapitole sa vyskytujú podobné príklady s riešeniami a úlohy doplnené obrázkami, poznámkami a zhrnutím. Potom sa plynule prechádza k cvičeniam. Na konci učebnice sa nachádzajú výsledky úloh a cvičení.

Táto učebnica je spracovaná systematicky, vieme, ako sú témy nadviazané. Učivo o lineárnych rovniciach je tvorené ucelene, v logickom poradí s vhodnými príkladmi a ilustráciami. Obsahuje rôzne úlohy zoradené od najjednoduchších až po zložitejšie. Graficky je spracovaná jednoducho, žiak si názornými ukážkami lepšie zapamätá učivo, čo prispieva k rozvíjaniu abstraktného myslenia. Táto učebnica je viac prínosná pre žiakov z hľadiska štruktúry. Obsahuje dôležité informácie, ktoré sú priehľadné. V učebnici sa okrem bieleho podkladu a čierneho textu vyskytuje len minimum iných farieb, ak si odmyslíme informačné obrázky. Výnimkou sú definície, ktoré sú vyznačené ružovými a žltými rámčekmi. Výhodou je, že v učebnici môžeme nájsť príklady s postupom riešenia, ktoré môžu viesť k lepšiemu pochopeniu učiva. Téma lineárne rovnice je ilustrovaná na rade príkladov, ktoré predstavujú situácie z reálneho života.

Učebnica obsahuje aj vysvetlenia pojmov a teórie, čo nasvedčuje tomu, že učebnica spĺňa

podmienky na to, aby mohla slúžiť ako materiál pri samoštúdiu. [7]



Obr. 2: Ukážka z učebnice matematiky „Učebnica matematiky, 7. ročník“ od prof. Ondreja Šedivého
Zdroj: autor

1.2 Analýza témy Lineárne rovnice od dr. Viery Kolbaskej

Táto podkapitola je zameraná na rozbor témy Lineárne rovnice v učebnici matematiky „Učebnica matematiky pre 9. ročník ZŠ a 4. ročník gymnázia s osemročným štúdiom, prvá časť“, ktorej autorkou je dr. Viera Kolbaská. Táto učebnica vyšla v dvoch častiach. Téma Lineárne rovnice je spomenutá pre deviaty ročník základnej školy a štvrtý ročník gymnázií s osemročným štúdiom, pretože učebnica je vypracovaná v súlade so štátnym vzdelávacím štandardom platným pre rok 2012. V učebnici sa nachádzajú kapitoly Úvod, Mocniny a odmocniny, zápis veľkých čísel, Pytagorova veta, Riešenie lineárnych rovníc a nerovníc, Súmernosť v rovine, Výsledky a Metodické poznámky pre učiteľov.

Kapitola Riešenie lineárnych rovníc a nerovníc je tvorená piatimi podkapitolami Jednoduché lineárne rovnice, riešené pomocou ekvivalentných úprav, Jednoduché lineárne nerovnice, Jednoduché lineárne rovnice s neznámou v menovateli, Vyjadrenie neznámej zo vzorca, Riešenie slovných (kontextových) úloh, ktoré sa dajú riešiť pomocou lineárnej rovnice alebo nerovnice.

Podkapitola Jednoduché lineárne rovnice, riešené pomocou ekvivalentných úprav začína žltým obdĺžnikom s názvom „Čo sme sa už naučili“, ktorá žiakom pripomína, čo by už mali vedieť. Nasledujú úlohy rôzneho typu označené modrým číslom v žltom obdĺžniku, za ktorými nasledujú riešenia týchto úloh. Úlohy s červeným číslom v žltom obdĺžniku sú neriešené. Sú to úlohy na precvičovanie učiva. Náročnejšie úlohy sú označené jednou alebo dvoma hviezdičkami podľa ich náročnosti. Učebnica obsahuje definície označené paragrafom v modrom obdĺžniku. Informácie, ktoré môžu pomôcť pri riešení úloh, sú označené v ružovom rámčeku ako Pomôcka. Zelené políčko sa začína Viete, že ...?, ktoré obsahuje rôzne zaujímavosti. Nachádza sa tu aj problémová úloha, ktorá sa bežne nerieši a je určená pre žiakov s hlbším záujmom o matematiku. Na precvičenie učiva obsahuje učebnica súbory úloh obsiahnuté v tmavozelenom rámčeku pod názvom Vyskúšajte sa. Na konci tematických celkov je súhrn prebratého učiva v ružovom rámčeku ako Zapamätajte si. Nasledujú riešenia rovníc, ktoré sú písané na každej strane v dvoch stĺpcoch, čo na žiaka môže pôsobiť zmätene a potrvá mu, kým sa zorientuje, kde riešenie pokračuje.

Napríklad Príklad 6:

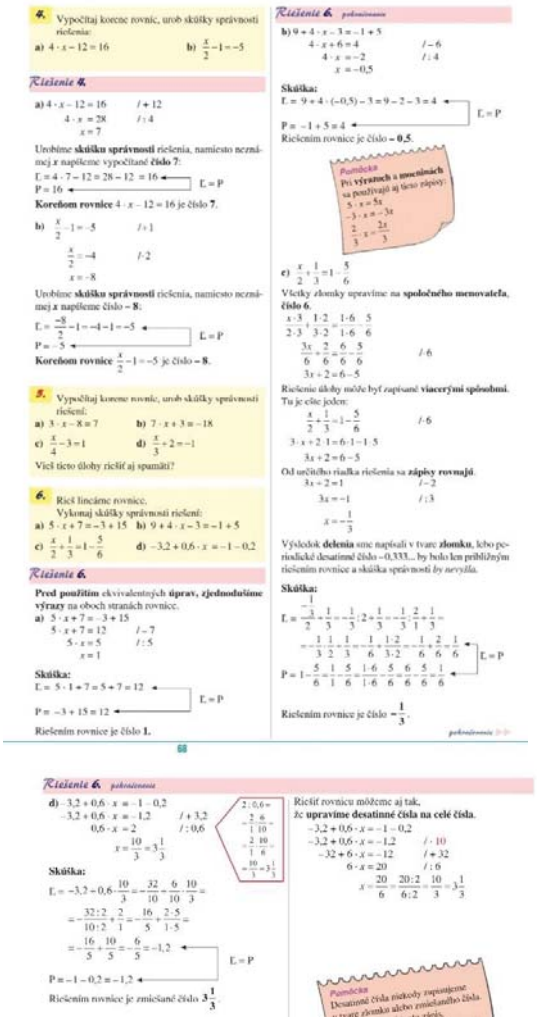
„Rieš lineárne rovnice. Vykonaj skúšky správnosti riešení:

a) $5.x + 7 = -3 + 15$

b) $9 + 4.x - 3 = -1 + 5$

c) $\frac{x}{2} + \frac{1}{3} = 1 - \frac{5}{6}$

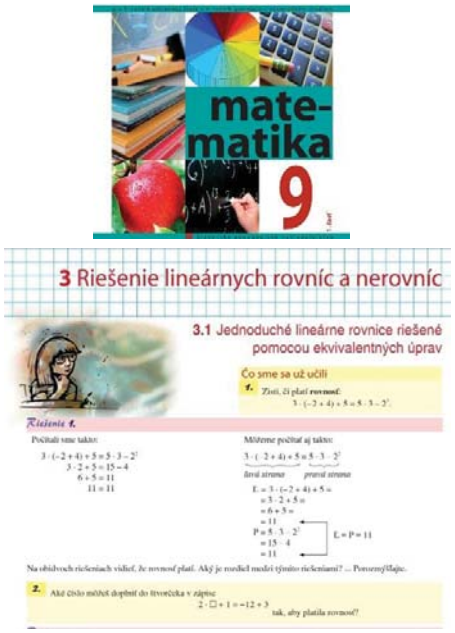
d) $-3{,}2 + 0{,}6.x = -1 - 0{,}2$“



Obr. 3: Ukážka riešenia príkladu 6
Zdroj: autor

Strana je rozdelená na dva stĺpce. V ľavom stĺpci dole je zadanie Príkladu 6. Za zadaním sa nachádza riešenie príkladu, ktoré pokračuje v pravom stĺpci hore. Riešenie príkladu pokračuje ďalej na ďalšej strane hore v ľavom a aj v pravom stĺpci, čo pôsobí chaoticky.

Táto učebnica je nesystematická, chaotická a nedostatočne objasňuje podstatu učiva. Chýba vysvetlenie a zhrnutie úpravy lineárnych rovníc. Text je nahustený, písaný v dvoch stĺpcoch, nevieme, čo za čím nasleduje. Je veľmi pestrofarebná. Pri chvíľke nepozornosti sa v nej žiak stratí. Učebnica od dr. Viery Kolbaskej v počte obrázkov a farieb mierne predbieha učebnicu od prof. Šedivého. Okrem bieleho podkladu a čierneho textu sa vyskytujú aj iné farby. Definície, zhrnutia, zadania úloh a ich riešenia sú rôznofarebne vyznačené. V učebnici sa vyskytujú príklady s postupom riešenia, ktoré môžu viesť k lepšiemu pochopeniu samotnej látky. [4]



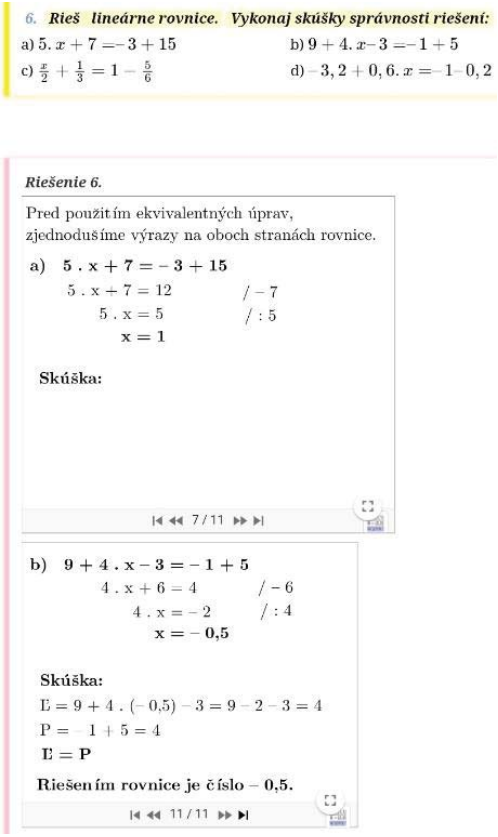
Obr. 4: Ukážka z učebnice matematiky „Učebnica matematiky pre 9. ročník ZŠ a 4. ročník gymnázia s osemročným štúdiom - 1. časť“ od dr. Viery Kolbaskej
Zdroj: autor

2 Elektronická verzia učebníc

Učebnice matematiky „Učebnica matematiky pre 7. ročník základných škôl“ od prof. Ondreja Šedivého a „Učebnica matematiky pre 9. ročník ZŠ a 4. ročník gymnázia s osemročným štúdiom“, ktorej autorkou je dr. Viera Kolbaská na tému Lineárne rovnice na základnej škole sme spracovali do elektronickej podoby v e-learningovom softvére Moodle a pri tvorbe riešenia úloh sme využili geometricko-algebrický softvér GeoGebra. Tento softvér umožňuje súčasne vytvárať dynamické modely pre oblasť geometrie a algebry. Pre tematickú oblasť "Ekvivalentné úpravy pri riešení lineárnych rovníc" určenú pre žiakov základných škôl existujú na serveri www.geogebra.org viaceré applety od rôznych autorov na precvičovanie riešenia lineárnych rovníc.

Grafické prevedenie elektronickej verzie učebnice je rovnaké ako papierová verzia. V týchto učebniciach sa okrem bieleho podkladu a čierneho textu vyskytujú aj iné farby, ktorými sú vyznačené definície, zhrnutia a úlohy, ktoré sú vyznačené vo farebnom rámčeku. Okrem toho tam môžeme nájsť farebné obrázky. Obsah interaktívnych riešení je skrytý, zobrazené je iba zadanie. Kliknutím

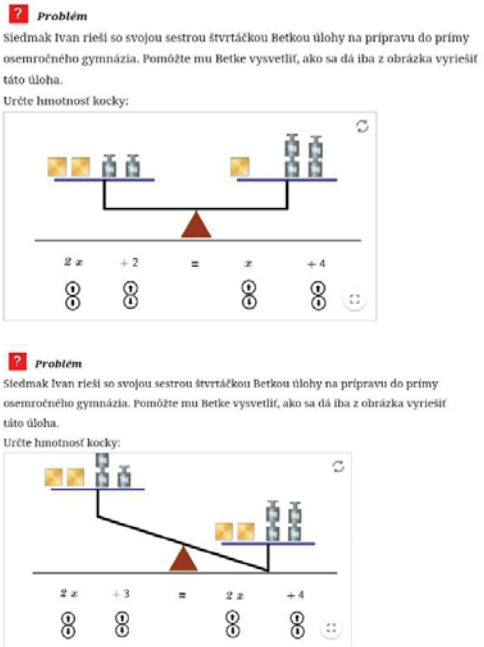
na ikonu šípky sa zobrazí obsah riešenia úlohy. Jednotlivým klikaním sa riešenie úlohy objavuje krok po kroku až k samotnému výsledku. Pri nepochopení alebo na lepšie pochopenie učiva sa žiak môže vrátiť na začiatok riešenia a znovu si prehrať jednotlivé kroky, prípadne sám navrhne postup riešenia, ktorý si overí odkliknutím kroku.



Obr. 5: Ukážka elektronického riešenia príkladu
Zdroj: autor

https://lms.umb.sk/mod/book/view.php?id=214637&chapterid=8489 - ukážka riešenia príkladu 6 v LMS Moodle

Ilustrácie sú interaktívne a majú funkčný charakter (žiaci môžu manipulovať prvkami na ilustrácii). V texte sa nachádzajú za účelom detailnejšieho vysvetľovania. Medzi interaktívne ilustrácie zaraďujeme napr. model váh. Využívame ho pri vysvetľovaní o úprave lineárnych rovníc. Žiaci môžu meniť hodnoty na jednotlivých miskách váh a popritom sledovať meniacu sa rovnováhu na váhe.



Obr. 6: Ukážka ilustrácie - model váh
Zdroj: autor

https://lms.umb.sk/mod/book/view.php?id=214637&chapterid=8479 - ukážka modelu váh v LMS Moodle

Elektronické verzie učebníc by sa mohli dať stiahnuť, ale k ich použitiu by bolo potrebné, aby každý žiak mal elektronické zariadenie (počítač, notebook, tablet, ...). Na nich sa dajú vykonávať aj iné činnosti, ktoré môžu rušiť žiaka a odvádzať jeho pozornosť pri výuke. Výhodou digitálnej formy je možnosť pristúpiť k nej z akéhokoľvek zariadenia na celom svete s pripojením na internet. Dá sa s ňou pracovať na interaktívnej tabuli alebo na bielej magnetickej tabuli. Učebnice v tlačenej forme majú niekoľko dielov. Žiaci nosia mnoho učebníc denne so sebou do školy a zo školy domov, ktoré majú rôzny formát (najčastejšie A4 a A5) a určitú hmotnosť. Po určitom čase používania sa opotrebujú a zničia, a tak sa musia vynaložiť finančné prostriedky na kúpu nových učebníc. Učebnicami v elektronickej podobe sa znižuje hmotnosť školských aktoviek a zároveň sa odstraňuje problém rôzneho formátu učebníc, čím sa pomáha žiakom predchádzať problémom s chrbticou.

Záver

Cieľom práce bolo zistiť rozdiely v učebniciach matematiky „Učebnica matematiky pre 7. ročník základných škôl“ od prof. Ondreja Šedivého a „Učebnica matematiky pre 9. ročník ZŠ a 4. ročník

gymnázia s osemročným štúdiom", ktorej autorkou je dr. Viera Kolbaská na tému Lineárne rovnice na základnej škole. Z hľadiska didaktického spracovania daných učebníc je vhodnejšie spracovaná učebnica od autora prof. Ondreja Šedivého. Učebnica je viac praktickejšia, prehľadnejšia a výhodou je veľké množstvo rozmanitých úloh na precvičenie učiva. Obsahuje viac stručnejších definícii a zhrnutí, ktoré sú pre žiakov zrozumiteľnejšie. Úprave lineárnych rovníc je venovaná celá podkapitola. Pri vysvetľovaní sa využíva názorný model váh, čím si to žiaci lepšie predstavia. Rozvíja sa abstraktné myslenie žiakov.

Napriek tomu v učebnici matematiky pre deviaty ročník od dr. Kolbaskej je celému učivu Lineárne rovnice venovaná len jedna podkapitola. Text je písaný chaoticky, v dvoch stĺpcoch, nevieme, čo za čím nasleduje. Odporúčame, aby kvôli prehľadnosti boli úlohy písané za sebou a nie v dvoch stĺpcoch. Do tejto učebnice by bolo vhodné zaradiť viac úloh zameraných na utvrdzovanie učiva, pridať viac rozmanitých úloh primeraných veku žiakov.

V obidvoch učebniciach sa vyskytujú príklady s postupom riešenia, ktoré môžu viesť k lepšiemu pochopeniu preberanej látky aj bez výkladu učiteľa. Výhodou obidvoch učebníc je súhrn cvičení na konci tematického celku, vďaka ktorému si žiaci môžu precvičiť danú tému.

Je dobré, aby sme sa zo štýlu, akým sú písané obidve učebnice matematiky, snažili poučiť a môžu taktiež slúžiť ako dobrý pomocný materiál pre akéhokoľvek učiteľa. Práca preto môže slúžiť ako pomocný materiál pri výbere správnej učebnice pre žiakov a taktiež pri hľadaní doplňujúcich cvičení.

Použitá literatúra

[1] BLAHUŠIAKOVÁ, N. 2022. *Pracovný list ako didaktická pomôcka pri vyučovaní matematiky*: bakalárska práca. Banská Bystrica: Univerzita Mateja Bela, 2022. 61 s.

[2] GERGELITSOVÁ, Š. *Počítač ve výuce nejen geometrie. Pruvodce Geogebrou*. Praha: Generation Europe, 2011, 256 s.

[3] HANZEL, P: *Vytvorenie elektronického kurzu v LMS MOODLE* [online]. Banská Bystrica: Univerzita Mateja Bela, 2011 [cit. 11. 3. 2023]. Dostupné z: https://www.unipo.sk/public/media/31617/Hanzel_P_Vytvorenie_elektronickeho_kurzu_v_LMS_Moodle_ISBN_978-80-557-0180-6.pdf

[4] KOLBASKÁ, V.: *Učebnica matematiky pre 9. ročník ZŠ a 4. ročník gymnázia s osemročným štúdiom*, 1.časť. Bratislava: Slovenské pedagogické nakladateľstvo – Mladé letá, s. r. o., 2012, s. 66 - 74. ISBN 978-80-10-02291-5.

[5] LÁSZLÓ, K. - OSVALDOVÁ, Z.: *Didaktika.* Banská Bystrica: Belianum, 2014. 162 s. ISBN 978-80-557-0690-0.

[6] PETLÁK, E.: *Všeobecná didaktika.* 1. vyd. Bratislava: IRIS, 1997. 270 s. ISBN 80-88778-49-2.

[7] ŠEDIVÝ, O.: *Učebnica matematiky pre 7. ročník základných škôl*, 2. časť. Bratislava: MEDIA TRADE, spol. s r. o. - Slovenské pedagogické nakladateľstvo, 2000, s. 5 - 37. ISBN 80-08-02680-4.

[8] TUREK, I.: *Didaktika*, IURA edition, 2008, 595 s., ISBN 8080781989.

Tvorba študijných materiálov z geometrie pre budúcich učiteľov matematiky

Creation of geometry study materials for future mathematics teachers

Michal Kubovčík[1]
Školiteľ: Mgr. Vladimír Kobza, PhD.[2]
[1,2]Katedra matematiky, FPV UMB, Tajovského 40, 974 01, Banská Bystrica
[1] mkubovcik@student.umb.sk, [2] vladimir.kobza@umb.sk

Abstrakt
Práca sa zaoberá možnosťami na skvalitnenie procesu prípravy budúcich učiteľov matematiky v oblasti geometrie kvadratických útvarov, k čomu má prispieť vytvorený učebný text v elektronickej podobe pre študentov učiteľstva matematiky na Univerzite Mateja Bela v Banskej Bystrici. Učebný text sa orientuje na tému kužeľosečiek. Tento materiál sa bude využívať v rámci vyučovania predmetu Kužeľosečky a kvadriky. V práci kladieme veľký dôraz na interaktívnosť vo vysvetľovaní teoretických poznatkov a pri riešení ukážkových príkladov. V našej práci v značnej miere využívame e-learningový systém LMS Moodle a dynamický geometricko – algebrický softvér GeoGebra. Študenti si môžu preklikávať jednotlivé kroky postupu riešenia, kontrolovať vlastné riešenia úloh alebo prísť na problematický bod v ich riešení úlohy. Vytvorený učebný materiál spĺňa moderné didaktické prvky – interaktívnosť, názornosť a dostupnosť.
Kľúčové slová: geometria, kužeľosečky, elektronický učebný materiál, GeoGebra, LMS Moodle

Abstract
The work deals with the possibilities for improving the training process of future mathematics teachers in the field of geometry of quadratic figures, to which the created teaching text in electronic form for students of mathematics teaching at the Matej Bel University in Banská Bystrica should contribute. The learning text focuses on the topic of conics. This material will be used as part of teaching the subject Conics and Quadrics. In our work, we place great emphasis on interactivity in the explanation of theoretical knowledge and in the solution of illustrative examples. In our work, we use the LMS Moodle e-learning system and the dynamic geometrical-algebraic software GeoGebra to a large extent. Students can click through the individual steps of the solution procedure, check their own problem solutions or come to a problematic point in their problem solution. The created teaching material meets modern didactic elements - interactivity, clarity and accessibility.
Key words: geometry, conics, teaching material, GeoGebra, LMS Moodle

Úvod
Geometria ako najstaršia matematická vedná disciplína má nezastupiteľné postavenie vo vyučovaní matematiky, čo je dané jej praktickosťou pri opise reálnych objektov. V geometrii existujú dva prístupy štúdia geometrických objektov, a to sú syntetický a analytický. Syntetický prístup bol rozvinutý už v staroveku a najznámejším predstaviteľom tohto historického obdobia je Euklides s rozsiahlym dielom Základy, v ktorom je rozpracovaná axiomatická výstavba geometrie. Základné pojmy syntetickej geometrie sú bod, priamka a kružnica. Analytický prístup sa začal rozvíjať až omnoho neskôr v novoveku. Za zakladateľa analytickej geometrie považujeme René Descartesa, ktorý napísal knihu Geometria v roku 1637. Analytická geometria skúma geometrické objekty v euklidovskej geometrii pomocou algebrických a analytických metód. Medzi základné pojmy analytickej geometrie sa považujú súradnicová sústava, vektory a rovnice.

Študenti učiteľstva matematiky v prvom ročníku magisterského štúdia na UMB musia absolvovať povinný predmet Kužeľosečky a kvadriky. Na tomto predmete sa skúma geometria kvadratických útvarov syntetickým a analytickým prístupom. Ide o nový predmet, ktorý bol začlenený do študijného programu učiteľstva matematiky po poslednej akreditácii v akademickom roku 2022/2023. Pre tento predmet nie je vypracovaný ucelený študijný materiál pre študentov. Z uvedeného dôvodu sme sa rozhodli, že vypracujeme elektronický študijný materiál na tému kužeľosečky.

Pri tvorbe študijného materiálu využívame e-learningový systém LMS Moodle. Ide o najrozšírenejšiu vzdelávaciu platformu na svete, v ktorom je možné pridávať študijné materiály vo forme HTML, súbory na stiahnutie, animácie, štruktúrované prednášky, vytvárať a hodnotiť zadania úloh a viesť diskusné fóra. Ukážkové príklady ku jednotlivým kapitolám študijného materiálu sú vytvorené pomocou softvéru GeoGebra. V nej sa dajú vytvárať tzv. applety, ktoré sa dajú vo forme HTML vložiť do LMS Moodle. V appletoch sú podrobne rozpracované riešenia ukážkových príkladov. Študent si má možnosť preklikávať kroky riešenia podľa vlastnej potreby v rôznom čase, čím sa zvyšuje dostupnosť a efektívnosť vzdelávacieho procesu. Zároveň pomocou tohto softvéru má študent možnosť vidieť prepojenie syntetického a analytického prístupu štúdia geometrii v interaktívnej podobe.

1 Tvorba študijného materiálu v LMS Moodle

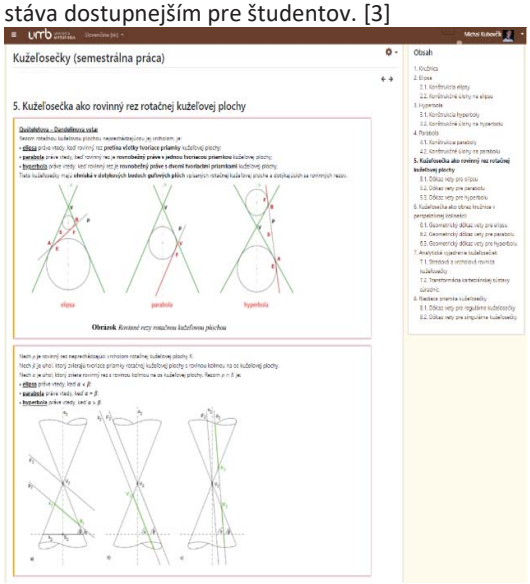
LMS Moodle je softvérový balík slúžiaci na tvorbu vyučovacieho systému a elektronických kurzov v online prostredí. Je poskytovaný zadarmo ako otvorený softvér spadajúci pod všeobecnú verejnú licenciu GNU. Pôvodným autorom tohto balíka je Martin Dougiamas a v súčasnosti komunitu vývojárov zastrešuje spoločnosť Moodle Pty Ltd. sídliaca v austrálskom meste Perth.

Pri tvorbe kurzov je k dispozícii niekoľko modulov, z ktorých sa dá zostaviť obsah kurzu. Nastavenie modulu a jeho jednotlivých inštalácii sa dá ďalej prispôsobovať a využívať v rôznych pedagogických situáciách. Pomocou štandardných modulov sa do kurzu dajú vkladať:

- študijné materiály vo forme HTML stránok;
- súbory (MS word, MS powerpoint, PDF), ktoré sa dajú stiahnuť;
- Flash animácie;
- štruktúrované prednášky;
- diskusné fóra s možnosťou odoberania príspevkov pomocou emailu;
- úlohy pre účastníkov kurzu;
- automaticky vyhodnocované testy zložené z rôznych typov testových úloh.

LMS Moodle taktiež umožňuje evidenciu študijných výsledkov účastníkov kurzu. Činnosť účastníkov kurzu je evidovaná v podrobných protokoloch a súhrnných štatistikách. [6]

V našej práci sme najčastejšie využívali zo štandardných modulov tvorbu študijných materiálov vo forme HTML stránok a tvorbu štruktúrovaných prednášok na jednotlivé kapitoly preberané v rámci študijného predmetu Kužeľosečky a kvadriky. Pri tvorbe HTML stránok sme využívali voľne dostupný softvér GeoGebra a štruktúrované prednášky sme vypracovali pomocou vlastných poznámok a odporúčanej literatúry uvedenej v informačnom liste predmetu Kužeľosečky a kvadriky. Pri tvorbe elektronického kurzu sme sa snažili, aby študijný text nebol prehustený, obsahoval najpodstatnejšie fakty a súvislosti, grafika pozadia bola jednoduchá a odlišovala definície, dôkazy a príklady a obrázky opisovali výstižne danú problematiku. Niektoré dôkazy ku prislúchajúcim vetám sme kvôli väčšiemu porozumeniu vypracovali v GeoGebre, aby si študent mohol preklikávať jednotlivé kroky podľa vlastnej potreby, a tým skôr aby porozumel princípu daného dôkazu. Výhoda takéhoto elektronického kurzu oproti klasickej knižnej literatúre je taká, že študent prostredníctvom dynamických prvkov vie na hociktorom mieste v ľubovoľnom čase nadobúdať nové vedomosti, čím sa vzdelávanie stáva dostupnejším pre študentov. [3]



Obr. 1 - Vzhľad kurzu Kužeľosečky a kvadriky. [Zdroj: autor].

Obr. 2 - Webová stránka na obrázku 1 vo forme HTML. [Zdroj: autor].

2 Tvorba študijného materiálu v GeoGebre

GeoGebra je multiplatformný dynamický softvér spájajúci geometriu a algebru. V GeoGebre sa dajú okrem zostrojovania geometrických objektov vytvoriť tabuľky a grafy, analyzovať funkcie

pomocou infimezimálneho počtu (derivácie, integrály) a vypočítať štatistiku. Tvorcom geogebry je Markus Hohenwarter, ktorý začal vytvárať softvér na Univerzite v Salzburgu v roku 2001. Program navrhol špeciálne pre vzdelávacie účely, ktorý môže pomôcť žiakom pochopiť experimentálnym, heuristickým a bádateľsky orientovaným vyučovaním preberané učivo na hodinách matematiky v školskom alebo domácom prostredí. Takto môžu žiaci súčasne používať systém počítačovej algebry a interaktívny geometrický systém v jednom balíku. Softvér je možné inštalovať takmer v každom operačnom systéme (napr. Windows, Android, macOS, Linux). To znamená, že vytvorenú aktivitu v GeoGebre vieme otvoriť na mobile, tablete, notebooku a PC. Na webovej stránke www.geogebra.org je možné zadarmo stiahnuť viaceré verzie softvéru.

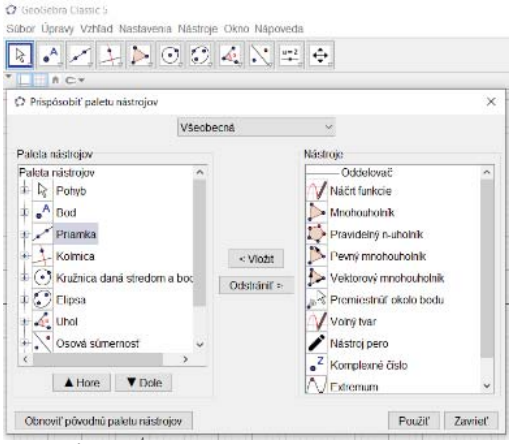
Medzi najväčšie výhody používania GeoGebry vo vyučovaní matematiky aj na vysokých školách považujeme nasledujúce fakty:

- GeoGebra je v porovnaní s grafickou kalkulačkou ponuka užívateľsky jednoduchšie rozhranie;
- študenti si vo vlastných prácach môžu pomocou úpravy rozhrania prispôsobiť veľkosť písma, jazyk, pozadie, farebnosť, súradnicovú sústavu, hrúbku a štýl čiary a i.
- študenti môžu ľahko manipulovať s premennými jednoduchým pretiahnutím voľných objektov okolo roviny kreslenia alebo pomocou posúvnikov;
- študenti môžu postupne preklikávať jednotlivé kroky riešenia úlohy;
- GeoGebra poskytuje veľmi dobrú príležitosť pre kooperatívne, interaktívne alebo individuálne vzdelávanie;
- vstup algebry umožňuje študentovi vytvárať nové objekty alebo upravovať existujúce objekty pomocou príkazového riadku;
- vytvorené aktivity sa dajú používať v elektronických kurzoch vo forme HTML.

Využívaním softvéru GeoGebra rozvíjame u študentov kľúčové kompetencie:

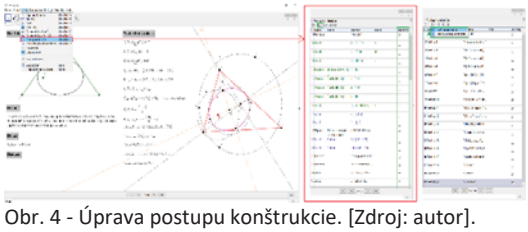
- digitálne kompetencie (kompetencie v oblasti informačných a komunikačných technológii);
- kompetencie uplatňovať matematické myslenie a poznávanie v oblasti vedy a techniky pri práci študenta s konštrukčnými úlohami v dynamickom myslení;
- komunikačné kompetencie (pomocou softvéru prezentovanie výsledkov vlastnej činnosti, argumentácia a obhajoba názoru). [2]

Na začiatku vytvárania appletu v GeoGebre je dôležité si upraviť paletu nástrojov tak, aby obsahovala iba nevyhnutné prvky.

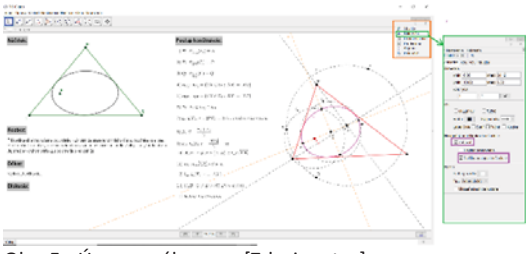


Obr. 3 - Úprava palety nástrojov. [Zdroj: autor].

Po úprave palety nástrojov postupne vypracovávame zadanie úlohy. Najprv pridáme text s komentárom ohľadom daného kroku riešenia, a potom vykonáme daný krok z toho dôvodu, aby študent mal možnosť skúsiť sám vyriešiť úlohu. Po vypracovaní zadania úlohy je vhodné upraviť postup konštrukcie tak, aby sa po načítaní študentovi ukázal prvý krok konštrukcie v applete. Túto úpravu urobíme tak, že vo Vzhľade klikneme na Postup konštrukcie, potom v ikonke Stĺpce (ikonka úplne naľavo) klikneme na možnosť Body lomu. V postupe konštrukcie zadáme Bod lomu na tých krokoch postupu konštrukcie, ktoré v nej chceme mať, a nakoniec v ikonke Nastavenia zvolíme možnosť Ukáž len body lomu.

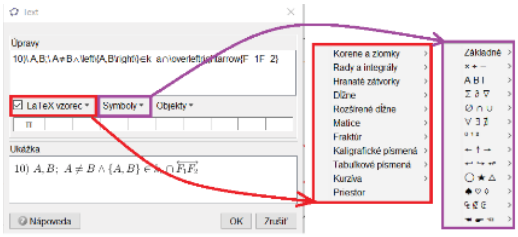

Obr. 4 - Úprava postupu konštrukcie. [Zdroj: autor].

Po vyššie uvedených úpravách na Palete nástrojov úplne vpravo klikneme na ikonku Vlastnosti a v nej si zvolíme možnosť Nákresňa. V Nákresni v časti Navigačný panel krokov konštrukcie si zvolíme možnosti Zobraziť a Tlačidlo postupu konštrukcie. Potom sa nám zobrazí možnosť prehratia postupu konštrukcie a na nej odklikáme prvú možnosť. Uložíme a pri nahratí appletu sa nám otvorí tento applet bez ukázania celého riešenia úlohy.



Obr. 5 - Úprava nákresne. [Zdroj: autor].

Pri vytváraní appletov v GeoGebre je dôležité ovládať princípy práce s textom. GeoGebra umožňuje LaTex zápisy, pričom je možné vkladať základné matematické výrazy a symboly. Študenti si skôr osvoja potrebnú matematickú symboliku a zápisy pri kontrole riešenia úloh pomocou GeoGebry v porovnaní s knižnými publikáciami, pretože často v nich je táto symbolika písaná veľmi nepriehľadne.



Obr. 6 - LaTex v GeoGebre. [Zdroj: autor]

3 Študijný predmet Kužeľosečky a kvadriky

Po novej akreditácii v akademickom roku 2022/2023 študijného programu na FPV UMB BB Učiteľstvo matematiky v kombinácii sa do zimného semestra v prvom ročníku magisterského štúdia zaviedol nový predmet Kužeľosečky a kvadriky, ktorý nahradil predmet Analytická geometria 3.

Výkonový štandard pre novovzniknutý predmet uvedený v informačnom liste predmetu znie:
„Študent je schopný rozumieť základným definíciám týkajúcich sa kužeľosečiek, kvadrík a základov voľného rovnobežného premietania. Študent je schopný rozumieť základným vetám týkajúcich sa kužeľosečiek, kvadrík (pozná význam všetkých pojmov a symbolov vo vete, má predstavu o zmysle a logickej stavbe vety, vie podoprieť vetu vhodnými príkladmi a kontrapríkladmi, vie vetu dokázať). Študent je schopný riešiť základné typy úloh týkajúcich sa kužeľosečiek, kvadrík. Študent je schopný vytvoriť a vyriešiť úlohy týkajúce sa kužeľosečiek, kvadrík pomocou dynamického softvéru GeoGebra (vie vytvoriť súbor úloh, študijné materiály, postupy konštrukcií pre žiakov strednej školy). Študent sa vie vyjadrovať v pojmoch a symboloch a ak sa to dá, tak aj graficky (vie ilustrovať úvahu obrázkom).“

Stručná osnova tohto predmetu je uvedená taktiež v jeho informačnom liste:
„Predmet je koncipovaný tak, aby študent v daných témach dostal potrebné informácie k príslušnému stredoškolskému učivu a aby získal k učivu nadhľad, ktorý je nevyhnutný pre budúceho učiteľa matematiky. Vývoj zobrazovacích metód. Základné polohové vlastnosti, metrické vlastnosti - mnohosteny, rotačné telesá. Premietanie – princíp, základné vlastnosti rovnobežného premietania. Afinita, stredová kolineácia. Kužeľosečka ako obraz kružnice v perspektívnej kolineácii. Kužeľosečka ako množina bodov danej vlastnosti - analytické vyjadrenie. Odvodenie ohniskovej a vrcholovej rovnice kužeľosečky. Stredová rovnica elipsy a hyperboly. Všeobecná rovnica kužeľosečky. Význam tzv. veľkého a malého diskriminantu. Regulárne a singulárne kužeľosečky. Kvadriky. Kvadratické rotačné plochy. Priamkové kvadratické plochy. Analytické určenie rovinného rezu kvadratickej plochy. V predmete sa kladie dôraz na zopakovanie, prehĺbenie a doplnenie učiva analytickej geometrie týkajúce sa kužeľosečiek. Použitie softvéru GeoGebra 3D - priemet mnohostena, zobrazenie hranolu, zobrazenie ihlanu, rez hranolu rovinou, rez ihlanu rovinou, prieniky hranolov a ihlanov. Rotačné telesá – zobrazenie kružnice, gule, guľovej plochy, zobrazenie rotačného valca a kužeľa. Rotačné telesá, rez gule rovinou, rez rotačného valca a kužeľa rovinou. Prieniky rotačných telies.“ [7]

Na prednáškach a cvičeniach sa podrobne rozoberajú nasledujúce témy:

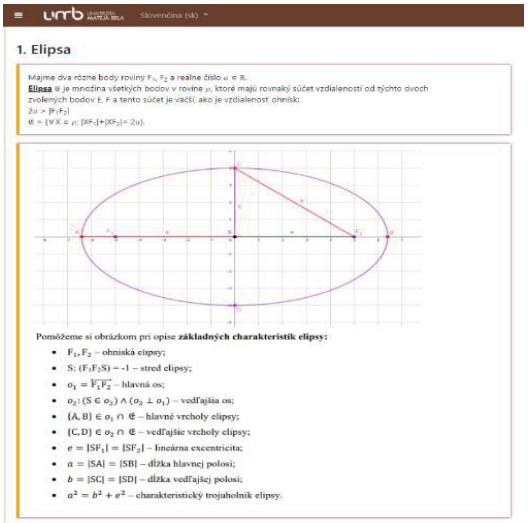
- projektívne rozšírenie euklidovského priestoru;
- kužeľosečky (ich konštrukcia a analytické vyjadrenie);
- kvadriky.

V našej práci sa dôkladne venujeme prvým dvom vymenovaným témam. Tieto dve témy sme rozčlenili na sedem samostatných kapitol:

1. elipsa;
2. hyperbola;
3. parabola;
4. kužeľosečka ako rovinný rez kužeľovej plochy;
5. kužeľosečka ako obraz kružnice v perspektívnej kolineácii;
6. analytické vyjadrenie kužeľosečiek;
7. riadiaca priamka kužeľosečky.

V prvých troch kapitolách definujeme elipsu, hyperbolu a parabolu ako množinu všetkých bodov v rovine s danou vlastnosťou. Ku definíciám týchto kužeľosečiek uvádzame ilustračné obrázky obsahujúce aj ich základné charakteristiky. Ďalej uvádzame typy kružníc súvisiace s týmito

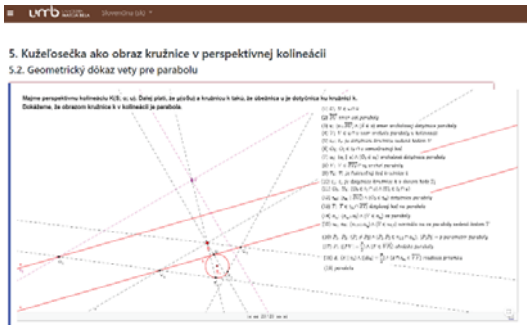
kužeľosečkami. Všetky tieto kapitoly obsahujú podkapitoly Konštrukcia, v ktorej uvádzame rôzne typy konštrukcii, a Konštrukčné úlohy zamerané na aplikovanie predchádzajúcich teoretických poznatkov. V podkapitole Konštrukčné úlohy sú vypracované zadania úloh pomocou appletov vytvorených v GeoGebre. Študenti si takto môžu kontrolovať vlastné riešenia úloh alebo prísť na problematický bod v ich riešení úlohy.



Obr. 7 - Ukážka z prvých troch kapitol. [Zdroj: autor].

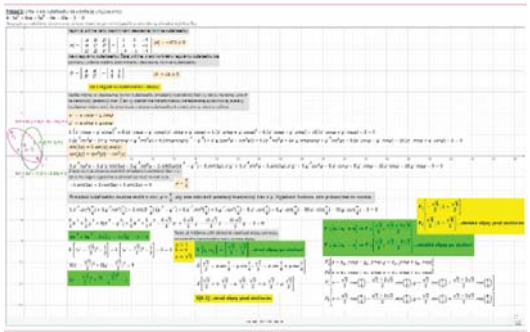
Vo štvrtej kapitole analyzujeme Quetelet – Dandelinovu vetu, ktorá hovorí o tom, akými rezmi rotačnou kužeľovou plochou dostaneme konkrétny typ kužeľosečky. V podkapitolách tejto kapitoly sú uvedené dôkazy tejto vety pre elipsu, parabolu a hyperbolu.

V piatej kapitole sa najprv venujeme projektívnemu rozšíreniu euklidovského priestoru. Najprv definujeme nové pojmy nevlastný bod, nevlastná priamka, nevlastná rovina a po nich definujeme geometrické zobrazenie perspektívna kolineácia. Uvádzame základné vlastnosti perspektívnej kolineácie doplnené ilustráciami a po tejto časti definujeme nové pojmy úbežník a úbežnice. V podkapitolách piatej kapitoly sú dôkladne uvedené dôkazy vety o kužeľosečke ako obraz kružnice v perspektívnej kolineácii pre elipsu, parabolu a hyperbolu, pričom každá kužeľosečka má vlastnú podkapitolu. V týchto podkapitolách sme využili pre lepšiu názornosť geometrický dôkaz zostrojený v GeoGebre a vložený do kurzu pomocou appletu.

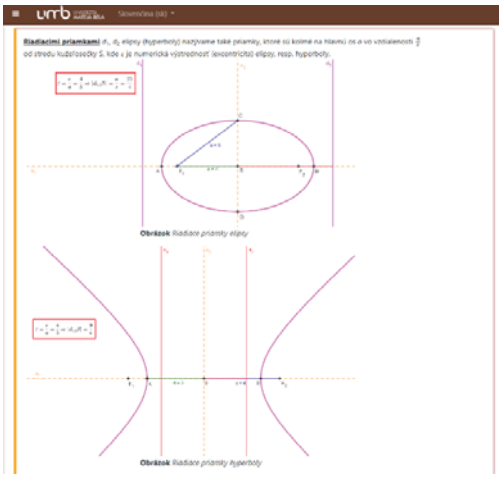


Obr. 8 - Spracovanie dôkazu vety v GeoGebre. [Zdroj: autor].

V šiestej kapitole definujeme kužeľosečky ako algebrické krivky 2. stupňa a uvádzame ich všeobecnú rovnice. Potom definujeme regulárne a singulárne kužeľosečky. Na konci uvádzame schému, ako určíme konkrétny typ a druh kužeľosečky na základe veľkého a malého diskriminantu všeobecnej rovnice kužeľosečky. V samostatnej podkapitole odvádzame stredové rovnice pre elipsu a hyperbolu a vrcholovú rovnicu pre parabolu na základe toho, že tieto kužeľosečky sú množiny všetkých bodov roviny s danou vlastnosťou. Pri riešení úloh je výhodné otočiť a posunúť kužeľosečku v príslušnej transformácii karteziánskej sústave súradníc tak, aby sme dostali jednoduchšiu rovnicu príslušnej kužeľosečky. Tejto problematike je venovaná samostatná podkapitola. Posledná podkapitola šiestej kapitoly obsahuje riešené príklady na vyjadrenie stredovej alebo vrcholovej rovnice kužeľosečky a určenie druhu a typu kužeľosečky. Riešenie úloh sme takisto vypracovali v GeoGebre pre lepšiu názornosť.


Obr. 9 - Ukážka riešenia príkladu v GeoGebre. [Zdroj: autor].

V poslednej siedmej kapitole sa venujeme spoločnému zadefinovaniu všetkých typov a druhov kužeľosečiek pomocou riadiacej priamky. V samostatných podkapitolách uvádzame dôkaz tejto vety pre regulárne a singulárne kužeľosečky.



Obr. 10 - Ilustrácie riadiacich priamok. [Zdroj: autor].

Záver

Cieľom práce bolo vytvoriť študijný materiál pre budúcich učiteľov matematiky v magisterskom stupni štúdia na Univerzite Mateja Bela v Banskej Bystrici, ktorý sa bude využívať v rámci vyučovania predmetu Kužeľosečky a kvadriky. Pre tento novovytvorený predmet chýbal ucelený študijný materiál, preto z tohto dôvodu sme sa rozhodli vytvoriť elektronický študijný materiál, v rámci ktorého študenti môžu nadobúdať nové poznatky z geometrie kvadratických útvarov. Na tvorbu elektronického študijného materiálu sme využili e-learningový systém LMS Moodle a na spracovanie riešenia príkladov vo forme dynamických appletov sme použili geometricko-algebrický softvér GeoGebra. Snažili sme sa vytvoriť taký študijný materiál, ktorý sa dá využiť aj pri dištančnej výučbe a študent mohol získavať nové poznatky individuálnym štúdiom. Na nasledujúcom odkaze uvádzame vytvorený elektronický študijný materiál: https://lms.umb.sk/mod/book/view.php?id=216240

Zoznam použitej literatúry

[1] BUDINSKÝ, B. 1983. *Analytická a diferenciální geometrie*. Praha: SNTL, 296 s.

[2] GERGELITSOVÁ, Š. 2011. *Počítač ve výuce nejen geometrie. Pruvodce Geogebrou*. Praha: Generation Europe, 256 s.

[3] HANZEL, P: *Vytvorenie elektronického kurzu v LMS MOODLE* [online]. Banská Bystrica: Univerzita Mateja Bela, 2011 [cit. 11. 3. 2023]. Dostupné z: https://www.unipo.sk/public/media/31617/Hanzel_P_Vytvorenie_elektronickeho_kurzu_v_LMS_Moodle_ISBN_978-80-557-0180-6.pdf

[4] MATULÍKOVÁ, A. 2014. Bakalárska práca: *Perspektívni kolineace*. Brno: Masarykova univerzita, 40 s.

[5] MONOSZOVÁ, G. 2008. *Geometria (zbierka úloh z analytickej geometrie)*. Banská Bystrica: Univerzita Mateja Bela, 89 s.

[6] MOLNÁR, P. 2014. Bakalárska práca: *Vytvorenie e-learningového kurzu v LMS Moodle*. Bratislava: Ekonomická univerzita, 46 s.

[7] *Informačný list predmetu Kužeľosečky a kvadriky* [online]. Banská Bystrica: Univerzita Mateja Bela, 2022 [cit. 11. 3. 2023]. Dostupné z: https://www.fpv.umb.sk/app/cmsFile.php?disposition=i&ID=21244

[8] PISKA, R. – MEDEK, V. 1966. *Deskriptivní geometrie I.* Praha: SNTL, 333 s.

[9] ŠEDIVÝ, O. et all. 1986. *Geometria II.* Bratislava: SPN, 207 s.

Návrh a tvorba tematického atlasu ako kartografickej pomôcky na hodinách vied o Zemi

Design and creation of a thematic atlas as a cartographic aid in earth science classes

Tomáš Hrdý[1]
Školiteľ: Martina Škodová[2]
[1,2]Katedra geografie a geológie, FPV UMB, Tajovského 40, 974 01 Banská Bystrica,
[1] tomas.hrdy@student.umb.sk, [2] Martina.Skodova@umb.sk

Abstrakt

Veľmi zjednodušene môžeme tvrdiť, že atlas je súbor máp vybraného územia. Od veľkosti zobrazovaného územia sa odvíja mierka použitých máp a taktiež rozsah informácií, ktoré chce autor dielom sprostredkovať. Veľa území už bolo atlasovo spracovaných, stále sa však dajú vyčleniť také, ktoré neboli. V prípade Slovenska napr. mapy jednotlivých samosprávnych krajov.

Mapy, zvlášť analógové, si držia svoje miesto aj v dnešnom svete digitalizácie, no nevyužiť potenciál, ktorý táto doba prináša aj v oblasti kartografie by bolo nielen nemúdre, ale takisto nemožné. Internet, smartfóny a virtuálna realita prinášajú do vyučovania nové spôsoby získavania informácií aj na predmete geografia, ktorá sa aj vďaka nim stáva modernejšou a pútavejšou pre žiakov či jej záujemcov.

Kľúčové slová: atlas, mapa, vrstvy, Banskobystrický kraj

Abstract

Very simply, we can say that an atlas is a set of maps of a selected area. The scale of the maps used depends on the size of the displayed territory, as well as the range of information that the author wants to convey through the work. Many territories have already been processed by atlas, but it is still possible to single out those that were not. In the case of Slovakia, e.g. maps of individual self-governing regions.

Maps, especially analog ones, keep their place even in today's world of digitization, but it would be not only unwise, but also impossible not to use the potential that this era brings in the field of cartography. The Internet, smartphones and virtual reality bring new ways of obtaining information to the teaching, even in the subject of geography, which also thanks to them becomes more modern and engaging for students or those interested in it.

Key Words: the atlas, a map, layers, Banská Bystrica region

Úvod

Ak nasledujeme slová Pravdu (2006), ktorý píše o mapách ako cieľavedomých, graficky zmysluplne prepracovaných zobrazeniach prírodných a spoločenských javov, ich vzájomných interakcií v rôznych etapách historického vývoja, potom môžeme chápať nasledujúci článok ako počin priniesť nové kartografické dielo územia, ktoré v podobnom rozsahu dosiaľ nebolo takto spracované, a to za použitia takých vyjadrovacích prostriedkov, ktoré majú za cieľ prihovoriť sa svojmu čitateľovi modernou, veľmi pútavou no zároveň jednoduchou formou. [1]

Skutočnosť, že atlas, ktorý by sa venoval výlučne Banskobystrickému kraju, zatiaľ nebol vytvorený, zároveň vysvetľuje rozhodnutie vytvoriť takéto dielo, ktoré by sprostredkovalo záujemcom, v tomto prípade žiakom ZŠ, informácie o kraji kartografickou formou, ktorá zároveň pracuje s modernými vizualizačnými prvkami, a tým sa líši od iných atlasov používaných vo vyučovaní, ako napr. Atlas Slovensko z vydavateľstva Mapa Slovakia, Školský atlas Slovenská republika a Európa od SHOCART-u, či Školský atlas Slovenská republika od VKÚ Harmanec. Porovnaniu týchto atlasov sme sa venovali v minuloročnom príspevku. [2]

Ako tvrdí Voženílek (2014), atlas sa považuje za konečný kartografický produkt, na ktorého zostavenie sú potrebné skúsenosti kartografa vo viacerých kartografických oblastiach. Tie je možné získať práve systematickou kartografickou produkciou. [3]

Pri tvorbe návrhu atlasu sme si zobrali za vzory podobné kartografické diela, vydané Katedrou geoinformatiky Univerzity Palackého v Olomouci. Išlo o Tematický atlas Olomouckého kraje a Atlas přírodních charakteristik Olomouckého kraje. [4] [5]

Zatiaľ čo z prvého menovaného sa autor inšpiroval zapracovaním infografických prvkov, ktoré slúžia ako

efektívny spôsob na zobrazovanie dát, ktorý pôsobí jednoducho a pútavo, druhý atlas vo svojom obsahu využíva spôsob nadväzujúceho pátrania po informáciách, ktoré sa nezmestili na stránky atlasu, no svojím prínosom môžu byť rovnako dôležité. To je možné za pomoci smartfónu s internetom a fotoaparátom, ktorý po nasnímaní QR kódu presunie čitateľa na vzdialený zdroj.

1 Moderné prvky v atlase

Rovňanová (2015) vo svojej práci uvádza, že na základe spôsobu učenia sa rozlišujeme podľa metodiky VARK štyri základné učebné štýly. Tým prvým je tzv. vizuálny štýl, kedy si najviac informácii zapamätáme z vizuálnych prvkov akými sú mapy, grafy, schémy alebo diagramy. [6]

Jednou z moderných foriem učenia sa, ktorá prepája informácie s dizajnom, je infografika. Vďaka tomuto prepojeniu je správa podaná prijímateľovi rýchlo a jednoducho. [7]

Atlas Banskobystrického kraja (Obr. 2) narába ako s infografikou, tak s QR kódmi, ktoré sme sa ale rozhodli posunúť na ďalšiu úroveň, a to zapojením moderných aktivizujúcich učebných metód, ako aj prvkami virtuálnej reality. Podľa Kotrbu s Lacinom (2007) je cieľom aktivizujúcich učebných metód zvýšiť záujem o preberané učivo vtiahnutím študentov do vyučovania pomocou ich aktívneho zapojenia sa, miesto statického prijímania informácii. [8] Po nasnímaní niektorých, zreteľne označených QR kódov v atlase bude môcť čitateľ zažiť danú krajinu priamo v teréne prostredníctvom hry, ktorá v ňom bola autorom vytvorená. (Obr. 3) Čitateľ, v tomto prípade už súťažiaci, bude potrebovať na jej odohratie len mobilný telefón, internet a dopravný prostriedok, ktorým sa na dané miesto dopraví. QR kódy s virtuálnou realitou zavedú čitateľa na miesta, ktoré má možnosť vidieť na mapách v atlase. Vďaka 360°fotografiám si ich bude môcť vybaviť takmer rovnako, ako by v nich práve bol.

2 Obsah atlasu

Atlas je rozčlenený do piatich kapitol. V prvej kapitole sa môžeme zoznámiť s najznámejšími miestami kraja, jeho hranicami, rozlohou, najväčšími mestami, ale aj jeho historickými zobrazeniami. Druhá kapitola predstavuje prienik do fyzickej geografie. Je najrozsiahlejšia a venuje sa všetkým jej čiastkovým vedným disciplínam od geomorfológie, geológie, cez klimatológiu až po ochranu krajiny. Ďalšia časť atlasu sa na troch kapitolách venuje humánnej sfére, ktorá je rozdelená na mapy o obyvateľstve, štruktúre a jeho pohyboch, ďalšia kapitola sa venuje doprave a posledná geopotenciálu kraja. V závere atlasu sú spomenutí autori fotografií uverejnených v atlase, ako aj tvorcovia grafík a zdroje použitých dát a vrstiev.

3 Použité metódy

Na tvorbu máp boli využité viaceré metódy tematickej kartografie. Boli vyberané so zreteľom na charakter dát, ich geometriu, ktorá môže byť bodová, líniová alebo plošná, či vzhľadom na škálu (absolútne alebo relatívne hodnoty). [9]

Tak sa v atlase striedajú mapy, ktoré využívajú bodovú metódu, a to najmä v kapitole Geopotenciál kraja, líniovú metódu v kapitole o Doprave, alebo plošnú napr. pri mapách rozšírenia jednotlivých typov zveri v podkapitole o poľovníctve. Ďalej atlas narába pomerne často s metódou kartogramu, resp. kartodiagramu a to najmä pri zobrazovaní spoločensko-geografických javov v tretej kapitole.

Metóda izolínií v podobe vrstevníc je použitá ako grafický prvok v celkovom vzhľade jednotlivých strán celého atlasu, pri mapách v kapitole Príroda bol využívaný tieňovaný reliéf s farebnou hypsometriou v podkapitole Povrch, v podkapitole Podnebie zas izolínie zobrazujú jednotlivé pásma s rovnakým priemerným úhrnom zrážok či priemernou ročnou teplotou.

4 Hlavné zdroje dát

Žiadny atlas by sa nezaobišiel bez dobrej zásoby kartografických vrstiev, stabilného geografického informačného systému ani štatistickej databáze javov interpretovaných prostredníctvom máp.

Dôležitým zdrojom vrstiev bol Atlas krajiny Slovenskej republiky, voľne dostupný aj online na stránke Enviroportálu. Niektoré z nich, vzhľadom na rok vydania atlasu (2002), bolo treba aktualizovať, a preto bol pri práci využitý ako zdroj aj Klimatický atlas Slovenska, ktorého vrstvy však neboli dostupné vo formáte shapefile, a preto boli nami georeferencované snímky z atlasu a vytvorené vlastné vrstvy. Ďalej ako zdroj vrstiev poslúžili voľne stiahnuteľné vrstvy na stránke Geoportálu a Geologického ústavu. Iné boli vytvorené autorom, ako už bolo spomenuté vyššie, po získaní požadovaných informácií z webových stránok Národného lesníckeho centra alebo Siete slovenských geoparkov.

Všetky mapy boli vyhotovené v softvéri ArcPro od spoločnosti Esri. Grafické spracovanie atlasu bolo realizované v programe Adobe Indesign (Obr. 1) z balíka programov Adobe Creative Cloud od

spoločnosti Adobe, ktorej licenciu sme si na obdobie tvorby atlasu zakúpili.

Prakticky celá kapitola Človek čerpala štatistické údaje z dvoch databázových setov Štatistického úradu Slovenskej republiky – DATAcube a STATdat, ako aj z posledného sčítania obyvateľov, domov a bytov, realizovaného v roku 2021. Použité dáta sú tak tie najaktuálnejšie možné.

5 Atlas Banskobystrického kraja

Úvodná kapitola pozostáva z troch podkapitol. Tá prvá má názov ZÁKLADNÉ INFORMÁCIE. Ako názov napovedá, poskytuje hrubý prehľad najznámejších lokalít kraja, akými sú prameň Hrona, najvyšší vrch Ďumbier, alebo systém vodných nádrží typických pre toto územie, tzv. tajchov. Všetky miesta sú zobrazené aj na mape. Nasleduje podkapitola ADMINISTRATÍVNE ČLENENIE s mapou jednotlivých okresov či historických stolíc. V poslednej podkapitole PREMENA KRAJINY (Obr. 4) sme sa venovali historickému zobrazeniu kraja, a to spravidla na mapách vojenských mapovaní.

Nasleduje kapitola s názvom PRÍRODA. Je rozčlenená na podkapitoly POVRCH, v ktorej nechýba okrem fyzickogeografickej mapy kraja aj mapa geomorfologického členenia. Ďalej dvojstrana GEOLOGICKÉ ZLOŽENIE (Obr. 5) zobrazuje okrem geologických máp aj ilustráciu vývoja kontinentov, či vývoj života na našej planéte, od jej vzniku až po človeka. Podkapitola VODSTVO obsahuje okrem mapy hlavných povodí aj zoznam najdlhších riek, resp. najväčších vodných nádrží. Nasleduje PODNEBIE s mapou priemernej ročnej teploty a priemerným ročným úhrnom zrážok. Na túto podkapitolu nadväzuje ďalšia s názvom PÔDA spolu s mapou pôdnych typov, ale napr. aj grafikou výškovej členitosti pôd. Po nich nasledujú podkapitoly ŽIVÁ PRÍRODA s mapou drevinového zloženina lesa, OCHRANA PRÍRODY s mapou územnej ochrany prírody v kraji, a dve menej tradičné – LESNÍCTVO s mapou významných lesníckych miest a záverečná podkapitola POĽOVNÍCTVO s mapou poľovných oblastí a rozšírením vybraných druhov zveri.

Humánne zamerané témy sú podrobne zobrazené v ďalšej kapitole s názvom ČLOVEK. Nasledujú mapy hustoty zaľudnenia, sobášnosti, rozvodovosti, vierovyznaní, mapa pôrodnosti, úmrtnosti, mechanického ako aj celkového pohybu obyvateľstva, či mapa národností, ktorá odhaľuje početnú národnostnú zložku maďarského obyvateľstva na juhu kraja. (Obr. 6) Mapy sú sprevádzané aj vekovými pyramídami kraja v rôznych obdobiach či doplňujúcimi grafmi. Skladba jednotlivých máp má svoje opodstatnenie. Napr. v podkapitole VZDELANIE A NEZAMESTNANOSŤ je možné pozorovať súvis medzi nezamestnanosťou a vzdelanosťou v jednotlivých okresoch, pričom na základe máp je jasné, že okresy s nižšou vzdelanosťou majú problém s vyšším počtom nezamestnaných.

Nasleduje štvrtá kapitola venovaná doprave kraja. Tá je podrobne zobrazená na mape cestnej, železničnej ale napr. aj leteckej dopravy, ktorá opäť nebýva pravidelnou súčasťou sady máp podobných atlasov. Kapitolu uzatvárajú zaujímavosti z dopravy, ako aj schéma trolejbusových liniek v Banskej Bystrici (Obr. 7).

Záverečná kapitola je venovaná možnostiam rozvoja kraja. Má názov GEOPOTENCIÁL a zobrazuje mapy jednotlivých geoparkov, ktoré sa nachádzajú v Banskobystrickom kraji (Obr. 8), mapu najvýznamnejších turistických lokalít, a v podkapitole VÝROBNÝ POTENCIÁL mapu vinohradníckych revírov Stredoslovenskej vinohradníckej oblasti, ako aj mapu poľnohospodárstva a priemyslu.

Kapitoly sú doplnené fotografiami zo spomenutých miest, grafmi, tabuľkami, ako aj QR kódmi na ďalšiu prácu s údajmi. Významným prvkom atlasu sú tzv. boundy, ktoré po nasnímaní QR kódu je možné hrať priamo v teréne, v ktorom boli autorom vytvorené.

Záver

Atlas Banskobystrického kraja v infografickom prevedení, ktoré mu dáva prístupnejší výzor pre mladšie generácie, pútavý a ľahko zapamätateľný vzhľad, zobrazuje mapy prírodných, ako aj socioekonomických charakteristík južnej časti stredného Slovenska.

Tento atlas si dal za cieľ stať sa kartografickým dielom, ktoré je svojím obsahom jedinečné, s rešpektovaním zaužívaných kartografických postupov, no súčasne so zapojením moderných geovizualizačných techník.

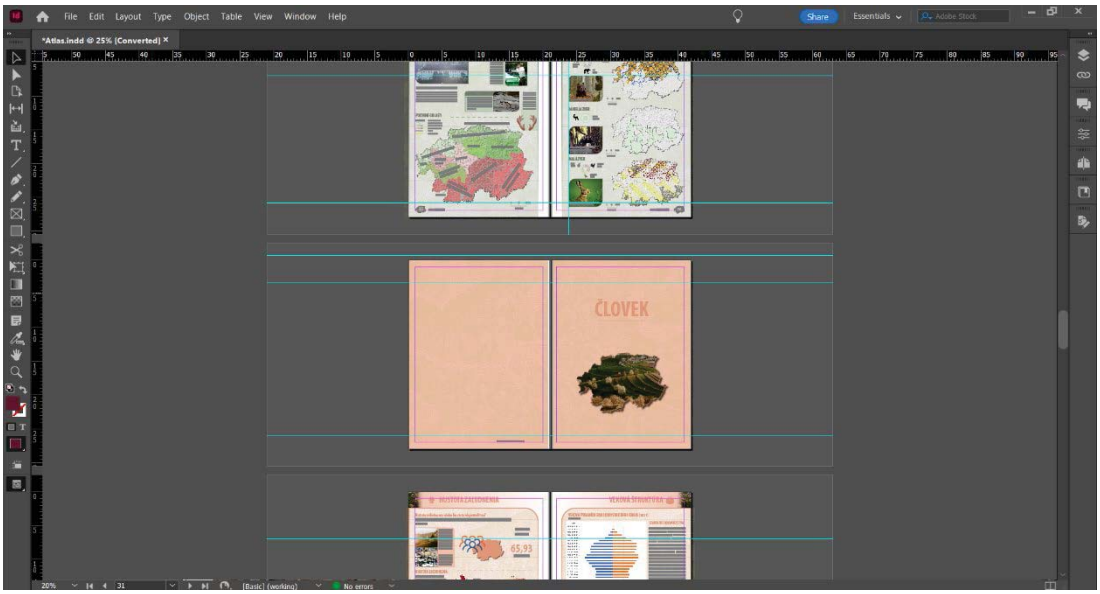
Poďakovanie

Fotografie a grafiky sú dôležitým prvkom tohto atlasu, rovnako ako mapy alebo štatistiky. Preto by sme sa touto cestou chceli poďakovať autorom, ktorí prispeli svojimi zdrojmi a zvýšili tak hodnotu tohto kartografického diela.

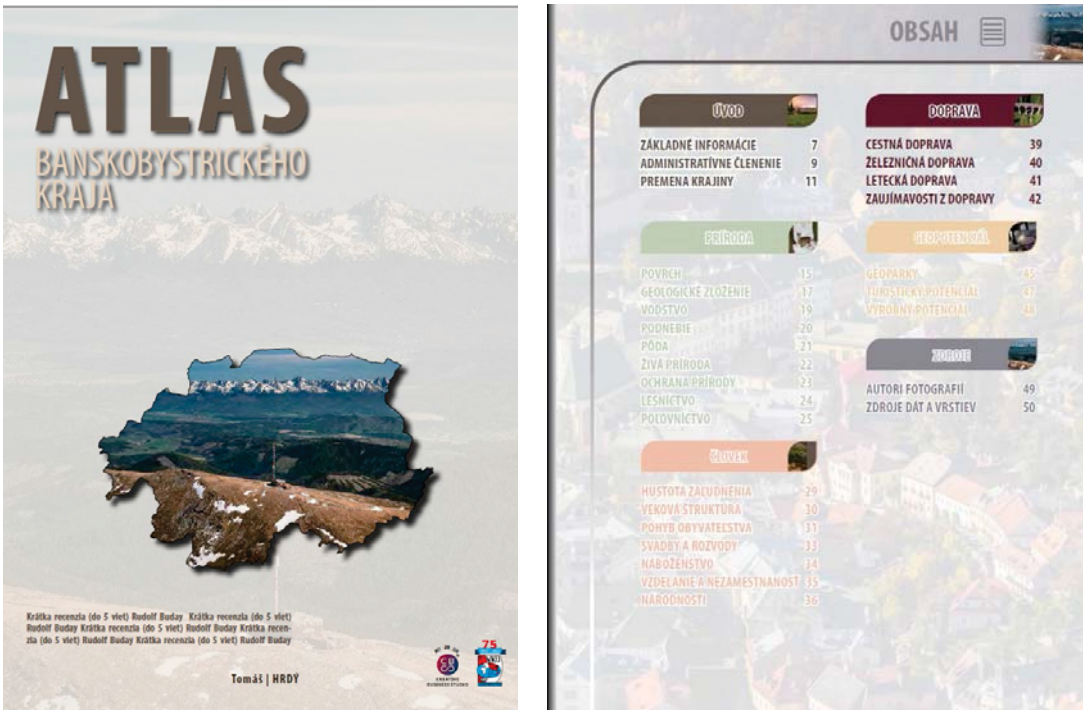
Použitá literatúra

[1] Pravda J. (2006) Geografický časopis. 58(3), p. 225
[2] Hrdý T. (2022) Študentská vedecká konferencia 2022, Tematický atlas Banskobystrického kraja v

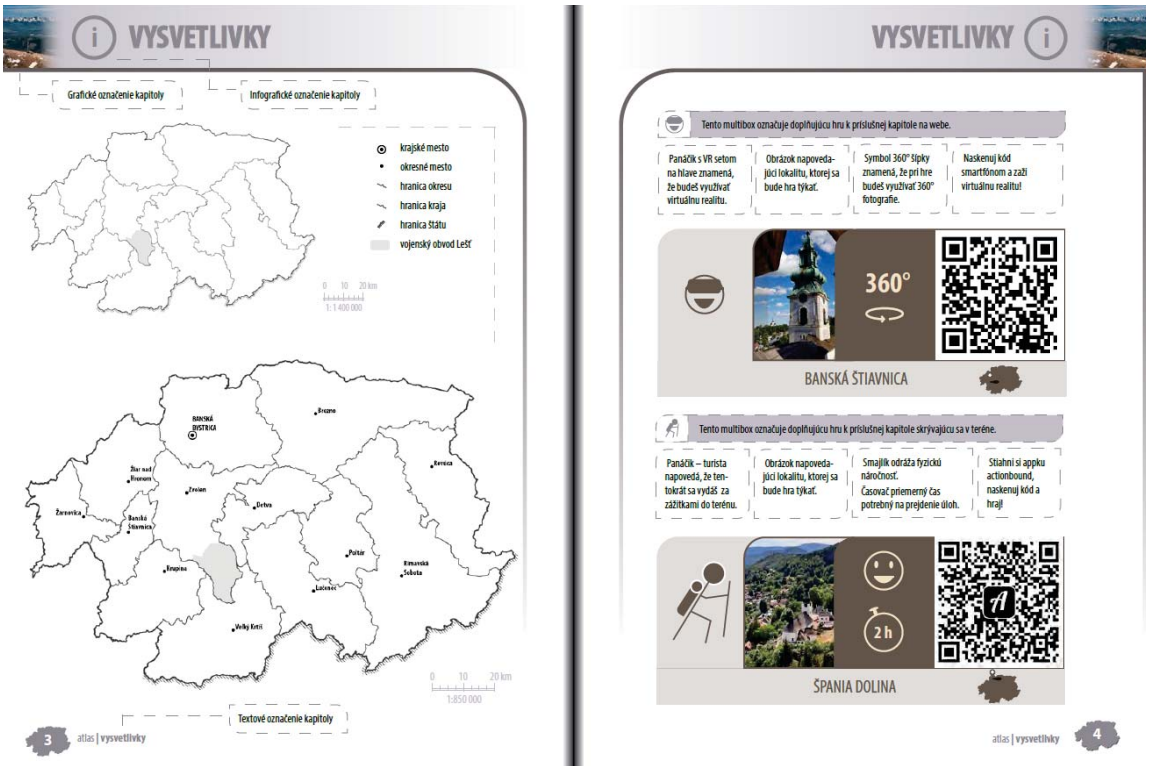
infografickom prevedení ako učebná pomôcka na hodinách vied o Zemi, s. 356
[3] Voženílek V. (2014) Aspects of the thematic atlas compilation. In: Brus J., Vondráková A., Voženílek V. Modern Trends in Cartography Lecture Notes in Geoinformation and Cartography. Springer International Publishing Switzerland, p. 3-22.
[4] Žejdlík J. (2020) Tematický atlas Olomouckého kraje v infografickém provedení. (Bakalárska práca) Přírodovědecká fakulta, Univerzita Palackého, Olomouc
[5] Biemann O. (2021) Atlas přírodních charakteristik Olomouckého kraje. (Bakalárska práca) Přírodovědecká fakulta, Univerzita Palackého, Olomouc
[6] Rovňanová L. (2015) Učebné štýly žiakov a vyučovacie štýly učiteľov. Metodicko-pedagogické centrum, Bratislava, p. 32
[7] Smiciklas M. (2012) The power of infographics: using pictures to communicate and connect with your audience. Ind.: Que Pub., Indianapolis, p. 21
[8] Kotrba T., Lacina L. (2007) Praktické využití aktivizačnich metod ve výuce. Společnost pro odbornou literaturu, Brno, p. 39
[9] Miklín J, Dušek R., Krtička L., Kaláb O. (2018) Tvorba map. Ostravská univerzita, Ostrava, p. 128



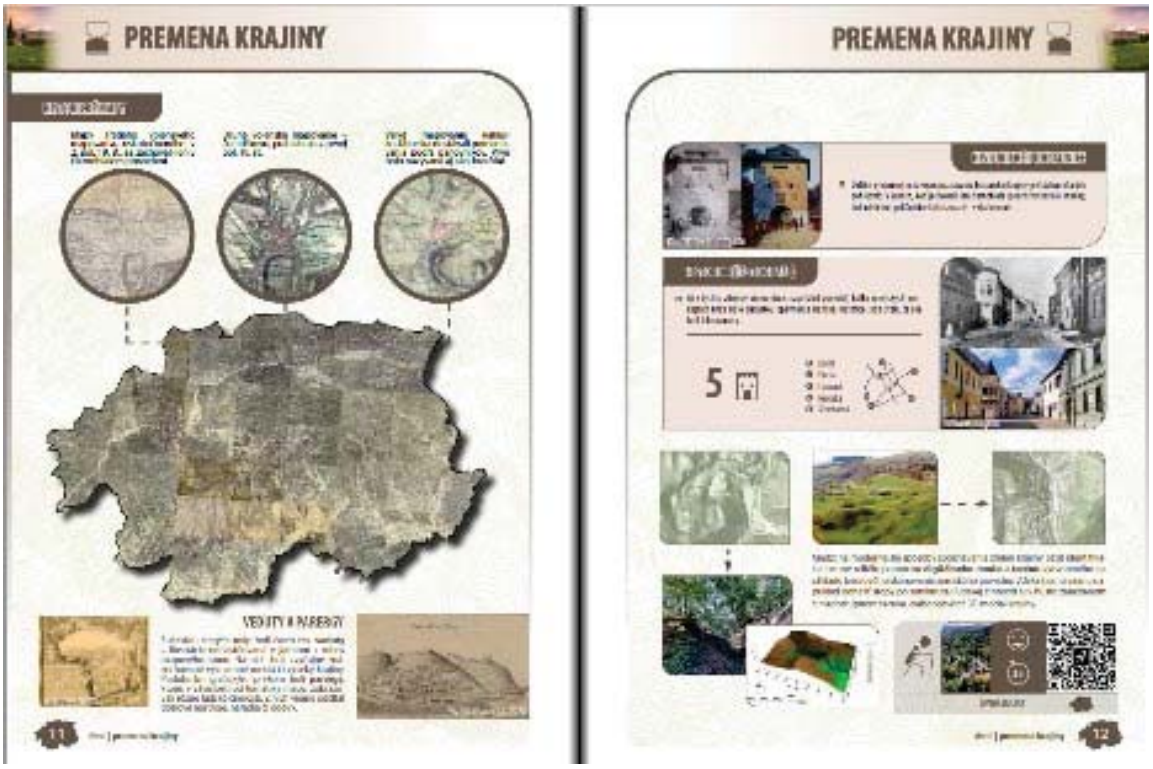
Obr. 1 Zobrazenie atlasu v pracovnom prostredí programu Adobe InDesign



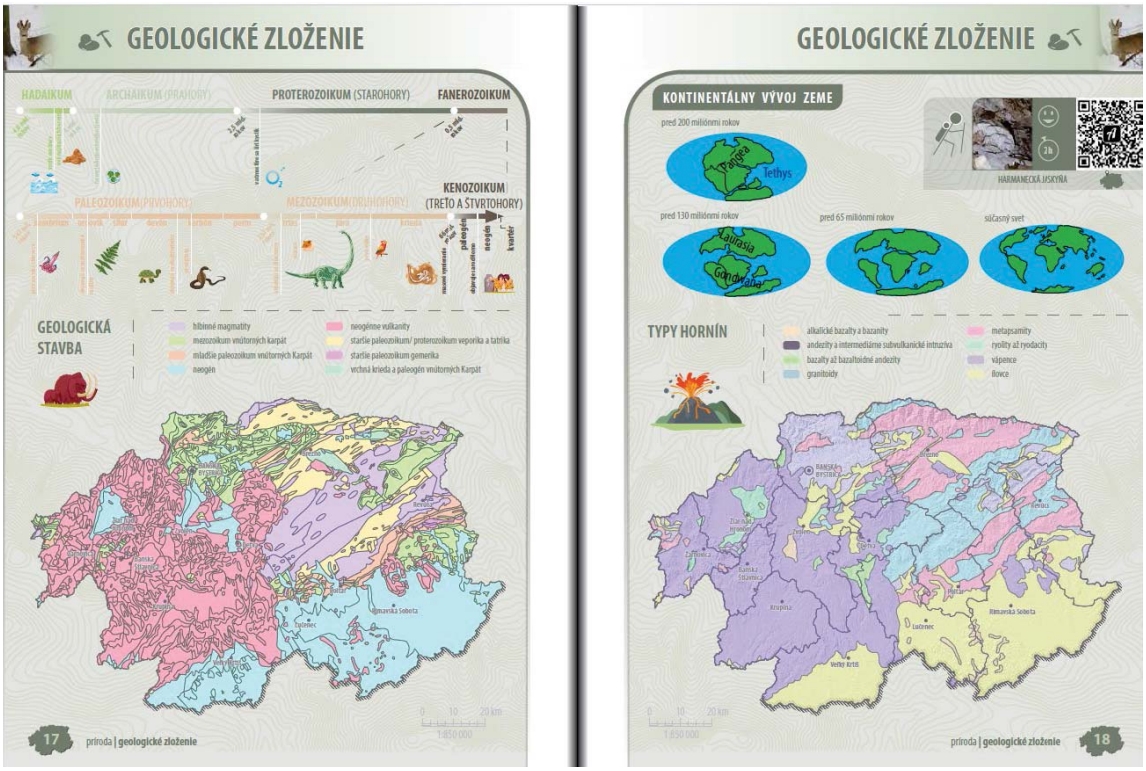
Obr. 2 Obálka atlasu a jeho obsah



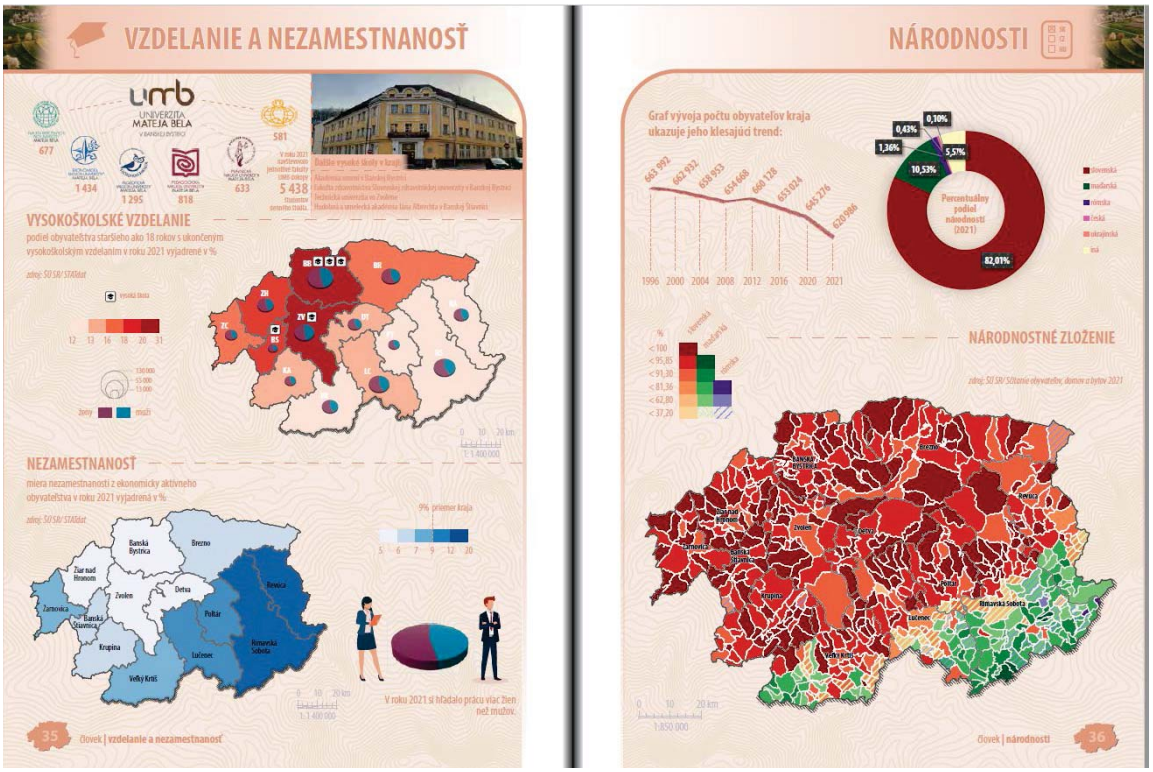
Obr. 3 Vysvetlivky k mapám, k práci s prvkami virtuálnej reality a interaktívnym hrám, tzv. boundom



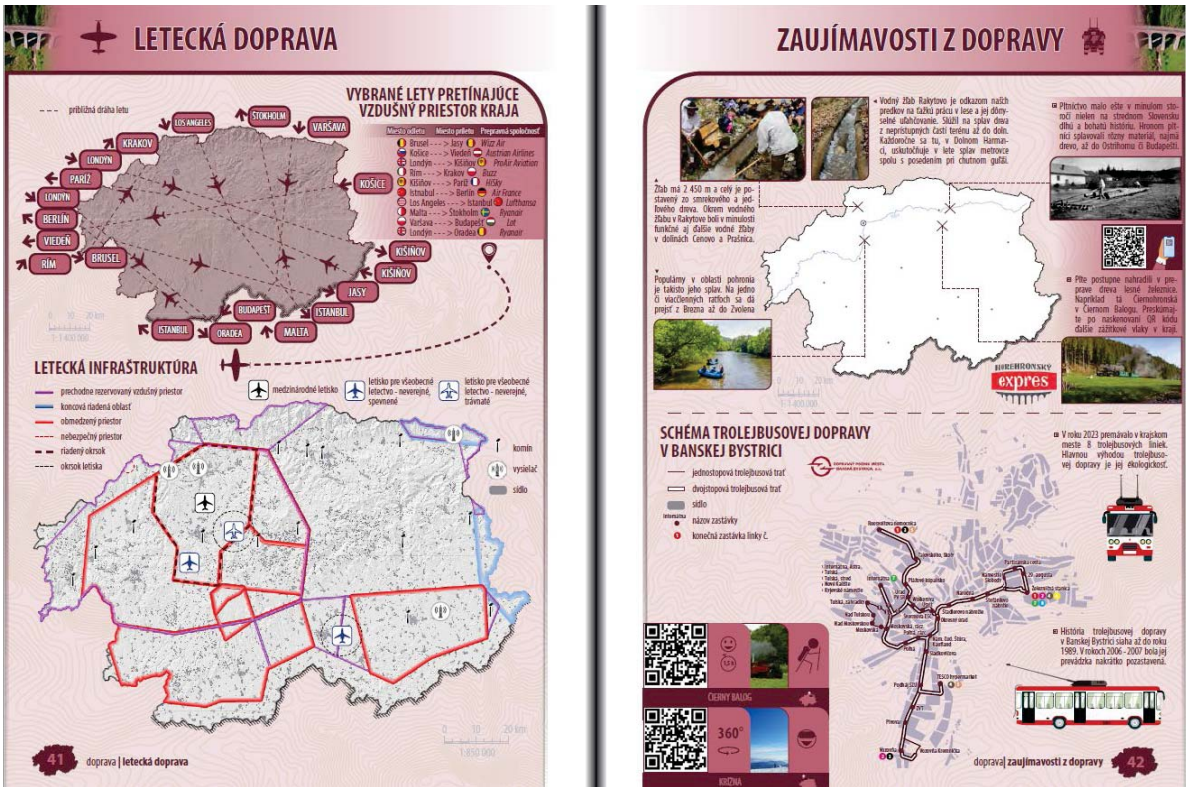
Obr. 4 Podkapitola Premena krajiny v kapitole Úvod zobrazuje kraj na historických mapách, obsahuje bound vytvorený v Španej Doline a zoznamuje čitateľa so spôsobmi, akými sa dá skúmať historická krajina



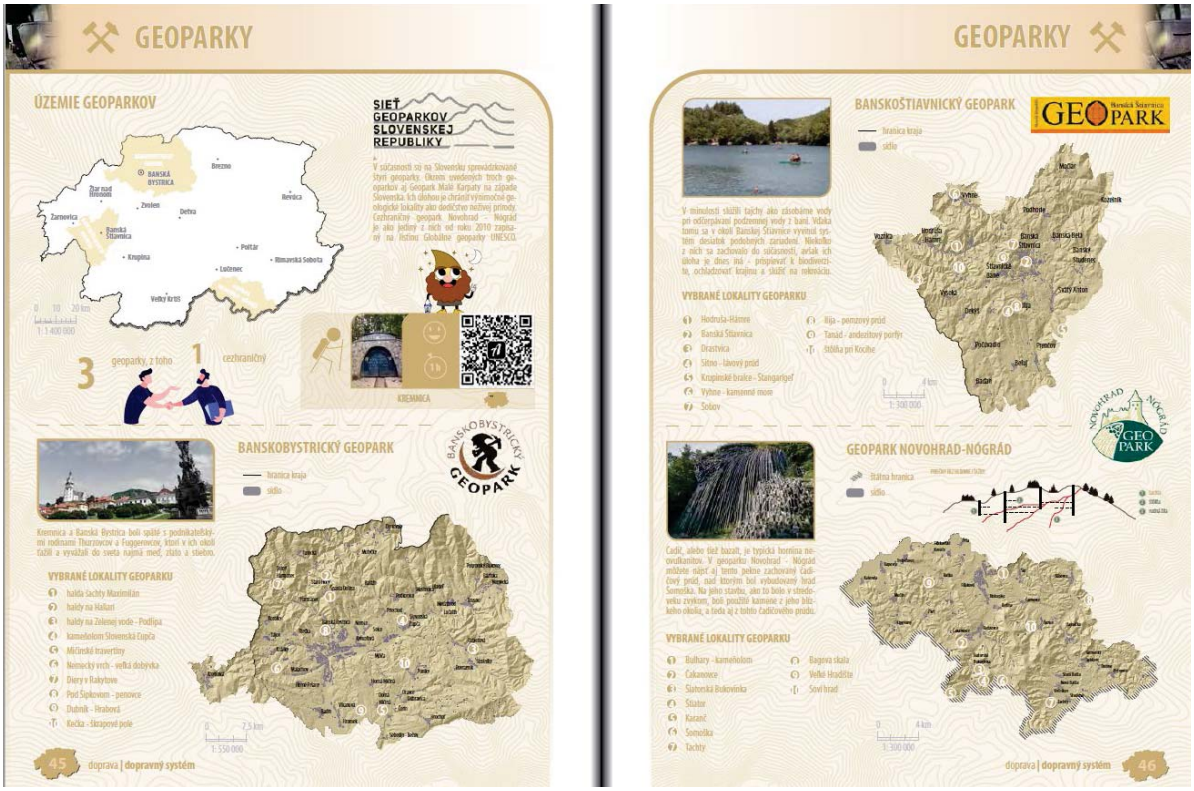
Obr. 5 V podkapitole Geologické zloženie z kapitoly Príroda sú umiestnené infografické prvky v grafike vývoja geologických období, ktoré pomôžu čitateľom lepšie si zapamätať zložitý vývoj Zeme



Obr. 6 Kapitola Človek obsahuje okrem máp aj veľa grafov



Obr. 7 Okrem tradičných máp cestnej a železničnej dopravy obsahuje kapitola Doprava aj mapu medzinárodných letov pretínajúcich vzdušný priestor kraja či schému trolejbusových liniek v Banskej Bystrici



Obr. 8 Posledná kapitola o geopotenciáli ukazuje okrem iného aj možnosti, vďaka ktorým by sa mohol kraj v budúcnosti viac zviditeľniť

Spoločenská hra v geografickom vzdelávaní - „Cesty po hornom Gemeri“

Board game in geographical education - "Journeys along Upper Gemer"

Zuzana Kolesárová[1]
Školiteľ: Magdaléna Nemčíková[2]
[1, 2]Katedra geografie, geoinformatiky a regionálneho rozvoja, FPVaI UKF, Tr. A. Hlinku 1, 949 01 Nitra,
[1] zuzana.kolesarova@student.ukf.sk, [2] mnemcikova@ukf.sk

Abstrakt
Článok približuje problematiku hier v prepojení na ich didaktický potenciál a prínosy pre osobnostný aj kognitívny rozvoj žiaka. Pomocou didaktických hier u žiakov rozvíjame kognitivitu, motiváciu, aktivizáciu, emocionalitu, kreativitu, komunikáciu a socializáciu. Prostredníctvom geograficky zameraných didaktických hier rozvíjame aj ich geografické kompetencie.

Cieľom príspevku je okrem sprostredkovania teoretických východísk problematiky, predstavenie niekoľkých existujúcich spoločenských hier vhodných pre implementáciu do vyučovania geografie. Hlavný cieľ spočíva v predstavení návrhu doskovej spoločenskej hry „Cesty po hornom Gemeri“. Hra je pre širšie využitie navrhnutá v dvoch variantoch – „Bádateľ“ pre starších žiakov (od 10 rokov) a „Hon za pamiatkami“ pre mladších žiakov (od 6 rokov). V závere príspevku sú uvedené metodické námety aplikácie hry do vyučovania geografie.
Kľúčové slová: geografická hra, didaktická pomôcka, región horný Gemer

Abstract
The article approaches the problematics of games in connection with their didactic potential and benefits for the student's personal and cognitive development. With the help of didactic games, we develop students' cognition, motivation, activation, emotionality, creativity, communication and socialization. Through geographically focused didactic games, we also develop their geographical competences.

The aim of the contribution is, in addition to conveying the theoretical starting points, the introduction of several existing board games suitable for implementation in the teaching of geography. The main goal is to present the proposal of the board game "Journeys along the upper Gemer". For wider use, the game is designed in two variants - "Explorer" for older students (from the age of 10) and "Hunt for monuments" for younger students (from the age of 6). At the end of the article, the methodological proposals of the game application to the teaching of geography are presented.
Key Words: geographic game, didactic aid, region upper Gemer

Úvod

V školstve, ale aj v edukácii všeobecne, sa do popredia stále viac dostáva myšlienka učiť inovatívne, zážitkovo, nebáť sa vo vyučovaní experimentovať a využívať nové metódy a prostriedky vzdelávania žiakov.

Didaktické hry sú jednou z možností, ako vyučovacie hodiny ozvláštniť, zapojiť žiakov do procesu vyučovania a podnietiť ich k aktívnej participácii na osvojovaní a opakovaní učiva, skôr než len k pasívnemu prijímaniu informácií.

Problematike miestnej krajiny nie je v štátnom vzdelávacom programe venovaná veľká pozornosť – napriek tomu je regionálne povedomie jednou z kľúčových oblastí, ktoré by si mal každý žiak neustále rozvíjať, keďže v oblasti svojho bydliska a blízkeho okolia (zvyčajne rodného okresu) trávi väčšinu svojho času počas obdobia dospievania.

Cieľom príspevku je okrem sprostredkovania teoretických východísk problematiky, charakteristika vybraných spoločenských hier využiteľných vo vyučovaní predmetu geografia. Hlavný cieľ spočíva v predstavení návrhu doskovej spoločenskej hry regionálneho zamerania.

1 Edukačný význam hier

Hry sprevádzali ľudstvo už od nepamäti. O ich funkcii a prínose vo vzdelávaní žiakov pojednávali už staroveké diela Platóna, či Aristotela, ktoré boli počas rokov neustále rozširované a obohacované ďalšími

odborníkmi, ako J. A. Komenský, J. J. Rousseau, F. W. Fröbel, či J. Piaget [1].

Za najvýstižnejšiu definíciu hry považujeme tú od J. Huizinga, ktorý ju popisuje ako *„dobrovoľnú činnosť, ktorá je jasne časovo a priestorovo vyhradená, má svoje záväzne definované pravidlá, cieľ, a proces hry je sprevádzaný pocitmi radosti a napätia“* [2].

V literatúre sa stretneme s mnohými klasifikáciami hier. Bartušková in Medveď [3] ich člení na hry spontánne (tvorivé) a hry s pravidlami, kde zaraďuje aj didaktické, t. j. intelektuálne hry.

Samotné didaktické hry môžu zahŕňať široké spektrum aktivít, ktoré Meyer in Maňák [4] klasifikoval podľa ich obsahového a cieľového zamerania na:

a) **interakčné hry** zahŕňajúce hry “slobodné“ (hry s hračkami, alebo stavebnicami), športové a skupinové hry, strategické, učebné, alebo spoločenské hry,

b) **simulačné hry** (hry s bábkami, riešenie prípadov, hranie rolí,...),

c) **scénické hry,** ktoré majú nadväznosť na divadelné hry (napr. sa odlišujú diváci a hráči, využívajú sa rekvizity a kostýmy,...).

Prínos didaktických hier pre vyučovanie je nespochybniteľný, keďže vplýva hneď na niekoľko oblastí rozvoja žiaka. Prvou je prirodzene **kognitivita** žiaka, v rámci ktorej je podporená sebarealizácia, myslenie a zručnosť riešenia problémov. Vlastnosti hry, akými sú príťažlivosť, zdanlivo znížená náročnosť učiva a aktívne zapojenie žiaka do výchovno-vzdelávacej aktivity, podnecujú **motiváciu a aktivizáciu.** Treťou oblasťou je **emocionalita.** Pri hre sa formujú vzťahy žiaka k sebe samému aj k ostatným. Citová stimulácia žiaka je prítomná počas hier vo forme súťaže. S emocionalitou úzko súvisí aj **socializácia žiakov** v rámci skupiny a triedneho kolektívu. Problémovo založené hry podporujú divergentné myslenie, a teda aj **kreativitu (tvorivosť).** Poslednou oblasťou je rozvoj schopností **komunikácie.** Žiaci sa počas hry učia vyjadrovať svoje myšlienky a vzájomne si odovzdávať informácie [5].

2 Spoločenské hry využiteľné vo vyučovaní geografie

Na trhu nájdeme množstvo hier, ktoré majú nadväznosť na predmet geografia. Z dostupnej ponuky sme zvolili niekoľko reprezentantov, o ktorých si myslíme, že by mohli byť využití na vyučovaní geografie. Zvolené hry sme roztriedili do štyroch kategórií - hier na pamäť, hier na priraďovanie, hier na otázky a odpovede (kvízových hier) a hier na mimovoľné učenie.

2.1 Hry na pamäť

Ako už z názvu vyplýva, hry na pamäť si vyžadujú zapojenie krátkodobej pamäte - zapamätania si čo najväčšieho množstva informácií za krátky čas a ich následné zreprodukovanie.

Typickým príkladom týchto hier je edícia **„BrainBox“.** Táto kartová hra overuje okrem pamäte aj postreh svojich hráčov, pričom dopomáha k získavaniu nových informácií zo sveta okolo.

Edícia zahŕňa niekoľko desiatok hier s rôznym tematickým zameraním na živočíchy, vedu, históriu a lingvisticky orientované hry. S geografickým zameraním sú napr. kartové hry **„Okolo Spojeného kráľovstva“, „Mestá sveta“, „Svet“** (obr. 1), **„Cestovateľ po svete“** a dosková hra **„Cestuj po svete“** [6].

Obr. 1 Obal hry „Svet“
Zdroj: [7]

2.2 Hry na priraďovanie

Primárnou úlohou hráčov pri hrách na priraďovanie je spojiť dva pojmy, otázku s odpoveďou, alebo nájsť kartičky, ktoré tvoria pomyselný pár.

Príkladom takejto hry je séria **„Vedomostné pexeso“**, ktoré taktiež prispieva k rozvoju pozornosti a pamäte, a vďaka časovej nenáročnosti je vhodné pre zopakovanie učiva.

Z širokej ponuky majú geografický charakter napr. varianty **„Vedomostné pexeso – hlavné mestá sveta/Európy“** (obr. 2) či **„Vedomostné pexeso – vlajky Afriky/Európy/Ázie/Ameriky“**.

V prípade hlavných miest je úlohou hráča hľadať páry štátov a ich hlavných miest, pri vlajkách hráči hľadajú štáty, ktorým prislúchajú obrázky vlajok. V oboch prípadoch sú hráčom dostupné aj pomôcky na overenie [8].

Obr. 2 Pár kartičiek (štát a hlavné mesto) z hry „Vedomostné pexeso – hlavné mestá Európy“
Zdroj: [9]

2.3 Hry na otázky a odpovede

Úlohou kvízových hier je overiť už existujúce vedomosti hráčov z rôznych oblastí. Typickými príkladmi sú hry **„Svet/Slovensko – otázky a odpovede“** (obr. 3), či **„Poznáš Slovensko/Európu/Svet/ /Bratislavu/Tatry“**.

Obr. 3 Komponenty hry „Svet – otázky a odpovede“
Zdroj: [10]

Pravidlá týchto hier sú zvyčajne veľmi podobné. Úlohou hráčov je prejsť istú trasu po hernom pláne, pričom políčka, na ktoré ich figúrky postúpia, určujú okruhy otázok, na ktoré musí hráč odpovedať. Najčastejšie sa stretneme s otázkami s možnosťou odpovede.

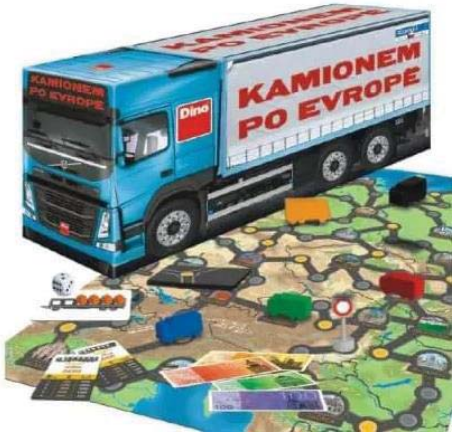
Hlavným zameraním vyššie spomenutých hier nie je síce geografia, ale otázky takéhoto charakteru sú ich súčasťou. Ide teda skôr o medzipredmetové hry. Odporúčané sú zvyčajne pre starších hráčov, čomu zodpovedá aj obťažnosť otázok. Z časového hľadiska zaberá ich hra dlhší čas, preto si myslíme, že v edukácii by boli vhodné ako motivačný prvok na začiatku školského roka, alebo počas projektových dní, kedy im môže byť venovaný dostatočný čas.

2.4 Hry na mimovoľné učenie

Tieto hry sú skôr strategickými, než edukatívnymi. Hráči v nich zvyčajne manipulujú a hospodária s hernou menou. Počas hernej aktivity sú zároveň konfrontovaní s informáciami, ktoré majú tendenciu si v istom rozsahu zapamätať.

Príkladom je napr. hra **„Kamiónom po Európe“** (obr. 4). Táto dosková hra overuje strategické plánovanie hráčov. Ich úlohou je svojimi kamiónmi prepraviť čo najviac zákaziek tak, aby na konci hry dosiahli čo možno najväčší zisk.

Edukatívny aspekt hry spočíva v hracom pláne – všeobecnogeografickej mape stredného pásu Európy s vyznačenými hranicami štátov nachádzajúcich sa v tejto oblasti. Súčasťou plánu sú aj významné mestá s grafickým vyobrazením. Vďaka týmto prevažne grafickým prvkom sa hráči môžu naučiť lepšie orientovať jednak v rozmiestnení štátov, ale aj v schopnosti lokalizovať ich sídla [11].



Obr. 4 Obal a plán hry „Kamiónom po Európe“
Zdroj: [12]

3 Návrh spoločenskej hry „Cesty po hornom Gemeri“

„Cesty po hornom Gemeri“ sú doskovou spoločenskou hrou plnou rôznorodých informácií o tomto tradičnom regióne. Hráči sa pohybujú po pomyselných cestách okresu Rožňava, ktorý pre potreby hry stotožňujeme s regiónom horný Gemer. Na rozdiel od mnohých hier, na pláne našej autorskej hry nenájdete políčko cieľ. Výhra je podmienená len šikovnosťou, znalosťami a šťastím hráčov získavať zberateľské kartičky, či žetóny.

3.1 Varianty a časová náročnosť hry

Hru je možné hrať v dvoch rôznych variantoch, a to „Hon za pamiatkami“ a „Bádateľ“. Prvý z menovaných je určený pre dvoch až troch hráčov od šiestich rokov,

teda odporúčame ho pre žiakov aspoň prvého ročníka základnej školy. „Hon za pamiatkami“ považujeme za typ hry, v ktorej si žiaci informácie osvojujú intuitívne – bez toho, aby si uvedomovali, že sa učia. V priebehu hry prevažuje kompetícia medzi hráčmi.

Variant „Bádateľ“ je určený pre starších žiakov - odporúčame vek od desiatich rokov (5. ročník a vyššie). „Bádateľ“ je prispôsobený pre hru dvoch až štyroch hráčov. Typologicky ide o obmenu kvízových spoločenských hier, ktorá je orientovaná na otázky o regióne horný Gemer. Hráči (žiaci) sú si vedomí toho, že cieľom hry je okrem iného učenie sa nových informácií, teda sa stráca aspekt mimovoľného učenia. Napriek tomu k výhre dopomáha aj šťastie a taktizovanie.

Cieľom hráča je získať desať kusov rôznych zberateľských kartičiek vo variante „Hon za pamiatkami“ a desať žetónov za správne zodpovedané otázky vo variante „Bádateľ“. Cieľ hry ovplyvňuje aj jej časovú náročnosť, ktorú odhadujeme na štyridsaťpäť minút a viac. Pre skrátenie hracej doby postačí usporiadateľovi znížiť počet kartičiek a žetónov potrebných k výhre.

3.2 Komponenty hry

Pre hru „Cesty po hornom Gemeri“ sme navrhli viaceré komponenty potrebné k hre oboch variantov. Kocku a figúrky sme nevytvárali, hráči ich môžu použiť z hocijakej inej doskovej hry.

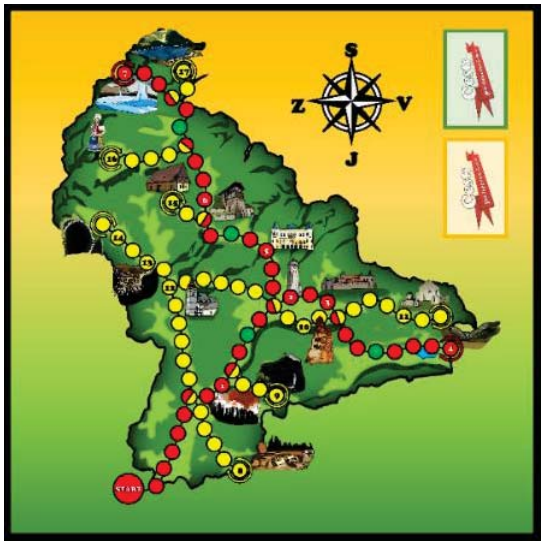
Jednotlivé komponenty sme vytvárali v programoch Paint Tool SAI, Microsof Power Point, Microsoft Word a v malej miere aj v ArcGisMap.

Pre oba varianty je nevyhnutný hrací plán a použiteľný je aj návod hry s pravidlami. Hrací plán (obr. 6) má reflektovať reálny vzhľad regiónu horný Gemer. Základom je mapa okresu Rožňava s farebne odlíšenými výškovými stupňami reliéfu (svetlozelenou sú vyznačené najnižšie položené oblasti, tmavozelenou najvyššie položené oblasti). Políčka kopírujú líniu najdôležitejších ciest v oblasti, pričom ich farebné odlíšenie na žltú a červenú farbu symbolizuje, o akú triedu cesty sa jedná (červená – cesta I. triedy, žltá – cesta II. triedy). Miesta ich križovania sme zvolili dvojfarebné.

Dôležitou súčasťou plánu sú aj ilustrácie najzaujímavejších turistických atrakcií v okrese. Kvôli blízkej polohe niektorých z nich sa do nášho výberu nedostalo napr. Mauzóleum Andrássyovcov, či Banícke múzeum v Rožňave. Samotné obrázky sme kreslili v programe Paint Tool SAI. Ako podklad sme využili reálne fotografie objektov (obr. 5). Dokopy sme vytvorili sedemnásť kresieb turistických atrakcií, ktoré sme neskôr využili aj v dizajne zberateľských kartičiek.

Obr. 5 Proces tvorby obrázku Krásnohorskej jaskyne
Zdroj: [12]

Pozadie plánu tvorí tradičný prechod medzi zelenou a žltou farbou. Tieto farby sú pre potreby jednotného farebného dizajnu využité aj pri ďalších komponentoch hry. Súčasťou pozadia je aj kompas s označením svetových strán a vyznačenie miest pre uloženie kartičiek s otázkami pri hre variantu „Bádateľ“.



Obr. 6 Hrací plán hry „Cesty po hornom Gemeri“

Návod, resp. pravidlá hry si udržiavajú jednoduchý dizajn, pričom text je koncipovaný skôr do popisu významu jednotlivých políčok, než vysvetľovania celého priebehu hry.

Zvyšné komponenty sú určené prednostne pre vybraný variant spoločenskej hry. Pre variant „Hon za pamiatkami“ slúžia zberateľské kartičky a sprievodca po pamiatkach. Súčasťou verzie „Bádateľ“ sú dva sety kartičiek s otázkami, tabuľky a žetóny pre hráčov.

Každá zberateľská kartička sa skladá z obrázka turistickej atrakcie (totožného s obrázkom na hracom pláne) v žltom ráme. Ilustráciám bez pozadia sme dodali zadnú vrstvu buď modrej farby (neba), alebo čiernej farby (tmy). Na kartičke je aj číselné označenie

a pomenovanie toho, čo sa na obrázku nachádza (obr. 7). V hre sú využívané dva totožné sety sedemnástich zberateľských kartičiek.

Obr. 7 Zberateľské kartičky 1-3

Pre zvýšenie edukačného potenciálu variantu „Hon za pamiatkami“ sme vytvorili brožúru, pracovne nazvanú sprievodca po pamiatkach (obr. 8), v ktorej sme každú turistickú pamiatku v krátkosti popísali a doplnili fotografiou objektu. Dizajn je opäť jednoduchý, biele pozadie sme ozvláštnili len širokými žltými vodorovnými pruhmi.

Obr. 8 Náhľad na popis pamiatok 1-6

Keďže „Cesty po hornom Gemeri“ považujeme za primárne kvízovú hru, kartičky s otázkami tvoria jej dôležitú súčasť. Rozdelili sme ich do dvoch kategórií – klasické textové otázky (žlté kartičky) a otázky s nadväznosťou na fotografiu (zelené kartičky). Ku každej otázke sme vytvorili aj tri možné odpovede, z ktorých je vždy len jedna správna (tá podčiarknutá).

Každá žltá kartička má na prednej strane vycentrované logo hry, zadná strana obsahuje šesť otázok – zvyčajne s jedným tematickým zameraním (obr. 9). Témy sa venujú najmä turistickým atrakciám, mestám a ostatným obciam okresu, ale aj ďalším oblastiam, ako je vodstvo, obyvateľstvo a podobne.

1. V ktorom roku osvetlili jednu z prvých elektricky osvetlených jaskýň sveta - Dobšinskú ľadovú jaskyňu?
a) 1873 b) 1880 c) 1887

2. Čo o Dobšinskej ľadovej jaskyni nie je pravda?
a) v lete sa tam korčuľovali b) je vysoko položená ľadová jaskyňa c) konal sa v nej koncert

3. Ktorý film sa nakrúcal v Dobšinskej ľadovej jaskyni?
a) Soľ nad zlato b) Perinbaba c) Zakliata jaskyňa

4. Pre ktorý druh netopiera je Dobšinská ľadová jaskyňa najvýznamnejším zimoviskom v strednej Európe?
a) netopiera fúzatého b) večernicu tmavú c) ucháča svetlého

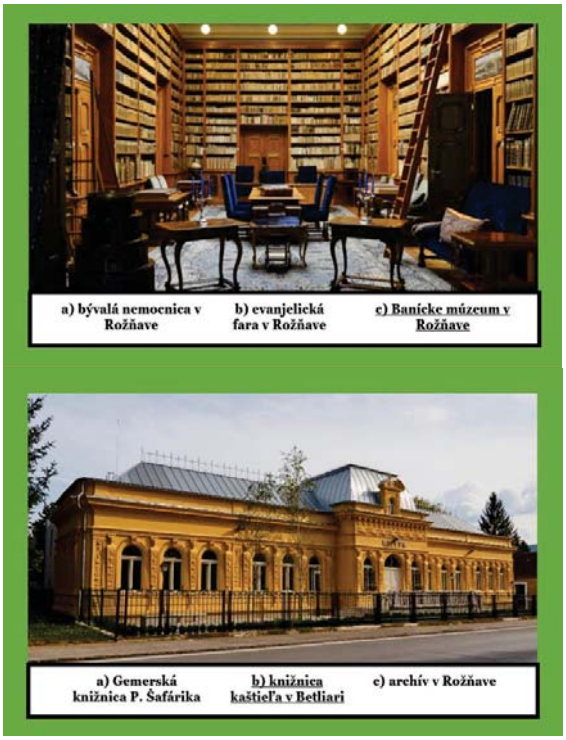
5. Kto objavil Dobšinskú ľadovú jaskyňu?
a) Eugen Ruffíny b) Vladimír Čaplovič c) Ján Majko

6. Aká je najväčšia hrúbka ľadu v Dobšinskej ľadovej jaskyni?
a) 26,5 m b) 30,5 m c) 34,5 m

Obr. 9 Zadná strana žltej kartičky na tému Dobšinská ľadová jaskyňa

Zelená kartička sa skladá z dvoch fotografií (jednej na každej strane) (obr. 10). Odpovede sú umiestnené v spodnej časti kartičky, pričom možné odpovede pre fotografiu na prednej strane sa nachádzali na zadnej strane kartičky a opačne.

Dokopy sme vytvorili sto kartičiek, päťdesiat žltých (300 otázok) a päťdesiat zelených (100 obrázkov).

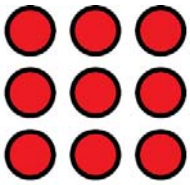


Obr. 10 Ukážka prednej a zadnej strany zelenej kartičky
Zdroj: [13], [14]

Tabuľka (obr. 11) a žetóny (obr. 12) slúžia na to, aby si hráči dokázali udržať prehľad o svojom pokroku. Červené žetóny si hráči uložia do konkrétneho políčka

tabuľky podľa toho, na ktorom z políčok hracieho plánu sa im podarilo správne odpovedať. Pre účely hry boli vytvorené štyri totožné tabuľky (pre každého z hráčov jedna) a štyridsať červených žetónov.

Obr. 11 Vzhľad tabuľky pre jedného hráča



Obr. 12 Vzhľad žetónov

4 Využitie hry „Cesty po hornom Gemeri“ v geografickom vzdelávaní

Naša autorská spoločenská hra ponúka dva rôzne varianty hry a vďaka rôznorodým komponentom sa naskytajú aj ďalšie možnosti, ako hru alebo jej časti implementovať do vyučovania.

4.1 Hodina s využitím hry „Cesty po hornom Gemeri“

Hodinu odporúčame zaradiť ako formu upevňovania osvojeného učiva (buď konkrétne okresu Rožňava v nižších ročníkoch, alebo napr. Košického kraja v ôsmom ročníku základnej školy).

V úvode hodiny učiteľ roztriedi žiakov do skupín (po dvoch až štyroch v závislosti od variantu hry), rozdá im komponenty hry, ktoré budú potrebovať a vysvetlí im pravidlá. V nižších ročníkoch pre hru odporúčame využiť variant „Hon za pamiatkami“ a vo vyšších variant „Bádateľ“.

Samotnej hre žiakov by mal učiteľ vymedziť dostatočný priestor (približne 25 až 30 minút). Počas hry skupín by kontroloval ich aktivitu, pomáhal s lepším pochopením pravidiel a vo variante „Bádateľ“ príležitostne dával žiakom nápovede k správnym odpovediam na otázky.

Úlohou žiakov po ukončení aktivity bude na papier formátu A4 spísať čo najviac informácií o regióne horný Gemer, ktoré si z hry zapamätali. Môže ísť o údaje typu: „v regióne sa nachádza/žil/žila“, „Huta Etelka stojí v obci Nižná Slaná“, alebo „Domica je jedinou jaskyňou na Slovensku, v ktorej sa dá plaviť na loďke“.

Žiaci pracujú v skupinách, pomôckou im bude hrací plán na ich laviciach. Časovo by písanie žiakom nemalo trvať viac ako sedem až osem minút. Po uplynutí tejto doby vyzve učiteľ skupiny, aby sčítali počty informácií na svojich papieroch a výsledky oznámili celej triede. Skupina s najvyšším počtom prečíta svoju prácu nahlas. V prípade nejasností sa počet upraví/informácie sa overia. Učiteľ môže najúspešnejšiu skupinu odmeniť jednotkou, poprípade iným spôsobom.

4.2 Hodiny s využitím komponentov hry „Cesty po hornom Gemeri“

Okrem hrania hry ako celku formou vyššie spomenutých úloh a činností, je možné niektoré komponenty hry využiť aj ako prostriedky pre samostatné aktivity.

Set zberateľských kartičiek môže byť vďaka faktu, že v hre sú z každej pamiatky dostupné dve kópie a zadná strana má pre všetky kartičky totožný vzhľad, využitý pre hru pexeso, ktorú by sme navrhli skôr mladším žiakom na prvom stupni.

S jedným setom „pexesa“ by sme odporučili pracovať maximálne trom žiakom, aby mal každý dostatočný priestor zapojiť sa. Keďže pexeso je časovo nenáročné, môže ho učiteľ využiť v rôznych častiach vyučovacej hodiny (ako formu motivácie, prostriedok osvojovania učiva, či jeho fixácie). Vhodné je využitie aj mapy na lokalizovanie týchto pamiatok v rámci Slovenska a okresu Rožňavy.

Žlté kartičky s otázkami sú využiteľné ako zdrojový materiál informácií pre kvíz o regióne horný Gemer. Žiaci súťažia v tímoch o počte troch až štyroch žiakov. Každý tím si zvolí svoj názov, ktorý sa zapíše na tabuľu spolu s označením počtu plánovaných kvízových kôl (ideálne 10 až 15).

Pred začiatkom kvízu každý tím obdrží tri farebné papieriky označené čitateľne veľkými písmenami A, B a C. Na začiatku každého kola dostane jeden z tímov možnosť zvoliť si číslo od jedna po šesť. Učiteľ následne vyberie z balíka žltých kariet náhodne jednu z nich a podľa voľby tímu určí číslo otázky, ktorú celej triede prečíta spolu s odpoveďami minimálne dvakrát. Tímy sa zatiaľ musia dohodnúť na správnej odpovedi, podľa ktorej zvolia jeden z troch farebných papierikov.

Učiteľ následne vyzve tímy, aby naraz ukázali svoju odpoveď, a tieto odpovede zapíše na tabuľu pod prislúchajúce názvy tímov. Potom prečíta kvízovú otázku ešte raz a prednesie žiakom aj správnu

odpoveď. Tímom, ktoré odpovedali správne, ich odpovede zakrúžkuje.

Týmto spôsobom sa uskutočnia aj zvyšné kolá, na konci sa sčítajú body každého tímu a určí sa víťaz celého kvízu. V prípade rovnakého počtu bodov sa pridá rozstrelové kolo. Víťazný tím by učiteľ mohol odmeniť jednotkou, poprípade iným spôsobom.

Kvíz by sme odporučili starším žiakom, napr. ôsmakom zaoberajúcim sa problematikou regiónov Slovenska. Aktivita je časovo náročnejšia, preto jej zaradenie do vyučovania treba zvážiť. Vhodná je najmä ako forma opakovania a fixácie učiva.

5 Výsledky a Diskusia

Vo viacerých krajinách sveta dochádza v 21. storočí k nárastu záujmu o stolové hry. To, čo začalo ako fenomén v Európe, sa neskôr dostalo až do USA. Renesancia stolových hier zapríčinila nárast predaja nedigitálnych hier, podobne ako aj nárast tvorby nových spoločenských hier začínajúcimi spoločnosťami, ktoré sa variabilitou svojich produktov snažili zavďačiť širokému spektru potenciálnych zákazníkov [15].

John Wallis v roku 1794 vytvoril stolovú hru, ktorá bola navrhnutá tak, aby deti učila geografiu. Hra „Wallis´s Tour through England and Wales a New Geographical Pastime“ vďaka skutočnosti, že všetky objekty existovali aj v reálnom svete, zároveň propagovala oblasť Salisbury ako turistickú destináciu [16]. Hry s podobným prevedením teda majú vplyv aj na vytváranie imidžu regiónu. Dokoupil in Klamár, Rosič používa jeho anglický ekvivalent – image (v preklade predstava, či „obraz v hlave“). Zdôrazňuje, že subjektívne vnímanie istých objektov má vplyv na správanie a konanie ľudí ovplyvňujúcich rozvoj regiónu [17].

Ako už bolo vyššie naznačené, didaktické hry nemusia slúžiť len na precvičovanie školského učiva, sú vhodným prostriedkom na rozvoj konkrétnych schopností a zručností (napr. pozornosti), alebo sociálnych kompetencií žiakov a študentov (sebareflexie, práce v tíme, komunikácie,...) [18]. Môžeme súhlasiť, že pri implementácii didaktickej hry do vyučovacieho procesu je nutné vyvarovať sa dvom extrémom, a to, aby hru žiak neprestal brať ako zábavnú, hrovú činnosť, a zároveň, aby hra nebola pre cieľ vyučovania bezúčelná [4].

Lyle zistil, že geografickú gramotnosť žiakov možno budovať aj prostredníctvom tvorby stolovej hry, kedy sa práve žiaci dostávajú do pozície tých, čo vytvárajú návody, či herné kartičky. Tieto aktivity podporujú rozvoj pisateľských zručností, zároveň podnecujú nadšenie žiakov [19].

Záver

Didaktické hry sú menej tradičnými didaktickými prostriedkami využívanými v edukačnom procese, napriek tomu významne vplývajú na rozvoj rôznych zložiek kognície a osobnosti žiaka. Podľa toho, aký primárny účel má didaktická hra plniť, si môže učiteľ vybrať z širokého spektra existujúcich spoločenských hier.

Naším hlavným cieľom bolo predstaviť návrh spoločenskej hry s regionálnym zameraním, ktorá má predovšetkým budovať povedomie žiakov o území, v ktorom žijú. Hra „Cesty po hornom Gemeri“ je vďaka dvom variantom hrateľná v nižších aj vyšších ročníkoch základnej, poprípade strednej školy na hodinách venujúcich sa regionálnej geografii, či na záujmových krúžkoch. Jej rôznorodé komponenty dávajú priestor pre vytvorenie ďalších, menších didaktických hier a aktivít.

I keď je hra primárne zameraná pre žiakov z okresu Rožňava, využiteľná je aj pre ostatné školy. Mimo školského prostredia môže slúžiť napr. ako forma propagácie regiónu.

Poďakovanie

Poďakovanie patrí mojej školiteľke RNDr. Magdaléne Nemčíkovej PhD., za rady a odbornú pomoc pri písaní konferenčného príspevku.

Použitá literatúra

[1] VANKÚŠ, Peter. 2005. History and present of didactical games as a method of mathematics' teaching. In Acta Didactica Universitatis Comenianae – Mathematics. Iss. 5. Bratislava : Comenius University, 2005. pp. 53-68. ISBN ISBN 80-223-2137-0.

[2] HUIZINGA, Johan. 1990. Jeseň stredoveku – Homo ludens. Banská Bystrica : Tatran, 384 s. ISBN 80-222-0211-8.

[3] MEDVEĎ, Marian. 2013. Didaktické hry v tematickom celku Príroda Slovenska v 9. ročníku ZŠ. [online]. Metodicko-pedagogické centrum : Bratislava, 51 s. [cit. 10.3.2023]. Dostupné z: https://archiv.mpc-edu.sk/sites/default/files/projekty/vystup/4_ops_medved_marian_-_didakticke_hry_v_tematickom_celku_priroda_slovenska_v_9_rocniku_zs.pdf

[4] MAŇÁK, Josef. - ŠVEC, Vlastimil. 2003. Výukové metody. Brno : Paido, 2003. 223 s. ISBN 80-7315-039-5.
[5] SOCHOROVÁ, Libuše. 2011. Didaktická hra a její význam ve vyučování. [online]. [cit. 11.3.2023]. Dostupné z: https://clanky.rvp.cz/clanek/13271/DIDAKTICKA-HRA-A-JEJI-VYZNAM-VE-VYUCOVANI.html
[6] BrainBox the World [online]. BrainBox: 2023. [cit. 14.3.2023]. Dostupné z: https://www.brainbox.co.uk/products/brainbox-the-world
[7] Brainbox Svet (V kocke!) [online]. Irhysko: 2023 [cit. 14.3.2023]. Dostupné z: https://www.ihrysko.sk/brainbox-svet-v-kocke-p111199
[8] Vedomostné pexeso - Vlajky Afriky [online]. ALBI: 2023 [cit. 15.3.2023]. Dostupné z: https://eshop.albi.sk/pexeso-vlajky-afrika/
[9] Vedomostné pexeso - Hlavné mestá Európy [online]. Albi: 2023 [cit. 15.3.2023]. Dostupné z: https://eshop.albi.sk/pexeso-hlavne-mesta-europy/#&gid=1&pid=2
Svet - otázky a odpovede [online]. Ihrysko: 2023 [cit. 16.3.2023]. Dostupné z: https://www.ihrysko.sk/svet-otazky-a-odpovede-p4185#lg=1&slide=1
[10] Kamionem po Evropě [online]. Dino Toys: 2023 [cit. 15.3.2023]. Dostupné z: https://img.maxikovy-hracky.cz/Files/dino-kamionem-po-evrop/33/76db7b5eb91c000907a91effa08f99.pdf
[11] Kamiónom po Európe [online]. Veselý drak: 2023 [cit. 16.3.2023]. Dostupné z: https://www.vesely-drak.sk/produkty/deskove-a-stolni-hry/6846-kamionem-po-evrope/?gclid=Cj0KCQiAlKmeBhCkARIsAHy7WVt2mOClTyYukIN-SvgQQwzqMvyz2uik3svHa_RbXoSlcHDOOLhGooUaAp3hEALw_wcB
[12] NP Slovenský kras - Turistický informačný portál [online]. NP Slovenský kras: 2023 [cit. 12.3.2023]. Dostupné z: https://www.slovensky-kras.eu/info/jaskyne-a-priepasti/krasnohorska-jaskyna/
[13] Prednáška v kaštieli Betliar predstaví nálezy z historickej knižnice [online]. TERAZ.SK: 2020 [cit. 15.3.2023]. Dostupné z: https://www1.teraz.sk/usercontent/photos/3/4/c/4-34cdd95f0edbba7c061c846ed787745f4980c3b0.jpg
[14] Otváracie hodiny a vstupné – Zážitkové centrum SENTINEL [online]. Banícke múzeum Rožňava: 2023 [cit. 12.3.2023]. Dostupné z: https://www.banmuz.sk/images/phocagallery/Fotogaleria-20/bhe-19-1680x1117.jpg
[15] ROBINSON, Guy – HARDMAN, Michael – MATLEY Robert. 2021. Using games in geographical and planning-related teaching: Serious games, edutainment, board games and role-play. In Social Sciences & Humanities Open, vol. 4, no. 1, pp. 1-10. ISSN 2590-2911.
[16] DOVE, Jane. 2016. Geographical board game: promoting tourism and travel in Georgian England and Wales. In Journal of Tourism History, vol. 8, no. 1, pp. 1-18. ISSN 1755182X.
[17] KLAMÁR, Radoslav – ROSIČ, Martin. 2010. Image regiónu ako mäkký faktor percepcie rozvoja. In Mezinárodní vědecká konference k 50. výročí geografie na PřF UP v Olomouci : sborník abstraktů. Olomouc : Univerzita Palackého v Olomouci, s. 373-380. ISBN 978-80-244-2290-9.
[18] BARTOŠ, Roman. – KULIFAJ, Peter. 2017. Pomoc pri príprave na školské vyučovanie a sprevádzanie dieťaťa do a zo školského zariadenia. Bratislava : IMPLEA, 17 s. ISBN 978-80-89837-43-4.
[19] LYLE, Sue. 2000. Enhancing literacy through geography in upper primary classrooms. In International Research in Geographical and Environmental Education, vol. 9, no. 2, pp. 141- 156. ISSN 10382046.

Návrh aktivít na rozvoj informatického a matematického myslenia v neformálnom vzdelávaní

Designing activities for the development of computational and mathematical thinking in informal education

Michal Fojtík[1]
Školiteľ: Janka Medová[2]
[1,2]Katedra matematiky, FPVaI UKF, Tr. A. Hlinku 1, 949 01 Nitra,
[1] michal.fojtik@student.ukf.sk, [2] jmedova@ukf.sk

Abstrakt

Žijeme v dobe grafov, prezentácií, webových stránok a iných technológií. Dnes je dôležitejšie ako kedykoľvek predtým rozvíjať u všetkých ľudí informatické myslenie a matematické myslenie nie len u ľudí, ktorých pracovné alebo vzdelávacie zameranie je v informatike alebo matematike. V tomto príspevku opisujeme priebeh ôsmich aktivít zameraných na rozvoj informatického a matematického myslenia pre žiakov nižšieho sekundárneho vzdelávania. Prvé dve sú zamerané na skôr na matematické myslenia s podporou informatického myslenia a nasledujúcich šesť aktivít je zameraných na informatické myslenie s podporou matematického myslenia. Na podporu matematického myslenia používame zaujímavé aktivity z pravdepodobnosti a kombinatoriky. A na rozvoj informatického myslenia používame zariadenie BBC micro:bit, ktoré deti môžu programovať blokovým programovaním.

Kľúčové slová: matematické myslenie, informatické myslenie, BBC micro:bit

Abstract

We live in times of diagrams, presentations, websites, and other technologies. Today is more important than ever to develop computational and mathematical thinking in everyone, not just in people whose work or education is in some way focused on informatics or mathematics. In this contribution, we describe the course of eight activities focused on developing computational and mathematical thinking for pupils of lower secondary education. The first two of them are focused on mathematical thinking with the support of computational thinking. Next, six activities are focused on computational thinking with the support of mathematical thinking. We use attractive activities focused on probability and combinatorics to develop mathematical thinking. And we use the BBC micro:bit device, which pupils can program with block programming to develop computational thinking..

Key Words: mathematical thinking, computational thinking, BBC micro:bit

Úvod

Jeannette M. Wing definuje informatické myslenie ako určité myšlienkové procesy, ktoré ľuďom pomáhajú formulovať problémy tak, aby ich riešenia boli vykonateľné ľuďmi, počítačmi alebo kombináciou ľudí a počítačov, resp. strojov [1]. Informatické myslenie je zručnosť, ktorú by nemali mať iba informatici, či učitelia informatiky, ale všetci ľudia. Je to dôležité hlavne kvôli aspektom informatického myslenia ako sú algoritmické myslenie či abstrakcia, ale aj iným [2]. Tieto aspekty informatického myslenia sú nevyhnutné pre život každého človek vo svete, v ktorom sú grafy, počítače a iné technické pomôcky nevyhnutnou súčasťou našich životov [3]. Medzi aspekty informatického myslenia patria [4]: abstrakcia – tvorba modelu zjednodušovaním reality odstraňovaním nepodstatných detailov [3], algoritmické myslenie – riešenie problému, pomocou postupu krokov [3], automatizácia – zavádzanie používania strojov na činnosti, ktoré vykonávajú efektívnejšie ako ľudia [5, 6], dekompozícia – rozkladanie problému na časti, pre lepšie porozumenie problému [7], odstraňovanie chýb – interaktívny kognitívny proces, ktorý sa používa, keď riešenie problému nedosiahne požadovaný výsledok [8] a zovšeobecnenie – tvorba všeobecne platných postupov a vzorcov na riešenie určitej skupiny problémov [3, 9]. Medzi spoločné prvky informatického a matematického myslenia patria: riešenie problémov, analýza a interpretácia údajov, modelovanie, pravdepodobnosť a štatistika [10].

Je iba málo intervenčných štúdií, v ktorých sa matematické a informatické myslenie rozvíjajú súčasne. V rámci projektu APVV Intervenčný program v prírodných vedách a matematike je na FPVaI UKF

v Nitre organizovaná séria krúžkov pre deti z druhého stupňa ZŠ, na tvorbe a realizácii niektorých sa autor príspevku podieľal.

Vzhľadom na to, že organizované voľnočasové aktivity sú určené pre žiakov rôznych ročníkov nižšieho sekundárneho vzdelávania (6.-9. ročník), je treba voliť ako náplň obsah vyučovacích predmetov, ktorý nie je súčasťou štátneho vzdelávacieho programu. V našich krúžkoch sme sa zamerali na aktivity súvisiace s kombinatorikou, pravdepodobnosťou a štatistikou, hlavne na to, aby žiaci realizovali náhodné pokusy, zaznamenávali ich výsledky a snažili sa formulovať závery na neformálnej úrovni pravdepodobnostného dôvodenia, pretože práve skúsenosť s realizáciou a analýzou výsledkov náhodných pokusov má pozitívny vplyv na úroveň pravdepodobnostného dôvodenia žiakov [11,12]. Súčasne sme na zber údajov alebo ich generovanie využili počítač. Aktivity boli taktiež zameriavané na rozvoj kompetencií informatického myslenia. Aktivity so zariadením BBC micro:bit sa zameriavajú na jednotlivé aspekty tohto druhu myslenia. Tvorba kódov ako taká je podstatou algoritmického myslenia (algoritmické myslenie a automatizácia). Niektoré problémy sú príliš zložité aby boli vyriešené vcelku, preto musia byť rozložené na menšie (dekompozícia) a pri ich riešení často dochádza k chybám, logickým alebo vyplývajúcim z procesu tvorenia (odstraňovanie chýb). Pri tvorbe kódu treba často zanedbávať nepodstatné detaily z reálneho sveta (abstrakcia). Viaceré problémy sa riešia podobným spôsobom (zovšeobecnenie). Aktivity na krúžkoch sa zameriavali na tieto vlastnosti.

Krúžky sme organizovali dve kategórie:

- Matematické (M) krúžky s informatickým myslením (IM)
- Informatické krúžky zamerané na informatické myslenie s matematikou

1 Matematické krúžky s výpočtovým myslením

Matematické krúžky s výpočtovým myslením boli dva. Boli zamerané na prácu s náhodou (organizovateľnou, teda náhodnými javmi, pri ktorých vieme určiť priestor elemetnárnych javov a neorganizovateľnou náhodou).

1.1 Organizovateľná náhoda

Oboznámenie detí s témou a predstavenie pojmu náhoda

Vysvetlenie, že náhody existujú dva druhy – v tomto bode sme sa detí pýtali na to, aké procesy môžu byť náhodné a od čoho náhodný jav závisí. Hovorili sme, že niektorú náhodu dokážeme určitými spôsobmi popísať a niektorú nie.

Predstavenie nosnej aktivity (hádzanie mincou) – v tomto bode sme deťom rozdali šachovnicu, na ktorej sa pohybovali kockami vpravo alebo dolu podľa toho, čo im padlo na minci. Na každú kocku mali 4 hody mincou, a teda z každou kockou zastali na jednom z piatich políčok šachovnice. Každá dvojica mala 10 kociek.

Význam políčok šachovnice – v tomto bode sme deťom predstavili, že každé políčko šachovnice predstavuje jedno povolanie, ktoré je pre nich „súdené“, pretože na ňom zastali kockou.

Problém so zapisovaním cesty – v tomto bode dostali deti za úlohu zapisovať si, akou cestou sa na konkrétne políčko šachovnice dostali bez toho, aby sme ich na konkrétny spôsob navádzali.

Dohodnutie spoločného značenia – v tomto bode nám deti povedali, akým spôsobom si cesty značili a dohodli sme sa na spoločnom značení.

Spojenie všetkých výsledkov a vysvetlenie spoločného výsledku – v tomto bode sme spojili všetky výsledky a vznikol nám histogram binomického rozdelenia pravdepodobnosti. Následne sme si hádzanie mincou nasimulovali v Exceli a spoločne sme si vytvorili program v prostredí Scratch, ktorý taktiež simuloval výsledky hodu mincou pre zadaný počet hodov.

1.2 Neorganizovateľná náhoda

Predstavenie problémovej úlohy – v tomto bode sme sa detí spýtali ako by sa mali obliecť, keby idú na výlet na nimi vybraté miesto, keď majú k dispozícií predpovede počasia za dobu jedného týždňa, z každého dňa majú 8-dňovú predpoveď.

Skúmanie predpovedí – v tomto bode sme skúmali predpovede z jednotlivých dní a hľadali sme, či bola predpoveď v presná, bola v určitom intervale alebo nebola presná vzhľadom na reálnu teplotu v čase konania krúžku a spoločne sme výsledky porovnávali.

Zhodnotenie situácie – v tomto bode sme viedli diskusiu na to ako sa obliecť keby ideme na výlet na deťmi zvolené miesta. Cieľom bolo pracovať s variabilitou náhodných javov. Súčasne sme chceli ukázať, že čím viac sa blíži deň, na ktorý je predpoveď počasia, tým je interval spoľahlivosti predpovede užší, tým menší rozptyl má predpoveď.

2 Informatické krúžky zamerané na informatické myslenie s matematikou

Informatických krúžkov zameraných na informatické myslenie s matematikou bolo šesť. Boli zamerané na prácu so zariadením BBC micro:bit a na využitie jeho jednotlivých funkcií.

2.1 Zoznámenie so zariadením BBC micro:bit a kódovanie obrázka

Prvý krúžok s BBC mico:bitom bol zameraný na abstrakciu a algoritmizáciu (informatické myslenie) a na porozumenie a využitie súradnicovej sústavy v rovine (matematika).

Predstavenie zariadenia BBC micro:bit – v tomto bode sme deťom rozdali zariadenia BBC micro:bit, vysvetlili im ich jednotlivé súčasti a spoločne sme si prešli základným tutoriálnym programom.

Zobrazovanie obrázkov – v tomto bode sme ukázali, ako sa na obrazovke zobrazujú obrázky. Deti dostali za úlohu zvolený obrázok zobraziť.

Kódovanie obrázkov – deti dostali obrázky zakódované pomocou binárneho kódu. Ich úlohou bolo daný obrázok zobraziť na obrazovku. Ďalšou úlohou bolo vybrať si obrázok a zakódovať ho do binárneho kódu.

2.2 Krokomer

Tento krúžok bol zameraný na rozvoj abstrakcie, algoritmizácie, schopnosti odstraňovať chyby a automatizáciu, z matematického hľadiska na rozvoj štatistického myslenia a schopnosť identifikovať zdroje variability a chyby v meraní.

Počítadlo ľudí – v tomto bode mali deti za úlohy naprogramovať zariadenie BBC micro:bit ako počítadlo ľudí vchádzajúcich do alebo vychádzajúcich z miestnosti.

Krokomer – v tomto bode mali deti za úlohu naprogramovať zariadenie BBC micro:bit, aby fungovalo ako krokomer. Úlohou bolo aj zariadenie otestovať prejdením zadanej vzdialenosti a potom porovnať počet krkov narátaných zariadením a narátaných žiakmi.

Zdroje variability – v tomto bode sme s deťmi diskutovali o tom, čo môže ovplyvňovať počet krokov až sme sa dostali k otázke prečo BBC micro:bit zaznamenal asi polovicu krokov oproti tomu, čo napočítali žiaci.

Opravenie kódu – v tomto bode mali deti za úlohu opraviť kód tak, aby rátal kroky za obe nohy (odpoveď na otázku z predchádzajúceho bodu).

Obr. 1 Krokomer

2.3 Kameň, papier, nožnice

Tento krúžok bol zameraný automatizáciu a algoritmizáciu a v matematike na rozvoj štatistického myslenia, na zber údajov a prácu s nimi.

Kameň, papier, nožnice – v tomto bode bolo úlohou žiakov naprogramovať zariadenie BBC micro:bit tak, aby simulovalo hru kameň, papier, nožnice. Následne si mali medzi sebou zahrať s rôznymi deťmi 5 hier a zapamätať si s kým hrali, čo komu padlo a kto vyhral.

Pomocná tabuľka – v tomto kroku mali deti znova zahrať 5 hier, ale mohli si veci zapísať na papier do pripravenej tabuľky.

Abstrakcia – v tomto bode sme diskutovali o tom, či je pre nás dôležité zapamätať si všetky údaje ktoré sme sa snažili si zapamätať. Dospeli sme k tomu, že dôležitým údajom je pre nás počet výhier.

Externá pamäť – v tomto bode mali deti preprogramovať zariadenie BBC micro:bit tak aby im stále simulovalo hru kameň, papier, nožnice pri potrasení a aby pri výhre si zaznamenali počet výhier tlačidlom A, počet hier tlačidlom B a pomocou stlačenia A+B si vedeli zobraziť oba údaje. Následne si znova zahrali niekoľko hier.

2.4 Uzavretie obvodu

Tento krúžok bol zameraný na algoritmizáciu a bol predprípravou na krúžok 5.

Uzavretie a otvorenie okruhu – v tomto bode sme deťom vysvetlili ako funguje elektrický obvod na vypnutie a zapnutie svetla. Následne mali za úlohu naprogramovať zariadenie BBC micro:bit tak aby sa pri uzavretí obvodu pomocou krokosvoriek na displeji zobrazil obrázok.

Vodivosť - vysvetlili sme si prečo prúd prechádza cez krokosvorky a následne ukázali, že prepájať sa dá aj vlastným telom, prstom. Následne deti skúšali vytvoriť

ľudskú reťaz a takýmto spôsobom uzavrieť okruh aby sa zobrazil obrázok.

Alobalový klavír – v tomto bode mali deti za úlohu vytvoriť klavír pripojením kúskov alobalu na krokosvorky. Pri dotyku prstu s alobalom BBC micro:bit zahral tón zvolenej frekvencie. Úlohou bolo vytvoriť klavír pre jeden tón, potom dva a nakoniec pre tri.

Mrkvový klavír – v tomto bode si deti vyskúšali, že alobal alebo ľudské telo nie sú jediné vodivé veci. Kúsky alobalu nahradili mrkvami a tým si vytvorili „mrkvový klavír“.

2.5 Hudba

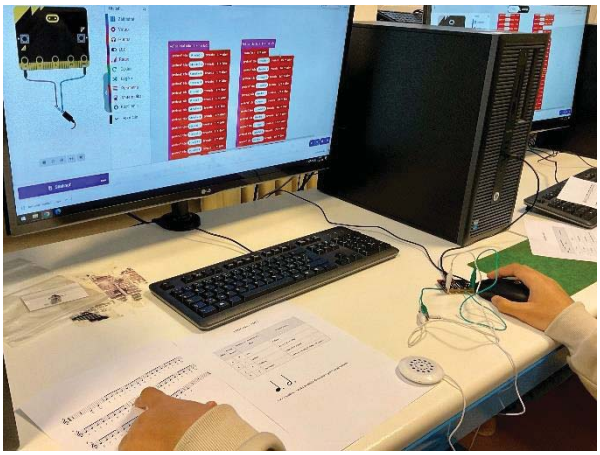
Tento krúžok bol zameraný na algoritmizáciu a automatizáciu a prácu so zlomkami.

Zahranie melódie – v tomto bode mali deti za úlohu naprogramovať zariadenie BBC micro:bit tak, aby cez pridaný reproduktor zahral deťmi zvolenú melódiu.

Notová osnova – v tomto bode sme deťom rozdali notový zápis a ich úlohou bolo naprogramovať noty do zariadenia BBC micro:bit bez ohľadu na dĺžku jednotlivých nôt, nechať si melódiu zahrať a skúsiť uhádnuť, o akú pieseň ide.

Dĺžka nôt – v tomto kroku sme deťom rozdali legendu nôt a mali do programu pridať duplikovanú verziu pôvodnej melódie a upraviť ju tak, aby brali ohľad na dĺžku nôt a pauzy.

Skrytá matematika – v tomto bode sme si ukázali, že v každom takte (časť na notovej osnovy vymedzená dvoma zvislými čiarami) sa musí súčet dĺžok nôt rovnať číslu, určenému ako dĺžka taktu.



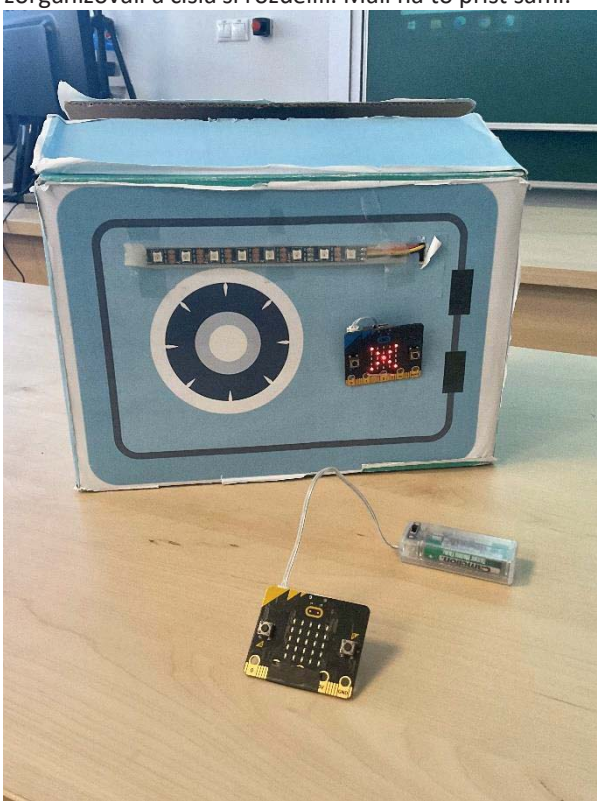
Obr. 2 Hudba - kód

2.6 Trezor

Tento krúžok bol zameraný v na paralelizmus a abstrakciu a využíval kombinatorické myslenie žiakov.

Posielanie správ – v tomto bode sme deti rozdelili do dvojíc a priradili im číslo skupiny. Ich úlohou bolo naprogramovať zariadenie BBC micro:bit tak, aby posielali správy (iná pri stlačení tlačidla A a iná pri stlačení tlačidla B) svojej dvojičke a na základe prijatej správy sa zmenil dvojičke obrázok na obrazovke.

Odomknutie trezora – v tomto bode bolo úlohou žiakov zistiť, na akej frekvencii (0 – 255) prijíma BBC micro:bit v trezore signál a odomknúť trezor. Úloha bola skupinová, no nenavádzali sme ich na to, aby sa zorganizovali a čísla si rozdelili. Mali na to prísť sami.



Obr. 3 Trezor

Záver

V článku uvádzame spolu osem aktivít vhodných pre voľnočasovú činnosť žiakov nižšieho sekundárneho vzdelávania. Ďalším cieľom bude zhodnotiť prínos týchto aktivít a kvantifikovať ich vplyv na úroveň informatického myslenia žiakov.

Poďakovanie

Chcel by som poďakovať svojej školiteľke doc. PaedDr. Janke Medovej, PhD. za jej vedenie, vedomostnú podporu a pomoc pri realizácii krúžkov. Taktiež by som sa chcel poďakovať Mgr. Martinovi Cápayovi, PhD. za jeho nápady na prácu s BBC micro:bitom, pomoc

a vedenie pri tvorbe programu na krúžky a taktiež pomoc pri realizácii krúžkov.

Práca vznikla v rámci riešenia projektu APVV-20-0599 APVV Intervenčný program v prírodných vedách a matematike

Použitá literatúra

[1] WING, Jeannette M. 2011. Research Notebook: Computational Thinking-What and Why?, The Link, The magazine of the Carnegie Mellon University School of Computer Science. Pittsburgh

[2] WING, Jeannette M. 2006. Computational Thinking in Communications of the ACM, Volume 49, Issue 3, s. 33-35. New York, doi: 10.1145/1118178.1118215

[3] CSIZMADIA, Andrew. a kol. 2015. Computational Thinking - A Guide for Teachers In Computing at school – Educate, engage, encourage, Part of BCS – The Chartered Institute for IT. Computing at School.

[4] BOCCONI, Stefania. a kol. 2016. Developing computational thinking in compulsory education – Implications for policy and practice, 3. Understanding Computational Thinking, s. 15-23. Seville. doi: 10.2791/792158 ISBN 978-92-79-64442-9

[5] LEE, Irene. a kol. 2011. Computational thinking for youth in practice In ACM Inroads Volume 2, Issue 1 in March 2011. New York, https://doi.org/10.1145/1929887.1929902

[6] ADDO, Edward, Kamil YAGCI. Automation, Encyclopedia of Tourism. Hong Kong. 2016. doi: 10.1007/978-3-319-01384-8 ISBN 978-3-319-01385-5

[7] RICH, Peter J. a kol. 2019. Framework for Decomposition in Computational Thinking In ITiCSE '19: Proceedings of the 2019 ACM Conference on Innovation and Technology in Computer Science Education, júl 2019, s. 416-421. Aberdeen. 2019. https://doi.org/10.1145/3304221.3319793 ISBN 978-1-4503-6895-7

[8] WONG, Gary K.W. – JIANG, Shan. 2018. Computational Thinking Education for Children: Algorithmic Thinking and Debugging. Wollongong In IEEE International Conference on Teaching, Assessment and Learning for Engineering (TALE), 4.-7. Decembra vo Wollongong, s. 328-334. Wollongong. doi: 10.1109/TALE.2018.8615232 ISBN 978-1-5386-6523-7

[9] DOUGHERTY, Barbara. a kol. 2014. Developing Concepts and Generalizations to Build Algebraic Thinking: The Reversibility, Flexibility, and Generalization Approach, Volume: 50 issue: 5, 19. Decembra 2014, s. 273-281. https://doi.org/10.1177/1053451214560892

[10] SNEIDER, C. a kol. 2014. Computational Thinking in High School Science Classrooms. The Science Teacher, 081. https://doi.org/10.2505/4/tst14_081_05_53

[11] CHIESI, F. – PRIMI, C. – MORSANYI, K. 2011. Developmental changes in probabilistic reasoning: The role of cognitive capacity, instructions, thinking styles, and relevant knowledge. Thinking & Reasoning, 17(3), 315-350. https://doi.org/10.1080/13546783.2011.598401

[12] BRYANT, P. – NUNES, T. 2012. Children's understanding of probability A literature review (full report). Nuffield Foundation.

Názory študentov stredných škôl na zmeny vo výučbe ekonomických predmetov spôsobené pandémiou

Opinions of High School Students on Changes in the Teaching of Economic Subjects Caused by a Pandemic

Michaela Macáková[1]
Školiteľ: Milan Maroš[2]
[1,2]Ústav ekonomiky a manažmentu, FPVaI UKF, Tr. A. Hlinku 1, 949 74 Nitra
[1] michaela.macakova@student.ukf.sk, [2]mmaros@ukf.sk

Abstrakt

Pandémia koronavírusu spôsobila nečakané problémy vo všetkých oblastiach vrátane školstva. V rámci opatrení, ktoré boli prijaté, aby sa zamedzilo šíreniu ochorenia, sa uskutočnilo celoplošné zatváranie škôl. Nebolo možné predpovedať, koľko tento stav bude trvať, preto bolo nutné problém s vyučovaním vyriešiť. Jediným možným riešením bol prechod z tradičnej prezenčnej výučby na dištančnú. Takáto forma vyučovania bola dovtedy využívaná predovšetkým na vysokých školách pri externom štúdiu. Počas pandémie však museli využívať tento štýl výučby aj základné a stredné školy. S novým systémom vyučovania sa museli vysporiadať vyučujúci, študenti, ale aj rodičia. Cieľom štúdie bolo zistiť názory študentov stredných škôl na zmeny vo výučbe ekonomických predmetov počas pandémie. Dáta sme získavali pomocou dotazníka. Pre analýzu údajov sme využili Friedman test, Nemenyi test a Mann-Whitney test. Výskum odhalil, že najväčšou výhodou je, že počas dištančného vyučovania nemuseli cestovať do škôl. Za najväčšiu nevýhodu považujú dlhé sedenie za počítačom. Výskumnú vzorku tvorilo 363 študentov.

Kľúčové slová: vzdelávanie, dištančné vzdelávanie, pandémia COVID-19, ekonomické predmety

Abstract

The coronavirus pandemic has caused unexpected problems in all areas, including education. As part of the measures taken to prevent the spread of the disease, a nationwide school closure was implemented. It was not possible to predict how long this state would last, so it was necessary to solve the teaching problem. The only possible solution was the transition from traditional face-to-face teaching to distance learning. Until then, this form of teaching was used primarily at universities for external studies. However, during the pandemic, primary and secondary schools also had to use this teaching style. Teachers, students, and parents had to deal with the new teaching system. The aim of the study was to find out the opinions of secondary school students on changes in the teaching of economic subjects during the pandemic. We collected data using a questionnaire. We used Friedman test, Nemenyi test and Mann-Whitney test for data analysis. The research revealed that the biggest advantage was that they did not have to travel to schools during distance learning. They consider sitting for a long time at the computer to be the biggest disadvantage. The research sample consisted of 363 students.

Key Words: education, distance learning, pandemic COVID-19, economic subjects

Úvod

V dôsledku pandémie COVID-19, ktorá bola vyhlásená organizáciou WHO 11. marca 2020 pre jej celosvetové rozšírenie, nastali mnohé zmeny, ktoré ovplyvnili náš každodenný život. Pandémia mala dopad na zdravotníctvo, obchod, ekonomiku ale aj životné prostredie [1]. Školstvo nebolo výnimkou. Výučba bola často realizovaná dištančne, pričom učitelia aj študenti sa museli veľmi rýchlo prispôsobiť novej situácii. Vďaka tomuto štýlu výučby bolo možné pokračovať vo vzdelávaní, aj keď to nebolo vždy jednoduché. Táto situácia vznikla náhle a bolo potrebné rýchle riešenie, rovnako aj prechod na dištančné vyučovanie nastal zo dňa na deň.

Pre tento štýl výučby sa začali využívať rôzne vzdelávacie technológie a programy, ktoré umožňovali a uľahčovali priebeh takéhoto vyučovania. Bolo potrebné zabezpečiť kvalitu vzdelávania a to aj na diaľku. Medzi najčastejšie využívané programy patria napr.: Zoom, Jitsi Meet, Microsoft Teams, Google Classroom,.. Prostredníctvom týchto programov bola zabezpečená komunikácia a prenos informácií medzi učiteľom a študentmi v online priestore [2].

Organizácia dištančného vzdelávania nebola jednoduchá, keďže vyučujúci mali doposiaľ skúsenosti

predovšetkým s prezenčnou výučbou. Dištančné vyučovanie vyžadovalo iný typ prípravy na hodiny. Zo začiatku bolo náročné dostať sa na správnu vlnu. Učitelia boli nútení sa so spomenutými programami naučiť pracovať, vysvetliť študentom ako fungujú. Bolo dôležité brať ohľad aj na možné technické problémy, ktoré ovplyvňovali priebeh výučby. V našej štúdii nás zaujímal názor na tieto zmeny a priebeh dištančného vyučovania ekonomických predmetov na stredných školách v Slovenskej Republike počas pandémie.

Touto témou sme sa rozhodli zaoberať najmä kvôli jej aktuálnosti. Zaujímal nás pohľad študentov a ich názor na situáciu, ktorej sa museli rýchlo prispôsobiť.

1 Dištančné vzdelávanie

Vzdelávanie patrí medzi základné potreby človeka. V čase pandémie bolo jediným východiskom, aby táto potreba mohla byť zabezpečená, online vzdelávanie.

Dištančné vzdelávanie podľa zákona č. 245/2008 Z. z. o výchove a vzdelávaní (školský zákon) je diaľkové vzdelávanie prostredníctvom korešpondencie, telekomunikačných médií a iných prostriedkov, pri ktorých spravidla nedochádza k priamym kontaktom medzi pedagogickým zamestnancom a samostatne študujúcim žiakom.

Dištančné vzdelávanie, inak nazývané aj e-learning a online vzdelávanie, je formou vzdelávania, ktorej hlavným prvkom je fyzická separácia učiteľa a študentov počas vyučovania. Tento spôsob vyučovania bol využívaný najmä pracovníkmi na plný úväzok, vojenským personálom, nerezidentmi alebo jednotlivcami, ktorí nemali možnosť zúčastniť sa výučby v triede [3].

Ide o multimediálnu formu samostatného štúdia, teda pod pojmom multimediálnosť rozumieme optimálne možné využívanie dištančných informačných a komunikačných prostriedkov, ktoré umožňujú komunikáciu a prezentovanie učiva na diaľku. Sú to napr.: tlačené materiály, PC programy, videokonferencie, e-mail a pod. Keďže sú vyučujúci fyzicky oddelení od študentov počas vzdelávacieho procesu, ide o individuálnu formu štúdia [4].

Dištančné vzdelávanie je taktiež vhodné pre deti a mládež. Vo výnimočných situáciách ako napr. dlhodobá choroba, prechodná neprítomnosť kvôli pracovnému pobytu rodičov v zahraničí, odľahlé miesto bydliska, či zdravotný postih dieťaťa, môže byť táto forma vzdelávania veľmi užitočná. [5].

Študijné texty musia byť konštruované tak, aby čo najviac uľahčili samotné štúdium. Vyučovacie predmety sú označované ako kurzy, ktoré obsahujú súbory učiva, študijné úlohy a záverečný test. [6].

1.1 Výhody dištančného vzdelávania

Medzi výhody dištančného vzdelávania patrí časová a priestorová voľnosť. Vďaka tomu si môže študent určiť, koľko času a aké miesto venuje štúdiu [7].

Dokonca si študent môže časť štúdia individualizovať a prispôsobiť ho svojim potrebám. Sám si vyberá vzdelávací kurz, ktorý považuje za potrebný alebo ho chce absolvovať, pričom túto mu pomáha zostaviť individuálny študijný plán. Študenti sú schopní si lepšie aplikovať nadobudnuté poznatky a vedomosti do praxe. [8].

Na študentov pripadá aj väčšia zodpovednosť, pretože každý je zodpovedný predovšetkým sám za seba. Vyplýva z toho, že takáto forma vyučovania je vhodnejšia pre osobnostne zrelých študentov a dospelých. Študenti sú vedení k samostatnej práci. Online priestor znižuje stres pri preverovaní vedomostí. Ďalšou veľkou výhodou sú aj nulové náklady na cestovanie, pokiaľ má študent možnosť študovať z miesta bydliska. [9].

1.2 Nevýhody dištančného vzdelávania

Tak ako v každom prípade, všetko má svoje výhody, ale tiež aj nevýhody. Aj táto forma vyučovania má svoje nedostatky. Jedným z nich je obmedzovanie sociálneho kontaktu [10].

Študentov častejšie rozptyľujú vonkajšie vplyvy, čo môže ovplyvňovať aj mieru pochopenia pri vysvetľovaní, objasňovaní a interpretácii učiva učiteľom. Nedostatok znalostí a neovládanie digitálnych technológii môžu spôsobovať rôzne problémy počas dištančného vyučovania. Online priestor ponúka študentom veľmi obšírne možnosti na podvádzanie pri preverovaní vedomostí [11].

Počas dištančného vzdelávania sú rodičia často zmätení, pretože nedokážu pomôcť svojim deťom s rôznymi platformami, ktoré sú určené na priebeh dištančného vyučovania. Nie každý rodič má totiž potrebné vzdelanie na to, aby pomohli svojim deťom napredovať, niektorí sú zaťažení prácou, iní zas realitou nezamestnanosti. Všetky faktory výrazne vplývajú na duševné zdravie študentov, fyzickú pohodu a psychosociálne požiadavky. Zatiaľ chýbajú historické údaje o dopadoch na duševné zdravie rozsiahlych prepuknutí chorôb, akou bola aj pandémia COVID-19, u detí a dospievajúcich, ale aj vysokoškolákov v porovnaní s dištančným vzdelávaním, čo poukazuje na nevyhnutnú potrebu nasledujúceho štúdia [12].

2 Metodika práce

Cieľom našej práce bolo zistiť názory študentov stredných škôl vo výučbe ekonomických predmetov počas pandémie. Pre výskumnú časť práce sme zvolili dotazníkovú metódu, kde sme pomocou dotazníka zisťovali názory na rôzne aspekty online vyučovania. Podarilo sa nám získať potrebné primárne dáta pre náš výskum. Najprv sme zrealizovali pilotné testovanie dotazníka, ktorého sa zúčastnilo 10 respondentov. Pilotným testovaním sme zistili, či sú otázky zrozumiteľne formulované a na základe spätnej väzby sme urobili drobné úpravy, ktoré prispeli k finálnej verzii dotazníka. Výsledky z pilotného testovania neboli zahrnuté do výsledkov výskumu.

Finálna verzia bola distribuovaná elektronicky študentom stredných škôl, ktorí mali vo svojom študijnom pláne aspoň jeden ekonomický predmet. Celkovo sme získali 363 odpovedí, ktoré slúžili výlučne pre účely nášho výskumu. Dotazník bol anonymný, takže každý respondent mal možnosť otvorene vyjadriť svoj názor. Zber dát sa začal v júni 2022 a ukončený bol v decembri 2022, kedy sa nám podarilo zozbierať dostatočné množstvo odpovedí pre náš výskum.

Pre spracovanie a interpretáciu výsledkov sme použili deskriptívnu štatistiku, kde sme najviac využívali grafy, tabuľky, aritmetické priemery, absolútne a relatívne početnosti, smerodajnú odchýlku a pod., ale aj induktívnu štatistiku. Využívali sme neparametrické testy, konkrétne Mann-Whitney test pre dva nezávislé výbery, Friedman test a Friedman-Nemenyi test. Analýza údajov bola zhotovená pomocou softvéru Excel a Real Statistics Resource Pack (vydanie 7.6). Copyright (2013 – 2021) Charles Zaiontz [13].

Všetky testy boli vykonané na hladine významnosti 0,05. Znamená to, že každá p-hodnota nižšia ako 0,05 bola považovaná za definovaný limit na hodnotenie štatistickej významnosti.

3 Výsledky a diskusia

V nasledujúcej tabuľke sú zobrazené demografické charakteristiky respondentov.

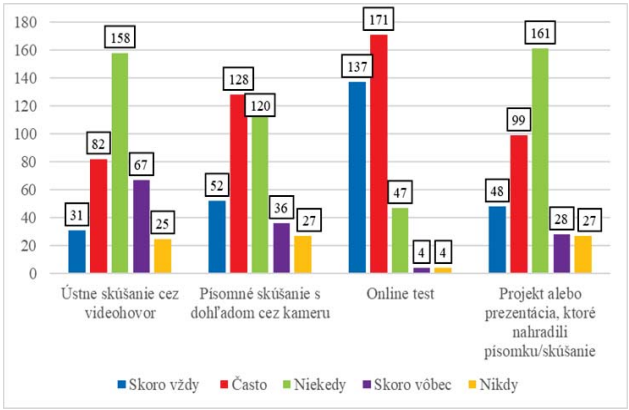
Tabuľka 1 Demografické charakteristiky respondentov
Zdroj: Vlastné spracovanie

Premenná	Počet respondentov	Počet respondentov v %
Pohlavie		
Žena	238	65,6
Muž	125	34,4
Ročník		
1.	61	16,8
2.	76	20,9
3.	66	18,2
4.	160	44,1
Typ SŠ		
Gymnázium	5	1,4
Obchodná akadémia	34	9,4
Stredná odborná škola	324	89,2
Prevažujúce známky		
1-2	271	74,7
3	90	24,8
4-5	2	0,5
Spolu	363	100

Z tabuľky 1 vidíme, že ženy majú vyššie zastúpenie ako muži. Môže to byť aj v dôsledku toho, že viac žien študuje na školách s ekonomickým zameraním.

Nižšie zastúpenie respondentov, ktorí boli v 1. ročníku je aj z toho dôvodu, že sa dištančného vzdelávania zúčastnili najkratšiu dobu. Tohtoroční prváci už nemohli dotazník vyplniť, pretože neboli súčasťou školy, keď prebiehalo dištančné vyučovanie.

3.1 Testovanie vedomostí počas dištančného vzdelávania



Obr. 1 Ako často prebiehalo skúšanie a preverovanie vedomostí?
Zdroj: Vlastné spracovanie

Na základe obrázku 1 môžeme povedať, že medzi najčastejšie používané formy skúšania patria online test a písomné skúšanie s dohľadom cez kameru.

Tieto formy umožňujú vyskúšať viac študentov za kratší čas v porovnaní s ústnym skúšaním. Počas

dištančného vzdelávania bolo ťažšie získavať známky ako počas prezenčnej výučby a chvíľu trvalo, kým si aj vyučujúci premysleli, akým spôsobom budú preverovať vedomosti žiakov.

Využívaná bola aj možnosť projektu, resp. prezentácie, ktoré nahradili písomné alebo ústne skúšanie. Najmenej sa využívalo už spomínané ústne skúšanie.

Spôsob preverovania vedomostí mal zohľadňovať technické vybavenie študentov rovnako ako aj zmeny vo vyučovaní. Zisťovali sme, či technické vybavenie a prístup k internetu mali vplyv na výsledky študentov. Približne 40% študentov súhlasilo alebo skôr súhlasilo s tvrdením, že vybavenie a prístup k internetu ovplyvňovali ich výsledky. Takmer 28% z respondentov nevedelo posúdiť vplyv na hodnotenie. Zvyšok respondentov volil možnosť skôr nesúhlasím a nesúhlasím.

3.2 Výhody dištančného vzdelávania

Jedna sekcia dotazníka bola venovaná výhodám dištančného vzdelávania. Zisťovali sme, či jednotlivé výhody (celkom 3) považujú za veľkú výhodu alebo to pre nich nie je podstatné. Aj pri týchto otázkach odpovedali prostredníctvom škály (pričom 1 – veľká výhoda, 5 – nie je to pre mňa podstatné). Výsledky popisuje nasledujúca tabuľka.

Tabuľka 2 Výhody dištančného vzdelávania
Zdroj: Vlastné spracovanie

Výhoda	Aritmetický priemer	Smerod. odchýlka	-95,0%	+ 95,0%
A	1,669	1,180	1,548	1,791
B	2,173	1,317	2,038	2,309
C	1,956	1,265	1,826	2,086
Škála: 1 – veľká výhoda, 5 – nie je to pre mňa podstatné				
Výhoda A: Pri dištančnom vzdelávaní nemusím cestovať. Výhoda B: Pociťujem väčšiu bezpečnosť počas dištančného vzdelávania. Výhoda C: Aj počas choroby bolo možné sa pripojiť na hodinu a nemusel/a som vymeškávať hodiny.				

Na základe aritmetických priemerov, ktoré sú zobrazené v tabuľke 2, sme určili poradie výhod. Na prvom mieste je výhoda A, na druhom výhoda C a na treťom mieste výhoda B. Ak chceme tieto tvrdenia zovšeobecniť, je potrebné zistiť, či sú rozdiely v odpovediach štatisticky významné. Tí istí respondenti odpovedali na všetky otázky, preto ide o závislé vzorky. Aby sme toto dokázali zistiť, využili sme Friedman test a testovali nulovú hypotézu.

H0: Vnímanie výhod online vzdelávania študentami je rovnaké.
H1: Minimálne medzi dvomi druhmi výhod online vzdelávania existuje vo vnímaní študentov signifikantný rozdiel.

Pomocou štatistického softvéru sme urobili Friedman test a zistili sme, že p-hodnota = 0,000 po zaokrúhlení na 3 desatinné miesta. Preto odmietame nulovú hypotézu H0 a prijímame alternatívnu hypotézu H1. Zistili sme, že existuje signifikantný rozdiel vo vnímaní študentov, avšak nevieme konkrétne medzi ktorými druhmi. Na to, aby sme zistili, medzi ktorými hodnotami je rozdiel, sme využili Nemenyi test a jeho výsledky sú zobrazené v nasledujúcej tabuľke.

Tabuľka 3 Výhody dištančného vzdelávania – Nemenyi test
Zdroj: Vlastné spracovanie

Výhoda		R sum	q-stat	p-hodnota
A	B	155	8,135	0,000
A	C	82	4,303	0,006
B	C	73	3,831	0,019
Výhoda A: Pri dištančnom vzdelávaní nemusím cestovať. Výhoda B: Pociťujem väčšiu bezpečnosť počas dištančného vzdelávania. Výhoda C: Aj počas choroby bolo možné sa pripojiť na hodinu a nemusel/a som vymeškávať hodiny.				

Na základe výsledkov z tabuľky 3 môžeme vidieť, že štatisticky významný rozdiel je medzi všetkými výhodami, pretože v každom prípade je p-hodnota menšia ako 0,05. Môžeme tvrdiť, že napríklad to, že nemusia študenti cestovať je pre nich najväčšou výhodou.

3.3 Nevýhody dištančného vzdelávania

V dotazníku sme sa pýtali aj na nevýhody dištančného vzdelávania, kde mali vyjadriť do akej miery súhlasia s tvrdením, ktoré sa týkalo nevýhody. Rovnako sme výsledky spracovali pomocou inferenčnej štatistiky ako aj pri výhodách. Najprv si zjednotíme výsledky

v tabuľke, kde sa nachádzajú štatistické charakteristiky (aritmetický priemer, smerodajná odchýlka, 95% interval spoľahlivosti). Aj pri nevýhodách sme využili možnosť odpovedania prostredníctvom škály. Respondenti volili číslo od 1 (veľmi) do 5 (vôbec) podľa toho, do akej miery sa stotožňovali s vetou, ktorá predstavovala možnú nevýhodu.

Tabuľka 4 Nevýhody dištančného vzdelávania
Zdroj: Vlastné spracovanie

Nevýhoda	Aritmetický priemer	Smerod. odchýlka	-95,0%	+95,0%
A	3,339	1,278	3,207	3,470
B	3,355	1,517	3,199	3,511
C	2,576	1,355	2,436	2,715
D	2,526	1,464	2,376	2,677
Škála: 1 – veľmi, 5 vôbec				
Nevýhoda A: Pociťoval/a som nadmerný stres zo školy. Nevýhoda B: Často som sa cítil/a osamotená. Nevýhoda C: Mal/a som väčší problém sústrediť sa na výučbu. Nevýhoda D: Bolo náročné sedieť denne niekoľko hodín za počítačom.				

Aj pri nevýhodách sme si na základe aritmetických priemerov určili poradie. Na prvom mieste je nevýhoda D, na druhom C, na treťom A a na poslednom mieste nevýhoda B. Aby sme mohli zovšeobecniť tieto tvrdenia, opäť sme využili Friedman test. Hladinu významnosti sme používali 0,05 a testovali sme nulovú hypotézu:

H0: Vnímanie nevýhod dištančného vzdelávania študentami je rovnaké.
H1: Minimálne medzi dvomi druhmi nevýhod dištančného vzdelávania existuje vo vnímaní študentov významný rozdiel.

Po vykonaní Friedman testu v štatistickom softvéri sme zistili, že p-hodnota = 0,000. Teda zamietame nulovú hypotézu a prijímame alternatívnu hypotézu. Už vieme, že existuje významný rozdiel minimálne medzi dvomi druhmi nevýhod, zatiaľ však nie je jasné medzi ktorými. Preto sme využili aj Nemenyi test, aby sme odhalili, medzi ktorými nevýhodami je významný rozdiel. Výsledky zobrazuje nasledujúca tabuľka.

Tabuľka 5 Nevýhody dištančného vzdelávania - Nemenyi test
Zdroj: Vlastné spracovanie

Nevýhoda		R sum	q-stat	p-hodnota
A	B	12,5	0,508	0,984
A	C	244,5	9,940	0,000
A	D	274	11,140	0,000
B	C	257	10,449	0,000
B	D	286,5	11,648	0,000
C	D	29,5	1,200	0,831
Nevýhoda A: Pociťoval/a som nadmerný stres zo školy. Nevýhoda B: Často som sa cítil/a osamotená. Nevýhoda C: Mal/a som väčší problém sústrediť sa na výučbu. Nevýhoda D: Bolo náročné sedieť denne niekoľko hodín za počítačom.				

Len v dvoch prípadoch nie je rozdiel štatisticky významný. Konkrétne pri pociťovaní nadmerného stresu a častom pocite osamotenia a v druhom prípade pri probléme so sústredenosťou a časom stráveným sedením za počítačom. V ostatných štyroch prípadoch považujeme rozdiel za štatisticky významný, pretože p-hodnota je vo všetkých prípadoch 0,000.

3.4 Rozdiely v odpovediach podľa premenných

Výhody a nevýhody sme analyzovali aj z iného pohľadu. Zaujímali sme sa o rozdiely v odpovediach študentov na základe vybraných premenných. V nasledujúcej tabuľke sú zobrazené rozdiely v odpovediach podľa pohlavia. Na analýzu sme využili Mann-Whitney test, pretože ide o nezávislé vzorky.

Tabuľka 6 Výhody dištančného vzdelávania - porovnanie odpovedí u žien a mužov
Zdroj: Vlastné spracovanie

Výhody	Ženy (n=238)		Muži (n=125)		p-hodnota
	Aritmetický priemer	Smerodajná odchýlka	Aritmetický priemer	Smerodajná odchýlka	
A	1,580	1,121	1,840	1,273	0,010
B	2,025	1,250	2,456	1,400	0,002
C	1,819	1,153	2,216	1,423	0,006
Škála: 1 = veľká výhoda, 5 – nie je to pre mňa podstatné					
Výhoda A: Pri dištančnom vzdelávaní nemusím cestovať. Výhoda B: Pociťujem väčšiu bezpečnosť počas dištančného vzdelávania. Výhoda C: Aj počas choroby bolo možné sa pripojiť na hodinu a nemusel/a som vymeškávať hodiny.					

Aritmetický priemer bol pri každej položke vyšší u mužov ako u žien. Teda väčšiu váhu výhodám prikladali ženy ako muži. Štatisticky významný rozdiel sa nachádzal pri každej položke, v každom prípade bola p-hodnota nižšia ako 0,05.

Rozdiely v odpovediach pri výhodách sme analyzovali aj z hľadiska ročníka. Pričom sme respondentov rozdelili na dve skupiny – mladší (1. a 2. ročník) a starší (3. a 4. ročník).

Tabuľka 7 Výhody dištančného vzdelávania - porovnanie odpovedí u mladších a starších
Zdroj: Vlastné spracovanie

Výhody	Mladší (n=137)		Starší (n=226)		p-hodnota
	Aritmetický priemer	Smerodajná odchýlka	Aritmetický priemer	Smerodajná odchýlka	
A	1,854	1,221	1,558	1,143	0,001
B	2,336	1,330	2,075	1,303	0,020
C	2,241	1,292	1,783	1,219	0,000
Škála: 1 = veľká výhoda, 5 – nie je to pre mňa podstatné					
Výhoda A: Pri dištančnom vzdelávaní nemusím cestovať. Výhoda B: Pociťujem väčšiu bezpečnosť počas dištančného vzdelávania. Výhoda C: Aj počas choroby bolo možné sa pripojiť na hodinu a nemusel/a som vymeškávať hodiny.					

Vyššie hodnoty aritmetického priemeru môžeme vidieť u mladších respondentov. Avšak rozdiely v priemeroch nie sú až také výrazné pri výhodách A a B. Pri výhode C vidíme je najvyšší rozdiel. V každom prípade bol rozdiel štatisticky významný, rovnako ako aj pri porovnaní na základe pohlavia. Môžeme teda povedať, že mladší študenti prikladali výhodám dištančného vzdelávania menšiu váhu ako starší.

Na základe pohlavia a ročníka sme analyzovali aj výsledky pri nevýhodách dištančného vzdelávania. Nasledujúce tabuľky zobrazujú zistené výsledky.

Tabuľka 8 Nevýhody dištančného vzdelávania - porovnanie odpovedí u žien a mužov
Zdroj: Vlastné spracovanie

Nevýhody	Ženy (n=238)		Muži (n=125)		p-hodnota
	Aritmetický priemer	Smerodajná odchýlka	Aritmetický priemer	Smerodajná odchýlka	
A	3,256	1,301	3,496	1,222	0,056
B	3,248	1,554	3,560	1,428	0,074
C	2,445	1,382	2,824	1,270	0,002
D	2,357	1,421	2,848	1,498	0,001
Škála: 1 = veľmi, 5 – vôbec					
Nevýhoda A: Pociťoval/a som nadmerný stres zo školy. Nevýhoda B: Často som sa cítil/a osamotená. Nevýhoda C: Mal/a som väčší problém sústrediť sa na výučbu. Nevýhoda D: Bolo náročné sedieť denne niekoľko hodín za počítačom.					

Z tabuľky 8 vyplýva, že hodnoty aritmetického priemeru sú vyššie u mužov, preto väčšiu váhu nevýhodám prikladali ženy.

Tabuľka 9 Nevýhody dištančného vzdelávania - porovnanie odpovedí u mladších a starších

Zdroj: Vlastné spracovanie

Nevýhody	Mladší (n=137)		Starší (n=226)		p-hodnota
	Aritmetický priemer	Smerodajná odchýlka	Aritmetický priemer	Smerodajná odchýlka	
A	3,175	1,260	3,438	1,282	0,069
B	3,401	1,540	3,327	1,505	0,315
C	2,664	1,384	2,522	1,337	0,173
D	2,569	1,464	2,500	1,467	0,311
Škála: 1 = veľmi, 5 – vôbec					
Nevýhoda A: Pociťoval/a som nadmerný stres zo školy. Nevýhoda B: Často som sa cítil/a osamotená. Nevýhoda C: Mal/a som väčší problém sústrediť sa na výučbu. Nevýhoda D: Bolo náročné sedieť denne niekoľko hodín za počítačom.					

Rovnako ako pri výhodách, aj pri nevýhodách majú vyššie hodnoty aritmetické priemery u mladších študentov, okrem nevýhody A. Teda starší študenti prikladali väčšiu váhu nevýhodám ako mladší.

Záver

Cieľom nášho výskumu bolo zistiť názory na zmeny vo vyučovaní ekonomických predmetov počas pandémie. Náš výskum môže byť dobrým základom pre ďalšie možné výskumy v budúcnosti s podobným zameraním. Prostredníctvom dotazníkovej metódy sa nám podarilo získať a následne prehľadne spracovať a interpretovať výsledky. Získali sme tak pohľad študentov na dištančné vzdelávanie, ktoré ich sprevádzalo v období pandémie. Tento výskum môže slúžiť aj pre vylepšenie niektorých aspektov v dištančnom vzdelávaní.

Poďakovanie

Veľká vďaka patrí môjmu školiteľovi PaedDr. Milanovi Marošovi, PhD. za jeho cenné rady, odbornú pomoc, podporu a usmernenie pri zhotovení práce.

Použitá literatúra

[1] MECCAWY, Z.; MECCAWY, M.; ALSOBHI, A. (2021). *Assessment in „survival mode “: student and faculty perceptions of online assessment practices in HE during Covid-19 pandemic*. [online] International Journal for Educational Integrity. 17, 16. [cit. 11.3.2023]. Dostupné: https://doi.org/10.1007/s40979-021-00083-9

[2] BELIKOVA, T.; SHIKL T. (2021). Distance teaching: opportunities, challenges and prospects. [online] E3S Web of Conferences, Interagromash. 273, 12064. [cit. 11.3.2023] Dostupné: https://doi.org/10.1051/e3sconf/202127312064

[3] SIMONSON, a kol. (2023) Distance learning. [online] In: *Encyclopedia Britannica*, 17 Feb. 2023. [cit. 11.3.2023]. Dostupné: https://www.britannica.com/topic/distance-learning.

[4] ČERNÁK, I.; MAŠEK, E.: Základy elektronického vzdelávania, Ružomberok: Edičné středisko Pedagogickej fakulty KU v Ružomberoku, 2007, 343 s. ISBN 978-80-8084-171-3.

[5] GAZDÍKOVÁ, V. 2003. Základy dištančného elektronického vzdelávania. Trnava: Pedagogická fakulta Trnavskej univerzity 2003. 64 s. ISBN 80-89074-67-7.

[6] GAZDÍKOVÁ, V. 2003. Základy dištančného elektronického vzdelávania. Trnava: Pedagogická fakulta Trnavskej univerzity 2003. 64 s. ISBN 80-89074-67-7.

[7] MIŠÚT, M. 2007. Príručka študenta predmetu Elektronické vzdelávanie - Špecifiká práce študujúceho v dištančnom on-line vzdelávaní. Vysokoškolské učebné texty. Trnava: Pedagogická fakulta Trnavskej univerzity 2007.

[8] GAZDÍKOVÁ, V. 2003. Základy dištančného elektronického vzdelávania. Trnava: Pedagogická fakulta Trnavskej univerzity 2003. 64 s. ISBN 80-89074-67-7.

[9] GAZDÍKOVÁ, V. 2003. Základy dištančného elektronického vzdelávania. Trnava: Pedagogická fakulta Trnavskej univerzity 2003. 64 s. ISBN 80-89074-67-7.

[10] ZLÁMALOVÁ, H., a kol. 2003. Přiručka pro zájemce o celoživotní vzdelávání a distanční studium. 1.vyd. Ostrava: VŠB- Technická univerzita 2003. ISBN 80-248-0506-5

[11] BAJTOŠ, J. 2006. Počítačom podporované vyučovanie ako progresívny prvok edukácie v informačnej spoločnosti. Žilina. Žilinská univerzita. ISBN 8080705054
[12] PODŠKUBKOVÁ, J.; POSPÍŠIL, J. et al. 2006. Didaktika distančního vzdělávaní v prostředí vysoké školy. Olomouc: Univerzita Palackého v Olomouci. ISBN 8024415410 9788024415413
[13] ZAIONTZ, C. (2020). Real statistics using excel. Citované 18.02.2020 zo stránky www.real-statistics.com
[14] Zákon č. 245/2008 Z. z. o výchove a vzdelávaní (školský zákon) a o zmene a doplnení niektorých zákonov.

Sekcia

PhD. I.

In silico analýza α-amylázovej rodiny GH119 – sekvenčno-štruktúrne črty, evolúcia a príbuznosť s rodinou GH57

In silico analysis of the α-amylase family GH119 – sequence-structural features, evolution and its relatedness to the family GH57

Adam Poláček[1]
Školiteľ: Štefan Janeček[2]
[1,2] Ústav molekulárnej biológie SAV v.v.i., Laboratórium evolúcie proteínov, Dúbravská cesta 21, 845 51 Bratislava, Slovenská republika
[1]Adam.Polacek@savba.sk, [2]Stefan.Janecek@savba.sk

Abstrakt

Rodina GH119 vznikla na základe štúdie opisujúcej α-amylázu z *Bacillus circulans* (preklasifikovaný na *Niallia circulans*), ktorá predstavuje produkt génu *igtZ*. Táto rodina s ~40 členmi patrí medzi najmenšie rodiny glykozidových hydroláz v databáze CAZy. Okrem čiastočnej charakterizácie α-amylázy z *N. circulans* sa v GH119 bola doteraz vykonaná jediná *in silico* štúdia, ktorá predikovala štruktúru katalytickej domény, katalytickú mašinériu a konzervované sekvenčné regióny, ktoré zdieľa s rodinou GH57. Predkladaná práca poskytuje podrobnú analýzu sekvencií rodiny GH119 s ohľadom na doménové usporiadanie, umiestnenie všetkých piatich KSR a potenciálne jedinečné sekvenčné vlastnosti. Súbor sekvencií GH119 bol doplnený o charakterizované enzýmy rodiny GH57. S prihliadnutím na experimentálne stanovenú terciárnu štruktúru 4-α-glukanotransferázy GH57 z *T. litoralis* a model α-amylázy GH119 *N. circulans* z AlphaFold bola zadefinovaná pozícia KSR-5 v rodine GH119. Fylogenetické vzťahy vypracované pre N-terminálne a C-terminálne segmenty sekvencií poukázali na taxonómiu ako na jeden z hlavných faktorov riadiacich evolúciu rodiny GH119.

Kľúčové slová: rodina α-amyláz GH119 - bioinformatická analýza - konzervované sekvenčné regióny - neúplný TIM-barel - štrukturálne porovnanie - fylogenetické vzťahy

Abstract

The GH119 family arose from a study describing an α-amylase from *Bacillus circulans* (reclassified as *Niallia circulans*) that is the product of the *igtZ* gene. This family, with ~40 members, is one of the smallest families of glycoside hydrolases in CAZy database. Apart from a partial characterization of the α-amylase from *N. circulans* only one *in silico* study performed to date has predicted the catalytic domain structure, catalytic machinery, and conserved sequence regions that it shares with the family GH57. The present work provides a detailed analysis of the GH119 family sequences with respect to domain organization, the location of all five CSRs, and potentially unique sequence features. The set of GH119 sequences has been completed with characterized GH57 family enzymes. Taking into account the experimentally determined tertiary structure of the GH57 4-α-glucanotransferase from *T. litoralis* and the GH119 α-amylase AlphaFold model from *N. circulans*, the position of KSR-5 in the family GH119 was re-defined. The phylogenetic relationships developed for the N-terminal and C-terminal segments of the sequences pointed to taxonomy as one of the major factors driving the evolution of the family GH119.

Key Words: α-Amylase family GH119 · Bioinformatics analysis · Conserved sequence regions · Incomplete TIM-barrel · Structural comparison · Evolutionary relationships

Úvod

Rodina GH57, ktorá je známa aj ako druhá α-amylázová rodina [1], bola vytvorená v roku 1996 na základe dvoch sekvencií "α-amyláz" [2], ktoré sa javili ako nepríbuzné so sekvenciami z hlavnej rodiny α-amyláz GH13 [3]. Dve zakladajúce sekvencie rodiny GH57 z *Dictyoglomus thermophilum* [4] a *Pyrococcus furiosus* [5] boli neskôr preklasifikované na 4-α-glukanotransferázy [6,7]. Členov tejto rodiny možno charakterizovať aj niektorými základnými kritériami [8,9,10,11,12]: (i) prítomnosť $(\beta/\alpha)_7$-barelu, t. j. neúplného TIM-barelu, ako katalytickej domény spolu so zväzkom niekoľkých po sebe nasledujúcich α-helixov; (ii) katalytický mechanizmus tvorený Glu (nukleofil) a Asp (donor protónu) umiestnenými na vláknach β4 a β7 alebo v ich blízkosti; (iii) využívanie retenujúceho reakčného

mechanizmu a (iv) 5 KSR nachádzajúcich sa v aminokyselinových sekvenciách. V súčasnosti rodina GH57 zahŕňa viac ako 4 500 sekvencií a patrí medzi polyšpecifické rodiny GH podobne ako rodina GH13[13, 14].

Rodina GH119, definovaná v roku 2006 na základe štúdie opisujúcej α-amylázu IgtZ z *Bacillus circulans* [13] - v súčasnosti preklasifikovaný ako *Niallia circulans* - predstavuje jednu z najmenších rodín α-amyláz v CAZy [14, 15]. Z viac ako 40 členov GH119, ktorí sú v súčasnosti k dispozícii v databáze CAZy, predstavuje spomínaná α-amyláza IgtZ doteraz jediný charakterizovaný enzým [14]. Hoci využíva retenujúci reakčný mechanizmus podobne ako je to v α-amylázových rodinách GH13 a GH57, je schopná produkovať trehalózu z maltooligozyl trehalóz [13], existuje dôvod považovať charakterizovaný enzým z *N. circulans* skôr za „amylolytický" enzým ako za striktnú α-amylázu [15]. Vzhľadom na pôvodnú štúdiu Watanabe a kol. [13], ktorá priniesla ako prvá poznatky o amylolytickom enzýme z *N. circulans* nie sú k dispozícii žiadne ďalšie experimentálne nadobudnuté poznatky ohľadom rodiny GH119, okrem jedinej *in silico* štúdie [16], ktorá odhalila úzku príbuznosť rodiny GH119 s GH57. Podobnosť sa týka priestorového usporiadania katalytickej domény aj katalytického mechanizmu rodiny GH119, ktorej členovia disponujú predpokladom byť si blízko príbuzné ak nie homologické s rodinou GH57. Okrem vyššie popísaných podobností bola načrtnutá aj doménová organizácia α-amylázy IgtZ [17]. Okrem katalytickej domény pozostáva aj z troch domén viažucich škrob (SBD) a jednej domény fibronektínu typu III.

Predkladaná *in silico* práca bola zameraná predovšetkým na rodinu GH119 v snahe aspoň čiastočne vyplniť medzeru v jej celkovom poznaní, ako aj vniesť ďalšie svetlo na jej príbuznosť s rodinou GH57 s využitím najnovších sekvenčno-štrukturálnych údajov a pokročilých bioinformatických nástrojov. Okrem toho sa podrobná analýza sekvencií oboch rodín GH119 a GH57 zamerala aj na opätovné jasné definovanie piatich KSR pre rodinu GH119 a poukázať na spôsob ako rozlišovať medzi členmi GH119 a GH57 a napokon, v prípade rodiny GH119 zistiť doménové usporiadanie všetkých jej členov.

1 Materiály a Metódy

Skúmané sekvencie pochádzajúce z oboch rodín GH57 a GH119 boli zozbierané na základe informácií v databáze CAZy (November 2022) [14], pričom získaných bolo 80 sekvencií pochádzajúcich z databáz GenBank [18] a/alebo UniProt [19] - 42 sekvencií z rodiny GH119; experimentálne charakterizovaná bola len α-amyláza IgtZ z *N. circulans* [13]; súbor bol doplnený o 38 členov rodiny GH57 – 35 experimentálne charakterizovaných sekvencií, ôsmych enzýmových špecificít, a tri rôzne proteínové homológy z nekompletnou katalytickou mašinériou. [11, 12, 20, 21].

Sekvencie boli zrovnané prostredníctvom programu *Clustal-Omega* [22]. Celkovo bola zbierka sekvencií podrobená trom rôznym zrovnaniam: (i) prvé zrovnanie bolo vykonané pre všetky skúmané sekvencie (80), ktoré pokrývajú segment od začiatku KSR-1 po koniec KSR-5, v zmysle pôvodnej definície KSR pre rodinu GH57 [9, 11] a ich neskoršieho rozšírenia aj pre rodinu GH119 [16]; (ii) druhé zrovnanie bolo zamerané na C-terminálne segmenty sekvencií rodiny GH119, t. j. od konca KSR-5 po reálne konce sekvencií; (iii) tretie zrovnanie bolo zamerané na všetky sekvencie GH119 - 42 sekvencií; porovnávané boli celé sekvencie s cieľom rozdeliť zrovnanie na dve časti, ktoré by sa mohli navzájom evolučne porovnať: (I) N-koncová časť - nekompletný TIM-barel s následným zväzkom α-helixov; a (II) C-terminálny segment - časť sekvencií, ktorá nasleduje po katalytickej časti. Hranica medzi N-koncovým a C-koncovým segmentom bola stanovená podľa AlphaFold štruktúrneho modelu α-amylázy IgtZ *N. circulans*. V prípade nejasností ohľadom identifikácie KSR bol použitý server *Phyre2* [23] (http://www.sbg.bio.ic.ac.uk/phyre2/). Domény lokalizované na C-koncoch skúmaných sekvencií boli definované na základe predikčných serverov InterPro [24] (https://www.ebi.ac.uk/interpro/), Pfam [25] (http://pfam.xfam.org/) a/alebo CDD [26] (https://www.ncbi.nlm.nih.gov/Structure/cdd/cdd.shtml). Predikované domény sacharid-viažúce domény (CBM) boli overené databázou CAZy [14]. Pre KSR oboch rodín boli vytvorené sekvenčné logá pomocou WebLogo 3.0 servera [27] (http://weblogo.threeplusone.com/).

Analyzované boli fylogenetické vzťahy pre: (i) obe rodiny GH57 a GH119 (všetkých 80 sekvencií na základe zrovnania segmentu sekvencií od začiatku KSR-1 po koniec KSR-5; a zvlášť pre rodinu GH119 – (ii) N-terminálne segmenty sekvencií a (iii) C-terminálne segmenty sekvencií. Fylogenetické vzťahy boli počítané pomocou programu MEGA tzv. metódou „maximum likelihood" [28]

Štruktúrne porovnanie dvoch študovaných rodín sa uskutočnilo na základe porovnania experimentálne stanovenej trojrozmernej štruktúry zástupcu rodiny

GH57, 4-α-glukanotransferázy z *T. litoralis* [8] (kód PDB: 1K1Y), ktorá bola získaná z databázy *Protein Data Bank* (PDB) [29] (https://www.rcsb.org/) a trojrozmernej štruktúry pre rodinu GH119 predikovanej pre jediný experimentálne charakterizovaný enzým α-amylázu IgtZ z *N. circulans* [13], ktorá bola prevzatá z databázy AlphaFold [30] (https://alphafold.ebi.ac.uk/) prostredníctvom prístupového čísla UniProt: A0P8X0. Štruktúry boli superponované v programe MultiProt [31] (https://bio.tools/multiprot) a zobrazené programom UCSF Chimera [32].

2 Výsledky a diskusia

Príbuznosť rodiny GH119 s GH57 bola prvýkrát navrhnutá v roku 2012 na základe úspešného modelovania podstatnej časti katalytickej domény neúplného TIM-barelu α-amylázy IgtZ z *N. circulans*, v ktorej bolo možné identifikovať aj dva zvyšky zodpovedajúce katalytickej mašinérii rodiny GH57 [13]. Jediný experimentálny dôkaz o aktivite enzýmu v tejto rodine pochádza z roku 2006, keď bola sekvencia proteínu IgtZ z *N. circulans* charakterizovaná ako „α-amyláza“ [13]. Avšak ako bolo nedávno zdôraznené [15] α-amyláza *N. circulans* nemusí nevyhnutne disponovať striktnou α-amylázovou špecificitou, keďže enzým bol schopný produkovať maltooligosacharidy z maltopentaozyltrehalóz [13].

Snahou predkladanej práce bolo definitívne potvrdiť navrhovanú príbuznosť α-amylázovej rodiny GH119 s GH57. Analyzovaných bolo všetkých, vtedy dostupných, 42 sekvencií z rodiny GH119 s cieľom identifikovať všetkých päť KSR v ich sekvenciách, ktoré boli pôvodne identifikované v rodine GH57 [9]. Na porovnanie bola použitá len skupina experimentálne charakterizovaných enzýmov GH57 s troma tzv. proteínovými homológmi charakterizovaných enzýmov [20, 21], pričom sa tak štúdií podrobilo 38 sekvencií rodiny GH57. Zrovnanie všetkých 80 sekvencií preukázalo že KSR identifikované v rodine GH57 [9, 20, 12] sa dajú aplikovať aj v prípade analýzy KSR v sekvenciách členov rodiny GH119 a že obe rodiny sú vzájomne zosúladené aspoň v rámci katalytickej oblasti ich sekvencií pokrývajúcich približne celú katalytickú $(\beta/\alpha)_7$-barelovú doménu a nasledujúceho zväzku α-helixov. Okrem toho pozície oboch možných katalytických zvyškov rodiny GH57 - Glu123 a Asp214 (katalytický nukleofil a donor protónov v oblastiach KSR-3 a KSR-4; číslovanie podľa 4-α-glukanotransferázy z *T. litoralis*) [8] - sú invariantne konzervované v rámci celej rodiny GH119.

Napriek spoločnej sekvenčnej podobnosti medzi oboma rodinami, vrátane ich KSR, celá rodina GH119 jasne ukazuje nezávislosť od rodiny GH57. Hoci, okrem α-amylázy z *N. circulans*, všetky sekvencie rodiny GH119 doteraz predstavujú len hypotetické proteíny [14]. Fylogenetická analýza rodiny GH119 poukázala na formovanie zoskupení sekvencií enzýmov v rámci separátnych klastrov, čo do budúcnosti poukazuje na možnosť tvorby podrodín v rámci GH119 a tiež prípadná, ale nie nevyhnutná existencia rôznych enzýmových špecificít. Okrem detailných vzťahov medzi členmi rodiny GH119, fylogenetická analýza poukázala, ako sú jednotlivé špecificity v rámci rodiny GH57 zoskupené a distribuované [12, 20]: amylopullulanázy ako blízko príbuzné svojim náprotivkom - enzýmom s duálnou špecificitou, amylopullulanáza-cyklomaltodextrinázam, ktoré susedia so 4-α-glukanotransferázami; zatiaľ čo α-glukán-vetviace enzýmy vykazujú príbuznosť s α-galaktozidázami a v širšom zmysle so sekvenciami nesúcimi α-amylázovú špecificitu, maltogénnymi amylázami a nešpecifikovanými amylázami.

Spomínanú evolučnú príbuznosť oboch α-amylázových rodín GH119 a GH57, ktorá je podložená ich sekvenčnou podobnosťou, možno jednoznačne podporiť porovnaním ich terciárnych štruktúr. V rodine GH57 je k dispozícii niekoľko terciárnych štruktúr [14]. Na druhej strane, v rodine GH119 nie je prítomná žiadna experimentálne stanovená štruktúra [13, 14]. Napriek tomu sa prostredníctvom predikovaného modelu terciárnej štruktúry α-amylázy IgtZ z *N. circulans* vytvoreného pomocou *AlphaFold* (AF-A0P8X0-F1; prístupové číslo UniProt; A0P8X0) [29], vykonala superpozícia predikovaných katalytických oblastí (katalytická doména neúplného TIM-barelu a nasledujúci zväzok α-helixov) zástupcov oboch rodín GH119 a GH57. Prekrytie na základe 263 zodpovedajúcich Cα atómov s RMSD hodnotou 1,72 Å potvrdzuje podobnosť medzi katalytickou mašinériou 4-α-glukanotranferázy z *T. litoralis* (PDB: 1K1Y) z rodiny GH57 a ekvivalentnými zvyškami v α-amyláze IgtZ z *N. circulans* z rodiny GH119, ktorá bola pozorovaná už skôr [16]. V každom prípade, aby bolo možné vyvodiť záver o katalytickom mechanizme v rodine GH119, je potrebné získať experimentálne dôkazy potvrdzujúce zapojenie Glu231 a Asp373 prítomné v primárnej štruktúre α-amylázy IgtZ *N. circulans* do katalytickej aktivity [16].

Porovnávanie terciárnych štruktúr prinieslo aj iné výhody, ktoré sa týkajú overenia resp. objasnenia presných pozícií KSR v sekvenciách členov rodiny

GH119. Obmedzená spoľahlivosť štruktúrneho modelu α-amylázy IgtZ *N. circulans* z roku 2012 spôsobovala neistotu pri predikciách presných hraníc piatich KSR v sekvenciách rodiny GH119, najmä KSR-5 nachádzajúceho sa na jednom z troch α-helixov za katalytickou doménou neúplného TIM-barelu [16]. Predkladaná práca tak prináša aj korigovanú pozíciu KSR-5 v GH119, čo výrazne podporuje prekrytie štruktúr v tejto oblasti. Spresnené pozície všetkých piatich KSR v rodine GH119 umožnili vypočítať sekvenčné logo rodiny, ktoré sa v budúcnosti môže prípadne vylepšiť, keď bude k dispozícii viac sekvencií členov rodiny. Sekvenčné logo rodiny GH119 naznačuje, že v rámci danej rodiny môže existovať len jedna enzýmová špecificita v rodine t. j. α-amyláza, a to z dôvodu, že koniec KSR-5 disponuje dvoma takmer nemennými tyrozínovými zvyškami, čo predstavuje črtu α-amylázovej špecificity z rodiny GH57 [20, 11]. Predpoklad ohľadom jedinej enzýmovej špecificity, α-amylázy, v rodine GH119, však treba brať s rezervou, pretože logo rodiny GH119 sa zakladá len na 42 sekvenciách.

Predkladaná bioinformatická analýza priniesla aj podrobné informácie o ďalších doménach v C-terminálnom segmente sekvencií nasledujúcom po N-terminálnej katalytickej oblasti GH119, t. j. neúplný TIM-barel a následný zväzok niekoľkých α-helixov. Väčšina členov GH119 disponuje aspoň jednou dobre rozpoznateľnou doménou umiestnenou na C-konci, ako je fibronektínová doména typu 3 (FN-III), a/alebo jednou z domén viažucich škrob (SBD), ktoré sú v CAZy klasifikované do rodiny CBM20, CBM25 a CBM26, prípadne dockerínová doména. Ako vyplýva z analýzy doménového usporiadania zástupcov rodiny GH119, môžu existovať aj výnimky, ktorým chýba akákoľvek dobre známa dodatočná doména. Prítomnosť SBD z rôznych CBM rodín sa zdá byť v rozpore s tým, čo sa dá pozorovať v rodine GH57, kde sa domény CBM takmer nevyskytujú [33]. Výnimku, v rámci rodiny GH57 predstavuje doposiaľ jediná sekvencia hypotetickej amylopullulanázy z *Kosmotoga olearia* (UniProt: C5CEB0), ktorá disponuje troma kópiami domén CBM20 na svojom N-terminálnom segmente aminokyselinovej sekvencie [17].

Prítomnosť rôznych C-terminálnych domén a ich čiastočne odlišné zloženie u väčšiny členov GH119 na prvý pohľad nezodpovedá sekvenčne podobným N-koncovými častiam, ktoré nesú potenciálnu katalytickú oblasť (neúplný TIM-barel s nasledujúcim α-helikálnym segmentom). Preto môže existovať dôvod študovať aj evolučné vzťahy v rodine GH119 zvlášť pre N-terminálne a C-terminálne segmenty sekvencií. Na tento účel bolo všetkých 42 GH119 sekvencií zrovnaných a na základe zrovnania N- a C-koncových častí bola uskutočnená fylogenetická analýza segmentov sekvencií. Hranica medzi dvoma časťami bola stanovená medzi Asp608 a Lys609 (AlphaFold model α-amylázy IgtZ z *N. circulans*). Fylogenetická analýza N-koncových častí študovaných sekvencií presne kopíruje evolučné vzťahy, ktoré boli pozorované v počiatkoch predkladanej práce, kde sa analyzovali obe rodiny spoločne od KSR-1 po koniec KSR-5. Zaujímavé je, že vo fylogenetickej analýze C-koncových segmentov sekvencií sa nachádza iba malá zmena usporiadania, čo môže naznačovať, že napriek čiastočne variabilným dĺžkam, ako aj zloženiu domén v C-koncových častiach, taxonómia predstavuje dominantný faktor, na základe ktorého sa v súčasnosti riadi zaradenie enzýmov do rodiny GH119.

Záver

Rodina α-amyláz GH119 bola podrobne analyzovaná s cieľom potvrdiť jej príbuznosť s rodinou GH57. Zosúladenie všetkých 80 sekvencií ukázalo, že KSR definované v GH57 sú použiteľné aj pre členov GH119 a že obe rodiny sú vzájomne homologické v rámci katalytickej oblasti svojich sekvencií. Pozície katalytických zvyškov GH57 a GH119 sa javia ako invariantne konzervované, avšak je potrebné získať experimentálne dôkazy potvrdzujúce zapojenie Glu231 a Asp373 α-amylázy *N. circulans* do katalytickej aktivity. Porovnanie zástupcov GH119 s rodinou GH57 umožnilo overiť a spresniť presné polohy KSR v sekvenciách členov rodiny GH119. Spresnené pozície všetkých piatich KSR umožnilo vypočítať sekvenčné logo pre GH119, ktoré naznačuje, že v rodine by mohla aspoň zatiaľ existovať len jedna enzýmová špecificita..

Bioinformatická analýza odhalila, že členovia GH119 disponujú aspoň jednou dobre rozpoznateľnou doménou umiestnenou v C-terminálnom segmente, ako je doména FN-III, a/alebo CBM. Prítomnosť rôznych C-terminálnych domén a ich čiastočne odlišné zloženie u väčšiny členov GH119 nekorešponduje so sekvenčne podobnými N-terminálnymi časťami nesúcimi potenciálnu katalytickú oblasť. Fylogenetické vzťahy poukazujú na taxonómiu ako na dominantný faktor riadiaci evolúciu enzýmov v súčasnosti zaradených do rodiny GH119.

Poďakovanie

Táto práca bola finančne podporená grantom č. 2/0146/21 od Slovenskej grantovej agentúry VEGA

Použitá Literatúra

[1] JANECEK, Š. – SVENSSON, B. – MACGREGOR, E. A., 2014. Amylase: an enzyme specificity found in various families of glycoside hydrolases. In *Cellular and Molecular Life Sciences*. roč. 71, č. 7, s. 1149–70. https://doi.org/10.1007/s00018-013-1388-z.

[2] HENRISSAT, B. – BAIROCH, A., 1996. Updating the sequence-based classification of glycosyl hydrolases. In *Biochemical Journal*. roč. 31, č. 2, s. 695–696. https://doi.org/10.1042/bj3160695.

[3] JANECEK, Š, 1998. Sequence of archaeal *Methanococcus jannaschii* α-amylase contains features of families 13 and 57 of glycosyl hydrolases: a trace of their common ancestor? In *Folia Microbiologica*. roč. 43, č. 2, s. 123–128. https://doi.org/10.1007/ BF02816496.

[4] FUKUSUMI, S. – KAMIZONO, A. – HORINOUCHI, S. – BEPPU, T., 1988. Cloning and nucleotide sequence of a heat-stable amylase gene from an anaerobic thermophile, *Dictyoglomus thermophilum*. In *European Journal of Biochemistry*. roč. 174, č. 1, s. 15–21. https://doi.org/10.1111/j.1432-1033.1988.tb14056.x.

[5] LADERMAN, K.A. – ASADA, K. – UEMORI, T. – MUKAI, H. – TAGUCHI, Y. – KATO, I. – ANFINSEN, C. B., 1993a. α-Amylase from the hyperthermophilic archaebacterium *Pyrococcus furiosus*. Cloning and sequencing of the gene and expression in *Escherichia coli*. In *Journal of Biological Chemistry*. roč. 268, č. 32, s. 24402–24407. https://doi.org/10.1016/S0021-9258(20)80539-0.

[6] LADERMAN, K.A. – DAVIS, B.R. – KRUTZSCH, H.C. – LEWIS, M.S. – GRIKO, Y.V. – PRIVALOV, P.L. – ANFINSEN, C.B., 1993b. The purification and characterization of an extremely thermostable α-amylase from the hyperthermophilic archaebacterium *Pyrococcus furiosus.* In *Journal of Biological Chemistry*. roč. 268, č. 32, s. 24394–24401. https://doi.org/10.1016/S0021-9258(20)80538-9.

[7] NAKAJIMA, M. – IMAMURA, H. – SHOUN, H. – HORINOUCHI, S. – WAKAGI, T., 2004. Transglycosylation activity of *Dictyoglomus thermophilum* amylase A. In *Bioscience, Biotechnology and Biochemistry*. roč. 68, č. 11, s. 2369–2373. https://doi.org/10.1271/bbb.68.2369.

[8] IMAMURA, H. – FUSHINOBU, S. – YAMAMOTO, M. – KUMASAKA, T. – JEON, B.S. – WAKAGI, T. – MATSUZAWA, H., 2003. Crystal structures of 4-α-glucanotransferase from *Thermococcus litoralis* and its complex with an inhibitor. In *Journal of Biological Chemistry*. roč. 278, č. 21, s. 19378–19386. https://doi.org/10.1074/jbc.M213134200.

[9] ZONA, R. – CHANG-PI-HIN, F. – O'DONOHUE, M.J. – JANECEK, S., 2004. Bioinformatics of the glycoside hydrolase family 57 and identification of catalytic residues in amylopullulanase from *Thermococcus hydrothermalis*. In *European Journal of Biochemistry*. 2004, roč. 271, č. 14, s. 2863–2872. https://doi.org/ 10.1111/j.1432-1033.2004.04144.x.

[10] PALOMO, M. – PALOMO, M. – PIJNING, T. – BOOIMAN, T. – DOBRUCHOWSKA, J.M. – VAN DER VLIST, J. – KRALJ, S. –PLANAS, A. – LOOS, K. – KAMERLING, J.P. – DIJKSTRA, B.W. – VAN DER MAAREL, M.J. – DIJKHUIZEN, L. – LEEMHUIS, H., 2011. *Thermus thermophilus* glycoside hydrolase family 57 branching enzyme: crystal structure, mechanism of action, and products formed. In *Journal of Biological Chemistry*. roč. 286, č. 5, s. 3520–3530. https://doi.org/10.1074/jbc.m110.179515.

[11] BLESAK, K.– JANECEK, S., 2012. Sequence fingerprints of enzyme specificities from the glycoside hydrolase family GH57. In *Extremophiles*. roč. 16, č. 3, s. 497–506. https://doi.org/10.1007/s00792-012-0449-9

[12] MARTINOVICOVA, M. – JANECEK, S., 2018. *In silico* analysis of the α-amylase family GH57: eventual subfamilies reflecting enzyme specificities. In *3 Biotech*. roč. 8, č. 7, 307. https://doi.org/10.1007/ s13205-018-1325-9.

[13] WATANABE, H. – NISHIMOTO, T. – KUBOTA, M. – CHAEN, H. – FUKUDA, S., 2006. Cloning, sequencing, and expression of the genes encoding an isocyclomaltooligosaccharide glucanotransferase and an α-amylase from a *Bacillus circulans* strain. In *Bioscience, Biotechnology and Biochemistry*. roč. 70, č. 11, s. 2690–2702. https://doi.org/10.1271/bbb.60294.

[14] DRULA, E. – GARRON, M.L. – DOGAN, S. – LOMBARD, V. – HENRISSAT, B. – TERRAPON, N., 2022. The carbohydrate-active enzyme database: functions and literature. In *Nucleic Acids Research*. roč. 50, č. D1, s. D571–D577. https://doi.org/10.1093/nar/gkab1045.

[15] JANECEK, S. – SVENSSON, B., 2022. How many α-amylase GH families are there in the CAZy database? In *Amylase*. roč. 6, č. 1, s. 1–10. https://doi.org/ 10.1515/amylase-2022-0001.

[16] JANECEK, S. – KUCHTOVA, A., 2012. *In silico* identification of catalytic residues and domain fold

of the family GH119 sharing the catalytic machinery with the α-amylase family GH57. In *FEBS Letters*. roč. 586, č. 19, s. 3360–3366. https://doi.org/10.1016/j.febslet. 2012.07.020.

[17] JANECEK, S. – MARECEK, F. – MACGREGOR, E.A. – SVENSSON, B., 2019. Starch-binding domains as CBM families – history, occurrence, structure, function and evolution. In *Biotechnology Advances*. roč. 37, č. 8: 107451. https://doi.org/10.1016/j.biotechadv.2019. 107451

[18] SAYERS, E.W. – CAVANAUGH, M. – CLARK, K. – PRUITT, K.D. – SCHOCH, C.L. – SHERRY, S.T. - KARSCH–MIZRACHI, I., 2021. GenBank. In *Nucleic Acids Research*. roč. 49, č. D1, s. D92–D96. https://doi.org/10.1093/ nar/gkaa1023.

[19] UniProt Consortium. 2021. UniProt: the universal protein knowledgebase in 2021. In *Nucleic Acids Research*. roč. 49, č. D1, s. D480–D489. https://doi. org/10.1093/nar/gkaa1100.

[20] JANECEK, S. – BLESAK, K., 2011. Sequence-structural features and evolutionary relationships of family GH57 α-amylases and their putative α-amylase-like homologues. In *Protein Journal*. roč. 30, č. 6, s. 429–435. https://doi.org/10.1007/s10930-011-9348-7.

[21] JANECEK, Š. – MARTINOVICOVA, M., 2020. New groups of protein homologues in the α-amylase family GH57 closely related to α-glucan branching enzymes and 4-α-glucanotransferases. In *Genetica*. roč. 148, č. 2, s. 77–86. https://doi.org/10.1007/s10709-020-00089-0

[22] SIEVERS, F. – WILM, A. – DINEEN, D. – GIBSON, T.J. – KARPLUS, K. – LI, W. – LOPEZ, R. – MCWILLIAM, H. – REMMERT, M. – SÖDING, J. – THOMPSON, J.D. – HIGGINS, D.G., 2011. Fast, scalable generation of high-quality protein multiple sequence alignments using Clustal Omega. In *Molecular system biology*. roč. 11, č. 7, s. 539. https://doi.org/10.1038/msb.2011.75.

[23] KELLEY, L.A. – MEZULIS, S. – YATES, C.M. – WASS, M.N. – STERNBERG, M.J., 2015. The Phyre2 web portal for protein modeling, prediction and analysis. In *Nature Protocols*. roč. 10, č. 6, s. 845–58. https:// doi. org/ 10.1038/ nprot. 2015. 053

[24] BLUM, M. – CHANG, H.Y. – CHUGURANSKY. S. – GREGO, T. – KANDASAAMY, S. – MITCHELL, A. – NUKA, G. – PAYSAN-LAFOSSE, T. – QURESHI, M. – RAJ, S. – RICHARDSON, L. – SALAZAR, G.A. – WILLIAMS, L. – BORK, P. – BRIDGE, A. – GOUGH, J. – HAFT, DH. – LETUNIC, I. – MARCHLER-BAUER, A. – MI, H. – NATALE, D.A. – NECCI, M. – ORENGO, C.A. – PANDURANGAN, A.P. – RIVOIRE, C. – SIGRIST, C.J.A. – SILLITOE, I. – THANKI, N. – THOMAS, P.D. – TOSATTO, S.C.E. – WU, C.H. – BATEMAN, A. – FINN, R.D., 2021. The InterPro protein families and domains database: 20 years on. In *Nucleic Acids Research*. roč. 49, č. D1, s. D344–D354. https://doi.org/10.1093/ nar/gkaa977.

[25] MISTRY, J. – CHUGURANSKY, S. – WILLIAMS, L. – QURESHI, M. – SALAZAR, G.A. – SONNHAMMER, E.L.L. – TOSATTO, S.C.E. – PALADIN, L. – RAJ, S. – RICHARDSON, L.J. – FINN, R.D. – BATEMAN, A., 2021 Pfam: The protein families database in 2021. In *Nucleic Acids Research*. roč. 49, č D1, s. D412–D419. https://doi.org/10.1093/nar/gkaa913.

[26] LU, S. – WANG, J. – CHITSAZ, F. – DERBYSHIRE, M.K. – GEER, R.C. – GONZALES, N.R. – GWADZ, M. – HURWITZ, D.I. – MARCHLER, G.H. – SONG, J.S. – THANKI, N. – YAMASHITA, R.A. – YANG, M. – ZHANG, D. – ZHENG, C. – LANCZYCKI, C.J. – MARCHLER-BAUER, A., 2020. CDD/SPARCLE: the conserved domain database in 2020. In *Nucleic Acids Research*. roč. 48, č. D1, s. D265-D268. https://doi.org/10.1093/nar/gkz991.

[27] CROOKS, G.E. – HON, G. – CHANDONIA, J.M. – BRENNER, S.E., 2004. WebLogo: a sequence logo generator. In *Genome Research*. roč. 14, č. 6, s. 1188–90. https://doi.org/10.1101/gr.849004.

[28] KUMAR, S. – STECHER, G. – LI, M. – KNYAZ, C. – TAMURA, K., 2018. MEGA X:Molecular evolutionary genetics analysis across computing platforms.In *Molecular Biology and Evolution*. roč. 35, č. 6, s. 1547–1549. https://doi.org/10.1093/molbev/msy 096

[29] BURLEY, S.K. – BHIKADIYA, C. – BI, C. – BITTRICH, S. – CHEN, L. – CRICHLOW, G.V. – CHRISTIE, C.H. – DALENBERG, K. – DI COSTANZO, L. – DUARTE, J.M. – DUTTA, S. – FENG, Z. – GANESAN, S. – GOODSELL, D.S. – GHOSH, S. – GREEN, R.K. – GURANOVIĆ, V. – GUZENKO, D. – HUDSON, B.P. – LAWSON, C.L. – LIANG, Y. – LOWE, R. – NAMKOONG, H. – PEISACH, E. – PERSIKOVA, I. – RANDLE, C. – ROSE, A. – ROSE, Y. – SALI, A. – SEGURA, J. – SEKHARAN, M. – SHAO, C. – TAO, Y.P. – VOIGT, M. – WESTBROOK, J.D. – YOUNG, J.Y. – ZARDECKI, C. – ZHURAVLEVA, M., 2021. RCSB Protein Data Bank: powerful new tools for exploring 3D structures of biological macromolecules for basic and applied research and education in fundamental biology, biomedicine, biotechnology, bioengineering and energy sciences. In *Nucleic Acids Research.* roč. 49, č. D1, s. D437–D451. https:// doi. org/ 10. 1093/ nar/ gkaa1 038.

[30] VARADI, M. – ANYANGO, S. – DESHPANDE, M. – NAIR, S. – NATASSIA, C. – YORDANOVA, G. – YUAN, D. – STROE, O. – WOOD, G. – LAYDON, A. – ŽÍDEK, A. – GREEN, T. – TUNYASUVUNAKOOL, K. – PETERSEN, S. – JUMPER, J. – CLANCY, E. – GREEN, R. – VORA, A. – LUTFI, M. – FIGURNOV, M. – COWIE, A. – HOBBS, N. – KOHLI, P. – KLEYWEGT, G. – BIRNEY, E. – HASSABIS, D. – VELANKAR, S., 2022. AlphaFold protein structure database: massively expanding the structural coverage of protein-sequence space with high-accuracy models. In *Nucleic Acids Research.* roč. 50, č. D1, s. D439–D444. https:// doi. org/ 10. 1093/ nar/ gkab1 061.

[31] SHATSKY, M. – NUSSINOV, R. – WOLFSON, H.J., 2004. A method for simultaneous alignment of multiple protein structures. In *Proteins*. roč. 56, č. 1, s. 143–56. https://doi.org/10.1002/prot.10628.

[32] PETTERSEN, E.F. – GODDARD, T.D. – HUANG, C.C. – MENG, E.C. – COUCH, G.S. – CROLL, T.I. – MORRIS, J.H. – FERRIN, T.E., 2021. UCSF ChimeraX: structure visualization for researchers, educators, and developers. In *Protein Science*. roč. 30, č. 1, s. 70–82. https:// doi. org/ 10. 1002/ pro. 3943.

[33] ZONA, R. – JANECEK, S. 2005. Relationships between SLH motifs from different glycoside hydrolase families. In *Biologia*. roč. 60, č. Suppl 16, s. 115–121.

Formovanie jadierok v embryách hovädzieho dobytka po medzidruhovom nukleolotransfere z oocytov ošípaných

The formation of nucleoli in bovine embryos after the interspecies nucleolotransfers from porcine oocytes

Sára Stachovičová[1]
Školiteľ: Michal Benc[2]
[1]Katedra zoológie a antropológie, FPVaI UKF, Nábrežie mládeže 91, 949 01 Nitra,
[2]Katedra botaniky a genetiky, FPVaI UKF, Nábrežie mládeže 91, 949 01 Nitra
[1] sara.stachovicova@ukf.sk, [2] mbenc@ukf.sk

Abstrakt

Úloha fibrilárnych foriem jadierok v oocytoch (NLB) a embryách (NPB) bola do značnej miery dlho neznáma. Objavom enukleolácie sa začala nová éra z hľadiska pochopenia nových funkcií tejto štruktúry. Dlho sa pozornosť sústredila na vnútrodruhový nukleolotransfer a prvé štúdie s medzidruhovým nukleolotransferom medzi vzdialenými druhmi boli publikované len nedávno. Avšak zatiaľ čo úloha jadierok bola intenzívne študovaná v myších oocytoch a embryách, o ich funkcii u iných cicavcov je známe málo.

V našej práci sa zameriavame na nukleolotransfer NLBs z prasacieho oocytu do oocytu hovädzieho dobytka, pričom sa zameriavame na následné správanie a formovanie NPBs po partenogenetickej aktivácii, v hovädzích embryách. Naším hlavným cieľom je objasnenie priebehu nukleologenézy (proces formovania jadierok). V práci sledujeme, či je progresia nukleologenézy ovplyvnená pôvodom NLB/NPB alebo je ovplyvnená maternálne, samotným embryom. Za týmto účelom uvádzame čiastkové výsledky našej práce a realizovaný úspešný nukleolostransfer prasacích fibrilárnych sfér do oocytov hovädzieho dobytka.

Kľúčové slová: nukleolotransfer, fibrilárna sféra, oocyt

Abstract

The role of fibrillar form of nucleoli in oocytes (NLB) and embryos (NPB) was relatively unknown for a long time. The development of techniques called “enucleolation” started new era in terms of understanding the various new functions of this structure. For a long time, attention was focused on intraspecies nucleolotransfer, and the first studies with interspecies nucleolotransfer between distant species was published recently. The role of the nucleoli was studied intensively in mouse oocytes and embryos, however in another mammals is known little.

In our work, we focus on the nucleolotransfer of NLBs from the porcine oocyte to the bovine oocyte, focusing on the subsequent behavior and formation of NPBs after parthenogenetic activation, in bovine embryos. Our main goal is to explain the progress of nucleologenesis, either the progress of nucleologenesis is affected by origin of the fibrillar sphere or by origin of the embryo. We present successful nucleolostransfer of porcine fibrillar spheres into the bovine oocytes and partial results of our work.

Key Words: nucleolotransfer, fibrillar sphere, oocyte

Úvod

Jadierko je významnou bezmembránovou sub-organelou jadra takmer vo všetkých bunkách, vrátane oocytov a embryí cicavcov [1].

Primárne je jadierko známe ako diferencované aktívne miesto biogenézy ribozómov, vďaka najnovším štúdiám sú známe mnohé dôležité funkcie spojené s dozrievaním oocytov, aktiváciou embryonálneho genómu, syntézou rRNA atď. Je vhodné poznamenať, že mnohé funkcie sú stále neznáme [2].

V plne vyvinutých oocytoch, zygotách a skorých embryách má podobu homogénnej a kompaktnej štruktúry, nazývanej fibrilárna sféra. Ukončenie fázy rastu oocytov je sprevádzané znížením transkripčnej aktivity, rozsiahlou kondenzáciou chromatínu a premenou diferencovaných jadierok na fibrilárnu sféru, ktorá je u fully-grown oocytov v štádiu GV označovaná „nucleolus-like body“ (NLB). NLB nemá žiadnu vnútornú štruktúru a pod elektrónovým mikroskopom sa javí ako sférická, husto-fibrilárna hmota, lokalizovaná v jadre plne vyvinutého oocytu [3,4].

Keď oocyty začnú dozrievať a pokračovať v meióze, súčasne s rozpadom jadra sa stráca aj NLB. Po oplodnení sa štruktúra podobná NLB znovu objavuje vo viditeľnej podobe v prvojadrách zygoty. Poznatky získané predovšetkým mikromanipulačnými štúdiami zistili, že NLB, ani materiál z neho, nie je pre meiotické zrenie oocytu nevyhnutný, avšak jeho absencia tesne po oplodnení oocytu, v čase formovania prvojadier, má za následok zlyhanie embryonálneho vývinu. Štruktúra podobná NLBs, ktorá sa objavuje v prvojadrách (PN) zygoty, sa označuje ako „nucleolus precursor body" (NPB). NPBs tvoria stavebne kamene pre diferencované a plne funkčné jadierka [4,5,6].

1 Medzidruhový nucleolotransfer

Prvé publikácie o mikrochirurgickom odstránení jadierka z oocytov bez ich poškodenia pochádzajú z roku 2003. Proces enukleolácie s následným prenosom jadierok bol základnou technikou, ktorá prispela k odhaleniu a pochopeniu skutočných funkcií jadierka pri dozrievaní oocytu a vývoji embrya [7].

Účinnosť enukleolácie bola spochybňovaná mnohými výskumníkmi na základe domnienok o prepojení chromatínu s NLB. Úspešný vývoj embryí a neporušený karyotyp enukleolovaných oocytov s opätovným injikovaním NLB preukázal, že počas enukleolácie nedochádza k poškodeniu DNA. V dôsledku nasávania NLB do časti cytoplazmy prechádza NLB jadrovou membránou. Zdá sa že jadrová membrána pri tomto procese funguje ako filter, takže všetok chromatín zostáva vo vnútri jadra [8].

Izolované NLB je možné prenášať medzi rôznymi štádiami oocytov, dokonca medzi rôznymi druhmi živočíchov. Na základe výskumov bolo zistené, že NLBs sa medzi druhmi kvalitatívne nelíšia čo dokazuje nahradenie prasacieho NLB myším NLB a naopak. Na druhej strane boli pozorované kvantitatívne rozdiely v množstve bielkovín. Avšak tento deficit je možné kompenzovať viacnásobnou injikáciou. Pravdepodobne existuje optimálne množstvo nukleolárnych proteínov, ktoré je druhovo špecifické. To znamená, že rôzne druhy majú prispôsobené toto množstvo tak, aby vyhovovalo špecifickým požiadavkám ich embryogenézy [6].

Mnohé funkcie jadierka u rôznych druhov cicavcov sú doteraz neznáme. Zároveň nie je jasné, či sa výsledky získané u myší, ktoré boli intenzívne študované, dajú preniesť aj na iné druhy. Podľa nedávnej štúdie by sa tento prístup mohol využiť na podrobnejšie analýzy procesov spojených s formovaním jadierok v jadrách embrya po medzidruhovom nukleolotransfere [9].

2 Materiál a metodika

Pre overenie našej hypotézy sme sa rozhodli pre kombináciu medzidruhového nukleolotransferu medzi prasacím a kravským oocytom a to najmä vzhľadom na výrazné rozdiely medzi fibrilárnymi sférami.

Všetky chemikálie boli zakúpené od Sigma-Aldrich, spol. s.r.o. (Slovensko), pokiaľ nie je uvedené inak.

2.1 Izolácia oocytov hovädzieho dobytka

Vaječníky boli získané chirurgickým odberom bezprostredne po porážke zvierat z lokálneho bitúnku. Počas prevozu boli vaječníky uložené v predhriatom fyziologickom roztoku v termoboxe, ktorý zabezpečil konštantnú teplotu približne 37°C. Aspiráciu vaječníkov sme vykonávali pomocou sterilnej ihly a injekčnej striekačky zo stredne veľkých antrálnych folikulov (2-5 mm). Vyhľadanie kumulus – oocytárnych komplexov (COCs) vo folikulárnej tekutine sme vykonávali pomocou stereolupy a ústnej pipety. Následne boli COCs prenášané do misky s manipulačným médiom M2, doplneným o Bovine serum albumin (BSA) určeným na premytie.

2.2 Hodnotenie kvality COCs a ich kultivácia

Pred samostatnou kultiváciou boli COCs podrobené morfologickému hodnoteniu kvality. Boli vybrané COCs, ktoré mali pravidelný okrúhly tvar, homogénnu a transparentnú ooplazmu, kumulárne bunky vytvárali tri a viac vrstiev a boli rovnomerne rozmiestnené okolo oocytu [10]. Opláchnuté COCs boli presunuté do maturačného média TCM 199 doplnenom o 5% Fetal calf serum (FCS), 1 µg/ml Follicle stimulating hormone (FSH), 12 IU/ml Luteinizing hormone (LH). Všetky média boli pred použitím sterilizované, prefiltrovaním cez 0,22 µm filter. Zrenie oocytov prebiehalo v *in vitro* podmienkach v inkubátore, za stálych a regulovaných podmienok, 38,5 °C a 5 % CO_2. Dĺžka zrenia hovädzích oocytov bola 22 hodín.

2.3 Izolácia prasacích oocytov

V rovnaký deň bol realizovaný aj odber vaječníkov prasníc. Po odbere nasledoval urýchlený prevoz a následná izolácia rovnako ako v prípade kravských vaječníkov. Získaná folikulárna tekutina bola sedimentovaná 15 minút v inkubátore, pri teplote 38,5 °C. Sediment sme zriedili s manipulačným médiom mPBS, ktoré pozostávalo z 1xPBS, ktoré sme doplnili o 0,4 % BSA , 0,34 mM D-(+)- glucose a 5,5 mM sodium pyruvate. Prasacie oocyty boli po izolácii opláchnuté v maturačnom médiu M199, ktoré bolo doplnené o 10 IU/ml hCG, 10 IU/ml PMSG, 10 ng/ml human EGF, 20

ng/ml human IGF-1, 40 ng/ml human basic FGF, 20 ng/ml Leukemia Inhibitory Factor Human, 0,57 mM L-cysteine, 1 mg/ml BSA, 0,1 mg/ml L-glutamine, 50 µg/ml Gentamicin sulfate salt a 22 µg/ml Sodium pyruvat [11]. Do ďalšieho spracovania boli oocyty kultivované v maturačnom médiu za stálych a regulovaných podmienok, 38,5 °C a 5 % CO_2.

2.4 Príprava mikromanipulácií

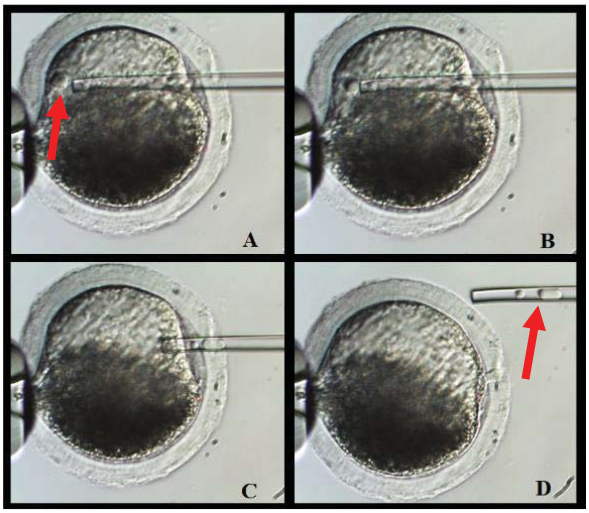
Vzhľadom na medzidruhové rozdiely v procese *in vitro* produkcie embryí bola dôležitá časová optimalizácia jednotlivých experimentov. Počas prvého dňa boli prasacie oocyty po izolácii zbavené vrstvy kumulárnych buniek pomocou sklenej kapiláry v roztoku 1xPBS doplnenom o 0,3 % Hyaluronidase from bovine testes. Následnou centrifugáciou (10 minút, 38 °C, 9000 RFC) sme odstredili tukové inklúzie, čím sme odhalili vnútorné štruktúry pred realizáciou mikromanipulácií.

Na mikromanipulovanie sme využívali celkovo 3 druhy kapilár. Na prípravu mikromanipulačných kapilár sme použili kapiláry z borosilikátového skla. Holdingová mala vonkajší priemer približne 100 µm a vnútorný priemer približne 30 µm. Enukleolačná kapilára mala vnútorný priemer približne 10 µm, u re-injekčnej to bolo 4 – 5 µm. Uhol zahnutia kapilár bol 30 stupňov.

Ako oplachovacie médium pre kapiláry a súčasne aj ako médium pre uskladnenie pripravených prasacích NLBs, sme použili M2 médium, ktoré sme doplnili o 12 % Polyvinylpyrrolidone. Pre enukleoláciu prasacích oocytov bolo použité M2 médium, ktoré sme doplnili o 5 µg/ml Cytochalasin B a 0,1 % PVA. Pre re-injekciu pripravených prasacích NLBs, bolo použité médium M2, doplnené o 0,1 % PVA. Do mikromanipulačných misiek sme pridávali aj kvapku 2M HCl, ktorá slúžila na čistenie kapilár. Na zaliatie mikromanipulačných misiek sme použili minerálny olej. Pred manipuláciou boli oocyty vždy prepláchnuté v kvapkách mikromanipulačného média, do ktorého práve smerovali.

2.5 Enukleolácia NLB

Oocyty po opláchnutí v enukleolačom médiu sme preniesli do kvapky média pod olejom. Na uchytenie oocytu sme použili holding kapiláru. Oocyt bol vycentrovaný tak, aby bolo GV viditeľné, dalo sa k nemu priamo dostať s enukleolačnou kapilárou a aby sa nachádzalo približne v strednej zaostrovanej hladine oocytu. Na prechod cez *zonu pellucidu* pomocou enukleolačnej kapiláry sme použili piezo-elektrický impulz. Postupne sme kapilárou vchádzali do oocytu až do toho bodu, kým sme sa jemne dotkli GV bez porušenia cytoplazmatickej membrány. Po kontakte s GV sme začali veľmi jemne nasávať cytoplazmatickú membránu s cytoplazmou a následne aj s jadrovou membránou do enukleolačnej kapiláry. NLB penetrovalo cez jadrovú membránu do cytoplazmy v kapiláre. V momente keď prestúpilo do cytoplazmy v kapiláre celé NLB prestali sme nasávať, jemným pohybom sme kapiláru vytiahli von z oocytu, pričom došlo k zaškrteniu a oddeleniu cytoplazmy s NLB v kapiláre, od zvyšku oocytu. NLBs obalené do malého množstva cytoplazmy sú týmto spôsobom chránené pred rozpustením v médiu. Po dokončení enukleolácie skupiny oocytov sme z NLB odstránili nukleoplast a preniesli do kvapky 12% PVP, kde boli uskladnené do 2. dňa pri 4 °C. Priebeh enukleolácie zobrazuje nasledovná schéma (Obr. 1).



Obr.1 Priebeh enukleolácie prasacieho oocytu v štádiu GV. Šípka – NLB
Zdroj: Autor

2.6 Medzidruhová re-injekcia NLB

Bezprostredne po ukončení kultivácie kravských oocytov bola odstránená vrstva kumulárnych buniek. Re-injekcia NLBs z prasacích oocytov prebiehala na druhý deň, po tom ako dozreli kravské oocyty do štádia metafázy II (MII) v *in vitro* podmienkach. Oocyty boli re-injikované v skupinkách 5 oocytov, pričom proces trval maximálne 30 minút. Oocyty sme po re-injekcii preniesli do kultivačného média SOF Synthetic Oviduct Fluid doplneného o BSA, Essential amino acids a Nonessential amino acids kde boli opäť inkubované za stálych a regulovaných podmienok, 38,5 °C a 5 % CO_2.

2.7 Partenogenetická aktivácia a kultivácia kravských embryí

Oocyty sme premyli v roztoku 1xPBS, doplnenom o 0,4 % BSA. Do kultivačnej platničky sme si pripravili roztok 1xPBS, doplnený o 0,4 % BSA a 5 µM Ionomycinu. Pôsobenie Ionomycinu trvalo 4 minúty. Po aktivácii prebehol oplach aktivovaných oocytov, v kultivačnom médiu SOF Synthetic Oviduct Fluid, ktoré sme doplnili o 2mM 6-DMAP. V ňom aj následne oocyty zostali počas najbližších 4 hodín. Aktivované oocyty sme preniesli do kultivačnej platničky s kultivačným médiom SOF Synthetic Oviduct Fluid doplneným o BSA, Essential amino acids a Nonessential amino acids. Nasledovala kultivácia do potrebného štádia delenia buniek pri podmienkach 38,5 ^{o}C a 5 % CO_2. Pre porovnanie boli rovnakým spôsobom pripravené embryá kontrolnej skupiny bez re-injekcie prasacích NLBs.

2.8 Antigen-retrieval

Embryá sme fixovali na špeciálne upravených sklách SuperFrost Plus (ThermoFisher). Pred fixáciou sme na odstránenie *zony pellucidy* z embryí použili Tyrodov roztok. Na podložné sklá sme nakreslili krúžok pomocou hydrofóbnej fixky. Po zaschnutí sme takéto sklíčko ponorili do fixačného roztoku, zloženého z 1 % Paraformaldehyde, 0,15 % Triton a 3 mM DTT v redestilovanej H_2O. Následne sme do krúžku naniesli 5 embryí a takéto vzorky sme uložili do vlhkej komôrky, v ktorej sme ich ponechali 2 hodiny. Zafixované vzorky sme podrobili antigen-retrievalu v roztoku 10 mM Trisodium citrate dihydrate a 0,05 % TWEEN 20 v redestilovanej H_2O. Antigen retrieval prebiehal pri teplote 95 °C po dobu 10 minút. Po 10 minútach sme sklíčka z roztoku vybrali a nechali preschnúť. Napipetovaním 1xPBS do krúžkov sme vzorky opláchli a následne sme do krúžkov pridali blokačné médium zložené z 3 % roztoku BSA v 1xPBS. Blokácia prebiehala po dobu jednej hodiny. Následne sme blokačný roztok odstránili, vzorky nechali preschnúť a ďalej sme pokračovali podľa protokolov farbenia príslušnými protilátkami [12].

2.9 Imunofluorescenčné značenie B23+C23

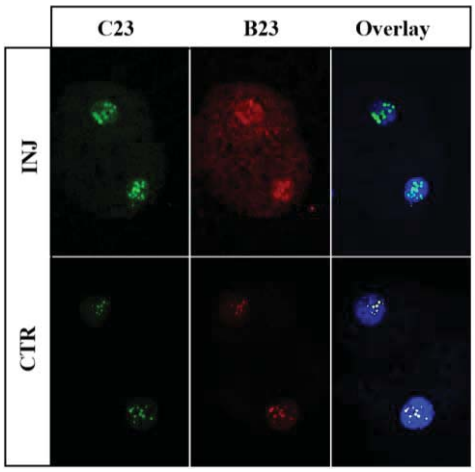
Na imunofluorescenčné značenie boli zvolené primárne protilátky anti-B23 (Nucleophosmin/NpM) Mouse monoclonal antibody, IgG1 isotype, CLONE FC82291 a anti-C23 (Nucleolin); Rabbit polyclonal antibody (Abcam). Mix primárnych protilátok so vzorkami obsahoval 1% BSA v 1xPBS s príslušnými protilátkami v koncentrácii 1:600. Pôsobenie primárnej protilátky prebiehalo počas celej noci, pri teplote 4 °C. Na druhý deň boli vzorky opláchnuté pridaním 1 % BSA v 1xPBS. Po opláchnutí primárnej protilátky boli pre značenie použité sekundárne protilátky Alexa Fluor (594- conjugated AffiniPure Donkey) , Anti-Mouse IgG (H+L) (Jackson ImmunoResearch) a Anti-Goat Serum antibody produced in rabbit (FITC), Anti-Rabbit (Jackson ImmunoResearch). Tie boli k vzorkám pridané v roztoku 1 % BSA v 1xPBS v pomere 1:1000 a doba pôsobenia bola stanovená na jednu hodinu. Od tohto okamihu prebiehala všetka manipulácia so vzorkami v tme a pri izbovej teplote. Po hodine sme vykonali trojkrokový oplach v 1 % roztoku BSA v 1xPBS. Finálne vzorky sme zamontovali pomocou montovacieho média ProLong Gold Antifade Mountant with DAPI (ThermoFisher) [13].

2.10 Štatistické vyhodnotenie

Údaje boli analyzované použitím štatistického programu GraphPad Prism 8.0.1 (GraphPad Software Inc., San Diego, CA, USA). Test normality rozloženia a distribúcie dát bol robený pomocou Shapiro-Wilkovho a Kolmogorov-Smirnovho testovania. Následná štatistická analýza bola vykonaná pomocou dvojvýberového t-testu. P-hodnoty $<0,05$ sa považovali za štatisticky významné a označené sú v grafoch prislúchajúcim počtom hviezdičiek (*), (**), (***) a (****). Hodnoty boli vyjadrené ako priemer ± štandardná chyba.

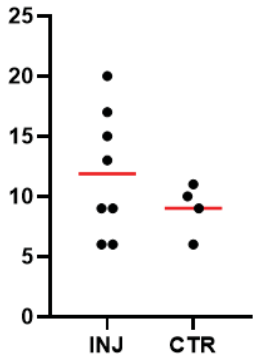
3 Výsledky a diskusia

Úspešné formovanie NPBs v ranom embryonálnom štádiu hovädzieho dobytka po nukleolotransfere NLB z prasacích oocytov bolo preukázané pomocou imunofluorescenčného značenia. Získané embryá boli analyzované v porovnaní s kontrolnými vzorkami a boli sledované kľúčové aspekty spojené s fibrilárnou sférou. V počiatočných fázach nášho výskumu sme sa zamerali na lokalizáciu najcharakteristickejších jadierkových proteínov: B23 (Nucleophosmin, Npm1), C23 (Nucleolin). Nucleolin a Nucleophosmin boli detegované vo včasných 2-bunkových embryách hovädzieho dobytka. Výslednú vzorku tvorili dve skupiny a to kontrolné embryá hovädzieho dobytka a embryá po re-injekcii prasacieho NLB. Na základe značenia (Obr.2) sme následne vykonali merania na porovnanie počtu a veľkosti vytvorených NPBs u sledovaných dvoch skupín.



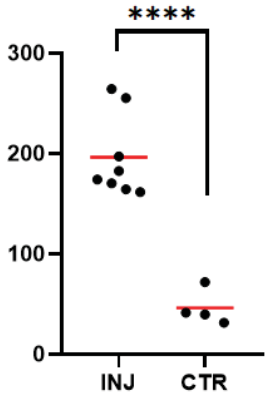
Obr. 2 Lokalizácia nukleolárnych proteínov (B23, C23) v kontrolných embryách (CTR, 2-bunkové štádium) a embryách s medzidruhovým prenosom 1 prasacieho NLB (INJ, 2-bunkové štádium).
Zdroj: Autor

V prípade kravského oocytu je známe, že má NLB v GV príliš malé na to aby sa dalo vizualizovať pod svetelným mikroskopom [9,14]. Aj napriek zmnoženiu materiálu po re-injekcii prasacieho NLB bol počet NPBs v jadrách blastomér porovnateľný u oboch skupín. Možno povedať, že naše výsledky korelujú s predchádzajúcimi štúdiami, ktoré potvrdili podstatný vplyv ooplazmy na tvorbu NPBs v jadre po medzidruhovom nukleotransfere [15]. Na základe výsledkov sme dospeli k záveru, že formovanie počtu NPBs v skorých štádiách embryogenézy je ovplyvnené pôvodom embrya, nie fibrilárnej sféry. Údaje uvedené v Grafe 1 ukazujú počty NPBs v jednotlivých jadrách blastomér.



Graf 1 Počet NPBs v jadrách blastomér
INJ – skupina po medzidruhovom prenose NLB
CTR – kontrolná skupina
Zdroj: Autor

Na základe porovnania veľkosti plochy NPBs v jednotlivých jadrách embryí u injikovanej skupiny a kontrolnej skupiny sme dospeli k signifikantnému rozdielu. Analýza NPBs potvrdila, že tvar a veľkosť NPBs je podobná formovaniu NPBs v prasacích embryách. Výrazný rozdiel vo veľkosti je možné pozorovať aj z imunofluorescenčného značenia (Obr.2). Aj napriek zachovaniu počtu NPBs po nukleolotransfere, tvar a veľkosť pripomína formovanie NPBs v prasacom embryu. Na základe výsledkov predpokladáme, že tento znak je ovplyvnený pôvodom fibrilárnej sféry, nie embrya.



Graf 2 Plocha NPBs v jadrách blastomér (µm)
INJ – skupina po medzidruhovom prenose NLB
CTR – kontrolná skupina
(*) – signifikantný rozdiel
Zdroj: Autor

Výrazný rozdiel v priebehu nukleologenézy tvorí predpoklad možného vzniku odchýlok. Znaky pozorované na vytvorených NPBs v kravských embryách po medzidruhovom nukleolotransfere, ktoré nápadne pripomínajú prasacie NPBs, nás smerujú k myšlienke, že pôvod fibrilárnej formy jadierka môže mať významný dopad na množstvo procesov vo vyvíjajúcom sa embryu. Napríklad transformácia z fibrilárnej sféry na diferencovanú, transkripčne aktívnu formu jadierka u ošípaných nastáva v 4 - bunkovom štádiu [16] a u hovädzieho dobytka je tento proces zaznamenaný až pri prechode z 8. do 16. bunkového štádia [17]. Okrem toho tieto dva druhy vykazujú každý svoj charakteristický priebeh nukleologenézy. Pri hovädzej embryonálnej nukleologenéze dochádza k vakuolizácii NPBs s následnou tvorbou FC, DFC a GC vo vonkajšej oblasti NPB, zatiaľ čo pri prasacej nukleologenéze sa tieto zložky tvoria na povrchu NPB [15]. Existuje podozrenie,

že načasovanie aktivácie genómu je závislé na druhovo špecifickom pôvode fibrilárnej sféry. Na základe nukleolotransferu medzi prasacím a myším modelom bol preukázaný rozdiel v množstve proteínového materiálu, rovnako bolo naznačené, že pôvod NLB/NPB môže korelovať s časom aktivácie genómu, ktorý je druhovo špecifický [6]. Podrobné skúmanie týchto otázok je predmetom nášho ďalšieho výskumu.

Záver

Dlhý čas sa NLB/NPB považovali len sa rezervoár materiálu. Najnovšie štúdie túto teóriu o úložisku vyvrátili a boli zistené nové úlohy NLB/NPB. To vedie k predpokladu, že NPB zohráva oveľa dôležitejšiu úlohu v ranom embryonálnom vývoji ako sa doteraz predpokladalo. Je pravdepodobné, že pridanie ďalšieho NLB/NPB, najmä z plne vyvinutého oocytu, by mohlo mať pozitívny vplyv na vývoj embrya. So zlepšovaním poznatkov o NLB/NPB sa môže nielen jadrový prenos, ale aj suborganelový nukleolotransfer stať jednou z mnohých podporných techník, ktoré sa využívajú na zlepšenie skorého embryonálneho vývoja.

Poďakovanie

Touto cestou by som sa chcela úprimne poďakovať môjmu školiteľovi, doktorovi Michalovi Bencovi, za odborný dohľad a metodické usmernenie v rámci mikromanipulačných techník, a hlavne za jeho užitočné a cenné rady, trpezlivosť a čas, ktorý mi venoval.

Práca nadväzovala na nasledovné grantové projekty:

VEGA-1/0167/20 - Vnútrojadrové molekulárne markery rastúcich a plne narastených oocytov – transkriptomická a proteomická štúdia.

Danish Council for Independent Research/Natural Sciences (FNU) 8021-00048B

Použitá literatúra

[1] POTAPOVA, T.A., GERTON, J.L. (2019). Ribosomal DNA and the nucleolus in the context of genome organization. In Chromosome Research. Springer Nerherlands, pp. 109–127

[2] BENC, M. et al. (2021). Improving the quality of oocytes with the help of nucleolotransfer therapy. In Pharmaceuticals. Vol. 14

[3] TESAŘÍK, J. et al. (1986) Nucleologenesis in the human embryo developing in vitro: Ultrastructural and autoradiographic analysis. In Developmental Biology. Vol. 115, no. 1, pp. 193–203

[4] BENC, M. et al. (2017). Nucleologenesis and nucleolotransfer in mammalian oocytes: A review. In Macedonian Veterinary Review. Vol. 40, no. 2, pp. 117–124

[5] FLÉCHON, J.E., KOPEČNÝ, V. (1998). The nature of the 'nucleolus precursor body' in early preimplantation embryos: a review of fine-structure cytochemical, immunocytochemical and autoradiographic data related to nucleolar function. In Zygote. Vol. 6, no. 2, pp. 183–191

[6] BENC, M. et al. (2020). Assessing the effect of interspecies oocyte nucleolar material dosage on embryonic development. In *Theriogenology*. Vol. 155, pp. 17–24

[7] FULKA, J. et al. (2003). Enucleolation of porcine oocytes. In Theriogenology. Vol. 59, no. 8, pp. 1879–1885

[8] KYOGOKU, H. et al. (2014). Nucleolus precursor body (NPB): A distinct structure in mammalian oocytes and zygotes. In Nucleus. Vol. 5, no. 6, pp. 493–498

[9] FULKA, H. et al. (2022). Nucleus reprogramming/remodeling through selective enucleation (SE) of immature oocytes and zygotes: a nucleolus point of view. In Journal of Reproduction and Development. Vol. 68, pp. 165–172

[10] RAGHU, H.M. et al. (2002) Follicle size and oocyte diameter in relation to developmental competence of buffalo oocytes in vitro. In Reproduction, fertility, and development. Vol. 14, no. 1–2, pp. 55–61

[11] LUCAS-HAHN, A. et al. (2017). 122 A New Maturation Medium Improves Porcine Embryo Production In Vitro. In Reproduction Fertility and Development, Vol. 30, no. 1, pp. 200–201

[12] FULKA, H., LANGEROVA, A. (2014). The maternal nucleolus plays a key role in centromere satellite maintenance during the oocyte to embryo transition. In Development (Cambridge, England). Vol. 141, no. 8, pp. 1694–1704

[13] SHISHOVA, K. V. et al. (2015). Nucleolus-like bodies of fully-grown mouse oocytes contain key nucleolar proteins but are impoverished for rRNA. In Developmental Biology. Vol. 397, no. 2, pp. 267–281

[14] HYTTEL, P. (2011). Electron Microscopy of Mammalian Oocyte Development, Maturation and Fertilization. In Oocyte Maturation and Fertilization: A Long History for a Short Event. pp. 1–37

[15] HAMILTON, H.M. et al. (2004). Ovine ooplasm directs initial nucleolar assembly in embryos cloned from ovine, bovine, and porcine cells. In Molecular

Reproduction and Development. Vol. 69, no. 2, pp. 117–125
[16] HYTTEL, P. et al. (2000). Nucleolar proteins and ultrastructure in preimplantation porcine embryos developed in vivo. In Biology of reproduction. Vol. 63, no. 6, pp. 1848–1856
[17] BETTERIDGE, K.J., FLÉCHON, J.E. (1988). The anatomy and physiology of pre-attachment bovine embryos. In Theriogenology. Vol. 29, no. 1, pp. 155–187

Výskum diverzity vyšších rastlín vo vysokohorskej krajine ako platforma na monitorovanie dôsledkov klimatickej zmeny

Research on the diversity of higher plants in the alpine landscape as a platform for monitoring the consequences of climate change

Terézia Slobodová[1]
Školiteľka: Veronika Piscová[2]
[1]Katedra ekológie a environmentalistiky, FPVaI UKF, Tr. A. Hlinku 1, 949 01 Nitra,
[2]Ústav krajinnej ekológie SAV, pobočka v Nitre
[1] terezia.slobodova@ukf.sk, [2] veronika.piscova@savba.sk

Abstrakt

Človekom urýchlená klimatická zmena spôsobuje v diverzite nezvratné zmeny. Pre vysokohorské ekosystémy ide o plošnú zmenu [1]. Vplyvom otepľovania rastlinné druhy vertikálne migrujú smerom nahor [1, 2, 3, 4]. Tieto druhy sa šíria pomerne rýchlo, no za krátke časové obdobia sa nestíhajú adaptovať a vymierajú, [3] no ešte predtým svojimi nárokmi na teplejšiu klímu môžu vytláčať druhy pôvodné, ktoré takisto majú tendenciu migrovať do vyšších nadmorských výšok, avšak im na to chýba priestor [4]. Cieľom práce bolo založiť pilotnú trvalú monitorovaciu plochu, slúžiacu na sledovanie vertikálnej migrácie druhov a diverzity druhov, na štíte Belianska kopa (1 835 m n. m.). Experimentálne bloky sme umiestnili vo vzdialenosti 10 a 20 výškových metrov od vrcholu. V iniciálnom štádiu výskumu konštatujeme, že druhové zloženie v daných blokoch je veľmi podobné, no oproti roku 1880 do roku 2013 sa z Belianskej kopy vytratilo 42 druhov, zostalo 45 druhov a pribudlo 50 nových druhov.

Kľúčové slová: vysokohorská krajina, alpínska vegetácia, klimatická zmena, biodiverzita

Abstract

Man-made climate change is causing irreversible change in diversity. For alpine ecosystems, this is an area change [1]. Warmer climatic conditions affected an upward (vertical) migration of alpine plants [1, 2, 3, 4]. These species spread relatively quickly, but in a short period of time they do not manage to adapt and become extinct [3]. In addition, they cause the displacement of native species due to their warmer climate requirements [4]. The aim of this study was to establish a pilot permanent monitoring area, used to monitor the vertical migration of species and species diversity changes, on the peak of the Belianska Kopa (1,835 m a.s.l.). We placed the experimental blocks at a distance of 10 and 20 altitude meters from the summit. In the initial stage of the research, we can state that the species composition in the examined blocks is very similar, but in comparison with the years 1880 to 2013, 42 species became distinct from Belianska kopa, 45 species remained and 50 new species increased. The contribution of the work is experimental research on the diversity change in the current climate change, which is intense in the world.

Key words: high mountain landscape, alpine vegetation, climate change, biodiversity

Úvod

Biodiverzity na našej planéte čoraz viac ubúda, pričom tempo tohto úbytku sa výrazne zrýchlilo najmä od polovice 20. storočia.

Približne 27 % povrchu Zeme (40 miliónov km^2) pokrývajú pohoria [5], ktoré disponujú najmenej jednou tretinou druhov celej druhovej diverzity suchozemských rastlín [6] a zároveň zásobujú vodou polovicu ľudskej populácie [7, 8]. Vysokohorskú krajinu môžeme nájsť vo všetkých zemepisných šírkach [9, 10]. Alpínska vegetácia skrýva veľkú druhovú diverzitu na celom svete, zahŕňa 8 000 – 10 000 druhov vyšších rastlín [11].

Pod vysokohorskou krajinou Slovenska rozumieme pohoria s vyvinutou hornou hranicou lesa a vyššie položenými vegetačnými stupňami: subalpínskym, alpínskym a subniválnym [12]. Alpínsky stupeň nadväzuje na subalpínsky stupeň a siaha do výšky asi 2 300 m n. m. Tvoria ho pôvodné, primárne alpínske lúky, ktoré sa rozprestierajú nad pásmom kosodreviny, takzvané hole.

K hlavným procesom postupujúcej straty biodiverzity vysokohorskej krajiny patrí likvidácia, fragmentácia a degradácia ekosystémov, narušenie biogeochemických cyklov, znečisťovanie životného prostredia, prekračovanie prahov ekologickej

únosnosti pri využívaní prírodných zdrojov, šírenie inváznych druhov a klimatická zmena [13, 14].

Hory sú obzvlášť citlivé na ekologické zmeny a zažívajú jedny z najvyšších mier otepľovania v rámci antropogénnych klimatických zmien [15, 16]. Početné štúdie o prerozdelení druhov smerom k vrcholom [3, 17, 18, 19] a otepľovaním vyvolaných zmien v biodiverzite na vrcholoch [3, 20, 21] naznačujú, že horská biota je vysoko citlivá na zvyšujúce sa teploty [22]. Súčasný zrýchľujúci sa trend zvyšovania teploty [23, 24], by preto mal ovplyvniť aj rýchlosť zmien pozorovaných pre horskú biotu. Horské vrcholy v chránených územiach sú vhodné najmä na dlhodobé štúdie biotických reakcií na zmeny životného prostredia, pretože predstavujú prirodzené trvalé študijné miesta [25, 26], čím umožňujú zaznamenávať spoľahlivé časové rady.

Iniciatíva a nápad sledovať resp. zachytiť zmeny vysokohorskej vegetácie pod vplyvom človekom zrýchlenej zmeny klímy pochádza však už z Rakúska, kde sa začiatkom 90. rokov 20. storočia tím okolo profesora Georga Grabherra začal tejto problematike venovať a postupne vypracoval príslušné metodické postupy na jej sledovanie. V roku 1994 bolo v Stubaiských Alpách v oblasti vrchu Schrankogel v nadmorských výškach 3 200 – 3 495 m, založených 900 monitorovacích plôch s veľkosťou 1 x 1 m a súčasne sa na nich uskutočnil iniciálny výskum prezencie a pokryvnosti cievnatých rastlín. Tento výskum sa zopakoval v roku 2004 [39]. Sieť sa v nasledujúcich rokoch rozširovala o ďalšie regióny a výskumné plochy: 62 regiónov so založenými výskumnými plochami a uskutočneným iniciálnym výskumom a 30 regiónov, ktoré prejavili záujem o výskum podľa metodiky GLORIA, čiže sumárne 130 aktívnych a 30 potenciálnych regiónov, rozmiestnených na všetkých kontinentoch v deviatich zónobiómoch. Výsledky boli publikované doposiaľ v takmer 160 článkoch v karentovaných vedeckých časopisoch vrátane tých najprestížnejších, ako sú Science [3], Journal of Ecology [2] a Journal of Biogeography [4]. Obsahom uvedených článkov bola analýza a porovnanie zmien v druhovom zložení cievnatých rastlín na vrcholoch všetkých regiónov siete, ale najmä potvrdenie hypotézy o migrácii druhov vyšších rastlín pozdĺž vertikálneho gradientu do vyšších nadmorských výšok. Práca a výsledky tejto iniciatívy boli podrobne zhrnuté aj v článkoch Kanka et al., 2005; Kanka et al., 2011; Kollár et al., 2016.

Rastliny citlivo reagujú na nárast antropogénnych vplyvov na celý systém Zeme. V rokoch 1957 – 1966 sa počet druhov na horských vrcholoch v priemere zvýšil o 1,1. Odvtedy sa tento trend zrýchlil, takže od roku 2006 resp. 2007 sa za dekádu priemerne až 5,4 nových druhov presunulo na najvyššie položené miesta horských vrcholov [1]. Čo sa týka druhovej diverzity, ireverzibilným javom je skutočnosť, že druhy, ktoré sa prispôsobili chladným a skalným podmienkam na horských vrcholoch, sa pravdepodobne z dlhodobého hľadiska stratia, keďže sa nemôžu vyvinúť dostatočne rýchlo, aby mohli konkurovať príchodu nových druhov.

Cieľom práce je založenie pilotnej trvalej monitorovacej plochy, určenej k sledovaniu vertikálnej migrácie druhov. Trvalá monitorovacia plocha je založená s úmyslom overiť hypotézu globálnej vertikálnej migrácie druhov do vyšších nadmorských výšok a následnej straty biodiverzity.

Ak aj rastlinné druhy na horských vrcholoch nie sú akútne ohrozené, silné zrýchlenie vplyvu globálneho otepľovania na rastlinné spoločenstvá na vrcholoch vyvoláva obavy, pretože v blízkej budúcnosti očakávame ešte výraznejšie zmeny klímy.

1 Metodika práce

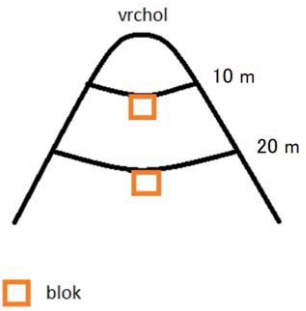
1.1 Floristické zmeny na vrchole Belianskej kopy v rokoch 1880 – 2013

S využitím floristických zápisov z prác [40, 1] hodnotíme zmeny v druhovom zložení vysokohorskej vegetácie 10 a 20 výškových metrov od vrcholu, ku ktorým došlo.

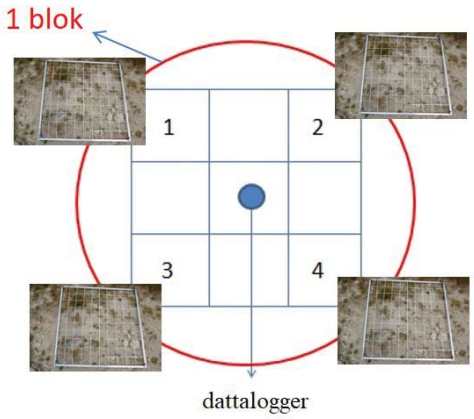
1.2 Založenie trvalej monitorovacej plochy na sledovanie vertikálnej migrácie druhov v r. 2021

Pri zakladaní trvalých monitorovacích plôch určených na sledovanie vertikálnej migrácie rastlinných druhov vplyvom otepľovania vychádzame z metodiky celosvetovej siete GLORIA. Bloky sú však umiestnené 10 a 20 výškových metrov od vrcholu štítu (Obr. 1). Každý blok má veľkosť 3 m x 3 m, pričom rožné štvorce veľkosti 1 m x 1 m slúžia na sledovanie druhového zloženia vegetácie pomocou botanickej mriežky a stredný štvorec 1 m x 1 m k umiestneniu dataloggera pre snímanie teploty v hĺbkach 10 a 20 cm pod povrchom (Obr. 2).

Pilotnú trvalú monitorovaciu plochu sme založili na severnom svahu Belianskej kopy (1 835 m n. m.). Horná línia horného bloku je situovaná v nadmorskej výške 1 824,66 m n. m. (Obr. 3). Horná línia druhého (dolného) bloku je situovaná v nadmorskej výške 1 814,8 m n. m. (Obr. 4).



Obr. 1 Lokácia výskumných blokov; Zdroj: Autor



Obr. 2 Schéma výskumného bloku; Zdroj: Autor

Obr. 3 Horná trvalo monitorovacia plocha (2021); Zdroj: Autor

Obr. 4 Dolná trvalo monitorovacia plocha (2021); Zdroj: Autor

Každý očíslovaný štvorec veľkosti 1 m x 1 m (Obr. 5) je rozdelený na 100 buniek veľkosti 10 cm x 10 cm, v ktorých sme zaznamenávali: pokryvnosť (%) všetkých typov povrchu (vegetácia, kamene, rastlinný opad) a pokryvnosť (%) jednotlivých druhov E0 a E1 etáží. Pre vyhodnotenie výsledkov sme použili štatistické spracovanie.

Obr. 5 Botanická mriežka 1 m x 1 m, 100 buniek veľkosti 10 cm x 10 cm; Zdroj: Autor

Biotopom skúmaného územia sú alpínske a subalpínske vápnomilné travinno-bylinné porasty (kód 6170), spoločenstvo ostrice pevnej (*Carex firma).* Pre biotop je charakteristický vyssoký počet druhov a zastúpenie vankúšovitých, trsovitých a poliehavých kríčkovitých foriem vegetácie. Zaberajú strmé alebo mierne svahy so severnou orientáciou a silným vetrom. V zime je bežná absencia snehovej pokrývky. Pôdy sú plytké skeletnaté, vápencové [41].

V roku 1880 bolo na Belianskej kope (1 835 m n. m.) určených 87 druhov [40], v roku 2013 to bolo už 95 druhov [1]. Spoločných druhov, ktoré boli zapísané v roku 1880 aj v roku 2013, bolo 45, napr. prilbica tuhá (*Aconitum firmum*), psinček skalný (*Agrostis rupestris*), metlička krivoľaká (*Avenella flexuosa*) a ďalšie. Druhov, ktoré boli zaznamenané len v roku 1880 bolo 42, napr. plevnatec položený (*Danthonia decumbens*), klinček ľadovcový (*Dianthus glacialis*) a ďalšie. Druhov, ktoré boli zaznamenané len v roku 2013 bolo 50, napr. hadovník väčší (*Bistorta major*), vres obyčajný (*Calluna vulgaris*) a ďalšie.

1.3 Štatistické spracovanie

Pre vyhodnotenie zmien v druhovom zložení Belianskej kopy (1 835 m n. m.) medzi rokmi 1880 a 2013, sme vyhodnotili Ellenbergove indikátory, ktoré mohli ovplyvniť druhové zloženie vegetácie. Pre štatistické spracovanie sme použili T-test s rovnakou variabilitou, ktorému predchádzal F-test.

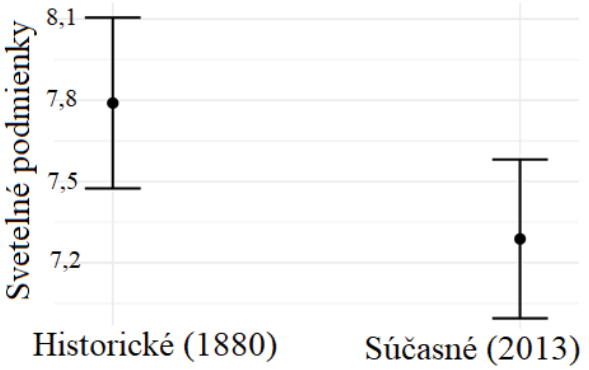
Na blokoch trvalej monitorovacej plochy sme hodnotili druhovú bohatosť medzi dolným a horným blokom. Pre štatistické spracovanie sme použili Welchov t-test. Pre štatistické spracovanie životných foriem druhov v blokoch sme použili Chi-squared test so simulovanými p-hodnotami.

2 Výsledky a diskusia

Vertikálny pohyb druhov v krajine je aktuálnou, vedecky dokázanou realitou, ktorá v sebe spája zmenu diverzity druhov vyšších rastlín a klimatické zmeny. Preštudovali sme mnohé štúdie o prerozdelení druhov smerom k vrcholom [3, 17, 18, 19] a otepľovaním vyvolaných zmien v biodiverzite na vrcholoch [3, 20, 21, 22, 23, 24]. Viaceré štúdie uvádzajú, že takýto výskum je najvhodnejšie realizovať na vysokohorských štítoch v chránených oblastiach, kde nedochádza ku priamym zásahom človeka [25, 26], čím je umožnené zaznamenávať spoľahlivé časové rady. Do výskumu vplyvu klímy na vysokohorské rastlinstvo sa zapojilo i Slovensko [1, 27, 28, 29]. V rámci výskumných cezhraničných projektov boli použité metodiky, z ktorých vychádzame i my. Pilotnú trvalú monitorovaciu plochu sme inštalovali v Tatranskom národnom parku, na Belianskej kope (1 835 m n. m.), ležiacej na hranici Belianskych a Vysokých Tatier. Výber územia ovplyvnilo viacero podnetov. Z tohto územia je zaznamenané floristické zloženie z roku 1880, biodiverzitou a vplyvom človeka na vegetáciu územia sa zaoberalo viacero prác [30, 31, 32, 33, 34, 35, 36, 37].

Pre vyhodnotenie floristických zmien na vrchole Belianskej kopy sme preto porovnávali historické zápisy z roku 1880 [40] so zápismi z roku 2013 [1], nakoľko Belianska kopa bola jedným z 302 skúmaných štítov v rámci tejto štúdie. Keď sa pozrieme smerom do minulosti, v roku 1880 bolo na Belianskej kope (1 835 m n. m.) určených 87 druhov [40], v roku 2013 to bolo už 95 druhov [1]. Spoločných druhov, ktoré boli zapísané v roku 1880 aj v roku 2013, bolo 45 (Tab. 1; príloha). Patria medzi ne napr. prilbica tuhá (*Aconitum firmum*), psinček skalný (*Agrostis rupestris*), metlička krivoľaká (*Avenella flexuosa*) a ďalšie. Druhov, ktoré boli zaznamenané len v roku 1880 bolo 42, napr. plevnatec položený (*Danthonia decumbens*), klinček ľadovcový (*Dianthus glacialis*) a ďalšie. Druhov, ktoré boli zaznamenané len v roku 2013 bolo 50, napr. hadovník väčší (*Bistorta major*), vres obyčajný (*Calluna vulgaris*) a ďalšie.

Zistili sme, že dôležitú úlohu pri migrácii druhov zohrávajú meniace sa svetelné podmienky (Obr. 6). Pre štatistické spracovanie sme použili T-test s rovnakou variabilitou, ktorému predchádzal F-test. Hodnoty zo spracovania sú nasledovné: F-test: $p > 0.05$, F=0.66058, p=0.1138; T-test: $p < 0.05$, df=121, T=2.3066, p=0.02278; priemer v skupine historické=7.79; priemer v skupine súčasné=7.29.



Obr. 6 Porovnanie svetelných podmienok na Belianskej kope medzi rokmi 1880 – 2013; Zdroj: Autor

Pri zakladaní pilotnej trvalej monitorovacej plochy sme vychádzali z metodiky celosvetovej siete GLORIA. Spodné hrany skúmaných blokov umiestňuje celosvetová sieť GLORIA 5 výškových metrov od vrcholu, na 4 svetových stranách od vrcholu. Výskum vegetácie prebieha v určitom časovom odstupe [3, 4]. V snahe získať detailnejšie informácie o migrácii druhov, bloky sme umiestnili 10 a 20 výškových metrov od vrcholu. Tieto bloky budú každoročne monitorované. V predkladanej publikácii uvádzame druhové zloženie blokov v roku 2021. Vyhodnotenie druhového zloženia medzi dolným a horným blokom uvádzame v Tab. 2 (druhy zaznamenané v oboch blokoch sú vyznačené podčiarknutím). Zo štatistického spracovania nevyšli žiadne signifikantné rozdiely, čo znamená, že druhové zloženie blokov je takmer totožné.

Tab. 2 Zoznam druhov horného a dolného bloku; Zdroj: Autor

Horný blok	
E_1	*Androsace chamaejasme, Arenaria tenella, Biscutella laevigata, Bistorta vivipara, Campanula cochleariifolia, Campanula tatrae, Carex firma, Cerastium arvensis* subsp. *arvensis, Draba aizoides, Dryas octopetala, Festuca supina, Galium anisophyllon, Kiaeria starkei, Lloydia serotine, Minuartia gerardii, Pedicularis verticillata, Pinguicula alpina, Ranunculus alpestris, Rhodax alpestris, Rhodiola rosea, Salix alpina, Salix reticulata,*

	Saxifraga aizoides, *Saxifraga caesia*, *Sedum atratum*, *Silene acaulis*, *Soldanella carpatica*, *Swertia perennis*, *Vaccinium vitis-idaea*
E_0	*Ctenidium molluscum*, *Ditrichum flexicaule*, *Hydrogonium croceum* syn. *Barbula crocea*, *Tortella tortuosa*
Dolný blok	
E_1	*Arenaria tenella*, *Bistorta vivipara*, *Campanula cochleariifolia*, *Carex firma*, *Crepis jacquinii*, *Draba aizoides*, *Dryas octopetala*, *Festuca supina*, *Galium anisophyllon*, *Chamorchis alpina*, *Pedicularis oederi*, *Pedicularis verticillata*, *Pinguicula alpina*, *Pinus mugo*, *Primula auricula*, *Ranunculus alpestris*, *Rhodax alpestris*, *Salix alpina*, *Salix reticulata*, *Saxifraga aizoides*, *Saxifraga caesia*, *Sedum atratum*, *Silene acaulis*, *Soldanella carpatica*, *Swertia perennis*
E_0	*Ctenidium molluscum*, *Ditrichum flexicaule*, *Hydrogonium croceum* syn. *Barbula crocea*, *Tortella tortuosa*

Keďže sa otepľuje nielen ovzdušie, ale aj pôda, za dôležité považujeme neustále merania teploty pôdy v hĺbkach 10 a 20 cm. V období 8. júl 2021 – 22. marec 2022 sa teplota pôdy v hĺbke 10 cm pohybovala v rozpätí -16 až 27,5 °C a v hĺbke 20 cm v rozpätí -14 až 27 °C. Toto obdobie je však pre hodnotenia príliš krátke.

Podľa našich výskumov sme založenie pilotnej lokality stihli v čase pred spustením intenzívneho procesu migrácie. V priebehu ďalších rokov plánujeme preto založiť ďalšie výskumné lokality na severných svahoch štítov Belianskych Tatier v rôznych nadmorských výškach. Keďže ide o náveterné svahy, ďalšie roky by sme chceli preskúmať aj záveterné svahy. Všetky výskumné plochy sú trvalo monitorované.

Záver

Na celom kontinente Európy nachádzame vo vysokohorských oblastiach zrýchlenie tempa nárastu druhovej bohatosti rastlín, s päťnásobným druhovým obohatením medzi rokmi 2007 – 2016 ako pred päťdesiatimi rokmi, medzi rokmi 1957 – 1966 [1]. Podľa tejto práce, zrýchľujúci sa nárast druhovej bohatosti na horských vrcholoch v tomto širokom priestorovom rozsahu dokazuje, že zrýchlenie biotických zmien vyvolaných klímou sa vyskytuje aj na odľahlých miestach na Zemi, s potenciálne ďalekosiahlymi dôsledkami nielen pre biodiverzitu, ale aj pre fungovanie a služby ekosystémov. Druhy, ktoré sa pohybujú smerom nahor, často pochádzajú z trávnatých porastov nad hranicou lesa, ale nemôžu prežiť na všetkých miestach na vrchole štítov, súčasne však nie je isté, či budú hrozbou pre všetky existujúce druhy na najvyšších miestach.

V snahe výskum podporiť, rozhodli sme sa založiť pilotnú trvalú monitorovaciu plochu na Belianskej kope (1835 m n. m.) na hranici Belianskych a Vysokých Tatier, ktorú skúmalo viacero vedcov už v minulosti. V roku 1880 zaznamenali Sagorski a Schneider [40] na Belianskej kope (1 835 m n. m.) 87 druhov [40], v roku 2013 zaznamenali Kanka a Piscová už iba 95 druhov [1]. Spoločných druhov, ktoré boli zapísané roku 1880 aj v roku 2013, bolo 45. Druhov, ktoré boli zaznamenané len v roku 1880 bolo 42 a druhov, ktoré boli zaznamenané len v roku 2013 bolo 50. Vyhodnotením nárokov druhov na životné prostredie v rokoch 1880 a 2013 sme zistili, že dôležitú úlohu pri migrácii druhov zohrávajú okrem teploty najmä meniace sa svetelné podmienky.

V roku 2021 sme založili na severnom svahu štítu dva výskumné bloky, vzdialené 10 a 20 výškových metrov od vrcholu štítu. Biotopom skúmaného územia sú alpínske a subalpínske vápnomilné travinno-bylinné porasty (NATURA 2000: kód 6170), spoločenstvo zväzu *Caricion firmae*. Pre tento biotop je charakteristický vysoký počet druhov a zastúpenie vankúšovitých, trsovitých a poliehavých kríčkovitých foriem vegetácie. Druhové zloženie blokov bolo v roku 2021 takmer totožné. V období 8. júl 2021 – 22. marec 2022 sme zaznamenávali aj teplotu pôdy, v hĺbke 10 cm sa pohybovala v rozpätí -16 až 27,5 °C a v hĺbke 20 cm v rozpätí -14 až 27 °C. Konštatujeme, že táto lokalita bola zachytená ešte pred vertikálnou migráciou druhov. V najbližších rokov však očakávame presun niektorých druhov smerom nahor, no i iných nadol. Očakávame aj zmeny teploty pôdy. V území plánujeme rozšíriť výskum aj o plochy v iných nadmorských výškach, prípadne na svahoch orientovaných na inú svetovú stranu.

Poďakovanie

Práca vznikla za podpory grantového projektu VEGA 1/0546/21 Zmeny krajiny v povodiach plies Vysokých Tatier.

Touto cestou vyjadrujem poďakovanie svojej školiteľke Mgr. Veronike Piscovej, PhD. za odbornú pomoc, cenné rady, vedenie, trpezlivosť, ochotu a skúsenosti, rovnako Mgr. Michalovi Ševčíkovi, PhD. za pomoc so štatistickým spracovaním, RNDr. Rudolfovi Šoltésovi, CSc. za determináciu machorastov a zároveň

všetkým, ktorí akokoľvek pomohli pri vypracovaní tejto práce.

Použitá literatúra

[1] STEINBAUER, M. J. et al., 2018. Accelerated increase in plant species richness on mountain summits is linked to warming. In Nature, vol. 556, pp 231-234. ISSN 1476-4687

[2] DULLINGER, S., KLEINBAUER, I., PAULI, H., 2007. Weak and Variable Relationships between Environmental Severity and Small-Scale Co-Occurrence in Alpine Plant Communities. In Journal of Ecology, vol. 95, no. 6, pp. 1284-1295. ISSN0022-0477

[3] PAULI, H. et al., 2012. Recent Plant Diversity Changes on Europe's Mountain Summits. In Science, vol. 336, no. 6079, pp. 353-355.

[4] WINKLER, M. et al., 2016. The Rich Sides of Mountain Summits – A Pan-European View on Aspect Preferences of Alpine Plants. In Journal of Biogeography, vol. 43, no. 11, pp. 2261-2273.

[5] MALLORY, G. L. The reconnaissance of the mountain. In Lieut.-Col. C. K. HOWARD-BURY, D.S.O. (ed.) Mount Everest: The reconnaissance. London: EDWARD ARNOLD & CO., 1921, pp. 214 – 215.

[6] BARTHLOTT, W., LAUER, W., PLACKE, A., 1996. Global distribution of species diversity in vascular plants: Towards a world map of phytodiversity. In Erdkunde, vol. 50, no. 4, pp. 317 – 327.

[7] MESSERLI, B., IVES, J. D. (ed.) 1997. Mountains of the world: A global priority. New York and Carnforth: Parthenon Publishing, 495 pp. ISBN 1850-70781-2

[8] VIVIROLI, D., WEINGARTNER, R., MESSERLI, B., 2003. Assessing the hydrological significance of the world's mountains. In Mountain Research and Development Journal, vol. 23, pp. 32-40.

[9] TROLL, C., 1961. Klima und Pflanzenkleid der Erde in dreidimensionaler Sicht. In Naturwissenschaften, vol. 9, pp. 332 – 348.

[10] KÖRNER, CH., 2003. Alpine plant life – Functional plant ecology of high mountain ecosystems. Heidelberg: Springer, 344 pp. ISBN 3540-0034-79

[11] KÖRNER, CH., 2004. Mountain biodiversity, its causes and function. In Ambio, vol. 13, pp. 11 – 17.

[12] HREŠKO, J., 2011. Vysokohorská Krajina. In Životné prostredie, vol. 45, no. 2. pp. 57-58. ISSN 0044-4863

[13] SABO, P., COCHOVA, S., 2012. Od Ria k Riu + 20: nárast rizika globálneho kolapsu a jeho hybné sily. In Globálne existenciálne riziká. Zborník z konferencie s medzinárodnou účasťou. Žilina, Strix/Edícia ESE-10, pp. 244 – 262.

[14] ŠVAJDA, J., SABO, P., 2013. Manažment chránených území. Banská Bystrica: Belianum, 128 pp. ISBN 978-80-557-0628-3

[15] GOBIET, A. et al., 2014. 21st century climate change in the European Alps—a review. In Sci. Total Environ, vol. 493, pp. 1138 – 1151.

[16] PEPIN, N. et al., 2015. Elevation-dependent warming in mountain regions of the world. In Nature Climate Change, vol. 5, pp. 424 – 430.

[17] CHEN, I. C. et al., 2011. Rapid range shifts of species associated with high levels of climate warming. In Science, vol. 333, pp. 1024-1026.

[18] LENOIR, J. et al., 2008. A significant upward shift in plant species optimum elevation during the 20th century. In Science, vol. 320, pp. 1768-1771.

[19] GRYTNES, J. A. et al., 2014. Identifying driving factors behind observed species range shifts on European mountains. In Glob. Ecol. Biogeogr, vol. 23, pp. 876 – 884.

[20] GOTTFRIED, M. et al. 2012. Continent-wide response of mountain vegetation to climate change. In Nat. Clim. Chang, vol. 2, pp. 111 – 115.

[21] WIPF, S. et al., 2013. The oldest monitoring site of the Alps revisited: Accelerated increase in plant species richness on Piz Linard summit since 1835. In Plant Ecol. Divers, vol. 6, pp. 447 – 455.

[22] BERTRAND, R. et al., 2011. Changes in plant community composition lag behind climate warming in lowland forests. In Nature, vol. 479, pp. 517-520.

[23] SMITH, S. J. et al., 2015. Near-term acceleration in the rate of temperature change. In Nat. Clim. Chang, vol. 5, pp. 333 – 336.

[24] STEFFEN, W. et al., 2015. The trajectory of the Anthropocene: The Great Acceleration. In Anthropocene, vol. 2, no. 1, pp. 81 – 98.

[25] STÖCKLI, V. et al., 2012. Using historical plant surveys to track biodiversity on mountain summits. In Plant Ecol. Divers, vol. 4, pp. 415 – 425.

[26] VERHEYEN, K. et al., 2017. Combining biodiversity resurveys across regions to advance global change research. In Bioscience, vol. 67, no. 1, pp. 73-83. ISSN 1525-3244

[27] KANKA, R., KOLLÁR, J., BARANČOK, P., 2005. Monitoring of Climate Change Impacts on Alpine Vegetation in the Tatra Mts. – First Approach. In Ekológia, vol. 24, no. 4, pp. 411 – 418.

[28] KANKA, R., BARANČOK, P., KRAJČÍ, J., 2011. Výskum diverzity vyšších rastlín v alpínskom pásme Tatier ako platforma na monitorovanie klimatických zmien. In Životné prostredie, vol. 45, no. 2, pp. 89 – 92. ISSN 0044-4863

[29] KOLLÁR, J., KANKA, R., BARANČOK, P., 2016. Plochy iniciatívy GLORIA na Slovensku, ako súčasť siete LTER. In Životné prostredie, vol. 50, no. 1, pp. 51-53. ISSN 044-4863
[30] BARANČOK, P., VARŠAVOVÁ, M., 1994. Ekologické hodnotenie potenciálnych dopadov otvorenia náučného turstického chodníka v Belianskych Tatrách. In Prírodná časť krajiny, jej výskum a návrhy na využitie. Bratislava: Univerzita Komenského, pp. 79 – 81.
[31] BARANČOK, P., VARŠAVOVÁ, M., 1996. The influence of tourism on the natural environment of the Belianske Tatry Montains investigated on an educational hiking path situated in the locality of Monkova dolina – Kopské sedlo and its near surroundings. In Ekológia, vol. 15, no. 4, pp. 469-473.
[32] BARANČOK, P., VARŠAVOVÁ, M., 1998. Influence of exogenous factors on the distribution of ceder pine-spruce forests and dwarf pine forests in the Belianske Tatry Mts. In Ekológia, vol. 17, no. 3, pp. 242 – 254.
[33] BARANČOK, P., VARŠAVOVÁ, M., 2002. Vplyv ľudských aktivít na vybrané prvky prírodného prostredia Belianskych Tatier. In Ekologický výskum vysokohorských ekosystémov Tatier. In Zborník referátov zo sympózia s medzinárodnou účasťou o problémoch ekologického výskumu prírpadného prostredia vysokých pohorí. Bratislava: ÚKE SAV. CD-ROM
[34] VARŠAVOVÁ, M., BARANČOK, P., 1999. Vulnerability of the selected high-mountain territory in the Belianske Tatry Mts under the influence of an increasing anthropogenic impact. In Ekológia, vol. 18, no. 1, pp. 3-20.
[35] BARANČOKOVÁ, M., 2006. Geoekologické hodnotenie Belianskych Tatier: kandidátska dizertačná práca. Bratislava: ÚKE SAV, 151 pp.
[36] PISCOVÁ, V., 2011. Zmeny vegetácie Tatier na vybraných lokalitách ovplyvnených človekom. Bratislava: VEDA, 228 pp. ISBN 978-80-224-1220-9
[37] PISCOVÁ, V. et al., 2018. Využívanie vysokohorskej krajiny a jeho dôsledky na zmenu prostredia (na príklade Tatier a Nízkych Tatier). Bratislava: VEDA, 250 pp. ISBN 978-80-224-1585-9
[38] GROSS, J. E. et al., 2017. Adapting to Climate Change: Guidance for protected area managers and planners. Gland (Switzerland): IUCN, 152 pp. ISBN 978-2-8317-1834-7
[39] KANKA, R., BARANČOK, P., KOLLÁR, J., 2018. Vertikálna migrácia taxónov vyšších rastlín v alpínskom pásme, ako nový akcelerujúci fenomén. In Životné prostredie, vol. 52, no. 2, pp. 67 – 70. ISSN 0044-4863
[40] SAGORSKI, E., SCHNEIDER, G., 1891. Flora der Centralkarpathen: mit spezieller Berücksichtigung der in der Hohen Tatra vorkommenden Phanerogamen und Gefäss-Cryptogamen nach eigenen und fremden Beobachtungen. Leipzig: Verlag von Eduard Kummer, 235 pp.
[41] STANOVÁ, V., VALACHOVIČ, M., (ed.), 2002. Katalóg Biotopov Slovenska. Bratislava: DAPHNE – Inštitút aplikovanej ekológie, 225 pp. ISBN 80-89133-00-2
[42] JURKO, A., 1990. Ekologické a socioekonomické hodnotenie vegetácie. Bratislava: Príroda, 195 pp. ISBN 80-07-00391-6

Tab. 1 Súpis druhov z rokov 1880 a 2013 (Belianska kopa); Zdroj: Autor

Druhy z rokov 1880 a 2013	**Druhy z roku 1880**	**Druhy z roku 2013**
Aconitum firmum	*Alopecurus geniculatus*	*Achillea millefolium*
Agrostis rupestris	*Androsace chamaejasme*	*Alchemilla species*
Antennaria carpatica	*Anemone narcissiflora*	*Anthoxanthum alpinum*
Avenella flexuosa	*Arenaria tenella*	*Anthyllis vulneraria*
Avenula versicolor	*Aster alpinus*	*Bistorta major*
Bartsia alpina	*Astragalus norvegicus*	*Calamagrostis varia*
Biscutella laevigata	*Campanula glomerata*	*Calluna vulgaris*
Bistorta vivipara	*Carex capillaris*	*Carduus glaucinus*
Campanula alpina	*Carex fuliginosa*	*Carex nigra*
Campanula tatrae	*Cerastium eriophorum*	*Carex sempervirens*
Carex atrata	*Cineraria capitata*	*Cerastium holosteoides*
Carex firma	*Comastoma tenellum*	*Cirsium erisithales*

Doronicum stiriacum	*Danthonia decumbens*	*Crepis jacquinii*
Dryas octopetala	*Dianthus glacialis*	*Deschampsia cespitosa*
Festuca versicolor	*Dichodon cerastoides*	*Doronicum austriacum*
Gentiana punctata	*Draba aizoides*	*Dryopteris dilatata*
Gentianella lutescens	*Empetrum nigrum*	*Euphrasia tatrae*
Chamorchis alpina	*Erigeron hungaricus*	*Hieracium alpinum*
Leucanthemopsis alpina	*Euphrasia salisburgensis*	*Homogyne alpina*
Ligusticum mutellina	*Gentiana nivalis*	*Huperzia selago*
Listera ovata	*Gentianella amarella*	*Hypericum maculatum*
Luzula alpinopilosa	*Juncus trifidus*	*Chamerion angustifolium*
Minuartia sedoides	*Ledum palustre*	*Juniperus sibirica*
Omalotheca supina	*Leontodon autumnalis*	*Laserpitium latifolium*
Oreogeum montanum	*Ligusticum mutellinoides*	*Leontodon pseudotaraxaci*
Pedicularis verticillata	*Myosotis alpestris*	*Linum perenne*
Pedicularis oederi	*Pedicularis hacquetii*	*Lotus corniculatus*
Phleum rhaeticum	*Pilosella aurantiaca*	*Luzula luzuloides*
Phyteuma orbiculare	*Plantago atrata*	*Oreochloa disticha*
Poa alpina	*Pritzelago alpina*	*Parnassia palustris*
Potentilla aurea	*Pseudorchis albida*	*Picea abies*
Primula minima	*Ranunculus carpaticus*	*Pilosella alpicola*
Pulsatilla scherfelii	*Ranunculus pseudomontanus*	*Pinguicula alpina*
Ranunculus alpestris	*Ribes petraeum*	*Pinus mugo*
Rhodax alpestris	*Saxifraga hieraciifolia*	*Ranunculus acris*
Salix reticulata	*Scrophularia scopolii*	*Ranunculus breyninus*
Salix retusa	*Sedum atratum*	*Rhodiola rosea*
Saxifraga aizoides	*Sempervivum wettsteinii*	*Salix alpina*
Saxifraga androsacea	*Senecio abrotanifolius* ssp. *carpathicus*	*Salix kitaibeliana*
Saxifraga caesia	*Trifolium pratense*	*Salix silesiaca*
Saxifraga moschata	*Trifolium repens*	*Scabiosa lucida*
Saxifraga wahlenbergii	*Viola lutea*	*Senecio subalpinus*
Sesleria tatrae		*Solidago virgaurea*
Silene acaulis		*Swertia perennis*
Soldanella carpatica		*Taraxacum* sect. *ruderalia*
		Thymus alpestris
		Trommsdorfia uniflora
		Vaccinium gaultherioides
		Vaccinium myrtillus
		Vaccinium vitis-idaea

Detailná *in silico* analýza α-amylázovej rodiny GH126 s ohľadom na unikátne sekvenčno-štruktúrne črty

A detailed *in silico* analysis of the α-amylase family GH126 focused on its unique sequence-structural features

Michaela Schorschová[1]
Školiteľ: Štefan Janeček[1,2]
[1]Katedra biológie, Fakulta prírodných vied, UCM v Trnave, Nám. J. Herdu 2, 917 01 Trnava
[2]Laboratórium evolúcie proteínov, Ústav molekulárnej biológie SAV, v.v.i, Dúbravská cesta 21, 845 51 Bratislava
[1]schorschova1@ucm.sk, [2]Stefan.Janecek@savba.sk

Abstrakt

Rodina glykozidových hydroláz (GH) GH126 bola etablovaná v databáze CAZy na základe čiastočnej biochemickej charakterizácie a stanovenia terciárnej štruktúry amylolytického enzýmu CPF_2247 z *Clostridium perfringens* ako potenciálna α-amylázová rodina. Taxonomicky obsahuje zástupcov iba bakteriálneho pôvodu. Sú pre ňu charakteristické sekvencie s dĺžkou okolo 350 zvyškov, ktoré adoptujú katalytickú $(\alpha/\alpha)_6$-barelovú doménu. V rodine stále nie sú experimentálne potvrdené katalytické zvyšky, ani reakčný mechanizmus. Táto nedostatočná charakterizácia a štruktúrno-sekvenčná podobnosť rodiny GH126 s klanom GH-M (rodiny GH8 a GH48) môže viesť k nesprávnej klasifikácii hypotetických proteínov. Cieľom tejto štúdie bola preto identifikácia unikátnych sekvenčno-štruktúrnych čŕt, ktoré odlíšia členov rodiny GH126 od GH8 a GH48. Pre tento účel boli z údajov v databáze CAZy zostavené tri súbory sekvencií pozostávajúce z 1475 zástupcov pre rodinu GH126 (všetci členovia rodiny) a 85, resp. 21 zástupcov pre rodiny GH8 a GH48 (charakterizované enzýmy z oboch rodín). Práca prináša predbežné výsledky detailnej *in silico* analýzy.

Kľúčové slová: α-amylázová rodina GH126 – katalytický $(\alpha/\alpha)_6$-barel – *in silico* analýza – unikátne sekvenčno-štruktúrne črty – konzervované sekvenčné regióny – evolučné vzťahy.

Abstract

The glycoside hydrolase (GH) family GH126 family was established in the CAZy database based on a partial biochemical characterization and determination of tertiary structure of the amylolytic enzyme CPF_2247 from *Clostridium perfringens* as a potential α-amylase family. Taxonomically, it contains representatives of bacterial origin only. It is characterized by sequences with about 350 residues, which adopt the catalytic $(\alpha/\alpha)_6$-barrel domain. Neither catalytic residues, nor the reaction mechanism for this family has been experimentally confirmed. This insufficient characterization and structure-sequence similarity of the family GH126 to the clan GH-M (families GH8 and GH48) may lead to the incorrect classification of putative proteins. Therefore, the goal of the present study was the identification of unique sequence-structural features that distinguish the GH126 members from those of families GH8 and GH48. For this purpose, three sets of sequences were retrieved from the CAZy database, consisting of 1475 representatives for the family GH126 (the entire family), and 85 and 21 representatives for the families GH8 and GH48, respectively. The study delivers the preliminary results of a detailed *in silico* analysis.

Key Words: α-Amylase family GH126 – Catalytic $(\alpha/\alpha)_6$-barrel – *In silico* analysis – Unique sequence-structural features – Conserved sequence regions – Evolutionary relationships

Úvod

α-Amylázy sú veľmi dobre preskúmané enzýmy, ktoré sú definované ako endohydrolázy využívajúce retenujúci reakčný mechanizmus [1]. Na základe klasifikácie podľa sekvenčnej a štruktúrnej podobnosti v databáze CAZy (Carbohydrate Active enZymes; http://www.cazy.org/; [2]) sú zaradené do štyroch rodín glykozidových hydroláz (GH): (i) rodina GH13 hlavná α-amylázová rodina; (ii) rodina GH57; (iii) rodina GH119; a (iv) rodina GH126 [3].

Rodina GH13 patrí k najväčším GH rodinám s viac ako 150 tisíc sekvenciami zo všetkých troch ríši a 30 rôznymi špecificitami [1-3]. Pre zástupcov rodiny GH13 je typická štruktúra pozostávajúca z troch domén. Hlavná katalytická doména A je tvorená $(\beta/\alpha)_8$-barelom (tzv. TIM-barel), v ktorej je včlenená doména B (s viac-

menej nepravidelnou štruktúrou), pričom za katalytickým TIM-barelom nasleduje doména C s typickou štruktúrou antiparalelného β-sendviča [1,3]. Mnohé enzýmy z tejto rodiny obsahujú ďalšie prídavné nekatalytické domény najmä na N- a/alebo C-konci, predovšetkým škrob-viažuce domény (SBD) [4], ktoré sú v CAZy databáze klasifikované ako tzv. rodiny CBM (Carbohydrate-Binding Modules) [2]. Na vyššej hierarchickej úrovni databázy CAZy rodina GH13 tvorí spolu s rodinami GH70 a GH77 klan GH-H [2], kým na nižšej hierarchickej úrovni bola rodina rozdelená do GH13 sekvenčne príbuznejších podrodín [5], ktorých je v súčasnosti 46 [6].

Rodina GH57 predstavuje druhú menšiu α-amylázovú rodinu s viac ako 4600 sekvenčnými zástupcami [1-3]. Je podobne ako rodina GH13 polyšpecifickou rodinou so siedmimi enzýmovými špecificitami tvorenou extrémofilnými prokaryotmi z ríše *Bacteria* a *Archaea* [1,7]. Od hlavnej α-amylázovej rodiny sa odlišuje štruktúrou katalytickej domény, ktorá je tvorená $(\beta/\alpha)_7$-barelom, t.j. tzv. nekompletným TIM-barelom, ale aj katalytickou mašinériou [7,8]. Aj keď je táto rodina považovaná za α-amylázovú rodinu, jednoznačná α-amylázová enzýmová špecificita v nej stále nebola jednoznačne potvrdená [3].

Rodina GH119 bola etablovaná v roku 2006 po popísaní α-amylázy IgtZ z *Niallia circulans* [9], ktorá nevykazovala zjavné sekevenčné podobnosti s už známymi rodinami α-amyláz [3]. Je to málo početná rodina (iba 47 sekvenčných zástupcov), u ktorých bola na základe *in silico* analýzy potvrdená evolučná príbuznosť s rodinou GH57, pričom obe rodiny by mali navzájom zdieľať štruktúru katalytickej domény (neúplný TIM-barel) a katalytickú mašinériu [10,11].

Rodina GH126 je doteraz poslednou α-amylázovou rodinou, ktorá bola etablovaná v roku 2011 na základe čiastočnej charakterizácie a vyriešenia terciárnej štruktúry amylolytického enzýmu CPF_2247 z genómu *Clostridium perfringens* [12]. V súčasnosti je do tejto rodiny klasifikovaných cca 1500 bakteriálnych sekvencií s majoritným zastúpením Firmicutes (Bacillota) [2]. Z dvoch vyriešených štruktúr enzýmov z rodiny GH126 – „α-amyláza“ CPF_2247 [12] a proteín PssZ z *Listeria monocytogenes* [13] (kódy PBD: 3REN, resp. 6R2M) – je známe, že katalytickú doménu tvorí $(\alpha/\alpha)_6$-barel, ktorý u ostatných α-amylázových rodín doteraz pozorovaný nebol [1]; je to ale napr. typická katalytická doména glukoamyláz z rodiny GH15 [14]. Je zaujímavé, že z hľadiska terciárnej štruktúry, ale aj korešpondujúcich predpokladaných zvyškov aktívneho miesta sú členovia rodiny GH126 podobní invertujúcim β-glukanázam z rodín GH8 a GH48 [12], ktoré spolu tvoria klan GH-M [2]. Ako najbližšie štruktúrne homológy pre amylolytický enzým CPF_2247 z *Clostridium perfringens* boli popísané dve β-glukán-aktívne glykozidázy [12] – endoglukanáza CelA z *Clostridium thermocellum* (kód PDB: 1KWF) z rodiny GH8 [15] a celobiohydroláza CelS (kód PDB: 1L2A) z tej istej baktérie z rodiny GH48 [16]. Pre obe rodiny klanu GH-M je síce charakteristická $(\alpha/\alpha)_6$-barelová katalytická doména, avšak pri hydrolýze uplatňujú invertujúci reakčný mechanizmus [2,15,16], čo je priamo v kontradikcii s definíciou α-amylázy ako enzýmovej špecificity [1].

Pre rodinu GH126 boli doteraz vykonané dve bioinformatické analýzy, ktorých najdôležitejším prínosom bola identifikácia siedmych konzervovaných sekvenčných regiónov (KSR) v tejto rodine na základe vzorky cca 100 sekvencií [17] a taxonomické obohatenie rodiny o zástupcov mimo Firmicutes [18]. Prvá *in silico* štúdia navyše odhalila možnú vzdialenú evolučnú príbuznosť rodiny GH126 s rodinou GH76 [17], v ktorej sú klasifikované α-glukán-aktívne glykozidázy (napr. α-1,6-mananázy) využívajúce retenujúci reakčný mechanizmus. Toto by už bolo v súlade s možnosťou, že amylolytický enzým CPF_2247 z *C. perfringens* by naozaj mohla byť reálna α-amyláza [1].

Cieľom predkladanej práce bolo zostaviť aktuálny a čo najkompletnejší súbor sekvencií pre študovanú α-amylázovú rodinu GH126 (cca 1500 sekvencií), ako aj súbory sekvencií zástupcov charakterizovaných enzýmov obidvoch β-glukanázových rodín GH8 a GH48 z klanu GH-M. Tento krok je kľúčový pre ďalšiu analýzu zameranú na identifikáciu unikátnych sekvenčno-štruktúrnych čŕt, ktoré budú jednoznačne umožňovať vzájomné odlíšenie rodiny GH126 od klanu GH-M, ako aj správnu klasifikáciu hypotetických proteínov do týchto troch GH rodín.

1 Materiály a metódy

Na vytvorenie študovaných súborov pre rodiny GH126, GH8 a GH48 boli použité informácie z databázy CAZy [2], pričom sekvencie boli získané zo sekvenčných databáz GenBank [19] a UniProt [20].

Pre rodinu GH126 bol zozbieraný súbor pozostávajúci z 1511 sekvencií klasifikovaných v databáze CAZy (aktualizácia z 13.12.2022). Sekvencie boli na začiatku zrovnané pomocou programu Clustal-Omega (https://www.ebi.ac.uk/Tools/msa/clustalo/; [21]) a následne spracované pomocou softvéru AliView [22]. V zrovnaní bolo identifikovaných sedem KSR

definovaných pre rodinu GH126 [17] a predpokladanú aminokyselinové zvyšky aktívneho miesta [12]. Na ich základe bolo zrovnanie mierne manuálne upravené v regiónoch KSR-2 a KSR-4. V ďalšom kroku bolo zo súboru vylúčených 36 sekvencií, ktoré nespĺňali všetky tri požadované kritériá: (i) kompletná dĺžka katalytickej $(\alpha/\alpha)_6$-barelovej domény; (ii) úplná sekvencia v oblastiach siedmych KSR; a (iii) konzervované všetky zvyšky potenciálne zapojené do aktívneho miesta (predpokladaná katalytická mašinéria). Pre finálny súbor 1475 sekvencií bolo vytvorené reprezentatívne sekvenčné logo pomocou nástroja WebLogo3 (https://weblogo.threeplusone.com/; [23]).

Na zostavenie súboru sekvencií pre rodiny klanu GH-M boli z databázy CAZy vybraní charakterizovaní zástupcovia, t.j. enzýmy buď so známou terciárnou štruktúrou alebo aspoň členovia so známou enzýmovou aktivitou. Finálne súbory pozostávali z 85 členov z rodiny GH8 a 21 členov z rodiny GH48. Oba súbory boli tiež osobitne zrovnané v programe Clustal-Omega (https://www.ebi.ac.uk/Tools/msa/clustalo/; [21]), v zrovnaniach boli identifikované sekvenčné úseky, ktoré korešpondovali s KSR definovanými v rodine GH126 a nakoniec boli vytvorené aj ich sekvenčné logá pomocou nástroja WebLogo3 (https://weblogo.threeplusone.com/; [23]).

V snahe identifikovať možných členov rodiny GH126 mimo ríše *Bacteria* bol využitý nástroj BLAST (https://blast.ncbi.nlm.nih.gov/; [24]), pričom ako záujmové sekvencie boli použité sekvencie charakterizovaných enzýmov z rodiny GH126: (i) amylolytický enzým CPF_2247 z *C. perfringens* (UniProt: A0A0H2YP60); a (ii) enzým PssZ z *L. monocytogenes* (UniProt: A0A3D7VE02).

2 Výsledky a diskusia

V predloženej bioinformatickej analýze bolo za účelom zostavenia reprezentatívneho súboru pre rodinu GH126 použitých všetkých 1511 sekvencií dostupných v databáze CAZy podľa jej aktualizácie z 13. decembra 2022 [2]. Zo súboru bolo odstránených 36 sekvencií nasledovne: (i) 29 sekvencií neobsahovalo kompletný katalytický $(\alpha/\alpha)_6$-barel; (ii) 4 sekvencie mali inzerciu alebo deléciu v regiónoch KSR-2 a KSR-4; a (iii) 3 sekvencie vykazovali substitúcie v pozíciách, ktoré korešpondovali s predpokladanými zvyškami aktívneho miesta.

Z upraveného súboru obsahujúceho 1475 sekvencií bolo zostavené sekvenčné logo pre sedem KSR. Hoci už podobné logo pre rodinu GH126 existovalo, bolo vytvorené na základe iba 112 sekvencií [17]. Súčasné, aktualizované sekvenčné logo je vytvorené pre cca 13-krát viac sekvencií (1475), t.j. jeho výpovedná hodnota sa zvýšila 13 násobne.

V zrovnaných sekvenciách bola tiež potvrdená invariantnosť pravdepodobných funkčne dôležitých aminokyselinových zvyškov: (i) Glu84 (číslované podľa CPF_2247 z *C. perfringens*) v KSR-1; (ii) Asp136 v KSR-3; a (iii) Tyr194 v KSR-5. Aktualizované sekvenčné logo (1475 sekvencií) a pôvodné logo vytvorené pre 112 sekvencií [17] sa však líšili len málo, a to najmä pomerom zastúpenia niektorých variabilnejších zvyškov v KSR-2, KSR-4 a KSR-7.

Pre účely fylogenetickej analýzy v snahe zachovať čo najvyššiu mieru reprezentatívnosti, ale zároveň dosiahnuť prehľadnosť výsledkov na evolučnom strome sú vykonávané práce zamerané na odstránenie redundantných a veľmi podobných sekvencií (so sekvenčnou identitou 90%, prípadne 95%). Evolučné vzťahy budú študované v troch fázach: (i) pre reprezentatívny výber už klasifikovaných členov rodiny GH126; (ii) pre výbery už klasifikovaných členov rodín GH126, GH8 a GH48; a (iii) s ohľadom na hypotetické proteíny získané vyhľadávaním cez BLAST a ich možnú príslušnosť k rodinám GH126, GH8 a GH48 so špeciálnym dôrazom na ich taxonomický pôvod.

Záver

Jedným z najdôležitejších výsledkov predloženej práce je vytvorenie sekvenčného loga siedmych KSR charakteristických pre rodinu GH126 pre takmer 1500 členov tejto rodiny. Logo tak predstavuje jednoznačný a reprezentatívny selekčný marker rodiny GH126, pomocou ktorého by malo byť jednoznačne možné prisudzovať hypotetické proteíny do rodiny. Zároveň a spolu s prihliadnutím na sekvenčné logá vytvorené pre zástupcov rodín klanu GH-M (rodiny GH8 a GH48) by malo byt možné spoľahlivo rozlišovať v sekvenciách hypotetických proteínov unikátne sekvenčno-štruktúrne črty, na základe ktorých budú jednotlivé sekvencie správne klasifikované do týchto troch rodín. Výsledky tejto *in silico* štúdie budú tiež umožňovať rozhodnúť o potenciálnych členov rodiny GH126 pre proteíny pochádzajúce z ríš *Archaea* a *Eucarya*, keďže doteraz boli ako členovia rodiny GH126 známe len sekvencie bakteriálneho pôvodu.

Poďakovanie

Tento výskum bol finančne podporený grantom Fakulty prírodných vied UCM v Trnave č. FPV10-2023.

Použitá literatúra

[1] JANECEK, S. – SVENSSON, B. – MACGREGOR, E. A., 2014. Amylase: an enzyme specificity found in various families of glycoside hydrolases. In *Cellular and Molecular Life Sciences*. roč. 71, č. 7, s. 1149–70. https://doi.org/10.1007/s00018-013-1388-z.

[2] DRULA, E. – GARRON, M.L. – DOGAN, S. – LOMBARD, V. – HENRISSAT, B. – TERRAPON, N., 2022. The carbohydrate-active enzyme database: functions and literature. In *Nucleic Acids Research*. roč. 50, č. D1, s. D571–D577. https://doi.org/10.1093/nar/gkab1045.

[3] JANECEK, S. – SVENSSON, B., 2022. How many α-amylase GH families are there in the CAZy database? In *Amylase*. roč. 6, č. 1, s. 1–10. https://doi.org/10.1515/amylase-2022-0001.

[4] JANECEK, S. – MARECEK, F. – MACGREGOR, E.A. – SVENSSON, B., 2019. Starch-binding domains as CBM families – history, occurrence, structure, function and evolution. In *Biotechnology Advances*. roč. 37, č. 8, 107451. https://doi.org/10.1016/j.biotechadv.2019.107451.

[5] STAM, M.R. – DANCHIN, E.G. – RANCUREL, C. – COUTINHO, P.M. – HENRISSAT, B., 2006. Dividing the large glycoside hydrolase family 13 into subfamilies: towards improved functional annotations of α-amylase-related proteins. In *Protein Engineering, Design and Selection*. roč. 19, č. 12, s. 555–562. https://doi.org/10.1093/protein/gzl044.

[6] MARECEK, F. – JANECEK, S., 2022. A novel subfamily GH13_46 of the α-amylase family GH13 represented by the cyclomaltodextrinase from *Flavobacterium* sp. No. 92. In *Molecules*. roč. 27, č. 24, 8735. https://doi.org/10.3390/molecules27248735.

[7] MARTINOVICOVA, M. – JANECEK, S., 2018. *In silico* analysis of the α-amylase family GH57: eventual subfamilies reflecting enzyme specificities. In *3 Biotech*. roč. 8, č. 7, 307. https://doi.org/10.1007/ s13205-018-1325-9.

[8] IMAMURA, H. – FUSHINOBU, S. – YAMAMOTO, M. – KUMASAKA, T. – JEON, B.S. – WAKAGI, T. – MATSUZAWA, H., 2003. Crystal structures of 4-α-glucanotransferase from *Thermococcus litoralis* and its complex with an inhibitor. In *Journal of Biological Chemistry*. roč. 278, č. 21, s. 19378–19386. https://doi.org/10.1074/jbc.M213134200.

[9] WATANABE, H. – NISHIMOTO, T. – KUBOTA, M. – CHAEN, H. – FUKUDA, S., 2006. Cloning, sequencing, and expression of the genes encoding an isocyclomaltooligosaccharide glucanotransferase and an α-amylase from a *Bacillus circulans* strain. In *Bioscience, Biotechnology and Biochemistry*. roč. 70, č. 11, s. 2690–2702. https://doi.org/10.1271/bbb.60294.

[10] JANECEK, S. – KUCHTOVA, A., 2012. *In silico* identification of catalytic residues and domain fold of the family GH119 sharing the catalytic machinery with the α-amylase family GH57. In *FEBS Letters*. roč. 586, č. 19, s. 3360–3366. https://doi.org/10.1016/j.febslet.2012.07.020.

[11] POLACEK, A. – JANECEK, S., 2023. Sequence-structural features and evolution of the α-amylase family GH119 revealed by the *in silico* analysis of its relatedness to the family GH57. In *Biologia*. roč. 78, in press. https://doi.org/10.1007/s11756-023-01349-y.

[12] FICKO-BLEAN, E. – STUART, C.P. – BORASTON, A.B., 2011. Structural analysis of CPF-2247, a novel α-amylase from *Clostridium perfringens*. In *Proteins: Structure, Function and Bioinformatics*. roč. 79, č. 10, s. 2771–2777. https://doi.org/10.1002/prot.23116.

[13] WU, H – QIAO, S. – LI, D. – GUO, L. – ZHU, M. – MA, L.Z., 2019. Crystal structure of the glycoside hydrolase PssZ from *Listeria monocytogenes*. In *Acta Crystallographica. Section F, Structural Biology Communications*. roč. 75, č. 7, s. 501–506. https://doi.org/10.1107/S2053230X19008100.

[14] SAUER, J. – SIGURSKJOLD, B. – CHRISTENSEN, U. – FRANDSEN, T.P. – MIRGORODSKAYA, E. – HARRISON, M. – ROEPSTORFF, P. – SVENSSON, B., 2000. Glucoamylase: structure/function relationships, and protein engineering. In *Biochimica et Biophysica Acta*. roč. 1543, č. 2, s. 275–293. https://doi.org/10.1016/S0167-4838(00)00232-6.

[15] GUERIN, DM. - LASCOMBE, M.B. – COSTABEL, M – SOUCHON, H. – LAMZIN, V. – BEGUIN, P. – ALZARI, P.M., 2002. Atomic (0.94 Å) resolution structure of an inverting glycosidase in complex with substrate. In *Journal of Molecular Biology*. roč. 316, č. 5, s. 1061–1069. https://doi.org/10.1006/jmbi.2001.5404.

[16] GUIMARAES, B.G. – SOUCHON, H. – LYTLE, B.L. – DAVID, WU, J.H. – ALZARI, P.M., 2002. The crystal structure and catalytic mechanism of cellobiohydrolase CelS, the major enzymatic component of the *Clostridium thermocellum* cellulosome. In *Journal of Molecular Biology*. roč. 320, č. 3, s. 587–596. https://doi.org/10.1016/s0022-2836(02)00497-7.

[17] KERENYIOVA, L. – JANECEK, S., 2020. A detailed *in silico* analysis of the amylolytic family GH126 and its possible relatedness to family GH76. In *Carbohydrate Research*. roč. 494, 108082. https://doi.org/10.1016/j.carres.2020.108082.

[18] KERENYIOVA, L. – JANECEK, S., 2020. Extension of the taxonomic coverage of the family GH126 outside

Firmicutes and *in silico* characterization of its non-catalytic terminal domains. In *3 Biotech*. roč. 10, č. 10, 420. https://doi.org/10.1007/s13205-020-02415-x.
[19] SAYERS, E.W. – CAVANAUGH, M. – CLARK, K. – PRUITT, K.D. – SCHOCH, C.L. – SHERRY, S.T. - KARSCH-MIZRACHI, I., 2021. GenBank. In *Nucleic Acids Research*. roč. 49, č. D1, s. D92–D96. https://doi.org/10.1093/nar/gkaa1023.
[20] UniProt Consortium. 2021. UniProt: the universal protein knowledgebase in 2021. In *Nucleic Acids Research*. roč. 49, č. D1, s. D480–D489. https://doi.org/10.1093/nar/gkaa1100.
[21] SIEVERS, F. – WILM, A. – DINEEN, D. – GIBSON, T.J. – KARPLUS, K. – LI, W. – LOPEZ, R. – MCWILLIAM, H. – REMMERT, M. – SÖDING, J. – THOMPSON, J.D. – HIGGINS, D.G., 2011. Fast, scalable generation of high-quality protein multiple sequence alignments using Clustal Omega. In *Molecular System Biology*. roč. 7, 539. https://doi.org/10.1038/msb.2011.75.
[22] LARSSON, A., 2014. AliView: a fast and lightweight alignment viewer and editor for large datasets. In *Bioinformatics*. roč. 30, č. 22, s. 3276–3278. https://doi.org/10.1093/bioinformatics/btu531.
[23] CROOKS, G.E. – HON, G. – CHANDONIA, J.M. – BRENNER, S.E., 2004. WebLogo: a sequence logo generator. In *Genome Research*. roč. 14, č. 6, s. 1188–1190. https://doi.org/10.1101/gr.849004.
[24] ALTSCHUL, S.F. – GISH, W. – MILLER, W. – MYERS, E.W. – LIPMAN, D.J., 1990. Basic local alignment search tool. In *Journal of Molecular Biology*. roč. 215, č. 3, s. 403–410. https://doi.org/10.1016/S0022-2836(05)80360-2.

Výskyt *Vibrio* spp. v riekach Topľa a Ondava

The occurrence of *Vibrio* spp. in rivers Topľa and Ondava

Alexandra Vozárová[1] – Milan Seman[2]
Školiteľ: Milan Seman[2]
[1,2]Katedra biológie, FPV UCM, Nám. J. Herdu 2, 917 01 Trnava
[1] vozarova5@ucm.sk, [2]milan.seman@ucm.sk

Abstrakt

Vibriá sú baktérie prirodzene sa vyskytujúce v akvatickom prostredí na celom svete. Najznámejším druhom tohto rodu je *Vibrio cholerae*, ktoré sa na základe somatického antigénu O delí do dvoch séroskupín – O1 a non-O1. Séroskupina non-O1 zahŕňa sérotypy O2 až O200. *V. cholerae* O1 a *V. cholerae* non-O1/O139 sú pôvodcovia závažného hnačkového ochorenia cholery. Kmene *V. cholerae* non-O1/non-O139 ako aj ďalšie druhy vibrií dokážu u ľudí vyvolať gastrointestinálne a extraintestinálne infekcie.

Teplota vody úzko súvisí s ich výskytom, a kvôli globálnemu otepľovaniu sa vo svete vibriá stávajú emeregentnými patogénmi.

Zamerali sme sa na výskyt vibrií v riekach Topľa a Ondava na východe Slovenska, kde sa v roku 1970 vyskytla epidémia cholery. Vzorky vody sme odobrali v dvoch intervaloch v roku 2022 a komerčným systémom ENTEROtest 24 a kultivačnými znakmi na chromogénnom médiu sme identifikovali 24 kmeňov *V. cholerae* non-O1/non-O139, a 4 prezumptívne kmene *V. furnissii*.

Kľúčové slová: *Vibrio cholerae* non-O1/non-O139, *Vibrio furnissii,* environmentálne kmene vibrií

Abstract

Vibrios are bacteria naturally occurring in aquatic environments around the world. The best-known species of this genus is *Vibrio cholerae*, which is divided into two serogroups - O1 and non-O1 - based on the somatic antigen O. The non-O1 serogroup includes serotypes O2 to O200. *V. cholerae* O1 and *V. cholerae* non-O1/O139 are the causative agents of the severe diarrheal disease called cholera. *V. cholerae* non-O1/non-O139 strains as well as other species of vibrios can cause gastrointestinal and extraintestinal infections in humans.

Water temperature is closely related to their occurrence, and due to global warming, vibrios are becoming emergent pathogens worldwide.

We focused on the occurrence of vibrios in the Topľa and Ondava rivers in eastern Slovakia, where a cholera epidemic occurred in 1970. We took water samples at two intervals in 2022 and identified 24 strains as of *V. cholerae* non-O1/non-O139 and 4 presumptive strains of *V. furnissii* using the ENTEROtest 24 commercial system and culture features on chromogenic medium.

Key Words: *Vibrio cholerae* non-O1/non-O139, *Vibrio furnissii,* environmental vibrio strains

Úvod

Vibriá sú gramnegatívne fakultatívne anaeróbne baktérie vyskytujúce sa vo vodnom prostredí na celom svete. Do rodu *Vibrio* patrí viac ako 140 druhov, vrátane významného humánneho patogéna *Vibrio cholerae* [1]. Tento druh je pôvodcom akútneho hnačkového ochorenia zvaného cholera, ktoré sa prejavuje hlavne častými vodnatými hnačkami a ťažkou dehydratáciou. Zdrojom infekcie je najčastejšie kontaminovaná voda, surové alebo nedostatočne tepelne upravené ryby a morské plody [2]. Od roku 1817 bolo zaznamenaných 7 pandémií cholery [3]. V roku 1970 vypukla na východe Slovenska s epicentrom v obci Vojany epidémia cholery, kedy sa nakazilo a bolo hospitalizovaných 19 osôb s typickým klinickým prejavom cholery. Po tejto udalosti začali doc. Karolček a jeho kolegovia pravidelne monitorovať povrchové vody v povodí Bodrogu (Šírava, Domaša, Topľa, Ondava). Po dobu 15 rokov izolovali kmene *V. cholerae* non-O1, ale aj kmene *V. cholerae* O1, etiologického agens cholery. Čo bolo však zdrojom vtedajšej epidémie cholery na Slovensku nie je dodnes známe [4].

V. cholerae sa na základe somatického antigénu O delí do 2 séroskupín – O1 a non-O1. Séroskupina non-O1 sa ďalej delí na sérotypy O2 až O200. Séroskupina O1 zahŕňa sérotypy Ogawa a Inaba a biotypy klasický a El Tor [5, 6]. Iba *V. cholerae* O1 a *V. cholerae* O139 sú schopné vyvolať choleru, avšak aj to len v prípade, že produkujú cholerový toxín, toxín koregulujúci pilus a regulačný proteín ToxR [7]. Kmene *V. cholerae* non-O1/non-O139 môžu produkovať aditívne toxíny a vyvolať infekcie gastrointestinálneho traktu, infekcie

uší, rán až septikémie a život ohrozujúcu nekrotizujúcu fasciitídu. Infekcie spôsobené *V. cholerae* non-O1/non-O139 sú na vzostupe kvôli globálnemu otepľovaniu [8]. Okrem *V. cholerae*, aj iné druhy vibrií, konkrétne *V. alginolyticus, V. mimicus, V. furnissii, V. fluvialis, V. cincinnatiensis, V. harveyi (syn. V. carchariae), V. metschnikovii, V. parahaemolyticus* a *V. vulnificus* majú klinický význam pre človeka. Môžu spôsobiť intestinálne infekcie, ale nie tak závažné ako cholera, alebo extraintestinálne infekcie, napr. infekcie očí, uší rán až septikémie, a to po kontakte s kontaminovanou vodou [9].

Prípady infekcií vyvolané *Vibrio* sp. boli dokumentované aj na Slovensku. Kmeň *V. cholerae* non-O1/non-O139 neprodukujúci cholerový toxín vyvolal v roku 2017 gastroenteritídu u imunokompetentnej ženy, ktorá sa nakazila požitím kontaminovanej vody zo studne [10]. V roku 2020 bola zaznamenaná jedna infekcia spôsobená *V. fluvialis* a dve infekcie spôsobené *V. furnissii*, pričom iný patogén nebol v klinických vzorkách dokázaný [11].

Vibriá, najmä *V. cholerae* non-O1/non-O139, bývajú pravidelne zachytávané v stojatých a tečúcich vodách Slovenska [12 – 18].

1 Materiál a metódy

1.1 Odber vzoriek vody

V roku 2022 sme vykonali 2 odbery vzoriek vody z riek Topľa a Ondava, a to 24.7. 2022 (1. odber) a 31.10. 2022 (2. odber). Vzorky vody sme odobrali do sterilných 500 ml tmavých sklenených fliaš so zábrusom z odberových miest približne z 20 cm hĺbky asi 2 – 3 metre od brehu, následne boli vzorky vody transportované do laboratória, kde boli ihneď spracované.

1.2 *In situ* stanovenie fyzikálno-chemických parametrov vody

Na každom odbernom mieste sme stanovili fyzikálno-chemické parametre vody (teplota vody, merná elektrická vodivosť a pH). Na meranie uvedených parametrov sme použili kufríkový prístroj WTW Multi 350i s elektródou TetraCon®325 (meranie elektrickej vodivosti) a s elektródou SenTix®41 (meranie pH).

1.3 Stanovenie celkového mikrobiálneho profilu vzoriek vody

Celkový mikrobiálny profil každej vzorky vody bol stanovený v rozsahu: kultivovateľné mikroorganizmy pri 22 °C (KM22), kultivovateľné mikroorganizmy pri 36 °C (KM36), koliformné baktérie (KB), termotolerantné koliformné baktérie (TKB) a črevné enterokoky (EK) podľa Häuslera [19]. Zistené hodnoty boli porovnané s limitnými hodnotami pre povrchové vody uvedené v Prílohe č. 1 Nariadenia vlády č. 269/2010 Z. z. [20].

1.4 Izolácia problémových baktérií zo vzoriek vody

Na izoláciu problémových baktérií zo vzorky vody bola použitá kultivácia 400 ml vzorky vody v 100 ml 5-krát koncentrovanej alkalickej peptónovej vody (APV) (HiMedia Laboratories, India) s pH 9,0 pri teplote 37 °C. V časových intervaloch 6, 12 a 24 hodín, pre 1. odber, a 8 a 20 hodín, pre druhý odber, bola pomocou sterilnej bakteriologickej kľučky odobraná bakteriálna kultúra z vrchnej vrstvy tekutej pôdy a následne bola vyočkovaná na tuhé selektívne médium TCBS agar (Thiosulfate-citrate-bile salts-sucrose agar) (HiMedia Laboratories, India). Kultivácia na TCBS médiu prebiehala pri teplote 37 °C 48 hodín. Z kultúry bolo vybraných niekoľko suspektných kolónií (okrúhle žlté kolónie s priemerom 2 – 3 mm), ktoré boli preočkované samostatne na živné tuhé médium Mueller-Hinton agar (MHA) (HiMedia Laboratories, India) za účelom získania čistých kultúr. Kultivácia na MHA prebiehala pri teplote 37 °C 24 hodín.

1.5 Oxidázový test

Na impregnovanú zónu prúžku oxidázového testu (Erba Lachema, Česká republika) sme nakvapkali cca 10 µl činidla pre test oxidáza (Erba Lachema, Česká republika) a následne sme vysterilizovanou bakteriologickou kľučkou odobrali 1 dobre izolovanú kolóniu z čistej 24 hodinovej kultúry z MHA a naniesli ju na impregnovanú zónu prúžku. Výsledok testu sme odčítali do 1 minúty. Ako pozitívnu kontrolu sme použili kmeň *Pseudomonas aeruginosa* CCM 1960, ako negatívnu kontrolu sme použili kmeň *Escherichia coli* CCM 3954.

1.6 Biochemická identifikácia kmeňov

Biochemická identifikácia kmeňov bola vykonaná komerčným systémom ENTEROtest 24 (Erba Lachema, Česká republika) podľa pokynov výrobcu. Testy boli vyhodnotené programom TNW Lite CZ 7.0 (Erba Lachema, Česká republika).

1.7 Kultivácia na chromogénnom médiu

Ako dodatočné potvrdenie druhovej identifikácie prípadne odlíšenie nejednoznačne identifikovaných druhov sme použili kultiváciu izolátov

na chromogénnom médiu Chromatic™ Vibrio (Liofilchem, Taliansko), na ktorom *V. cholerae* vytvára zelenomodré až tyrkysové kolónie.

1.8 Sérotypizácia

Na určenie séroskupiny resp. sérotypu izolátov identifikovaných ako *V. cholerae* sme použili sklíčkový aglutinačný test s použitím polyvalentného antiséra *V. cholerae* O1 a monovalentného antiséra *V. cholerae* O139 (Denka Seiken, Japonsko).

2 Výsledky a diskusia

Analyzované boli celkovo 2 vzorky vody rieky Topľa a 2 vzorky vody rieky Ondava získané z dvoch odberov vykonaných 24.7. 2022 (1. odber) a 31.10. 2022 (2. odber).

Fyzikálno-chemické parametre jednotlivých vzoriek vody sú uvedené v tabuľke 1.

Tab. 1 Fyzikálno-chemické parametre jednotlivých vzoriek vody

	Teplota vody [°C]	pH	EC [ms/m]
Topľa 24.7. 2022	25,9	7,955	52,0
Ondava 24.7. 2022	26,4	7,865	37,7
Topľa 31.10. 2022	12,6	7,807	63,7
Ondava 31.10. 2022	13,3	7,865	40,4

Vysvetlivky: EC – elektrická vodivosť

Mikrobiálny profil všetkých štyroch vzoriek vody bol stanovený ihneď po transportovaní vzoriek do laboratória. Pre každé odberové miesto boli použité dve paralelné Petriho misky, z ktorých boli vypočítané priemerné hodnoty. Limity stanovené Nariadením vlády č. 269/2010 Z. z. neboli prekročené pri žiadnom z mikrobiologických ukazovateľov (tab. 2).

Tab. 2 Mikrobiálny profil vzoriek vody

	KM22	KB	TKB	EK
Limit / Odber	**5000**	**100**	**20**	**10**
Topľa 24.7. 2022	253	49	0	0
Ondava 24.7. 2022	30	51	4	0
Topľa 31.10. 2022	126	13	0	0
Ondava 31.10. 2022	200	25	2	2

Celkovo sme získali 55 suspektných izolátov, z toho 16 izolátov pochádzalo z 1. odberu z Topli, 22 izolátov z 1. odberu z Ondavy a z 2. odberu sme získali 8 suspektných izolátov z Topli a 9 izolátov z Ondavy.

Všetky izoláty boli oxidáza pozitívne.

Identifikačným systémom ENTEROtest 24 sme identifikovali 24 izolátov ako *V. cholerae* (tab. 3).

Tab. 3: Výsledky identifikácie izolátov z rieky Topľa a Ondava diagnostickým kitom ENTEROtest 24 (Erba Lachema, Česká republika)

č.	Izolát	Čas	Identifikácia	ID	T-index
1.	T8/7/22	12 h	*V. cholerae*	61,27	0,44
2.	T13/7/22	24 h	*V. cholerae*	99,22	0,91
3.	T14/7/22	24 h	*V. cholerae*	99,22	0,91
4.	T15/7/22	24 h	*V. cholerae*	99,22	0,91
5.	T16/7/22	24 h	*V. cholerae*	47,45	0,58
6.	T18/7/22	24 h	*V. cholerae*	64,92	0,59
7.	O3/7/22	6 h	*V. cholerae*	99,22	0,91
8.	O4/7/22	6 h	*V. cholerae*	99,22	0,91
9.	O10/7/22	12 h	*V. cholerae*	99,22	0,91
10.	O11/7/22	12 h	*V. cholerae*	99,22	0,91
11.	O14/7/22	12 h	*V. cholerae*	64,92	0,59
12.	O15/7/22	12 h	*V. cholerae*	99,22	0,91
13.	O16/7/22	12 h	*V. cholerae*	99,22	0,91
14.	O17/7/22	12 h	*V. cholerae*	99,22	0,91
15.	O18/7/22	12 h	*V. cholerae*	99,22	0,91
16.	O19/7/22	24 h	*V. cholerae*	99,22	0,91
17.	O20/7/22	24 h	*V. cholerae*	99,22	0,91
18.	O21/7/22	24 h	*V. cholerae*	99,22	0,91
19.	O22/7/22	24 h	*V. cholerae*	99,22	0,91
20.	O23/7/22	24 h	*V. cholerae*	54,79	0,58
21.	O6/10/22	8 h	*V. cholerae*	99,22	0,91
22.	O7/10/22	20 h	*V. cholerae*	99,22	0,91
23.	O8/10/22	20 h	*V. cholerae*	98,04	1,00
24.	O9/10/22	20 h	*V. cholerae*	98,04	1,00

Zo zvyšných 31 izolátov, bolo 27 izolátov identifikovaných ako *Aeromonas* sp., 3 izoláty boli identifikované ako *V. furnissii* s ID 42,79 a T-indexom 0,66 a 1 izolát ako *V. furnissii* s ID 72,05 a T-indexom 0,99.

Všetky izoláty *V. cholerae* rástli na chromogénnom médiu ako modrozelené kolónie, čo je pre tento druh typické.

Žiadny z izolátov *V. cholerae* neaglutinoval ani s jedným antisérom, takže všetky izolované kmene *V. cholerae* sú *V. cholerae* non-O1/non-O139.

V. cholerae non-O1/non-O139 sme neizolovali zo vzorky vody z Topli z 2. odberu, hoci sme vybrali 8

suspektných izolátov, všetky boli identifikované ako *Aeromonas* sp. Aeromonády a vibriá majú spoločné niektoré vlastnosti, a síce produkujú cytochrómoxidázu, vyskytujú sa v akvatickom prostredí a vyvolávajú rovnaké spektrum ochorení [21]. Kedysi dokonca patrili do rovnakej čeľade – *Vibrionaceae*. Aeromonády dokážu prežívať pri nízkych teplotách (2 – 10 °C) [22], zatiaľ čo vibriá sa bežnejšie vyskytujú v teplejších vodách s teplotou nad 15 °C [23]. Nízka teplota, ale aj výkyvy pH, salinity, prípadne prítomnosť antimikrobiálnych látok, môžu u vibrií indukovať reverzibilný stav, kedy sú baktérie viabilné, ale nekultivovateľné (VBNC, z angl. *viable nut non-cultivable*) [24, 25], čo môže byť príčinou neúspešnej izolácie baktérií zo vzorky z Topli, kedy teplota vody bola 12,6 °C.

U kmeňov bude dôležité stanoviť faktory virulencie, a teda ich patogénny potenciál.

Záver

Z rieky Topľa a Ondava sme počas dvoch odberov (24.7. 2022 a 31.10. 2022) izolovali a identifikovali 24 izolátov *V. cholerae* non-O1/non-O139 a 4 prezumptívne kmene *V. furnissii*. Potrebné sú detailnejšie štúdie izolátov, zahŕňajúc determináciu faktorov virulencie, a pravidelné monitorovanie vodných zdrojov Slovenska s cieľom definovať potenciálne zdroje infekcie, ktoré sa môžu vzhľadom na globálne otepľovanie vyskytovať častejšie.

Poďakovanie

Výskum bol realizovaný s podporou grantu FPPV-23-2022 pridelený Fakultou prírodných vied Univerzity sv. Cyrila a Metoda v Trnave.

Použitá literatúra

[1] JANDA, J. Michael. 2020. Clinical Decisions: Detecting Vibriosis in the Modern Era. In Clinical microbiology newsletter, vol. 42, no. 6, pp. 45-50. ISSN 0196-4399.

[2] DANIELS, Nicholas A. et al. 2000. A Review of Pathogenic *Vibrio* Infections for Clinicians. In Infections in medicine, vol. 17, no. 10, pp. 665–685. ISSN 0749-6524.

[3] HU, Dalong et al. 2016. Origins of the current seventh cholera pandemic. In Proceedings of the National Academy of Sciences, vol. 113, no. 48. ISSN 1091-6490.

[4] SEMAN, Milan. 2005.Vtedy na Východe. In Bulletin Československej spoločnosti mikrobiologickej, vol. 46, no. 2-3, pp. 142-147. ISSN 0009-0646.

[5] KAPER, JAMES B. et al. 1995. Cholera. In Clinical Microbiology Reviews, vol. 8, no. 1, pp. 48-86. ISSN 0893-8512.

[6] OLIVER, J. D. – PRUZZO, C. – VEZZULLI, L. et al. Vibrio Species. In DOYLE, Michael P. – BUCHANAN, Robert L. Food Microbiology: Fundamentals and Frontiers, 4. vyd. USA: ASM Press, 2013, s 401-419. ISBN 978-1-55581-626-1.

[7] CHEASTY, Tom. 2006. Vibrio spp. In GILLESPIE, Stephen H. – HAWKEY, Peter M., Principles and Practice of Clinical Bacteriology. 2. vydanie. Chichester: John Wiley & Sons Ltd, s. 407-417. ISBN 9780470849767

[8] VEZZULLI, Luigi et al. 2020. Global emergence of environmental non-O1/O139 Vibrio cholerae infections linked with climate change: a neglected research field? In Environmental Microbiology, vol. 22, no. 10, pp. 4342–4355. ISSN 1462-2920.

[9] BAKER-AUSTIN, Craig et al. 2018. Vibrio spp. Infections. In Nature Reviews Disease Primers, vol. 4, no. 8. ISSN 2056-676X.

[10] LACKOVÁ, Daniela et al. 2018. Ojedinelý prípad infekcie spôsobenej Vibrio cholerae non-O1, non-O139 v klinickej praxi na Slovensku In Newslab, vol. 9, no. 1, pp. 50-53.

[11] Sumárna správa o zoonózach, alimentárnych nákazách a nákazách z vody v Slovenskej republike za rok 2020 [online]. Ministerstvo pôdohospodárstva a rozvoja vidieka Slovenskej republiky, 2021 [cit. 11.5.2021]. Dostupné z: https://www.mpsr.sk/download.php?fID=21024

[12] Sumárna správa o zoonózach, alimentárnych nákazách a nákazách z vody v Slovenskej republike za rok 2014 [online]. Ministerstvo pôdohospodárstva a rozvoja vidieka Slovenskej republiky, 2016 [cit. 29.5.2020]. Dostupné z: https://www.mpsr.sk/download.php?fID=10484

[13] Sumárna správa o zoonózach, alimentárnych nákazách a nákazách z vody v Slovenskej republike za rok 2015 [online]. Ministerstvo pôdohospodárstva a rozvoja vidieka Slovenskej republiky, 2016 [cit. 1.5.2021]. Dostupné z: https://www.mpsr.sk/download.php?fID=12048

[14] Sumárna správa o zoonózach, alimentárnych nákazách a nákazách z vody v Slovenskej republike za rok 2016 [online]. Ministerstvo pôdohospodárstva a rozvoja vidieka Slovenskej

republiky, 2017 [cit. 1.5.2021]. Dostupné z: www.mpsr.sk/download.php?fID=13738
[15] Sumárna správa o zoonózach, alimentárnych nákazách a nákazách z vody v Slovenskej republike za rok 2017 [online]. Ministerstvo pôdohospodárstva a rozvoja vidieka Slovenskej republiky, 2018 [cit. 1.5.2021]. Dostupné z: https://www.mpsr.sk/download.php?fID=15509
[16] Sumárna správa o zoonózach, alimentárnych nákazách a nákazách z vody v Slovenskej republike za rok 2018 [online]. Ministerstvo pôdohospodárstva a rozvoja vidieka Slovenskej republiky, 2019 [cit. 1.5.2021]. Dostupné z: www.mpsr.sk/download.php?fID=18397
[17] Sumárna správa o zoonózach, alimentárnych nákazách a nákazách z vody v Slovenskej republike za rok 2019 [online]. Ministerstvo pôdohospodárstva a rozvoja vidieka Slovenskej republiky, 2020 [cit. 1.5.2021]. Dostupné z: https://www.mpsr.sk/download.php?fID=19552
[18] Výročná správa Národných referenčných centier zriadených na báze ÚVZ SR a RÚVZ SR za rok 2019 [online]. Úrad verejného zdravotníctva SR, 2020 [cit. 11.2.2021]. Dostupné z: https://www.uvzsr.sk/docs/vs/Vyrocna_sprava_NRC_2019.pdf
[19] HÄUSLER Jiří. 1995: Mikrobiologické kultivační metody kontroly jakosti vody: Stanovení mikrobiologických ukazatelů. Díl III. Praha: Ministerstvo zemědelství České republiky, 408 s.
[20] Príloha č. 1 k nariadeniu vlády č. 269/2010 Z. z. Nariadenie vlády Slovenskej republiky, ktorým sa ustanovujú požiadavky na dosiahnutie dobrého stavu vôd
[21] LIU, Dongyou. Aeromonas. In TANG, Yi-Wei et al. Molecular Medical Microbiology. 2nd Ed. Academic Press, 2015, p. 1099-1110. ISBN 978-0-12-397169-2.
[22] FERNÁNDEZ-BRAVO, Ana et al. 2020. An Update on the Genus Aeromonas: Taxonomy, Epidemiology, and Pathogenicity. In Microorganisms, vol. 8, iss. 1. ISSN 2076-2607.
[23] LE ROUX, Frederique et al. 2015. The emergence of Vibrio pathogens in Europe: ecology, evolution, and pathogenesis (Paris, 11–12th March 2015). In Frontiers in Microbiology, vol. 6. ISSN 1664-302X.
[24] THOMPSON, Fabiano L. et al. 2004. Biodiversity of Vibrios. In Microbiology And Molecular Biology Reviews, vol. 68, no. 3, pp. 403-431. ISSN 1092-2172.
[25] JOHNSON, Crystal N. 2013. Fitness Factoris in Vibrios: a Mini-review. In Microbial Ecology, vol. 65, iss. 4, pp. 826–851. ISSN 0095-3628.

Rozsiahle biotechnologické využitie bičíkovca *Euglena gracilis*

Broad biotechnological utilization of the flagellate *Euglena gracilis*

Diana Lihanová[1]
Školiteľ: Matej Vesteg[2]
[1,2]Katedra biológie a ekológie, FPV UMB, Tajovského 40, 97401 Banská Bystrica,
[1] diana.lihanova@umb.sk, [2] matej.vesteg@umb.sk

Abstrakt

Euglena gracilis je sladkovodný bičíkovec vhodný na štúdium biologických účinkov rôznych organických a anorganických látok a pre hodnotenie ekotoxikologického rizika. Jedným zo sledovaných polutantov v priemyselných odpadových vodách je fenol. Ovplyvňovanie fenolom vedie k morfologickým zmenám v bunke a tiež k indukovaniu atypickej formy bunkového delenia, pri ktorom súčasne vznikajú viac ako dve (3–12) životaschopné bunky z jednej bunky. Vďaka svojej schopnosti akumulovať ťažké kovy môže byť riasa *E. gracilis* využitá na bioremediácie. Okrem toho je prírodným zdrojom bioproduktov, ako sú (pro)vitamíny, voskové estery, polynenasýtené mastné kyseliny a paramylon (β-1,3-glukán). Jedným z najväčších obmedzení pestovania *E. gracilis* vo veľkom je jej neschopnosť syntetizovať vitamíny B_1 a B_{12}. Tejto nevýhode je možné sa vyhnúť spoločnou kultiváciou tohto bičíkovca s inými mikroorganizmami, ktoré dokážu syntetizovať dostatočné množstvo týchto vitamínov. Takéto kokultúry sa môžu využiť aj na efektívnu akumuláciu (bioflokuláciu) a zber biomasy.

Kľúčové slová: *Euglena gracilis*, bioremediácia, bioprodukty, kokultúry

Abstract

Euglena gracilis is a freshwater flagellate suitable for the study of biological effects of organic and inorganic substances, and for ecotoxicological risk assessment. Phenol is one of the monitored pollutants in industrial wastewater. The influence of phenol leads to morphological changes in the cell and also to the induction of an atypical form of cell division producing more than two (3–12) viable cells from one cell. Due to its ability to accumulate heavy metals, *E. gracilis* can be used for bioremediation. In addition, it is a natural source of bioproducts such as (pro)vitamins, wax esters, polyunsaturated fatty acids and paramylon (β-1,3-glucan). One of the highest limitations of large-scale cultivation of *E. gracilis* is its inability to synthesize vitamins B_1 and B_{12}. This disadvantage can be avoided by co-cultivating this alga with other microorganisms that can synthesize sufficient amounts of vitamins B_1 and B_{12}. Such co-cultures can be used for efficient biomass accumulation and harvesting by bioflocculation.

Key Words: *Euglena gracilis,* bioremediation, bioproducts, cocultures

Úvod

Euglena gracilis je hojne rozšírený jednobunkovec patriaci spolu s diplonemidmi, symbiontidmi a kinetoplastidmi (trypanozomatídy a bodonidy) do kmeňa Euglenozoa [1]. *E. gracilis* môže žiť ako fotoautotrof vďaka sekundárnym chloroplastom, ktoré vznikli zo zelenej riasy [2, 3], ako heterotrof využívajúc zdroje organického uhlíka dostupného v životnom prostredí alebo mixotrof kombinujúci oba spôsoby výživy [1, 4, 5, 6]. *E. gracilis* sa používa ako modelový bičíkovec pre rôzne molekulárno-biologické a evolučné štúdie. Je schopný tolerovať rôzne zmeny v podmienkach prostredia vrátane širokého rozpätia pH, teploty, koncentrácie kyslíka, salinity a tiež ionizujúceho žiarenia [7, 8, 9]. *E. gracilis* je tiež vhodným modelovým organizmom na sledovanie biologického účinku rôznych environmentálnych polutantov, akými sú kadmium, meď, chróm [10, 11], organické zlúčeniny cínu (TBT) a monocyklické aromatické uhľovodíky (MAHs) – benzén, toluén, etylbenzén a xylény [12, 13]. Mnohé chemické zlúčeniny (napr. antibiotiká), ale aj niektoré fyzikálne činitele (UV, vysoká teplota) spôsobujú u *E. gracilis* stratu plastidových génov spojenú s trvalou stratou schopnosti fotosyntézy – jav známy ako „vybieľovanie“ (z angl. bleaching) [14, 15, 16]. Výhodou tohto bičíkovca pre biotechnologické využitie je rýchly rast a veľká produkcia biomasy v rôznych podmienkach. Preto má tento prvok množstvo biotechnologických aplikácií vrátane hodnotenia ekotoxikologického rizika, bioremediácie a prirodzenej produkcie rôznych biotechnologicky dôležitých zlúčenín, ako sú paramylon

a estery voskov použiteľné pri výrobe biopalív [17]. Výberom vhodných podmienok rastu je možné jednoducho stimulovať produkciu požadovaných metabolitov s biotechnologickým využitím. Tento príspevok poskytuje stručný prehľad o *E. gracilis* ako modelovom organizme pre hodnotenie ekotoxikologického rizika a bioremediáciu, ako prírodný zdroj biotechnologicky dôležitých produktov, ako aj veľkoplošné pestovanie a zber *E. gracilis.*

1 Využitie *E. gracilis* pre hodnotenie ekotoxikologického rizika

Jedným z najvážnejších globálnych problémov je zvyšovanie znečistenia ovzdušia, vody a pôdy. Morské, ale aj sladkovodné ekosystémy a vodné nádrže sú kontaminované najmä antropogénnou činnosťou – domovým, priemyselným a poľnohospodárskym odpadom a odpadovými vodami. Na hodnotenie ekotoxikologického rizika rôznych znečisťujúcich látok sú často používané mikroriasy.

Vďaka krátkemu generačnému času, ľahkej kultivácii, citlivosti a rýchlej reakcii na polutanty a iné environmentálne stresové faktory spĺňa *E. gracilis* všetky kritériá pre vývoj ekotoxikologických testov [18]. Automatický biotest ECOTOX sleduje zmeny pohybových parametrov *E. gracilis* spôsobené rôznymi faktormi. Parametre merané ECOTOXom zahŕňajú orientáciu v gravitačnom poli, pohyblivosť a rýchlosť pohybu buniek [19, 20]. Tento biotest bol použitý na biologické hodnotenie kvality ody [21, 22] a na hodnotenie vplyvu rôznych látok na *E. gracilis*, ako je meď [18], arzén [23], herbicídy [24], bežne používané hnojivá ako fosforečnan amónny a močovina [25], pesticídy karbofurán a malatión [26], čistiace prostriedky na pranie a umývanie riadu [27, 28, 29]. Oxid grafénu napr. inhibuje rast *E. gracilis* a zvyšuje aktivitu antioxidačných enzýmov [30], prací prostriedok Ariel (Procter & Gamble GmbH, Nemecko) znižuje koncentráciu chlorofylu *a* a karotenoidov [31, 27, 28]. Efektivitu fotosyntézy znižujú ťažké kovy ako meď, nikel, olovo a zinok [32], ako aj nanočastice striebra [33].

E. gracilis sa tiež využíva ako model pre štúdium biologického účinku monocyklických aromatických uhľovodíkov (MAH), bežných organických priemyselných polutantov, ako je benzén [12], toluén, etylbenzén a xylény a ich zmes – BTEX [13]. Zatiaľ čo niektoré faktory ako UV, vysoká teplota a väčšina antibiotík spôsobujú trvalú ireverzibilnú stratu fotosyntetickej schopnosti (vybieľovanie) [14, 15, 16], typické odpovede *E. gracilis* na benzén, toluén a xylén zahŕňajú nepravidelný tvar buniek, hypertrofiu (zväčšenie buniek), intracelulárnu tvorbu granúl lipofuscínu a znížený obsah chlorofylu [12, 13], ale nie trvalé vybielenie chloroplastov spojené so stratou plastidových génov. V našich štúdiách [34, 35] sme sa rozhodli sledovať krátkodobý (1 h, 24 h) aj dlhodobý účinok (3, 7, 10 a 14 dní) ďalšej monocyklickej aromatickej zlúčeniny – fenolu – na *E. gracilis.* Experimentálne bolo zistené, že dlhodobý účinok je možné sledovať pomocou uvedených koncentrácií fenolu: 3,81 mM (358,38 µg/l), 4,23 mM (398,01 µg/l), 4,65 mM (437,59 µg/l), 5,07 mM (477,14 ug/l), 5,49 mM (516,64 ug/l). Rýchlosť rastu *E. gracilis* vo všeobecnosti klesala so zvyšujúcou sa koncentráciou fenolu. Po ošetrení akoukoľvek vybranou koncentráciou fenolu počas akéhokoľvek zvoleného časového obdobia neboli pozorované žiadne vybielené bunky. Medzi charakteristické morfologické zmeny vyvolané fenolom patrili sférické bunky, hypertrofné a enormne zväčšené („monster“) bunky, ako aj tvorba lipofuscínových teliesok [34, 35]. Tieto reakcie sú dosť podobné reakciám *E. gracilis* na iné arény alebo ich zmesi [12, 13]. Najzaujímavejšou odpoveďou *E. gracilis* na pôsobenie fenolu bolo atypické delenie buniek na viac ako dve dcérske bunky (3–12), ktoré sú spojené zadnými koncami a vytvárajú charakteristické symetrické štruktúry podobné „hviezdam“ (Obr. 1). *E. gracilis* sa nepohlavne rozmnožuje uzavretou mitózou bez zániku jadrovej membrány a centrálne umiestneného jadierka a pozdĺžnym binárnym delením. Viacerí autori však tiež pozorovali rovnaké atypické bunkové delenie na viac ako dve bunky. Atypické bunkové delenie bolo pozorované po ošetrení buniek kumarínom [36] a šesťmocným chrómom [37], ako aj v niekoľko týždňov starých kultúrach *E. gracilis* [38].

Obr. 1 Atypické delenie buniek *E. gracilis* na viac ako dve dcérske bunky
Zdroj: [34]

E. gracilis teda môže byť vhodným kandidátom na monitorovanie monocyklických aromatických uhľovodíkov v podzemných vodách [12, 13]. Na druhej strane kyselina 4-hydroxy-3-metoxybenzoová, ktorá je produktom degradácie lignínu, ktorý sa hojne vyskytuje v odpade z poľnohospodárskych rastlín, zvyšuje výnos biomasy a obsah lipidov v bunkách *E. gracilis* [39].

2 Bioremediačné využitie *E. gracilis*

Riasy môžu byť využité na odstraňovanie CO_2 z atmosféry a fytoremediáciu vody [40]. Na odstraňovanie polutantov z vody možno použiť rôzne mikroriasy, spoločenstvá mikrorias, ako aj spoločenstvá mikrorias a baktérií [41].

V súčasnosti rastie dopyt po odstraňovaní živín, najmä fosforu, dusíka a organického uhlíka z odpadových vôd, ako aj zo znečistených rybníkov a jazier s cieľom zabrániť eutrofizácii. *E. gracilis* dokáže využiť rozpustený organický uhlík a dusík z odpadových vôd, čo môže byť spojené s efektívnou produkciou biomasy [42, 43]. Biomasa rias produkovaná regeneráciou živín z kontaminovanej vody sa môže následne použiť na výrobu biopalív [44], kŕmenie zvierat a v poľnohospodárstve [45].

Okrem baktérií a rastlín [46] sú mikroriasy sľubnými organizmami aj pre bioremediáciu ťažkých kovov [47], keďže niektoré druhy rias môžu viazať až 10 % svojej biomasy ako kovy [48]. *E. gracilis* môže internalizovať rôzne ťažké kovy, napr. zinok (Zn), meď (Cu) a chróm (Cr) [49]. Dokáže akumulovať arzén, a preto sa odporúča na jeho odstránenie z vody [23]. Khatiwada a kol. [50] nedávno skúmali toleranciu a akumuláciu kadmia (Cd), olova (Pb) a ortuti (Hg) v biomase *E. gracilis* a zistili, že toleruje výrazne vyššie koncentrácie týchto ťažkých kovov ako iné mikroriasy. *E. gracilis* môže tiež akumulovať polystyrénové mikroplasty v cytosóle a chloroplastoch [51]. Je teda pravdepodobné, že tento bičíkovec možno použiť aj na sanáciu častíc mikroplastov z vody.

3 *E. gracilis* ako prírodný zdroj bioproduktov

E. gracilis syntetizuje množstvo biotechnologicky dôležitých zlúčenín, ktoré možno využiť pri výrobe kozmetických prípravkov, výživových doplnkov, liečiv, biopalív a biomateriálov. Tento bičíkovec produkuje relatívne vysoké množstvá provitamínu A (β-karotén), vitamínu C (askorbát) a vitamínu E (α-tokoferol) v porovnaní s inými organizmami produkujúcimi tieto (pro)vitamíny (Tabuľka č. 1). Možno ho tiež využiť aj ako zdroj polynenasýtených mastných kyselín a bielkovín obsahujúcich všetky esenciálne aminokyseliny [52, 6, 53]. Veľmi zaujímavé je použitie *E. gracilis* ako potenciálneho prebiotika novej generácie, keďže stimuluje rast probiotických baktérií rodu *Lactobacillus* [54]. *E. gracilis* môže produkovať veľké množstvá svojho zásobného polysacharidu paramylonu (β-1,3-glukán) s imunostimulačnými účinkami a širokým využitím v medicíne, ako aj voskové estery, ktoré možno použiť ako surovinu pre výrobu biopalív. Množstvá a pomery všetkých týchto látok závisia od kultivačných podmienok – svetelný režim, dostupnosť dusíka, typ zdroja uhlíka a množstvo prevzdušnenia [55, 52, 6]. Produkcia paramylonu je napr. stimulovaná za aeróbnych podmienok, pričom paramylon môže tvoriť až 90 % sušiny buniek [56].

4 Pestovanie *E. gracilis* vo veľkom a zber biomasy

Vysoké výnosy biotechnologicky dôležitých zlúčenín produkovaných bičíkovcom *E. gracilis* je možné získať len z obrovského množstva jeho biomasy. Vysoká produkcia biomasy si vyžaduje pestovanie vo veľkých otvorených alebo uzavretých kultivačných systémoch. Vývoj efektívnych metód zberu biomasy je nevyhnutný pre extrakciu komerčne zaujímavého množstva metabolitov s pridanou hodnotou.

Kmene divokého typu *E. gracilis* nedokážu syntetizovať vitamíny B_1 (tiamín) a B_{12} (kobalamín), ktoré sú nevyhnutné pre jeho rast a musia sa pridávať do kultivačných médií. Hoci koncentrácie týchto vitamínov potrebných pre rast sú dosť nízke, cena týchto vitamínov je naopak vysoká. Jednou z možností je zavedenie génov kódujúcich enzýmy, ktoré syntetizujú tieto vitamíny do genómu *E. gracilis*, čím by sa vitamínová auxotrofia stratila a náklady na pestovanie vo veľkom meradle by sa dramaticky znížili. Na druhej strane, využívanie geneticky modifikovaných organizmov, najmä mikroorganizmov, je vo väčšine krajín pod prísnou legislatívnou kontrolou. Únik geneticky modifikovaných mikroorganizmov do prírody vždy predstavuje potenciálne biologické nebezpečenstvo, pretože takéto kmene môžu vytlačiť z ekosystémov prirodzené divoké kmene a spôsobiť ich vyhynutie. Celkový vplyv geneticky modifikovaných mikroorganizmov na prirodzené ekosystémy je do veľkej miery nepredvídateľný. Preto odporúčame pestovať geneticky modifikované kmene *E. gracilis* radšej len v uzavretých veľkoplošných kultivačných systémoch (bioreaktoroch) s minimálnym rizikom úniku do prírody.

Ďalšou možnosťou, ako prekonať vitamínovú auxotrofiu, je kokultivácia *E. gracilis* s inými mikroorganizmami, ktoré dokážu produkovať

dostatočné množstvo vitamínov B_1 a B_{12} potrebných pre rast tohto bičíkovca. Nedávno sme vyselektovali zmiešanú kultúru *E. gracilis* obsahujúcu mikromycétu *Cladosporium westerdijkiae* a baktérie *Lysinibacillus boronitolerans* a *Pseudobacillus badius*, v ktorých *E. gracilis* môže rásť bez akéhokoľvek pridávania vitamínov B_1 a B_{12} po dlhú dobu [57]. Veľké množstvo buniek *E. gracilis* je v tejto kokultúre prichytené k hýfam *C. westerdijkiae* bičíkmi (obr. 2). Toto pripojenie k mycéliám húb poskytuje prirodzený mechanizmus bioflokulácie biomasy *E. gracilis* [57]. Navyše, koncentrácia buniek *E. gracilis* v tejto kokultúre preočkovanej do sterilného média bez prídavku vitamínov každé dva týždne po pol roku dosiahla 2×10^7 buniek na ml [57], čo bolo 10-krát viac ako približné maximálne koncentrácie buniek (2×10^6 buniek na ml) všeobecne pozorované v axenických kultúrach zásobených vitamínmi vo fáze exponenciálneho rastu po približne jednom týždni kultivácie (s počiatočnou inokuláciou 5×10^3 buniek na ml) [16]. Tieto kokultúry je teda možné použiť na kultiváciu *E. gracilis* vo veľkom a produkciu jej vysokého množstva biomasy bez pridávania drahých vitamínov. Podobné symbiotické vzťahy *E. gracilis* s inými mikroorganizmami, ktoré jej dodávajú vitamíny, sa pravdepodobne vyskytujú v prirodzených ekosystémoch, a preto takéto zmiešané kokultúry nepredstavujú žiadne riziko pre životné prostredie. Kokultúry je teda možné pestovať v otvorených kontajneroch alebo jazierkach a dokonca ich možno vysádzať do kontaminovaných ekosystémov za účelom bioremediácie. Využitie *E. gracilis* na bioremediáciu, t. j. odstraňovanie ťažkých kovov, amónia, fosfátov alebo organického uhlíka a dusíka z vody, musí byť spojené s následným zberom biomasy, aby sa odstránili ťažké kovy viazané v biomase a/alebo aby sa zabránilo ďalším kolám eutrofizácie a znečistenia. Bioflokulovaná hubovo-riasová biomasa sa dá jednoducho zozbierať sieťami a môže sa recyklovať, napr. použitím na výrobu biopalív.

Poďakovanie

Touto cestou by som sa rada poďakovala doc. Mgr. Matejovi Vestegovi, PhD., za poskytnutie cenných informácií, za jeho čas a trpezlivosť. Tento projekt je financovaný z grantu VEGA 1/0694/2021.

Použitá literatúra

[1] VESTEG, Matej et al. 2019. Comparative molecular cell biology of phototrophic euglenids and parasitic trypanosomatids sheds light on the ancestor of Euglenozoa. In Biological Reviews, vol. 94, no. 5, pp. 1701-1721.

[2] TURMEL, Monique, OTIS, Christian, LEMIEUX, Claude. 2009. The chloroplast genomes of the green algae *Pedinomonas minor*, *Parachlorella kessleri*, and *Oocystis solitaria* reveal a shared ancestry between the Pedinomonadales and Chlorellales. In Molecular Biology and Evolution, vol. 26, no. 10, pp. 2317-2331.

[3] VESTEG, Matej, KRAJČOVIČ, Juraj. The origin of Eukarya as a stress response of two-membrane-bounded sexual pre-karyote to an aggressive alphaproteobacterial periplasmic infection. In Symbioses and Stress: Joint Ventures in Biology. 2010. pp. 63-81. ISBN 978-90-481-9449-0.

[4] MATEÁŠIKOVÁ-KOVÁČOVÁ, Bianka et al. 2012. Nucleus-encoded mRNA s for chloroplast proteins GapA, PetA, and PsbO are trans-spliced in the flagellate *Euglena gracilis* irrespective of light and plastid function. In Journal of Eukaryotic Microbiology, vol. 59, no. 6, pp. 651-653.

[5] KRNÁČOVÁ, Katarína et al. 2015. Characterization of oxidative phosphorylation enzymes in *Euglena gracilis* and its white mutant strain WgmZOflL. In FEBS Letters, vol. 589, no. 6, pp. 687-694.

[6] GISSIBL, Alexander et al. 2019. Bioproducts from *Euglena gracilis*: synthesis and applications. In Frontiers in Bioengineering and Biotechnology, vol. 7, no. 108.

[7] RICHTER, Peter et al. 2003. Effects of increased salinity on gravitaxis in *Euglena gracilis*. In Journal of Plant Physiology, vol. 160, no. 6, pp. 651-656.

[8] HAYASHI, Hirotaka et al. 2004. Light dependency of resistance to ionizing radiation in *Euglena gracilis*. In Journal of Plant Physiology, vol. 161, no. 10, pp. 1101-1106.

[9] GARCÍA-GARCÍA, J. D. et al. 2018. Nickel accumulation by the green algae-like *Euglena gracilis*. In Journal of Hazardous Materials, vol. 343, no. 39, pp. 10-18.

[10] STALLWITZ, Elke, HÄDERT, Donat Peter. 1993. Motility and phototactic orientation of the flagellate *Euglena gracilis* impaired by heavy metal ions. In Journal of Photochemistry and Photobiology B: Biology, vol. 18, no. 1, pp. 67-74.

[11] ROCCHETTA, Iara, KÜPPER, Hendrik. 2009. Chromium-and copper-induced inhibition of photosynthesis in *Euglena gracilis* analysed on the single-cell level by fluorescence kinetic microscopy. In New Phytologist, vol. 182, no. 2, pp. 405-420.

[12] PENG, Cheng et al. 2013. Assessing benzene-induced toxicity on wild type *Euglena gracilis* Z and its mutant strain SMZ. In Chemosphere, vol. 93, no. 10, pp. 2381-2389.

[13] PENG, Cheng et al. 2015. Toxic effects of individual and combined effects of BTEX on *Euglena gracilis.* In Journal of Hazardous Materials, vol. 284, no. 24, pp. 10-18.

[14] KRAJČOVIČ, Juraj, EBRINGER, Libor, SCHWARTZBACH, Steven, D. Reversion of endosymbiosis? The case of bleaching in *Euglena*. In Symbiosis: Mechanisms and Model Systems, vol. 4. Springer, Dordrecht, 2001, pp. 185-206. ISBN 978-0-306-48173-4.

[15] HADARIOVÁ, Lucia et al. 2018. Reductive evolution of chloroplasts in non-photosynthetic plants, algae and protists. In Current Genetics, vol. 64, no. 6, pp. 365-387.

[16] HADARIOVÁ, Lucia et al. 2017. An intact plastid genome is essential for the survival of colorless *Euglena longa* but not *Euglena gracilis*. In Current Genetics, vol. 63, no. 2, pp. 331-341.

[17] LIHANOVÁ, Diana et al. 2023. Versatile biotechnological applications of *Euglena gracilis* – review. In World Journal of Microbiology and Biotechnology, vol. 39, no. 5, pp. 133.

[18] AHMED, Hoda, HÄDER, Donat-Peter. 2010. Rapid ecotoxicological bioassay of nickel and cadmium using motility and photosynthetic parameters of *Euglena gracilis*. In Environmental and Experimental Botany, vol. 69, no. 1, pp. 68-75.

[19] TAHEDL, Harald, HÄDER, Donat-Peter. 1999. Fast examination of water quality using the automatic biotest ECOTOX based on the movement behavior of a freshwater flagellate. In Water Research, vol. 33, no. 2, pp. 426-432.

[20] TAHEDL, Harald, HÄDER, Donat-Peter. 2001. Automated biomonitoring using real time movement analysis of *Euglena gracilis*. In Ecotoxicology and Environmental Safety, vol. 48, no. 2, pp. 161-169.

[21] AHMED, Hoda, HÄDER, Donat-Peter. 2011. Monitoring of waste water samples using the ECOTOX biosystem and the flagellate alga *Euglena gracilis.* In Water, Air, & Soil Pollution, vol. 216 no. 1-4. pp. 547-560.

[22] RICHTER, Peter, HÄDER, Donat-Peter. 2014. Fast bioassessment of waste and surface water quality using freshwater flagellate *Euglena gracilis* – a case study from Pakistan. In Journal of Applied Phycology, vol. 26, no. 1, pp. 421-431.

[23] TAHIRA, Sidra et al. 2019. Bio-assessment and remediation of arsenic (arsenite As^{-III}) in water by *Euglena gracilis*. In Journal of Applied Phycology, vol. 31, no.1, pp. 423-433.

[24] PETTERSSON, Madonna, EKELUND, Nils GA. 2006. Effects of the herbicides Roundup and Avans on *Euglena gracilis.* In Archives of Environmental Contamination and Toxicology, vol. 50, no. 2, pp. 175-181.

[25] AZIZULLAH, Azizullah, RICHTER, Peter, HÄDER, Donat-Peter. 2011. Toxicity assessment of a common laundry detergent using the freshwater flagellate *Euglena gracilis.* In Chemosphere, vol. 84, no. 10, pp. 1392-1400.

[26] AZIZULLAH, Azizullah et al. 2011. Water pollution in Pakistan and its impact on public health—a review. In Environment International, vol. 37, no. 2, pp. 479-497.

[27] AZIZULLAH, Azizullah, RICHTER, Peter, HÄDER, Donat-Peter. 2011. Comparative toxicity of the pesticides carbofuran and malathion to the freshwater flagellate *Euglena gracilis*. In Ecotoxicology, vol. 20, no. 6, pp. 1442-1454.

[28] AZIZULLAH, Azizullah et al. 2012. Chronic toxicity of a laundry detergent to the freshwater flagellate *Euglena gracilis*. In Ecotoxicology, vol. 21, no. 7, pp. 1957-1964.

[29] AZIZULLAH, Azizullah et al. 2013. Gravitactic orientation of *Euglena gracilis*—a sensitive endpoint for ecotoxicological assessment of water pollutants. In Frontiers in Environmental Science, vol. 1, no. 1 pp. 4.

[30] HU, Changwei et al. 2015. Ecotoxicological effects of graphene oxide on the protozoan *Euglena gracilis.* In Chemosphere, vol. 128, no. 10, pp. 184-190.

[31] LEVINE, Ira, FLEURENCE, Joël (ed.). 2018. Microalgae in health and disease prevention. Academic Press, Cambridge, 335 p. ISBN 97-8012-811-4063.

[32] DANILOV, Roman A., EKELUND, Nils GA. 2001. Responses of photosynthetic efficiency, cell shape and motility in *Euglena gracilis* (Euglenophyceae) to short-term exposure to heavy metals and pentachlorophenol. In Water, Air, and Soil Pollution, vol. 132, no. 1, pp. 61-73.

[33] LI, Xiaomei et al. 2015. Silver nanoparticle toxicity and association with the alga *Euglena gracilis.* In Environmental Science: Nano, vol. 2, no. 6, pp. 594-602.

[34] LIHANOVÁ, Diana. 2022. Vplyv rôznych koncentrácií fenolu na *Euglena gracilis* kmeň Z. In Študentská vedecká konferencia: Zborník recenzovaných príspevkov. Banská Bystrica: Univerzita Mateja Bela, s. 43-48. ISBN 978-80-557-1984-9

[35] LUKÁČOVÁ, Alexandra a kol. 2023. The influence of Phenol on the growth, morphology and cell division of *Euglena gacilis*. Repository: SSRN

[36] VANNINI, Gian Luigi et al. 1977. First observations on the cytological changes induced in *Euglena gracilis* by coumarin treatment. In Zeitschrift für Pflanzenphysiologie, vol. 84, no. 2, pp. 183-187.

[37] FASULO, Maria P. BASSI, Maria, DONINI, A. 1982. Cytotoxic effects of hexavalent chromium in *Euglena gracilis*. I. First observations. In Protoplasma, vol. 110, no. 1, pp. 39-47.

[38] ZAKRYŚ, Bozena. 1980. Aberrations in development of strain, Z', of *Euglena gracilis*. In Bulletin of the Polish Academy of Sciences, vol. 28, no. 1, pp. 2.

[39] TAN, Xiaomiao, ZHU, Jiangyu, WAKISAKA, Minato. 2021. Effect of phytochemical vanillic acid on the growth and lipid accumulation of freshwater microalga *Euglena gracilis*. In World Journal of Microbiology and Biotechnology, vol. 37,no. 12, pp. 1-9.

[40] MATHIMANI, Thangavel, PUGAZHENDHI, Arivalagan. 2019. Utilization of algae for biofuel, bio-products and bio-remediation. In Biocatalysis and Agricultural Biotechnology, vol. 17, no. 2019, pp. 326-330.

[41] GONÇALVES, Ana L., PIRES, José CM, SIMÕES, Manuel. 2017. A review on the use of microalgal consortia for wastewater treatment. In Algal Research, vol. 24, no. 11, pp. 403-415.

[42] TORIHARA, Kenta, KISHIMOTO, Naoyuki. 2015. Evaluation of growth characteristics of *Euglena gracilis* for microalgal biomass production using wastewater. In Journal of Water and Environment Technology, vol. 13, no. 3, pp. 195-205.

[43] KURODA, Masashi et al. 2018. Biomass production and nutrient removal through cultivation of *Euglena gracilis* in domestic wastewater. In Japanese Journal of Water Treatment Biology, vol. 54, no. 4, pp. 105-113.

[44] MAHAPATRA, Subhadip, BANERJEE, Debdulal. 2013. Fungal exopolysaccharide: production, composition and applications. In Microbiology Insights, vol. 6, no. 1, pp. 1-16.

[45] ACIÉN FERNÁNDEZ, Francisco Gabriel, GÓMEZ-SERRANO, Cintia, FERNÁNDEZ-SEVILLA, José María. 2018. Recovery of nutrients from wastewaters using microalgae. In Frontiers in Sustainable Food Systems, vol. 2, no. 2, pp. 59.

[46] OJUEDERIE, Omena Bernard, BABALOLA, Olubukola Oluranti. 2017. Microbial and plant-assisted bioremediation of heavy metal polluted environments: a review. In International Journal of Environmental Research and Public Health, vol. 14, no. 12, pp. 1504.

[47] KUMAR, Sandeep et al. 2015. Graphene, carbon nanotubes, zinc oxide and gold as elite nanomaterials for fabrication of biosensors for healthcare. In Biosensors and Bioelectronics, vol. 70, no. 15, pp. 498-503.

[48] AHMAD, Shamshad et al. 2020. Phycoremediation: algae as eco-friendly tools for the removal of heavy metals from wastewaters. In Bioremediation of Industrial Waste for Environmental Safety: Volume II: Biological Agents and Methods for Industrial Waste Management, In Hydrobiology, vol. 1, no. 3, pp. 53-76.

[49] MORENO-SÁNCHEZ, Rafael et al. 2017. Biochemistry and physiology of heavy metal resistance and accumulation in *Euglena*. In Euglena: Biochemistry, Cell and Molecular Biology, vol. 979, no. 9, pp. 91-121.

[50] KHATIWADA, Bishal et al. 2020. Proteomic response of *Euglena gracilis* to heavy metal exposure–Identification of key proteins involved in heavy metal tolerance and accumulation. In Algal Research, vol. 45, no 2, pp. 101764.

[51] SUN, Jiacheng, NOROUZI, Omid, MAŠEK, Ondřej. 2022. A state-of-the-art review on algae pyrolysis for bioenergy and biochar production. In Bioresource Technology, vol. 346, no. 2022, pp. 126258.

[52] KRAJČOVIČ, Juraj, VESTEG, Matej, SCHWARTZBACH, Steven D. 2015. Euglenoid flagellates: a multifaceted biotechnology platform. In Journal of Biotechnology, vol. 202, no. 20, pp. 135-145.

[53] KOTTUPARAMBIL, Sreejith, THANKAMONY, Roshni Lilly, AGUSTI, Susana. 2019. *Euglena* as a potential natural source of value-added metabolites. A review. In Algal Research, vol. 37, no. 2, pp. 154-159.

[54] DAI, Junjie et al. 2022 *Euglena gracilis* promotes *Lactobacillus* growth and antioxidants accumulation as a potential next-generation prebiotic. In Frontiers in Nutrition, vol. 9, no. 2, pp. 9.

[55] MATSUDA, Fumio, HAYASHI, Masahiro, KONDO, Akihiko. 2011. Comparative profiling analysis of central metabolites in *Euglena gracilis* under various cultivation conditions. In Bioscience, Biotechnology, and Biochemistry, vol. 75, no. 11, pp. 2253-2256.

[56] BARSANTI, Laura et al. 2001. Paramylon (β-1, 3-glucan) content in wild type and WZSL mutant of *Euglena gracilis*. Effects of growth conditions. In Journal of Applied Phycology, vol. 13, no. 1, pp. 59-65.

[57] LUKÁČOVÁ, Alexandra et al. 2022. *Euglena gracilis* can grow in the mixed culture containing *Cladosporium westerdijkiae, Lysinibacillus boronitolerans* and *Pseudobacillus badius* without the addition of vitamins B_1 and B_{12}. In Journal of Biotechnology, vol. 351, no. 10, pp. 50-59.

Príloha 1

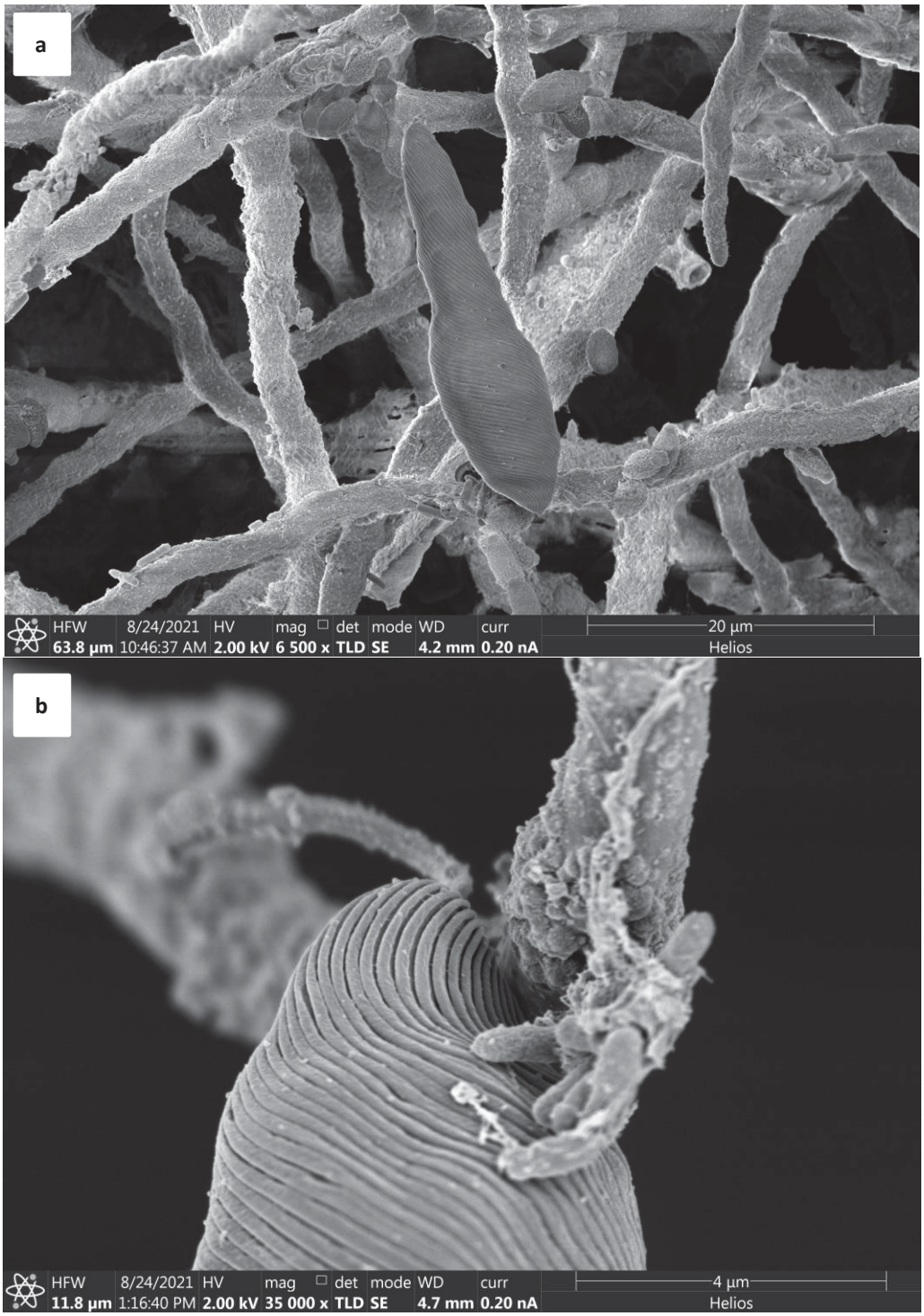
Tabuľka 1 Porovnanie hodnoty titrov medzi *Euglena gracilis* a inými organizmami alebo príslušnými produktami
Zdroj: upravené podľa [6]

Bioprodukt	**Max. hodnota titra v EGZ**	**Alternatívny organizmus alebo produkt**	**Max. hodnota titra v alternatívnom organizme alebo produkte**
Provitamin A (β-karotén)	3.5 mg/g DW alebo 3.5 mg/l kultúry (PT); 1.4 mg/g DW alebo 11.4 mg/l kultúry (MT); 3.4 mg/g DW alebo 71 mg/l kultúry (MT/PT fed-batch dvojstupňová kultivácia po dobu>3 d)	*Chlorella* spp.; *Spirulina* spp. (kultivácia 15 d); hovädzie mäso (uvarené); kuracie mäso (uvarené); ryba (uvarený tuniak);	0.6 g/DW; 0.7 g/DW; 0.4 g/g; 0.3 g/g; 0.3 g/g
Vitamín C (askorbát)	4 mg/g DW alebo 8 mg/l 7kultúry (PT po dobu 1 d alebo 2 d); 7 zanedbateľné množstvo (HT); 86.5 mg/l kultúra (MT/PT fed-batch dvojstupňová kultivácia)	pomarančový džús	50 mg/100ml
Vitamín E (α-tokoferol)	2.6 mg/g DW alebo 8.6 mg/l 7kultúry (PT po dobu 3 d); 1.1 mg/g DW alebo 44.2 mg/l 7kultúry (HT fed-batch kultivácia s etanolom po dobu 18.5 d); 3.7 mg/g DW alebo 40 mg/l 7kultúry (HT batch kultivácia s etanolom po dobu 5 d, vybielený kmeň)	olej z pšeničných klíčkov, s7lnečnicový olej, olivový olej	1.5 mg/g; 0.4 mg/g; 0.1 mg/g
z ang. DW-dry weight; HT-heterotrophic; MT-mixotrophic; PT-photoautotrophic			

Príloha 2

Obr. 2 Skenovacia elektrónová mikroskopia (SEM) buniek *Euglena gracilis* asociovaných bičíkmi s hýfami *Cladosporium westerdijkiae* (a-b)

Zdroj: [57]



Vplyv liečiva cemtirestat na biochemické a štrukturálne charakteristiky kostného tkaniva na modeli diabetických potkanov

The effects of cemtirestat on biochemical and structural characteristics of bone tissue in a diabetic rat model

Roman Bíro[1] – Viktória Martišková[2] – Veronika Kováčová[3]
Školiteľ: Monika Martiniaková[4]
[1,2,3,4]Katedra zoológie a antropológie, FPVaI UKF, Tr. A. Hlinku 1, 949 01 Nitra
[1] roman.biro@ukf.sk, [2] viktoria.martiskova@student.ukf.sk, [3]vkovacova@ukf.sk, [4]mmartiniakova@ukf.sk

Abstrakt

Enzým aldóza reduktáza (AR) zohráva primárnu úlohu v kaskáde metabolických zmien, zodpovedných za škodlivé účinky hyperglykémie. Cemtirestat, bifunkčné liečivo pôsobiace ako silný inhibítor AR s antioxidačnou aktivitou, sa považuje za sľubné terapeutikum v liečbe niektorých diabetických komplikácií. V našej štúdii sme skúmali účinky dlhodobej liečby cemtirestatom na biochemické a štrukturálne parametre, súvisiace s kvalitou kostí, u potkanov s diabetom indukovaným streptozotocínom (STZ). Experimentálne zvieratá boli rozdelené do dvoch skupín: diabetické potkany (D skupina) a diabetické potkany liečené cemtirestatom (DL skupina) počas 4 mesiacov. Suplementácia cemtirestatom znížila iba hladinu triglyceridov v plazme, pričom nemala signifikantný vplyv na všetky skúmané makroskopické a mikroskopické parametre kostí. Z uvedeného dôvodu nedostatočný účinok liečby cemtirestatom na diabetické poškodenie kosti nepodporuje jeho použitie v terapii tejto komplikácie diabetu.

Kľúčové slová: cemtirestat, aldóza reduktáza, diabetes mellitus 1. typu, kompaktné kostné tkanivo, špongiózne kostné tkanivo

Abstract

Aldose reductase (AR) plays a primary role in the cascade of metabolic imbalances responsible for deleterious effects of hyperglycemia. Cemtirestat, a bifunctional drug acting as an AR inhibitor with antioxidant activity, is considered a promising drug in the treatment of certain diabetic complications. Our study examined the effects of prolonged treatment with cemtirestat on biochemical and structural parameters reflecting bone quality in streptozotonic (STZ)-induced diabetic rats. Experimental animals were assigned to two groups: diabetic rats (D group) and those treated with cemtirestat (DL group) for 4 months. Cemtirestat supplementation lowered only the plasma triglyceride level and had no significant impact on all examined macroscopic and microscopic bone parameters. The insufficient effect of cemtirestat treatment on diabetic bone disease does not support its use in the therapy of this diabetic complication.

Key words: cemtirestat, aldose reductase, type 1 diabetes mellitus, cortical bone tissue, trabecular bone tissue

Úvod

Diabetes mellitus (DM) sa v dnešnej dobe považuje za globálnu epidémiu. Ide o chronický, metabolický syndróm charakterizovaný inzulínovou rezistenciou, poruchou sekrécie inzulínu a hyperglykémiou. Najčastejšími typmi sú DM 1. typu (T1DM), pri ktorom dochádza k absolútnemu nedostatku inzulínu [1, 2] a DM 2. typu (T2DM), ktorý je charakterizovaný prítomnosťou inzulínovej rezistencie a relatívnym nedostatkom inzulínu [3]. Viaceré komplikácie DM sú spôsobené oxidačným stresom, ktorý je asociovaný s hyperglykémiou a hyperlipidémiou [4]. Diabetické poškodenie kosti predstavuje závažnú chronickú mikrovaskulárnu komplikáciu DM, ktorá sa prejavuje najmä zvýšeným rizikom fraktúr a zhoršenou štruktúrou kosti [5].

Chronická hyperglykémia vo všeobecnosti zvyšuje tvorbu reaktívnych foriem kyslíka (ROS), ktoré môžu viesť k produkcii konečných produktov pokročilej glykácie (AGEs), dysregulácii polyolovej (sorbitol-aldóza reduktázovej) dráhy a zvýšenej produkcii lipidov. V podmienkach oxidačného stresu môžu všetky medziprodukty polyolovej dráhy glykovať

proteíny, čo vedie k tvorbe AGEs, ktoré inhibujú remodeláciu kosti a nepriamo potláčajú aktivitu osteoblastov a apoptózu osteocytov [6]. Polyolová dráha slúži ako hlavný článok, zodpovedný za toxicitu glukózy [7]. Vedecké dôkazy poukazujú na primárnu úlohu aldóza reduktázy (AR), prvého enzýmu polyolovej dráhy, v kaskáde metabolických zmien, zodpovedných za škodlivé účinky hyperglykémie [8]. Tento kľúčový enzým polyolovej dráhy premieňa nadbytočnú glukózu na sorbitol, za prítomnosti kofaktora tejto reakcie NADPH [9]. Polyolová dráha sa ukončuje druhým enzýmom sorbitol dehydrogenázou, ktorý premieňa sorbitol na fruktózu a NAD+. Kofaktor NADPH sa viaže v mieste elipsového vrecka v blízkosti C-terminálneho konca AR [10]. Prechod glukózy cez polyolovú dráhu vedie u diabetických jedincov k intracelulárnej akumulácii sorbitolu so súčasným vyčerpaním NADPH a nerovnováha medzi NADPH a NAD+ vedie k oxidačnému stresu [9]. Prostredníctvom uvedenej metabolickej kaskády dochádza k chronickému poškodeniu tkanív aktiváciou AR a taktiež k zvýšenej syntéze AGEs. Dochádza aj k nadmernému vylučovaniu cytokínov a stimulácii proteínkinázy C, čo sa prejavuje zápalom a oxidačným stresom [11]. V poslednom období boli vyvinuté viaceré inhibítory AR ako potenciálne terapeutiká pre určité diabetické komplikácie [12, 13, 14, 15].

Kyselina 3-merkapto-5H-1,2,4-triazino [5,6-b] indol-5-octová (cemtirestat) bola navrhnutá a patentovaná ako vysoko selektívny a silný inhibítor AR s antioxidačnou aktivitou. Neuroprotektívny vplyv cemtirestatu bol preukázaný na viacerých animálnych modeloch ochorenia DM [16]. Podľa Šoltésovej Prnovej et al. [16], inhibovala dlhodobá liečba cemtirestatom príznaky periférnej neuropatie, akumuláciu sorbitolu v erytrocytoch, hypertriglyceridémiu a zmiernila ukazovatele oxidačného stresu u potkanov s diabetom indukovaným streptozotocínom (STZ). Pri ZDF (Zucker diabetic fatty) potkanoch liečba cemtirestatom čiastočne inhibovala akumuláciu sorbitolu v erytrocytoch a normalizovala príznaky periférnej neuropatie [17].

Vplyv suplementácie cemtirestatom na diabetické poškodenie doposiaľ nie je známy. Z uvedeného dôvodu sme v našej štúdii prvýkrát skúmali vplyv dlhodobej liečby cemtirestatom na biochemické a štrukturálne parametre kostného tkaniva u diabetických potkanov. V našom experimente boli na simuláciu T1DM použité potkany s diabetom indukovaným STZ.

1 Materiál a metodika

1.1 Analyzované zvieratá

V práci boli použité samce potkanov kmeňa Wistar (1,5 mesačné), ktorým bol DM indukovaný trojnásobnou i.p. dávkou STZ, v troch po sebe nasledujúcich dňoch. STZ bol rozpustený v citrátovom pufri. Kontrolné zvieratá dostávali iba citrátový pufor. Tri dni po poslednej dávke STZ boli všetky zvieratá s hladinou glukózy v plazme > 15 mM považované za diabetické a zaradené do štúdie. Diabetické potkany boli rozdelené do dvoch skupín: diabetické potkany (skupina D, n=6) a diabetické potkany liečené cemtirestatom (skupina DL, n=6, 15 mg/l v pitnej vode) počas 4 mesiacov. Štúdia bola schválená Etickou komisiou Ústavu experimentálnej farmakológie a toxikológie Slovenskej akadémie vied a Štátnou veterinárnou a potravinovou správou Slovenskej republiky a bola vykonaná v súlade so Zásadami starostlivosti o laboratórne zvieratá (publikácia NIH 83-25, revidovaná v roku 1985) a slovenským zákonom upravujúcim pokusy na zvieratách (vyhláška 289, časť 139, 9. júla 2003).

1.2 Biochémia krvi

Na biochemické analýzy sa použili zmrazené (-80 °C) vzorky plazmy. Stanovili sme hladinu glukózy (GLU), triglyceridov (TG) a vápnika (Ca) v plazme.

1.3 Makroskopická analýza

V rámci makroskopickej analýzy bola stanovená celková telesná hmotnosť zvierat, hmotnosť a dĺžka ich femurov.

1.4 Mikropočítačová tomografia

Kvantitatívne 3D charakteristiky kompaktného a špongiózneho kostného tkaniva femurov boli determinované pomocou počítačovej tomografie (µCT, Scano Medical). V špongióznej kosti sme stanovili nasledovné parametre: relatívny objem kosti, povrch kosti, počet, hrúbku a separáciu trabekúl, hustotu kostnej hmoty (BMD). V kompaktnej kosti sme merali: relatívny objem kosti, BMD, hrúbku a povrch kompaktnej kosti. V obidvoch častiach kosti boli hodnotené úseky v rozsahu 2 mm.

1.5 Štatistická analýza

Údaje boli prezentované ako priemer ± smerodajná odchýlka (SD). Na určenie rozdielov v nameraných parametroch medzi D a DL skupinami sme použili T-

test. Hodnota nižšia ako 0,05 (*) sa považovala za štatisticky významnú.

2 Výsledky a diskusia

Liečba cemtirestatom signifikantne znížila hladiny triglyceridov v plazme, čo je identické s výsledkami Šoltésovej Prnovej et al. [16]. U pacientov s T1DM bola taktiež pozorovaná zvýšená koncentrácia triglyceridov v plazme [18]. Vo všeobecnosti je vysoká hladina triglyceridov v plazme považovaná za rizikový faktor diabetickej neuropatie. Asociácia medzi hypertriglyceridémiou a diabetickým poškodením kostí však zostáva kontroverzná [19]. Ostatné merané parametre (glukóza, vápnik) boli bez signifikantných zmien (Tab. 1).

Tab. 1 Výsledky biochemickej analýzy potkanov z diabetickej (D) a diabetickej liečenej (DL) skupiny

Skupina	N	Hladina glukózy (mM±SD)	Hladina triglyceridov (mM±SD)	Hladina vápnika (mM±SD)
D	6	40,2 ± 4,97	2,85 ± 1,14	2,64 ± 0,23
DL	6	43,07 ± 3,16	1,78 ± 0,32	2,51 ± 0,3
Sig.		NS	**P<0,05**	NS

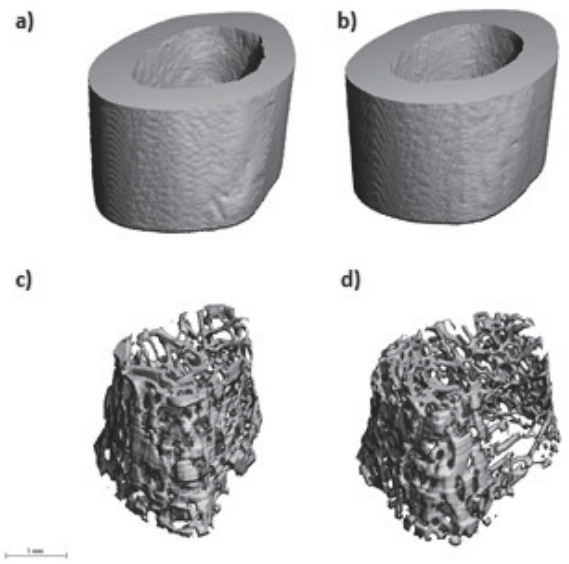
Medzi skupinami D a DL neboli zaznamenané žiadne významné rozdiely vo všetkých parametroch makroskopickej analýzy (Tab. 2).

Tab. 2 Výsledky makroskopickej analýzy potkanov z diabetickej (D) a diabetickej liečenej (DL) skupiny

Skupina	N	Hmotnosť jedincov (g±SD)	Hmotnosť femuru (g±SD)	Dĺžka femuru (cm±SD)
D	6	268,33 ± 34,16	0,67 ± 0,04	3,43 ± 0,09
DL	6	240 ± 57,18	0,7 ± 0,05	3,47 ± 0,07
Sig		NS	NS	NS

Podobne všetky kvantitatívne 3D parametre kompaktného a špongiózneho kostného tkaniva neboli signifikantne ovplyvnené v dôsledku liečby cemtirestatom. Reprezentatívne 3D rekonštrukcie oboch typov kostného tkaniva sú uvedené na obr. 1.

V poslednom období bolo vyvinutých niekoľko inhibítorov AR, ako potenciálnych kandidátov na liečbu viacerých diabetických komplikácií. Predpokladá sa, že tieto inhibítory môžu mať nepriamy vplyv na metabolizmus kostí prostredníctvom zníženia oxidačného stresu a zápalu. Jediným inhibítorom AR na trhu je zatiaľ epalrestat, ktorý sa používa na liečbu pacientov s diabetickou neuropatiou a predáva sa len vo východných krajinách [20, 21]. Podľa Inaba et al. [22] bolo preukázané, že epalrestat znižuje dočasné zvýšenie markerov kostnej resorpcie a následne zvyšuje relatívny objem kosti u experimentálneho zvieracieho modelu s DM. Glajchen et al. [23] hodnotili efekt ďalšieho inhibítora AR sorbinilu na biochemické a histomorfometrické parametre, asociované s kostným tkanivom, u potkanov s diabetom indukovaným STZ. Ich zistenia naznačujú, že sorbinil nemal signifikatný vplyv na všetky skúmané parametre, a preto absencia jeho priaznivého účinku naznačuje, že polyolová dráha nemusí byť významným faktorom, prispievajúcim k patogenéze diabetického poškodenia kosti. Vyššie uvedené štúdie naznačujú, že inhibítory AR môžu mať len nízky terapeutický potenciál pre diabetické poškodenie kosti, ale na detailné pochopenie ich účinkov je potrebný ďalší výskum.



Obr. 1 Reprezentatívne 3D snímky kompaktnej kosti v oblasti diafýzy (a, b) a špongióznej kosti v oblasti epifýzy (c, d) pri D (a, c) a DL (b, d) skupinách.

Záver

Výsledky našej práce dokumentujú, že dlhodobá liečba cemtirestatom v dávke 15 mg/l v pitnej vode počas 4 mesiacov znižuje iba hladiny triglyceridov v plazme a nemá významný vplyv na merané makroskopické a mikroskopické parametre kostného

tkaniva pri STZ-potkanoch. Nedostatočný účinok cemtirestatu na kvalitu kostí pri T1DM, nepodporuje jeho použitie pri liečbe tejto diabetickej komplikácie.

Poďakovanie

Táto publikácia bola vytvorená s podporou projektov VEGA 1/0444/20 a VEGA 1/0416/22 (MŠVVaŠ SR).

Použitá literatúra

[1] Masaryková, L., Tesář, T., Lehocká, U., Bernáthová, K. 2020. Evalutation of adherence to treatment in patients suffering from diabetes mellitus. In Ceska a Slovenska farmacie: casopis Ceske a farmaceuticke spolecnosti a Slovenske farmaceuticke spolecnosti, vol. 69, no. 2, pp. 67-74. PMID: 32545985.

[2] Vokurka, M., Kofránek, J., Maršálek, P., Maruna, P., Nečas, E., Šulc, K., Živný, J. 2018. Patofyziologie pro nelékařské směry. Praha: Univerzita Karlova, Nakladatelství Karolinum, 319 s. ISBN 978-80-246-3563-7.

[3] Solis-Herrera et al., 2018. Classification of Diabetes Mellitus. In: National Library of Medicine. PMID: 25905343.

[4] Constantini, S., Conte, C. 2019. Bone health in diabetes and prediabetes. In World J diabetes, vol. 10, no. 8, pp. 421-445. PMID: 31523379.

[5] Shanbhougue, V.V., Hansen, S., Frost, M., Brixen, K., Hermann, A.P. 2017. Bone disease in diabetes: another manifestation of microvasular disease? In Lancet Diabetes Endocrinol., vol. 5, no. 10, pp. 827-838. PMID: 28546096.

[6] Moldogazieva, N.T., Mokhosoev, I.M., Meľnikova, T.I., Porozov, Y.B., Terentiev, A. 2019. Oxidative Stress and Advanced Lipoxidation and Glycation End Products (ALEs and AGEs) in Aging and Age-Related Disease. In Oxidative Medicine and Cellular Longevity, vol. 2019, pp. 14. ID 3085756.

[7] Feldman, E., L., Klaus-Armin, N., Jensen, T.S., Bennett, D. 2017. New Horizons in Diabetic Neuropathy: Mechanisms, Bioenergetics, and Pain. In neuron, vol. 93, no. 6, pp. 1296-1313. ISSN 0896-6273.

[8] Oates, P.J. 2008. Aldose Reductase, Still a Compelling Target for Diabetic Neuropathy. In Current Drug Targets, vol. 9, no. 1, pp. 14-36.

[9] Kováčiková, L., Šoltésová Prnová, M., Majekova, M., Boháč, A., Karasu, C., Štefek, M. 2021. Development of novel indole-based bifunctional aldose reductase inhibitors/antioxidants as promising drugs for the Treatment of diabetic complications. In Molecules, vol 26, 2021, p. 1-33.

[10] Ferrel, M.J., Abendroth, J., Zhang, Y., Sankaran, B., Edwards, T.E., Staker, B.L., Van Voorhis, W.C., Stewart, L. J., Myler, P.J. 2011 Structure of aldose reductase from Giardia lamblia. In Acta Crystallographica Section F Structural Biology and Crystallozation Communucations, vol. 67, pp. 1113-1117.

[11] Hlaváč, M., Kováčiková, L., Šoltésová Prnová, M., Šramel, P., Addová, G., Májeková, M., Hanquet, G., Boháč, A., Štefek, M. 2020. Development of novel oxotriazinoindole inhibitors of aldose reductase: Isosteric sulfur/oxygen replacement in the thioxotriazinoindole cemtirestat markedly improved inhibition selectivity. In J.Med. Chem., vol. 63, pp. 369-381.

[12] Alexiou, P., Pegklidou, K., Chatzopoulou, M., Ioannis, N., Demopoulos, V.J. 2009. Aldose Reductase Enzyme and its Implication to Major Health Problems of the 21st Century. In Current Medicinal Chemistry, vol. 16, no. 6, pp 734-752.

[13] Schemmel, K., E., Padiyara, R.S., Souza, J. J., 2010. Aldose reductase inhibitors in the treatment od diabetic peripheral neuropathy: a review. In Journal of Diabetes and its Complications, vol. 24, no. 5, pp. 354-360. ISSN 0896-6273.

[14] Maccari, R., Ottaná, R. 2015. Targeting aldose reductase for the treatment of diabetes compliations and inflammatory diseases: new insights and future directions. In J Med Chem., vol. 58, no. 5, pp. 2047-2067. PMID: 25375908.

[15] Grewal, S., Shashikant, A. B., Deepti, P., Viney, L., Bhupinder, S. S. 2016. Updates on Aldose Reductase Inhibitors for Management of Diabetic Complications and Non-diabetic Diseases. In Mini Revews in Medicinal Chemistry, vol. 16, no. 2 pp. 120-162.

[16] Šoltésová Prnová, M., Kovacikova, L., Svik, K., Bezek, S., Elmazoglu, Z., Karasu, C., Stefek, M. 2020. Triglyceride-lowering effect of the aldose reductase inhibitor cemtirestat- another factor that may contribute to attenuation of symptoms of peripheral neuropathy in STZ-diabetic rats. In Naunyn-Shmiedeberg's Arch Pharmacol, vol. 393, pp. 651-661.

[17] Šoltésová Prnová, M., Švík, K., Bezek, Š., Kováčiková, L., Karasu, C., Štefek, M. 2019. 3-Merkapto-5H-1,2,4-Triazino [5,6-b]Indole-5-Acetic Acid (Cemtirestat) Allevietes Symptoms of Peripheral Diabetic Neuropathy in Zucker Diabetic

Fatty (ZDF) Rats: A role od Aldose Reductase. In Neurochemical Research. Springer, vol. 1, pp. 1-9.
[18] Vergés, Bruno. 2010. Lipid Disorders in Type 1 Diabetes, IntechOpen, 2011, ISBN 978-953-307-756-7.
[19] Chi, J., H., Shin, M., S., Lee, B.J. 2019. Identifitacion of hypertriglyceridemia based on bone density, body fat mass, and anthropometry in a Korean population. In BMC Cardiovasc Disord, vol. 19, no. 1, pp. 66. PMID: 30902041.
[20] Quattrini L., La Motta, C. 2019. Aldose reductase inhibitors. 2013-present. In Expert opinion on Therapeutic Patents, vol. 29, no. 3, pp. 199-213.
[21] Belestri, F., Moschini, R., Mura, U., Cappiello, M., Del Corso, A. 2022. In Search of Differential Inhibitors of Aldose Reductase. In Biomolecules, vol. 12, no. 4, pp. 485.
[22] Inaba, M., Terada, M., Nishizawa, Y., Shioi, A., Ishimura, E., Otani, S., Morii, H. 1999. Proective effect of an aldose reductase inhibitor against bone loss in galactose-fed rats: possible involment of the polyol pathway in bone metabolis. In Metabolism, vol. 48, no. 7, pp. 904-909. PMID: 10421234.
[23] Glajchen, N., Epstein, S., Ismail, F., Thomas, S., Fallon, M., Chakrabarti, S. 1988. Bone mineral metabolism in experimental diabetes mellitus: osteocalcin as a measute of bone remodeling. In Endocrinology, vol. 123, no. 1, pp. 290-295. PMID: 3133194.

Štúdium asociácie zápalových markerov a paropatogénnych baktérií pri ochorení parodontitídy

The study of inflammatory markers association with periopathogenic bacteria in periodontitis

Renáta Kozáčiková[1] – Lenka Wachsmannová[2] – Vladimír Eliáš[3] – Gabriela Krasňanská[4] – Gabriela Bľandová[5] – Marián Baldovič[6] – Eva Kovaľová[7] – Zuzana Gerši[8]– Michal Konečný[9]
Školiteľ: Michal Konečný[9]
[1,4,8,9] Katedra biológie FPV UCM, Trnava
[2,3,4,6,9] Laboratórium genomickej medicíny, GHC GENETICS SK s.r.o., Vedecký Park UK, Bratislava
[5] Ústav lekárskej biológie, genetiky a klinickej genetiky LF UK a UNB, Bratislava
[7] Katedra dentálnej hygieny, FZO PU, Prešov
[1] kozacikova1 @ucm.sk, [9] michal.konecny@ucm.sk

Abstrakt
Parodontitída predstavuje multifaktoriálne ochorenie ústnej dutiny, ktoré je pravdepodobne indukované prítomnosťou gram-negatívnych baktérií a geneticky podmienenou imunitnou odpoveďou v gingiválnom tkanive. V odbornej literatúre je popísaná asociácia vybraných DNA polymorfizmov podieľajúcich sa na vzniku zápalu parodontu. Podstatnú funkciu v patogenéze parodontitídy vykazujú polymorfizmy v génoch pre cytokíny IL1A a IL1B, ktoré majú silnú prozápalovú aktivitu. Podľa odbornej literatúry súčasná prítomnosť DNA polymorfizmov v oboch génoch vedie k zvýšenému riziku vzniku parodontitídy. Podstatnú funkciu v patogenéze ochorenia parodontu plní aj prítomnosť alely *04 génu *HLA-DRB1*, ktorá je považovaná za rizikový faktor resorpcie kostnej hmoty. V dôsledku zvýšenia systémovej zápalovej záťaže sa predpokladá asociácia ochorenia parodontitídy s výskytom autoimunitných ochorení (ako napr. psoriáza, či reumatická artritída).

Cieľom predloženej práce bolo sledovať vybrané DNA polymorfizmy pre zápalové markery s prítomnosťou paropatogénnych baktérií na vybranej skupine pacientov trpiacich parodontitídou a stanoviť tak najrizikovejší genotyp.

Kľúčové slová: parodontitída, prozápalové cytokíny, paropatogénne baktérie, MHC molekuly

Abstract
Periodontitis is a multifactorial disease of the oral cavity induced by gram-negative bacteria presented in the gingival tissue and a genetically conditioned immune response. Some studies describe the association of selected DNA polymorphisms with periodontitis involving periodontal inflammation development. The polymorphisms in *IL1A* and *IL1B* genes have a strong pro-inflammatory activity and a significant function in the pathogenesis of periodontitis. The parallel presence of DNA polymorphisms in *IL1A* and *IL1B* genes leads to an increased risk of periodontitis development. The presence of the *04 allele in the *HLA-DRB1* gene is considered a risk factor for bone resorption and plays a significant role in the pathogenesis of periodontitis.

Periodontitis can be associated with other autoimmune disease occurrences (such as psoriasis or rheumatic arthritis) cause an increased systemic inflammatory burden.

The work aimed to study the potential associations of selected DNA polymorphisms for inflammatory markers and periopathogenic bacteria in a selected group of patients that could lead to determination the riskiest genotype.

Key Words: periodontitis, proinflammatory cytokines, periopathogenic bacteria, MHC molecules

1 Úvod

Parodontitída je charakterizovaná ako multifaktoriálne zápalové ochorenie ústnej dutiny, ktoré je najčastejšie sprevádzané deštrukciou štruktúr a tkanív podporujúcich zuby. Primárne prejavy uvedeného ochorenia zahŕňajú krvácanie a opuch ďasien, v neskorších štádiách dochádza k úbytkom kostnej hmoty a v terminálnom štádiu ochorenie vedie k vypadávaniu zubov [1]. Na patogenéze uvedeného ochorenia sa podieľajú rôzne faktory ako napr. životný štýl pacienta, genetické predispozície či hormonálne zmeny [2]. Medzi najdôležitejšie faktory vzniku ochorenia patrí pravdepodobne dysbióza orálneho

mikrobiómu súčasne s geneticky podmienenou reakciou imunitnej odpovedi hostiteľa.

Patogénne baktérie, ktoré osídľujú orálnu dutinu a zároveň sú asociované s parodontitídou zoradili Socransky a kol., (1998) do piatich mikrobiálnych komplexov podľa stupňa patogenity [3]. Vysokopatogénny potenciál majú baktérie patriace do tzv. červeného komplexu *Porphyromonas gingivalis* (*Pg*), *Treponema denticola* (*Td*) *a Tannerella forsythia* (*Tf*) spolu s baktériou *Aggregatibacter actinomycetemcomitans* (*Aa*), ktorá je zaradená do samostatného mikrobiálneho komplexu [4]. Podľa odbornej literatúry uvedené baktérie sú schopné ovplyvniť imunitnú odpoveď hostiteľa a tým vyvolať dysbiózu ústnej dutiny [5]. Baktérie *Prevotella intermedia* (*Pi*), *Parvimonas micra* (*Pm*) a *Fusobacterium nucleatum* (*Fn*) vykazujú stredný patogénny potenciál a boli zaradené do oranžového komplexu. Baktérie vykazujúce mierny patogénny potenciál sú zaradené do oranžového združeného komplexu. Do uvedeného komplexu patria baktérie *Campylobacter rectus* (*Cr*) a *Eubacterium nodatum* (*En*), ktoré sú známe ako prví kolonizátori ústnej dutiny a tvoria základ pre rast ďalších baktérií. Baktérie prítomné v ústnej dutine s nízkym patogénnym potenciálom sú *Capnocytophaga gingivalis (Cg) a Eikenella corrodens (Ec),* ktoré patria do tzv. zeleného komplexu [4].

Na patogenéze parodontitídy sa významne podieľa aj prítomnosť DNA polymorfizmov, ktoré sú v súvislosti s parodontitídou popísané najmä v génoch pre cytokíny. Medzi najdôležitejšie cytokíny asociované s parodontitídou patria podľa odbornej literatúry hlavne cytokíny IL1A a IL1B, ktoré sú kódované dvoma samostatnými génmi. Oba uvedené cytokíny plnia dôležité funkcie pri prozápalovej aktivite, ako aj v imunitnej odpovedi hostiteľa na patogény [6]. Prítomnosť DNA polymorfizmov súčasne v oboch uvedených génoch predstavuje vyššie riziko vzniku ochorenia parodontu [7]. Pri aktivácii zápalových procesov je najdôležitejší práve cytokín IL1B, ktorý sa zároveň zúčastňuje aj na zvýšení osteoklastovej aktivite, ktorá je následne schopná vyvolať resobciu alveolárnej kosti.

Cytokín IL1RA predstavuje špecifického receptorového antagonistu, ktorý je kódovaný génom *IL1RN*. Uvedený cytokín sa podieľa na potencionálnej inhibícii účinku génov *IL1A* a *IL1B,* nakoľko je schopný viazať sa na receptor IL1R s rovnakou afinitou [7]. V patogenéze parodontitídy plnia dôležitú funkciu aj molekuly histokompatibilného komplexu (MHC), z ktorých je podľa literatúry s parodontitídou najviac asociovaná prítomnosť alely *04 v géne HLA-DRB1. Uvedená alela predstavuje rizikový faktor straty kostnej hmoty a okrem parodontitídy je asociovaná aj s autoimunitnými ochoreniami ako napr. reumatoidná artritída [8].

V dôsledku zvýšenej systémovej záťaže na organizmus, ako aj spoločnými patogénnymi mechanizmami podmienenými rovnakými genetickými lokusmi je progresia parodontitídy v posledných rokoch asociovaná s rôznymi systémovými ochoreniami, vrátane kardiovaskulárnych, respiračných, muskuloskeletálnych a reprodukčných abnormalít [4].

V našej štúdii sme sa zamerali na asociáciu DNA zápalových markerov a prítomnosť paropatogénnych baktérii v skupine vybraných pacientov trpiacich parodontitídou v slovenskej populácii. Cieľom práce bolo zároveň aj identifikovanie najrizikovejšieho genotypu a následné zaradenie pacientov do vysokorizikovej skupiny ochorenia parodontitídy, ktorá si vyžaduje zvýšenú zdravotnú starostlivosť a individuálny manažment liečby.

2 Materiál a metódy

2.1 Odber vzoriek a extrakcia DNA

Do predloženej štúdie boli zahrnuté vzorky 66 pacientov s diagnostikovanou agresívnou alebo chronickou parodontitídou. Odber jednotlivých vzoriek bol vykonaný parodontológmi z gingiválneho vačku, ktorý predstavuje mikropriestor medzi ďasnom a zubným krčkom, pomocou špeciálnych papierových čapíkov ISO 025-045 (Dentsply Sirona). Následne sme zo vzoriek zaslaných do laboratória extrahovali DNA z uvedených čapíkov pomocou súpravy InnuPREP Mini Kit (Analytic Jena). Koncentráciu extrahovanej DNA sme kvantifikovali pomocou súpravy Qubit dsDNA HS Assay Kit a fluorometra Qubit (Thermo Fisher Scientific).

2.2. Detekcia prítomnosti baktérií asociovaných s parodontitídou

Prítomnosť vybraných baktérií asociovaných s parodontitídou (*Aa, Pg, Td, Tf, Pi, Pm, Cr, En, Cg, Ec* a *Fsp*) sme vo vzorkách detegovali pomocou BAC-Dent 2.4 LCD-Array Kit (Chipron). Uvedená metóda je založená na detekcii druhovo špecifických miest v rámci oblasti V3 v géne pre 16S rRNA. Vopred značená PCR zmes primerov amplifikuje cieľovú oblasť bakteriálneho druhu v PCR reakcii a vytvára tak biotinylované amplikóny bakteriálnej DNA.

Teplotný profil pre PCR reakciu bol nasledovný: 95 °C 5 min., 38 cyklov 94 °C 30 s., 55 °C 45 s., 72 °C 45 s. a 72 °C 2 min.

Značené amplikóny sa následne hybridizovali s druhovo špecifickými sondami imobilizovanými na povrchu LCD čipu, zatiaľ čo nezachytené nešpecifické PCR amplikóny boli vymyté premývacími roztokmi. Vizualizácia naviazaných amplikónov bola vykonaná reakciou konjugátu streptavidín-peroxidázy a peroxidázového substrátu. Zafarebný LCD čip sme následne skenovali pomocou CHIP-Scanner PF7250 a analyzovali softvérom SlideReader (Chipron).

2.3 Detekcia DNA markerov asociovaných s parodontitídou

Vzorky boli analyzované pomocou rtPCR (QuantStudio 3 RealTime system, Thermo Fisher Scientific) a genotypizačných testov TaqMan (Thermo Fisher Scientific) založených na princípoch alelickej diskriminačnej analýzy. V predloženej štúdii sme detegovali prítomnosť SNP v génoch *IL1A, IL1B* a *IL1RN.* Každá alela SNP bola označená špecifickým fluorescenčným farbivom (VIC – mutovaná alela, FAM – wild type). Pre každú vzorku sme uskutočnili qPCR reakciu v celkovom objeme 10 µl (5 µl TaqMan Genotyping Mastermix, 0,25 µl TaqMan Assay, 2,75 µl ultračistá voda a 2 µl extrahovanej DNA, nariedenej do koncentrácie 20 ng/ul).

Podmienky qPCR boli nasledovné: denaturácia 95 °C 10 min., 40 cyklov 95 °C 15 s. a 60 °C 1 min., 60 °C 30 s., 95 °C 15 s., a 58 °C 40 s. Pre každý DNA polymorfizmus sme stanovali prahovú hodnotu na úroveň 0,02. Detekciu jednotlivých florescenčne značených sond sme uskutočňovali do 35.cyklu PCR reakcie.

Hodnotenie prítomnosti/neprítomnosti špecifickej alely *04 v géne *HLA-DRB1* sme vykonali genotypizačnou analýzou vzoriek analyzovaných pomocou qPCR (QuantStudio 3 RealTime system) s použitím súpravy EliGene Celiac RT (Elisabeth Pharmacon). Sonda značená farbivom FAM detegovala prítomnosť alely *04 a druhá sonda označená farbivom JOE detegovala ľudský gén SYPL2 (gén podobný synaptofyzínu 2), ktorý bol použitý ako vnútorná kontrola.

Pre každú vzorku sme vykonali qPCR v celkovom objeme 10 µl (8,75 µl Celi DR4 Mix a 1,25 µl extrahovanej DNA, zriedenej na výslednú koncentráciu 20 $ng.ul^{-1}$.

Podmienky pre qPCR boli nasledovné: 95 °C 3 min., 40 cyklov 95 °C 15 s. a 58 °C 40 s. Na získanie hodnôt Ct pre jednotlivé analyzované vzorky sme stanovili prahovú hodnotu na úroveň 0,04 a detekciu jednotlivých amplifikačných signálov sme hodnotili do 35. cyklu.

3 Výsledky a diskusia

V spolupráci s parodontológmi bolo vybraných do predloženej štúdie 66 pacientov, ktorí trpeli vážnou formou parodontitídy a prípadne inými autoimunitnými ochoreniami, ako psoriáza a reumatoidná artritída. Kontrolné odbery vzoriek boli z uvedenej štúdie vylúčené. Z analyzovaného súboru vzoriek bolo 48,5% (n=32) vzoriek získaných od mužského pohlavia a 51,5% vzoriek (n=34) od ženského pohlavia.

Tabuľka 1: Celkový počet analyzovaných vzoriek, priemerný vek a pohlavná distribúcia

	Počet vzoriek	%	priemerný vek
Celkový počet vzoriek	66	100%	49,5
ženy celkovo	34	51,5%	49
muži celkovo	32	48,5%	50

Vyšší počet vzoriek pochádzajúcich od žien bol pozorovaný aj v štúdii vykonanej na populácii USA [9]. Autori uvedenej štúdie zaznamenali 53,2 % vzoriek pochádzajúcich od žien v porovnaní so vzorkami pochádzajúcimi od mužov, a preto sa predpokladá, že práve u ženského pohlavia je zvýšený záujem o zdravie orálnej dutiny. Priemerný vek subjektov zapojených do štúdie bol 49,5 rokov a v rámci oboch pohlaví sa nemenil. V štúdii na populácii pacientov v USA [9] bol determinovaný priemerný vek diagnostiky parodontitídy na 65 rokov. Nižší priemerný vek nástupu ochorenia v slovenskej populácii môže byť výsledkom nastavenia systému prevencie dentálnych ochorení a včasnej diagnostiky.

Tabuľka 2: Porovnanie prítomnosti/neprítomnosti jednotlivých zápalových markerov asociovaných s parodontitídou

Genetický marker	IL1+	IL1-	IL1RA+	IL1RA-	HLA-DR4+	HLA-DR4-
Počet vzoriek	36 (54,5%)	30 (45,5%)	26 (39,4%)	40 (60,6%)	28 (42,4%)	38 (57,6%)

Legenda: IL1+ pozitívny kompozitný genotyp (prítomnosť SNP v HE alebo HO stave v IL1A a IL1B), IL1- negatívny kompozitný genotyp (prítomnosť WT statusu v oboch génoch IL1A a IL1B súčasne alebo kombinácie WT statusu v jednom a v druhom HO/HE), IL1RA+ pozitívny genotyp – prítomnosť SNP v HE alebo HO stave, IL1RA- negatívny genotyp (WT status), HLA-DR4+ prítomnosť alely, HLA-DR4- neprítomnosť alely.

V analyzovaných vzorkách sme pozorovali prítomnosť kompozitného rizikového genotypu IL1+ v 54,5% vzoriek. Uvedený status vo vzorkách predstavuje pre pacientov zvýšené riziko vzniku parodontitídy v dôsledku súčasnej prítomnosti SNP v oboch génoch pre cytokíny IL1A a IL1B. Genotyp IL1RA+, ktorý je považovaný za protektívny, vzhľadom na prítomnosť SNP v HE alebo HO stave, bol pozorovaný v 39,4% vzoriek. V našom analyzovanom súbore vzoriek malo negatívny genotyp *IL1RA*- 60,6% vzoriek. V štúdii [10] autori analyzovali 203 vzoriek, z ktorých 53% vzoriek vykazovalo negatívny genotyp *IL1RA*-. Rozdiel v početnosti o 7,4% môže byť asociovaný s rôznou veľkosťou súboru analyzovaných vzoriek.

Prítomnosť rizikovej alely *04 v géne *HLA-DRB1* sme pozorovali v 42,4% analyzovaných vzorkách, zatiaľ čo 57,6% vzoriek uvedenú alelu nemali prítomnú. Autori štúdie [11] sledovali prítomnosť uvedenej alely v iránskej populácii v 24% vzorkách. V porovnaní s naším súborom dát to predstavuje o 22% menej vzoriek s prítomnou uvedenou alelou. Výrazný rozdiel v početnosti pri oboch štúdiách je pravdepodobne zapríčinený odlišnými frekvenciami a distribúciou HLA molekúl v rámci etnických skupín a populácií.

Tabuľka 3: Sledovanie jednotlivých kombinácii alel v závislosti od patogenity bakteriálnych komplexov.

Kombinácie alel	Bakteriálny komplex				Súčet (Percentuálne vyjadrenie)
	P4	P3	P2/3	P2-P0	
IL1-/ IL1RA-/ HLA-DR4-	1	2	2	0	**5** (7%)
IL1-/ IL1RA-/ HLA-DR4+	2	8	1	0	**11** (15%)
IL1-/ IL1RA+/ HLA-DR4-	2	6	2	0	**10** (15%)
IL1-/ IL1RA+/ HLA-DR4+	2	0	0	0	**2** (3%)
IL1+/ IL1RA+/ HLA-DR4-	1	8	1	0	**10** (15%)
IL1+/ IL1RA+/ HLA-DR4+	0	2	0	0	**2** (3%)
IL1+/ IL1RA-/ HLA-DR4-	4	7	3	0	**14** (21%)
IL1+/ IL1RA-/ HLA-DR4+	3	7	2	0	**12** (18%)
SPOLU	**15** (23%)	**40** (60%)	**11** (17%)	**0**	**66 (100%)**

Legenda: IL1+ pozitívny kompozitný genotyp (prítomnosť SNP v HE alebo HO stave v IL1A a IL1B), IL1- negatívny kompozitný genotyp (prítomnosť WT statusu v oboch génoch IL1A a IL1B súčasne alebo kombinácie WT statusu v jednom a v druhom HO/HE), IL1RA+ pozitívny genotyp – prítomnosť SNP v HE alebo HO stave, ILRA- negatívny genotyp (WT status), HLA-DR4+ prítomnosť alely, HLA-DR4- neprítomnosť alely. Bakteriálny komplex P4 – vysokopatogénny potenciál, prítomnosť baktérie Aa. Bakteriálny komplex P3 – vysokopatogénny potenciál, prítomnosť baktérií červeného komplexu (Pg, Tf a Td). Bakteriálny komplex P2/3 – stredne patogénny potenciál, prítomnosť baktérií oranžového komplexu (Pi, Pm a Fn). Bakteriálny komplex P2 – mierne patogénny potenciál, prítomnosť baktérií oranžového združeného komplexu (Cr, En). Bakteriálny komplex P1 – nízky patogénny potenciál, prítomnosť baktérií zeleného komplexu (Ec, Cg). Bakteriálny komplex P0 – bez prítomnosti baktérií.

Pri sledovaní závislostí jednotlivých bakteriálnych komplexov a kombinácii alel sme nezaznamenali žiadne vzorky vykazujúce prítomnosť bakteriálneho komplexu P2-P0, ktoré sú asociované s nízkorizikovým potenciálom pri vzniku parodontitídy. Neprítomnosť nízkorizikových bakteriálnych komplexov vo vzorkách môže naznačovať nesprávnu resp. nedostatočnú ústnu hygienu pacientov, ktorí boli zaradení do štúdie, prípadne pokročilú formu ochorenia parodontu či závažný klinický stav jedincov. V 83% analyzovaných vzoriek boli prítomné baktérie asociované s vysokopatogénnymi komplexmi P3 a P4, ktoré sú spájané s vysokým rizikom ochorenia parodontu. Celkovo 17% vzoriek mali prítomné baktérie komplexu P2/3, ktoré predstavujú stredne patogénne riziko vzniku parodontitídy.

V analyzovanom súbore vzoriek sme pozorovali najväčšie zastúpenie vzoriek (21%) s genotypom IL1+/ IL1RA-/HLA-DR4-. Uvedený genotyp predstavuje zvýšené riziko vzniku parodontitídy v dôsledku súčasnej prítomnosti SNP v génoch pre cytokíny IL1A a IL1B. Negatívny genotyp IL1RA- predstavuje neprítomnosť SNP v uvedenom géne, a teda nedochádza k inhibičného efektu a potlačenie signalizácie IL1A a IL1B. Riziková alela v géne *HLA-DRB1* v uvedenej skupine vzoriek nebola prítomná. Uvedená skupina vzoriek ale vykazuje najviac vzoriek, ktoré majú kombináciu rizikového genotypu a zároveň prítomné baktérie zaradené do vysokopatogénnych bakteriálnych komplexov P4 a P3.

Druhú najpočetnejšiu skupinu predstavovalo 18% vzoriek s genotypom IL1+/IL1RA-/HLA-DR4+. Uvedený genotyp predstavuje najrizikovejšiu kombináciu zo všetkých kombinácií alel vzhľadom na zvýšené riziko vzniku parodontitídy. Označenie uvedeného genotypu za vysokorizikový je práve v dôsledku prítomnosti zloženého kompozitného genotypu IL1+ a negatívneho

statusu IL1RA- a súčasnou prítomnosťou rizikovej alely v géne *HLA-DRB1,* ktorá je asociovaná s resorbciou alveolárnej kosti. Kombináciu uvedeného genotypu spolu s bakteriálnymi komplexmi s vysokopatogénnymi potenciálom sme pozorovali v 84% vzoriek.

Vzhľadom na prítomnosť vysokopatogénnych baktérii a zároveň aj rizikového genotypu IL1+/IL1RA-/HLA-DR4- a IL1+/IL1RA-/HLA-DR4+, by mali byť pacienti s uvedenými kombináciami zaradení do vysokorizikovej skupiny pre parodontitídu, ktorá si vyžaduje zvýšenú zdravotnú starostlivosť v špecializovaných ambulanciách.

Záver

Nerovnováha orálneho mikrobiómu spôsobená prítomnosťou paropatogénnych baktérií môže viesť k chronickému zápalu a vzniku parodontitídy. Imunitná odpoveď na uvedené baktérie je podmienená geneticky a podieľa sa na modulácii predispozícii vzniku ochorenia parodontitídy u jedinca.

V našej štúdii sme identifikovali dve najrizikovejšie kombinácie bakteriálnych komplexov s vysokopatogénnym potenciálom a rizikovým genotypom. Najčastejšie sa vyskytujúcim genotypom bol genotyp IL1+/ IL1RA-/HLA-DR4-, ktorý bol prítomný v 24% analyzovaných vzoriek. Najrizikovejší genotyp IL1+/IL1RA-/HLA-DR4+ spolu s kombináciou bakteriálnych komplexov P3 a P4 sme zaznamenali v 18% vzoriek.

Vďaka poznaniu bakteriálneho zloženia orálnych patogénov ako aj stavu geneticky podmienenej imunitnej odpovedi pacienta na liečbu bolo možné uvedené dve skupiny vzoriek následne zaradiť do vysoko rizikovej skupiny pacientov trpiacich parodontitídou. Uvedená vysokoriziková skupina predstavuje pacientov, ktorí potrebujú zvýšenú zdravotnú starostlivosť ako aj nastavenie správneho klinického manažmentu a následnej terapie.

Práve stratifikáciou pacientov do rizikových skupín je možné docieliť zefektívnenie liečby už v primárnych štádiách ochorenia a zároveň včasná diagnostika môže zabrániť fatálnym zmenám a deštrukciám gingiválneho tkaniva, a tým výrazne zlepšiť kvalitu života pacienta, prípadne aj zlepšiť stav ďalších pridružených systémových ochorení.

Použitá literatúra

[1] DOMÍNGUEZ PACHECO, M. a kol. 2020. Prevalence of selected periodontal disease in schools 12 years old. Odontol Vital. č. 33., s. 43–8.

[2] LOOS, BG. a VAN DYKE, T.E. 2020. The role of inflammation and genetics in periodontal disease. Periodontol 2000. roč. 83, č. 1., s. 26.

[3] SOCRANSKY, S. S. a kol.1998. Microbial complexes in subgingival plaque. Journal of Clinical Periodontology, roč. 25 č. 2, s. 134–144.

[4] XU, W. a kol. 2020. Roles of Porphyromonas gingivalis and its virulence factors in periodontitis. Advances in protein chemistry and structural biology. roč. 120, s. 45–84.

[5] DOSSEVA-PANOVA, V. a kol. 2015. Gene polymorphisms in periodontitis. Overview. Biotechnology & Biotechnological Equipment. roč. 29, č. 5, s. 834–9.

[6] KANEKO, C. a kol. 2018. Circulating levels of carbamylated protein and neutrophil extracellular traps are associated with periodontitis severity in patients with rheumatoid arthritis: A pilot case-control study. PLos One č. 13, s. e0192365.

[7] PAPATHANASIOU, E. a kol. 2020. IL-1 Superfamily Members and Periodontal Diseases. J Dent Res. roč.99, č. 13, s.1425–34.

[8] SIPPERT, E. a kol. 2015. HLA Haplotypes and Genotypes Frequencies in Brazilian Chronic Periodontitis Patients. Mediators of Inflammations. č. 8. ID 481656, 8s.

[9] EKE, P. a kol. 2016. Periodontitis prevalence in adults ≥ 65 years of age, in the USA. Periodontology 2000. roč. 72, č. 1. s. 76-95

[10] MESA, F. a kol. 2017. Polymorphism IL-1RN rs419598 reduces the susceptibility to generalized periodontitis in a population of European descent. PLoS One. roč.12, č.10, s. e0186366.

[11] JAZI, M.M. a kol. 2013. HLA-DRB and HLA-DQA/HLA-DQB allele and haplotype frequencies in Iranian patients with aggressive periodontitis. J Periodontal Res. roč. 48, č. 4, s. 533-9

Drobné cicavce areálu priemyselného parku v Nitre

Small mammals of the industrial park area in Nitra

Jakub Košša[1] – Zuzana Poláčiková[2] – Filip Tulis[3] – Ivan Baláž[4]

[1]Slovenská akadémia vied, v. v. i., Štefánikova 49, 814 38 Bratislava,
[2]Katedra zoológie a antropológie, FPVaI UKF, Nábrežie mládeže 91, 949 01 Nitra
[1,3,4]Katedra ekológie a environmentalistiky, FPVaI UKF, Trieda A. Hlinku 1, 949 01 Nitra
[1]jakub.kossa@ukf.sk, [2]zpolacikova@ukf.sk, [3]ftulis@ukf.sk, [4]ibalaz@ukf.sk

Abstrakt

Pozitívne ekonomické efekty priemyselných parkov sú nepopierateľné. S pokrokom však prichádza aj otázka vplyvu na životné prostredie. Na zabezpečenie harmónie je však dôležité, aby sa riešili aj potenciálne negatívne vplyvy. Ak tento proces nie je dodržaný, môže to priniesť ekonomický a sociálny prínos, ale na úkor životného prostredia. Práve z hľadiska zohľadnenia vplyvov na životné prostredie v takýchto parkoch sa ich areály posudzujú aj vedeckým výskumom zameraným na biodiverzitu (druhovú bohatosť). Náš výskum spočíva v zhodnotení biodiverzity modelovej skupiny drobných cicavcov. Hlavný význam zohrávajú retenčné nádrže ktoré plnia úlohu mokraďových biotopov. Cieľom príspevku je prezentovať výsledky biomonitoringu areálu automobilového závodu JLR Slovakia, s.r.o. na modelovej skupine drobných cicavcov (Rodentia, Eulipotyphla) v rokoch 2019 až 2022. V našom zbere sa vyskytlo 5 druhov hlodavcov (Rodentia) – *Apodemus uralensis*, *Apodemus sylvaticus*, *Mus spicilegus*, *Micromys minutus*, *Microtus arvalis* a 5 druhov hmyzožravcov (Eulipotyphla) – *Crocidura suaveolens*, *Crocidura leucodon*, *Sorex araneus*, *Sorex minutus* a *Talpa europaea*.

Kľúčové slová: hmyzožravce, hlodavce, urbanizácia, revitalizácia

Abstract

The positive economic effects of industrial parks are undeniable. However, with progress comes the issue of environmental impact. To ensure harmony, it is important that potential negative influences are also solved. If this process is not maintained, it can bring economic and social benefits, but at the expense of the environment. Precisely from the point of view of environmental impacts in such parks, their areas are also assessed by scientific research focused on biodiversity (species richness). Our research consists in evaluating the biodiversity of a model group of small mammals. The main importance here are retention tanks, which fulfill the role of wetland biotopes. The aim of the contribution is to present the results of biomonitoring of the premises of the automobile plant JLR Slovakia, s.r.o. on a model group of small mammals (Rodentia, Eulipotyphla) in the years 2019 to 2022. There were 5 species of rodents (Rodentia) in our collection - *Apodemus uralensis, Apodemus sylvaticus, Mus spicilegus, Micromys minutus, Microtus arvalis and* 5 types of insectivores (Eulipotyphla) *Crocidura suaveolens, Crocidura leucodon, Sorex araneus, Sorex minutus* and *Talpa europaea*.

Key Words: insectivores, rodents, urbanization, revitalization

Úvod

Mnohé štúdie zistili, že v mestách a priemyselných oblastiach je pôvodná flóra a fauna zvyčajne radikálne pozmenená z hľadiska druhového zloženia a početnosti (Nilon, Pais, 1997; van der Ree, McCarthy, 2005; Gagné, Fahrig, 2011; Faeth et al., 2011; Jones, Leather, 2012; Aronson et al., 2014; Lattman et al., 2014). V prípade mestskej fauny sú hlavné efekty urbanizácie biotická homogenizácia, t.j. zníženie bohatosti a rozmanitosti druhov fauny, ktorá závisí od stupňa urbanizácie (Faeth et al., 2011). V dôsledku ničenia ekosystémov sa znižuje diverzita krajiny, čo znižuje biodiverzitu a ekologickú stabilitu (Slábová et al., 2008).

Drobné cicavce uprednostňujú biotopy s hustým podrastom alebo pôdnym krytom a s nízkou úrovňou priestorovej izolácie (Babińska-Werka et al., 1979; Cavia et al., 2009; Gomes et al., 2011; Łopucki et al., 2013). Keďže v mestských a priemyselných oblastiach nemajú biotopy spravidla hustý podrast, spoločenstvá drobných cicavcov sú touto skutočnosťou ovplyvnené. Je taktiež dôležité posúdiť dôsledky urbanizácie na populácie drobných cicavcov, pretože slúžia ako korisť

a rozprašovači semien a spór v suchozemských ekosystémoch, ktoré obývajú (Shonfield, Bayne, 2019). Bioindikácia je vhodná pre opis rôznych zložiek životného prostredia, ako i trendov vývoja a príčin ich náhlych alebo postupných, človekom vyvolaných či prirodzených zmien (Fedor, 2011). Drobné cicavce sú považované za indikátory biodiverzity pre svoju vysokú reprodukčnú a invazívnu schopnosť. Sú teda vhodnou modelovou skupinou na hodnotenie kvality životného prostredia, čo využila aj Slábová et al. (2008) vo svojej štúdii. Jej výsledky podporujú názor, že mokrade sú veľmi dôležité nielen pre vodný režim a kvalitu vody rekultivovaného územia, ale aj pre jeho biodiverzitu (druhovú bohatosť). Mokrade považuje za nevyhnutnú súčasť obnovy, resp. rekultivácie ľudskou činnosťou ovplyvneného prostredia.

1 Metodika práce

V rokoch 2019 až 2022 sme sa zamerali na monitoring drobných cicavcov na retenčných nádržiach a ich kontaktného územia. Odchyt drobných cicavcov bol realizovaný líniovou metódou (12 odchytových bodov v 10 m rozostupoch) kladenia živolovných pascí. Celkovo bolo nainštalovaných 6 línií (vždy 2 paralelné línie). Pasce boli exponované počas troch za sebou nasledujúcich dní (2 noci). Drobné cicavce boli monitorované dvakrát ročne, na jar a na jeseň. Celkovo bolo odchytených 236 jedincov 9 druhov. Na výpočet a zobrazenie akumulačnej krivky, druhového bohatstva a abundancie bol použitý program PAST v. 4.03.

1.1 Územie areálu JLR Slovakia s.r.o.

Výrobný areál spoločnosti Jaguar Land Rover Slovakia s.r.o. (obr. 1) sa nachádza v severozápadnej, okrajovej časti mesta Nitra (miestna časť Dražovce) a v katastrálnom území Lužianky. Geomorfologicky patrí územie do Nitrianskej nivy, nachádza sa v inundačnom území rieky Nitra. Proces výstavby si vyžiadal rozsiahle terénne úpravy, hrubé vrstvy navážok na spevnenie podložia a zníženie hladiny podzemnej vody, čo malo následne katastrofálny dopad na biodiverzitu počas, ale aj po výstavbe priemyselného komplexu. Kvôli výstavbe a vybetónovaní obslužných plôch bolo miesto výroby z hľadiska prítomnosti rôznych foriem života takmer sterilné.

Obr. 1: Areál automobilového závodu Jaguar Land Rover, s.r.o. Slovakia

1.2 Flóra a vegetácia v areáli JLR Slovakia

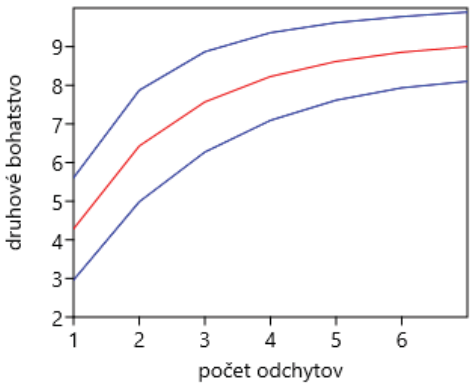
Prevažná časť živočíchov a rastlín je sústredená v retenčných nádržiach areálu JLR Slovakia, s.r.o. Voda je limitujúci faktor výskytu bioty a retenčné nádrže sú magnetom pre rôzne formy života. David (2021) na dnách retenčných nádrží a ich svahoch zaznamenal 68 rastlinných druhov (hydrofyty a helofyty, terofyty a hemikryptofyty). Druhy ruderálnej životnej stratégie boli výskytom viazané na narušené, novo vytvorené (ruderálne) stanovištia. Sú to napr. *Agrostis stolonifera, Bidens frondosa, Calamagrostis epigejos, Conyza canadensis, Carduus acanthoides.* Z vodných makrofytov to sú druhy helofytné, ktoré sú len z časti ponorené vo vode, napr. *A. plantago-aquatica, Bidens frondosa, Schoenoplectus lacustris, S. tabernaemontani, Epilobium hirsutum, Juncus articulatus.* Pri opise rastlinných spoločenstiev boli v rámci zväzov zaznamenané *Potentillion anserinae, Calthion palustris, Phragmition australis, Meliloto dentati-Bolboschoenion maritimi, Glycerio-Sparganion, Salicion albae, Nymphaeion albae.*

2 Výsledky a diskusia

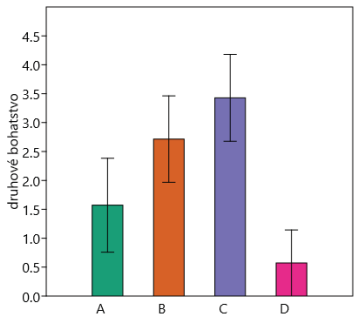
Zistili sme výskyt 5 druhov hlodavcov (Rodentia) – ryšavka malooká *Apodemus uralensis* (Pallas, 1811), ryšavka krovinná *Apodemus sylvaticus* (Linnaeus 1758), myš kopčiarka *Mus spicilegus* Petényi, 1882, myška drobná *Micromys minutus* (Pallas, 1771), hraboš poľný *Microtus arvalis* (Pallas, 1778) a 5 druhov hmyzožravcov (Eulipotyphla) – bielozúbka krpatá *Crocidura suaveolens* (Pallas, 1811), bielozúbka bielobruchá *Crocidura leucodon* (Hermann, 1780), piskor obyčajný *Sorex araneus* Linnaeus, 1758, piskor malý *Sorex minutus* Linnaeus, 1766 (tab. 1, 2), krt podzemný *Talpa europaea* Linnaeus, 1758. Najpočetnejším druhom bola bielozúbka krpatá, vysoko dominantné zastúpenie mali aj hraboš poľný a ryšavka krovinná (tab. 2, príloha A). Piskorovité sú známe ako mestsky citlivé druhy a možno ich považovať

za užitočné ukazovatele vplyvu urbanizácie (Vergnes et al., 2013; Łopucki, Kitowski 2014). Pokiaľ ide o rod *Apodemus*, v Európe je známy ako najviac synantropný (Andrzejewski et al., 1978; Baker et al., 2003; Łopucki et al., 2013; Gortat et al., 2014). Akumulačná krivka druhového bohatstva naznačuje postupné nasýtenie (graf. 1). Retenčné nádrže (B, C) vykazujú vyššie druhové bohatstvo (graf. 2) aj abundanciu ako trvalo trávnaté porasty (A, D, graf. 3).

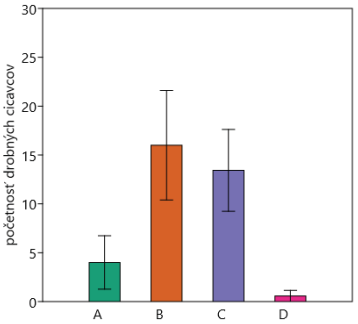
V porovnaní s jednotlivými rokmi, sme v roku 2021 nezaznamenali výskyt *Apodemus sylvaticus*, ako aj výskyt *Crocidura leucodon* a *Sorex minutus*. V porovnaní s rokmi 2019 a 2020 sa piskor obyčajný objavil až v roku 2021. V roku 2022 sme, s výnimkou *Crocidura leucodon*, potvrdili výskyt ostatných 8 druhov drobných cicavcov z predchádzajúcich rokov monitoringu (tab. 2, príloha A). Pozorovali sme aj typické kopčeky pôdy krta podzemného (*Talpa europaea*). Zaznamenali sme prítomnosť charakteristických „kurganov“ (kopcovité nánosy potravy a plodín), v ktorých *Mus spicilegus* prežíva zimné obdobie (obr. 3). Vysoká abundancia *Crocidura suaveolens* naznačuje dostatočnú potravnú ponuku drobných bezstavovcov (Baláž, Ambros, 2007). Stálym druhom teriofauny skúmaného územia je hraboš poľný, ktorý je kľúčovým druhom otvorenej poľnohospodárskej krajiny Nitrianskej pahorkatiny. Druh sa vyznačuje charakteristickými gradačnými cyklami, ktoré sú sprevádzané jeho kalamitným výskytom s následným devastačným účinkom na poľnohospodársku produkciu (Baláž, 2010; Baláž et al., 2013). K preventívnym opatreniam na obmedzenie negatívneho dopadu hraboša na krajinu patrí posilnenie populácie dravcov inštaláciou barličiek v tvare písmena T, tzv. T-čiek (obr. 2). V priebehu rokov 2019 až 2022 bol postupne zaznamenaný zvyšujúci sa počet druhov, čo súvisí s procesom postupnej revitalizácie územia a prebiehajúcej druhotnej sukcesie.



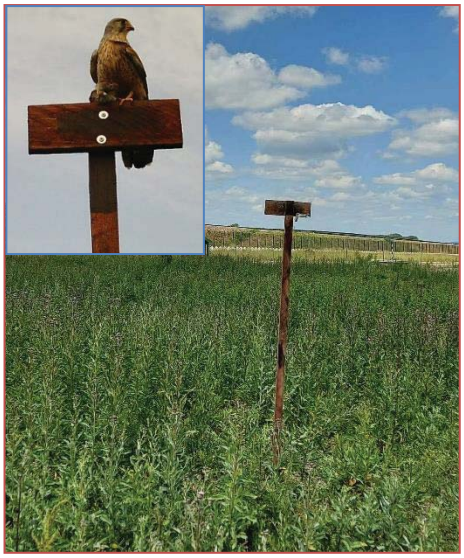
Graf. 1: Akumulačná krivka druhového bohatstva (červená farba), 95% interval spoľahlivosti (modrá farba)



Graf. 2: Druhové bohatstvo retenčných nádrží (B, C) a trvalo trávnatých porastov (A, D), priemer ± SE



Graf. 3: Abundancia drobných cicavcov v retenčných nádržiach (B, C) a trvalo trávnatých porastoch (A, D)



Obr. 2: Inštalované barličky tvaru písmena T na podporu hniezdenia dravých vtákov (biologickej ochrany areálu JLR) k predchádzaniu kalamitného výskytu hraboša poľného

Obr. 3: Kurgan myši kopčiarky

Tab. 1 : Prehľad odchytených druhov drobných cicavcov v jednotlivých mesiacoch monitoringu

	apríl	jún	september	október	november
Apodemus sylvaticus	-	-	3	2	29
Apodemus uralensis	-	1	17	1	2
Micromys minutus	-	-	3	2	-
Mus spicilegus	-	-	10	1	4
Microtus arvalis	2	-	53	5	17
Crocidura suaveolens	-	-	29	12	37
Crocidura leucodon	-	-	1	-	-
Sorex araneus	1	-	-	1	-
Sorex minutus	-	-	1	2	-
Spolu	**3**	**1**	**117**	**26**	**89**

Z výskumov urbanizovaného prostredia v meste Nitra (Klimant et al., 2017) autori uvádzajú odchyt 13 druhov v 3 mestských zónach (pericentrálna, periferálna, suburbánna). Zaznamenali výskyt 9 druhov hlodavcov a 4 druhy patriace do skupiny hmyzožravcov. Pri ich analýzach zistili, že početnosť druhu *A. sylvaticus* pozitívne korelovala so zvyšujúcim sa podielom prirodzenej pokrývky. Druhy *M. arvalis* a *A. uralensis* reagovali na rastúcu poľnohospodársku pôdnu pokrývku. *M. spicilegus* a *M. minutus* uprednostňujú zastavané plochy a zvyšujúci sa podiel mestskej zelene pozitívne ovplyvnil početnosť druhov *C. suaveolens, S. araneus a S. minutus*. Łopucki, Kitowski (2017) vo svojej štúdii zistili, že najcitlivejšie na urbanizáciu sú piskory, po ktorých nasledujú hraboše. V našej vzorke bol podiel piskorov nízky, avšak ak ide o druh *Microtus arvalis*, ten v našej vzorke predstavoval eudominantný druh. Pecharová, Hanák (1997) zistili, že najväčšia diverzita drobných cicavcov je na mokraďových lokalitách. Práve preto zohrávajú retenčné nádrže v areáli JLR dôležitú úlohu. Vytvárajú vhodné podmienky pre rast vlhkomilných rastlín (napr. *Carex, Phragmites, Salix, Typha*) (David, Petrovičová, 2021) a zabezpečujú vznik biotopov vhodných pre rôzne ďalšie druhy živočíchov (napr. bezstavovce), ako aj nami skúmanú skupinu drobných cicavcov. Navyše aj väčšina ostatných druhov, žijúcich v iných (napr. lesných) biotopoch, preferuje vlhšie biotopy (napr. všetky naše druhy *Sorex*, väčšina *Apodemus, Microtus subterraneus*; Anděra, Horáček, 1982; Cobert, Ovenden, 1982; Mitchell-Jones et al., 1999). Okrem nich aj Slábová et al. (2008) vo svojej štúdii zistili, že diverzita drobných cicavcov bola najvyššia na mokraďových lokalitách (zástupcovia rodov *Apodemus, Clethrionomys, Microtus, Sorex, Arvicola, Micromys*) a najnižšie na poľnohospodársky obnovených oblastiach (rody *Microtus* a *Mus*). Zistili sme, že retenčné nádrže v areáli JLR nahrádzajú mokraďové biotopy a predstavujú oázy biodiverzity. Ich úlohou je zadržiavať zrážky zo striech jednotlivých budov. Takýmto opatrením prispievajú podnikateľské subjekty v súčasnosti k zlepšeniu životného prostredia. Biotopy s hustým podrastom alebo pôdnou pokrývkou, čo retenčné nádrže spĺňajú, sú preferovanými útočiskami pre živočíchy, drobné cicavce nevynímajúc. V priebehu roka dochádza k typickým pravidelným osciláciám od jari do zimy v početnosti drobných cicavcov. Preto aj v našich zberoch sú odchytené jedince chudobnejšie, pokiaľ ide o druhovú bohatosť a abundanciu na jar (tab. 1), zatiaľ čo na jeseň dosahujú relatívne vysokú početnosť aj druhovú diverzitu (Losos, 1984).

Areál JLR sa nachádza na Nitrianskej pahorkatine, pričom Pachinger (1973), Ambros et al. (2010) uvádzajú v tomto geomorfologickom celku ďalšie druhy drobných cicavcov: *Arvicola amphibius, Microtus subterraneus, Clethrionomys glareolus, Apodemus flavicollis, Rattus norvegicus* a *Neomys anomalus*.

Záver

Počas monitoringu fauny drobných cicavcov (v rokoch 2019 – 2022) bol zistený výskyt 10 druhov drobných cicavcov. V priebehu odchytu drobných cicavcov v uvedených rokoch sa postupne zaznamenáva zvyšujúci počet druhov, čo súvisí s procesom postupnej revitalizácie územia a prebiehajúcej druhotnej sukcesie. V roku 2022 bol pozorovaný zvýšený výskyt dier v pôde ako aj výhrabkov pôdy v okolí týchto dier,

čo súvisí so zvýšenou podzemnou aktivitou drobných cicavcov a ich zvýšenou početnosťou. Uvedené môže naznačovať blížiacu sa kulmináciu početnosti hraboša (*Microtus arvalis*). Ostatný kalamitný výskyt hraboša poľného bol na území Nitrianskej pahorkatiny zaznamenaný v rokoch 2018 až 2019. Dôležitú úlohu v procese revitalizácie zohrávajú retenčné nádrže, nakoľko vytvárajú umelý mokraďový biotop, ktorý predstavuje významný ekosystémový prvok v priemyselnom areáli a vytvárajú vhodné životné podmienky pre biotu (rastlinstvo a živočíšstvo).

Poďakovanie

Výsledky práce vznikli v rámci zmluvnej spolupráce medzi Fakultou prírodných vied a informatiky UKF v Nitre a Jaguar Land Rover Slovakia, s.r.o.

Použitá literatúra

[1] NILON CH., PAIS R. C. 1997. *Terrestrial vertebrates in urban ecosystems: developing hypotheses for the Gwynns falls watershed in Baltimore, Maryland*. Urban Ecosyst. 1:247–257

[2] VAN DER REE R., MCCARTHY M. A. 2005. *Inferring persistence of indigenous mammals in response to urbanization*. Anim. Conserv. 8:309–319

[3] GAGNÉ S. A., FAHRIG L. 2011. *Do birds and beetles show similar responses to urbanization?* Ecol. Applications 21:2297–2312

[4] FAETH S. H., BANG C., SAARI S. 2011. *Urban biodiversity: patterns and mechanisms.* Ann. N.Y. Acad. Sci. 1223:69–81

[5] JONES E. L., LEATHER S. R. 2012. *Invertebrates in urban areas: a review. Eur*. J. Entomol. 109:463–478

[6] ARONSON M. F. J., LA SORTE F. A., NILON CH. H., KATTI M., GODDARD M. A., LEPCZYK CH. A., WARREN P. S., WILLIAMS N. S. G., CILLIERS S., CLARKSON B., DOBBS C., DOLAN R., HEDBLOM M., KLOTZ S., KOOIJMANS J. L., KÜHN J., MACGREGOR-FORS I., MCDONNELL M., MÖRTBERG U., PYŠEK P., SIEBERT S., SUSHINSKY J., WERNER P., WINTER M. 2014. *A global analysis of the impacts of urbanization on bird and plant diversity reveals key anthropogenic drivers*. Proc. R. Soc. B. 281:20133330

[7] LATTMAN H., BERGMAN K. O., RAPP M., TÄLLE M., WESTERBERG L., MILBERG P. 2014. *Decline in lichen biodiversity on oak trunks due to urbanization.* Nord. J. Bot. 32(4):518–528

[8] SLÁBOVÁ M., BROUMOVÁ H., PECHAROVÁ E. 2008. *Communities of Small Mammals as Indicators of Biodiversity Changes in Reclaimed Areas after Coal Mining*. – In: Rapantova, N., Hrkal, Z.: Mine Water and the Environment. – p. 179-182; Ostrava (VSB – Technical University of Ostrava).

[9] BABIŃSKA-WERKA J., GLIWICZ J., GOSZCZYŃSKI J. 1979. *Synurbization processes in an urban population of Apodemus agrarius. II. Habitats of the striped field mouse in town.* Acta Theriol. 26:405–415

[10] CAVIA R., CUETO G. R., SUÁREZ O. V. 2009. *Changes in rodent communities according to the landscape structure in an urban ecosystem*. Landsc. Urban Plan 90:11–19

[11] GOMES V., RIBEIRO R., CARRETERO M. A. 2011. *Effects of urban habitat fragmentation on common small mammals: species vs. communities*. Biodiv. Conserv. 20:3577–3590

[12] ŁOPUCKI R., MRÓZ I., BERLIŃSKI Ł., BURZYCH M. 2013. *Effects of urbanization on small-mammal communities and the population structure of synurbic species: an example of a medium-sized city.* Can. J. Zool. 91: 554–561

[13] DAVID S., 2021. *Flóra a vegetácia v areáli Jaguar Land Rover Slovakia.* In Správa z biomonitoringu areálu Jaguar Land Rover Slovakia za rok 2021. 4-18 (unpub.)

[14] VERGNES A., CHANTEPIE S., ROBERT A., CLERGEAU P., 2013. *Are urban green spaces suitable for woodland carabids? First insights from a short-term experiment.* J. Insect Conserv. 17, 671–679. doi:10.1007/s10841-013-9551-2

[15] SHONFIELD J., BAYNE E. M., 2019. *Effects of industrial disturbance on abundance and activity of small mammals.* Canadian Journal of Zoology. Volume 97. 1013 - 1020

[16] FEDOR P., 2011. *Vybrané kapitoly z monitoringu životného prostredia.* 2. vydanie. Bratislava, UK v Bratislave. 78 s.

[17] ŁOPUCKI R., KITOWSKI I. 2014. *The occurrence of the Bicoloured White- Toothed Shrew Crocidura leucodon (Hermann, 1780) in cities of eastern Poland.* In: Indykiewicz P, Böhner J (eds) Urban fauna. Animal, Man, and the City – Interactions and Relationships. Bydgoszcz 325–332

[18] ANDRZEJEWSKI R., BABIŃSKA-WERKA J., GLIWICZ J., GOSZCZYŃSKI J. 1978. *Synurbization process in population of Apodemus agrarius. I. Characteristics of populations in urbanization gradient.* Acta Theriol. 23:341–358

[19] BAKER P. J., ANSELL R. J., DODDS P. A. A., WEBBER C. E., HARRIS S. 2003. *Factors maffecting the distribution of small mammals in an urban area*. Mammal Rev 33:95–100

[20] GORTAT T., BARKOWSKA M., GRYCZYNSKA-SIEMIATKOWSKA A., PIENIAZEK A., KOZAKIEWICZ A., KOZAKIEWICZ M. 2014. *The effects of urbanization - small mammal communities in a gradient of human pressure in Warsaw city, Poland*. Pol. J. Ecol. 62:163–172

[21] BALÁŽ I., AMBROS M. 2007. *Rozšírenie, habitus populácie a rozmnožovanie druhov Crocidura herm. a Neomys Kaup. (Mammalia: Eulipotyphla) na Slovensku [Crocidura Hermand Neomys Kaup (Mammalia: Eulipotyphla)* Species Distribution, Population Habitus and Reproduction in Slovakia]. Nitra: Univerzita Konštantína Filozofa v Nitre, Fakulta prírodných vied (in Slovak, English Abstract).

[22] BALÁŽ I., 2010. *Somatic characteristics and reproduction of common vole, Microtus arvalis (Mammalia: rodentia) populations in Slovakia*. Biologia 65: 1064–1071

[23] BALÁŽ I., AMBROS M., TULIS F., VESELOVSKÝ T., KLIMANT P., AUGUSTINIČOVÁ G., 2013. *Hlodavce a hmyzožravce Slovenska.* Edícia Prírodovedec č. 547, Univerzita Konštantína Filozofa v Nitre, 198 pp.

[24] KLIMANT, P., KLIMANTOVÁ, A., BALÁŽ, I., JAKAB, I., TULIS, F., RYBANSKÝ, L., VADEL, L., KRUMPÁLOVÁ, Z. (2017). *Small mammals in an urban area: Habitat preferences and urban–rural gradient in Nitra city, Slovakia.* Polish Journal of Ecology, 65, 144–157.

[25] ŁOPUCKI, R., AND KITOWSKI, I. (2017*). How small cities affect the biodiversity of ground-dwelling mammals and the relevance of this knowledge in planning urban land expansion in terms of urban wildlife.* Urban Ecosyst. 20, 933–943.

[26] PECHAROVÁ E., HANÁK P. 1997. *Obnova funkce krajiny v oblastech narušených povrchovou těžbou.* Sborník referátů, mezinárodní vědecká konference Agroregion, České Budějovice 3. – 4. 9. 1997

[27] DAVID S., PETROVIČOVÁ K. 2021. *Floristický a vegetačný prieskum vodných nádrží v areáli Jaguar Land Rover Slovakia v Nitre.* Ekologické štúdie s. 33-51

[28] ANDĚRA M, HORÁČEK I. 1982. *Poznáváme naše savce.* Mladá fronta, Praha, 254 pp.

[29] COBERT G., OVENDEN D. 1982. *Pareys Buch der Säugetiere: alle wildlebenden Säugetiere Europas*. Hamburg; Berin: Parey, 240 Seiten.

[30] MITCHELL-JONES A. J., AMORI G., BOGDANOWICZ W., KRYSTUFEK B., REIJNDERS P. J. H., SPITZENBERGER F., STUBBE M., THISSEN J. B. M., VOHRALÍK V., ZIMA J. 1999. *The Atlas of European Mammals.* Academic Press, London, 484 pp

[31] LOSOS B.,1984: Ekologie živočichů. SPN Praha, 316 str.

[32] PACHINGER K., 1973: *Zur Klarlegung einiger Probleme bei der bioenergetischen Forschung von Säugetieren im Eichen-Hainbuchenwald Báb bei Nitra.* Acta F. R. N. Univ. Comen., Zoologia 18, s. 213 – 221.

[33] AMBROS M., BALÁŽ I., GAJDOŠ P., 2010: *Small mammals (Rodentia, Eulipotyphla) of the oak-hornbeam forest Báb near Nitra (Nitrianska pahorkatina – hilly land)*. Rosalia (Nitra), 21, p. 185-193.

PRÍLOHY

Príloha A

Tab. 2: Prehľad odchytených druhov drobných cicavcov počas rokov 2019 – 2022 (N – počet, D – dominancia)

Druh	**N spolu**	**D (%)**	**2019**	**2020**	**2021**	**2022**
Apodemus sylvaticus	34	**14,4**	3	29	-	2
Apodemus uralensis	21	8,9	10	2	8	1
Micromys minutus	5	2,1	-	1	2	2
Mus spicilegus	15	6,4	2	11	1	1
Microtus arvalis	77	**32,6**	20	40	12	5
Crocidura suaveolens	78	**33,1**	17	41	8	12
Crocidura leucodon	1	0,4	1	-	-	-
Sorex araneus	2	0,8	-	-	1	1
Sorex minutus	3	1,3	-	1	-	2
Spolu	**236**	**100**	**53**	**125**	**32**	**26**
Počet druhov	-	-	6	7	6	8

Vplyv introdukcie rýb na subfosílne pakomáre, perloočky a rozsievky vo vysokohorskom jazere (Vyšné Račkovo pleso, Západné Tatry)

The effect of the introduction of fish on subfossil Chironomidae, Cladocera and Bacillariophyceae in lake (Vyšné Račkovo pleso, Western Tatras)

Veronika Slobodníková[1]
Školiteľ: Ladislav Hamerlík[1,2]
[1] Department of Biology and Ecology, Faculty of Natural Sciences, Matej Bel University, Tajovského 40, 97401 Banská Bystrica, Slovakia
[2] Institute of Zoology, Slovak Academy of Sciences, Dúbravská cesta 9, 84506 Bratislava, Slovakia
[1]vstillova@umb.sk, [2]ladislav.hamerlik@umb.sk

Abstrakt

Pre zrekonštruovanie vplyvu introdukcie rýb na vybrané spoločenstvá sme analyzovali 24 cm dlhé sedimentačné jadro (posledných ~ 200 rokov). Introdukcia nepôvodných druhov rýb do vysokohorských jazier ovplyvňuje dynamiku živín a mení štruktúru a biomasu zooplanktónu a bentickej fauny. Výsledky naznačujú, že sa nám nepodarilo zachytiť obdobie jazera bez rýb. Pomocou použitých proxy-dát rozdeľujeme vývoj jazera do dvoch etáp. Prvá etapa (do ~1950 nl) predstavuje obdobie spoločného výskytu pstruha potočného a hlaváča pásoplutvého. Extrémne nízka koncentrácia perloočiek, dominancia malotelových taxónov, nízky podiel dafnií a nízke zastúpenie/absencia veľkotelových pakomárov podčeľade Tanypodinae svedčia o silnom vplyve oboch druhov rýb. Začiatok druhej etapy pravdepodobne súvisí so zákazom zarybňovania a pastvy v povodí. Výrazné zvýšenie celkovej abundancie perloočiek môže naznačovať vyhynutie pstruhov. Od konca 20. storočia prudký nárast teplomilnejších taxónov pakomárov naznačuje otepľovanie klímy. Vo všeobecnosti, zatiaľ čo perloočky indikovali predovšetkým manipuláciu s rybami, pakomáre a rozsievky odzrkadľovali najmä iné lokálne a globálne environmentálne stresory.

Kľúčové slová: Chironomidae, Cladocera, Bacillariophyceae, hlaváč pásoplutvý, pstruh potočný, paleolimnológia, Západné Tatry

Abstract

We analyzed a 24 cm long sediment sequence (past ~200 years) from an alpine lake (Tatra Mts., Slovakia) for chironomids, cladocerans and diatoms to reconstruct the effects of a historically documented fish introduction. Our results indicate that fish introduction predated the age of the sequence and thus we did not cover the lake's fishless period. Individual proxies consent in showing two main lake development stages. The first stage that lasted until ~1950 CE and was interpreted as the stage when brown trout and alpine bullhead co-occurred. The extremely low concentration of cladocerans, dominance of small-bodied chydorids and low share of daphnids together with the low proportion/ absence of large-bodied tanypod chironomids suggest a strong effect of both species. The beginning of the next stage is probably related to the ban of fish manipulations and grazing in the catchment. A significant increase of the total abundance of cladocerans and of daphnids may indicate the extirpation of trout. Since the end of the 20th century, the steep increase of thermally plastic chironomid taxa indicates climate warming. Generally, while cladocerans indicated primarily fish manipulations, chironomids and diatoms reflected mainly other local and global environmental stressors.

Key Words: Chironomidae, Cladocera, Bacillariophyceae, alpine bullhead, brown trout, paleolimnology, Tatra Mountains, West Carpathians

Úvod

Vysokohorské oblasti patria medzi najcitlivejšie prostredia na svete. Hoci ľudský tlak (pastva, poľnohospodárstvo, lesníctvo) v európskych pohoriach začal pred niekoľkými tisícročiami [1], pohoria sú od priemyselnej revolúcie čoraz viac ovplyvňované ľudskou činnosťou [2]. Vďaka extrémnym podmienkam prostredia majú relatívne jednoduchú štruktúru spoločenstva a rýchlejšie a citlivejšie reagujú na zmeny prostredia ako jazerá v nížinách [3]. Vysokohorské plesá v Tatrách (Tatry, Západné Karpaty) patria medzi najintenzívnejšie skúmané v európskej jazernej oblasti [4]. Spomedzi niekoľkých antropogénnych stresorov, ktoré boli identifikované na celom svete, sa biologické invázie v súčasnosti považujú za hlavný environmentálny problém verejného záujmu [5]. Ryby patria k najviac introdukovaným skupinám vodných živočíchov [6] s vysokým počtom inváznych druhov v Európe [7]. Introdukcia rýb (zvyčajne lososovitých) do pôvodne bezrybých vysokohorských jazier ovplyvňuje krehkú miestnu biodiverzitu mnohými priamymi a nepriamymi spôsobmi. Ryby, ktoré sú zvyčajne špičkovými predátormi, znižujú distribúciu a početnosť veľkého zooplanktónu a vytvárajú nepriame zhora nadol kaskádové efekty, ktoré menia štruktúru a biomasu malých druhov zooplanktónu a fytoplanktónu. Tatranské jazerá sú (až na dve výnimky z viac ako 220) pôvodne bez rýb kvôli prítomnosti prirodzených prekážok (strmé svahy a vysoká prúdová rýchlosť výtokov, vodopády alebo často úplná izolácia jazier, ktoré bránili prirodzenej kolonizácii rýb z nižšie situovaných tokov.

1 Materiál a metodika

1.1 Charakteristika študovanej lokality

Vyšné Račkovo pleso (VRP, N 49°11’59’’, E 19°48’06’’) je malé (0,7 ha) subalpínske jazero ľadovcového pôvodu s maximálnou hĺbkou 12,3 metra. Je to najvyššie položené jazero (1 697 m n. m.) v reťazci siedmich jazierok v Račkovej doline v Západných Tatrách. Jazero má prítok a odtok a jeho veľkosť sa mierne mení v závislosti od klimatických podmienok. Povodie tvoria prevažne vysokohorské lúky s kosodrevinou a skalami.

1.2 Odber vzoriek

Dve krátke sedimentačné jadrá (VRP-I 24 cm a VRP-2 21 cm dlhé) boli odobraté z najhlbšej časti jazera (12,3 m) pomocou Kajakovho gravitačného jadrovača v októbri 2018. Dlhšie jadro, VRP-I, bolo rozrezané do vrstiev s hrúbkou 0,5 cm na mieste a vzorky sedimentov boli uložené v uzatvárateľných plastových vreckách pri približne 4 °C v chladničke na neskoršiu analýzu.

1.3 Chronológia

Vek každej vrstvy bol vypočítaný metódou ^{210}Pb s použitím modelu konštantnej rýchlosti zásobovania (CRS). Metóda využíva zákon rádioaktívneho rozpadu a zmien koncentrácie takzvaného nepodporovaného olova $^{210}Pb_{unsup}$, ktoré sa vyplavuje z atmosféry a zabudováva do jazerných sedimentov. Jeho množstvo sa časom znižuje. Metóda ^{210}Pb sa dá použiť na určenie veku 100 – 200 rokov dozadu. Odhadovaný vek jadra sedimentu bol tiež potvrdený metódou ^{137}Cs. Veľké množstvo tohto rádionuklidu sa dostalo do atmosféry pri jadrových skúškach (1945 – 1963) a havárii v Černobyle v roku 1986 [8,9].

1.4 Analýza pakomárov (Chironomidae)

Na odstránenie hrubých organických a anorganických častíc sme použili sitá s veľkosťou ôk 90 µm a 200 µm. Hlavové kapsuly sa ručne vybrali z frakcií na oboch sitách pri 40-násobnom zväčšení. Z každej vrstvy sme vybrali aspoň 50 hlavových kapsúl pakomárov. Hlavové kapsuly boli pripevnené ventrálnou stranou nahor v montážnom médiu Berlese na mikroskopické sklíčka. Taxonomická identifikácia sa uskutočňovala pod zloženým mikroskopom pri až 400-násobnom zväčšení podľa štandardných identifikačných pokynov [10,11]. K jednotlivým taxónom boli priradené preferencie na rýchlosť prúdu, veľkosť tela lariev a potravné skupiny [12,13]. Do stratigrafického diagramu boli zahrnuté len rozsievky s celkovými abundanciami > 5 %.

1.5 Analýza perloočiek (Cladocera)

Analýza subfosílnych perloočiek sa uskutočnila podľa štandardnej metodiky [14]. Vzorky čerstvého sedimentu (cca 2 cm3) sa ošetrili 10 % HCl, aby sa odstránil uhličitan a potom sa zahriali v 10 % roztoku KOH. Neskôr sa zvyšok vložil do magnetického miešadla na 20 minút, aby sa odstránila humusová hmota. Nakoniec boli vzorky preosiate cez 38 µm sito, prenesené do skúmavky a naplnené do 5 cm3 destilovanej vody. Každá vzorka bola zafarbená safranínom. V závislosti od počtu zvyškov sa pre každú vzorku skúmalo tri až päť sklíčok (0,1 cm3 tekutej suspenzie). Taxonomická identifikácia sa riadila štandardnou literatúrou [15].

1.6 Analýza rozsievok (Bacillariophyceae)

Celkovo sa na analýzy rozsievok použilo 48 vzoriek. Rozsievky (Bacillariophyceae) boli upevnené v

Naphraxe po štandardnom čistiacom postupe s použitím 30 % H2O2 ako oxidačného činidla na elimináciu organického materiálu, po úprave 10 % HCl na odstránenie uhličitanov [16]. Vo vzorke bolo napočítaných minimálne 400 chlopní v náhodne vybraných transektoch pomocou 1000x olejového imerzného objektívu a mikroskopu Nikon Eclipse Ni-U. Identifikácia rozsievok bola založená najmä na [17–20]. Nomenklatúra bola skontrolovaná a aktualizovaná podľa AlgaeBase [21]. Do stratigrafického diagramu boli zahrnuté len rozsievky s celkovými abundanciami > 5 %.

1.7 Analýza údajov

Biologické údaje sa zhromaždili a vykreslili pomocou softvéru C2 verzie 1.7.7 [22]. Stratigraficky obmedzená klastrová analýza súčtu štvorcov (CONISS) bola použitá vo verzii Tilia 1.7.16 [23] na objektívne rozdelenie downcore zmien v zložení a abundancii zhromaždení do zón. Aby sa ukázali zmeny na úrovni komunity, všetky biologické proxy boli analyzované pomocou DCA (Detrended Correspondence Analysis) v Canoco pre Windows verzie 5.01 [24] s použitím netransformovaných údajov relatívnej početnosti. Výsledky sa ukázali ako skóre prvej osi DCA vynesené proti veku.

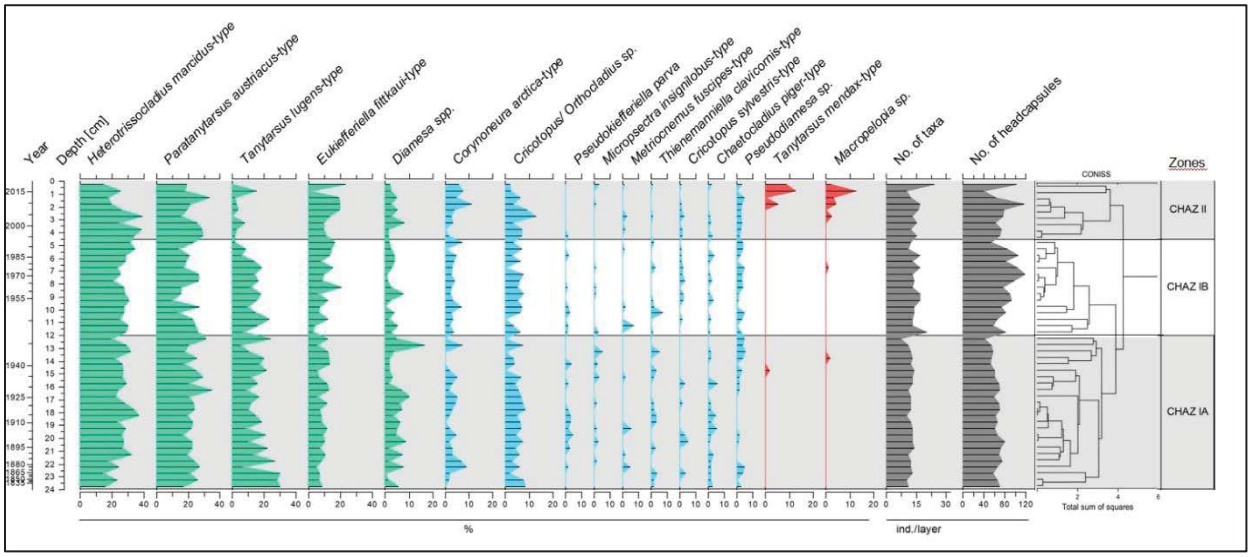
2 Výsledky a diskusia

2.1 Chronológia

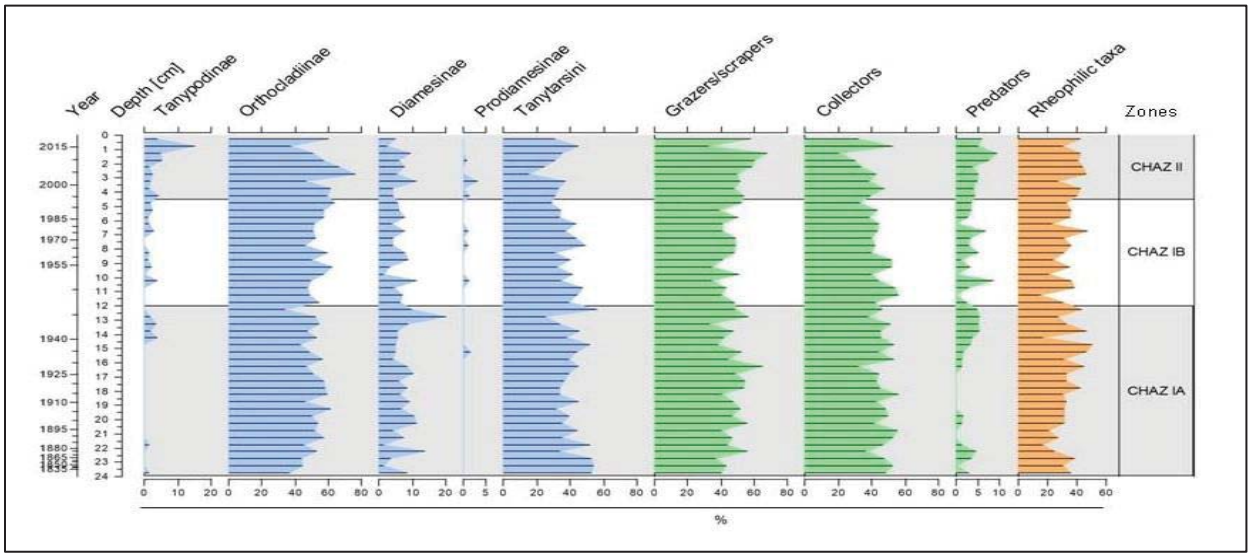
Odhaduje sa, že 24 cm dlhé jadro sedimentu bolo uložené za posledných 195 rokov. Výsledky rádionuklidovej metódy ^{137}Cs potvrdili presnosť datovania olovom. Zvýšené hladiny koncentrácií ^{137}Cs boli identifikované okolo 80. a 60. rokov 20. storočia, čo zodpovedalo havárii v Černobyle a testom jadrových zbraní.

2.2 Pakomáre (Chironomidae)

Celkovo bolo identifikovaných 3474 hlavových kapsúl pakomárov, ktoré predstavujú 30 taxónov piatich podčeľadí. V celej sekvencii dominovala podčeľaď Orthocladiinae nasledovaná kmeňom Tanytarsini (Chironominae), pričom najbežnejšími taxónmi boli *Paratanytarsus austriacus*-type, *Heterotrissocladius marcidus*-type, *Eukiefferiella fittkaui*-type, *Tanytarsus lugens*-type a *Diamesa* spp. Reofilné a reobiontické taxóny, ako je *Diamesa* spp. a *Eukiefferiella fittkaui*-type, tvorili podstatnú časť súborov v rozmedzí od 5 do viac ako 25 % v jednotlivých vzorkách (Obrázok 1). Pokiaľ ide o potravnú stratégiu spásače/zoškrabávače a zberače dominovali v celej sekvencii sedimentov a nevykazovali výrazné zmeny v priebehu času. Na druhej strane podiel predátorov vykazoval výraznú dynamiku v rozmedzí od 0 do 10 % (Obrázok 2). Na základe zloženia spoločenstva boli identifikované dve zóny (CHAZ I, II) a dve podzóny (CHAZ IA a IB).



Obr. 1. Relatívne zastúpenie najbežnejších taxónov pakomárov (>5 %), počet taxónov a počet hlavových kapsúl v sekvencii sedimentov VRP. Farby označujú: ■ taxóny s relatívnou početnosťou >10 % ■ taxóny s relatívnou početnosťou 5–10 %, ■ teplomilné taxóny, ■ počet taxónov a počet hlavových kapsúl

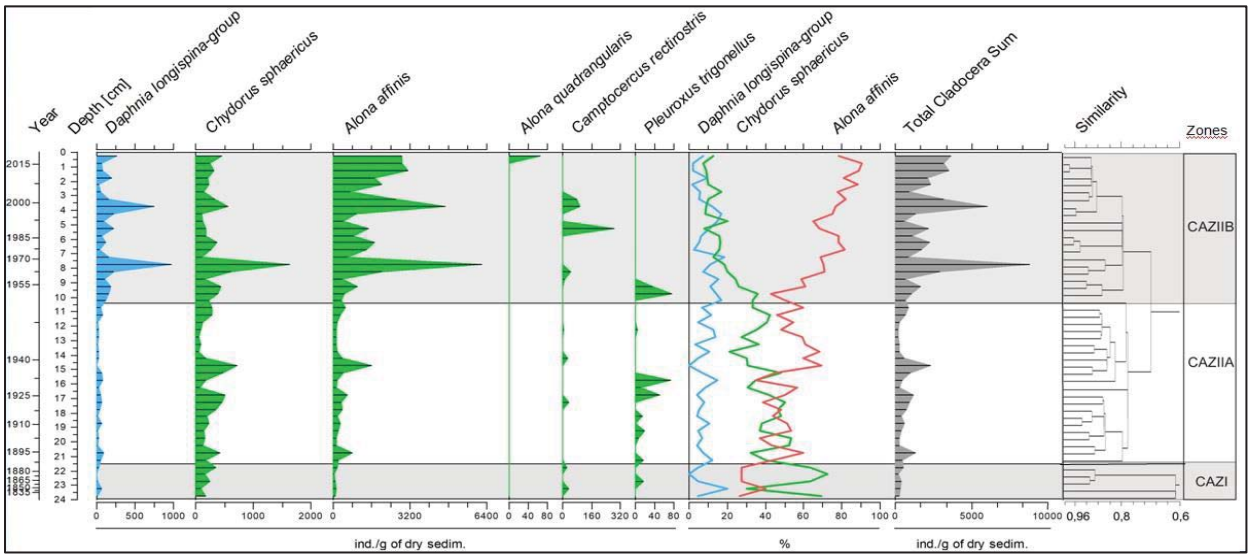


Obr. 2. Podčeľade a ekologické skupiny fauny pakomárov na základe potravnej stratégie a vzťahu k prúdeniu.

Farby označujú: ■ podčeľade, ■ potravinovú stratégiu, ■ reofilné taxóny

2.3 Perloočky (Cladocera)

Celkovo bolo identifikovaných šesť taxónov perloočiek, ktoré patria do dvoch čeľadí: Daphniidae a Chydoridae. V druhovom zložení v celom jadre dominovali litorálne taxóny čeľade Chydoridae. Na základe zloženia a relatívnej početnosti klastrová analýza rozlíšila dve hlavné zóny spoločenstva perloočiek (CAZ I a CAZ II) a dve podzóny (CAZ IIA a CAZ IIB) (Obrázok 3).



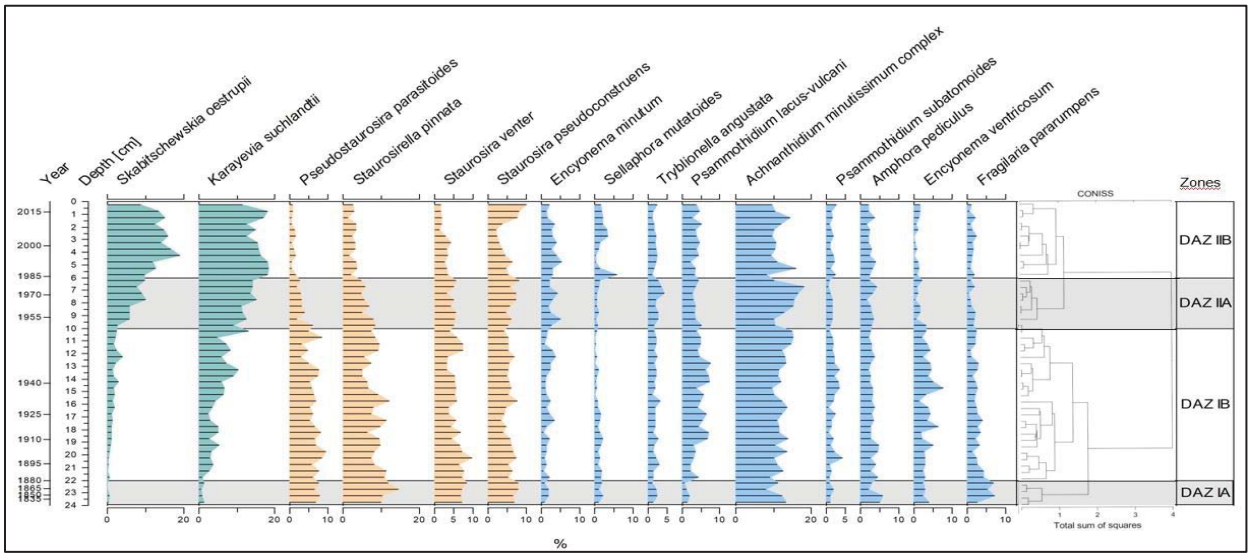
Obr. 3 Stratigrafický diagram absolútnych (ind./1g suchého sedimentu) a relatívnych (%) abundancií všetkých druhov perloočiek zaznamenaných v jadre sedimentu VRP.

Farby označujú: ■ pelagiálne taxóny, ■ litorálne taxóny

2.4 Rozsievky (Bacillariophyceae)

Celkovo sa v sekvencii sedimentov našlo 110 taxónov rozsievok. Podiel 15 druhov bol aspoň v jednej vzorke vyšší ako 5 %. Zloženie rozsievok pozostáva výlučne z penátnych druhov okrem *Orthoseira roeseana* (centrický druh, z ktorého boli zaznamenané len 2 valvy).

Najčastejšími a najhojnejšími rozsievkami v súvrstviach boli malé fragilarioidné formy, a to *Staurosira pseudoconstruens*, *S. venter*, *Staurosirella pinnata* a *Pseudostaurosira parasitoides*. Boli identifikované dve významné zóny zhromažďovania rozsievok s dvoma podzónami v každej (Obrázok 4).



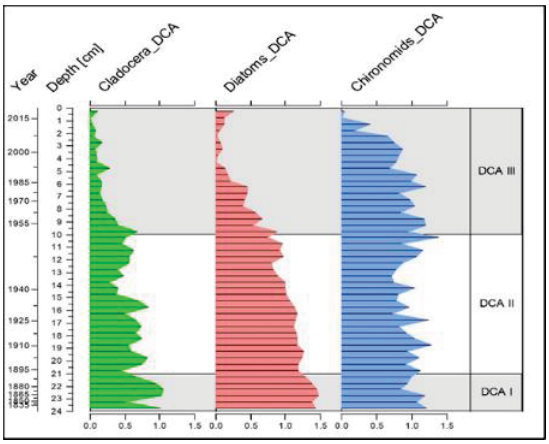
Obr. 4. Stratigrafia dominantných taxónov rozsievok (>5 %) v jadre sedimentu VRP. Farby predstavujú: ■ taxóny s rastúcou relatívnou abundanciou smerom k povrchu sedimentu, ■ taxóny s klesajúcou relatívnou abundanciou smerom k povrchu sedimentu, ■ ostatné druhy

2.5 Diskusia

Výrazné zmeny v zložení biologických proxy sa zhodujú v celom sedimentačnom zázname a ukazujú dve hlavné štádiá vývoja jazera za posledných 200 rokov (Obrázok 5) s hlavnou hranicou 10,0 – 12,0 cm, čo zodpovedá ~ 1950 CE. Aj napriek tomu, že prvé dobre zdokumentované veľké historické zarybnenie v slovenských Tatrách, sa uskutočnilo koncom 19. storočia [25], spoločenstvo pakomárov a perloočiek nenaznačuje v tom čase výraznú zmenu, čo naznačuje, že ryby mohli byť vypustené do jazera VRP skôr. Prvá zmienka o bežnej introdukcii pstruha potočného a hlaváča pásoplutvého do jazier v doline priľahlej k Račkovej doline pochádza z konca 18. storočia [26]. Je pravdepodobné, že VRP spolu s ďalšími jazerami v Západných Tatrách podliehala introdukcii rýb súčasne, preto analyzovaný sedimentačný záznam (počnúc rokom 1823 n. l.) nezachytáva obdobie bezrybých podmienok. Predpokladáme teda, že zloženie súvrství pakomárov a perloočiek v staršej časti sekvencie sedimentov už odráža kombinovaný predátorský tlak pstruha potočného a hlaváča pásoplutvého. Celkovo majú dva spomenuté druhy podobnú stravu, pokiaľ ide o bentickú korisť, pričom obidva sú vizuálnymi predátormi [27,28], ktorí si vyberajú väčšiu a ťažšiu korisť. Pstruh potočný je však oportúnnejší a navyše sa živí zooplanktónom, unášanými bezstavovcami, kuklami pakomárov vo vodnom stĺpci a hmyzom spadnutým na vodnú hladinu [29,30]. Významný vplyv rýb na štruktúru a dynamiku spoločenstiev zooplanktónu sú dobre známe [31–32] a okrem iného zahŕňajú zníženie hustoty a veľkosti tela jedincov [32,33] a následne zvýšenie podielu malých druhov. [34]. Extrémne nízka koncentrácia perloočiek, dominancia malotelových druhov a nízky podiel *Daphnia longispina*-group naznačuje silný účinok pstruha potočného. *Chydorus sphaericus* a *Alona affinis* sú najbežnejšie a najpočetnejšie litorálne perloočky v Tatrách. Oba druhy pravidelne vstupujú do pelagickej zóny [35,36], kde môžu byť vystavené predačnému tlaku pstruha potočného. Hlaváč pásoplutvý je slabý plavec, takže jeho schopnosť zachytiť zooplanktón vo vodnom stĺpci je obmedzená [11]. Môže však loviť malé

druhy zooplanktónu žijúce na časticiach sedimentov alebo medzi nimi [37]. *Daphnia longispina*-group evidentne prežila predáciu rýb vo VRP, aj keď v malom množstve. Jedným z vysvetlení by mohlo byť, že dafnie sa môžu ukrývať v hlbších častiach jazier s nízkou intenzitou svetla [38], a preto môžu byť nedostupné pre pstruha potočného, ktorý potrebuje určité množstvo svetla na optimálne hľadanie potravy, a teda loví blízko hladiny [27]. Ďalším možným vysvetlením je, že populácia pstruha potočného nebola nikdy dostatočne bohatá na to, aby zlikvidovala svoju korisť a/alebo spiace ikry dafnie mohli prežiť prechod cez tráviaci systém rýb [39,24], čo umožnilo populácii regenerovať sa. Zloženie subfosílnych pakomárov jazera VRP zodpovedá modernej faune pakomárov tatranských jazier nachádzajúcich sa pod 2000 m n. m. [40], zatiaľ čo relatívne vysoký podiel reofilných taxónov (*Diamesa* spp. a *Eukiefferiella fittkaui*-type) s najväčšou pravdepodobnosťou súvisí so silným prítokom [41]. Subfosílne pakomáre v sekvencii sedimentov VRP nevykazujú žiadne kompozičné zmeny spojené s prítomnosťou rýb s výnimkou zjavne nízkeho podielu alebo absencie podčeľade Tanypodinae. Larvy Tanypodinae sú veľké a voľne žijúce a ako také sú citlivejšie na predáciu rýb ako larvy druhov tvoriacich rúrky alebo zahrabávajúcich sa do sedimentov [42,43]. Predpokladáme, že pokles zastúpenia veľkých Tanypodinae spôsobil hlaváč pásoplutvý, ktorý si na rozdiel od pstruha potočného selektívne vyberá väčšiu a ťažšiu potravu aj medzi larvami pakomárov [29]. Náhle a výrazné zvýšenie celkového počtu perloočiek a absolútna abundancia *Daphnia longispina*¬-group naznačujú vyhynutie pstruhov. Hoci sa populácia pstruha potočného prispôsobila drsným podmienkam horských tokov, trpela extrémnymi podmienkami jazera (nízka teplota, dlhé obdobia ľadovej pokrývky, nízke koncentrácie iónov, nízka produktivita) na hranici svojich ekologických limitov. Okrem toho musíme brať do úvahy medzidruhovú konkurenciu. Hlaváč pásoplutvý a pstruh potočný majú podobné nároky na priestor a potravu a môžu byť potenciálnymi konkurentmi [30]. Dá sa predpokladať, že po vyhynutí pstruha potočného rozšíril hlaváč svoju potravu o ďalšie bentické organizmy a tým znížil predačný tlak na veľké larvy Tanypodinae, ktorých podiel sa zvýšil. Súvrstvia rozsievok VRP boli počas celého sledovaného obdobia zložené prevažne z malých bentických foriem, čo možno spájať s požiadavkou planktických druhov na stratifikáciu vodného stĺpca, aby si udržali svoju polohu vo fotickej zóne [44]. Jazero VRP má silný vstupný prítok, ktorý indukuje vodné prúdy a naopak oslabuje stratifikáciu. Najpozoruhodnejšia zmena v štruktúre rozsievok sa objavila v 50. rokoch 20. storočia súčasne so subfosílnymi perloočkami a pakomármi, keď sa stali dominantnými *Skabitschewskia oestrupii* a *Karayevia suchlandtii* na úkor úbytku fragilarioidných druhov, najmä *Pseudostaurosira parasitoides*, *Staurosirella pinnata* a *Fragilaria pararumpens*. Malé fragilarioidy sú považované za r-stratégov so schopnosťou tolerovať a množiť sa v chladných podmienkach prostredia a odolávať zmenám v pobrežných biotopoch [45]. Predpokladáme, že ich prevaha by mohla súvisieť aj s nízkymi požiadavkami na svetlo, dobre konkurujúce v jazerách s nízkou penetráciou svetla spojenou s ľadovou pokrývkou a mineralogénnym zákalom [59,60]. Napríklad *P. parasitoides* v jazere Rappensee sa zjavne zvýšil v abundancii v podmienkach obohateného prísunu živín a zákalu [20]. Prísun alogénneho materiálu so záťažou živinami vedúcimi k zníženiu priehľadnosti vody by mohol súvisieť s bývalým pasením dobytka, ktorý zvýšil eróziu pôdy v povodí jazera a spôsobil eróziu jeho brehov. Údolie VRP bolo od stredoveku intenzívne využívané ako pasienky [46] a jeho alpínske pásmo dodnes nesie viditeľné stopy pastvy (odstránená kosodrevina, prítomnosť nitrofilných rastlín). Definitívny zánik pastvy v pol. 50. rokov 20. storočia by mohlo viesť k zlepšeniu svetelných podmienok v jazere. Tento predpoklad je podporený zvýšením podielu *Karayevia suchlandtii* po ~ 1950. Druh vyžaduje slnkom presvetlené dno jazera [63] a bol obmedzený v období nižšej priehľadnosti vody [64]. Lepšia penetrácia svetla by mohla viesť aj k vyššej produkcii bentických rastlín, čo by malo za následok vyšší podiel bentických perloočiek. Musíme však priznať, že rovnaký efekt mohli spôsobiť aj ďalšie faktory súvisiace s klímou, napr. kratšie obdobie ľadovej pokrývky. Náhly prudký nárast malých, ľahko silicifikovaných druhov *Skabitschewskia oestrupii* v 50. rokoch 20. storočia spojený s nižším obsahom živín [47] naznačuje oligo-mezotrofné podmienky. Vo všeobecnosti taxonomické zloženie tejto mladšej časti sedimentov s dominanciou nízkoprofilovej formy života [48] v porovnaní so spodnou časťou poukazuje na klesajúcu hladinu živín v jazere. Nižší prísun živín a znížený zákal môže súvisieť s poklesom populácie rýb a ukončením pastvy v povodí. Tento vzťah však nemusí byť priamočiary. Zdá sa, že trendy rozsievky pozorované v sedimentárnom zázname zo vzdialených horských jazier severnej pologule [49,50] odrážajú všeobecné zmeny v tepelnej stratifikácii jazier a atmosférickej depozícii (hlavne reaktívny dusík) [50]. Tieto zmeny však možno jednoznačne sledovať skôr pri

zmenách planktického alebo planktického/bentického pomeru než v druhovom zložení v bentických zoskupeniach rozsievok. Ekologická zmena podmienená klímou nastala v posledných rokoch bez ohľadu na presnú lokalitu alebo odľahlosť záznamov či hĺbku jazier. Teplota je skutočne jednou z kľúčových premenných, ktorá priamo riadi životnú históriu vodných organizmov, napríklad pakomárov, a nepriamo ovplyvňuje abiotické vlastnosti vodných útvarov [51]. Jazerá rýchlo zareagovali na náhle otepľovanie klímy koncom 80. rokov 20. storočia [52], ktoré spustilo antropogénne a prirodzené pôsobenie. V Tatrách mal obzvlášť prudký nárast teploty vzduchu evidentný od roku 1980 dominantný vplyv na spoločenstvá pakomárov vysokohorských jazier [53]. V zázname sedimentov VRP je začiatok tohto otepľovania indikovaný poklesom podielu studenostenotermných taxónov, ako sú *Tanytarus lugens*-type a *Heterotrissocladius marcidus*-type v 80. rokoch a neskôr výskytom teplomilnejších taxónov ako *Macropelopia* sp. a *Tanytarsus mendax*-type.



Obr. 5. Porovnanie úplných zmien spoločenstiev perloočiek, rozsievok a pakomárov vyjadrené ako skóre 1. na osi DCA.

Záver

Výsledky naznačujú, že sa nám nepodarilo zachytiť obdobie jazera bez rýb. Vznik Tatranského národného parku v roku 1948 viedol postupne k obmedzeniu ľudských aktivít v Tatrách, predovšetkým pasenia dobytka, ťažby dreva, ťažby nerastných surovín a zároveň sprísnenia ochrany druhov a ekosystémov [36]. V 50-tych rokoch 20. storočia všetky vyššie uvedené aktivity zanikli a predpokladáme, že to isté sa stalo aj so zarybňovaním, čo potvrdzujú zmeny v spoločenstvách perloočiek (čiastočne aj u pakomárov), ktoré v tom čase naznačujú nižší predačný tlak rýb. Uvedomujeme si, že okrem introdukcie rýb bolo jazero pod vplyvom zložitých interakcií rôznych environmentálnych stresorov pôsobiacich na regionálnej alebo globálnej úrovni. Zatiaľ čo zmeny v zložení perloočiek a čiastočne pakomárov možno pripísať manipulácii s rybami v jazere VRP, rozsievky môžu vzhľadom na ich komplexnú a hlavne nepriamu reakciu na ryby odrážať iné environmentálne stresory.

Poďakovanie

Moja veľká vďaka patrí Ladislavovi Hamerlíkovi a Petrovi Bitušíkovi za vedenie práce, Marte Wojewódka- Przybyl za spracovanie perloočiek, Lucke Sochuliakovej a Krisztine Buczkó za spracovanie rozsievok, Katarzyne Szarlowicz za datovanie sedimentačného jadra, Dúbravke Čerba, Timei Chamutiovej a Marcele Sedlačkovej Přidalovej za pomoc pri spracovaní a identifikácii pakomárov, ďalej Milanovi Novikmecovi za pomoc pri terénnych prácach a Igorovi Hudecovi za cenné pripomienky k ekológii perloočiek. Táto štúdia bola podporená projektom APVV-20-0358 a Operačným programom Integrovaná infraštruktúra, projektom „DNA barcoding of Slovakia (SK-BOL), súčasťou medzinárodnej iniciatívy International Barcode of Life (iBOL)“ (ITMS2014 + 313021W683) .

Použitá literatúra

[1] THEURILLAT, Jean-Paul; GUISAN, Antoine. 2001. Potential impact of climate change on vegetation in the European Alps: a review. In Climatic change, vol. 50, pp. 77-109.

[2] ALVERSON, Keith. et al. 2005. A dynamical perspective on high altitude paleoclimate proxy timeseries. In AGLO, vol. 23, pp. 11–20.

[3] RÜHLAND, Kathleen M.; PATERSON, Andrew M.; SMOL, John P. 2015. Lake diatom responses to warming: reviewing the evidence. In Journal of paleolimnology, vol. 54, pp. 1–35.

[4] BITUŠÍK, Peter. et al. 2006. Biologia. Bratislava: Slovak Academy of Sciences, 221 s. ISSN 1335-6380.

[5] GOZLAN, Rodolphe Elie. et al. 2010. Current knowledge on non-native freshwater fish introductions. In Journal of fish biology, vol. 76, no. 4, pp. 751–786.

[6] GOZLAN, Rodolphe Elie. 2008. Introduction of non-native freshwater fish: is it all bad? In Fish and fisheries, vol. 9, no. 1, pp. 106–115.

[7] HULME, P.E. et al. Glossary of the Main Technical Terms Used in the Handbook. In Handbook of

alien species in Europe, vol 3. Invading nature. Springer series in invasion ecology. Dordrecht, Netherlands: Springer, 2009, pp. 375–379.
[8] SZARLOWICZ, Katarzyna. et al. 2013. Radionuclides and heavy metal concentrations as complementary tools for studying the impact of industrialization on the environment. In Journal of Radioanalytical and Nuclear Chemistry, vol. 298, pp. 1323–1333.
[9] LEHTO, Jukka – HOU, Xiaolin. Chemistry and Analysis of Radionuclides: Laboratory Techniques and Methodology. Weinheim, Germany: Wiley-VCH, pp. 426.
[10] BROOKS, Stephen J. – Langdon, Peter G. – Heiri, Oliver. The Identification and Use of Palaearctic Chironomidae Larvae in Palaeoecology, 1st ed. London, United Kingdom: QRA Technical Guide No. 10., 2007, pp. 276.
[11] ANDERSON, Trond – Cranston, Peter S. – EPLER, J.H. Eds. Chironomidae of the Holarctic Region-Keys and diagnoses – Larvae, 3rd ed. Lund, Sweden: Media- Tryck, 2013, pp. 1–571.
[12] MOLLER PILLOT, H. K. M. Chironomidae Larvae. Biology and Ecology of the aquatic Orthocladiinae, 1st ed. Zeist, The Netherlands: KNNV Publishing, 2013, pp. 314.
[13] ŠPORKA, Ferdinand. (Ed.). Vodné bezstavovce (makroevertebráta) Slovenska, súpis druhov a autekologické charakteristiky. Bratislava, Slovensko: Slovenský hydrometeorologický ústav, 2003, pp. 590.
[14] FREY, D.G. Cladocera analysis. In Handbook of Holocene palaeoecology and palaeohydrology, 1st ed.; Berglund, B.E., Eds. Chichester, United Kingdom: John Wiley & Sons, 1986, pp. 667–692.
[15] SZEROCZYŃSKA, Krystyna – SARMAJA-KORJONEN, Kaarina. Atlas of Subfossil Cladocera from Central and Northern Europe. Poland: Friends of the Lower Vistula Society, 2007, pp. 84.
[16] BATTARBEE, R.W. Diatom analysis. In Handbook of Holocene palaeoecology and palaeohydrology, 1st ed. Berglund B. E., Ed. Chichester, United Kingdom: John Wiley & Sons, 1986, pp. 527–570.
[17] KRAMMER, K. – LANGE-BERTALOT, H. Bacillariophyceae. 1. Teil: Naviculaceae. In Süsswasserflora von Mitteleuropa. Ettl, H., Gerloff, J., Heynig, H., Mollenhauer, D., Eds. Jena: Gustav Fisher Verlang, 1986, pp. 876.
[18] KRAMMER, K. – LANGE-BERTALOT, H. Bacillariophyceae. 2. Teil: Bacillariaceae, Epithemiaceae, Surirellaceae. In Süsswasserflora von Mitteleuropa. Ettl, H., Gerloff, J., Heynig, H., Mollenhauer, D., Eds.; Jena: Gustav Fisher Verlang, 1988, pp. 596.
[19] KRAMMER, K.; LANGE-BERTALOT, H. Bacillariophyceae. 3. Teil: Centrales, Fragilariaceae, Eunotiaceae. In Süsswasserflora von Mitteleuropa. Ettl, H., Gerloff, J., Heynig, H., Mollenhauer, D., Eds. Stuttgard & Jena: Gustav Fisher Verlang, 1991, pp. 576.
[20] KRAMMER, K. – LANGE-BERTALOT, H. Bacillariophyceae. 4. Teil: Achnanthaceae. Kritische Erganzungen zu Navicula (Lineolatae) und Gomphonema. In Süsswasserflora von Mitteleuropa. Ettl, H., Gerloff, J., Heynig, H., Mollenhauer, D, Eds. Stuttgard & Jena: Gustav Fisher Verlang, 1991, pp. 437.
[21] GUIRY, M.D. – GUIRY, G.M. AlgaeBase. World-wide electronic publication, National University of Ireland, Galway. https//www.algaebase.org; searched on 17. february 2023.
[22] JUGGINS. Steve. C2:Software for ecological and palaeoecological data analysis and visualisation (User Guide Version 1.7.7). Newcastle upon Tyne, United Kingdom: Newcastle University, 2007, pp. 680.
[23] GRIMM, Eric C. 1987. CONISS: a FORTRAN 77 program for stratigraphically constrained cluster analysis by the method of incremental sum of squares. Computers & geosciences, vol. 13, no. 1, pp. 13–35.
[24] TER BRAAK, Cajo J.F. – ŠMILAUER, Petr. Canoco reference manual and user´s guide: software for ordination, version 5.0. Ithaca, USA: Microcomputer Power, 2012, pp. 496.
[25] VOLOŠČUK, Ivan et al. Tatranský národný park. Biosférická rezervácia. Martin: Gradus, 1994, pp. 555.
[26] Bohuš, Ivan. Tatranský kaleidoskop, 1st ed. Martin: Osveta, 1977, pp. 30–31.
[27] HENDERSON, M. A.; NORTHCOTE, T. G. 1985. Visual prey detection and foraging in sympatric cutthroat trout (Salmo clarki clarki) and Dolly Varden (Salvelinus malma). In Canadian Journal of Fisheries and Aquatic Sciences, vol. 42, no. 4, pp. 785–790.
[28] NEVERMAN, Darcy; WURTSBAUGH, Wayne A. 1992. Visual feeding by juvenile Bear Lake sculpin. In Transactions of the American Fisheries Society, vol. 121, no. 3, pp. 395–398.
[29] HOLMEN, J.; OLSEN, E. M.; VØLLESTAD, L. A. 2003. Interspecific competition between stream-dwelling brown trout and Alpine bullhead. In Journal of Fish Biology, vol. 62, no. 6, pp. 1312–1325.
[30] HESTHAGEN, T.; HEGGENES, J. 2003. Competitive habitat displacement of brown trout by Siberian sculpin: the role of size and density. In Journal of Fish Biology, vol. 62, no. 1, pp. 222–236.

[31] CHRISTOFFERSEN, Kirsten, et al. 1993. Potential role of fish predation and natural populations of zooplankton in structuring a plankton community in eutrophic lake water. In Limnology and Oceanography, vol. 38, no. 3, pp. 561–573.
[32] JEPPESEN, Erik, et al. 1996. Reconstructing the past density of planktivorous fish and trophic structure from sedimentary zooplankton fossils: a surface sediment calibration data set from shallow lakes. In Freshwater Biology, vol. 36, no. 1, pp. 115–127.
[33] JEPPESEN, Erik, et al. 2007. Restoration of shallow lakes by nutrient control and biomanipulation—the successful strategy varies with lake size and climate. In Hydrobiologia, vol. 581, pp. 269–285.
[34] JEPPESEN, Erik, et al. 2000. Trophic structure in the pelagial of 25 shallow New Zealand lakes: changes along nutrient and fish gradients. In Journal of Plankton research, vol. 22, no. 5, pp. 951–968.
[35] VRANOVSKÝ, M. Zooplanktón jazier v Západných Tatrách a antropogénne vplyvy. In Zborník prác o Tatranskom národnom parku. Martin, Slovensko: Osveta, 1992, vol. 32, pp. 105–128.
[36] SACHEROVÁ, Veronika, et al. 2006. Long-term change of the littoral Cladocera in the Tatra Mountain lakes through a major acidification event. In Biologia, vol. 61, no. 18, pp. 109–119.
[37] HESTHAGEN, Trygve; AUSTIGARD, Anita; HOLMEDAL, Kjersti. 2011. Diurnal and seasonal resource partitioning in young brown trout (Salmo trutta), Arctic charr (Salvelinus alpinus) and Alpine bullhead (Cottus poecilopus) in a subalpine lake in southeastern Norway. In Boreal Environment Research, vol. 16, pp. 149–157. ISSN 1797-2469.
[38] KNESLOVÁ, P. et al. 1997. Zooplankton of eight High Tatra Mountain lakes in different stage of acidification. In Štúdie TANAP, vol. 2, pp. 123–134.
[39] RADZIKOWSKI, Jacek. 2013. Resistance of dormant stages of planktonic invertebrates to adverse environmental conditions. In Journal of Plankton Research, vol. 35, no. 4, pp. 707–723.
[40] BITUŠÍK, Peter et al. 2006. Classification of the Tatra Mountains lakes (Slovakia) using chironomids (Diptera, Chironomidae). In Biologia, vol. 61, pp. 191–202.
[41] HAMERLÍK, Ladislav – Bitušík, Peter. Aplikovaná limnológia. Časť 1. Paleolimnologický prústup, 1st ed. Banská Bystrica, Slovensko: Občianske združenie Príroda, 2016, pp. 68.
[42] GOYKE, Andrew P.; HERSHEY, Anne E. 1992. Effects of fish predation on larval chironomid (Diptera: Chironomidae) communities in an arctic ecosystem. In Hydrobiologia, vol. 240, pp. 203–211.
[43] RAPOSEIRO, Pedro Miguel, et al. 2017. Impact of the historical introduction of exotic fishes on the chironomid community of Lake Azul (Azores Islands). In Palaeogeography, Palaeoclimatology, Palaeoecology, vol. 466, pp. 77–88.
[44] KARST-RIDDOCH, Tammy L.; PISARIC, Michael FJ; SMOL, John P. 2005. Diatom responses to 20th century climate-related environmental changes in high-elevation mountain lakes of the northern Canadian Cordillera. In Journal of Paleolimnology, vol. 33, pp. 265–282.
[45] LOTTER, André F.; BIGLER, Christian. 2000. Do diatoms in the Swiss Alps reflect the length of ice-cover? In Aquatic sciences, vol. 62, pp. 125–141.
[46] VOLOŠČUK Ivan (Ed.). The National Parks and Biosphere Reserves in Carpathians. The last nature paradises. Poprad, Slovakia: SLZA, 1999, pp. 244.
[47] WOELDERS, Lineke, et al. 2018. Recent climate warming drives ecological change in a remote high-Arctic lake. In Scientific Reports, vol. 8, article no. 6858.
[48] RIMET, Frédéric; BOUCHEZ, Agnes. 2012. Life-forms, cell-sizes and ecological guilds of diatoms in European rivers. In Knowledge and management of Aquatic Ecosystems, vol. 406, no. 01, pp. 12.
[49] HOBBS, William O. et al. 2010. Quantifying recent ecological changes in remote lakes of North America and Greenland using sediment diatom assemblages. In PloS one, vol. 5, no. 4.
[50] HOLTGRIEVE, Gordon W. et al. 2011. A coherent signature of anthropogenic nitrogen deposition to remote watersheds of the northern hemisphere. In Science, vol. 334, no. 6062, pp. 1545–1548.
[51] EGGERMONT, Hilde; HEIRI, Oliver. 2012. The chironomid-temperature relationship: expression in nature and palaeoenvironmental implications. In Biological Reviews, vol. 87, no. 2, pp. 430–456.
[52] WOOLWAY, R. Iestyn, et al. 2017. Warming of Central European lakes and their response to the 1980s climate regime shift. In Climatic Change, vol. 142, pp. 505–520.
[53] SVITOK, Marek, et al. 2021. Temporal trends and spatial patterns of chironomid communities in alpine lakes recovering from acidification under accelerating climate change. In Freshwater Biology, vol. 66, no. 12, pp. 2223–2239.

Využitie metódy CRISPR – Cas9 pri úpravách genómu bičíkovca *Euglena gracilis*

Use of the CRISPR-Cas9 method in the genome editing of the flagellate *Euglena gracilis*

Andrej Jedlička[1] – Dominika Vešelényiová[2] – Milan Karas[3]
Školiteľ: Juraj Krajčovič[4]
[1,3,4] Katedra biológie, FPV UCM, Hlavná 6, 919 51 Špačince,
[3] Katedra biotechnológií, FPV UCM, Hlavná 6, 919 51 Špačince,

[1] andrej.jedlicka@ucm.sk, [2] dominika.veselenyiova@ucm.sk, [3] karas2@ucm.sk, [4]juraj.krajcovic@ucm.sk

Abstrakt

Úpravy genómov eukaryotických mikroorganizmov by mohli znamenať prelom pre molekulárne šľachtenie biotechnologicky využiteľných zástupcov skupiny protista, a taktiež výrazne zjednodušiť identifikáciu proteínov, napríklad metódou western blot. Pred príchodom metódy CRISPR – Cas9 bol jadrový genóm bičíkovca *Euglena gracilis* považovaný za takmer neupraviteľný, keďže využitie restrikčných endonukleáz, pre polyploidný charakter eukariotických mikroorganizmov medzi ktoré euglena patrí, nie je možné. Práve metóda CRISPR – Cas9, ktorá predstavuje jednoduchý a efektívny systém na editovanie DNA, znamenala prelom v možnostiach úprav genómu tejto mikroriasy. V našej práci sme sa venovali príprave mutanta *E. gracilis*, ktorého sme pripravili transformáciou metódou CRISPR – Cas9, kde sme na C koniec genómovej sekvencie génu MND1 vložili 54 nukleotidov, ktoré zodpovedajú aminokyselinovej sekvencii dvoch po sebe idúcich kópií HA-tagu. Vložené HA-tagy nám v našom konkrétnom prípade uľahčia identifikáciu označeného proteínu MND1 prostredníctvom metódy western blot.

Kľúčové slová: CRISPR – Cas9, transformácia, *E. gracilis*

Abstract

Successful genome modifications of eukaryotic microorganisms could mean a breakthrough in the molecular breeding of biotechnologically usable representatives of protists, and could also significantly simplify the identification of proteins by, for example, the western blot method. Before the advent of the CRISPR - Cas9 method, the nuclear genome of the flagellate *E. gracilis* was considered almost uneditable, since the use of restriction endonucleases, enzymes used to edit genetic information of bacteria, were not possible in polyploid eukaryotic microorganisms, like *E. gracilis*. It was the CRISPR - Cas9 method, which represents a simple and effective system for editing DNA that marked a breakthrough in the possibilities of genome editing of this microalgae. In our work, we focused on the preparation of the *E. gracilis* mutant, which we created by transformation using the CRISPR - Cas9 method, where we inserted 54 nucleotides at the C end of the genomic sequence of the MND1 gene, which correspond to the amino acid sequence of two consecutive copies of the HA-tag. In our particular case, the inserted HA-tags will facilitate the identification of the marked MDN1 protein through the western blot method.

Key Words: CRISPR – Cas9, transformation, *E. gracilis*.

Úvod

CRISPR – Cas9 [z angl. *Clustered regularly interspaced short palindromic repeat (CRISPR)/CRISPR-associated nuclease 9 (Cas9)*] je systém na úpravu genómov, ktorý je používaný na širokú škálu organizmov vrátane ekonomicky dôležitých poľnohospodárskych plodín (Doudna a Charpentier, 2014). Úprava presne definovaného miesta v genómoch ponúka rôzne výhody v porovnaní s konvenčnými transgénnymi technikami používanými na úpravu genómov eukaryotických organizmov. Medzi najdôležitejšie výhody patrí vysoká účinnosť a nízke časové požiadavky. Medzi ďalšie výhody patria napríklad nízky podiel nežiadúcich *„off target“* úprav a nízka cytotoxicita (Jeon *et al.*, 2017; Spicer a Molnar, 2018). V súčasnosti je popísaných len veľmi málo prác, v ktorých bola zakomponovaná transformácia *E. gracilis* prostredníctvom metódy CRISPR – Cas9. Pilotným projektom v tejto oblasti bola štúdia Nomura *et al.*, (2019), v ktorej boli popísané *„knock out“* aj *„knock in“* varianty transformácie prostredníctvom

CRISPR – Cas9 s mierou úspešnosti transformácie 70 – 90 %. V tejto štúdii pri *„knock in“* variante sa autori zamerali na úpravu génu EgGSL2, ktorý by mal byť pri *E. gracilis* zodpovedný za syntézu jednej zo zložiek paramylonu, keďže v predchádzajúcich štúdiách bolo popísané, že *„knock down“* tohto génu spôsobuje signifikantné zníženie akumulácie paramylonu v bunkách *E. gracilis* (Tanaka *et al.*, 2017). V *„knock in“* variante experimentu Nomura *et al.*, (2019) vkladali do génu EgGSL2 úsek dlhý 42 bp obsahujúci štiepne miesta pre *Eco*RI, *Eco*RV a *Bam*HI. Sangerovým sekvenovaním autori potvrdili mieru úspešnosti transformácie približne 70 %.

Aj napriek malému množstvu prác, ktoré sú aktuálne publikované v oblasti transformácie *E. gracilis* prostredníctvom CRISPR – Cas9, bude s veľkou pravdepodobnosťou táto technika znamenať prelom v možnostiach upravovania genómov tejto mikroriasy, keďže sa bude dať použiť na rýchlu identifikáciu génov a ich produktov, a takisto na molekulárne šľachtenie, ktoré môže výrazne zlepšiť biotechnologické využitie euglen (Nomura *et al.*, 2019).

1 Metódy a materiály

Práca bola rozdelená na bioinformatickú a molekulárno- biologickú časť. V bioinformatickej časti sme pripravovali dizajn transformácie prostredníctvom CRISPR – Cas9 a v molekulárno-biologickej časti sme pracovali na transformácii *E. gracilis in vitro*. V našej práci sme sa venovali transformácii génu MND1. Tento gén patrí medzi esenciálne meiotické gény, čo znamená, že jeho funkcia je obmedzená iba na procesy, ktoré sú priamo spojené s meiózou. Vložením inzertov pozostávajúcich s 2x HA-tag, sa nám výrazne uľahčí detekcia proteínov prostredníctvom analýzy western blot, keďže na HA-tag existujú komerčne dostupné protilátky využiteľné práve pri tejto metóde.

1.1 *In silico* analýza

Aminokyselinovú sekvenciu génu MND1, ktorú sme predtým identifikovali v transkriptóme *E. gracilis* (Cordoba *et al.*, 2021), sme prostredníctvom analýzy programom Blast namapovali na genómovú sekvenciu *E. gracilis* (nepublikované dáta, 2023). Pri analýze programom tblastn sme použili parametre z tabuľky 1.

Tabuľka 1. (prvá časť) Parametre použité pri analýze programom tblastn (transkriptómová sekvencia vs. genóm *E. gracilis*).

Parameter	Hodnota
Matrix	BLOSUM62

Tabuľka 1. (druhá časť) Parametre použité pri analýze programom tblastn (transkriptómová sekvencia vs. genóm *E. gracilis*).

Parameter	Hodnota
Gap cost (Open extend)	11 1
Max E-value	10
Max Target Seqs	10

Následne sme úsek genómovej sekvencie, ktorý sme v predchádzajúcom kroku identifikovali, zrovnali s nukleotidovou sekvenciou identifikovanou v transkriptóme *E. gracilis* prostredníctvom programu Geneious Alignment s parametrami, ktoré sú uvedené v tabuľke 2.

Tabuľka 2. Parametre použité pri zrovnaní genómovej a transkriptómovej sekvencie *E. gracilis* programom Geneious Alignment.

Parameter	Hodnota
Alignment type	Global alignment with free and gaps
Cost Matrix	Identity (1.0/0.0)
Gap open penalty	12
Gap extension	0

V zrovnaní sme vyznačili jednotlivé kódujúce úseky v genómovej sekvencii (CDS/Exóny), a taktiež 5´a 3´UTR regióny, čím sme pripravili génovú anotáciu génu MND1.

V nasledujúcom kroku sme *in silico* pripravili dizajn pre CRISPR – Cas9 transformáciu, na základe ktorého boli následne nasyntetizované dva nuklotidové komponenty – *„single stranded oligodeoxynucleotid“* (ssODN) a *„single-guide“* RNA (sgRNA). CRISPR – Cas9 transformácia bola nadizajnovaná na C konci sekvencie génu MND1.

Komponent ssODN bol tvorený DNA vláknom dlhým 174 bp, ktoré obsahovalo dve po sebe idúce kópie HA – tag dlhé 54 bp. Z oboch strán vložených HA – tag sa nachádzali homologické ramienka dlhé 60 bp.

Komplementárna časť sgRNA k cielenému úseku bola dlhá 20 bp a obsahovala na jej konci motív 5'-NGG-3', teda sekvenciu PAM (z angl. *Protospacer Adjacent Motif*), ktorú rozoznáva použitá endonukleáza Cas9 z baktérie *Streptococcus pyogenes* (TrueCut^{TM} HiFi Cas9, Thermo Scientific). V blízkosti PAM dôjde k zlomu dvojzávitnice DNA. Sekvencia sgRNA a jej atribúty boli predikované pomocou nadstavby programu Geneious Prime (Find CRISPR sites) (Tabuľka 3).

Tabuľka 3. Sekvencia použitej sgRNA a jej atribúty

Sekvencia	Doench (2016) Skóre aktivity	Zhang (2013) Skóre špecificity
ATTTTGATTATTTAGACTGA-GGG	0,543	99,46

Oba komponenty (ssODN a sgRNA) sme objednali u komerčnej firmy, ktorá obe sekvencie nasyntetizovala.

Pomocou programu Primer3 sme taktiež nadizajnovali 2 páry primerov pre detekciu potenciálnych mutantov prostredníctvom *colony* PCR analýzy. 1. pár bol nadizajnovaný HA-tag 5´upstream = forward primer a HA-tag 3´ downstream = reverse primer. V druhom primerovom páre zostal forward primer rovnaký ako pri prvom páre a reverse primer sme nadizajnovali priamo do úseku HA-tagov. Sekvencie primerov sú uvedené v tabuľke 4.

Tabuľka 4. Forward a reverse primery pre *colony* PCR

Č.	Forward/Reverse	Sekvencia
1	Forward	AGCAGAGGACAAAGAAAGCC
	Reverse	GGTCGGCCATACATTCACTT
2	Forward	AGCAGAGGACAAAGAAAGCC
	Reverse	TGGAACGTCGTAAGGGTAGT

1.2 *In vitro* analýza

V prvej časti sme pripravili Cramer – Myers (CM) médium modifikované pre elektroporáciu podľa štúdie od Nomura *et al.*, (2019). Presné zloženie je uvedené v tabuľke 5. Do média boli pridané vitamíny B_1 a B_{12} v koncentráciách 0,2 mg/ml a 1 µg/ml a pH bolo upravené na 5,5.

Tabuľka 5. Zloženie CM média modifikovaného pre elektroporáciu (Nomura *et al.*, 2019).

Chemikália	Koncetrácia v 1l
$(NH_4)_2HPO_4$	1 g
KH_2PO_4	1 g
$CaCl_2 \times 2H_2O$	26,5 mg
$MgSO_4 \times 7H_2O$	0,2 g
$Fe_2(SO_4)_3 \times 7H_2O$	3 mg
$MnCl_2 \times 4H_2O$	1,8 mg
$CoSO_4 \times 6H_2O$	1,3 mg
$ZnSO_4 \times 7H_2O$	0,4 mg
$Na_2MoO_4 \times 2H_2O$	0,2 mg
$CuSO_4 \times 5H_2O$	0,02 mg

Následne sme pripravili 0,3 M roztok sacharózy, ktorý sme prefiltrovali cez bakteriologický filter. Elektroporačný roztok bol vytvorený zmiešaním modifikovaného CM média s prefiltrovaným roztokom sacharózy v pomere 3:2 (v/v).

Následne bol pripravený Cas9 RNP komplex pre 1 elektroporačnú reakciu podľa údajov v tabuľke 6.

Tabuľka 6. (1. časť) Zloženie 1 elektroporačnej reakcie

Komponent	Objem	
Cas9 (32 µM)	1,6 µl	Cas9 RNP komplex
sgRNA (100 µM)	0,6 µl	
ssODN (200 µM)	1 µl	
Bunková suspenzia $1x10^6$ buniek/ml	47 µl	

Z kultúry *E. gracilis* v exponenciálnom raste bol odobraný 1 ml do mikroskúmavky. Kultúra bola centrifugovaná 30 s pri 400 x g. Supernatant bol odobraný a pelet premytý v elektroporačnom roztoku. Vzorka bola ešte raz centrifugovaná pri rovnakých parametroch a pelet bol opäť premytý v elektroporačnom roztoku tak aby sme vytvorili výslednú koncentráciu $1x10^6$ buniek/ml. Z tejto vzorky sme odobrali 47 µl bunkovej suspenzie do 0,2 ml mikroskúmavky. Tam sme pridali 2,2 µl Cas9 RNP komplexu a 1 µl ssODN (tabuľka 6). Zmes bola dôkladne premiešaná pipetovaním, a následne bola prenesená do elektroporačnej kyvety s drážkou širokou 2 mm. Na elektroporáciu sme použili prístroj Rad Gene Pulser Xcell. Parametre elektroporácie sú uvedené v tabuľke 7.

Tabuľka 7. Parametre pre elektroporáciu, prostredníctvom ktorej sme do jadra dostali jednotlivé komponenty CRISPR – Cas9 (podľa Nomura *et al.*, 2019)

Parameter	Poring pulz (PP)	Transfer pulz (TP)
Napätie (V)	300	20
Dĺžka pulzu (ms)	5,0	50,0
Počet pulzov	2	5
Interval pulzu (ms)	50	50

Ihneď po elektroporácii sme do kyvety pridali 2 ml klasického CM média a kultúru sme preniesli do 12

jamkovej platničky, kde sme bunky kultivovali 24 h za stáleho miešania v tme a izbovej teplote.

Po 24 hodinách sme elektroporovanú kultúru rozdelili do 96-jamkovej platničky prostredníctvom prietokového cytometra (BD FACS Aria Fusion). Do každej jamky prístroj vysortoval 1 bunku. Ešte pred pridaním buniek sme do každej z jamiek napipetovali 200 µl klasického CM média. *„Single cell"* kolónie boli následne kultivované 7 dní pri 24 °C v režime 12 h svetlo 12 h tma.

Na detekciu mutantov sme použili 2 typy kolóniovej polymerázovej reťazovej reakcie (*colony* PCR). Pri prvom type reakcie sme použili primery HA-tag 5´upstream = forward primer a HA-tag 3´ downstream = reverse primer a v druhom type reakcie sme použili primery, kde reverse primer bol nadizajnovaný priamo v inzerte. Zloženie master mixu pre oba typy *colony* PCR je uvedené v tabuľke 8 a nastavenie jednotlivých cyklov reakcie je v tabuľke 9.

Tabuľka 8. Zloženie Master-mix pre 1 *colony* PCR.

Zložka	Množstvo (µl)
PrimeStar polymeráza	5
dH_20	5
Single-cell kultúra *E. gracilis*	1
F+R primery (5pM)	0,5 + 0,5

Tabuľka 9. Protokol PCR reakcie.

Krok č.	Teplota	Čas
1	98 °C	3:00
2	98 °C	0:10
3	62 °C	0:10
4	72 °C	0:05
5	72 °C	5:00

34x

Vyhodnotenie oboch typov *colony* PCR prebiehalo pomocou elektroforetickej separácie v 1,5 % agarózovým gélom a interkalačným farbivom SYBR Safe (Invitrogen). Separácia prebiehala pri 100 V po dobu 45 min. Amplifikované úseky, ktoré po prvom type *colony* PCR preukazovali väčšiu veľkosť oproti *wild type* sme následne analyzovali aj druhým typom *colony* PCR s reverse primerom priamo v inzerte. V prípade ak sme dostali signál aj v druhom type *colony* PCR sme tieto klony použili aj pre ďalšie analýzy.

U kandidátov, u ktorých sme na základe výsledkov oboch typov *colony* PCR analýz, vyhodnotili *knock-in* transformáciu ako potenciálne úspešnú, sme zopakovali prvý typ *colony* PCR s primermi HA-tag 5´upstream = forward primer a HA-tag 3´ downstream = reverse primer s rovnakým zložením ako je uvedené v tabuľke 8 s tým, že jednotlivé objemy komponentov reakcie boli navýšené trojnásobne, takže celkový objem reakcie bol 30 µl. Nastavenie termocykléru je uvedené v tabuľke 9. Elektroforéza prebiehala za rovnakých podmienok ako je popísané v predchádzajúcich krokoch. Výsledné produkty jednotlivých klonov boli z gélu vyrezané a extrahované prostredníctvom QIAquick Gel Extraction Kit (Qiagen). Koncentráciu DNA pri jednotlivých vzorkách sme zmerali prostredníctvom spektrofotometra NanoDrop.

Amplifikované úseky sme zaklonovali do vektoru pJET PCR Cloning Kit (ThermoScientific). Zmes s objemami jednotlivých komponentov reakcie je uvedená v tabuľke 10. Množstvo purifikovaného PCR produktu bolo pri každej reakcii 6,25 ng.

Tabuľka 10. Zloženie ligačnej zmesi.

Zložka	Množstvo (µl)
Reakčný tlmivý roztok (2x)	5
pJET 1.2 (25 ng)	0,5
T4 DNA Ligáza	0,5
Purifikovaný PCR produkt + dH_20	4

Pripravenú ligačnú zmes sme nechali kultivovať 5 minút pri izbovej teplote a následne preniesli späť na ľad. V ďalšom kroku sme realizovali bakteriálnu transformáciu do kompetentných buniek *Escherichia coli* T10. Ligačnú zmes sme premiestnili do mikroskúmavky k 150 µl kompetentných buniek . Zmes sme inkubovali na ľade 20 minút. Následne sme zmes na 1 minútu presunuly na termoblok s teplotou 42 °C. Po uplynutí minúty sme bunky presunuli späť na ľad kde sme ich inkubovali 2 minúty. Následne sme ku každej vzorke pridali 500 ul SOC média (tabuľka 11) a inkubovali za stáleho miešania pri 220 RPM a teplote 37 °C 1 hodinu.

Tabuľka 11. Zloženie SOC média (Sagen, 2023).

Chemikália	Koncetrácia v 1l
Peptón	20 g
Kvasničný lyzát	5 g
NaCl	0,5 g
KCl	0,186 g
MgCl2	0,952 g
MgSO4	2,408 g
Glukóza (1 M)	3,603 g

Po kultivácii v SOC médiu sme 100 µl kultúry T10 preniesli na Petriho misky s tuhým LB médiom s prídavkom ampicilínu (100 mg/ml). Celý objem bol rozotretý hokejkou a misky umiestnené do termostatu

kde boli kultivované O/N pri 37 °C. Na druhý deň sme z narastených kolónií realizovali *colony* PCR. Zloženie PCR reakcie a nastavenie termocykléra sú uvedené v tabuľkách 12 a 13.

Tabuľka 12. Zloženie Master-mix pre 1 *colony* PCR s pJET primermi.

Zložka	Množstvo (µl)
Emerald Master Mix	5
Forward primer (5 µM) pJET	1
Reverse primer (5 µM) pJET	1
dH_20	2
Bakteriálna kolónia	Špičkou prenesená

Tabuľka 13. Protokol PCR reakcie pre amplifikáciu inzertu.

Krok č.	Teplota	Čas
1	95 °C	3:00
2	95 °C	0:30
3	55 °C	0:30
4	72 °C	1:00
5	72 °C	5:00

34x

PCR produkty boli nanesené na 1,5 % agarózový gél a spustené na 30 minút. Po vyhodnotení elektroforetickej analýzy sme zvyšky pozizívnych kolónií preniesli do 15 ml falcon skúmavky, ktorá obsahovala 5 ml LB tekutého média s ampicilínom (100 mg/ml) (tabuľka 14).

Tabuľka 14. Zloženie LB média.

Chemikália	Koncetrácia v 1l
Peptón	10 g
Kvasničný lyzát	5 g
NaCl	10 g

Kultúra bola kultivovaná O/N na trepačke (220 RPM) pri 37 °C. Plazmidy sme extrahovali prostredníctvom BOMB Miniprep isolation kit (BOMB.Bio). Koncentráciu vyiizolovanej plazmidovej DNA sme zmerali prostredníctvom NanoDrop-u. Následne sme pripravili reakčnú zmes pre sekvenovanie podľa tabuľky 15.

Tabuľka 15. Zloženie zmesi použitej na sekvenovanie.

Zložka	Množstvo (µl)
Plazmidová DNA (3-5 ng/100 bp)	4
dH_20	3
Forward primer (5 µM) pJET	1

Vyizovalovanú plazmidovú DNA sme sekvenovali prostredníctvom Sangerového sekvenovania a výsledky sme vyhodnotili v programe Geneious Prime.

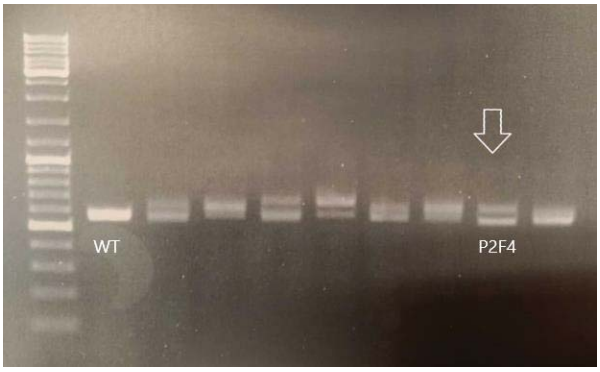
2 Výsledky a diskusia

V úvode práce sme v programe Geneious prime pripravili kompletnú anotáciu génu MND1, ktorého prítomnosť sme identifikovali v genóme *E. gracilis* s dĺžkou 16263 bp. Gén pozostával z 8 exónov, ktoré mali dĺžku 615 bp. Obrázok s génovou mapou je priložený v prílohách za zoznamom literatúry (Obr. A.1).

V nasledujúcom kroku sme pripravili *in-silico* dizajn CRISPR – Cas9 transformácie génu MND1.. V našom prípade sme na transformáciu zvolili C-koniec sekvencie, keďže konzervovaná doména proteínu MND1, COG5124 nazasahovala do N ani C konca sekvencie. Výber úseku sekvencie, na ktorom prebehne transformácia génu MDN1 sme realizovali na základe výsledkov parametrov skóre aktivity (Doench *et al.*, 2016) a skóre špecificity (Zhang *et al.*, 2013). Keďže výsledky týchto parametrov boli lepšie na C konci sekvencie, zvolili sme práve tento úsek. V tomto kroku je taktiež potrebné sledovať „off target“ skóre, ktoré znázorňuje možnosť, že transformácia prebehne na inom úseku genómu, ktorý má určitú podobnosť s úsekom, ktorý sme vybrali, čím by prišlo k totálnemu zničeniu experimentu. Obrázok s kompletným *in-silico* dizajnom transformácie s vyznačením jednotlivých komponentov (sgRNA a ssODN), ktoré sa objednávali u komerčných firiem je uvedený v prílohách za zoznamom literatúry (Obr. A.2).

Po elektroporácii, počas ktorej sme do bunky dostali všetky komponenty potrebné na realizáciu CRISPR - Cas9 transformácie, sme bunkovú kultúru rozdelili prostredníctvom prietokového cytometra do dvoch 96-jamkových platničiek (do každej jamky na platničke bola vložená 1 bunka). Po uplynutí 7 dní, sme začali s realizáciou *colony* PCR analýz, ktorá nám slúžila na detekciu potenciálnych mutantov. V prvom type *colony* PCR analýz, kedy sme používali primery HA-tag 5´upstream = forward primer a HA-tag 3´ downstream = reverse primer sme identifikovali 52 potenciálnych mutantov čo predstavuje úspešnosť transformácie približne 27 %. Je to signifikantne nižšia úspešnosť, ako dosiahli vo svojej štúdii Nomura *et al.*, (2019). Pri porovnaní podmienok oboch experimentov musíme zdôrazniť, že boli použité rovnaké parametre pri elektroporácii, a taktiež aj pri iných metodologických postupoch, pri ktorých by mohol vzniknúť rozdiel

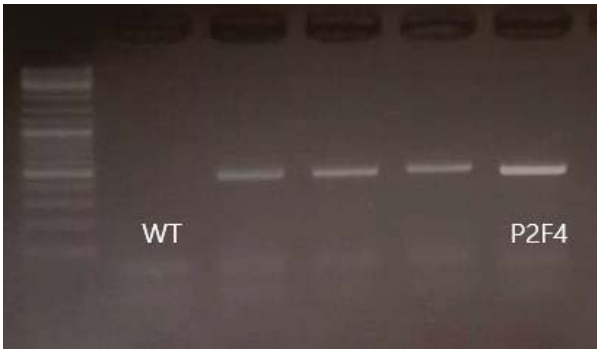
v úspešnosti transformácie. V nadväznosti na štúdiu od Nomura *et al.*, (2019) však ďalšia vedecká skupina Chen *et al.*, (2022) publikovala článok, v ktorom zopakovali totožný experiment ako Nomura *et al.*, (2019) avšak s výsledkom úspešnosti transformácie okolo 1 %. Preto náš výsledok môžeme považovať za uspokojivý. Taktiež musíme zdôrazniť, že náš výsledok úspešnosti transformácie 27 %, nemusí znamenať, že sme dostali 52 mutantov, do ktorých sme vždy vložili kompletný úsek 54 bp, teda 2x HA-tag, pretože ako neskôr ukázali výsledky zo sekvenovania, vo veľkej miere prípadov, kedy sme na elektroforetograme po *colony* PCR prvého typu mohli u klonov pozorovať väčšiu veľkosť fragmentov sledovaného amplifikátu z MND1 oproti veľkosti fragmentu z divokého typu *E. gracilis* (z angl. *wild type* = WT), sme do génu nedostali kompletný inzert s 54 bp, ale len jeho časť. V niekoľkých prípadoch taktiež nastala delécia 5 – 10 bp v úseku pred inzertom. Z tohto dôvodu sme síce mohli pozorovať rozdielnu veľkosť fragmentov oproti WT, ale ďalšie analýzy na úrovni proteínov, ako napríklad western blot, by neboli možné, keďže vo veľkom možstve prípadov prišlo k posunutiu čítacieho rámca priamo v exóne. Tieto neúplné vloženia inzertov a deléciu sú spôsobené chybou pri oprave druhého vlákna DNA na základe ssODN a homologického ramienka. Na obrázku 1 je zobrazený elektroforetogram po *colony* PCR prvého typu, na ktorom sa nachádza 8 mutantov a WT.



Obr. 1 Elektroforetogram po *colony* PCR 1. typu. WT = Wild Type, P2F4 = interné označenie vybraného mutanta.

Klony, ktoré označujeme ako mutanty majú na elektroforetograme väčšinou 2 signály, to je zrejme spôsobené polyploídiou *E. gracilis*, ktorá môže spôsobiť, že transformácia neprebehne na všetkých genómových sadách.

Po vyhodnotení analýz prostredníctvom *colony* PCR 1. typu sme potenciálne mutanty analyzovali prostredníctvom *colony* PCR analýzy druhého typu, pri ktorej sme použili iný pár primerov, kde forward primer zostal rovnaký ako pri *colony* PCR analýze prvého typu, ale reverse primer bol zmenený tak, že sme ho nadizajnovali priamo v inzerte, ktorý sme do génu vkladali pri CRISPR – Cas9 transformácii. Z toho dôvodu sme pozitívny signál dostali len v prípade, že sme do génu úspešne vložili inzert pozostávajúci z 54 bp, z toho dôvodu pri tomto elektroforetograme nedostávame signál pri WT. Elektroforetogram s výsledkami *colony* PCR analýz 2. typu je zobrazený na obrázku 2.



Obr. 2 Elektroforetogram po *colony* PCR 2. typu.

Po vyhodnotení *colony* PCR analýz 2. typu sme vytypovali konkrétnych kandidátov, u ktorých sme Sangerovým sekvenovaním osekvenovali amplifikáty z *colony* PCR 1. typu. Na základe výsledok zo sekvenovania sme vybrali mutanta EgZ-P2F4, ktorý bude použitý pri ďalších analýzach na úrovni proteómu. Hlavný prínos tejto metódy je v našom prípade hlavne v tom, že na vložený úsek 2x-HA-tag existujú komerčne dostupné protilátky, ktoré budeme môcť po objednaní použiť na detekciu proteínov prostredníctvom analýzy western blot. Keďže v našom prípade analyzujeme prítomnosť meiotických génov a proteínov, ktoré doposiaľ pri *E. gracilis* neboli identifikované ani popísané, odpadá nám z tohto dôvodu nutnosť dizajnovania špecifických protilátok pre western blot analýzu. Analýzy na úrovni proteómu budú v kontexte nášho dizertačného projektu najdôležitejšie, keďže v prípade ak potvrdíme prítomnosť a funkčnosť esenciálnych meiotických proteínov v *E. gracilis*, otvoríme otázky, akú funkciu majú tieto gény a proteíny v asexuálnom bičíkovcovi *E. gracilis* a či za určitých podmienok je možné v rámci tohto prvoka pozorovať sexuálne rozmnožovanie.

Záver

Prostredníctvom transformácie metódou CRISPR – Cas9 sme pripravili 52 mutantov *E. gracilis*

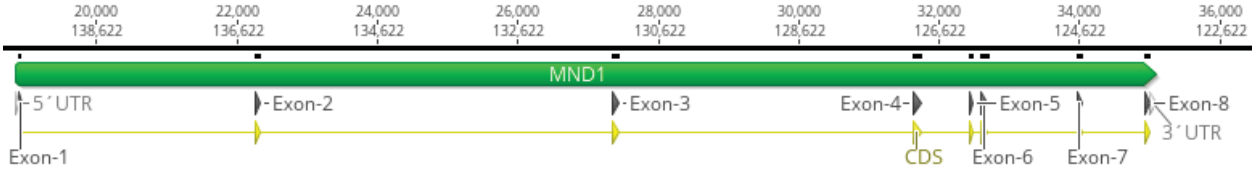
s mierou transformovateľnosti približne 27 %. Treba poznamenať, že nie pri všetkých mutantoch sme do génu MND1 vložili kompletný inzert (2x-HA-tag). Pre ďalšiu prácu a analýzy sme zvolili mutanta EgZ-P2F4, ktorý mal, na základe výsledkov zo sekvenovania, vložený kompletný inzert bez posunu čítacieho rámca, čo nám umožňuje realizovať ďalšie analýzy najmä na úrovni proteómu.

Poďakovanie

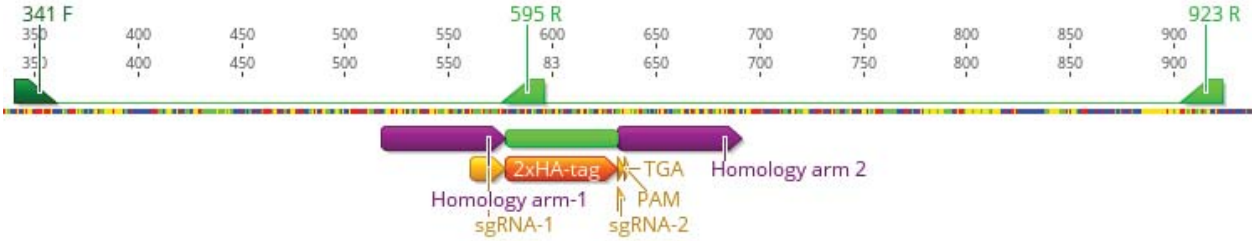
Táto práca bola pripravená s podporou projektu VEGA 1/0694/21.
Veľká časť práce bola realizovaná v rámci spolupráce s laboratóriom Genomiky eukaryotov a laterálneho génového transferu na Karlovej Univerzite v Prahe – BIOCEV pod vedením doc. Hampla.

Použitá literatúra

[1] Doench, John et al. 2016. Optimized sgRNA design to maximize activity and minimize off-target effects of CRISPR-Cas9. In. Nature, vol. 34, pp. 184-191, ISSN 1546-1696.
[2] Doudna, Jennifer, Charpentier, Emmanuelle. 2014. The new frontier of genome engineering with CRISPR-Cas9. In Science, vol. 346, no. 6213. ISSN 0036-8075.
[3] Chen, Zhenfan et al. 2022. High-throughput sequencing revealed low-efficacy genome editing using Cas9 RNPs electroporation and single-celled microinjection provided an alternative to deliver CRISPR reagents into Euglena gracilis. In. Plant biotechnology journal, vol. 11, pp. 2048-2050 ISSN 1467-7644.
[4] Jeon, Seungjib et al. 2017. Current status and perspectives of genome editing technology for microalgae. In. Biotechnology for biofuels, vol. 10, no. 267. ISSN 1754-6834.
[5] Nomura, Toshihisa et al. 2019. Highly efficient transgene-free targeted mutagenesis and single-stranded oligodeoxynucleotide-mediated precise knock-in in the industrial microalga Euglena gracilis using Cas9 ribonucleoproteins. In. Plant biotechnology journal, vol. 17 , no. 11, pp. 2031-2034 ,ISSN 1467-7644.
[6] Sagen, Andreas. 2023. S.O.C. medium Dostupné na internete: https://www.protocols.io/view/s-o-c-medium-cn5svg6e.pdf.
[7] Spicer, Andrew, Molnar, Attila. 2018. Gene Editing of Microalgae: Scientific Progress and Regulatory Challenges in Europe. In. Biology, vol. 6, no. 1, ISSN 2079-7737.
[8] Tanaka, Yuji *et al.* 2017. Glucan synthase-like 2 is indispensable for paramylon synthesis in Euglena gracilis. In. FEBS Letters, vol. 591, no. 10, pp. 1360-1370, ISSN 0014-5793.
[9] Zhang, Feng et al. 2013. Genome engineering using the CRISPR-Cas9 system. In. Nature, vol. 8, pp. 2281-2308, ISSN 1750-2799.



Obr. A.1 Kompletné mapa génu MND 1 so znázornením CDS a 5´UTR, 3´UTR regiónov.



Obr. A.2 *In-silico* dizajn transformácie. Prvý pár primerov je 341F a 923F, tento pár bol použitý na *colony* PCR analýzu prvého typu. Druhý pár primerov je 341F a 595R, ktorý bol použitý na *colony* PCR druhého typu. ssODN kompenent zodpovedá Homology arm 1 + 2x HA-tag + Homology arm 2. sgRNA je sgRNA-1 + sgRNA-2.

Časopriestorové zmeny výskytu a početnosti orchideí na území Tuhárskeho krasu (oblasť západokarpatskej flóry)

Spatio-temporal Changes in the Occurrence and Abundance of Orchids on the Territory of the Tuhársky Karst (Region of the West Carpathian Flora)

Lukáš Wittlinger[1]
Školiteľ: František Petrovič[2]
[1,2]Katedra ekológie a environmentalistiky,
FPVaI UKF, Tr. A. Hlinku 1, 949 74 Nitra,
[1] lukas.wittlinger@ukf.sk, [2]fpetrovic@ukf.sk

Abstrakt
V príspevku sa zameriavame na mapovanie taxónov čeľade vstavačovité *(Orchidaceae)* na území Tuhárskeho krasu, ktoré patria v súčasnosti k ohrozeným druhom (CITES). Pozornosť venujeme časopriestorovým zmenám na území Tuhárskeho krasu v rokoch 1998 a 2019, pričom údaje dopĺňame o aktuálny stav ochrany sledovaných druhov. Hlavným cieľom príspevku je kompletné zmapovanie lokalít, ich charakteristika, zápis druhov orchideí, definovanie základných faktorov ohrozenia a návrh ochrany orchideí v študovanom území. V príspevku opisujeme základné princípy rozšírenia orchideí dotknutého územia a faktory, ktoré ich v priebehu času negatívne ovplyvnili. Výsledkom nášho výskumu je podrobný zoznam lokalít s ich charakteristikou, zoznam mapovaných druhov s ich distribúciou a početnosť populácií. Jednotlivé znaky sme hodnotili vizuálnym pozorovaním a odhadom pomocou zaužívaných klasifikačných stupníc. V závere príspevku charakterizujeme a navrhujeme opatrenia na ochranu ohrozených populácií jednotlivých druhov v študovanom území.

Kľúčové slová: *Orchidaceae,* monitoring, ohrozené druhy, Tuhársky kras, faktory ohrozenia

Abstract
In the contribution, we focus on the mapping of taxa of the orchid family *(Orchidaceae)* on the territory of the Tuhárské karst, which are currently listed as endangered species (CITES). We pay attention to the spatio-temporal changes in the territory of the Tuhársky Karst in 1998 and 2019, while supplementing the data with the current state of protection of the monitored species. The main goal of the contribution is the complete mapping of locations, their characteristics, registration of orchid species, definition of basic risk factors and a proposal for the protection of orchids in the studied area. In the article, we describe the basic principles of the spread of orchids in the affected area and the factors that have negatively affected them over time. The result of our research is a detailed list of localities with their characteristics, a list of mapped species with their distribution and abundance of populations. We evaluated individual signs by visual observation and estimation using customary classification scales. At the end of the paper, we characterize and propose measures for the protection of endangered populations of individual species in the studied area.

Key Words: *Orchidaceae,* monitoring, endangered species, Tuhársky karst, threat factors

Úvod
Súčasný trend socioekonomických aktivít človeka má výrazný vplyv na prírodné prostredie a biologické systémy. Tieto činnosti majú obzvlášť negatívny dopad na biodiverzitu územia, pričom narúšajú väzby a vzťahy medzi týmito systémami. V diplomovej práci venujeme pozornosť taxónom čeľade *Orchidaceae,* ktoré veľmi citlivo reagujú na zmeny životného prostredia. Mnoho druhov je kriticky ohrozených.

Medzi hlavné antropogénne zásahy, ktoré spôsobujú ich priamy ústup môžeme zaradiť vytrhávanie do záhrad, využitie terapeutických účinkov, ale oveľa dôležitejšie sú nepriame zásahy, ako je intenzifikácia poľnohospodárstva, lesného hospodárstva, odvodňovanie krajiny a zhutňovanie pôdy [1].

V Slovenskej republike sú chránené všetky druhy voľne rastúcich orchideí okrem druhu *Neottia nidus-avis,* pričom sú zaradené do Červeného zoznamu výtrusných a kvitnúcich rastlín Slovenska [2]. Túto skutočnosť zdôrazňuje aj zákon NR SR č. 543/2002 Z. z. o ochrane prírody a krajiny a vyhláška MŽP SR č. 170/2021 Z. z. Slovenské orchidey sú chránené aj medzinárodnými dohovormi, ktorými je Slovenská republika viazaná, napr. Dohovor o medzinárodnom obchode s ohrozenými druhmi rastlín a živočíchov, Washingtonský dohovor (CITES) a Dohovor o ochrane európskych voľne žijúcich rastlín a živočíchov a biotopov - Bernský dohovor [3]. V Európskej únii je to smernica č. 92/43/EHS o ochrane biotopov, voľne žijúcich živočíchov a voľne rastúcich rastlín.

Cieľom štúdie bolo zmapovať druhového zloženie a abundanciu jednotlivých druhov orchideí na území Tuhárskeho krasu, pričom výsledky získaných dát sme porovnali s výsledkami [1]. Pozornosť venujeme rozšíreniu a zmenám vo výskyte sledovaných druhov v priebehu času. Dôraz kladieme aj na ekologické faktory prostredia, ktoré majú významný vplyv na rozšírenie druhov orchideí. A to hlavne pôda, ktorá podporuje endotrófnu mykorízu, od ktorej sú tieto druhy závislé.
V závere príspevku definujeme hlavné faktory ohrozenia a návrh ochrany orchideí v študovanom území. [1]

1 Materiály a metodika

Ochrana životného prostredia v oblasti ochrany prírody a krajiny zohráva v súčasnosti dôležitú úlohu nie len v rámci legislatívnej úpravy zákonov, ale aj praktickej realizácii opatrení, ktoré napomáhajú k zlepšeniu stavu ochrany prírody a krajiny na rôznych hierarchických úrovniach (napr. stupeň ochrany).

V roku 2019 sme vykonali prvé terénne mapovanie, ktorého výsledky sme porovnali s výsledkami z roku 1998. Terénne mapovania sme realizovali aj v rokoch 2020 – 2022, pričom sme monitorovali faktory, ktoré ohrozujú jednotlivé populácie orchideí. V rámci mapovania sa nám podarilo zmapovať 11 zástupcov čeľade *Orchidaceae.*

Výsledky monitoringu je možné použiť na spracovanie správ o stave biotopov a druhoch európskeho významu pre Európsku komisiu a tak naplniť národné legislatívne požiadavky a požiadavky smerníc EÚ.

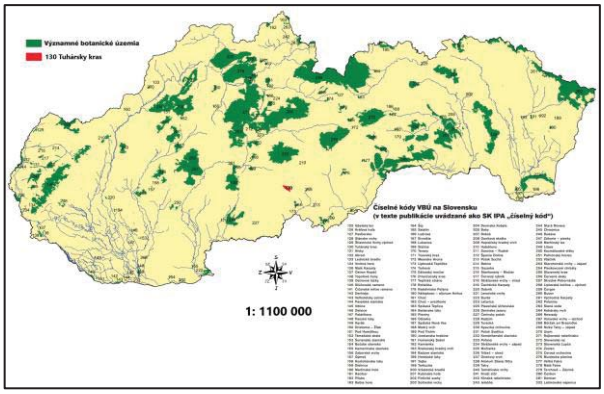
Mapovanie sme uskutočnili prostredníctvom terénneho biogeografického výskumu v študovanom území podľa stanovenej metodiky a frekvencie [4]. Pri realizácii terénneho výskumu sme vychádzali z práce. Autori uvádzajú tri významné prístupy v biogeografii: chorologický, topografický a regionálny. Chorologický prístup tvorí súbornú analýzu miest výskytu – stanovenie areálu daného taxónu. Rezultátom sú areálové systémy (napr. v našom prípade floristické prvky). Topografický prístup sa zameriava na tvorbu súpisu taxónov na samostatných lokalitách a pozoruje ich prítomnosť.

Monitorované boli nelesné a lesné biotopy a botanické taxóny čeľade *Orchidaceae.* V rámci rozšírenia poznatkov a požiadavky ŠOP SR sme mapovali aj druh *Neottia nidus-avis,* ktorý v súčasnosti nie je ohrozený, ani chránený.

Výsledkom je biogeografická regionalizácia študovaného územia. Terénny biogeografický výskum (zber a syntetické spracovanie informácií o rastlinstve a ich abiotickom prostredí priamo v teréne), môžeme z hľadiska času označiť za polostacionárny terénny výskum (opakované, ale nie kontinuálne meranie dynamických charakteristík krajiny).

Vymedzenie študovaného územia

Tuhársky kras sa nachádza medzi obcami Tuhár, Divín a Ružiná, kde skrasovatené vápence vystupujú na povrch na ploche asi 5 km². Hranicu tvorí štátna cesta medzi obcami Ružiná - Divín, pokračuje štátnou cestou medzi obcami Divín - Tuhár, z Tuhára po štátnej ceste až po Tuhársky Mlyn. Odtiaľ pokračuje hranica na kótu 490,7 smerom na východ, ďalej smerom na severovýchod údolnicou až do obce Ružiná (obr. 1).



Obr. 1 Významné botanické územia na Slovensku
Zdroj: Galvánek, 2007

Z rozsiahlej štúdie [5] vyplýva, že územie Tuhárskeho krasu ma svoje špecifické postavanie v distribúcii druhov *Orchidaceae* a to práve aj v kontexte krasového fenoménu vyvinutého na súbore slabometamorfovaných kryštalických vápencoch

(mramoroch) mezozoickej obalovej jednotky veporika. Tieto vápence majú osobitný vývoj (obr. 2). Vápence - mramory sú pestré (svetlosivé až biele, fialové, ružovkasté, žltohnedé, sivé až tmavosivé). Miestami sú výrazne doskovité, po rekryštalizácii a páskovanou textúrou.

Osobitný záujem sme tomuto územiu venujeme na základe dostupných dát o lokalitách, ale aj počtoch jedincov v jednotlivých populáciách. Pozornosť venujeme predovšetkým časopriestorovým zmenám sledovaných druhov v rokoch 1998 a 2019.

Študované územie patrí podľa geomorfologického členenia do sústavy Alpsko-Himalájskej, podsústavy Karpaty, provincie Západné Karpaty, oblasti Slovenské rudohorie, celku Revúcka vrchovina, podcelku Cinobanské predhorie a do časti Lovinobanská brázda [6].

Podľa Klimatickogeografických typov [7] dotknuté územie i jeho okolie môžeme z hľadiska klimatických pomerov zaradiť do teplej klimatickej oblasti, okrsok teplý, mierne vlhký, s chladnou zimou.

Podľa mapy inžinierskogeologických rajónov Slovenska [8] patrí skúmané územie rajónu predkvartérnych hornín a vápencovo-dolomitických hornín.

Šály a Šurina [9] uvádzajú, že na študovanom území sa nachádzajú štyri pôdne typy – kambizeme, rendziny podzoly a pseudogleje.

Podľa Plesníka [10] patrí riešené územie do troch zón a.) zóny dubovej, podzóny horskej, oblasti sopečnejnej, okres Krupinská planina, Ostrôžky a podokres Ostrôžky, b.) zóny dubovej, podzóny horskej, oblasti kryštalicko-druhohornej, okres Revúcka vrchovina a podokres Železnické predhorie a c.) zóna buková, oblasť sopečná, okres Javorie a podokres východný.

Pôvodnú potenciálnu prirodzenú vegetáciu územia Tuhárskeho krasu bez značnej antropogénnej činnosti človeka, by na území tvorili jelšové lesy na nivách podhorských a horských vodných tokov *(Alnenion glutinoso-incanae, Salicion triandrae* p .p., *Salicion eleagni)*, dubovo-hrabové lesy karpatské *(Carici pilosae-Carpinenion betuli)*, bukové lesy kvetnaté *(Eu-Fagenion* p. p. maj), bukové kvetnaté lesy podhorské *(Eu-Fagenion* p. p. min.) a dubovo-cerové lesy *(Quercetum petraeae-cerris* s. i.) [11].

Reálna vegetácia študovaného územia predstavuje mnohotvarú diferenciáciu biotopov. Najväčšiu časť Tuhárskeho krasu tvoria lesné biotopy, ktoré sú najviac ovplyvňované antropogénnou činnosťou a to práve lesným hospodárením (ťažba drevnej hmoty, vysádzanie nových druhov). Charakteristické dreviny pre lesné biotopy sú E_3 *Quercus cerris, Quercus robur* agg., *Quercus petrae* agg., *Fagus sylvatica, Carpinus betulus, Acer campestre, Acer platanoides, Tilia cordata, Picea abies, Abies alba, Alnus glutinosa, Robinia pseudoacacia a Fraxinus excelsior.* Krovinovú etáž E_2 tvorí *Rosa* spp., *Prunus spinosa, Crataegus monogyna,* bylinnú etáž E_1 *Galeobdelon luteum, Lathyrus vernus, Luzula luzuloides, Scila bofilia* a *Veronica chamaedrys*.

2 Výsledky a diskusia

Medzi mapované druhy v roku 2019 patrili (abecedne zoradené): *Cephalanthera damosonium, Cephalanthera longifolia, Cephalanthera rubra, Epipactis helleborine* subsp. *helleborine, Epipactis microphylla, Epipactis pontica, Neottia nidus-avis, Anacamptis morio, Orchis purpurea, Platanthera bifolia* subsp. *latiflora a Platanthera chlorantha.*

Väčšia časť druhov bola z hľadiska syntaxonomického vymedzenia zaradená do podzväzu *Fagenion* a *Cephalanthero-Fagenion,* podzväzu *Fagenion* a *Quercenion pubescentis*, zväzu *Quercion pubescentis-petraeae,* zväzu *Carpinion betuli* a *Alno-Padion.*

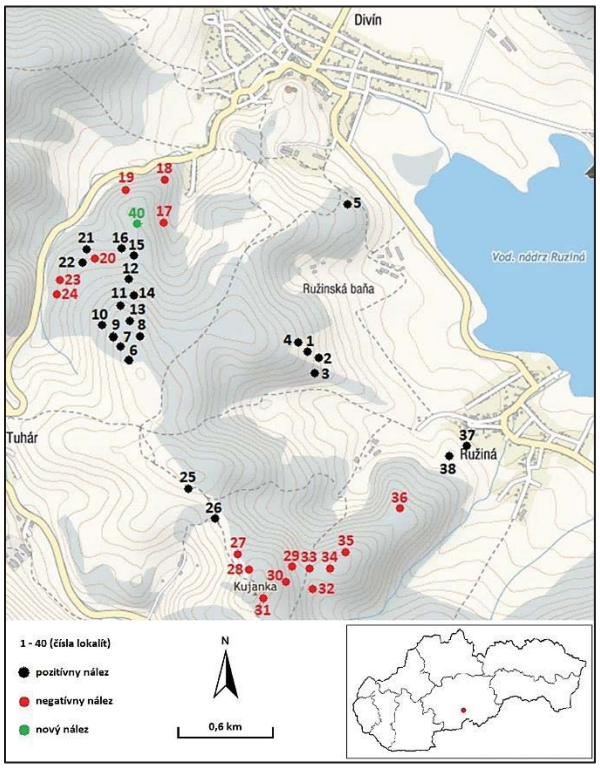
V tabuľke 1 je uvedená vedecký názov taxónu, počet zistených lokalít v roku 1998 a 2019. Prvé číslo uvádza kód lokality. Prvé číslo v zátvorke udáva početnosť za rok 1998 a druhé za rok 2019 pričom sa udáva počet kvitnúcich a aj sterilných jedincov spolu. Znamienko (-) označuje, že v danom roku nebola početnosť na lokalite zistená.

Tab. 1 Početnosť populácii *Orchidaceae* v Tuhárskom krase

Taxón	Počet zistených lokalít v roku 1998	Počet zistených lokalít v roku 2019	Lokalita a početnosť v rokoch (1998/2019)
Cephalanthera damasonium	8	4	3 (107/134), 13 (27/21), 26 (7/8), 38 (101/52)
Cephalanthera longifolia	19	11	3 (3/8), 4 (12/36), 5 (3/1), 6 (176/130), 7 (91/108), 8 (27/32), 9 (30/28), 10 (45/53), 13 (1/1), 14 (7/5), 26 (23/17)
Cephalanthera rubra	8	3	22 (5/4), 25 (110/72), 26 (79/50)
Epipactis helleborine	22	13	6 (16/3), 7 (60/49), 9 (23/28), 10 (54/63), 11 (39/37), 12 (34/21), 13 (1/3), 14

			(4/4), 15 (6/10), 16 (8/2), 21 (16/15), 25 (7/2), 26 (10/27)
Epipactis microphylla	5	1	26 (25/16)
Epipactis pontica	5	3	12 (7/18), 13 (85/106), 15 (54/44)
Neottia nidus-avis	20	9	5 (12/25), 7 (12/32), 8 (5/18), 12 (11/20), 13 (8/14), 14 (4/9), 15 (12/13), 16 (33/38), 26 (8/17)
Anacamptis morio	3+1*	3	1 (-/98), 2 (26/22), 37 (700/600)
Orchis purpurea	3	4	3 (35/85), 4 (26/48), 37 (1/6), 38 (-/32)
Platanthera bifolia	6	4	3 (1/2), 6 (1/3), 7 (12/11), 26 (3/7)
Platanthera chlorantha	0	1	40 (-/8)

Zdroj: Belanová, 1999; Wittlinger, 2019
*Taxón mapovaný mimo študovaného územia

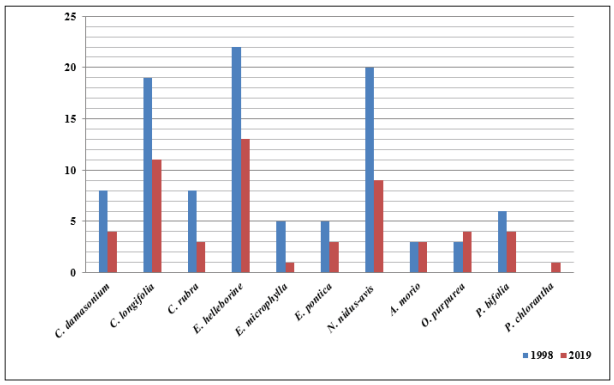


Obr. 2 Mapa lokalít v Tuhárskom krase
Zdroj: podklad ZBGIS, 2019; dáta Belanová, 1999; Wittlinger, 2019

Zmeny vo výskyte sledovaných druhov v priebehu času v študovanom území

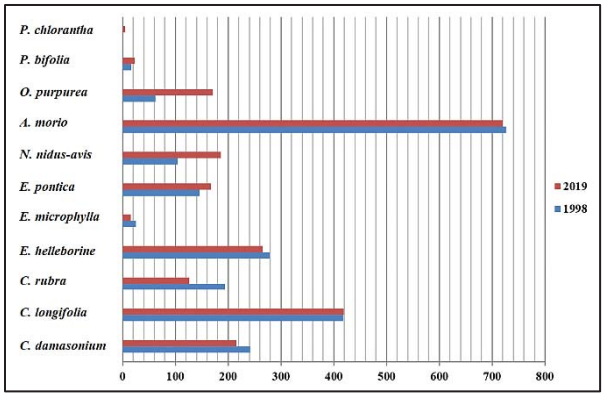
Zmeny v spoločenstvách boli vo väčšej miere vyvolané priamymi a nepriamymi zásahmi človeka do zloženia štruktúry spoločenstiev. Potenciálnym rizikom zníženia počtu lokalít je intenzifikácia lesného hospodárstva a rozširovanie kameňolomov za účelom ťažby vápencov na dvoch lokalitách pre účely výstavby rýchlostnej cesty R2.

Z grafu 1 vidieť, že počet zistených lokalít v porovnaní rokov 1998 a 2019 bol znížený predovšetkým u lesných druhov. Najväčší počet straty lokalít bol u druhu *Neottia nidus-avis* (-11), *Epipactis helleborine* (-9), *Cephalanthera longifolia* (-8), *Cephalanthera rubra* (-5). Pri lúčnom druhu *Anacamptis morio* nebol zistený pokles ani nárast lokalít (3=3). Pri druhu *Orchis purpurea* bola zistená jedna lokalita na vyše v travinno-bylinnom biotope (+1), čo svedčí o vhodnom extenzívnom manažmente lokalít. Jedna lokalita bola novo zaznamenaná s výskytom *Platanthera chlorantha* (+1). Naopak najmenej lokalít s nepotvrdeným výskytom orchideí *Cephalanthera damasonium* (-4) a *Platanthera bifolia* (-2).

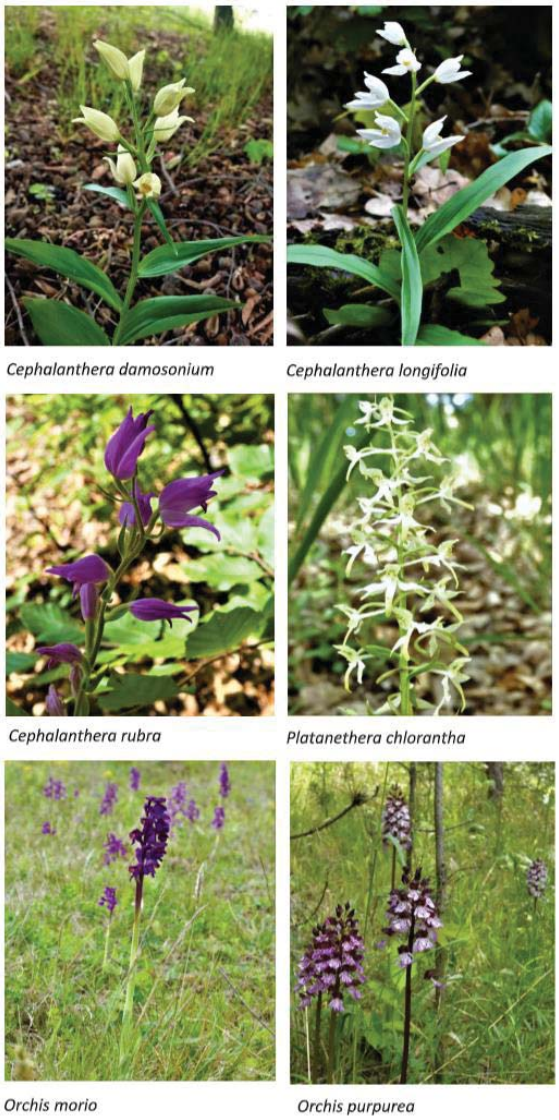


Graf 1 Zmeny v početnosti lokalít (1998 a 2019)
Zdroj: Belanová, 1999; Wittlinger, 2019

Pri komparácii abundancie počtu orchideí v rokoch 1998 a 2019 môžeme vidieť z grafu 2, že u druhov *Cephalanthera longifolia, Epipactis pontica, Neottia nidus-avis* a *P. bifolia* bol napriek zníženiu počtu lokalít zvýšený nárast jedincov v populácii. Tento jav môžeme vysvetliť jedine na základe nenarušenia lokalít a udržiavania pôvodných biotopov. U druhov *Cephalanthera damasonium, Cephalanthera rubra* (obr. 3), *Epipactis helleborine, Epipactis microphylla* a *Anacamptis morio* vidieť zníženie počtu jedincov v populáciách. Tento fakt potvrdzujú narušené lokality po ťažbe.



Graf 2 Zmeny početnosti v populáciách (1998 a 2019)
Zdroj: Belanová, 1999; Wittlinger, 2019



Obr. 3 Vybrané druhy orchideí Tuhárskeho krasu
Zdroj: Wittlinger, 2019

Prehľad a charakteristika lokalít

Čísla lokalít sú uvedené podľa Belanovej (1999), okrem lokality č. 40 (nová lokalita s výskytom *Platanthera chlorantha)*. Dané číslo vyjadruje polohu lokality zakreslenú na mape, presnejšiu lokalizácia, nadmorskú výšku v metroch, expozíciu, sklon v stupňoch, typ biotopu, dátum mapovania a meno mapovateľa. Uvádzame len lokality, na ktorých bol nami potvrdený výskyt sledovaných taxónov.

1. Divín, J od kóty Dlhé (324,6) a SZ od obce, 335-360, V-VJ, 5-10, 3510000 Pasienky a 2161000 Floristicky pestré kriačiny, 13.5.1997, 17.5.1998 leg. Belanová, 3.5.2019, 18.5.2019 Wittlinger.

2. Divín, J od kóty Dlhé (324,6) a SZ od obce, 320-335, V-VJ, 5-10, 3510000 Pasienky a 2161000 Floristicky pestré kriačiny, 13.5.1997, 17.5.1998 leg. Belanová, 3.5.2019, 18.5.2019 Wittlinger.

3. Ružiná, lesné porasty nad cestou až do záhradkárskej osady, ZSZ od obce, 305-375, SV-J, 5-20, 2112000 Dubovo-hrabové lesy, 13.5.1997, 6.8.1997, 17.5.1998, 24.5.1998 leg. Belanová, 3.5.2019, 18.5.2019 Wittlinger.

4. Ružiná, lesné porasty, pokračovanie cesty do záhradkárskej osady, SZ od obce, 360-375, SV, 5-10, 2112000 Dubovo-hrabové lesy, 24.5.1998 leg. Belanová, 3.5.2019, 18.5.2019 Wittlinger.

5. Divín, J od obce, SV od kóty 387,5; 310-320, SV, 10-20, 2112000 Dobovo-hrabové lesy, 9.7.1997 leg. Belanová, 12.7.2019 Wittlinger.

6. Tuhár, SV od obce, S od kóty Žiar (465,4), okraj lesa, 455-460, S-SZ, 5-10, 2141200 Krovinné plášte mezofilných lesov, 17.5.1997, 22.7.1998 leg. Belanová, 13.5.2019, 19.7.2019 Wittlinger.

7. Tuhár, lesný porast SV od obce a J od kóty 388,5; 420-430, Z, 10-15, 2112000 Dubovo-hrabové lesy, 24.7.1997, 22.7.1998 leg. Belanová, 13.5.2019, 19.7.2019 Wittlinger.

8. Tuhár, SV od obce, S od kóty Žiar (465,4), okraj lesa, 420-425, SV, 10-20, 2141200 Krovinné plášte mezofilných lesov, 17.5.1998, 13.5.2019, 19.7.2019 Wittlinger.

9. Tuhár, lesný porast SV od obce a J od kóty 388,5; 420-430, Z, 10-15, 2112000 Dubovo-hrabové lesy, 24.7.1997, 22.7.1998 leg. Belanová, 13.5.2019, 19.7.2019 Wittlinger.

10. Tuhár, lesný porast SV od obce, SZ od kóty Žiar (465,4), 400-410, Z, 10-15, 2112000 Dubovo-hrabové lesy, 24.7.1997, 22.7.1998, leg. Belanová, 13.5.2019, 19.7.2019 Wittlinger.

11. Tuhár, lesný porast SV od obce, SZ od kóty Žiar (465,4), 410-420, SZ, 20-25, 2112000 Dubovo-hrabové lesy, 22.7. 1998, leg. Belanová, 13.5.2019, 19.7.2019 Wittlinger.

12. Tuhár, lesný porast SV od obce, S od kóty Žiar (465,4), 410-420, S, 10-20, 2112000 Dubovo-hrabové lesy, 6.8.1997, 22.7.1998, leg. Belanová, 13.5.2019, 19.7.2019 Wittlinger.

13. Tuhár, lesný okraj, asi 7 m od elektrického vedenia, SV od obce, S od kóty Žiar (465,4), 390-400, S-SV, 10-20, 2141200 Krovinné plášte mezofilných lesov, 6.8.1997, 22.7.1998 leg. Belanová, 13.5.2019, 19.7.2019 Wittlinger (obr. 4).

14. Tuhár, lesný porast SV od obce, S od kóty Žiar (465,4), 420-425, S, 10-20, 2112000 Dubovo-hrabové lesy, 6.8.1997, 22.7.1998 leg. Belanová, 13.5.2019, 19.7.2019 Wittlinger.

15. Divín, lesný porast JZ od obce a S od kóty Žiar (465,4), rovina neďaleko od lesnej cesty, 370-375, S, 2-4, 211200 Dubovo-hrabové lesy, 6.8.1997, 10.8.1998 leg. Belanová, 28.6.2019, 20.7.2019 Wittlinger.

16. Divín, lesný porast medzi obcami Divín a Tuhár, pri lesnej ceste, 350-360, SZ, 10-15, 211200 Dubovo-hrabové lesy, 22.7.1998 leg. Belanová, 28.6.2019, 20.7.2019 Wittlinger.

21. Divín, lesný porast nad horárňou Banisko, 350-360, Z, 10-15, 2113500 Bukové kvetnaté lesy podhorské, 15.8.1997, 22.7.1998, leg. Belanová, 28.6.2019, 20.7.2019 Wittlinger.

22. Divín, lesný porast nad cestou Tuhár - Divín, medzi osadou a horárňou Banisko, 300-330, SZ-Z, 5-30, 211350 Bukové kvetnaté lesy podhorské, 15.8.1998, leg. Belanová, 28.6.2019, 20.7.2019 Wittlinger.

25. Tuhár, lesný porast V od obce nad cestou do záhradkárskej osady do Ružinej, V od kóty 475,8 a JZ od kóty 364,4; 405-410, SV, 15-25, 2113500 Bukové kvetnaté lesy podhorské, 11.6.1998 leg. Belanová, 13.5.2019, 5.6.2019 Wittlinger.

26. Tuhár, lesný porast V od kóty 475,8 aj JZ od kóty 364,6; 425-430, V, 15-25, 211350 Bukové kvetnaté lesy podhorské, 11.6.1998 leg. Belanová, 13.5.2019, 5.6.2019 Wittlinger.

37. Ružiná, pasienky na kóte 319,3; Z od obce, 290-319,3; všetky, 0-15, 3500000 Lúky a pasienky, 13.5.1997, 17.5.1998 leg. Belanová, 13.5.2019, 5.6.2019 Wittlinger.

38. Ružiná, lesný porast v S časti kóty 319,3 a Z od obce, 290-319,3; SV, 10-15, 211200 Dubovo-hrabové lesy, 17.5.1998 leg. Belanová, 13.5.2019, 23.6.2019 Wittlinger.

40. Divín, lesný porast nad horárňou Banisko, pri kóte 388,5; 370-380, JZ, 15-25, 211200 Dubovo-hrabové lesy, 21.5.2019 leg. Wittlinger (obr. 5).

Obr. 4 Lesný okraj v Tuhárskom krase
Zdroj: Wittlinger, 2022

Obr. 5 Lesný porast nad horárňou Banisko
Zdroj: Wittlinger, 2022

Formovanie vegetačnej pokrývky odráža jednu z najvýznamnejších väzieb v krajine medzi jej biotickou a abiotickou časťou [12].

V posledných desaťročiach dochádza z viacerých dôvodov k fragmentácii, resp. zániku biotopov, čo vedie k dramatickému úbytku početnosti populácií a k poklesu rozšírenia mnohých druhov rastlín. Problém sa výrazne dotýka aj mnohých taxónov z čeľade *Orchidaceae*. Mnohé vzácne a ohrozené taxóny z tejto čeľade sa vyskytujú v polopriroodzených travinno-bylinných spoločenstvách na karbonátovom geologickom podloží (obr. 6). Tieto spoločenstvá vznikli po rozsiahlom odlesnení v dávnej minulosti a patria k druhovo najbohatším spoločenstvám vôbec [13].

V súčasnosti možno zaradiť medzi faktory ohrozujúce populácie orchideí v študovanej oblasti podľa Wittlingera a Petrikovičovej [14]: antropogénne faktory (intenzifikácia poľnohospodárstva, lesného hospodárstva, odvodňovania krajiny, využitie pôdy pre technické stavby, zber pre záhradnícke a lekárske účely, povrchová ťažba, aplikácia hnojív, aplikácia herbicídov, aplikácia insekticídov vo veľkom rozsahu, zhutnenie pôdy, mulčovanie – zakrytie vrchnej časti pôdy; zoogénne faktory (škody spôsobené veľkými kopytníkmi, malými subterestrickými cicavcami a hmyzom); fytogénne faktory (vytláčanie nepôvodnými (inváznymi) druhmi rastlín, sekundárna sukcesia – zmena spoločenstiev) a pedogénne faktory (pôdna erózia, vysoké pH, obsah dusíka a iónov v pôde).

V súčasnosti sa ochrana zabezpečuje ochranou miestnych populácií druhov v chránených územiach, manažmentom biotopov a monitorovaním populácií a biotopov, prípadne revitalizačnými opatreniami. Územie patrí pod pôsobnosť Správy CHKO Cerová vrchovina.

Lesné druhy orchideí v skúmanom území nevyžadujú osobitnú ochranu za predpokladu, že bude zachované prirodzené drevinové zloženie lesných porastov a že ťažba v nich bude usmernená mimo lokality výskytu. Pre zachovanie populácie *Anacamptis morio* je potrebné vykonať ráznejšie opatrenia. Riedke porasty *Pinus sylvestris*, ako i husté kriačiny *Rosa* sp., *Rubus idaeus, Rubus fruticosus* agg. a *Prunus spinosa* na lokalitách je potrebné odstrániť a následne na týchto miestach zaviesť pôvodný spôsob obhospodarovania. Tzn., že na lokalitách travinno-bylinných biotopov by sa malo extenzívne pásť, resp. extenzívne dva-krát do roka kosiť. Najlepšie ručným spôsobom, poprípade kosbou na senáž. Nie mulčovaním.

Navrhujeme ďalšie mapovanie lokalít a pravidelné monitorovanie populácií. V prípade potvrdenia dostatočne veľkých populácií je možné zabezpečiť územnú ochranu. Po podrobnejšom prieskume by sa mal vypracovať návrh na vyhlásenie maloplošného chráneného územia v kategórii chránený areál alebo prírodná rezervácia.

Najzachovalejšie časti prírodných ekosystémov je možné vyhlásiť za maloplošné chránené územia v rôznej kategórií a v rôznych stupňoch ochrany prírody (2. – 5.). Ich vyhlásením je týmto lokalitám poskytnutá konkrétna územná právna ochrana podľa zákona NR SR č. 543/2002 Z. z. o ochrane prírody a krajiny (§11 – § 31) a vyhlášky MŽP SR č. 170/2021 Z. z., ako aj dodržiavania medzinárodných záväzkov v oblasti ochrany prírody vyplývajúcich zo smerníc a nariadení Európskeho parlamentu a Rady.

Obr. 6 *Orchis purpurea* na vápencoch, miestami substrátmi typu *terrae calcis*
Zdroj: Wittlinger, 2021

Záver

Druhy orchideí *(Orchidaceae)* sú veľmi citlivé na zmeny životného prostredia. Mnoho druhov vyhynulo a mnohé z nich sú kriticky ohrozené. Príčiny ich ústupu sú priame, ale oveľa väčší podiel na ich zmiznutí z prírody majú nepriame príčiny.

Cieľom našej štúdie bolo zmapovať diverzitu orchideí študovaného územia a ich početnosť, pričom zámerom bolo poukázať na negatívne vplyvy, ktoré ohrozujú populácie orchideí. Z lokalizácie rozšírenia jednotlivých populácii vidieť, že sú v rámci krajiny usporiadané prevažne kompkatne, alebo disperzne, čo má za následok rôznorodosť ekologických faktorov prostredia.

Z hľadiska ochrany prírody a krajiny vytvára študované územie jedinečný prírodný komplex vegetácie s výskytom pomerne bohatej diverzity *Orchidaceae*. Fyzickogeografické pomery opísanej oblasti vytvárajú vhodnú perspektívu na zabezpečenie optimálnej ochrany populácií chránených a ohrozených druhov. Populácie orchideí danej oblasti sú v súčasnosti ohrozené a to práve zásahmi ľudskej činnosti, ktoré sa podieľajú na ústupe prirodzených biotopov. Lúčnym druhom ako *Anacamptis morio* a *Orchis purpurea* prosieva extenzívne kosenie, pričom nedochádza k sekundárnej sukcesii a rozrastaniu náletových drevín, resp. k šíreniu inváznych druhov rastlín, ktoré by mohli výrazne študované populácie ohroziť [15].

V skúmanej oblasti sme zistili, že medzi negatívne vplyvy na rastlinné spoločenstvá a populácie orchideí v dotknutej oblasti možno klasifikovať najmä intenzifikáciu poľnohospodárstva a lesného hospodárstva.

Na základe výsledkov získaných rekognoskáciou (porovnanie mapových podkladov a terénnych zistení), navrhujeme pravidelne monitorovať identifikované lokality prostredníctvom zmien populačnej ekológie a analyzovať výsledky prostredníctvom tabelárnej syntézy fytocenologickej evidencie, v ktorej sú údaje o druhovom zložení a kvantitatívnych podieloch druhov na lokalitách, ako aj analýzy prostredníctvom takzvaných databáz rastlinných vlastností. Na základe zistených skutočností je potrebné lokality s vysokou abundanciou a diverzitou orchideí uviesť v zmysle súčasnej slovenskej legislatívy podľa zákona NR SR č. 543/2002 Z. z. o ochrane prírody a krajiny vo forme územnej ochrany ako maloplošné chránené územia, alebo územia európskeho významu.

Použitá literatúra

[1] BELANOVÁ, E. 1999. Vstavačovité (Orchidaceae) Tuhárskeho krasu. Diplomová práca. Zvolen : FEE TU; Katedra biológie, 1997. s. 36.

[2] ELIÁŠ, P. et. al., 2015. Red list of ferns and floweing plants of Slovakia. 5th edition. Biologia 2015, 70, 218–228 s.

[3] JASÍK, M. 1997. Legislatívna ochrana vstavačovitých v Slovenskej republike. In: Európske vstavačovité (Orchidaceae) - Výskum a Ochrana; Technická univerzita: Zvolen, Slovensko, 1997; 27–31 s.

[4] RANC, V., MALINA, R. ŠKODOVÁ, M. 2015. Základy biogeografie a ekológie. Banská Bystrica: FPV UMB, 2015. 174 s. ISBN 978-80-557-0891-1.

[5] GAÁL, Ľ. 1989. Výskum Tuhárskeho krasu v Revúckej vrchovine. Spravodajca Slovenskej speleologickej spoločnosti 1/1989, XX. roč., Liptovský Mikuláš, 3-7 s.

[6] KOČICKÝ, D., IVANIČ, B. 2014. Geomorfologické členenie Slovenska [online]. Bratislava: Štátny geologický ústav Dionýza Štúra, 2014. Dostupné na internete: http://apl.geology.sk/temapy (2020-7-18).

[7] KOČICKÝ, D., IVANIČ, B. 2014b. Klimatickogeografické typy [online]. Bratislava: Štátny geologický ústav Dionýza Štúra, 2014. Dostupné na internete: http://apl.geology.sk/temapy (2020-7-18).

[8] Slovenský hydrometeorologický ústav v Bratislave. 2005. Hydrogeologické rajóny v Slovenskej republike. Dostupné na internete: http://www.shmu.sk/ (2019-05-16).

[9] ŠÁLY, R., ŠURINA, B. 2002. Pôdy. Banská Bystrica: SAŽP, 2002. https://geo.enviroportal.sk/atlassr/ (2020-2-23).

[10] PLESNÍK, P. 2002. Fytogeograficko-vegetačné členenie. mierka 1 : 1 000 000. In: Atlas krajiny SR. Hrnčiarová, T. red. Bratislava : MŽP; Banská Bystrica : SAŽP. 2002. 344 s. ISBN 80-88833-27-2.

[11] MICHALKO, J. et al. 1986. Geobotanická mapa ČSSR. Bratislava: Veda, 1986.

[12] SENKO, D., MIŠKOVIC, J. 2006. Návrh na manažment biotopov vybraných taxónov z rodu Ophrys L. (Orchidaceae) na Devínskej Kobyle (Bratislava). Miscellanea Geographica 12. Katedra geografie, ZČU v Plzni, 2006, 47-61 s.

[13] WILLEMS, J. H. 1983. Species composition and above-ground phytomass in chalk grassland with different management. In: Vegetatio, 52: 171-180 s.

[14] WITTLINGER, L., PETRIKOVIČOVÁ, L. 2021. Phytogeographical Analysis and Ecological Factors of the Distribution of Orchidaceae Taxa in the Western Carpathians (Local Study). Plants 2021, 10, 588. https://doi.org/10.3390/plants10030588.

[15] WITTLINGER, L. 2022. Biogeografia a ekológia taxónov čeľade vstavačovité (Orchidaceae) v Západných Karpatoch. Diplomová práca. Nitra : FPVaI UKF; Katedra geografie a regionálneho rozvoja, 2022. 64 s.

Sekcia

PhD. II.

Elektromagnetické pole bežného života a jeho vplyv na kvasinky

The electromagnetic field of everyday life and its effect on yeast

Miroslava Sinčák[1]
Školiteľ: Jana Sedláková[2]
[1,2]Katedra Ekochémie a Rádioekológie, Fakulta prírodných vied Univerzity sv. Cyrila a Metoda v Trnave, Nám. J. Herdu 2, Trnava, 917 01
[1] sincak1@ucm.sk, [2] prof.jana.sedlakova@ucm.sk

Abstrakt

Napriek tomu, že sa v dnešnej dobe venuje stále väčšia pozornosť elektromagnetizmu okolo nás, vplyv nízkofrekvenčných všadeprítomných polí na ľudské zdravie je stále nedostatočne preskúmaný. V našej štúdii sme skúmali urbánne elektromagnetické pole s frekvenciou 150 Hz a jeho vplyv na rast a morfológiu kvasinkových kultúr. Po 24 a 48 hodinovej expozícii sme zaznamenali stimuláciu rastu, ktorá ale odznela krátko po vybratí kultúry z testovaného elektromagnetické poľa. Naše výsledky preukázali, že kvasinky zaznamenali zmenu okolitého magnetizmu a reagovali na ňu rastovými zmenami. V budúcnosti by bolo potrebné skúmať aj ďalšie urbánne elektromagnetické polia a ich spoločný vplyv na organizmy pre komplexné pochopenie tejto problematiky.

Kľúčové slová: kvasinky, elektromagnetické pole, urbánne prostredie

Abstract

Even though more and more attention is paid to electromagnetism around us nowadays, the influence of low-frequency electromagnetic fields on human health is still insufficiently described. In our study, we investigated the electromagnetic field with a frequency of 150 Hz, which is commonly encountered in households, and its effect on the growth and morphology of yeast cultures. After 24 and 48 hours of exposure, growth stimulation was noted, but it ceased shortly after removing the culture from the tested electromagnetic field. Our results showed that the yeast detected the change of the surrounding magnetism and responded to it with growth changes. In the future, it would be important to investigate other urban electromagnetic fields and their joint impact on the organisms for a comprehensive understanding of this issue.

Key Words: yeast, electromagnetic field, urban environment

Úvod

Zemské jadro je permanentný magnet, ktorého vektory poľa smerujú od severného magnetického pólu k južnému na každom mieste planéty [1]. Okrem magnetickému poľa Zeme, ktoré je všade prítomné, sú v dnešnej dobe organizmy vystavené aj zmesi silných a slabých elektromagnetických polí súvisiacich s ľudskými aktivitami. Efekt neustáleho vystavenia elektromagnetickým poliam od nízkofrekvenčných polí domácich spotrebičov (0 až 50 Hz) až po vysokofrekvenčné GHz (bezdrôtová sieť LAN) na človeka nebol dosiaľ dôkladne presúkaný [2].

Viacero štúdií, ktoré sa venovali skúmaniu účinkov rôznych elektromagnetických žiarení na ľudské zdravie, priniesli nekonzistentné výsledky. Jeden z častejšie pozorovaných efektov, je vplyv elektromagnetických polí na plodnosť a životaschopnosť [3,4]. V štúdiách bol pozorovaný vplyv mobilného telefónu, na zníženie životaschopnosti a pohyblivosti spermií spolu so zvýšenými hladinami reaktívnych foriem kyslíka a celkovej zníženej antioxidačnej kapacity. Niekoľko autorov sa tiež pokúšalo nájsť dôkazy o prípadnej karcinogénnej aktivite nízko- a vysoko- frekvenčných polí, no výsledky boli nejednoznačné [5]. Súhrnná analýza Medzinárodnej agentúry pre výskum rakoviny (IARC) z roku 2011 označila rádiofrekvenčné (vysokofrekvenčné) elektromagnetické pole ako skupinu 2B (možný ľudský karcinogén) [6].

Väčšina štúdií venujúca sa efektu elektromagnetizmu na ľudské zdravé sa venuje práve vysokofrekvenčných poliam ako sú mobilné siete alebo WIFI. Nedostatočná pozornosť je ale venovaná nízkofrekvenčných sieťam, ktoré sú produkované domácimi spotrebičmi alebo rozvodnými sieťami prítomnými v stenách. Preto sme sa v našej práci rozhodli venovať práve týmto nízkym frekvenciám a ich

vplyvu na kvasinky. Viacero autorov označuje kvasinky ako vhodný modelový organizmus pre štúdium vplyvu environmentálnych stresorov s možnou extrapoláciou na človeka [7].

Cieľom našej práce bolo teda popísať vplyv nízkofrekvenčného elektromagnetického poľa s frekvenciou 150 Hz a hustotou elektromagnetického toku 0,1 mT indukovaného striedavý prúdom na rast a prežívanie kvasiniek. Zvolené elektromagnetické pole sme simulovali za pomoci špeciálne zostrojenej cievky pre tento účel. Vzorky sme vkladali do priestoru medzi dvomi závitmi cievky, čo zabezpečilo, že pole bolo homogénne. Ďalším naším cieľom bolo študovať či aj čas expozície má vplyv na organizmy. Testovali sme 2 expozičné časy: 24 hodín a 48 hodín. V oboch prípadoch sme po vybratí vzoriek zo skúmaného poľa pokračovali v kultivácii v laboratórnych podmienkach na overenie permanentného charakteru prípadných pozorovaných zmien.

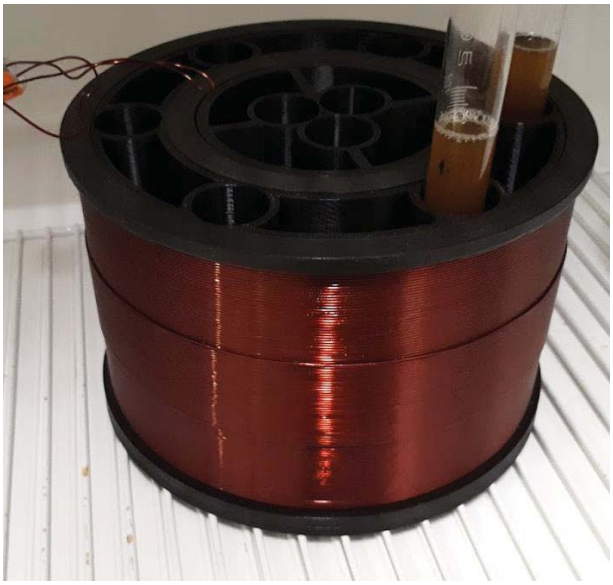
1 Materiál a metodika

1.1 Modelový organizmus

Na skúmanie účinku magnetických polí sme použili kvasinkovú kultúru *Saccharomyces cerevisiae* zo zbierky Chemického ústavu SAV v Bratislave (CCY 21-4-13, liehovarnícka kultúra,). Kultúru kvasiniek sme udržiavali na MD agarovom tuhom médiu (štandardné zloženie média: YNB (10×), Dextrose (20%), Biotin (0.02%), agar (2%)). Počas experimentov sme ako kultivačné médium používali tekuté YPD médium so štandarstným zložením (Yeast extract 1%, Peptone 2%, Dextrose 2%).

1.2 Indukcia magnetického poľa

Magnetické pole bolo vytvárané pomocou systému pozostávajúceho z generátora elektrického poľa cievky. Na účely tohto experimentu bola zhotovená medená kruhovitá cievka, ktorá pozostávala z dvoch vinutí, medzi ktorými bolo po obvode 6 otvorov na umiestnenie skúmaviek so vzorkami, kde bolo testované pole homogénne (Obrázok 1). Testovaná kultúra bola vystavená elektromagnetickému poľu s frekvenciou 150 Hz s hustotou elektromagnetického tomu (B) 0,1 mT indukované striedavým elektrickým prúdom 6,26 mA. Celá aparatúra bola zostavená v rámci spolupráce s Leteckou katedrou Technickej Univerzity v Košiciach.



Obrázok 1 medená kruhovitá cievka so šiestimi otvormi na skúmavky.

1.3 Experimentálny dizajn

Malé množstvo kvasinkovej kultúry sme preniesli do 95 ml sterilného YPD média ochladeného na izbovú teplotu a následne sme kultivovali po dobu 2 hodín. Po tejto pred-kultivácii nasledovala experimentálna kultivácia, kedy sme kultúru rozdelili na 3 vzorky a 3 kontroly po 15 ml. Takto pripravenú kultúru sme vystavili testovanému magnetickému poľu po dobu 24 alebo 48 h (vzorky) alebo ponechali v laboratórnych podmienkach, iba pod vplyvom geomagnetického poľa Zeme (kontrola). Po skončení kultivácie sme uskutočnili merania kvasinkovej kultúry a kultivačného média v prípade pH a redoxného potenciálu) a kultúry kultivovali ďalších 24 hodín v laboratórnych podmienkach. Magnetické pole v laboratóriu sa pohybovalo medzi 50-51 µT s fluktuáciami 10-100 nT

1.4 Merané parametre

Zmeny pH, redoxného potenciálu, počtu buniek, optickej denzity kvasinkovej kultúry sme vyhodnocovali v pravidelných časových intervaloch. Počas celého obdobia pred-kultivácie a kultivácie sme každé dve hodiny (okrem noci) odoberali 50 µl kvasinkovej kultúry, na vytvorenie rastovej krivky.

pH a redoxný potenciál sme merali pomocou multimetra (Xylem Analytics Germany GmbH, DE). Pred meraním pH a redoxného potenciálu bola kultúra filtrovaná bunkovým filtrom (0,22 µm) (Techno Plastic Products AG, CH), aby sa zvýšila stabilita signálu pri

meraní redoxného potenciálu. Merania sme uskutočnili v triplikátoch

2 Výsledky a diskusia

2.1 Ph a redoxný potenciál

Počas kultivácie v elektromagnetickom poli sme v porovnaní s kontrolou nezaznamenali významné zmeny pH (5,3 +/- 0,1) a redoxného potenciálu (147 +/- 5 mV) kultivačného média (po dofiltrovaní buniek) po 24 hodinách kultivácie. Podobne malý rozdiel bol pozorovaný po 48 h kultivácie pre hodnoty pH (5,14 +/- 0,04) aj redoxného potenciálu (101 +/-1) (tab. 1 a 2).

Tabuľka 1 hodnoty pH kultivačného média (živné médium pred kultiváciou), média po pred-kultivácia (kultúra *S. cerevisiae* po 2 hodinách kultivácie) po vystavení elektromagnetickému poľu (kultúra *S. cerevisiae* po 24 alebo 48 h) a po následných 24 hodinách opätovnej kultivácie v laboratórnych podmienkach, kde bolo prítomné iba geomagnetické pole Zeme (G-LP).

		Pred-kultivácia	**Experimentálna kultivácia**			
	médium	2h	24 h	+24h G-LP	48 h	+24 h G-LP
kontrola	6,5	6,3	5,4	5,27	5,1	5,4
vzorka			5,4	5,25	5,2	5,36

Tabuľka 2 hodnoty redoxného potenciálu kultivačného média (živné médium pred kultiváciou), média po pred-kultivácia (kultúra *S. cerevisiae* po 2 hodinách kultivácie) po vystavení elektromagnetickému poľu (kultúra *S. cerevisiae* po 24 alebo 48 h) a po následných 24 hodinách opätovnej kultivácie v laboratórnych podmienkach, kde bolo prítomné iba geomagnetické pole Zeme (G-LP).

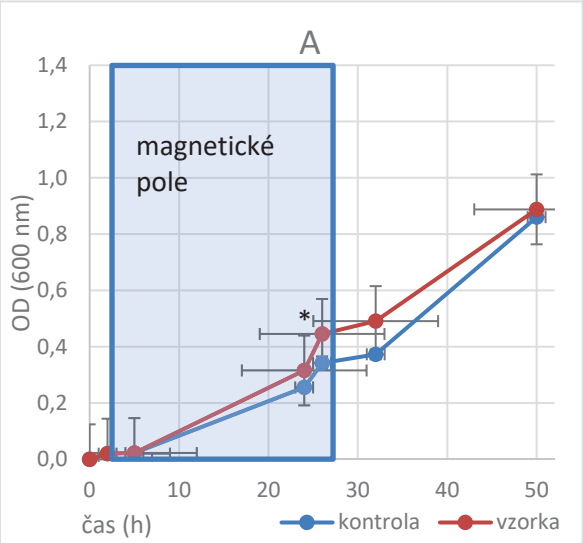
		Pred-kultivácia	**Experimentálna kultivácia**			
	médium	2h	24 h	+24h G-LP	48 h	+24 h G-LP
kontrola	180 mV	170,7 mV	153,5 mV	98,6 mV	104,3 mV	74 mV
vzorka			141,80 mV	95,30 mV	102,2 mV	70,10 mV

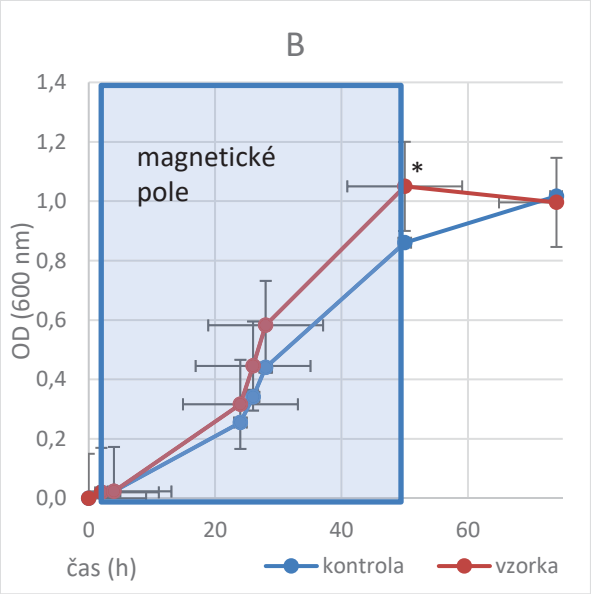
Pozorovali sme mierny pokles redoxného potenciálu kultivačného média po pred-kultivácii (170,7 mV), čo si vysvetľujeme konzumáciou živného média kvasinkami počas nástupu exponenciálnej fázy rastu. Pozitívne hodnoty redoxného potenciálu naznačujú aeróbny metabolizmus kvasiniek. Počas aeróbneho rastu kvasiniek dochádza k priebežnému znižovaniu redoxného potenciálu spolu s degradáciou cukrov, prítomných v médiu [8].

Niektorí autori skúmajúci silnejšie elektromagnetické polia (10-35 mT) zaznamenali zmenu pH spolu so zvýšeným príjmom živín a súčasnou produkciou biomasy v médiu [9]. Naopak, autori, ktorí nezaznamenali zmenu rastu a metabolickej aktivity, nepozorovali ani zmenu pH média [8]. Podľa našich výsledkov môžeme povedať, že nepatrné zmeny pH a redoxného potenciálu v kultivačnom médiu v našom prípade neodzrkadľujú zaznamenané rastové zmeny v prítomnosti testovaného elektromagnetického poľa. Zmeny pH a redoxného potenciálu neboli v našom prípade dostatočne citlivé, aby zaznamenali rastovú zmenu, ktorá sa ukázala napríklad pri počítaní buniek.

2.2 Rastové zmeny

Pomocou merania optickej denzity a následnej konštrukcie rastovej krivky sme zaznamenali zmeny v hustote kultúry kvasiniek po ich vystavení elektromagnetickému poľu (Obrázok 2). Počas kultivácie sme zaznamenali stimuláciu rastu kvasinkovej kultúry vystavenej elektromagnetickému poľu počas kultivácie 24 aj 48 h.





Obrázok 2 Rastová krivka *S. cerevisiae* po 24 hodinách vystavenia magnetickému poľu a ďalších 24 hodinách v laboratórnych podmienkach (A) a po 48 hodinách vystavenia magnetickému poľu a ďalších 24 hodinách v laboratórnych podmienkach. Kontrola bola v laboratórnych podmienkach počas celej doby kultivácie (*štatisticky významné pri $p < 0,05$ (t-test)).

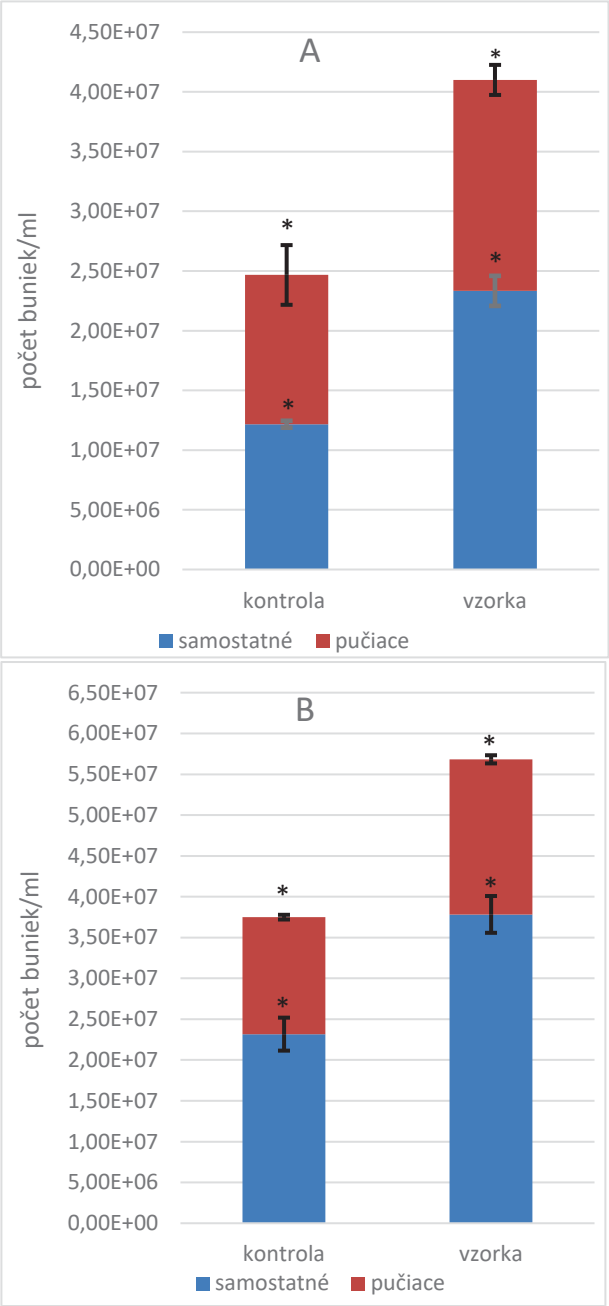
Zaznamenané hodnoty sa menili s dobou kultivácie. Stimulačný vplyv magnetického poľa bol výraznejší pri dlhšej kultivácii. Po vybratí kvasinkovej kultúry z testovaného poľa sa stimulačný efekt poľa zoslabuje, až dokým dosiahnu vzorka a kontrola takmer rovnakú optickú hustotu. Na základe našich výsledkov predpokladáme, že elektromagnetické pole pôsobí iba ako dočasný environmentálny stresor a jeho efekt odznieva po odstránení organizmu z jeho dosahu.

Viacerí autori skúmajúci silnejšie elektromagnetické polia (na úrovni mT) zaznamenali buď inhibičné [10, 6], stimulačné [11, 12], alebo žiadne účinky [13]. Len málo prác sa venovalo slabým nízkofrekvenčným elektromagnetickým poliam s hustotou elektromagnetického toku 0,1 mT, ktorým sa venujeme v našej práci. V dávnejšej štúdii Ivancsits a kol. [13] pozorovali pozitívny efekt elektromagnetického poľa 0,035 µT na tvorbu dvojvláknových zlomov DNA, no v súčasnosti neboli publikované žiadne iné práce študujúce podobne slabé polia.

Naše výsledky si vysvetľujeme tak, že skúmané elektromagnetické pole nebolo dostatočne silné, aby spôsobilo trvalú stimulačnú zmenu. Predpokladáme, že pozorované zmeny nemajú charakter genetických zmien nakoľko sa stimulačný charakter stráca po vybratí z poľa a takáto kultúra si nezachováva zrýchlený rast po jej preočkovaní na nové médium. Na potvrdenie našich predpokladov sú ale potrebné ďalšie experimenty.

2.3 Rast a delenie

Vyhodnotenie celkového počtu a morfológie buniek pomocou svetelnej mikroskopie nám taktiež ukázalo stimulačný charakter elektromagnetického poľa. Celkový počet kvasinkových buniek sa zvýšil v prípade doby vystavenia elektromagnetickému poľu 24 hodín (o 61%) aj 48 hodín (o 43%) v porovnaní s kontrolou, ako je ukázané na obrázku 3. Čo sa týka morfológie buniek, neboli pozorované žiadne viditeľné morfologické rozdiely.



Obrázok 3 rastové vlastnosti kvasinkovej kultúry vyhodnotené pomocou počítania buniek po jej vystavení elektromagnetickému poľu po dobu 24 hodín (A) a 48 hodín (B) (*štatisticky významné pri $p < 0,05$ (t-test)).

Ďalšie zmeny bolo pozorované v počte pučiacich buniek. V oboch prípadoch sme zaznamenali viac pučiacich buniek pri 24 hodinovej expozícii (50 %) alebo aj pri 48 h expozícii (38 %) v porovnaní s kontrolou (43 % pri 24 h a 33 % pri 48 hodinách). Zaznamenané výsledky si vysvetľujeme urýchlením rastu testovacej kultúry, a teda väčšou stimuláciou delenia buniek a produkcie biomasy. Tieto výsledky podporuje aj relatívny celkový počet buniek v 1 ml, ktorý je signifikantne vyšší pri exponovanej kultúre pri oboch kultivačných časoch.

Podobné výsledky zaznamenalo aj niekoľko ďalších autorov, ktorý pozorovali, že vystavenie magnetickému poľu môže mať buď stimulačný alebo inhibičný efekt na prechod rastovými fázami a tiež na samotnú kinetiku bunkového cyklu v závislosti od skúmaného poľa [7, 14, 15].

Záver

Výsledky nášho experimentu dokumentujú vplyv magnetického poľa na rast a delenie kvasiniek. Zatiaľ čo hodnoty pH a redoxného potenciálnu sa nelíšili medzi vzorkami a kontrolou, meranie optickej denzity a počítanie buniek ukázalo stimulačný efekt testovaného elektromagnetického poľa. Stimulačný efekt poľa bol dlhší pri dlhšej expozícii a bol zachovaný po celý čas počas expozície. V súvislosti s rýchlejšou stimuláciou rastu bol zaznamenaný aj pravdepodobný rýchlejší prechod rastovými fázami, čo bolo dokumentované skorším úbytkom pučiacich buniek a postupným nástupom stacionárnej fázy rastu u exponovaných kvasinkových buniek.

Poďakovanie

Práca bola financovaná pomocou Slovenskej grantovej agentúry (projekt č. VEGA 1/0018/22) a Univerzite sv. Cyrila a Metoda v Trnave (projekt č. FPPV-32-2023). Rada by som poďakovala aj svojej konzultantke Ing. Alene Luptákovej, PhD., A Tímu Z Leteckej Fakulty Technickej univerzity v Košiciach: doc. Miroslav Šmelko, Doc. Pavol Lipovský a prof. Milan Oravec.

Použitá literatúra

[1] KASEMAN, D.C., MALONE, M.W., TONDREAU, A., et al., 2021. Quantitation of Nuclear Magnetic Resonance Spectra at Earth's Magnetic Field. Analytical Chemistry. 93(46), pp.15349-15357.

[2] SALIEV, T., BEGIMBETOVA, D., MASOUD, A.R., et al., 2019. Biological effects of non-ionizing electromagnetic fields: Two sides of a coin. Progress in biophysics and molecular biology, 141, pp.25-36.

[3] AGARWAL, A., DESAI, N.R., MAKKER, K., et al., 2009. Effects of radiofrequency electromagnetic waves (RF-EMW) from cellular phones on human

ejaculated semen: an in vitro pilot study. Fertility and Sterility 92, 1318e1325.

[4] HAGRAS, A.M., TORAIH, E.A. and FAWZY, M.S., 2016. Mobile phones electromagnetic radiation and NAD+-dependent isocitrate dehydrogenase as a mitochondrial marker in asthenozoospermia. Biochimie open, 3, pp.19-25.

[5] SCHUERMANN, D., ZIEMANN, C., BAREKATI, Z., et al., 2020. Assessment of Genotoxicity in Human Cells Exposed to Modulated Electromagnetic Fields of Wireless Communication Devices. Genes, 11(4), p.347.

[6] RUIZ-GÓMEZ, M.J., SENDRA-PORTERO, F. and MARTÍNEZ-MORILLO, M., 2010. Effect of 2.45 mT sinusoidal 50 Hz magnetic field on Saccharomyces cerevisiae strains deficient in DNA strand breaks repair. International journal of radiation biology, 86(7), pp.602-611.

[7] KTHIRI A., HIDOURI S., WIEM T., et al., 2019. Biochemical and biomolecular effects induced by a static magnetic field in Saccharomyces cerevisiae: Evidence for oxidative stress. In PLOS One. 2019, s. 1-12.

[8] BONAN, C.I.D.G., BIAZI, L.E., DIONÍSIO, S.R. et al. Redox potential as a key parameter for monitoring and optimization of xylose fermentation with yeast Spathaspora passalidarum under limited-oxygen conditions. Bioprocess Biosyst Eng 43, 1509–1519 (2020).

[9] DE ANDRADE C.M., COGO A.J.D., PEREZ V.H., et al. 2021. Increases of bioethanol productivity by S. cerevisiae in unconventional bioreactor under ELF-magnetic field: New advances in the biophysical mechanism elucidation on yeasts. In Renewable Energy. 2021, vol. 169, s. 836-842.

[10] IWASAKA, M., IKEHATA, M., MIYAKOSHI, J., et al., 2004. Strong static magnetic field effects on yeast proliferation and distribution. Bioelectrochemistry, 65(1), pp.59-68

[11] KLADKO, D.V., ZAKHARZHEVSKII, M.A. and VINOGRADOV, V.V., 2020. Magnetic field-mediated control of whole-cell biocatalysis. The Journal of Physical Chemistry Letters, 11(21), pp.8989-8996.

[12] CANLI, O., and KURBANOGLU, E. B., 2012. Application of low magnetic field on inulinase production by Geotrichum candidum under solid state fermentation using leek as substrate. Toxicology and Industrial Health, 28(10), 894900.

[13] IVANCSITS S, DIEM E, JAHN O, and RUDIGER HW. 2003. Intermittent extremely low frequency electromagnetic fields cause DNA damage in a dose-dependent way.

[14] MARKKANEN, A., JUUTILAINEN, J., LANG, S., et al., 2001. Effects of 50 Hz magnetic field on cell cycle kinetics and the colony forming ability of budding yeast exposed to ultraviolet radiation. Bioelectromagnetics: Journal of the Bioelectromagnetics Society, The Society for Physical Regulation in Biology and Medicine, The European Bioelectromagnetics Association, 22(5), pp.345-350.

[15] NOVÁK J., LUDĚK STRAŠÁK, L, FOJT, F., et al., 2007. Effects of low-frequency magnetic fields on the viability of yeast Saccharomyces cerevisiae. , 70(1), 115–121.

Participácia občianskej verejnosti pri plánovaní sídelného rozvoja a zlepšovaní životného prostredia v slovenských mestách

Citizen participation in the planning of urban development and improving the environment in Slovak cities

Peter Moravík[1]
Školiteľ: Peter Mederly[2]
[1,2] Katedra ekológie a environmentalistiky, FPVaI UKF, Tr. A. Hlinku 1, 949 01 Nitra,
[1] peter.moravik@ukf.sk, [2] pmederly@ukf.sk

Abstrakt
Cieľom príspevku, ktorý predstavuje počiatočnú fázu širšieho výskumu, je priniesť hodnotenie súčasného stavu participácie občanov pri plánovaní sídelného rozvoja a zlepšovaní životného prostredia v mestách Slovenskej republiky. Aktívna účasť širokej verejnosti na správe vecí verejných predstavuje celosvetovo populárnu tému, avšak v podmienkach Slovenskej republiky sa s ňou stretávame len v posledných troch dekádach. Na základe výskumu úrovne a celkovej miery zapájania občianskej verejnosti v predmetných procesoch v 69 mestách môžeme participáciu v slovenských podmienkach považovať za prevažne formálnu. Nepriaznivá situácia prevláda najmä v menších mestách, kde je zapájanie verejnosti obmedzené na ich informovanie a následný zber pripomienok. Participácia občanov je výrazne lepšia v mestách s vyšším počtom obyvateľov.
Kľúčové slová: participácia, participatívne plánovanie, občianska verejnosť, sídelný rozvoj, mestské prostredie

Abstract
The goal of this paper, which represents the initial phase of a broader research project, is to provide an assessment of the current state of citizen participation in urban development planning and environmental improvement processes in the cities of the Slovak Republic. Although active citizen participation in the administration of public affairs is popular worldwide, it has only emerged in the Slovak context in the last three decades. Based on our research on the level and overall rate of citizen involvement in these processes in 69 cities, we conclude that citizen participation in Slovak conditions is predominantly formal. The unfavourable situation prevails especially in smaller cities, where citizen involvement is mostly limited to being informed and collecting their subsequent comments. However, citizen participation is significantly better in cities with a higher number of inhabitants.
Key Words: citizen participation, participatory planning, urban development, urban environment

Úvod

Participácia verejnosti na miestnej verejnej správe je v súčasnom politickom myslení celosvetovo aktuálna, pričom priama participácia občanov na vládnutí je považovaná za jeden zo základných kameňov demokratického zriadenia [1], [2].

Územné plánovanie predstavuje nástroj, ktorého cieľom je okrem iného aj zabezpečenie dobrého stavu životného prostredia, živých aj neživých zložiek prírody, a to nielen pre súčasné, ale aj pre budúce generácie. Tento zmysel územného plánovania si však v praxi občas neuvedomujú samotné orgány územného plánovania alebo dokonca ani dotknutá verejnosť [3]. Účasť verejnosti zastáva dôležitú úlohu najmä v plánovacích procesoch, keďže práve v nich sa utvárajú východiská pre zdieľanie a aktívnu podporu smerovania udržateľného rozvoja územných celkov zo strany verejnosti. Preto zásadným posunom v metodike plánovania rozvoja musí byť posun od direktívneho k participatívnemu plánovaniu [4].

Cieľom tohto príspevku je priniesť teoretický prehľad a následné hodnotenie súčasného stavu participácie občanov pri plánovaní sídelného rozvoja a zlepšovaní životného prostredia v slovenských mestách. Predkladaný príspevok predstavuje súčasť širšieho výskumu, ktorého zámerom je do procesu územného a priestorového plánovania lepšie začleniť a zohľadniť hodnoty prírodného kapitálu, kvality života ale aj názory a potreby miestneho obyvateľstva. Výsledky predkladaného hodnotenia budú predstavovať jeden z podkladov potrebných pre dosiahnutie vyššie spomínaného zámeru.

1 Prehľad problematiky

Význam občianskej participácie neustále narastá v dôsledku komplexného urbanizmu a rastúcej populácie [5]. Participáciu predstavujú v podstate všetky aktivity, ktoré sprostredkúvajú účasť verejnosti na tvorbe dokumentov, návrhov a finálnych foriem rozhodnutí určujúcich formu a charakter územia a aktivít, ktoré sa v ňom uskutočňujú [6].

Aktívnou participáciou si občania sídelné prostredie utvárajú podľa svojich potrieb. Taktiež počas tohto procesu môžu sami podstupovať zmeny, nakoľko aktívne participujúci občania strácajú ľahostajnosť voči svojmu okoliu a začínajú preberať priamu zodpovednosť za dianie vo svojom sídle [7]. Občianska participácia teda v sídelných podmienkach predstavuje proces, pri ktorom sa laická verejnosť aktívne zúčastňuje plánovacích a rozhodovacích procesov, ktoré sa týkajú ich každodenného života [8]. Občania svojou účasťou v týchto procesoch môžu prispieť k zvýšeniu odolnosti mestského prostredia, ktoré je v súčasnosti vystavené pôsobeniu rôznych stresových faktorov. Participácia tak predstavuje základnú podmienku udržateľného rozvoja miest [6].

1.1 Participatívne plánovanie

Pod pojmom „participatívne plánovanie“ chápeme predovšetkým konkrétnu účasť občanov a skupín verejnosti na rozhodovaní v oblasti priestorového plánovania. Určené je priamo i nepriamo k tomu, aby sa rozhodovacie procesy stávali transparentnejšími a efektívnejšími [9]. Ide o proces obojsmernej komunikácie a interakcie, ktorého zámerom je dosiahnutie kvalitnejších rozhodnutí podporovaných dotknutou verejnosťou [10]. Bežne je využívané v plánoch mestského rozvoja za účelom začlenenia znalostí a zdrojov miestneho obyvateľstva do procesu plánovania [11]. Predstavuje priamu implementáciu predstáv, hodnotových preferencií, želaní a postojov obyvateľov do praktickej roviny správy a riadenia mesta [12].

Vo svojej podstate sa participatívne plánovanie usiluje o dosiahnutie konsenzu medzi všetkými účastníkmi procesu, čím vytvára prostriedok na vysporiadanie konfliktov spôsobených potenciálne protichodnými záujmami, ale aj pre riešenie mocenských rozdielov medzi rôznymi skupinami [11]. Participácia môže predstavovať proces permanentného skvalitňovanie sídelných podmienok obyvateľov, a má význam pri formovaní sídelnej identity a spolupatričnosti v lokálnej komunite [7]. Ak je participácia iniciovaná zo strany samosprávy, tak hovoríme o prístupe zhora nadol (tzv. top-down), v prípade ak je iniciovaná zo strany verejnosti, tak ide o prístup zdola nahor (tzv. bottom-up) [13].

Účasť verejnosti však nekončí len v zapojení sa do plánovacieho procesu, ale môže pokračovať aj pri navrhovaní nových riešení alebo spoločnej realizácii daných návrhov [14].

1.2 Participatívne rozpočtovanie

Okrem participatívneho plánovania sa môžeme stretnúť aj s pojmom participatívne rozpočtovanie. Ten predstavuje jeden z najobľúbenejších a najefektívnejších demokratických nástrojov participácie občanov na správe vecí verejných, ktorý im umožňuje priame zapojenie sa do verejného rozhodovania [15].

Participatívne rozpočtovanie predstavuje nástroj vzájomnej spolupráce medzi predstaviteľmi samosprávy a miestnej verejnosti [16]. Spravidla sa zameriava na dva ciele, kde prvým z nich je posilnenie postavenia občanov a celkové zvýšenie ich zapojenia na správe vecí verejných. V druhom rade ide o iný spôsob prerozdeľovania verejných financií, ktorý by mal viesť k zvýšeniu kvality života miestnych obyvateľov [17]. Využitím prostriedkov vyčlenených z vlastného rozpočtu môžu samosprávy zapájať miestnych občanov do spoluvytvárania mesta. Princíp participácie v tomto procese spočíva v tom, že občania samospráve predkladajú vlastné návrhy, ktoré reprezentujú ich potreby v danom území. Tieto návrhy sú spravidla zamerané na revitalizáciu verejných priestranstiev alebo na konanie komunitných podujatí. Zapojení občania zohrávajú kľúčové postavenie v celom participatívnom procese, a to pri predkladaní návrhov a príprave projektov, pri rozhodovaní o projektoch, ale aj pri realizácii víťazných projektov [18].

Participatívne rozpočty predstavujú programy, ktoré vytvárajú príležitosti na zapojenie, vzdelávanie, a posilnenie postavenia občanov. Taktiež napomáhajú pri podpore transparentnosti samosprávy, čo môže potenciálne znížiť prípadnú korupciu [19].

Veľmi dôležitým faktorom je nastavenie samotného participatívneho rozpočtu, ktorému by mal predchádzať spoločný dialóg všetkých zainteresovaných skupín. Pri jeho nevhodnom nastavení vzniká riziko sklamania, ale aj premrhania vyčlenených financií [18].

1.3 Prínosy a riziká participácie

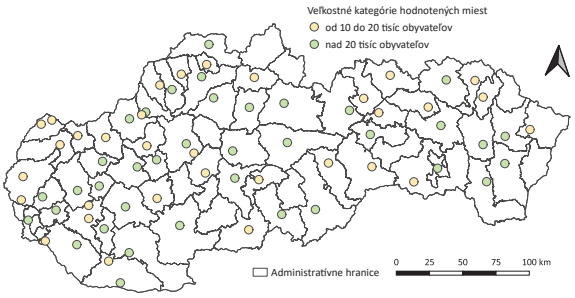
Správna implementácia občianskej participácie môže viesť v mestských podmienkach k úspešnejšiemu

nastaveniu sídelného rozvoja a priestorového plánovania [5]. Participácia umožňuje samospráve vyplniť medzery vo vedomostiach, a taktiež vytvára príležitosti pre obyvateľov, aby sa vyjadrili a ovplyvnili rozhodovací proces vo vhodnom čase a vo vhodných kontextoch [8]. Nadviazanie dialógu s rôznymi skupinami verejnosti umožní samospráve pochopiť ako občania vnímajú súčasný stav, ale aj dozvedieť sa o ich obavách z budúceho vývoja [6]. Zohľadnenie týchto skutočností následne v očiach občanov zvyšuje legitimitu takto spoločne vykonaných rozhodnutí a celkové spravovanie obce je považované za demokratickejšie [20].

V procese zapájania verejnosti do plánovania a rozhodovania sa môžeme stretnúť aj s viacerými rizikami. Medzi občanmi môže existovať nedôvera a predsudky smerom k predstaviteľom samosprávy. Problematickými môžu byť aj nereálne očakávania časti verejnosti alebo ich netrpezlivosť, nakoľko sa benefity niektorých rozhodnutí môžu preukázať až po rokoch [12]. Takýto spôsob správy vecí verejných je pomerne časovo zdĺhavý. Jeho náročnosť však spočíva aj v kapacitách, ktoré samospráva potrebuje zabezpečiť na jeho facilitáciu, čo sa nevyhnutne prejaví aj v navýšení potrebných finančných prostriedkov [20].

2 Metodika riešenia

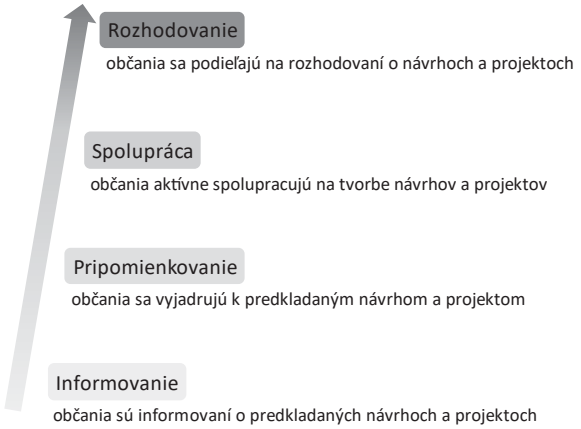
V rámci vlastného výskumu sme sa zamerali na hodnotenie súčasnej situácie v oblasti využívania participatívnych procesov a nástrojov pri smerovaní a plánovaní sídelného rozvoja v slovenských mestách.



Obr. 1 Lokalizácia hodnotených miest
Zdroj: autor

Na území Slovenskej republiky sa v súčasnosti nachádza 141 sídiel so štatútom mesta. Rozhodli sme sa hodnotiť tie z nich, ktoré mali podľa výsledkov Sčítania obyvateľov, domov a bytov v roku 2021 viac ako 10 000 obyvateľov [21]. Túto podmienku spĺňalo spolu 69 miest, ktoré sme následne rozdelili na dve veľkostné kategórie. Prvú skupinu s počtom obyvateľov v rozmedzí od 10 do 20 tisíc tvorí 32 miest. V druhej skupine s počtom obyvateľov nad 20 000 sa nachádza zvyšných 37 slovenských miest (Obr. 1).

Pred hodnotením súčasnej situácie v slovenských mestách sme potrebovali stanoviť mieru participácie občanov v procesoch sídelného rozvoja a priestorového plánovania. Štandardným prístupom, ktorý umožňuje odlíšiť rôznu mieru zdieľania moci medzi verejnou správou a občanmi, je takzvaný participačný rebríček [6]. Príklady participačných rebríčkov uvádzajú viacerí autori [2], [6], [22]. Pri našom hodnotení sme sa rozhodli využiť mierne upravenú verziu uvádzaných príkladov, ktorá pozostáva zo štyroch úrovní (Obr. 2).



Obr. 2 Použitá schéma úrovní občianskej participácie
Zdroj: autor

Informovanie verejnosti je spravidla uvádzané ako najnižší stupeň participácie. Tento krok je typický jednosmerným komunikačným tokom, kde orgány verejnej správy sprostredkúvajú informácie smerom k občanom. Jeho účelom je umožniť verejnosti sa včas oboznámiť s daným problémom a možnosťami jeho riešenia. Úspešná participácia si vyžaduje dobre informovaných občanov, ktorí rozumejú predmetnej téme a aj dôvodom svojho zapojenia sa. Ide o nevyhnutný predpoklad pre dosiahnutie akejkoľvek vyššej úrovne participácie [2], [6], [22].

Druhou úrovňou zapájania verejnosti do procesu je **pripomienkovanie**. V tomto kroku sa verejnosť spravidla vyjadruje k už hotovej politike, štúdii či projektu. Verejnosť sa zapája len prostredníctvom poskytnutia svojich pripomienok, ktoré musí samospráva spracovať, posúdiť, a následne buď akceptovať alebo odmietnuť. Občania na tejto úrovni nemajú možnosť výrazným spôsobom ovplyvniť znenie výsledných návrhov. Hlavným cieľom orgánov

samosprávy je v tomto kroku skôr naplnenie formálnej požiadavky o minimálnu mieru účasti verejnosti na rozhodovaní o veciach verejných [2], [22]. Vhodnými metódami sú aj názorové prieskumy alebo ankety [23].

Spolupráca predstavuje hlbšiu úroveň participácie občanov, ktorá je výrazne náročnejšia z hľadiska času, kapacít a financií. Kým v predošlých formách dochádzalo iba k jednoduchému vymieňaniu informácií, v tomto spôsobe už hovoríme o priamej spolupráci s verejnosťou ako s rovnocenným partnerom plánovacieho procesu. Na rozdiel od pripomienkovania sa občania nevyjadrujú k hotovým návrhom/projektom, ale zapájajú sa do ich tvorby od začiatku. Vďaka tomu môžu priamo ovplyvniť to, čo sa nakoniec predloží na rozhodnutie [2], [22].

Rozhodovanie predstavuje najvyššiu úroveň občianskej participácie, pri ktorej dochádza k preneseniu rozhodovacej právomoci alebo jej časti zo strany samosprávy na jej občanov. Ako častým príkladom tejto miery je uvádzané miestne referendum, ktoré je však v našich podmienkach pomerne vzácne. Omnoho častejšie sa môžeme stretnúť s procesom participatívneho rozpočtovania, v ktorom samospráva vyčlení prostriedky, ktorými podporí projekty navrhnuté občanmi. Tí si o nich aj sami hlasujú, čím priamo rozhodujú o využití časti financií z mestského rozpočtu [2], [22].

Po zvolení škály participácie občanov sme prešli k **procesu hodnotenia vybraných miest**. Pri hodnotení sme vyhľadávali a študovali všetky verejne dostupné informačné zdroje jednotlivých miest, v ktorých sme sledovali informácie o zapojení občanov na ich sídelnom rozvoji a priestorovom plánovaní. Medzi využité informačné zdroje patrili najmä:

- webové stránky miest (sekcie participácie, aktuality a články)
- strategické dokumenty (napr. PHSR)
- územnoplánovacia dokumentácia, jej zmeny a doplnky
- rozpočty a záverečné účty
- výročné správy
- dokumenty tretích strán (O.Z., MVO).

Po oboznámení sa so všetkými dostupnými informáciami sme prešli k stanovovaniu úrovní participácie občanov daných miest na ich sídelnom rozvoji a priestorovom plánovaní. Úrovne sme určovali podľa výskytu participatívnych aktivít a procesov uskutočnených v jednotlivých mestách.

Na základe výsledkov stanovenia miery participácie občanov sme hodnotené mestá klasifikovali do troch skupín. Vymedzili sme skupiny miest, ktoré svojim občanom poskytovali:

- Formálnu mieru participácie (1),
- Vyššiu mieru participácie (2),
- Plnú mieru participácie (3).

Do prvej skupiny sme zaradili mestá, ktoré svojim občanom poskytovali iba úrovne informovania a pripomienkovania. Do druhej z uvádzaných skupín sme umiestnili samosprávy, ktoré okrem informovania a pripomienkovania poskytovali občanom ešte aspoň jednu z vyšších úrovní participácie. Poslednú skupinu tvoria samosprávy poskytujúce svojim občanom všetky zo sledovaných úrovní participácie.

3 Výsledky hodnotenia

Z výsledkov hodnotenia participácie občianskej verejnosti pri plánovaní sídelného rozvoja a životného prostredia môžeme uviesť, že úroveň participácie **Informovanie** bola dosiahnutá pri všetkých hodnotených mestách (Tab. 1 a 2). Jednotlivé mestá informovali svojich občanov prostredníctvom webovej stránky a iných kanálov o relevantných skutočnostiach týkajúcich sa sídelného rozvoja a priestorového plánovania. Samozrejme rozsah a charakter poskytovaných informácií závisel aj od výskytu vyšších úrovní participácie občanov v daných mestách.

Úroveň participácie občanov **Pripomienkovanie** bola taktiež dosiahnutá pri všetkých hodnotených mestách. Samosprávy umožňovali občanom vyjadriť svoje pripomienky a názory na navrhované strategické a územnoplánovacie dokumenty, a o tejto možnosti ich taktiež vopred oboznámili prostredníctvom rôznych informačných kanálov. Avšak otáznym zostáva miera zohľadnenia, resp. zapracovania pripomienok od občanov do finálnych schválených dokumentov a stratégií.

Spoluprácu sme určili iba pri 22 sledovaných mestách, teda jej zastúpenie bolo na úrovni necelých 32 %. Na začiatku participatívnych procesov sa v týchto mestách občania spravidla zapájali do tvorby projektov vyplnením dotazníkových prieskumov. Tými samospráva získavala informácie o verejnej mienke a ich výsledky slúžili na lepšie nastavenie participatívneho procesu ale aj nasmerovanie celého projektu.

Po dotazníkoch spravidla nasledovali stretnutia zástupcov samosprávy s verejnosťou, kde sa ďalej preberala daná problematika. V týchto procesoch sa vyskytovali aj ďalšie metódy ako napr. prechádzky v dotknutých lokalitách, vytvorenie pracovných alebo fókusových skupín s obyvateľmi, okrúhle stoly alebo

plánovacie stretnutia. Na spoločných stretnutiach si vzájomne vymieňali si informácie a nápady, alebo sa snažili navrhnúť najlepšie riešenia pre konkrétne problémy. Výsledky stretnutí s občanmi boli samosprávou často využívané ako podklady pre spracovateľov projektov/dokumentov.

Tab. 1 Dosiahnuté úrovne a celková miera participácie verejnosti v mestách nad 20 tisíc obyvateľov.

Údaje o mestách			Úroveň participácie				
ID	MESTO	Obyvatelia 2021	Informovanie	Pripomienkovanie	Spolupráca	Rozhodovanie	Celková miera
1	Bratislava	475503	x	x	x	x	3
2	Košice	229040	x	x	x	x	3
3	Prešov	84824	x	x			1
4	Žilina	82656	x	x	x		2
5	Nitra	78489	x	x	x		2
6	Banská Bystrica	76018	x	x	x	x	3
7	Trnava	63803	x	x	x	x	3
8	Trenčín	54740	x	x	x		2
9	Martin	52520	x	x			1
10	Poprad	49855	x	x			1
11	Prievidza	45017	x	x	x	x	3
12	Zvolen	40637	x	x	x		2
13	Považská Bystrica	38641	x	x	x	x	3
14	Nové Zámky	37791	x	x	x	x	3
15	Michalovce	36704	x	x			1
16	Spišská Nová Ves	35431	x	x			1
17	Komárno	32967	x	x			1
18	Levice	31974	x	x	x	x	3
19	Humenné	31359	x	x		x	2
20	Bardejov	30840	x	x			1
21	Liptovský Mikuláš	30522	x	x		x	2
22	Piešťany	27681	x	x	x	x	3
23	Ružomberok	27407	x	x			1
24	Lučenec	25902	x	x	x	x	3
25	Topoľčany	25249	x	x	x	x	3
26	Pezinok	24900	x	x		x	2
27	Čadca	23328	x	x			1
28	Trebišov	23213	x	x	x	x	3
29	Dunajská Streda	23044	x	x			1
30	Dubnica nad Váhom	22595	x	x	x	x	3
31	Rimavská Sobota	22048	x	x		x	2
32	Partizánske	21439	x	x		x	2
33	Vranov nad Topľou	21248	x	x		x	2
34	Šaľa	21183	x	x	x		2
35	Hlohovec	20556	x	x	x	x	3
36	Senec	20116	x	x			1
37	Brezno	20061	x	x			1

Zdroj: autor, [21]

Tab. 2 Dosiahnuté úrovne a celková miera participácie verejnosti v mestách od 10 do 20 tisíc obyvateľov.

Údaje o mestách			Úroveň participácie				
ID	MESTO	Obyvatelia 2021	Informovanie	Pripomienkovanie	Spolupráca	Rozhodovanie	Celková miera
38	Senica	19875	x	x			1
39	Nové Mesto n. Váhom	19644	x	x		x	2
40	Malacky	18935	x	x			1
41	Snina	18712	x	x	x	x	3
42	Dolný Kubín	18095	x	x			1
43	Žiar nad Hronom	17578	x	x			1
44	Rožňava	17569	x	x	x	x	3
45	Púchov	17472	x	x			1
46	Bánovce nad Bebravou	17311	x	x			1
47	Handlová	16199	x	x			1
48	Stará Ľubovňa	15938	x	x			1
49	Sereď	15737	x	x			1
50	Skalica	15573	x	x			1
51	Kežmarok	15552	x	x			1
52	Galanta	15052	x	x			1
53	Kysucké Nové Mesto	14660	x	x			1
54	Levoča	14256	x	x			1
55	Detva	13955	x	x			1
56	Šamorín	13628	x	x		x	2
57	Stupava	12595	x	x	x		2
58	Sabinov	12349	x	x			1
59	Zlaté Moravce	11946	x	x			1
60	Revúca	11484	x	x			1
61	Bytča	11414	x	x			1
62	Holíč	11214	x	x			1
63	Veľký Krtíš	11028	x	x			1
64	Myjava	10985	x	x			1
65	Nová Dubnica	10884	x	x			1
66	Kolárovo	10572	x	x			1
67	Moldava nad Bodvou	10305	x	x			1
68	Svidník	10168	x	x		x	2
69	Stropkov	10067	x	x			1

Zdroj: autor, [21]

Podobná situácia je aj pri úrovni **Rozhodovanie**, ktorú sme vyhodnotili v 25 prípadoch, teda pri 36 % všetkých miest. Spravidla sa jedná o samosprávy, ktoré majú zavedený participatívny rozpočet. V dvoch najväčších slovenských mestách sa s participatívnym rozpočtom stretávame iba v niektorých ich mestských častiach. V Bratislave sú to napríklad Karlova Ves, Lamač, Vajnory, či Rača. V Košiciach sa jedná o mestské časti Západ, Dargovských Hrdinov alebo Nad Jazerom. V ojedinelých prípadoch sa môžeme stretnúť aj s inou formou aspoň čiastočného rozhodovania, ako napr. v

Banskej Bystrici, kde je pri hodnotení niektorých architektonických súťaži členom poroty aj zástupca verejnosti.

Záverom hodnotenia môžeme skonštatovať, že dva najnižšie stupne občianskej participácie boli dosiahnuté v každom z hodnotených miest. To by však nemalo byť prekvapivé, nakoľko sa pre samosprávy v oboch prípadoch jedná o zákonom stanovenú povinnosť. Tieto úrovne sú zväčša využívané pri tvorbe územnoplánovacej dokumentácie a Programoch hospodárskeho a sociálneho rozvoja, prípadne pri informovaní o stave životného prostredia.

Tab. 3 Zastúpenie úrovní občianskej participácie celkovo a podľa veľkostných kategórií miest

	Mestá celkovo (n=69)		**Mestá nad 20 tisíc obyv.** (n=37)		**Mestá od 10 do 20 tisíc obyv.** (n=32)	
Úroveň participácie	počet	% z n	počet	% z n	počet	% z n
Informovanie	69	100	37	100	32	100
Pripomienkovanie	69	100	37	100	32	100
Spolupráca	22	31,88	19	51,35	3	9,38
Rozhodovanie	25	36,23	20	54,05	5	15,63

Zdroj: autor

Zaujímavosťou je nepomer výskytu úrovne *Spolupráca* na základe početnosti obyvateľstva miest. Pri mestách nad 20 tisíc obyvateľov sme ju vyhodnotili pri 19 z 37 (51,35 %) miest v danej kategórii. V kategórii miest s 10 až 20 tisíc obyvateľmi sme spoluprácu určili len v 3 mestách (Tab. 3).

Obdobnú situáciu sme zistili aj pri úrovni participácie *Rozhodovanie*. Pri mestách nad 20 tisíc obyvateľov sme ho vyhodnotili pri 20 z 37 (54,05 %) miest. V kategórii miest s 10 až 20 tisíc obyvateľmi sme rozhodovanie určili len v 5 mestách.

Z výsledkov teda môžeme usúdiť, že s rastúcim počtom obyvateľov miest rastie aj využívanie vyšších úrovní zapájania občanov do diania v meste.

Tab. 4 Vyhodnotenie celkovej miery participácie

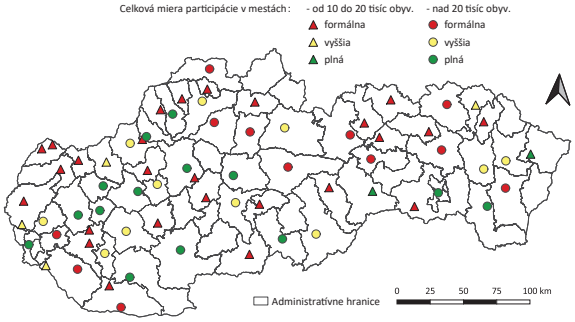
	Mestá celkovo		**Mestá nad 20 tisíc obyvateľov**		**Mestá od 10 do 20 tisíc obyvateľov**	
Miera participácie	počet	%	počet	%	počet	%
Formálna	38	55,07	12	32,43	26	81,25
Vyššia	15	21,74	11	29,73	4	12,5
Plná	16	23,19	14	37,84	2	6,25
Spolu	69	100,00	37	100,00	32	100,00

Zdroj: autor

Z hľadiska prerozdelenia miest do skupín na základe ich celkovej miery poskytovanej participácie je potrebné uviesť, že pri 38 (55%) zo všetkých 69 miest boli *Informovanie* a *Pripomienkovanie* najvyššími dosiahnutými úrovňami. Na základe toho môžeme pri daných mestách hovoriť iba o **formálnej miere participácie verejnosti** (Tab. 4).

Výrazný rozdiel si môžeme opäť všimnúť pri pohľade na veľkostné kategórie miest. V kategórii nad 20 tisíc obyvateľov je situácia o čosi priaznivejšia, nakoľko formálnu participáciu poskytuje iba 12 z 37 miest (32,43 %). Pri mestách s počtom obyvateľov od 10 do 20 tisíc je táto miera poskytovaná až 26 z 32 miest (81,25 %).

Vyššiu mieru participácie poskytuje 21,74 % všetkých miest. Pri kategórii miest s vyšším počtom obyvateľov ju poskytuje 29,73 %, a pri tých menších len 12,5 % samospráv (Obr. 3).



Obr. 3 Lokalizácia veľkostných skupín hodnotených miest podľa celkovej miery participácie
Zdroj: autor

Plná miera participácie je poskytovaná 23,19 % všetkých hodnotených miest, pri väčšej veľkostnej kategórií až 37,84 % miest. V rámci menšej veľkostnej kategórie ju poskytuje iba 6,25 % samospráv.

Diskusia a záver

Ako u jednej z postsocialistických krajín sa aj na Slovensku pomerne dlhú dobu prejavoval tzv. participačný deficit, ktorý je typický nižšou mierou aktívneho zapájania verejnosti vo veciach verejných [24]. Nezainteresovanosť verejnosti bola spôsobená najmä negatívnymi skúsenosťami z minulosti a nezáujmom samospráv o partnerský vzťah s občanmi [12].

Slovenská republika prešla v priebehu posledných troch dekád niekoľkými reformnými obdobiami, ktoré postupne vytvorili podmienky umožňujúce rozvoj a posilnenie participácie na úrovni verejnej správy [25].

V posledných rokoch sa na Slovensku realizuje niekoľko projektov zameraných na podporu participácie občanov na správe vecí verejných. V rámci

Národného projektu bola vypracovaná aj analýza pod názvom „Spôsoby a miera participácie verejnosti na tvorbe verejných politík“. Podľa nej sú niektorými z oblastí, v ktorých sú občania najmenej pozývaní participovať, práve územné plánovanie a plánovanie rozpočtu. Pomerne nízka miera využívania participácie môže podľa autoriek poukazovať na tú skutočnosť, že orgány verejnej správy si v týchto oblastiach s obľubou ponechávajú autoritu v rozhodovaní. Ako ďalšiu príčinu uvádzajú, že predstavitelia týchto orgánov sú presvedčení o tom, že táto problematika verejnosť nezaujíma a nie je kompetentná o nej rozhodovať [26].

Uvedené skutočnosti môžu čiastočne vysvetľovať výsledky nášho hodnotenia, podľa ktorých samosprávy spolupracujú s občanmi v oblasti priestorového plánovania len v 32 % hodnotených miest. Rovnako je tomu aj v oblasti čiastočného rozhodovania, zastúpeného v 36 % miest, tvoreného najmä participatívnym rozpočtovaním.

Participácia ako celok na Slovensku je teda v lepšom prípade konzultatívna a zriedka má povahu spolurozhodovania alebo priameho vplyvu na rozhodnutie. Tento výsledok môže naznačovať aj negatívnu skúsenosť respondentov s participáciou a ich presvedčenie o tom, že sa neoplatí investovať do nej úsilie, keďže nevedie k reálnym výsledkom [26].

Zaujímavé sú aj zistenia analýzy zapojenia zainteresovaných skupín do tvorby ***Programov hospodárskeho a sociálneho rozvoja*** slovenských samospráv. Aj napriek tomu, že samosprávy deklarovali pomerne značnú mieru zapojenia stakeholderov do procesu strategického plánovania, podľa [25] tieto dokumenty len naznačujú možnosti ich zapojenia. Na základe toho je možné, že reálna miera participácie zainteresovaných skupín môže byť v skutočnosti omnoho nižšia. Ďalej sa uvádza, že samosprávy obmedzujú participáciu verejnosti v strategickom plánovaní len na informačnú kampaň a verejné pripomienkovanie - táto skutočnosť môže byť zapríčinená obmedzenými možnosťami a kapacitami samospráv [25]. Tieto závery sa stotožňujú s našimi zisteniami, podľa ktorých je participácia verejnosti na ***Programoch hospodárskeho a sociálneho rozvoja*** obmedzená len na jej informovanie a pripomienkovanie. Zistenia môžu taktiež vysvetľovať minimálne zastúpenie vyšších dvoch úrovní participácie v mestách s menej ako 20 tisíc obyvateľmi, čo môže byť spôsobené nižšími možnosťami a kapacitami v porovnaní s mestami s vyšším počtom obyvateľov.

Témou, ktorá sa pomerne pravidelne objavuje v kontexte participatívnych procesov, je *životné prostredie*. Napr. v Nitre zbiera mestský úrad od občanov ich návrhy na výsadbu mestskej zelene. Problematika mestského životného prostredia sa často objavuje pri revitalizácii verejných priestranstiev a vnútroblokov (napr. Bratislava, Trnava, Hlohovec). Za zmienku stojí aj projekt revitalizácie sídlisk v Banskej Bystrici, ktorého cieľom je ich prispôsobenie na dopady klimatickej zmeny.

Práve mestské životné prostredie predstavuje vhodnú tému pre participatívne procesy. Názory a poznatky z každodenného života občanov môžu samospráve napomôcť pri riešení súčasných rastúcich problémov mestského prostredia.

Aj napriek viacerým nedostatkom konštatujeme, že v Slovenskej republike môžeme sledovať zlepšovanie situácie občianskej participácie v oblasti sídelného rozvoja a plánovania. Správne nastavená participácia vedie k vyššej identifikácii občanov s ich okolím, čo môže vyústiť k ich zvýšenému úsiliu o kvalitnejšie mestské životné prostredie [24].

V ďalšom výskume by bolo vhodné sa venovať aj podrobnému vyhodnoteniu jednotlivých projektov, na ktorých sa zúčastňuje verejnosť.

Predkladaný príspevok predstavuje počiatočnú fázu širšieho výskumu, ktorého hlavným zámerom je lepšie začlenenie a zohľadnenie hodnôt prírodného kapitálu, kvality života ale aj názorov a potrieb miestneho obyvateľstva do procesov priestorového plánovania, v súlade s modernými požiadavkami spoločnosti [27]. Výsledky predkladaného príspevku predstavujú jeden z podkladov nevyhnutných pre dosiahnutie daného zámeru.

Použitá literatúra

[1] PIPER, Laurence - von LIERES, Bettina. 2008. Inviting Failure: Citizen Participation and Local Governance in South Africa. In Citizenship DRC Special Issue, vol. 1, no. 1.

[2] HAKEN, Roman a kol. 2016. Metodika participace aneb jak zapojit občany do rozhodování. Praha : Agora CE. 1. vydanie, 79 s. ISBN 978-80-906397-0-6.

[3] PAVLOVIČ, Jaroslav. 2011. Účasť občanov na územnom plánovaní. Banská Bystrica : VIA IURIS o. z., 35 s.

[4] JAMEČNÝ, Ľubomír - ONDREJIČKA, Vladimír. 2019. Príručka strategického plánovania. Bratislava : Úrad podpredsedu vlády SR pre investície a informatizáciu, 107 s.

[5] LE ROUX, Jan-Hendrik - CILLIERS, Elizelle Juaneé. 2013. The participatory planning paradigm shift:

Comparing disciplines and methods. In 49th ISOCARP Congress, Brisbane : ISOCARP. pp 1-12

[6] BRLÍK, Milan a kol. 2016. Manuál participace: Jak zapojit veřejnost do plánování města. Praha : Institut plánování a rozvoje hlavního města Prahy, 2016. 130 s.

[7] STRUSSOVÁ, Mária - PETRÍKOVÁ, Dagmar. 2009. Možnosti a predpoklady občianskej participácie v udržateľnom sídelnom rozvoji. In Sociológia, roč. 41, č. 4. Bratislava : Sociologický ústav SAV, s. 354 – 379. ISSN 1336-8613

[8] BERMAN, Tal. 2017. Public Participation as a Tool for Integrating Local Knowledge into Spatial Planning [online]. Springer International Publishing AG, 2017. 220 p. ISBN 978-3-319-48063-3

[9] FINKA, Maroš - PETRÍKOVÁ, Dagmar - TÓTH, Attila - ONDREJIČKA, Vladimír. 2014. Participatívne plánovanie. In SCHÖFFEL, Joachim - JAMEČNÝ, Ľubomír - ONDREJIČKOVÁ, Silvia. Participatívne plánovanie na úrovni samospráv (príručka pre samosprávy), Bratislava: ROAD/SPECTRA Centrum Excelencie STU, s. 39 - 61. ISBN 978-80-88999-48-5

[10] CREIGHTON, James. 2005. The public participation handbook : making better decisions through citizen involvement. John Wiley & Sons, Inc. 261 p. ISBN 0-7879-7307-6

[11] MCTAGUE, Colleen - JAKUBOWSKI, Susan. 2013. Marching to the beat of a silent drum: Wasted consensus-building and failed neighborhood participatory planning. In Applied Geography, Volume 44, p. 182 - 191, ISSN 0143-6228

[12] DOBRUCKÁ, Lucia a kol. 2007. Strategický rozvojový plán obce. Bratislava : PEEM. 1. vydanie, 280 s. ISBN 978-80-906397-1-3.

[13] HURNÝ, Juraj a kol. 2021. Ako porozumieť mestu a jeho ľuďom ? - Manuál. Bratislava : Metropolitný inštitút Bratislavy, 2021. I. vydanie, 301 s. ISBN 978-80-973834-4-2

[14] VÍTOVSKÁ, D. 2015. How to improve landscape and environment in Czech Republic with assistance of participatory planning. In Acta Horticulturae 1099, p. 977-983.

[15] GINDLOVÁ, Barbara - HRABINOVÁ, Alexandra - HALIENOVÁ, Dominika. 2019. Participatívny rozpočet a jeho uplatnenie v samospráve - príspevok v newsletteri [online]. Bratislava : ÚSV ROS, 2019. [cit. 27.2.2023] Dostupné z: odkaz

[16] RUSSON GILMAN, Hollie. 2016. Engaging Citizens: Participatory Budgeting and the Inclusive Governance Movement within the United States In Ash Center Occasional Papers, Saich, Tony (eds.) [online] Ash Center for Democratic Governance and Innovation, 32 p.

[17] MINÁRIK, Pavol. 2020. Participatory budgeting and traditional participation in Czech municipalities. In Slovak Journal of Political Sciences, Volume 20, No. 1, p. 29 - 47. ISSN 1335-9096.

[18] HRABINOVÁ, Alexandra. 2019. Nie je mesto ako mesto, Participatívny rozpočet v samospráve - príspevok v newsletteri [online]. Bratislava : ÚSV ROS, 2019. [cit. 28.2.2023]. Dostupné z: odkaz

[19] SHAH, Anwar. (Ed.) 2007. Participatory budgeting. The International Bank for Reconstruction and Development / The World Bank, 2007. 269 p. ISBN-10: 0-8213-6924-5

[20] ČERMÁK, Daniel. (ed.) 2009. Aplikace principů partnerství a participace v prostředí malých měst České republiky. Praha : Sociologický ústav AV ČR, 2009. 99 s. ISBN 978-80-7330-167-5.

[21] Sčítanie obyvateľov, domov a bytov 2021 [online]. Štatistický úrad Slovenskej republiky: 2021 [cit. 27.2.2023]. Dostupné z: https://www.scitanie.sk/

[22] PAULINIOVÁ, Z. 2019. Občianske mesto a efektívna participácia - Plánovanie so zapojením verejnosti. Banská Bystrica : Interaktívna škola urbanizmu a územného plánovania, n.o, 49 s. ISBN 978-80-570-1064.

[23] MIČKA, Pavel a kol. 2013. Manuál - Příloha k Metodice posílení analytických, koncepčních a implementačních kapacit strategického řízení v krajích. Praha : Centrum pro sociální a ekonomické strategie, FSV UK v Praze. 33 s.

[24] PRACHÁROVÁ, Veronika - HURNÝ, Juraj. 2019. Participáciou k Živému námestiu - Koncepcia a plán využívania Kamenného námestia a Námestia SNP v hlavnom meste Bratislava. Bratislava : ÚSV ROS, 2019, 31 s. ISBN: 978-80-89051-28-1.

[25] VITÁLIŠOVÁ, Katarína - MURRAY-SVIDROŇOVÁ, Mária - JAKUŠ-MUTHOVÁ, Nikoleta. 2021. Stakeholder participation in local governance as a key to local strategic development. In Cities, Vol. 118, ISSN 0264-2751.

[26] PLICHTOVÁ, Jana - ŠESTÁKOVÁ, Anna. 2019. Analýza dát I. - Spôsoby a miera participácie verejnosti na tvorbe verejných politík. Bratislava - ÚSV ROS, 86 s.

[27] VAŇO, Simeon - STAHL OLAFSSON, Anton - MEDERLY, Peter, 2021. Advancing urban green infrastructure through participatory integrated planning: A case from Slovakia. In: Urban Forestry and Urban Greening. - Elsevier, Volume 58, No. 126957. doi 10.1016/j.ufug.2020.126957.

Vplyv veľkosti kontextového okna na slovné vektory pri klasifikačných úlohách

Effect of context window size on word embeddings in classification tasks

Dávid Držík[1]
Školiteľ: Jozef Kapusta[2]
[1,2]Katedra informatiky, FPVaI UKF, Tr. A. Hlinku 1, 949 01 Nitra
[1] david.drzik@ukf.sk, [2] jkapusta@ukf.sk

Abstrakt

V spracovaní prirodzeného jazyka existuje niekoľko prístupov na transformáciu textu do podoby viacrozmerných slovných vektorov, ako napríklad TF-IDF (term frequency - inverse document frequency), Word2Vec a GloVe (Global Vectors), ktoré sú dnes široko používané. Význam slova v modeloch Word2Vec a GloVe je reprezentovaný jeho kontextom. Syntaktické alebo sémantické vzťahy medzi slovami sú zachované a vzdialenosti jednotlivých slov zodpovedajú ľudskej predstave o vzťahu medzi slovami. Je dôležité vedieť, ako nastaviť parameter veľkosť kontextového okna pre modely Word2Vec a GloVe, pretože nesprávne nastavenie tohto parametra môže viesť k nízkej kvalite slovných vektorov. V našom článku sme s nastavením tohto parametra experimentovali a naše výsledky ukazujú, že je potrebné zvoliť vhodnú veľkosť okna na základe použitého slovného modelu pri tvorbe slovných vektorov.

Kľúčové slová: klasifikácia spamu, spracovanie prirodzeného jazyka, slovné vektory, veľkosť kontextového okna

Abstract

There are several approaches in natural language processing to transform text into the form of multidimensional word vectors, such as TF-IDF (term frequency - inverse document frequency), Word2Vec and GloVe (Global Vectors), which are widely used today. The meaning of the word in Word2vec and Glove is represented by its context. The syntactic or semantic relations between words are preserved and the distances of individual words correspond to the human conception of the relation between words. It is important to know how to set the context window size parameter for Word2Vec and GloVe, because Incorrect adjustment of this parameter can lead to low quality word vectors. In our article, we have experimented with the settings of this parameter and our results show that it is necessary to choose the appropriate window size based on the word model used in the creation of word vectors.

Key Words: spam classification, natural language processing, word embeddings, context window size

Úvod

V dnešnej dobe sa už takmer v každej oblasti života používajú algoritmy umelej inteligencie. Väčšina týchto metód pracuje s dátami, ktoré sú v číselnej forme. To isté platí pre oblasť spracovania prirodzeného jazyka, ktorej hlavnou úlohou je porozumieť ľudskému jazyku tak, ako mu rozumejú ľudia. So slovami či vetami textu si algoritmy strojového učenia poradiť nevedia, preto existuje viacero prístupov, ako jednotlivé slová transformovať do číselnej podoby, najbežnejšie do podoby číselných vektorov. Na túto transformáciu sa používa niekoľko techník, od najtriviálnejších, akou je One-hot-encoding alebo štatistických akou je TF-IDF (term frequency - inverse document frequency) [1], až po metódy Word2Vec [2] a GloVe (Global Vectors) [3], ktoré sú dnes široko používané. Slovné vektory vytvorené týmito metódami nie sú nič iné ako vektory mapované do viacrozmerného priestoru pomocou reálnych čísel, ktoré predstavujú samotný význam slova [4]–[6].

Význam slova je v modeli Word2Vec reprezentovaný jeho kontextom, teda slovami, ktoré sú pred ním a za ním. Výsledkom takýchto modelov je teda jeden mnohonásobný vektor pre každé slovo. Syntaktické alebo sémantické vzťahy medzi slovami sú zachované a vektorové vzdialenosti jednotlivých slov zodpovedajú ľudskej predstave vzťahu medzi slovami [7], [8].

Je dôležité vedieť, ako nastaviť *veľkosť kontextového okna* pre modely Word2Vec a GloVe, pretože nesprávne nastavenie tohto parametra môže viesť k nižšej kvalite slovných vektorov.

V predkladanom článku experimentujeme s parametrom *veľkosť kontextového okna*. Naším cieľom je zistiť najvhodnejšiu hodnotu tohto parametra pre modely Word2Vec a GloVe.

Štruktúra článku je nasledovná. V prvej kapitole popisujeme súčasný stav skúmanej problematiky vplyvu *veľkosti kontextového okna* pri tvorbe slovných vektorov. V druhej kapitole uvádzame použité textové dátové súbory a ich predspracovanie, slovné modely Word2Vec a GloVe, klasifikačný model sekvenčnej neurónovej siete a metriky pre vyhodnotenie úspešnosti klasifikácie spamu. Najdôležitejšie výsledky práce sme zhodnotili v tretej kapitole.

1 Analýza súčasného stavu

Pomerne nedávno bol navrhnutý model na tvorbu slovných vektorov s názvom Word2Vec [7], [9]. Model Word2Vec je založený na tom, že samotný význam slova je reprezentovaný jeho kontextom, čiže slovami, ktoré sú pred a za ním. Vo výsledku sa týmto modelom vytvára jeden mnohonásobný vektor pre každé slovo. Syntaktické alebo sémantické vzťahy sú medzi slovami zachované a vzdialenosti vektorov jednotlivých slov zodpovedajú ľudskej predstave o vzťahu medzi slovami.

Autori Levy a Goldberg [10] vo svojej práci tvrdia, že parameter *veľkosť kontextového okna* je dôležitý a čím je táto hodnota väčšia, tým viac má model tendenciu zachytávať sémantickú informáciu a naopak, čím je parameter veľkosti okna menší, tým je vo vektoroch zachytená skôr syntaktická informácia.

Samotní tvorcovia modelu Word2Vec uvádzajú dve základné architektúry: CBOW (Continuous Bag-of-Words) a Skip-gram. Obe tieto architektúry pozostávajú z umelej neurónovej siete, ktorá obsahuje vstupnú vrstvu (kam vstupujú slová zakódované ako One-hot-encoding), jednu skrytú vrstvu (nazývanú aj vrstva vektorov) a výstupnú vrstvu. Po natrénovaní siete, v skutočnosti výsledkom nebude výstup z výstupnej vrstvy neurónovej siete, ale výsledkom budú váhy zo skrytej vrstvy. Tieto váhy budú predstavovať mnohonásobné vektory slov [5], [7], [8], [11], [12].

Rozdiel medzi týmito architektúrami je v tom, že v CBOW sa konkrétne slovo predpovedá na základe jeho kontextových slov. Vo všeobecnosti architektúra CBOW funguje o niečo lepšie ako Skip-gram pre veľmi frekventované slová. Na rozdiel od CBOW sa Skip-gram učí predpovedať kontextové slová z daného slova. Ak sú dve slová (jedno sa vyskytuje zriedkavo a druhé častejšie) umiestnené vedľa seba, bude sa s nimi zaobchádzať veľmi podobne. V opačnom prípade sa každé slovo bude považovať za cieľové aj kontextové slovo [5], [7]–[9].

Ďalším známym modelom, ktorý je podobný predchádzajúcemu modelu, je model GloVe (Global Vectors). Tento model tiež zachytáva syntaktické alebo sémantické vzťahy medzi slovami pri vytváraní slovných vektorov. Funguje však trochu odlišne ako Word2Vec, pretože model GloVe je založený na maticovej faktorizácii na matici slovného kontextu. Čiže, najprv sa vytvorí veľká matica, ktorá obsahuje informácie o spoločnom výskyte (slová x kontext), teda pre každé slovo sa spočíta, ako často sa dané slovo vyskytuje v nejakom kontexte v korpuse. Potom sa matica faktorizuje, aby sme získali maticu nižšej dimenzie [13]–[15].

Cieľom trénovania vektorov slov modelom GloVe je vytvoriť vektory slov takým spôsobom, aby sa skalárny súčin reprezentovaných slov rovnal logaritmu pravdepodobnosti ich spoločného výskytu. Vzhľadom na to, že logaritmus pomeru sa rovná rozdielu logaritmov, rozdiely ich vektorovej reprezentácie sú spojené s pomermi pravdepodobnosti ich spoločného výskytu. Výsledné slovné vektory teda fungujú veľmi dobre pri úlohách verbálnej analógie, pretože model dokáže zachytiť rôzne jazykové vzory [13].

Adewumi et al. [16] vo svojej práci skúmal nielen parameter *veľkosť kontextového okna* (hodnoty 4 a 8), ale aj parameter veľkosti dimenzie samotného vektora (hodnoty od 100 do 3000).

Vyhodnotením výsledkov dokázal, že najlepší model je zvyčajne špecifický pre danú klasifikačnú úlohu a vysoké skóre analógie nemusí nevyhnutne pozitívne korelovať s metrikou F1 score. Pre *veľkosť kontextového okna* zistil, že lepšie výsledky získal s hodnotou 8. Ďalej zistil, že prílišné zväčšenie veľkosti dimenzie (nad 400) malo za následok nekvalitné slovné vektory. A navyše tvrdí, že pomocou malého korpusu získal lepšie skóre WordSim, zodpovedajúce Spearmanovej korelácii, v porovnaní s pôvodným modelom Mikolova et al. [7], trénovaný na korpuse 100 miliárd slov.

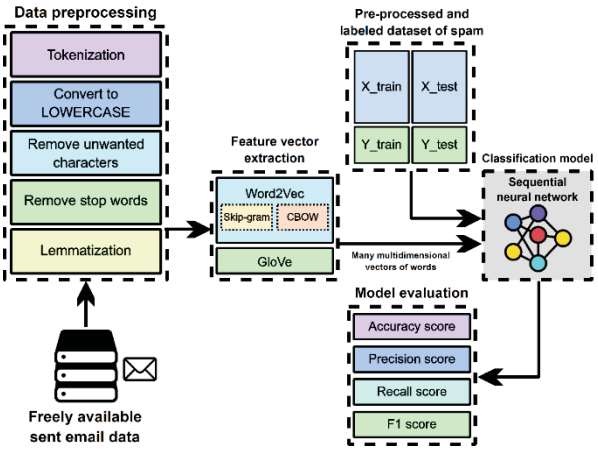
Ďalší autor Yang et al. [17] riešil úlohu klasifikácie na príspevkoch z Twitteru v angličtine a klasifikoval, či daný príspevok súvisí s témou volieb alebo nie. Použil model konvolučnej neurónovej siete a porovnaním výsledkov zistil, že vstupný korpus pre tvorbu vektorov by mal byť podobný korpusu použitého na klasifikáciu. Okrem toho vyhodnotením výsledkov modelov trénovaných pomocou rôznych veľkostí kontextových okien (1, 5 a 10) a dimenzií (200, 500 a 800) zistil, že na zlepšenie výkonu sú vhodnejšie veľké kontextové okná

a veľkosti dimenzií. Najlepšiu klasifikačnú presnosť dosahoval nastavením dimenzie na 800, veľkosti kontextového okna na 10 na úrovni 80,8% metrikou F1 score.

2 Materiály a metódy

Pre overenie vhodnosti skúmaného parametra *veľkosť kontextového okna* slovných modelov sme postupovali podľa nasledujúcej metodiky (Obrázok 1):

1. Predspracovanie vstupného textového korpusu.
2. Definovanie modelov slovných vektorov. Bolo vytvorených 225 slovných modelov (3 vektorové modely x 3 veľkosti okna (5, 6, 7) x 25 rôznych dimenzií (10, 20, ..., 250)).
3. Vytvorenie slovných vektorov každým z modelov na základe predspracovaného textu.
4. Vytvorenie klasifikačných modelov a klasifikovanie spamu na základe nami vytvorených slovných vektorov a na základe dátového súboru, ktorý obsahuje označené textové záznamy, či ide o spam alebo nie.
5. Vyhodnotenie úspešnosti klasifikácie pomocou metrík accuracy, precision, recall a F1 score.
6. Vyhodnotenie výsledkov



Obr. 1 Metodické kroky v diagrame
Zdroj: autor

V tejto kapitole sa budeme venovať použitým dátovým súborom a ich predspracovaniu, metódam, za pomoci ktorých vytvoríme slovné vektory, klasifikátoru neurónovej siete a evalvačným metrikám na vyhodnotenie výkonnosti klasifikačného modelu.

2.1 Dátové súbory a ich predspracovanie

Pre nájdenie vhodného parametra *veľkosti kontextového okna* pre slovné vektory a overenie jeho vhodnosti sme využili dva voľne dostupné dátové súbory. Prvý dátový súbor, *The Enron Email Dataset* (https://www.kaggle.com/datasets/wcukierski/enron-email-dataset/discussion/116088), obsahuje 500 000 e-mailov v anglickom jazyku odoslaných medzi 150 používateľmi. Tento dátový súbor sme použili ako vstupný textový korpus na vytváranie slovných vektorov.

Druhý dátový súbor, *SMS spam collection dataset* (https://github.com/mohitgupta-omg/Kaggle-SMS-Spam-Collection-Dataset-/blob/master/spam.csv) nám slúžil vo fáze evalvácie ako validačný nástroj na overenie správnosti vytvorených slovných vektorov pre problém klasifikácie spamu [18]–[20]. Tento dataset pozostával z celkovo 5565 záznamov správne označených krátkych textových správ (747 označených ako spam a 4819 ako "ham" alebo žiadúca pošta).

Oba tieto dátové súbory sme pred použitím museli určitým spôsobom predspracovať. Predspracovanie pozostávalo z tokenizácie viet. Potom sme znaky jednotlivých viet previedli na malé písmená, odstránili sme slová, ktoré obsahovali špeciálne znaky, čísla či biele prázdne znaky, odstránili sme aj takzvané stop slová vyskytujúce sa v jazyku často a sami o sebe nemajú žiadny význam a všetky zostávajúce slová sme zlemmatizovali (transformovali sme slová do ich základného tvaru).

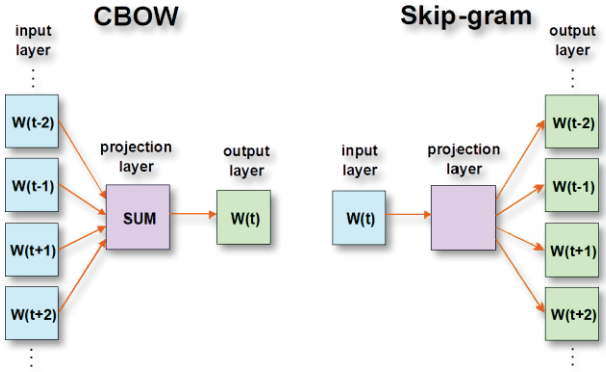
2.2 Použité vektorové modely

V tejto podkapitole budeme popisovať architektúry CBOW a Skip-gram modelu Word2Vec a model GloVe. Pomocou knižnice *Gensim* [21] sme implementovali tieto 3 vektorové modely do Pythonu vytvorením zodpovedajúcich modelov. Vstupom do modelov boli predspracované textové dáta a vstupné parametre, z ktorých najdôležitejším bol pre nás parameter *veľkosť kontextového okna*.

2.2.1 Word2Vec – CBOW

Zámerom architektúry CBOW (Continuous Bag of Words) metódy Word2Vec je predpovedať cieľové slovo na základe jeho susedných alebo kontextových slov v rámci kontextového okna. Táto architektúra v podstate pozostáva z jednoduchej doprednej neurónovej siete s tromi vrstvami. Do vstupnej vrstvy vstupujú kontextové slová zakódované metódou One-hot-encoding a skrytá vrstva obsahuje toľko neurónov, akú veľkosť dimenzie sme nastavili pre slovné vektory. Výstupná vrstva obsahuje jeden neurón s nelineárnou aktivačnou funkciou Softmax. Architektúra CBOW je zobrazená na Obrázku 2 spolu s architektúrou Skip-

gram. Výsledkom tréningu neurónovej siete nebude výstup z výstupnej vrstvy, ale výstupom budú váhy (slovné vektory) skrytej vrstvy. Tieto váhy sú po natrénovaní siete nastavené tak, že dokážu zachytávať význam vstupných slov [5], [7]–[9].



Obr. 2 Architektúry CBOW a Skip-gram
Zdroj: [7]

2.2.2 Skip-gram

Druhá architektúra je Skip-gram (na Obrázku 2) a jej cieľom, na rozdiel od CBOW, je predpovedať kontextové slová na základe cieľového slova v rámci kontextového okna. Táto architektúra tiež pozostáva z jednoduchej neurónovej siete, ale vstupom do nej je v každom kroku iba jedno cieľové slovo a výstupná vrstva obsahuje toľko neurónov, koľko kontextových slov chceme predpovedať. Výstupná vrstva obsahuje aktivačnú funkciu Softmax, ale v praxi Word2Vec používa jej algoritmické vylepšenia hierarchický Softmax a negatívne vzorkovanie. Nevýhodou Softmax funkcie je, že na reprezentáciu pravdepodobnosti každého slova je potrebné prejsť všetky slová v slovníku, čo je výpočtovo veľmi náročné [5], [7]–[9].

2.2.3 GloVe

Zatiaľ čo model Word2Vec je prediktívny model pozostávajúci z doprednej neurónovej siete, model GloVe je model založený na početnom zastúpení slov v korpuse. Najskôr sa vytvorí matica spoločného výskytu, ktorá obsahuje informácie o tom, ako často sa každé zo slov vyskytuje v nejakom kontexte. Matica sa neskôr faktorizuje, aby sa zmenšil rozmer tejto matice. Cieľom modelu GloVe je trénovať slovné vektory tak, aby sa ich skalárny súčin rovnal logaritmu pravdepodobnosti spoločného výskytu slov [12], [13], [15].

2.3 Klasifikátor sekvenčnej neurónovej siete

Správnosť slovných vektorov natrénovaných modelmi Word2Vec a GloVe na klasifikáciu spamu sme overili pomocou klasifikátora, v našom prípade bola použitá sekvenčná neurónová sieť knižnice *Keras* [22] v Pythone. Samotná neurónová sieť pozostáva z troch vrstiev: Embedding, Flatten a Dense vrstvy.

Ako vstupné parametre do prvej vrstvy Embedding boli nastavené veľkosť slovnej zásoby, veľkosť dimenzie vektorov slov, samotné slovné vektory, ktoré predstavujú váhy skrytej vrstvy a dĺžku vstupných sekvencií. Výstupná Dense vrstva obsahuje jeden neurón s aktivačnou funkciou Sigmoid. Vrstvu Flatten sme použili na prepojenie vrstvy Embedding s výstupnou vrstvou Dense. Model siete sme skompilovali pomocou optimalizéra RMSprop a stratovej funkcie BinaryCrossentropy.

Predspracovaný druhý dátový súbor obsahuje okrem krátkej správy aj označenie, či ide o spam alebo nie. Každú správu (všetky slová v nej) sme zakódovali do sekvencie celých čísel. Knižnica Keras požaduje, aby boli tieto sekvencie vektorizované a aby mali rovnakú dĺžku. Model siete sme natrénovali na tréningových dátach týchto sekvencií a pomocou základných evalvačných metrík sme získali klasifikačnú presnosť na základe testovacích dát.

2.4 Validácia klasifikátora a použité metriky

Na posúdenie výkonnosti nášho klasifikačného modelu, teda aj našich slovných vektorov, použijeme základné evalvačné metriky hodnotenia výkonnosti modelu, ktorými sú accuracy, precision, recall a F1 score, podobne ako v článku [23]. Accuracy sa vypočíta ako pomer správnych predpovedí k celkovému počtu vzoriek, z nasledujúcej rovnice.

$$accuracy = \frac{TP + TN}{TP + TN + FP + FN} \qquad (1)$$

TP predstavuje počet pravdivo pozitívnych výsledkov, FP predstavuje počet falošne pozitívnych výsledkov, TN predstavuje počet pravdivo negatívnych výsledkov a FN predstavuje počet falošne negatívnych výsledkov. Na vyhodnotenie, analýzu a popis výsledkov nášho modelu sme tiež vypočítali metriky precision, recall a F1 score podľa nasledujúcich rovníc.

$$precision = \frac{TP}{TP + FP} \qquad (2)$$

$$recall = \frac{TP}{TP + FN} \qquad (3)$$

$$F1\ score = 2 * \frac{precision * recall}{precision + recall} \qquad (4)$$

Precision je pomer správne predpovedaných pozitívnych pozorovaní k celkovému počtu predpovedaných pozitívnych pozorovaní. Recall ukazuje pomer správne predpovedaných pozitívnych pozorovaní ku všetkým pozorovaniam v skutočnej triede. Metrika F1 score je váženým priemerom metrík precision a recall, preto berie do úvahy falošne pozitívne aj falošne negatívne výsledky. Na implementáciu všetkých týchto hodnotiacich metrík sme použili knižnicu *Scikit-learn* [24] v Pythone.

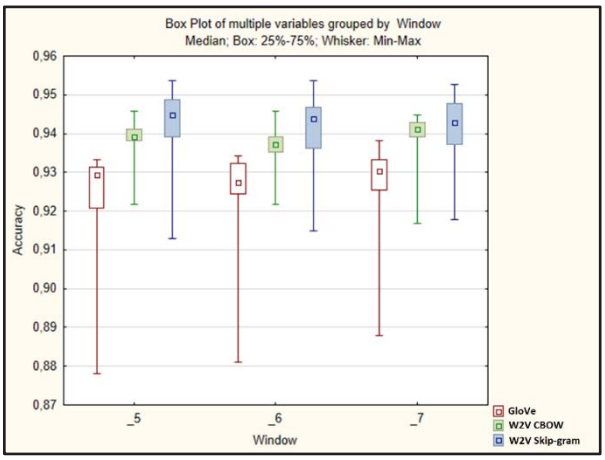
3 Výsledky a diskusia

V článku sme sa zamerali na zistenie najvhodnejšej hodnoty parametra *veľkosť kontextového okna* pre vektorové modely Word2Vec a GloVe. Skúmali sme rozdiely medzi oknami veľkosti 5, 6 a 7. Zvolili sme iba tri veľkosti okna. Je zrejmé, že pre väčšiu dôveryhodnosť výsledkov by bolo potrebné pracovať s viacerými veľkosťami okna. Tento výpočet je však časovo náročný, preto sme zvolili iba tri veľkosti okna, tieto však boli zvolené aj na základe našich predchádzajúcich skúseností so skúmanými metódami. Celkový počet slovných aj klasifikačných modelov bol 225 (3 vektorové modely (W2V Skip-gram, W2V CBOW, GloVe) x 3 veľkosti okna (5, 6, 7) x 25 rôznych dimenzií (10, 20, ..., 250)).

Vhodnosť tohto parametra pre tvorbu slovných vektorov týmito modelmi určíme pomocou analýzy evalvačných metrík pre klasifikáciu problémov strojového učenia. Klasifikačný problém, ktorý riešime je klasifikácia spamu, ktorého dataset sme už popísali.

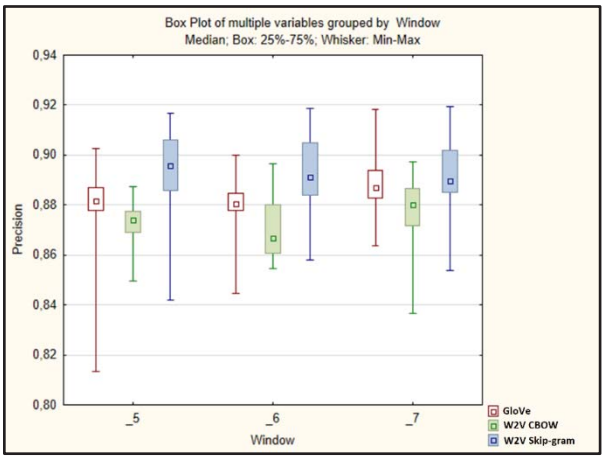
Výsledky uvádzame jednotlivo pre každú evalvačnú metriku. Z výsledkov pre metriku **accuracy** je zrejmé (Graf 1), že najlepšie hodnoty boli pozorované pre metódu Word2Vec - Skip-gram, ktorá dosiahla najvyššiu hodnotu mediánu, dolný a horný kvartil a maximálnu hodnotu. Najhomogénnejšie výsledky zasa dosahujeme metódou Word2Vec - CBOW. Z metódy Word2Vec - Skip-gram bola najvyššia hodnota mediánu pozorovaná pri veľkosti okna 5 (0,9449), maximálna hodnota pri veľkosti 5 a 6 (0,9536), a najvyššia hodnota horného kvartilu pri veľkosti 5 (0,9487) a najvyššia hodnota dolného kvartilu tiež pri veľkosti okna 5 (0,9391). Z grafu je zrejmé, že rozdiely v nameraných hodnotách pre metódu Word2Vec - Skip-gram vo všetkých troch veľkostiach okien pravdepodobne nie sú štatisticky významné. Z tohto dôvodu sme štatistickú významnosť neoverovali.

Zaujímavý je pohľad na zostávajúce dva modely Word2Vec – CBOW a GloVe. Obe dosiahli najvyššie hodnoty mediánu pre veľkosť okna 7 (0,9410 pre Word2Vec – CBOW a 0,9304 pre GloVe). Podobne úspešné boli aj hodnoty pre dolný a horný kvartil v prospech okna veľkosti 7.



Graf 1 Boxplot metriky accuracy pre kontextové okná
Zdroj: autor

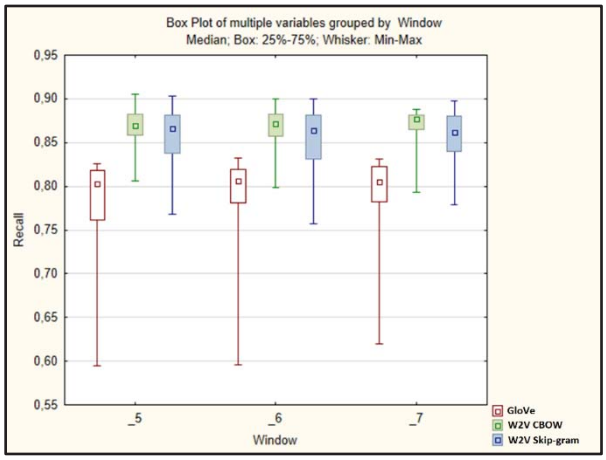
Rovnaký trend je možné sledovať aj pri výsledkoch pre metriku **precision** (Graf 2). Najlepšie výsledky boli zaznamenané pre metódu Word2Vec - Skip-gram vo všetkých troch veľkostiach okien. V rámci tejto metódy sa javí ako najvhodnejšia hodnota okna veľkosti 5 (median = 0,8956). Naopak v zostávajúcich dvoch metódach bol trend opačný a medián, horný a dolný kvartil bol najvyšší v okne veľkosti 7.



Graf 2 Boxplot metriky precision pre kontextové okná
Zdroj: autor

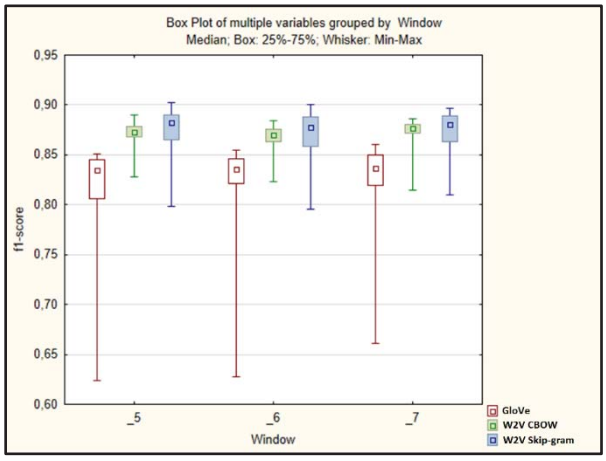
Metrika **recall** v našom prípade určuje mieru koľko zo správ typu spam bolo aj skutočne identifikovaných ako spam. Výsledky (Graf 3) sú tu už odlišné ako v prípade metrík accuracy a precision. Pre metódu Word2Vec - Skip-gram je najvyššia hodnota mediánu

(0,8664) stále v okne veľkosti 5, avšak rozdiely medzi hodnotami mediánu alebo horného kvartilu sú veľmi malé. Zaujímavé však je, že najvyššia hodnota mediánu (0,8767) bola pozorovaná v metóde Word2Vec – CBOW pre veľkosť okna 7.



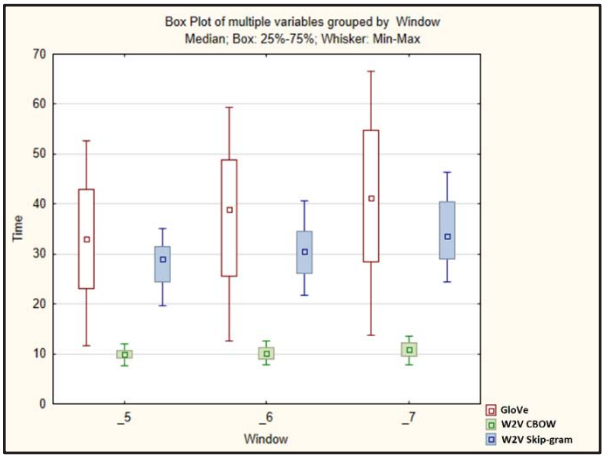
Graf 3 Boxplot metriky recall pre kontextové okná
Zdroj: autor

Pre úplnosť tiež uvádzame Box-plot pre metriku **F1 score** (Graf 4), ktorá predstavuje vážený priemer metrík precision a recall.



Graf 4 Boxplot metriky F1 score pre kontextové okná
Zdroj: autor

Okrem evalvačných metrík sme merali aj **čas pri tréningu** slovných vektorov pre všetky veľkosti okien. Čas bol meraný pomocou knižnice time v Pythone, a výsledkom (v sekundách) bol rozdiel času zaznamenaného pred spustením tréningu a času po tréningu slovných vektorov pre konkrétne nastavenie parametrov. Je zrejmé, že najnižšie hodnoty premennej čas boli namerané pre veľkosť okna 5 a najvyššie pre okna veľkosti 7. Z časového hľadiska sa najefektívnejšou metódou javí Word2Vec – CBOW pre rozmer okna 5 (medián = 9,83). V rámci metódy Word2Vec – CBOW boli aj pre ostatné veľkosti okna 6 a 7 pozorované nízke hodnoty mediánu (10,82 a 10,20). V porovnaní s Word2Vec - Skip-gram (medián = 27,89 pre veľkosť okna 5) a GloVe (medián = 32,82 pre veľkosť okna 5) sa metóda Word2Vec – CBOW javí ako časovo efektívna.



Graf 5 Boxplot času tréningu slovných vektorov pre kontextové okná
Zdroj: autor

Zo všetkých výsledkov je zrejmé, že uvedené tri veľkosti kontextových okien boli vhodne zvolené, pretože v jednom modeli sa najvhodnejšia hodnota javí veľkosť 5 a v zostávajúcich dvoch veľkosť 7. Z výsledkov preto vyplýva, že vhodná veľkosť kontextového okna musí by zvolená na základe použitého vektorového modelu. Na druhej strane, pri pohľade na výsledky pre každý vektorový model zvlášť, nebol rozdiel veľmi veľký pre rôzne veľkosti okien. Pre metódu Word2Vec - Skip-gram boli najlepšie výsledky pozorované pre okno veľkosti 5 a pre metódy Word2Vec – CBOW a GloVe pre okno veľkosti 7.

Motiváciou pre náš výskum boli práce [16] a [17]. Viacero výsledkov týchto prác bolo potvrdených aj v našom výskume. Súhlasíme s Adewumi et al. [16], že najlepší model je zvyčajne špecifický pre danú úlohu. Yang et al. [17] použil model konvolučnej neurónovej siete, pričom dosiahol podobnú klasifikačnú úspešnosť, približne 81%. Najlepšiu presnosť klasifikácie dosiahol nastavením veľkosti okna na 10. Podľa našich zistení je táto hodnota až príliš vysoká. V našom prípade sme akceptovanú presnosť dosiahli už pri veľkosti okna 7.

Záver

V článku sme sa zamerali na výskum nastavenia hodnoty vstupného parametra *veľkosti kontextového okna* pre modely na tvorbu slovných vektorov Word2Vec a GloVe. Vytvorili sme 3 druhy modelov (Word2Vec CBOW, Word2Vec Skip-gram a GloVe), s nastavením rôznej dĺžky kontextového okna (5, 6, 7) a s nastavením rôznej veľkosti dimenzie, spolu tak 225 (3 x 3 x 25) modelov. Každým týmto modelom sme získali slovné vektory na základe rovnakého vstupného predspracovaného textového korpusu. Aby sme mohli povedať, ktoré nastavenia parametrov boli lepšie ako iné, využili sme neurónovú sieť na klasifikovanie spamu. Pomocou klasifikačných evalvačných metrík sme zanalyzovali dosiahnuté výsledky prostredníctvom grafov a zistili sme, že *veľkosť kontextového okna* musí byť zvolená na základe použitej vektorovej metódy. Najlepšie výsledky sme dosahovali metódou Word2Vec Skip-gram pre veľkosť okna 5.

Podobne ako aj iní autori, aj my predpokladáme, že nastavenie parametrov je závislé od konkrétnej klasifikačnej úlohy. V budúcnosti chceme realizovať výskum, v ktorom sa pokúsime nájsť vhodné nastavenie parametrov veľkosti kontextového okna, aj veľkosti dimenzie v závislosti od veľkosti vstupného tréningového textového korpusu ako aj datasetu pre skúmaný klasifikačný problém.

Poďakovanie

Článok bol podporený grantom Univerzitnej grantovej agentúry Univerzity Konštantína Filozofa v Nitre UGA č. VII/05/2023.

Použitá literatúra

[1] M. Liang and T. Niu, “Research on Text Classification Techniques Based on Improved TF-IDF Algorithm and LSTM Inputs,” *Procedia Comput Sci*, vol. 208, pp. 460–470, 2022, doi: 10.1016/j.procs.2022.10.064.

[2] A. Sharma and S. Kumar, “Ontology-based semantic retrieval of documents using Word2vec model,” *Data Knowl Eng*, vol. 144, p. 102110, Mar. 2023, doi: 10.1016/j.datak.2022.102110.

[3] N. Badri, F. Kboubi, and A. H. Chaibi, “Combining FastText and Glove Word Embedding for Offensive and Hate speech Text Detection,” *Procedia Comput Sci*, vol. 207, pp. 769–778, 2022, doi: 10.1016/j.procs.2022.09.132.

[4] J. M. Wyatt, G. J. Booth, and A. H. Goldman, “Natural Language Processing and Its Use in Orthopaedic Research,” *Curr Rev Musculoskelet Med*, vol. 14, no. 6, pp. 392–396, Dec. 2021, doi: 10.1007/s12178-021-09734-3.

[5] E. M. Dharma, F. Lumban Gaol, H. Leslie, H. S. Warnars, and B. Soewito, “THE ACCURACY COMPARISON AMONG WORD2VEC, GLOVE, AND FASTTEXT TOWARDS CONVOLUTION NEURAL NETWORK (CNN) TEXT CLASSIFICATION,” *J Theor Appl Inf Technol*, vol. 31, no. 2, 2022, [Online]. Available: www.jatit.org

[6] D. Khurana, A. Koli, K. Khatter, and S. Singh, “Natural language processing: state of the art, current trends and challenges,” *Multimed Tools Appl*, vol. 82, no. 3, pp. 3713–3744, Jan. 2023, doi: 10.1007/s11042-022-13428-4.

[7] T. Mikolov, K. Chen, G. Corrado, and J. Dean, “Efficient Estimation of Word Representations in Vector Space,” Jan. 2013.

[8] H. D. Abubakar and M. Umar, “Sentiment Classification: Review of Text Vectorization Methods: Bag of Words, Tf-Idf, Word2vec and Doc2vec,” *SLU Journal of Science and Technology*, vol. 4, no. 1 & 2, pp. 27–33, Aug. 2022, doi: 10.56471/slujst.v4i.266.

[9] T. Mikolov, I. Sutskever, K. Chen, G. Corrado, and J. Dean, “Distributed Representations of Words and Phrases and their Compositionality,” Oct. 2013.

[10] O. Levy and Y. Goldberg, “Dependency-Based Word Embeddings,” in *Proceedings of the 52nd Annual Meeting of the Association for Computational Linguistics (Volume 2: Short Papers)*, 2014, pp. 302–308. doi: 10.3115/v1/P14-2050.

[11] Y. Goldberg and O. Levy, “word2vec Explained: deriving Mikolov et al.’s negative-sampling word-embedding method,” Feb. 2014.

[12] Md. A. H. Wadud, M. F. Mridha, and M. M. Rahman, “Word Embedding Methods for Word Representation in Deep Learning for Natural Language Processing,” *Iraqi Journal of Science*, pp. 1349–1361, Mar. 2022, doi: 10.24996/ijs.2022.63.3.37.

[13] J. Pennington, R. Socher, and C. Manning, “Glove: Global Vectors for Word Representation,” in *Proceedings of the 2014 Conference on Empirical Methods in Natural*

Language Processing (EMNLP), 2014, pp. 1532–1543. doi: 10.3115/v1/D14-1162.

[14] J. Kapusta, M. Drlik, and M. Munk, "Using of n-grams from morphological tags for fake news classification," *PeerJ Comput Sci*, vol. 7, p. e624, Jul. 2021, doi: 10.7717/peerj-cs.624.

[15] G. Muñetón-Santa, D. Escobar-Grisales, F. O. López-Pabón, P. A. Pérez-Toro, and J. R. Orozco-Arroyave, "Classification of Poverty Condition Using Natural Language Processing," *Soc Indic Res*, vol. 162, no. 3, pp. 1413–1435, Aug. 2022, doi: 10.1007/s11205-022-02883-z.

[16] T. P. Adewumi, F. Liwicki, and M. Liwicki, "Word2Vec: Optimal Hyper-Parameters and Their Impact on NLP Downstream Tasks," Mar. 2020.

[17] X. Yang, C. Macdonald, and I. Ounis, "Using word embeddings in Twitter election classification," *Information Retrieval Journal*, vol. 21, no. 2–3, pp. 183–207, Jun. 2018, doi: 10.1007/s10791-017-9319-5.

[18] O. Abayomi-Alli, S. Misra, A. Abayomi-Alli, and M. Odusami, "A review of soft techniques for SMS spam classification: Methods, approaches and applications," *Eng Appl Artif Intell*, vol. 86, pp. 197–212, Nov. 2019, doi: 10.1016/j.engappai.2019.08.024.

[19] S. Dutta, A. K. Das, S. Ghosh, and D. Samanta, "Attribute selection to improve spam classification," in *Data Analytics for Social Microblogging Platforms*, Elsevier, 2023, pp. 95–127. doi: 10.1016/B978-0-32-391785-8.00016-0.

[20] G. Waja, G. Patil, C. Mehta, and S. Patil, "How AI Can be Used for Governance of Messaging Services: A Study on Spam Classification Leveraging Multi-Channel Convolutional Neural Network," *International Journal of Information Management Data Insights*, vol. 3, no. 1, p. 100147, Apr. 2023, doi: 10.1016/j.jjimei.2022.100147.

[21] R. Řehůřek and P. Sojka, "Software Framework for Topic Modelling with Large Corpora," in *Proceedings of the LREC 2010 Workshop on New Challenges for NLP Frameworks*, Feb. 2010, pp. 45–50.

[22] F. Chollet, "Keras," 2015. https://keras.io (accessed Dec. 28, 2022).

[23] K. Nagy and J. Kapusta, "Improving fake news classification using dependency grammar," *PLoS One*, vol. 16, no. 9, p. e0256940, Sep. 2021, doi: 10.1371/journal.pone.0256940.

[24] F. Pedregosa *et al.*, "Scikit-learn: Machine Learning in Python," *Journal of Machine Learning Research*, vol. 12, pp. 2825–2830, 2011.

Percepcia efektívnosti odpadového hospodárstva na príklade Hrušovsko – Beňadického Mikroregiónu

The perception of the efficiency of waste management on example of the Hrušovsko – Beňadický Microregion

Dominika Gduľová[1]
Školiteľ: Milena Moyzeová[2]
[1,2]Ústav krajinnej ekológie SAV, v.v.i., Slovenská Akadémia vied, Štefánikova 3, P.O. Box 254, 814 99 Bratislava
[1]Katedra ekológie a environmentalistiky, FPVaI UKF, Tr. A. Hlinku 1, 949 74 Nitra
[1] dominika.gdulova@savba.sk, [2] milena.moyzeova@savba.sk

Abstrakt
Jednou z hlavných povinností obce je prevádzka systému separovaného zberu odpadu. Ten je podmienený zainteresovanosťou starostu a obyvateľov obce. Tí čelia rôznym problémom pri nakladaní s odpadom. Obyvateľstvo obce tvoria jednotlivci, majúci odlišné názory, postoje, vzdelanie a presvedčenie, rovnako vedenie obcí sa prikláňa k rôznym názorom a využíva rôzne riešenia na zabezpečenie správneho fungovania odpadového hospodárstva obce. Cieľom príspevku je prezentovať výsledky sociologického prieskumu realizovaného v 10 obciach Hrušovsko - Beňadického Mikroregiónu na tému odpadového hospodárstva. Prieskum bol realizovaný formou dotazníka na vzorke 120 obyvateľov. Do riadeného rozhovoru boli zapojení starostovia dotknutých obcí ktorí sa vyjadrili k separovaniu odpadu, k spôsobom motivácie obyvateľov odpad separovať, ale aj k víziám v oblasti nakladania s odpadmi.
Kľúčové slová: separácia odpadu, mikroregión, kvalita životného prostredia, dotazník, riadený rozhovor

Abstract
One of the main responsibilities of the municipality is to operate a separate waste collection system. This is conditional on the participation of the mayor and the inhabitants of the municipality. They face various problems in waste management. The population of the municipality is made up of individuals with different opinions, attitudes, education and beliefs, as well as the municipal leadership is inclined to different views and uses different solutions to ensure the proper functioning of the municipality's waste management. The aim of this paper is to present the results of a sociological survey realized in 10 municipalities of the Hrušovsko - Beňadický Microregion on the topic of waste management. The survey was conducted in the form of a questionnaire on a sample of 120 inhabitants. The mayors of the municipalities concerned were involved in a guided interview and expressed their views on waste separation, on ways to motivate residents to separate waste, but also on visions in the field of waste management.
Key Words: waste separation, microregion, environmental quality, questionnaire, guided interview

Úvod
Existuje mnoho faktorov, ktoré ovplyvňujú zdravie populácie, ako je strava, hygiena, socioekonomický stav, gramotnosť, životný štýl a tiež životné prostredie. Vplyv environmentálnych rizikových faktorov na zdravie je veľmi rôznorodý a komplexný z hľadiska závažnosti a významu. Rastúce zhoršovanie kvality životného prostredia na celom svete predstavuje vážnu výzvu pre zdravý život. Zlá kvalita životného prostredia je zodpovedná za mnohé zdravotné problémy. Podiel vládnych výdavkov na zdravotníctvo neustále rastie [1].

Znečistenie životného prostredia súvisiace so zlým nakladaním s pevným odpadom je globálnym problémom [2].

Environmentálne zdravotné problémy súvisiace s nakladaním s odpadom zahŕňajú nedostatok účinných kanalizačných systémov pre potreby obyvateľstva, priemyselné skládkovanie toxických odpadov, nevhodné zneškodňovanie medicínskych, patogénnych a rádioaktívnych odpadov a problémy súvisiace s recykláciou materiálov. Nejasný je aj stupeň rizika, ktoré predstavuje pre ľudské zdravie. Prevádzka zariadení zabezpečujúcich nakladanie s odpadmi je zdrojom nebezpečných látok šíriacich sa

vzduchom, pôdou a vodou, tie môžu otráviť ľudí, zvieratá a vegetáciu [3].

S rastúcim počtom obyvateľov sa v priebehu niekoľkých rokov zvýšila aj miera tvorby odpadov. Nakladanie s odpadmi sa tak stáva jedným z hlavných záujmov samospráv na celom svete [4]. Aby sa predišlo ďalšiemu znečisťovaniu životného prostredia a v dôsledku toho chránil život ľudí a voľne žijúcich organizmov, sú potrebné okamžité kroky na uľahčenie rozumného zberu a triedenia odpadu. Masívna produkcia jednorazového tovaru v posledných rokoch viedla k výraznému nárastu vyprodukovaného odpadu [5].

Najväčšou obavou je plastový odpad, keďže ide o najrozšírenejší odpad a dlhodobo poškodzujúci životné prostredie [6].

1 Materiál a metodika

Na hodnotenie subjektívnych aspektov odpadového hospodárstva v modelovom Mikroregióne sme využili sociologický prieskum realizovaný formou dotazníka a riadeného rozhovoru. Výskumnou vzorkou boli obyvatelia obcí Hrušovsko – Beňadického Mikroregiónu a starostovia obcí. Výskumu sa zúčastnilo 120 respondentov, čo predstavuje 12 respondentov z každej obce. Dotazník zahŕňal otázky o hodnotení separácie a recyklácie a otázky ku všeobecným znalostiam občanov o danej problematike. Dotazník slúži na zhodnotenie všeobecnej informovanosti o problematike a zároveň na zvýšenie povedomia o nutnosti separácie a recyklácie. Dotazníky boli distribuované občanom jednotlivých obcí, následne boli zbierané späť a hodnotené na základe stanovených kritérií. Výskum sa realizoval v mesiacoch október, november a december roku 2021. Odpovede sme percentuálne vyhodnotili.

S 10 starostami obcí bol vedený riadený rozhovor, ten poskytol informácie o odpadovom hospodárstve a priebehu separácie odpadov v obciach.

Získané výsledky sme skombinovali s doterajšími poznatkami z oblasti vplyvu nakladania s komunálnym odpadom. Informácie získané od starostov obcí boli využité na zhodnotenie súčasnej situácie v oblasti odpadového hospodárstva. Súčasťou výskumu bolo hľadanie súvislostí medzi správaním obyvateľov obcí, rozhodnutiami samospráv a vplyvmi na životné prostredie.

1.1 Vymedzenie územia

Obce Hrušovsko – Beňadického Mikroregiónu sa nachádzajú na území okresu Zlaté Moravce, ktorý patrí pod Nitriansky samosprávny kraj (Mapa 1). Výskum prebiehal vo vidieckych obciach Čaradice, Hostie, Jedľové Kostoľany, Machulince, Obyce, Skýcov, Tekovské Nemce, Topoľčianky, Žikava a Žitavany. Najmenšou obcou sú Machulince s rozlohou 9,47 km² a najväčšou obcou sú Obyce (31,4 km²). Celková rozloha Mikroregiónu je 224,26 km² [7].

Počet obyvateľov v Mikroregióne bol 12 270 obyvateľov k 31.12.2020 [8].

Mikroregión vznikol v roku 2003 [9].

Mapa 1 Obce Hrušovsko – Beňadického Mikroregiónu
Spracovala: Gduľová 2022, zdroj: [10].

1.2 Dotazník pre obyvateľov

Dotazník bol zameraný na obyvateľov obcí, pretože primárne triedenie odpadu vykonávajú práve oni. Výskumnými cieľmi dotazníka boli:

1. Zistiť všeobecnú mieru informovanosti o problematike nakladania s odpadom v Hrušovsko - Beňadickom mikroregióne
2. Zistiť mieru separácie odpadu v domácnostiach respondentov
3. Zistiť postoj respondentov k separovaniu odpadu
4. Nastoliť otázku spravodlivých poplatkov za odpady a zistiť postoj respondentov

Dotazníka sa mohli zúčastniť respondenti od 15 rokov. Vypĺňanie dotazníka bolo anonymné, výber bol príležitostný. Otázky boli uzavretého typu, teda ponúkali respondentom voľbu medzi minimálne dvoma alternatívami. Respondent odpovedal na otázky, ktoré sú v dotazníku tak, že krúžkoval alebo podčiarkol vyhovujúcu možnosť. Dotazník mal 17 otázok.

1.3 Rozhovor so starostami obcí

Dôležitú úlohu v oblasti odpadového hospodárstva zohrávajú predstavitelia obce – starostovia, ktorí vykonávajú obecnú správu a zastupujú obec. Vzhľadom na rozmanitosť obcí, politickú príslušnosť starostov, postoje zaujímané jednotlivými starostami a súčinnosťou sa jednotlivé samosprávy líšia [11].

Rozhovor so starostami bol smerovaný k zhodnoteniu súčasnej miery separácie v obci, nastaveného systému separácie, k zmenám a budúcim plánom v oblasti opadavého hospodárstva. Keďže starostovia najlepšie poznajú obyvateľov obce, otázky boli zamerané aj na správanie občanov. Starostovia tiež zhodnotili súčasné problémy v obci a efektívnosť nápravných opatrení.

2 Výsledky a diskusia

V oslovenej vzorke respondentov mali prevahu respondenti bývajúci v domoch (takmer 91 %). V rámci pohlavia mali miernu prevahu ženy (61). Mužov bolo 59. Pre správne fungovanie odpadového hospodárstva je dôležitá informovanosť obyvateľstva, pretože kvalita vytriedenej suroviny je závislá na ochote obyvateľov a ich znalostiach správneho spôsobu triedenia [12]. Zistilo sa, že 77,5 % opýtaných má informácie o separovaní odpadu vo svojej obci. Až 18 % opýtaných nevedelo posúdiť úroveň svojich znalostí. 4,5 % opýtaných nepovažuje svoje znalosti za dostatočné.

Individuálny spôsob nakladania s odpadom môže súvisieť s rôznymi demografickými faktormi, ako je úroveň vzdelania, veľkosť domácnosti alebo vek jednotlivca. Ak sa tieto parametre zmenia, mení sa aj správanie pri nakladaní s odpadom [13]. Podľa prieskumu separuje 87,5 % respondentov. To, že neseparujú priznali dvaja respondenti. Možnosť občas si zvolilo 13 respondentov. Nezapájanie sa do separácie respondenti zdôvodnili nedostatočnými podmienkami na triedenie a tým, že sa im nechce. Ide väčšinou o vnútorné faktory jednotlivcov (zaraďujeme sem aj sebectvo, ľahostajnosť k následkom svojho konania, neochota prijať nové návyky a prevzatie zodpovednosti, tieto faktory obmedzujú úsilie samospráv v oblasti nakladania s odpadmi [14].

Aj keď existujú technológie na triedenie zmesového komunálneho odpadu, separácia odpadu pri zdroji, teda občanmi, je efektívnejšia. Angažovanosť občanov je kľúčom k úspešnej prevencií a recyklácií [15]. Až 91 % respondentov považuje separáciu odpadu v domácnosti za rozumnú. Stále sa však vyskytujú ľudia, ktorí nevedia, či separácia v domácnosti má význam, v našom výskume to bolo 9 respondentov. Jeden respondent nepovažuje separáciu za dôležitú.

Implementácia opatrení na zlepšenie odpadového hospodárstva si vyžaduje zmenu prístupu verejnosti i samosprávy. Sú nevyhnutné zásadné zmeny a odlišný kultúrny postoj k problematike odpadu a vypracovanie nových noriem a pravidiel správania sa týkajúceho sa komunálneho odpadu. Vytvorenie nového prístupu medzi spotrebiteľmi je pomerne zložitý proces, pretože neexistuje prínos, ktorý by bol pre nich viditeľný. Tieto bariéry je nemožné prekonať bez aktívnej účasti všetkých orgánov [16]. Nie všetci občania majú motiváciu separovať odpad a niektorí majú obmedzené znalosti o separovaní odpadu. Podpora separovania odpadu vyžaduje pochopenie dodržiavania pravidiel zo strany občanov. Vnútorne motivovaní ľudia separujú svoj odpad, pretože im to prináša prirodzené uspokojenie. Vonkajšie motivovaní ľudia separujú svoj odpad kvôli finančnému zisku. Separovanie odpadu môže byť vnímané ako pohodlnejšie pre jednotlivcov, ktorí majú predchádzajúce skúsenosti s recykláciou. Pohodlie tiež pomáha zlepšiť kvalitu separácie odpadu. Environmentálne presvedčenie a hodnoty jednotlivcov ovplyvňujú ich normy a motiváciu separovať odpad [17]. Správne nakladanie s odpadom musí teda jednotlivec vnímať ako udržiavanie zdravej komunity a zdravého životného prostredia. Vynaložené náklady jednotlivca však musia byť primerané vzhľadom ku získanému prínosu [18].

Takmer 61 % respondentov uviedlo, že ich obec motivuje k separácií odpadu v domácnosti, najviac v obci Tekovské Nemce. Motiváciu zo strany obce nevnímalo takmer 30 % obyvateľov. 9 % občanov nevedelo posúdiť, či ich obec motivuje.

Obce sa snažia zvyšovať mieru separácie aj zavedením spravodlivých poplatkov. S touto iniciatívou súhlasí 77 % respondentov. Len 3 % nesúhlasia. 20 % respondentov danej problematike nerozumelo a k téme sa nevedeli vyjadriť. Sprísňovanie legislatívy a zvyšovanie poplatkov môže motivovať občanov k obchádzaniu systému a zbavovania sa odpadu nelegálne. Na minimalizáciu takéhoto konania je potrebné prijať súbor nadväzných opatrení začínajúcich prevenciou tvorby skládok a končiacich trestaním nedodržovania zákona [19].

Systém triedeného zberu komunálneho odpadu je založený na účasti občanov a ich snahe separovať z neho recyklovateľné zložky, umiestniť ich do určených zberných nádob, a tým znížiť množstvo zmesové komunálneho odpadu na minimum. Táto snaha však musí byť podporená takým systémom poplatkov, ktorý vychádza z presných záznamov o množstve vzniknutého nerecyklovateľného odpadu v jednotlivých domácnostiach [20]. Stanovenie poplatku však môže vychádzať z rôznych kritérií. Poplatok odvíjajúci sa od miery separácie by bol spravodlivým pre 62,5 % respondentov. Takmer 22 % respondentov by vyhovoval poplatok odvíjajúci sa od množstva vyprodukovaného odpadu. Zmenu poplatku si neželá takmer 12,5 % respondentov. K téme sa nevedelo vyjadriť viac ako 3 % respondentov.

Občania by si mali osvojiť správanie ohľaduplné k životnému prostrediu a tiež meniť svoje správanie v prospech životného prostredia. Aby boli reformy úspešné je nevyhnutné podporovať starostlivý prístup smerom k odpadu a životnému prostrediu [21]. Aj objem odpadu je ovplyvňovaný rozhodnutiami jednotlivcov a ich životným štýlom. Preto je nevyhnutné zvýšiť povedomie verejnosti o zásadách odpadového hospodárstva a zlepšiť environmentálne správanie širokej verejnosti [22]. Je známe, že nedostatok povedomia medzi obyvateľstvom o vplyve likvidácie odpadu na životné prostredie a ekosystémy je zdrojom neochoty zmeniť postupy [23].

Najpreferovanejšími zdrojmi informácií pre obyvateľov boli letáky z Obecného úradu, noviny, rádio a televízia, tieto zdroje sú ľahko dostupné pre všetky vekové kategórie.

Výsledky prieskumu ďalej ukázali, že takmer 76 % domácností vyseparuje najviac plastov. Druhé najpočetnejšie zastúpenie mal biologicky rozložiteľný odpad (viac ako 10 % respondentov). 8 % respondentov vyseparuje vo svojej domácnosti najviac papiera a lepenky. Takmer 6 % vyseparuje najviac tetrapakov.

Samospráva by mala klásť dôraz na environmentálne vzdelávanie na školách a informačné kampane pre obyvateľstvo. Takéto osvetové iniciatívy môžu prispieť k celkovému zníženiu tvorby odpadov a k jeho správnemu spracovaniu [24]. Naďalej však pretrváva trend, kedy občania až v takmer 65 % prípadov vložia odpad do zmesového komunálneho odpadu, ak nemajú informácie ako s ním správne naložiť. Len 12 % respondentov by si o danom odpade vyhľadalo informácie. Ak si ľudia nie sú istí, čo majú robiť, majú tendenciu vyvodzovať svoje závery pozorovaním správania ostatných, takže ich správanie je ovplyvňované sociálnym tlakom [25], len 9 % respondentov v našom prieskume by požiadalo o radu príbuzného alebo známeho a 14 % opýtaných by si podrobnejšie prezreli výrobok.

Úroveň vzdelania, vedomostí aj úroveň príjmov majú pozitívny vplyv na odpadové hospodárstvo domácností. Demografické premenné ako vek a pohlavie naznačujú, že ženy a starší ľudia majú lepšie hospodárenie s odpadom v porovnaní s mužmi a mladšími ľuďmi. Ženy a starší ľudia majú vyššiu pravdepodobnosť zapojenia sa do separácie odpadov v porovnaní s mužmi a mladšou generáciou. Môže to byť spôsobené tým, že ženy majú tendenciu viac dbať na čistotu, zdravie, s väčším nadšením triedia odpad a tradične zohrávajú väčšiu úlohu pri domácich prácach [26]. Náš prieskum tento poznatok podporil, nakoľko 35 % respondentov uviedlo, že v ich domácnostiach najviac separujú ženy. V 57,5 % domácností separujú všetci členovia domácností. Len v 5 domácnostiach separujú výlučne muži a v 2 len deti. Prieskum odhalil aj dve domácnosti, v ktorých neseparuje nikto.

Na rozdiel od prírodného organického materiálu, akým je drevo, sa plastové materiály v prostredí veľmi pomaly rozkladajú. Je teda pravdepodobné, že na degradáciu plastov bude potrebných niekoľko desaťročí až niekoľko storočí, ak bude prostredie priaznivé z hľadiska fyzikálnych, chemických a biologických podmienok. Výsledkom je, že plasty majú tendenciu hromadiť sa v prostredí a nie sú preň neškodné [27]. To znamená, že treba zaviesť potrebné prostriedky na zníženie ich vplyvu, ale aj pochopiť dôvody, prečo ľudia správne nenakladajú s plastovým odpadom [28]. Plastové tašky sa väčšinou používajú na uchovávanie nakúpených tovarov. Dajú sa použiť niekoľkonásobne alebo sa vyhodia do odpadkového koša. Až 60 % respondentov uviedlo, že tieto tašky použije znova, čo poukazuje na pretrvávajúcu obľúbenosť týchto materiálov. Viac ako 33 % takúto tašku vloží do separovaného odpadu bez ďalšieho využitia, takmer 7 % respondentov do zmesového komunálneho odpadu.

Správanie jednotlivcov je silno ovplyvnené znalosťami o tom, kde, kedy a ako separovať [29]. Prieskum odhalil, že takmer 11 % respondentov nevie, že tužkové batérie môžu bezplatne odovzdať v predajniach. Takmer 80 %batérie odovzdáva. 10 % respondentov napriek poznatkom o odovzdávaní batérií takto nekoná a zbavujú sa batérií nesprávnym spôsobom.

Len 65 % odovzdáva lieky v lekárňach. Takmer 6 % respondentov nevedelo, že nespotrebované lieky možno bezplatne odovzdať v lekárňach, čo znamená, že časť týchto odpadov s nebezpečnými vlastnosťami končí na skládke alebo v spaľovni odpadov. Viac ako 29 % respondentov uviedlo, že aj keď o možnostiach odovzdávania liekov vedia, často tak nekonajú a zbavujú sa týchto odpadov ako zmesového komunálneho odpadu.

Potvrdil sa pozitívny trend, a to nárast množstva vyseparovaného odpadu (Príloha 1), ten je však priamo úmerný rastu množstva zmesového komunálneho odpadu. Samosprávy vo všeobecnosti nepredpokladajú zníženie celkového množstva odpadu, ale odklon od zneškodňovania smerom k materiálovému zhodnocovaniu odpadov. Starostovia potvrdili, že časť obyvateľov stále separovanie odpadov ignoruje a nepovažuje ho za dôležité, kvôli takémuto prístupu jednotlivcov je miera separácia odpadov nižšia, než je potenciál obce.

Starostovia vidia potenciál na zlepšenie separácie odpadov. Dôležitou súčasťou zlepšenia je spolupráca so zberovými spoločnosťami.

Prispôsobením metódy zberu jednotlivých druhov odpadov a zmenou frekvencie vývozu sa zabezpečí efektívny zber separovaných zložiek odpadu. Obce Čaradice, Machulince, Skýcov, Tekovské Nemce, Žikava a Žitavany zaviedli označenie zberných nádob nálepkami alebo QR kódmi, prípadne využívanie žetónov. Tieto obce prešli od zaužívaného poplatku, ktorý bol paušálny ročný na obyvateľa a bol pre všetkých rovnaký bez ohľadu na množstvo vyprodukovaného odpadu.

Žetónový zber je založený na kúpe žetónu od miestneho Obecného úradu, ktorý je následne zavesený na zbernej nádobe v deň vývozu odpadu. Prepravca odpadu žetón odovzdá obci. Cenu žetónu stanovuje obec podľa veľkosti nádoby a nákladov na jej vyvezenie. QR kódy fungujú na rovnakom princípe ako systém žetónov. Každá domácnosť má označenú zbernú nádobu QR kódom, ktorý počas zberu odpadu zberová spoločnosť nasníma a nádobu vyprázdni [30]. Obce potvrdili pozitívny vplyv zavedenia týchto systémov, ktoré zvýšili zapojenosť obyvateľov do separovaného zberu odpadu.

Samosprávy sa zameriavajú aj na včasné zverejnenie harmonogramu zberu v lokálnom periodiku, na webovom sídle obce a sociálnej sieti. Tiež na to využívajú hlásenie v obecnom rozhlase, čo zabezpečí pripravenosť obyvateľov na separovaný zber odpadu.

Zaujímavé je aj využívanie bezplatnej SMS služby, ktorá občanov upozorní na zber komunálneho a triedeného odpadu deň vopred. Občania, ktorí majú záujem o danú službu poskytnú svoje telefónne číslo Obecnému úradu. Takáto služba je využívaná aj v meste Nitra [31].

Samosprávy sa usilujú o zvýšenie miery separácie, organizované sú informačné kampane, semináre a prednášky pre občanov. Občania sú motivovaní zúčastniť sa prednášok malými darčekmi (napríklad plátenné tašky). Občania na prednáškach získajú informácie o separovanom zbere a o význame recyklácie odpadov.

Okrem tejto aktivity sú počas roka občanom obce poskytované informačné materiály, ako sú letáky, lokálna tlač, ale aj prostredníctvom webovej stránky obce a sociálnych sietí.

Zberným dvorom disponujú štyri obce mikroregiónu, a to Čaradice, Skýcov, Tekovské Nemce a Žitavany. Obecnú kompostáreň prevádzkujú obce Hostie, Jedľové Kostoľany, Obyce a Skýcov.

Pri výkone svojej funkcie sa starostovia stretávajú aj s problémami, tými najväčšími v oblasti nakladania s odpadmi sú podľa starostov najmä:

- **Nelegálne skládky odpadov –** občania sa svojho odpadu zbavujú nelegálne, aj keď majú iné možnosti ako nakladať s odpadom. Nelegálne skládky odpadov sa vyskytujú vo všetkých obciach Mikroregiónu. Starostovia organizujú zber a čistenie takýchto miest (Obr. 1).
- **Littering -** nesprávne nakladanie s odpadom hlavne na verejných miestach, kde sú voľne pohodené odpady, znižujúce estetiku krajiny. Obce na takýchto miestach rozmiestňujú menšie zberné nádoby na odpad.
- **Nízka miera separácie jedlých olejov a tukov, viacvrstvových kombinovaných materiálov, šatstva –** starostovia uviedli, že nízka miera separácie jedlých olejov a tukov môže byť spôsobená aj tým, že obyvatelia majú možnosť odovzdať tieto odpady v sieti supermarketov, alebo čerpacích staníc.
- **Ukladanie odpadu vedľa zberných nádob** (Obr. 2) **–** obce aj prostredníctvom svojho webového sídla žiadajú občanov, aby triedený odpad uschovali doma do doby kým nebudú nádoby na zber prázdne. Občania často lepenku väčší rozmerov umiestňujú popri zberných nádobách, kde môže zmoknúť, čím sa znemožní jej zhodnotenie.
- **Umiestňovanie nevhodného odpadu do zberných nádob na odpad –** častým problémom, je vkladanie biologicky rozložiteľných odpadov do nádob na zmesový komunálny odpad. Samospráva sa snaží toto konanie obmedzovať distribúciou kompostérov do záhrad, budovaním obecného kompostoviska, sezónnym zberom konárov, požičiavaním štiepkovača na drevnú hmotu.
- **Vkladanie plastových fliaš a viacvrstvových kombinovaných materiálov (tetrapakov) bez predchádzajúceho stlačenia do zberných nádob –** stlačenie týchto druhov odpadov by znížilo objem odpadu.
- **Používanie nádob a vriec s nesprávnym označením –** občania zbierali zložky separovaného odpadu do vriec nesprávnej farby, čo komplikovalo prácu zamestnancom zberovej spoločnosti.
- **Nedostatočná kapacita zberných nádob –** zberová kapacita je nedostatočná hlavne pre zber šatstva a textílií, papiera a lepenky a skla. Zberové spoločnosti však často odmietajú zvýšiť kapacitu.
- **Presúvanie zberných nádob na separovaný odpad z ich pôvodných stojísk alebo ich poškodenie vandalmi –** toto konanie spôsobuje zvýšené náklady na opravu zberných nádob.
- **Zberové spoločnosti odmietajú zbierať niektoré odpady –** starostovia zaznamenali sťažnosti obyvateľov, ktorí sa sťažovali, že im odpady neboli odvezené, väčšinou išlo o plasty väčších

rozmerov, ako plastový záhradný nábytok, ale aj detské hračky alebo silno znečistené plasty.

Obr. 1 Tabuľa so zákazom v obci Machulince
Zdroj: Gduľová, 2021

Obr. 2 Preplnená zberná nádoba na papier a lepenku v obci Tekovské Nemce
Zdroj: Gduľová, 2021

Záver

Informácie z dotazníkového prieskumu a z riadeného rozhovoru možno použiť v spolupráci so samosprávami a možno ich porovnať s prieskumom realizovaným v iných oblastiach. Získané informácie je možné zahrnúť do plánovacích procesov v obciach, ktoré zohľadnia špecifiká sídel.

Pozitívnym zistením je, že obce sa v separácií odpadov postupne zlepšujú, čím sa zvyšuje miera recyklácie odpadov, prispieva sa k ochrane prírodných zdrojov a znižujú sa náklady na nakladanie s odpadmi. Samosprávy vo všeobecnosti nepredpokladajú zníženie celkového množstva odpadu, ale odklon od zneškodňovania smerom k materiálovému zhodnocovaniu odpadov. Úroveň separácie je ovplyvnená mnohými faktormi, infraštruktúrou, správaním jednotlivcov, motiváciu zo strany samosprávy.

Veľmi dôležitou súčasťou separácie odpadov sú obyvatelia obce, tí musia byť dostatočne informovaní o zámeroch obce v oblasti nakladania s odpadmi. Takéto informovanie obce väčšinou vykonávajú prostredníctvom letákov, novín, seminárov, prednášok a podobne. Všetky tieto aktivity sú realizované v spolupráci s Organizáciami zodpovednosti výrobcov ELEKOS, ENVI – PAK, a. s., ASEKOL SK s.r.o. Pri takýchto aktivitách musia samosprávy brať do úvahy aj vek cieľovej skupiny.

Obce čelia rôznym problémom, medzi najčastejšie vyskytujúce problémy zaraďujeme: tvorbu nelegálnych skládok odpadov a odhadzovanie odpadu na verejných miestach, čo potvrdil aj prieskum v meste Nitra [31].

Ďalšími problémami sú nízka miera separácie jedlých olejov a tukov, viacvrstvových kombinovaných materiálov a šatstva; umiestňovanie odpadu vedľa zberných nádob; vkladanie nevhodného odpadu do nádob na separovaný zber; zapĺňanie objemu zberných nádob nestlačenými plastovými fľaškami a tetrapakmi; zámenu farieb zberných nádob a vriec na separovaný odpad; nedostatočnú kapacitu zberných nádob a ich presúvanie; odmietanie niektorých druhov odpadov zberovou spoločnosťou. Samosprávy sa usilujú tieto problémy riešiť efektívnymi nápravnými opatreniami.

Hlavným menovateľom všetkých aktivít v odpadovom sektore je minimalizácia negatívnych dopadov vzniku a nakladania s odpadmi na ľudské zdravie a životné prostredie [32].

Poďakovanie

Touto cestou chcem poďakovať svojej školiteľke RNDr. Milene Moyzeovej, PhD. za odborné rady a spoluprácu pri písaní príspevku, ďalej zúčastneným starostom a obyvateľom obcí Mikroregiónu.

Príspevok je výsledkom riešenia projektu VEGA 2/0011/21 Krajinnoekologické aspekty zelenej a modrej infraštruktúry pri tvorbe optimálneho priestorového základu ekologicky stabilných plôch v urbanizovanej krajine. Vedeckej grantovej agentúry Ministerstva školstva, vedy, výskumu a športu SR a Slovenskej akadémie vied.

Použitá literatúra

[1] ABDULLAH, H. et al. 2015. The impact of environmental quality on public health expenditure in Malaysia. Universiti Utara Malaysia, Malaysia. In. Asia Pacific Journal of

Advanced Business and Social Studies. ISBN: 9780994365675. 2015. Volume 2. Issue: 2

[2] MAJCHROWSKA, S., MIKOŁAJCZYK, A., FERLIN, M. et al. 2022. Deep learning-based waste detection in natural and urban environments. [online]. Waste Management, Volume 138, 2022, Pages 274-284, ISSN 0956-053X. [cit. 2023-3-8]. Dostupné z: https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0956053X21006474

[3] ANDERSON, R.F. 1987. Solid waste and public health. In: Greenberg, M. (ed.) Public Health and the Environment: The United States Experience. New York, NY: Guilford Press, pp. 173-204.

[4] MUNEEB, S. M. et al. 2018. Decentralized bi-level decision planning model for municipal solid waste recycling and management with cost reliability under uncertain environment. [online]. Sustainable Production and Consumption, Volume 16, 2018, Pages 33-44, ISSN 2352-5509, [cit. 2023-3-7]. Dostupné z: https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S2352550918301660

[5] MAJCHROWSKA, S. et al. 2022. Deep learning-based waste detection in natural and urban environments. [online]. Waste Management, Volume 138, 2022, Pages 274-284, ISSN 0956-053X. [cit. 2023-3-8]. Dostupné z: https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0956053X21006474

[6] LI, W.C., TSE, H.F., FOK, L. 2016. Plastic waste in the marine environment: A review of sources, occurrence and effects. [online]. Waste Science of The Total Environment, Volumes 566–567, 2016, ISSN 0048-9697. [cit. 2023-3-1]. Dostupné z: https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0048969716310154

[7] https://www.e-obce.sk/, E-OBCE.sk

[8] ŠTATISTICKÝ ÚRAD SLOVENSKEJ REPUBLIKY. 2022. *Počet obyvateľov podľa pohlavia - obce (ročne).* [cit. 2022-4-4] Dostupné na internete: <http://datacube.statistics.sk/#!/view/sk/VBD_DEM/om7101rr/v_om7101rr_00_00_00_sk>

[9] https://www.finstat.sk/Finstat®, 2023

[10] https://sk.mapy.cz/© Seznam.cz, a.s., 2023

[11] SALVADOR, M., PANO, E. 2018. Mayors Facing Local Government Reforms: From municipal organization leadership to public management transformation processes. Revista Española de Ciencia Política, 46, 103-127.

[12] MOŇOK, B. 2012. Predchádzanie vzniku a triedenie komunálnych odpadov – Príručka pre samosprávy. Priatelia Zeme – SPZ, 2012. 35 s.

[13] TADESSE, T., RUIJS, A., HAGOS, F. 2008. Household waste disposal in Mekelle city, Northern Ethiopia. [online]. Waste Management, Volume 28, Issue 10, 2008, Pages 2003-2012, ISSN 0956-053X. [cit. 2023-2-28]. Dostupné z: https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0956053X07002723

[14] KEDZIERSKI, M. et al. 2020. Why is there plastic packaging in the natural environment? Understanding the roots of our individual plastic waste management behaviours. [online]. Science of The Total Environment, Volume 740, 2020, 139985, ISSN 0048-9697. [cit. 2023-2-28]. Dostupné z: https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0048969720335051

[15] EUROPEAN PARLIAMENTARY RESEARCH SERVICE. 2017. Towards a circular economy - Waste management in the EU. [online]. Brussels, European Union. 2017. [cit. 2023-2-28]. Dostupné z: https://www.europarl.europa.eu/RegData/etudes/STUD/2017/581913/EPRS_STU%282017%29581913_EN.pdf

[16] INTERNATIONAL FINANCE CORPORATION. 2014. Waste in Russia, Garbage or valuable resource? Scenarios for developing the municipal solid waste management sector. 2014. [online]. [cit. 2023-3-8]. Dostupné z: https://www.ifc.org/wps/wcm/connect/topics_ext_content/ifc_external_corporate_site/sustainability-at-ifc/publications/publications_report_waste_in_russia

[17] KAMOEN, C., KARAHANOGLU, A. 2021. Citizen profiles of residual waste separation behaviour. Proceedings of the Design Society, 1. 2021

[18] DAVIES, N. T., NDEBELE, S. K. 2016. The Usefulness of Including Women in Household Solid Waste Management: A Case Study of Dzivaresekwa High Density Suburb, Harare. IOSR Journal of Humanities and Social Science. Vol. 21. Pg 92-108

[19] DEPARTMENT OF ENVIRONMENT AND CLIMATE CHANGE NSW. 2007. Annual Report 2007-08. A healthy environment for life, 2007.

[20] BÁREKOVÁ, A., SKLENÁR, Š., TÁTOŠOVÁ, L. 2010. Metodika nakladania s tuhým komunálnym odpadom v podmienkach vidieckej zástavby, SPU Nitra, 2010, 126 s.

[21] INTERNATIONAL FINANCE CORPORATION. 2014. Waste in Russia, Garbage or valuable resource? Scenarios for developing the municipal solid waste management sector. 2014. [online]. [cit. 2023-3-5]. Dostupné z: https://www.ifc.org/wps/wcm/connect/topics

_ext_content/ifc_external_corporate_site/sustainability-at-ifc/publications/publications_report_waste_in_russia
[22] TAUŠOVÁ, M. et al. 2020. Analysis of Municipal Waste Development and Management in Self-Governing Regions of Slovakia. Košice: Fakulta baníctva, ekológie, riadenia a geotechnológií Technickej univerzity, 2020.
[23] KEDZIERSKI, M. et al. 2020. Why is there plastic packaging in the natural environment? Understanding the roots of our individual plastic waste management behaviours. [online]. Science of The Total Environment, Volume 740, 2020, 139985, ISSN 0048-9697. [cit. 2023-3-3]. Dostupné z: https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0048969720335051
[24] ŠEĎOVÁ, B., HALUŠ, M. 2016. Hory nelegálnych smetí. O príčinách vytvárania čiernych skládok na Slovensku. Inštitút Environmentálnej politiky. [online]. Ministerstvo Životného prostredia SR. [cit. 2023-2-2]. Dostupné z: http://www.minzp.sk/files/iep/01_2016_nelegalne_skladky.pdf
[25] XU, L. et al. 2017. Understanding Household Waste Separation Behaviour: Testing the Roles of Moral, Past Experience, and Perceived Policy Effectiveness within the Theory of Planned Behaviour, School of Public Affairs, Zhejiang University, Hangzhou, China, 2017
[26] HANDAYANI, D. et al. 2018. How does household characteristics influence their waste management? [online]. Faculty of Economics and Business, Universitas Indonesia, 2018. . [cit. 2023-2-2]. Dostupné z: https://www.e3s-conferences.org/articles/e3sconf/abs/2018/49/e3sconf_icsolca2018_06005/e3sconf_icsolca2018_06005.html
[27] BRANDON, J., JONES, W., OHMAN, M. D. 2019. Multidecadal increase in plastic particles in coastal ocean sediments. Science Advances. 5. eaax0587.
[28] KEDZIERSKI, M. et al. 2020. Why is there plastic packaging in the natural environment? Understanding the roots of our individual plastic waste management behaviours. [online]. Science of The Total Environment, Volume 740, 2020, 139985, ISSN 0048-9697. [cit. 2023-3-3]. Dostupné z: https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0048969720335051
[29] O'CONNELL, E. J. 2011. Increasing public participation in municipal solid waste reduction. Geographical Bulletin, 52(2), 2011. 105-118 s.
[30] INŠTITÚT ENVIRONMENTÁLNEJ POLITIKY. 2019. Spravodlivé odpady Analýza vplyvov zavedenia množstvového zberu na Slovensku. 2019
[31] Pucherová, Z.; Jakab, I.; Báreková, A.; Králová, J. 2021. Streamlining the Municipal Waste Management System in the City of Nitra (Slovak Republic) Based on a Public Survey. *Sustainability* 2021, *13*, 13992.
[32] GDUĽOVÁ, D. 2020. Zhodnotenie Odpadového Hospodárstva V Obci Obyce. Bakalárska práca (Bc.). Nitra : UKF
[33] Plány odpadového hospodárstva obcí Mikroregiónu

PRÍLOHA A

Tabuľka 1 Vývoj miery separácie v roku 2016 (v kg na obyvateľa)

	Batérie a akumulátory	BRKRO	Vyrad. zariadenia obsah. chlórfluór. uhľovodíky	Elektro odpad (N)	Elektro odpad (O)	Jedlé oleje a tuky	Kovy	Obaly z kovu	Papier a lepenka	Plasty	Sklo	Šatstvo	Textílie	VKM
Čaradice	0	0	0	0	0	0	0	0	0,1	4,471	10,778	0	0	0
Hostie	0,04	1,367	1,186	0,818	0,614	0	0	0	3,846	4,664	2,905	0	0	0
Jedľové Kostoľany	0	1,384	0,127	0	0	0	0	0	5,522	2,314	10,425	0	0	0
Machulince	0	1,186	0,847	0,579	0,401	0,124	0	0	8,769	5,495	13,059	0	0	0
Obyce	0	0,99	0,631	0,498	0,233	0	0	0	7,635	6,977	5,747	0	0	0
Skýcov	0	0,873	0	0	0	0	0	0	6,16	5,359	6,694	0	0	0
Tekovské Nemce	0	0	0,674	0,271	0	0	0	0	6,948	7,06	7,294	0	0	0
Topoľčianky	0	0,636	0,5	0,65	0,31	0,068	0,215	0	12,906	3,821	8,993	6,53	0	1,7
Žikava	0	0,143	0	0	0,672	0	0	0	3,186	10,096	11,554	3,69	0	0
Žitavany	0	0,652	0,414	0,679	0,356	0	0	0	3,76	6,895	4,588	0	0	0

Spracovala: Gduľová 2023, Zdroj: [33]

Tabuľka 2 Vývoj miery separácie v roku 2020 (v kg na obyvateľa)

	Batérie a akumulátory	BRKRO	Vyrad. zariadenia obsah. chlórfluór. uhľovodíky	Elektro odpad (N)	Elektro odpad (O)	Jedlé oleje a tuky	Kovy	Obaly z kovu	Papier a lepenka	Plasty	Sklo	Šatstvo	Textílie	VKM
Čaradice	0,03	0	0,4	0,24	4,391	0,2	79,641	0,539	13,878	16,806	17,764	0,359	0	0,119
Hostie	0	1,189	0,371	0,118	2,968	0,134	50,927	0,371	38,044	13,415	12,369	0,6	0	0,32
Jedľové Kostoľany	0	2,297	0,698	0,966	0	0,011	77,815	0	16,036	5,372	22,297	0	0	0
Machulince	0	0,3	0,381	0,218	4,233	0,136	18,292	0,281	7,629	14,905	12,606	0,3	0	0,054
Obyce	0	0,618	0,775	0,276	3,945	0,0065	36,252	0,25	6,864	11,177	11,591	1,065	0	0,039
Skýcov	0	0,353	0	2,187	0,83	0,053	0,38	0	6,27	19,056	15,778	3,536	0	0,062
Tekovské Nemce	0	0	0,545	0,646	1,553	0,086	9,704	0	8,716	10,119	9,762	2,012	0	0,054
Topoľčianky	0,008	0,18	0,65	0,793	2,006	0,066	61,032	0,412	22,707	13,351	12,528	2,585	0	1,766
Žikava	0	0,38	0	1,696	2,289	0,127	3,156	0,361	8,278	26,027	17,87	3,213	0	0,114
Žitavany	0	0,56	0,381	0,492	1,129	0	38,833	0	24,396	14,094	12,54	1,402	0,16	0,067

Spracovala: Gduľová 2023, Zdroj: [33]

Stanovenie vlhkosti stavebných materiálov pomocou časovej reflektometrie

Determination of Moisture of Building Materials Using Time Domain Reflectometry

Dominika Mikušová[1,2]
Školiteľ: Anton Trník[3] – Zbigniew Suchorab[4]
[1,3]Katedra fyziky, FPVaI UKF v Nitre, Tr. A. Hlinku 1, 949 01 Nitra,
[2,4]Department of Water Supply and Wastewater Treatment, Faculty of Environmental Engineering, Lublin University of Technology, Nadbystrzycka 40B, 20-618 Lublin, Poland
[1]dominika.mikusova@ukf.sk, [3]atrnik@ukf.sk, [4]z.suchorab@pollub.pl

Abstrakt

V dnešnej dobe majú viaceré budovy problém s vysokou vlhkosťou. Vysoká vlhkosť negatívne pôsobí nie len na samotnú konštrukciu budov, ktorú môže poškodiť, ale aj na zdravie osôb, ktoré vo vnútorných prostrediach trávia väčšinu svojho času. Preto je nevyhnutné odstrániť prebytočnú vlhkosť zo stavebných materiálov. Je nesporné, že požiadavka na odstránenie prebytočnej vlhkosti je spojená s jej detekciou. Nepriama metóda merania vlhkosti poréznych materiálov je časová reflektometria (Time Domain Reflectometry - TDR). TDR metóda bola využívaná predovšetkým na meranie vlhkosti pôdy. Dnes je TDR metóda široko využívaná na určenie vlhkosti poréznych materiálov používaných v stavebníctve. TDR metóda je založená na meraní permitivity pomocou doby šírenia elektromagnetických signálov. Cieľom tejto práce je popis meracieho zariadenia, používaných sond a fyzikálneho princípu TDR metódy. Práca taktiež prináša merania permitivity vzduchu, vody a porézneho materiálu s rôznym obsahom hmotnostnej vlhkosti a interpretáciu nameraných údajov.

Kľúčové slová: TDR, pórovité materiály, stavebné materiály, vlhkosť, permitivita

Abstract

Nowadays, many buildings have a problem with high humidity. High humidity has a negative effect no only on the construction of the building itself, which it can damage, but also on the health of people, who spend the most of their time indoors. Therefore, it is necessary to remove excess moisture from building materials. It is undoubted, that the requirement to remove excess moisture is linked to its detection. Indirect method for measuring the moisture content of porous materials is the Time Domain Reflectometry (TDR). In the past, the TDR method was primarily used to measure soil moisture, but nowadays it is also widely used to determine the moisture content of porous materials used in construction. The method is based on the measurement of permittivity using the time propagation of electromagnetic signal. The aim of this paper is the description of the measuring device, its probes, and discussion of the physical background of the presented method. The paper also describes measurements of the permittivity of air, water, and porous materials with different mass moisture content and interpret the measured data.

Key Words: TDR, porous materials, building materials, moisture, permittivity

Úvod

Pórovité materiály, ktoré sú široko využívané v stavebníctve, sa v suchom stave prakticky nevyskytujú [1]. Voda, ktorá je obsiahnutá v materiáloch, sa najčastejšie vyskytuje vo formách ako voľná voda, vodná para a fyzikálne alebo chemicky viazaná voda. Voľná voda je zvyšková voda, ktorá nie je viazaná na pevný povrch látky a nachádza sa v póroch a dutinách. Vodná para sa taktiež nachádza v póroch, kde dochádza k jej transportu difúziou. Fyzikálne viazaná voda je viazaná sorpčnými silami. Chemicky viazaná voda, označovaná tiež ako nepohyblivá voda, je voda ktorá je v materiáli viazaná chemickými väzbami, príkladom je dihydrát síranu vápenatého (sadra) [2].

Obsah vlhkosti v stavebných materiáloch môže byť vyjadrená viacerými veličinami. V stavebnej fyzike je najčastejšie používaná hmotnostná vlhkosť w_m materiálu v %, určená ako

$$w_m = \frac{m_w - m_d}{m_d} \cdot 100\ \%, \quad (1)$$

kde m_w je hmotnosť materiálu vo vlhkom stave a m_d je hmotnosť materiálu v suchom stave [1]. Vysoký obsah vlhkosti stavebných materiálov so sebou prináša konštrukčné, ale aj zdravotné a hygienické problémy [3]. Je preto žiaduce dokázať určiť vlhkosť v stavebných materiáloch.

1 Problémy súvisiace s vlhkosťou v stavebných materiáloch

Javy ako je adsorpcia vodnej pary, kondenzácia ku ktorej dochádza v dôsledku difúzie vodnej pary alebo infiltrácia vody do stavebných materiálov ovplyvňujú tepelné vlastnosti [4]. Experimentálne výsledky preukázali, že zvyšovanie vlhkosti v poréznych stavebných materiáloch vedie k výraznému zvýšeniu tepelnej vodivosti [5,6]. Vyššia tepelná vodivosť spôsobuje zhoršenie energetickej bilancie budov, čo má za následok vyššiu spotrebu energie na vykurovanie a tým aj negatívny ekonomický a ekologický dopad.

Podľa Svetovej zdravotníckej organizácie (WHO), kvalita ovzdušia vo vnútorných priestoroch ovplyvňuje ľudské zdravie viac ako kvalita ovzdušia vonku [7]. Toto je spôsobené fenoménom posledných desaťročí, keď ľudstvo trávi až okolo 70 % svojho času vo vnútorných priestoroch. Vlhké stavebné materiály predstavujú živnú pôdu pre plesňové kultúry. Relatívna vlhkosť vzduchu nad 75 % poskytuje optimálne podmienky pre rozvoj plesňových kultúr, ktoré značne prispievajú k degradácii budov [3]. Metabolické produkty plesní a inhalovanie sporov predstavujú zdravotné riziko pre populáciu. Najčastejšie sú to respiračné problémy (astma) a kožené problémy (atopická dermatitída) [3,8]. Čoraz častejší problém je syndróm chorých budov (z ang. Sick-building syndrome), ktorý je okrem iného spájaný s vysokou vlhkosťou v prirodzene nevetraných budovách [9].

Okrem vplyvu na zdravie má vlhkosť vplyv aj na samotnú konštrukciu budov. Vyšší obsah vlhkosti v materiáli ako určité kritické limity môže spôsobiť znehodnotenie materiálu, napr. chemickú degradáciu a rozpúšťanie materiálov, poškodenie štruktúry zamŕzaním a následným rozmŕzaním vody a kryštalizáciu solí. Zmeny obsahu vlhkosti vedú tiež k rozmerovým zmenám. Všetky defekty materiálu máju negatívny vplyv na mechanické vlastnosti, a preto ich pevnosť klesá [10,11].

S odstránením nežiaducich problémov je spojené hodnotenie stavu vlhkosti a jeho vplyv na úžitkové vlastnosti materiálov. Veľká väčšina procesov degradácie je spojená s transportom kvapalín a plynov, pričom je pre nich rozhodujúca úroveň vlhkosti. Na meranie vlhkosti stavebných materiálov a budov boli vyvinuté rôzne metódy. Meracie metódy sa delia na priame a nepriame [11]. Pri nepriamych metódach je meraná taká vlastnosť materiálu, ktorá je závislá od obsahu vlhkosti, (napr. elektrický odpor, permitivita atď.). Všetky nepriame metódy si vyžadujú kalibráciu. Výhodou nepriamych metód je relatívna rýchlosť merania, pomerne dobrá presnosť a tiež cena. Nevýhodou je, že namerané hodnoty môžu byť ovplyvnené aj inými faktormi ako je napr. salinita alebo teplota. Príkladom často používanej nepriamej metódy na stanovenie obsahu vlhkosti v stavebných materiáloch je dielektrická technika Time Domain Reflectometry [11].

2 Technika TDR

V minulosti bola technika TDR často používaná na stanovenie vlhkosti pôdy [12]. Dnes je technika široko využívaná aj na stanovenie vlhkosti stavebných materiálov [13-15]. Vlhkosť materiálu je stanovená pomocou permitivity. Stavebné materiály sú tvorené troma fázami, a to plynná v podobe vzduchu v póroch, pevná fáza matrice a voda v póroch a dutinách. Výsledná permitivita materiálu závisí od permitivity jednotlivých fáz a ich podielu v materiáli. Voda má hodnotu permitivity 80 a vzduch sa vyznačuje permitivitou s hodnotou 1. Materiály bežne využívané v stavebníctve sa vyznačujú hodnotou permitivity približne do 15. Často využívanými materiálmi sú napríklad cement s permitivitou 2,7, betón (5,4), malta (3,9), sadra (6,5) alebo kremeň (4,5). Veľký rozdiel v hodnotách permitivity vody v porovnaní s inými fázami je spojený s asymetrickým rozložením nábojov v molekule vody [15]. Práve vďaka rozdielu medzi hodnotami je možné pomocou permitivity určiť vlhkosť materiálu. Metóda TDR určuje permitivitu meraného média pomocou elektród (sond) vložených do skúmaného objektu [16].

Permitivita ε_ω prostredia, ktoré má nenulovú elektrickú vodivosť je vyjadrená ako:

$$\varepsilon_\omega = \varepsilon'_\omega - i\left(\varepsilon''_\omega + \frac{\sigma_0}{\varepsilon_0 \omega}\right), \quad (2)$$

kde ε'_ω je reálna časť permitivity prostredia pri frekvencii ω, ε''_ω je imaginárna časť permitivity

prostredia pri frekvencii ω, σ_0 je merná elektrická vodivosť pre nízke frekvencie [S/m], ε_0 je permitivita vákua (ε_0 = 8,85·10^{-12} F/m) a ω je frekvencia externe aplikovaného poľa [s^{-1}]. Pri nízkych frekvenciách dochádza k stratám energie elektrického poľa v dôsledku iónovej vodivosti. TDR technika však pracuje pri vyšších frekvenciách (približne 1 GHz), a preto sa predpokladá, že elektrická vodivosť významne neovplyvňuje namerané hodnoty permitivity [15].

Permitivita porézneho materiálu ε je určená ako:

$$\varepsilon = \left(\frac{c}{v}\right)^2, \tag{3}$$

kde c je rýchlosť svetla vo vákuu a v je rýchlosť šírenia elektromagnetického impulzu pozdĺž meracích tyčí [m/s].

Vlny sa šíria cez koaxiálny kábel k TDR sonde, ktorá je zavedená do materiálu. Časť elektromagnetickej vlny sa na začiatku sondy odrazí kvôli rozdielnej impedancii medzi káblom a sondou. Zvyšná časť vlny sa šíri na koniec sondy, kde sa opäť odrazí a putuje naspäť. V praxi je využívaný vzťah pre určenie permitivity porézneho materiálu ε pomocou dĺžky sondy L:

$$\varepsilon = \left(\frac{c \cdot t_p}{2L}\right)^2, \tag{4}$$

kde t_p je čas šírenia signálu pozdĺž tyče meracej sondy. V menovateli je násobok dĺžky z dôvodu, že impulz sa šíri pozdĺž tyče v oboch smeroch [15,16].

Signál nameraný takýmto spôsobom je následne nutné previesť na objemový obsah vody. Na prevod sa používajú fyzikálne alebo empirické modely. Fyzikálne modely zaisťujú nezávislosť od kalibračných meraní, ale mnohokrát je ich matematická formulácia veľmi komplikovaná. Empirické modely sú vytvorené na základe laboratórnych meraní koreláciou výsledkov s gravimetrickou metódou. Empirické modely môžu byť univerzálne alebo individuálne [15]. Za najčastejšie využívaný univerzálny model je označovaný Toppov model [17]

$$\theta = \frac{-530 + 292\varepsilon - 5{,}5\varepsilon^2 + 0{,}043\varepsilon^3}{10000}, \tag{5}$$

kde θ [cm^3/cm^3] je objemový obsah vody v testovanej vzorke a ε je permitivita určená pomocou TDR. Tento univerzálny model sa vyznačuje pomerne veľkou neistotou merania (približne 0,05 - 0,15 cm^3/cm^3]. Ďalej sa používajú semiempirické vzorce , a to vďaka ich univerzálnosti a presnosti, pretože zahŕňajú aj materiálové parametre skúmanej vzorky, napr. model od Malického a kol. [18]:

$$\theta = \frac{(\varepsilon^{0,5} - 0{,}819 - 0{,}168\rho - 0{,}159\rho^2)}{7{,}17 + 1{,}18\rho}, \tag{6}$$

kde ρ je hustota skúmaného materiálu v suchom stave [g/cm^3]. Preferované sú predovšetkým individuálne modely, ktoré berú do úvahy aj parametre súvisiace s meraným materiálom, použitými snímačmi alebo výskumným postupom [15]. Napríklad pre pórobetón s hustotou 500 kg/m^3 uviedli autori v práci [19] individuálny kalibračný vzorec:

$$\theta = -0{,}007\varepsilon^2 + 0{,}0336\varepsilon + 0{,}00202 \tag{7}$$

Aplikovanie jednotlivých kalibračných empirických vzorcov minimalizuje neistotu, s akou je určený objemový obsah vody.

3 Popis zariadenia

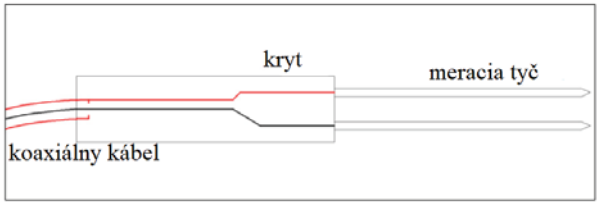
Dnes je známych viacero typov a modelov TDR multimetrov. Na Obr. 1 je ukážka multimetra od firmy ETest, ktorý je množné použiť na meranie v teréne, ale aj v laboratórnych podmienkach. Ide o osemkanálový TDR prístroj, ktorý disponuje interným zásobníkom dát [20].

TDR multimeter generuje elektromagnetické signály a následne meria čas, ktorý uplynie medzi vyslaním signálu a jeho opätovným návratom. Meracie zariadenie je so sondou spojené koaxiálnym káblom [15].

Obr. 1 TDR/MUX/mpts – Laboratórny TDR merací prístroj na určenie vlhkosti, salinity, kapilárneho tlaku vody a teploty poréznych telies od firmy ETset, Lublin, Poľsko [20].

TDR sonda predstavuje vodič elektromagnetických impulzov. Bolo vyvinutých niekoľko dizajnov tejto sondy. Typicky je využívaná sonda s dvomi meracími tyčami (vodičmi), ktoré sú zavedené do vzorky.

Schéma sondy používanej pri TDR technike je na Obr.2.

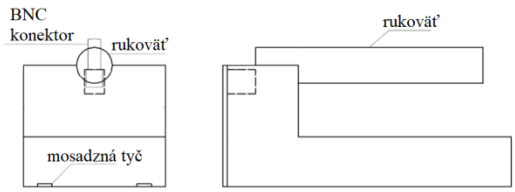


Obr. 2 Schéma TDR sondy [14].

Začiatok samotnej sondy predstavuje koaxiálny kábel, ktorý je spojený s meracím zariadením. Kábel je v dielektrickom kryte upevnený na meracie tyče [14]. Na Obr. 3 je fotografia TDR sondy, ktorou je možné merať vlhkosť, teplotu alebo salinitu aj v externom prostredí [21]. Výkon sondy je závislý od tvaru meracích tyčí, ich vzájomnej vzdialenosti, ich dĺžky a od materiálu použitého na ich výrobu [13]. Keďže sa sondy používajú vo vlhkom prostredí s vysokou salinitou, na ich výrobu je najčastejšie používaná nehrdzavejúca oceľ.

Obr. 3 FP/mts - TDR sonda [21].

Práce Suchorab a kol. [13-15] sa venujú neinvazívnym povrchovým TDR sondám. Ukážka schematického náčrtu takejto sondy je na Obr. 4.



Obr. 4 Schéma povrchovej TDR sondy [13].

Sonda je vyrobená z polyoxymetylénu, ktorého zdanlivá permitivita má hodnotu 3,8. Meracie prvky sú vyrobené z mosadzných, plochých tyčí. Rovnako ako u prvej prezentovanej TDR sonde, aj tu zabezpečuje prenos informácií zo sondy do meracieho zariadenia koaxiálny kábel. Na sondu je kábel pripevnený BNC konektorom. Sonda je schopná neinvazívnym spôsob určiť vlhkosť materiálu do hĺbky približne 30-50 mm (v závislosti od vzdialenosti meracích tyči). Ich výhodou je použitie priamo v terénne bez nutnosti narušenia povrchu skúmanej vzorky [13].

Obr. 5 Povrchová TDR sonda [15].

Pomocou neinvazívnej sondy sa dajú uskutočniť aj merania vlhkosti tvrdých poréznych médií [15]. Fotografia neinvazívnej sondy je na Obr. 5.

4 Materiál a metódy

Pomocou TDR techniky bola stanovená permitivita vzduchu, vody, a následne troch vzoriek autoklavovaného pórobetónu s rôznym obsahom vlhkosti– (suchý pórobetón, ktorý bol skladovaný pri izbovej teplote v laboratóriu, pórobetón s obsahom vody približne 10 % a pórobetón s obsahom vody približne 30 %).

Na meranie bola použitá FP/mts - TDR sonda od firmy ETest, Lublin. Výrobca udáva dĺžku meracích tyčí 10 cm. Sonda bola následne vložená do vzoriek (Obr. 6) a bola stanovená permitivita prostredia.

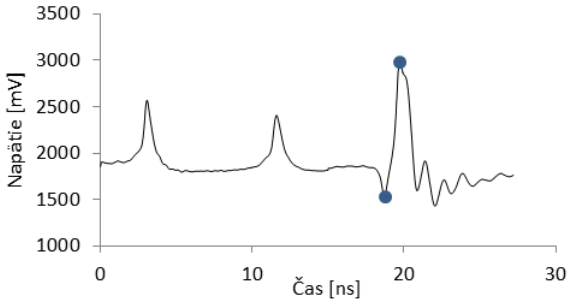
Obr. 6 FP/mts - TDR sondy zavedené do meraných vzoriek.

Počas merania bol zisťovaný čas šírenia signálu pozdĺž tyče meracej sondy. Pomocou rovnice (4) bola vypočítaná permitivita skúmaného prostredia a vzoriek.

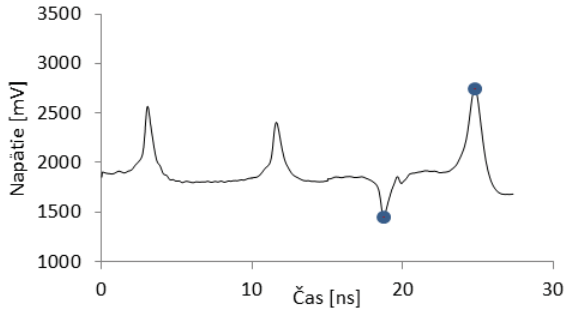
5 Výsledky a diskusia

Priebeh šírenia signálu v jednotlivých prostrediach a vzorkách je na Obr. 7 až Obr. 11. Na priebehu TDR signálu v závislosti od času sú pozorované najskôr dva

píky, ktoré sa vyznačujú rovnakou polohou pri všetkých meraniach. Je to z dôvodu, že sú výsledkom cieleného narušenia kontinuity kábla, a teda nie sú závislé od meraného prostredia. Tieto kontrolné píky, ktoré slúžia na definovanie časovej stupnice priebehu signálu sú dôležité pri kalibrácii snímačov [15]. Po tejto takpovediac kontrolnej oblasti nasledujú píky, ktoré sú rozhodujúce pre výpočet permitivity. Prvý negatívny vrchol je referenčný ukazovateľ a spôsobuje ho rezistor pripojený k prenosovému vedeniu (začiatok meracích tyčí). Druhý označený vrchol predstavuje ukončenie sondy. Medzi týmito dvoma vrcholmi sa môže objaviť ďalší vrchol, ktorý je zapríčinený prechodom medzi krytom sondy a meraným materiálom. Tento pík však nepredstavuje správny ukazovateľ pri vyhodnocovaní času, pretože v niektorých podmienkach (suchý alebo takmer suchý materiál) nemusí byť viditeľný alebo je reflexia len veľmi malá (malý rozdiel medzi permitivitou sondy a meraného prostredia). Preto sa pri meraní nepoužíva a meria sa časový rozdiel medzi prvým (negatívnym) a posledným vrcholom. Čas za ktorý prejde signál od rezistora k meranému materiálu sa nazýva „dead time“ a odpočítava sa od celkového času šírenia signálu.

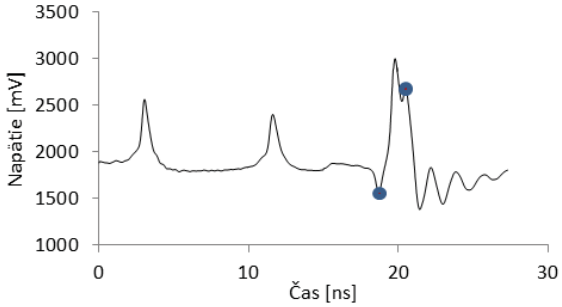


Obr. 7 Priebeh TDR signálu vo vzduchu.

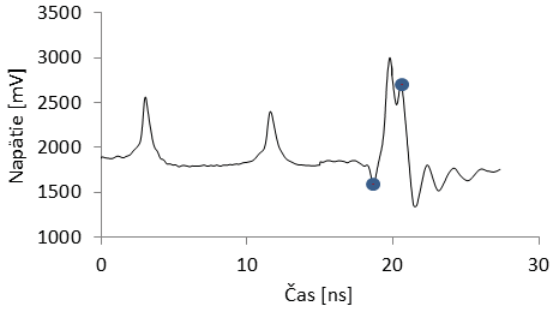


Obr. 8 Priebeh TDR signálu vo vode.

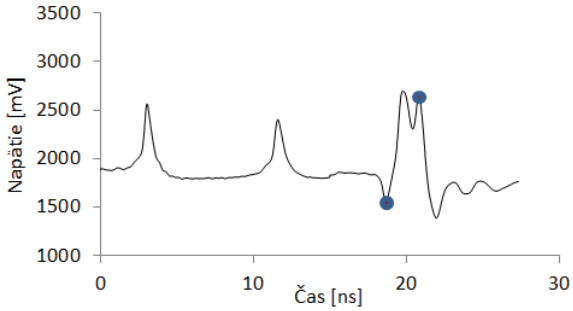
V prípade priebehu TDR signálu vo vzduchu (Obr. 7) je vzdialenosť medzi vrcholmi píkov viditeľne kratšia ako pri priebehu TDR signálu vo vode (Obr. 8). Je to spôsobené tým, že v suchom médiu je permitivita nízka, a teda doba šírenia signálu je krátka. Zvýšením permitivity sa znižuje rýchlosť impulzu. Z toho dôvodu, by sa s vyšším obsahom vlhkosti mal interval medzi začiatkom a koncom sondy zvyšovať. Tento predpoklad bol potvrdený a s prídavkom vlhkosti v materiáli sa časový interval zvyšoval (Obr. 9 až Obr. 11).



Obr. 9 Priebeh TDR signálu v suchom pórobetóne.



Obr. 10 Priebeh TDR signálu v pórobetóne s obsahom vody 10 %.



Obr. 11 Priebeh TDR signálu v pórobetóne s obsahom vody 30 %.

Meranie bolo zopakované päť krát, aby bolo možné hodnoty permitivity určiť aj s príslušnou smerodajnou odchýlkou. Určená hodnota permitivity je: 1,0685 ± 0,0052 pre vzduch, 79,8345 ± 0,0479 pre vodu, 1,8787 ± 0,0118 pre suchý pórobetón, 2,2794 ± 0,0148 pre pórobetón s obsahom vody 10 % a 3,9949 ± 0,0109 pre pórobetón obsahom vody 30 %.

Záver

Bol popísaný bol fyzikálny princíp merania TDR techniky, ktorou je možné určiť objemový obsah vody v skúmanom médiu. Sonda (nosič elektromagnetických impulzov) je zavedená do vzorky a meria sa čas šírenia elektromagnetickej vlny pozdĺž meracích tyčí. Pomocou doby šírenia a dĺžky meracích tyčí je možné vypočítať permitivitu skúmaného prostredia. Permitivita média je spojená s obsahom vody. S vyšším obsahom vody v materiáli sa hodnota permitivity zvyšuje. Pomocou modelov, či už empirických alebo fyzikálnych, je následne možné získanú hodnotu permitivity previesť na objemový obsah vody v materiáli.

Pomocou TDR techniky, boli určené hodnoty permitivity v rôznych materiáloch nasledovne: vzduch (1,0685 ± 0,0052); voda (79,8345 ± 0,0479); suchý pórobetón (1,8787 ± 0,0118); pórobetón s obsahom vody 10 % (2,2794 ± 0,0148); pórobetón s obsahom vody 30 % (3,9949 ± 0,0109). Bolo potvrdené, že s nárastom vlhkosti skúmaného materiálu permitivita narastá. Vzhľadom na viditeľný rozdiel hodnoty permitivity v rovnakom materiáli s rozdielnou hodnotou hmotnostnej vlhkosti je možné techniku TDR použiť aj meranie toku vody v poréznym médiách.

Poďakovanie

Táto práca bola podporená programom *NAWA STER Programme Internationalization of the Doctoral School of Lublin University of Technology – IDeaS of LUT*.

Použitá literatúra

[1] SVOBODA, Luboš a kol. 2013. Stavební hmoty. 3. vyd. Praha: Luboš Svoboda, 950 s. ISBN 978-80-260-4972-2.

[2] ILLSTON, J.M. – DOMONE, P.L.J. 2001. Construction Materials. 3rd ed. London and New York: Spon Press, 554 p. ISBN 0-203-47898-3.

[3] SUCHORAB, Zbigniew et al. 2019. A method for early detection and identification of fungal contamination of building materials using e-nose. In PLoS ONE, vol. 14, no. 4, https://doi.org/10.1371/journal.pone.0215179.

[4] SANDBERG, Per Ingvar. Effects of Moisture on the Thermal Performance of Insulating Materials. In TRECHSEL, Heinz R. – BOMBERG, Mark T. Moisture Control in Buildings. Baltimore: 2009, p. 38-53. ISBN 978-0-8031-7004-9.

[5] KOČÍ, Václav et al. 2017. Effect of Moisture Content on Thermal Properties of Porous Building Materials. In Int J Thermophys, vol. 38, no. 28, https://doi.org/10.1007/s10765-016-2164-8.

[6] CAMPBELL-ALLEN, D. et al. 1963. The thermal conductivity of concrete. In Magazine of Concrete Research, vol. 15, no. 43, pp. 39-48. ISSN 0024-9831.

[7] World Health Organization. 2009. WHO guidelines for indoor air quality: dampness and mould. Germany: Druckpartner Moser, p. 228. ISBN 978 92 890 4168 3.

[8] MENDELL, M.J., MACHER, J.M., KUMAGAI, K. 2018. Measured moisture in buildings and adverse health effect: A review. In Indoor Air, vol 28, no. 4, pp. 488-499, https://doi.org/10.1111/ina.12464.

[9] REDLICH, Carrie A., SPARER, Judy, CULLEN, Mark R. 1997. Sick-building syndrome. In The Lancet, vol. 349, no. 9057, pp. 1013-1016, https://doi.org/10.1016/S0140-6736(96)07220-0.

[10] STRAUBE, J.F. Moisture in buildings. In ASHRAE Journal. 2002, vol. 44, no. 1, pp. 15-19.

[11] NILSSON, Lars-Olof, 2018. Methods of Measuring Moisture in Building Materials and Structures. Cham: RILEM,280 p. ISBN 978-3-319-74231-1.

[12] LEDIEU, J. et al. 1986. A method of measuring soil moisture by time-domain reflectometry. In Journal of Hydrology vol. 88, no. 3–4, pp. 319-328, https://doi.org/10.1016/0022-1694(86)90097-1.

[13] SUCHORAB, Zbigniew et al. 2022. Determination of Time Domain Reflectometry Surface Sensors Sensitivity Depending on Geometry and Material Moisture. In Sensors. vol. 22, no. 3. https://doi.org/10.3390/s22030735.

[14] SUCHORAB, Zbigniew et al. 2020. Time Domain Reflectometry flat sensor for non-invasive monitoring of moisture changes in building materials. In Measurement, vol 165. DOI: 10.1016/j.measurement.2020.108091.

[15] SUCHORAB, Zbigniew 2016. Zastosowanie techniku Reflektometrii w domenie czasu do oceny stanu zawilgocenia przegród budowlanych. Lublin: Komitet Inżynierii Środowiska PAN, 191 p. ISBN: 978-83-63714-32-1.

[16] NOBORIA, K. 2001. Measurement of soil water content and electrical conductivity by time domain reflectometry: a review. In Computers and Electronics in Agriculture. Vol. 31, no. 3, pp. 213-237, https://doi.org/10.1016/S0168-1699(00)00184-8.

[17] TOPP, G.C., DAVIS, J.L. and Annan, A.P. 1980. Electromagnetic Determination of Soil Water Content: Measurements in Coaxial Transmission

Lines. In Water Resources Research, vol. 16, no. 3, pp. 574–582.
[18] MALICKI, M.A., PLAGGE, R., ROTH, C.H. 1996. Improving the calibration of dielectric TDR soil moisture determination taking into account the solid soil. In European Journal of Soil Science, vol. 47, pp. 357-366.
[19] SOBCZUK, Henryk, SUCHORAB, Zbigniew. Calibration of TDR instruments for moisture measurement of aerated concrete. In SKIERUCHA, Wojciech, WALCZAK, Ryszard T. Monitoring and Modelling the Properties of Soil as Porous Medium. Lublin: ALF-GRAF, 2005, p. 158 – 165. ISBN 83-87385-95-6.
[20] ETest: TDR/MUX/MPTS – Laboratory TDR device [online]. ETest [cit. 28.2.2023]. Dostupné z: https://www.e-test.eu/laboratory-meter.html
[21] ETest: Field TDR Probe [online]. ETest [cit. 27.2.2023]. Dostupné z: https://www.e-test.eu/field-tdr-probe.html

Hexakoordinovaný supramolekulový Co(II) komplex a vplyv vzdialeného substituenta na pomalú magnetickú relaxáciu

A hexacoordinated supramolecular Co(II) complex and the effect of a distant substituent on the slow magnetic relaxation

Zuzana Bielková[1] – Ján Moncoľ[2] – Ján Titiš[3] – Roman Boča[4]
Školiteľ: Cyril Rajnák[5]
[1,3,4,5]Katedra chémie , FPV UCM, Nám. J. Herdu 2, 917 01 Trnava,
[2]Oddelenie anorganickej chémie, FCHPT STU, Radlinského 2101/9, 812 37 Bratislava
[1] bielkova2@ucm.sk, [2] jan.moncol@stuba.sk, [3]jan.titis@ucm.sk, [4]roman.boca@ucm.sk, [5]cyril.rajnak@ucm.sk

Abstrakt

Hexakoordinovaný komplex [Co(*pydm*)$_2$](*mdbnz*)$_2$ bol pripravený a štruktúrne charakterizovaný. Komplex sa správa typicky ako systém do spinom S = 3/2 a parametrom štiepenia v nulovom boli s hodnotou D/hc ~ 50cm^{-1}. Merania AC susceptibility odhalili prítomnosť pomalej magnetickej relaxácie s tromi relaxačnými procesmi: v nízkofrekvenčej oblasti (LF), v strednej frekvenčnej oblasti (IF) a vysokofrekvenčnej oblasti (HF). Pri teplote T = 2 K a externom magnetickom poli B_{DC} = 0,25 T sú hodnoty relaxačných časov τ_{LF} = 282 ms, τ_{IF} = 3,1 ms, and τ_{HF} = 0,16 ms. Porovnanie s analogickým komplexom [Co(*pydm*)$_2$](*dnbz*)$_2$ ukazuje, že aj malé modifikácie v štruktúre SIM vedie k výrazným zmenám magnetických vlastností.

.

Kľúčové slová: jednoiónový magnet, Co(II) komplexy, supramolekulové štruktúry

Abstract

The hexacoordinated complex [Co(*pydm*)$_2$](*mdbnz*)$_2$ was prepared and structurally characterized. he complex behaves as an S = 3/2 spin systems with a considerable zero-field splitting parameter D/hc ~ +50 cm^{-1}. The AC susceptibility measurements show a slow magnetic relaxation with three relaxation channels: at the low-frequency (LF), intermediatefrequency (IF) and high-frequency (HF) domains. At T = 2,0 K and external field B_{DC} = 0,25 T the relaxation times of individual modes are τ(LF) = 282 ms, τ(IF) = 3.1 ms, and τ(HF) = 0,16 ms. Comparison with the analogous complex [Co(*pydm*)$_2$](*dnbz*)$_2$ shows that even small modifications in the SIM structure lead to significant changes in magnetic properties.

Key Words: single-ion magnet, Co(II) complexes, supramolecular structures

Úvod

V dnešnej modernej a rýchlej dobe je technologický pokrok nezastaviteľný. Medzi jednu z výziev budúcnosti patria pamäťové média s obrovskou kapacitou, ale zároveň malou veľkosťou zariadenia. Magnetoaktívne látky s nano-veľkosťou, ako sú napríklad jednomolekulové magnety (SMM, z angl. single-molecule magnet) a jednoiónové magnety (SIM, z angl. single-ion magnet) predstavujú jednu z možných ciest. Výskum v tejto oblasti je zameraný na študovanie magnetickej hysterézie, kvantového tunelovania magnetizácie ale aj pomalej magnetickej relaxácie pri nízkych teplotách a vypnutom magnetickom poli. Tieto javy pochádzajú z úrovne jednej molekuly, prípadne malého počtu molekúl, čo SMM a SIM zásadne odlišuje od klasických objemných magnetov ako sú AlNiCo alebo SmCo5, ktoré vyžadujú silné magnetické interakcie na veľké vzdialenosti. Ďalšími črtami sú interferencia Berryho fázy a kvantová koherencia. Takéto kvantovo-mechanické správanie, ktoré je pozorované v makroskopickom systéme robí zo SMM a SIM spojenie medzi klasickým (makroskopickým) svetom a kvantovým (mikroskopickým) svetom [1-2]. Práve výskyt pomalej magnetickej relaxácie je kľúčovým javom. Tá môže byť prirodzená alebo indukovaná vonkajším statickým magnetickým poľom. Pomalá reorientácia magnetických momentov po vypnutí magnetického poľa je typická len pre úzky okruh SMM. Prvotná predstava vedcov bola, že ideálny molekulový magnet má veľkú negatívnu hodnotu parametra štiepenia v nulovom poli D a vysokú hodnotu spinu S. V súčasnej dobe je však prítomnosť pomalej magnetickej relaxácie dobre zdokumentovaná aj pre systémy s malým spinom, ako napríklad Mn(IV) a Cu(II) so S = 1/2 a Ni(II) so S = 1, prípadne systémy s

malým alebo zanedbateľným *D*-parametrom. Pomalá magnetická relaxácia je taktiež prítomná v Co(II) komplexoch s pozitívnou hodnotou *D*-parametra. Jemná modifikácia ligandov, stérické efekty, krátke intermolekulové alebo supramolekulové kontakty tvoriace dimíry, oligoméry alebo reťazce môžu viesť k nepredvídateľnému spomaleniu alebo zrýchleniu pomalej magnetickej relaxácie [3-7].

1 Materiál a metódy

1.1 Chemikálie

Organické ligandy 2,6-dimetanolpyridín (98%), kyselina 4-metyl-3,5-dinitrobenzoová (98%), boli komerčne zakúpené (SIGMA ALDRICH). Ich ďalšia purifikácia nebola potrebná. Zdrojom centrálneho atómu bol $Co(C_2H_3O_2)_2 \cdot 4H_2O$ (99, 995%).

1.2 Použité techniky

Röntgenová štruktúrna analýza a zber údajov sa uskutočnila na difraktometri Stoe StadiVari s detektorom Pilatus3R 300K HPAD a mikrofokusovaným žiarením CuKα zo zdroja Xenocs Genix3D Cu HF pri *T* = 100 K, alebo AgKα žiarením zo zdroja Incoatec 2.0 High Brilliance pri rovnakej teplote. Štruktúra bola vykreslená pomocou balíka OLEX2 a determinovaná pomocou kryštalografického softvéru [8-14]. Geometria chromofóru bola vypočítaná pomocou programu SHAPE 2.1 [15]. Prvková analýza sa uskutočnila na prístroji Flash 2000 CHNS (Thermo Scientific). Teplota topenia bola stanovena termomikroskopickou metódou na Koeflerovom bloku. Vibrácie funkčných skupín a väzieb boli snímané v infračervenej oblasti (450 – 4000 cm^{-1}) na prístroji Nicolet 5700 s ATR nástavcom. Magnetické vlastnosti komplexu boli merané na prístroji SQUID magnetometer MPMS XL 7. Na meranie bol použitý DC mód detekcie.

1.3 Príprava komplexu $[Co(pydm)_2](mdbnz)_2$ (1)

Do 100 cm^3 kadičky s 20 cm^3 destilovanej vody sa pridá $Co(C_2H_3O_2)_2 \cdot 4H_2O$ (1 mmol) a nechá rozpustiť. 2,6-dimetanolpyridín (2 mmol) sa pridá do reakcie s ďalšími 10 cm^3 vody a reakcia sa intenzívne mieša 15 minút. Následne sa pridá kyselina 4-metyl-3,5-dinitrobenzoová (2 mmol), ktorá sa zmyje s 10 cm^3 vody. Reakčná zmes sa mieša pri 60 °C po dobu 2 hodín. Zmes sa prefiltruje cez skladaný filtračný papier a nechá sa voľne kryštalizovať pri laboratórnej teplote. Ružovo sfarbené kryštály začali vypadávať približne po mesiaci. Výťažok 76,7 mg, čo predstavuje 9,7 % z teoretického výťažku. Prvková analýza (**1**) teo.: (*M* = 787,51 $g \cdot mol^{-1}$; $C_{30}H_{28}CoN_6O_{16}$).: C, 45,8 ; H, 3,6; N, 10,7 ; exp.: C, 45,6 ; H, 3,4 ; N, 10,6 %.

2 Výsledky a diskusia

V prípade komplexu **1** je centrálny atóm Co(II) koordinovaný dvoma ligandami *pydm* prostredníctvom *N*- a *O*- donorových atómov. Každý ligand *pydm* pôsobí ako tridentátny ligand prostredníctvom atómu dusíka z pyridínu a dvoch atómov kyslíka hydroxylu, čím vytvára chelátové kruhy. Ligand *mdbnz* sa priamo neviaže s centrálnym atómom. Na hlavnú komplexnú jednotku sa viaže prostredníctvom O-H···O väzieb, čím vytvára unikátne supramolekulové triády. Priemerná dĺžka vodikových väzieb pre komplex **1** je 2,558 Å. Priemerná dĺžka väzby medzi centrálnym atómom Co(II) a dusíkom je 2,038 Å a medzi Co(II) a kyslíkom je to 2,11725 Å. Podrobne skúmaná bola aj geometria chromofóru. Pomocou programu SHAPE 2.1 bola stanovená ako oktaéder s hodnotou geometrického indexu τ = 3,198 (O_h). Bližšie bola geometria chromofóru špecifikovaná výpočtom štruktúrneho parametra $D_{str.}$ Ten sa vypočítal pomocou rovnice

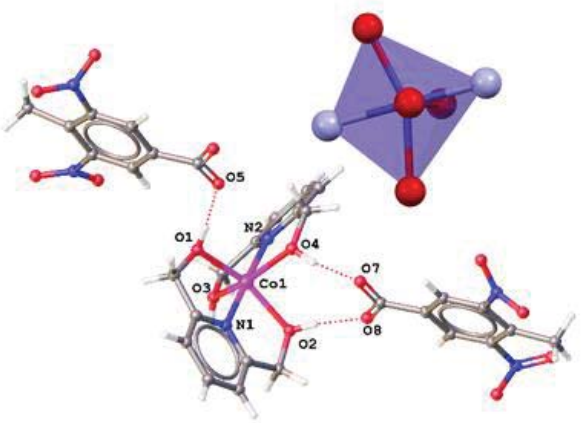
$$D_{\mathrm{str}} = d_z - (d_x + d_y)/2 \qquad (1),[16]$$

Za zložku d_z sa zvyčajne dosadí najdlhšia priemerná dĺžka protistojných väzieb a síce centrálny atóm – donorový atóm. Za d_x a d_y boli dosadené kratšie priemerné dĺžky väzieb.

V prípade komplexu **1** (donorové atómy nie sú všetky rovnaké – *N* a *O*) bol štruktúrny parameter D_{str} opäť vypočítaný pomocou uvedenej rovnice. Avšak jednotlivé zložky d_i boli vypočítané pomocou rovnice

$$d_i = R_i - \overline{R}_i \qquad (2),(16)$$

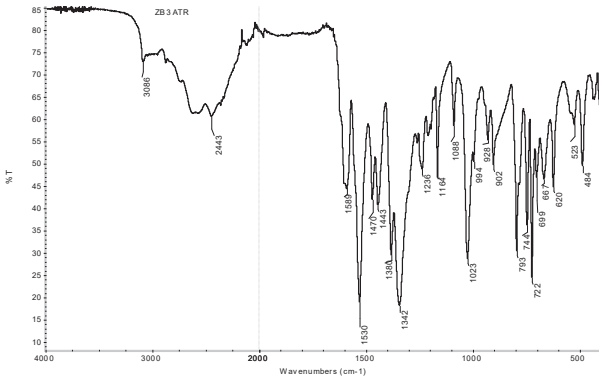
kde R_i (Co – N) = 2,185 a R_i (Co – O) = 2,085 Å sú dosadené z literatúry [16-17] a R_i je priemerná dĺžka našich reálnych protistojných väzieb. Pre výpočet d_z tieto hodnoty boli dosadené z väzby Co-N (najdlhšia) a pre d_x a d_y boli dosadené z väzby Co-O. Geometria chromofóru je blízka tvaru stlačenej tetragonálnej bipyramídy, čo potvrdzuje aj výpočet D_{str}, ktorého hodnota je veľká a záporná, konkrétne D_{str} = -33,675 pm.



Obr. 1 Štruktúra komplexu **1** vykreslená v programe OLEX s detailným pohľadom na chromofór. Zdroj: Autori

Infračervená spektroskopia

Komplex **1** obsahuje ligand v podobe 2,6-dimetanolpyridínu a bočne viazanú kyselinu 4-metyl-3,5-dinitrobenzoovú. V nameranom spektre možno pozorovať dva silné píky v oblasti 1530 cm^{-1} a 1342 cm^{-1}, ktoré zodpovedajú funkčnej skupine $-COO^-$ a potvrdzujú účasť použitej kyseliny v komplexe. Hodnotu 1530 cm^{-1} priraďujeme asymetrickej vibrácií väzby a naopak, hodnotu 1342 cm^{-1} priraďujeme symetrickej vibrácií väzby. Oblasť vlnočtov vibrácií väzieb O-H, ktoré sú zapojené do vodíkových väzieb je nižšia ako v prípade vibrácie voľných O-H väzieb. Vibráciu vodíkovej väzby v našom spektre by sme mohli priradiť píku v oblasti 3086 cm^{-1}. Infračervené spektrum je znázornené na Obr. 2. Vybrané FT-IR intenzity (ATR, izbová teplota): ν/cm^{-1} = 3086, 2443, 1589, 1530(s), 1470, 1443, 1380, 1342(s), 1236, 1164, 1088, 1023(s), 994, 928, 902, 793(s), 744, 722(s), 699, 667, 620, 523, 484. (s – silné).



Obr. 2 Infračervené spektrum komplexu **1**. Zdroj: Autori

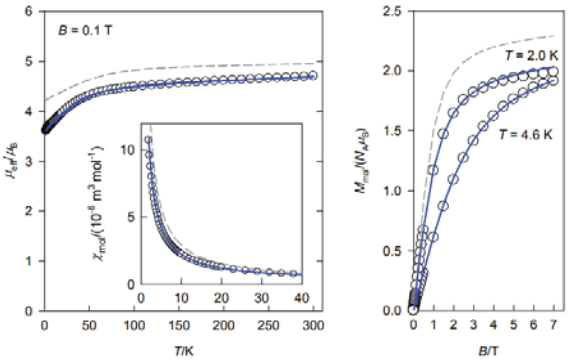
Detailnejší pohľad na rozdiel medzi asymetrickou a symetrickou vibráciou väzby $-COO^-$ poskytuje parameter *Δ,* ktorý je charakterizovaný pomocou rovnice

$$\Delta = \nu_{as}(COO^-) - \nu_s(COO^-) \qquad (4), [18]$$

Na základe parametra *Δ* sa dá určiť akým spôsobom je zvyšok karboxylovej kyseliny viazaný v látke. Môže to byť napr. v podobe medzimolekulovej vodíkovej väzby, iónovej väzby (soľ) alebo chelátovo symetricky, prípadne asymetricky cez jeden atóm kyslíka. Z dostupnej literatúry je zrejmé, že nižšie hodnoty (< 200 cm^{-1}) priraďujeme k iónovému typu väzby, napr. pre 2,6-$(MeO)_2$nicNa *Δ* = 204 cm^{-1} alebo 2-MeSnicNa s *Δ* = 198 cm^{-1} [18]. Hodnoty nad 200 cm^{-1} sú charakteristické pre koordinačnú väzbu. Vypočítané hodnoty pre komplexy **1** nahrávajú teórií, že zvyšok karboxylovej kyseliny nie je viazaný na centrálny atóm.

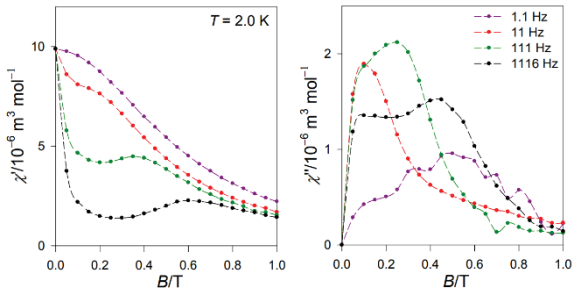
Magnetometria

Namerané údaje potvrdzujú predpoklad o paramagnetickom správaní pripravenej látky. Na Obr. 3 vľavo, je vidieť značnú teplotnú závislosť efektívneho magnetického momentu v poli B_{DC} = 0,1 T. Efektívny magnetický moment má pri teplote *T* = 300 K hodnotu 4,70μ_B. Do teploty *T* ≈ 50 K krivka klesá pozvoľne, avšak pod touto teplotou padá prudko nadol. Pri teplote *T* = 1,9 K nadobúda hodnotu μ_{eff} = 3,61μ_B. Treba poznamenať, že uvedené údaje μ_{eff}/μ_B presahujú teoretické hodnoty. Ak zvážime, že systém obsahuje centrálny atóm Co(II) so spinom *S* = 3/2 očakávané sú hodnoty okolo 3,87μ_B. Dôvodom môže byť povaha látky a uplatňovanie rôznych molekulových interakcii. Preto je nevyhnutné podrobiť látku dôkladnejšiemu štúdiu. Paramagnetické správanie látky potvrdzuje aj vnorený graf teplotnej závislosti molovej susceptibility, ktorý jednoznačné ukazuje na jej kladné hodnoty a teplotnú závislosť. Na Obr. 3 vpravo sú vyznačené magnetizačné krivky. Magnetizácia pri T = 2 K a B = 7 T saturuje na úrovni M_1 = 1,99 a pri T = 4,6 K a B = 7 T na úrovni M_2 = 1,91.



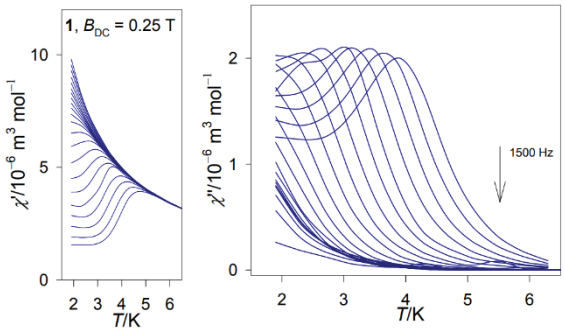
Obr. 3 Magnetické správanie látky **1**: vľavo) teplotná závislosť efektívneho magnetického momentu a molovej susceptibility; vpravo) magnetizácia pri rôznych magnetických poliach a dvoch fixovaných teplotách [19].

Ako prvé sa skúmal vplyv poľa medzi B_{DC} = 0 a 1,0 T pri T = 2 K pre súbor skúšobných frekvencii f AC poľa. V nulovom poli je mimofázová zložka AC susceptibility bez odozvy, čo potvrdzuje paramagnetické správanie vzorky. S rastúcim B_{DC} poľom stúpa hodnota mimofázovej zložky AC susceptibility na maximum a postupne sa opäť blíži k nule. Poloha maxima však závisí od frekvencie a pre ďalšie merania bola vybraná hodnota B_{DC} = 0,25 T.



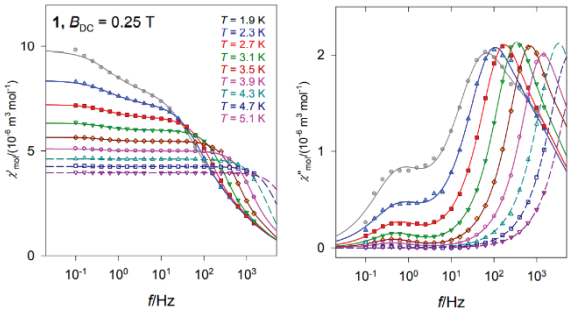
Obr. 4 Poľová závislosť pre súbor frekvencii [19].

Teplotná závislosť fázovej a mimofázovej zložky AC susceptibility sú znázornené na Obr. 5. Mimofázová zložka AC susceptibility má tendenciu zaniknúť pri teplote T ~ 7 K, čo je bod bifurkácie – vzorka sa prepne do paramagnetického režimu. Teplotný vývoj AC susceptibiloty naznačuje pomalú magnetickú relaxáciu s viacerými režimami.



Obr. 5 Teplotná závislosť fázovej a mimofázovej zložky AC susceptibility pre rôzne frekvencie v rozsahu f = 0,1 až 1500 Hz [19].

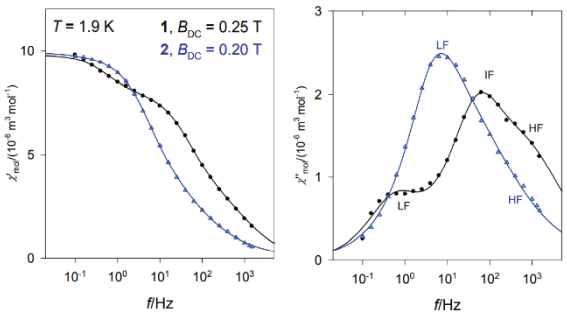
Na Obr. 6 sú zložky AC susceptibility vynesené ako funkcia frekvencie f pre súbor teplôt. Dobre vyvinutý je pík pri f''_{max} = 63 Hz, čo znamená relaxačný čas $\tau = 1/(2\pi f''_{max})$ = 2,5 ms pri T = 1,9 K. Druhý dobre viditeľný pík sa nachádza v nízkofrekvenčnej oblasti pri f''_{max}(LF) ~ 0,6 Hz, čo dáva odhad τ(LF) = 265 ms.



Obr. 6 Frekvenčná závislosť mimofázovej a fázovej zložky AC susceptibility pre súbor teplôt pri B_{DC} = 0,25 T [19].

Porovnanie komplexov [Co(*pydm*)$_2$](*mdnbz*)$_2$ a [Co(*pydm*)$_2$](*dnbz*)$_2$ [7] ponúka zaujímavé informácie o tom, ako jedna metylová skupina ovplyvní pomalú magnetickú relaxáciu. Metylová skupina sa nachádza na polohe 4, čiže ako ligand sú 4-metyl-3,5-dinitrobenzoové ióny, ktoré nie sú priamo naviazané na centrálny atóm. Nízkofrekvenčný relaxačný čas pri T = 1,9 K je vyšší pre komplex s metylovou skupinou, konkrétne τ_{LF} = 282 ms oproti τ_{LF} = 29 ms pre komplex bez metylovej skupiny pri vonkajšom poli B_{DC} = 0,25 T a 0,20 T. V prípade komplexu s metylovou skupinou sú rozpoznané tri relaxačné režimy, zatiaľ čo pre komplex bez metylovej skupiny len dva. To znamená, že aj malé modifikácie v zložení SIM výraznejšie ovplyvňujú pomalú magnetickú relaxáciu. Na Obr. 7 je znázornené

porovnanie mimofázovej zložky AC susceptibility pre tieto dva komplexy pri T = 1,9 K [19-20].



Obr. 7 Porovnanie mimofázovej zložky AC susceptibility pre komplex [Co(*pydm*)$_2$](*mdnbz*)$_2$ (čierna) a komplex [Co(*pydm*)$_2$](*dnbz*)$_2$ (modrá) [19-20].

Záver

Jednojadrový hexakoordinovaný komplex Co(*pydm*)$_2$](*mdnbz*)$_2$ sa správa ako typický systém so spinom S = 3/2 a veľkou negatívnou hodnotou parametra štiepenia v nulovom poli. Čo sa týka pomalej magnetickej relaxácie, boli identifikované tri relaxačné režimy pri B_{DC} = 0,25 T. Nízkofrekvenčný relaxačný čas je pre komplex [Co(*pydm*)$_2$](*mdnbz*)$_2$ takmer desaťnásobne vyšší ako pre veľmi podobný komplex [Co(*pydm*)$_2$](*dnbz*)$_2$ pri porovnateľnom externom poli B_{DC} = 0,25 T a 0,20 T. Práca dokazuje, že aj malé modifikácie v štruktúre dokážu viesť k výrazne odlišným magnetickým vlastnostiam. Štruktúrne a magnetické dáta majú charakteristické črty ako podobné Co(II) systémy.

Poďakovanie

Ďakujem môjmu školiteľovi doc. RNDr. Cyrilovi Rajnákovi PhD. et. PhD, ako aj celému kolektívu za vedenie a pomoc.

Použitá literatúra

[1] REEDIJK, Jan, - POEPPELMEIER, Kenneth. 2013. Comprehensive Inorganic Chemistry II. 2.vyd., Amsterdam: Elsevier Science & Technology Books, 2013. 7544 p. ISBN 978-0-096529-1

[2] SHAO, Dong, - WANG, Xo. 2020. The development of single-molecule magnets. In Chinese Journal of Chemistry, vol. 38, no. 9, pp. 1005 – 1018. ISSN 1614-7065

[3] ATZORI, Matteo et al. 2016. Room-Temperature Quantum Coherence and Rabi Oscillations in Vanadyl Phthalocyanine: Toward Multifunctional Molecular Spin Qubits. In Journal of the American Chemical Society, vol. 138, no. 7, pp. 2154-2157. ISSN 1520-5126.

[4] DING, Mei et al. 2016. A low spin manganese(iv) nitride single molecule magnet. In Chemical Science, vol. 7, pp. 6132-6140. ISSN 2041-6539.

[5] BOČA, Roman et al. 2017. Field Supported Slow Magnetic Relaxation in a Mononuclear Cu(II) Complex. In Inorganic Chemistry, vol. 56, no. 3, pp. 1478-1482. ISSN 0020-1669.

[6] MIKLOVIČ, Jozef et. al. 2015. A mononuclear Ni(ii) complex: a field induced single-molecule magnet showing two slow relaxation processes. In Dalton Transactions, vol. 44, pp. 12484-12487. ISSN 1477-9234.

[7] RAJNÁK, Cyril et. al. 2019. Field-Induced Slow Magnetic Relaxation in a Mononuclear Manganese(II) Complex. In Inorganic Chemistry, vol. 58, no. 2, pp. 991-994. ISSN 0020-1669.

[8] DOLOMANOV, Oleg et. al. 2009. *OLEX2*: a complete structure solution, refinement and analysis program. In Journal of Applied Crystallography, vol. 42, no. 2, pp. 339 – 341, ISSN 1600-5767.

[9] PALATINUS, L.ukas, CHAPUIS, Gervais. 2007. SUPERFLIP – a computer program for the solution of crystal structures by charge flipping in arbitrary dimensions. In Journal of Applied Crystallography, vol. 40, pp. 786 – 790, ISSN 1600-5767.

[10] SHELDRICK, George Michael. 2015. SHELXT – Integrated space-groupe and crystal-structure determination. In Acta Crystallographica Section A: Foundations and Advances, vol. 71, pp. 3 – 8, ISSN 2053-2733,

[11] SHELDRICK, George Michael. 2015 Crystal structure refinement with SHELXL. In Acta crystallographica. Section C71, vol. 71, pp. 3 – 8, ISSN 2053-2296.

[12] MACRAE, Clare F. et. al. 2008. *Mercury CSD 2.0* - New Features for Visualization and Investigation of Crystal Structures. In Journal of Applied Crystallography, vol. 41, pp. 466 – 470, ISSN 1600-5767.

[13] MACRAE, Clare .F. et. al. 2006. Mercury: visualization and analysis of crystal structures. In Journal of Applied Crystallography, vol. 39, pp. 453-457, ISSN 1600-5767,

[14] BRUNO, Ian J. et. al. 2002. New software for searching the Cambridge Structural Database and visualising crystal structures. In Acta

Crystallographica Section B Structural Science, vol. 58(Pt 3 Pt1) pp. 97 – 389, ISSN 0108-7681.
[15] LLUNELL, Miguel et. al. Program SHAPE, Ver. 2.1. University of Barcelona. Note: the program assumes a spherical distribution of the ligands in ideal reference polygons or polyhedra, 2013.
[16] TITIŠ, Ján - BOČA, Roman. 2011. Magnetostructural D Correlations in Hexacoordinated Cobalt(II) Complexes. In Inorganic Chemistry, vol. 50, no. 22, pp. 11838–11845, ISSN 0020-1669.
[17] LOMJANSKÝ, Dominik, et. al. 2018. Impact of tetrahedral and square planar geometry of Ni(II) complexes with (pseudo)halide ligands to magnetic properties. In Inorganica Chimica Acta, vol. 483, pp. 352 – 358, ISSN 0020-1693.
[18] MIKLOVIČ, Ján, et. al. 2008. Copper(II) and cobalt(II) hydroxypyridinecarboxylates: Synthesis, crystal structures, spectral and magnetic properties. In Chemical Papers – Slovak Academy of Sciences, 2008, vol. 62, no. 5, pp. 464 – 471, ISSN 0366-6352.
[19] RAJNÁK, Cyril, et. al. 2020. Effect of the distant substituent on the slow magnetic relaxation of the mononuclear Co(II) complex with pincer-type ligands. In Dalton Transaction, vol. 49, p. 4206 – 4210, ISSN 1477-9234.
[20] VALIGURA, Dušan, et al. 2017. A mononuclear Co(II) complex formed of pyridinedimethanol with manifold slow relaxation channels. In Dalton Transaction, vol. 46. p. 10 950 – 10 956, ISSN 1477-9234.

Matematická analýza kriviek vlastností papiera

Mathematical Analysis of the Paper Property Curves

Stela Slámová[1] – Daniela Majerčáková[2]
Školiteľ: Daniela Majerčáková
[1]Fakulta managementu UK v Bratislave, Odbojárov 10, 820 05 Bratislava; VÚPC a. s., Dúbravská cesta 14, 841 04 Bratislava
[2]FMFI UK v Bratislave, Mlynská dolina F1, 842 48 Bratislava; VÚPC a. s., Dúbravská cesta 14, 841 04 Bratislava
[1]slamova13@uniba.sk, [2]majercakova1@uniba.sk

Abstrakt

Táto publikácia sa venuje systematickému štúdiu a analýze vybraných fyzikálnych vlastností papiera – hnedého kraftlinera. Cieľom tejto štúdie je zvýšenie presnosti predikcie ôsmich vybraných vlastností. V práci sú porovnávané hodnoty namerané klasickými prístrojmi a moderným prístrojom využívajúcim FT-NIR (Fourier Transform Near-Infrared) spektroskopiu, ktorý okrem analýzy fyzikálnych vlastností, parametricky popisuje prenosové krivky všetkých skúmaných vlastností, navrhne a optimalizuje presnosti predikcie, čím minimalizuje stredné odchýlky nameraných a vypočítaných hodnôt.

Príspevok sa špecializuje a popisuje analýzu korelačných a prenosových kriviek konkrétnej vlastnosti – odolnosť papiera proti ohnutiu. Odolnosť papiera je rozhodujúca vlastnosť, ktorá určuje výkon a vhodnosť produktov na báze celulózy. Túto vlastnosť ovplyvňuje niekoľko faktorov, ako je hrúbka, hustota, orientácia vlákien a obsah vlhkosti. Jedným zo spôsobov ako analyzovať odolnosť papiera proti ohnutiu, je použitie korelačných a prenosových kriviek. Tieto krivky sú cennými nástrojmi, na základe ktorých možno optimalizovať dizajn produktov, zrýchliť a zlacniť výrobné procesy a zabezpečiť požadované štandardy kvality.

Kľúčové slová: korelácia, prenosové krivky, NIR spektroskopia, fyzikálne vlastnosti papiera, hnedý kraftliner

Abstract

This publication is dedicated to systematically studying and analysing selected physical properties of paper– brown kraftliner. The main goal of this study is to increase the prediction accuracy of eight selected properties. This research compares the values measured by classical instruments and a modern instrument using FT-NIR (Fourier Transform Near-Infrared) spectroscopy, which, in addition to the analysis of physical properties, parametrically describes the transfer curves of all investigated properties, designs and optimises the accuracy of the prediction, thus minimising the mean deviations of the measured and calculated values.

The research paper focuses on and describes the analysis of correlation and transfer curves of a specific property – bending resistance. Paper durability is a crucial property that determines the performance and suitability of paper-based products and is affected by several factors such as thickness, density, fibre orientation and moisture content. One way to analyse the bending resistance of paper is to use correlation and transfer curves. These curves are valuable tools that can be used to optimise product design, speed up and make production processes cheaper, and ensure the required quality standards.

Key Words: correlation, transfer curves, NIR spectroscopy, physical properties of paper, brown kraftliner

Úvod

Papier je všestranný materiál, ktorý sa po stáročia používa v rôznych situáciách, pri písaní, tlači, balení produktov alebo osobnej hygiene. Fyzikálne vlastnosti papiera zohrávajú kľúčovú úlohu pri určovaní vhodnosti papiera na konkrétny účel. Tieto vlastnosti zahŕňajú, napríklad plošnú hmotnosť, hrúbku, tuhosť, pevnosť v ťahu, odolnosť proti roztrhnutiu, porozitu a povrchové vlastnosti. Plošná hmotnosť je hmotnosť špecifickej plochy papiera a vyjadruje sa v gramoch na meter štvorcový (g/m^2). Hrúbka je mierou hrúbky papiera a vyjadruje sa v mikrometroch (µm). Tuhosť je odolnosť papiera voči ohybovým silám, zatiaľ čo pevnosť v ťahu je sila potrebná na pretrhnutie papiera v určitom smere. Odolnosť proti roztrhnutiu je schopnosť papiera odolávať trhacím silám, zatiaľ čo porozita je mierou schopnosti papiera prepúšťať

kvapaliny či plyny. Povrchové vlastnosti, ako drsnosť či povrchová úprava sú tiež rozhodujúce pri niektorých vybraných aplikáciách. [1], [2]

Pochopenie fyzikálnych vlastností papiera je nevyhnutné pre produktových dizajnérov a inžinierov, ktorí potrebujú zabezpečiť, aby ich produkty spĺňali požadované štandardy. [3]

Umožňuje tiež papierenskému priemyslu optimalizovať výrobné procesy, vyvíjať nové produkty a identifikovať oblasti na zlepšenie.

Určenie mnohých dôležitých parametrov je možné len v laboratórnych podmienkach [4]. Týmto spôsobom ale unikajú priamej kontrole a možnosti ich regulácie priamo v prevádzke. NIR spektroskopia sa používa najmä na analýzu organických materiálov v chemickom [5] a farmaceutickom priemysle, ale aj v potravinárskom [6] a poľnohospodárskom priemysle, pretože poskytuje simultánne, rýchle a nedeštruktívne kvalitatívne a kvantitatívne analýzy hlavných zložiek. V papierenskom priemysle to je cenný analytický nástroj, ktorý sa používa na kontrolu kvality, monitorovanie procesov a vývoj produktov. NIR spektroskopia je nedeštruktívna metóda, ktorá dokáže rýchlo poskytnúť informácie o chemickom zložení vzorky papiera [7]. Tieto informácie možno použiť na monitorovanie a optimalizáciu procesu výroby papiera, identifikáciu variácií surovín a zabezpečenie kvality produktu [8].

Jednou špecifickou aplikáciou NIR spektroskopie v papierenskom priemysle je analýza odolnosti proti ohnutiu. Odolnosť proti ohnutiu je kritickou vlastnosťou, ktorá určuje výkon a vhodnosť produktov zložených na báze celulózy. NIR spektroskopia sa môže použiť na analýzu chemického zloženia vzoriek papiera a poskytne pohľad na vzťah medzi zložením a odolnosťou proti ohnutiu [9]. Tieto informácie možno použiť na optimalizáciu procesu výroby papiera, identifikáciu oblastí na zlepšenie a zabezpečenie toho, aby papierové produkty spĺňali požadované štandardy kvality. NIR spektroskopia sa používa aj na identifikáciu a kvantifikáciu kontaminantov v papierových výrobkoch, ako sú atrament, nátery a zvyšky lepidiel. [10], [11] Využitie NIR spektroskopie je základným nástrojom pre zabezpečenie spoľahlivej optimalizácie pre širokú škálu aplikácií v papierenskom priemysle, ktoré sa v posledných rokoch v dôsledku pokroku v technológiách a potrebe účinných a spoľahlivých metód kontroly kvality výrazne zvýšilo.

1 Materiál a metódy

Vybrané vlastnosti ako odolnosť proti ohnutiu, absorpcia ťahovej energie, hrúbka, objemová hmotnosť, pevnosť v prietlaku, porozita, tržné zaťaženie a vnútorná väzbová pevnosť boli analyzované na celkovo 14. vzorkách papiera typu hnedý kraftliner v rozmedzí plošnej hmotnosti 90 – 220 g/m^2. Meranie týchto vlastností bolo vykonané pomocou mechanických prístrojov a FT-NIR spektroskopom. Namerané dáta boli navzájom porovnané a z integrálu získaného zo spektroskopu bola vyhodnotená výška korelačnej závislosti medzi nameranými závislosťami. Z hodnôt nameraných na klasických prístrojoch a integrálov získaných z NIR spektroskopu boli zostrojené prenosové krivky a nájdené najlepšie korelačné funkcie. Bola vytvorená predikcia a následne predpis rovnice, pri ktorej sa minimalizovala odchýlka predikovaných hodnôt od nameraných, čím sa optimalizovalo meranie jednotlivých vlastností.

Tento článok sa sústredí konkrétne na vlastnosť – odolnosť proti ohnutiu vyjadrenú v mN, ktorá vyjadruje silu potrebnú na ohnutie vzorky pod definovaným uhlom. [12] Metódu stanovenia odolnosti proti ohnutiu definuje norma ISO 2493 [13].

Tabuľka 1 Vstupné údaje na analýzu

Plošná hmotnosť (g/m^2)	**Odolnosť proti ohnutiu** (mN)	**Integrál z FT-NIR spektroskopie**
220	1337,0	14153
210	1187,6	12498
200	1022,6	10820
190	963,8	10203
180	838,0	8901
170	763,0	8079
160	706,8	7509
150	605,8	6407
140	467,3	5002
130	418,9	4443
120	315,8	3347
110	253,8	2704
100	227,5	2403
90	174,6	1856

Zdroj: [14]

V tabuľke 1 sú vstupné údaje pre odolnosť proti ohnutiu získané meraním klasickou metódou (stredný stĺpec) a hodnoty získané zo spektier FT-NIR spektroskopie (pravý stĺpec) pri plošnej hmotnosti v rozmedzí 90 – 220 g/m^2, t.j. 14 hladinách. Tieto údaje

sa ďalej použili na vyššie spomenutú analýzu vlastností.

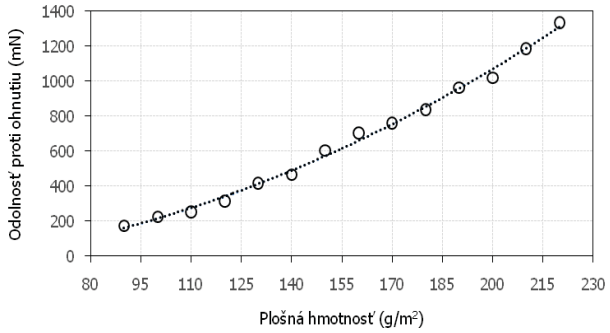
2 Výsledky a diskusia

2.1 Korelačné krivky

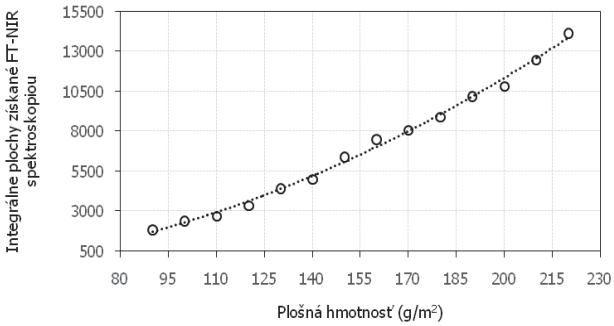
Závislosť odolnosti proti ohnutiu nameraných klasickým postupom od plošných hmotností je znázornená na grafe 1. Stanovenie odolnosti proti ohnutiu bolo získane v súlade so STN ISO 2493 za pomoci certifikovaného testera. Interpolačná krivka (trendová spojnica), je opísaná polynomickou funkciou 2. stupňa s predpisom:

$$y = 0{,}0285x^2 - 0{,}004x - 67{,}916 \text{ (1) [Autori]}$$

a koeficientom determinácie R^2 = 0,9952. Pri aplikácií predpisu rovnice polynómu vyššieho stupňa bol stanovený koeficient R^2 menší čo znamená nižšiu zhodu medzi nameranými dátami a preloženou interpolačnou krivkou.



Graf 1 Závislosť hodnôt odolnosti papiera proti ohnutiu nameraných na klasickom prístroji od plošných hmotností
Zdroj: [14]



Graf 2 Závislosť absolútne vyjadrených hodnôt integrálov získaných z FT-NIR od plošných hmotností kraftlineru
Zdroj: [14]

Závislosť hodnôt integrálnych plôch získaných z FT-NIR spektroskopie od plošných hmotností vzoriek je znázornená na grafe 2. Aj v tomto prípade bola použitá trendová spojnica polynomického tvaru 2. stupňa s predpisom:

$$y = 0{,}2937x^2 + 2{,}2762x - 861{,}99 \text{ (2) [Autori]}$$

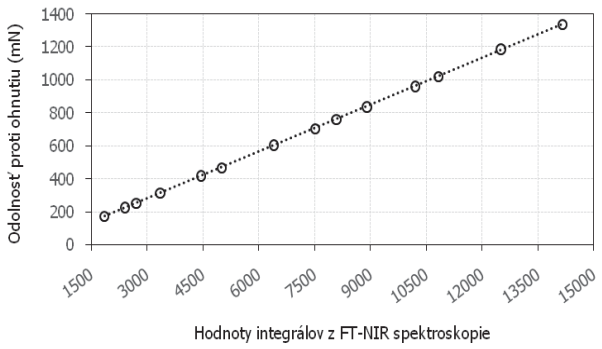
a koeficientom determinácie R^2 = 0,9953.

2.2 Prenosová krivka

Graf 3 znázorňuje závislosť medzi hodnotami integrálnych plôch z FT-NIR spektroskopie a hodnotami nameranými klasickým prístrojom. V tomto prípade regresná krivka, ktorá najlepšie kopíruje namerané hodnoty, je lineárna funkcia, ktorej predpis je:

$$y = 0{,}0947x - 2{,}3509. \text{ (3) [Autori]}$$

Koeficient determinácie je rovný 1, čo naznačuje vysokú zhodu korelácie medzi získanými hodnotami z FT-NIR spektroskopie a hodnotami nameranými klasickým prístrojom. Vzhľadom na vysokú zhodu korelácie možno interpoláciou lineárnej funkcie optimálne stanoviť odolnosť proti ohnutiu pre široký rozsah integrálov NIR spektroskopie.



Graf 3 Prenosová krivka
Zdroj: [14]

Pri každej skúmanej vlastnosti bol aplikovaný rovnaký postup vyhodnotenia a výsledné dáta sú sumarizované v tabuľke 2 a 3. Tabuľka 2 zobrazuje korelačné koeficienty medzi hodnotami nameranými klasickými prístrojmi a integrálmi z NIR.

Tabuľka 2 Korelačné koeficienty medzi hodnotami nameranými klasickými prístrojmi a integrálmi z NIR

Vlastnosť	Korelačný koeficient
Odolnosť proti ohnutiu	0,99998
Hrúbka	0,99996
Pevnosť v prietlaku	0,99989
Objemová hmotnosť	0,99835
Porozita	0,99609
Tržné zaťaženie	0,98832
Absorpcia ťahovej energie	0,97934
Vnútorná väzbová pevnosť	0,96659

Zdroj: Autori

Najvyšší korelačný koeficient takmer rovný jednej má odolnosť proti ohnutiu, čiže možno predpokladať silnú závislosť medzi hodnotami nameranými klasickým prístrojom a hodnotami integrálov získaných z prístroja FT-NIR. Podobne sú na tom vlastnosti hrúbka, pevnosť v prietlaku či objemová hmotnosť. Ďalej sa postupne mierne znižuje korelácia ale celkovo dosahuje dostatočne uspokojivú úroveň. Najhoršie skončili absorpcia ťahovej energie a vnútorná väzbová pevnosť.

Záver

Prvých päť vlastností vykazuje vynikajúcu koreláciu a takisto veľmi pekný výsledok dosahuje tržné zaťaženie. Pri týchto šiestich vlastnostiach možno hovoriť o výbornej optimalizácií a plnohodnotnom spoľahnutí sa na NIR spektroskop.

Posledné dve vlastnosti nevyšli podľa predstáv a neodporúča sa ich rátať cez poskytnuté rovnice, nakoľko odchýlky sú vyššie a to hlavne pri vnútornej väzbovej pevnosti. Riešenie tohto problému môže spočívať vo vykonaní viacerých meraní na viacerých hladinách, čím by sa výsledky značne zdokonalili.

Pre zjednodušený prehľad dosiahnutých relevantných výsledkov je uvedená tabuľka 3, kde sú vyjadrené využiteľné optimalizačné predpisy prenosových kriviek:

Tabuľka 3 Predikované predpisy funkcií

Vlastnosť	Predpis funkcie
Odolnosť proti ohnutiu	$y = 0{,}0947x - 2{,}3509$
Hrúbka	$y = 0{,}0047x + 0{,}2998$
Pevnosť v prietlaku	$y = 0{,}045x + 5{,}0598$
Objemová hmotnosť	$y = 0{,}6128\ln(x) - 5{,}1884$
Porozita	$y = 0{,}5864\ln(x) - 4{,}9685$
Tržné zaťaženie	$y = 4{,}2965\ln(x) - 34{,}653$

Zdroj: Autori

Korelačné a prenosové krivky sú cennými nástrojmi na pochopenie a predpovedanie fyzikálnych vlastností papiera. Tieto krivky poskytujú pohľad na vzťah medzi vyššie skúmanými vlastnosťami, čo umožňuje inžinierom a produktovým dizajnérom optimalizovať dizajn produktu a výrobné procesy. Analýzou korelácie medzi vlastnosťami a prístrojmi môžu inžinieri identifikovať oblasti na zlepšenie a vyvinúť produkty, ktoré spĺňajú požadované štandardy kvality. Prenosové krivky umožňujú, napríklad predpovedať ohybový odpor na základe vlastností inej vzorky, čím sa znižuje potreba rozsiahleho testovania a zvyšuje sa efektivita pri vývoji produktu. Použitie korelačných a prenosových kriviek na analýzu vlastností je nevyhnutné pre zabezpečenie požadovaných štandardov kvality kladených na papierové výrobky a pri optimálnom využití vstupných zdrojov.

Spracovaný výskum ponúka možnosť zrýchlenia a optimalizácie získavania informácií ohľadom vlastností kraftlineru. Poskytuje návod na lacnejšiu výrobu so značne zníženým počtom chybných kusov, čím sa vyprodukuje menej odpadu a zničí menej materiálu, takže sa ušetria prírodné suroviny a proces výroby bude udržateľnejší a ekologickejší. V neposlednom rade treba spomenúť efektivitu optimalizácie, keďže firmy budú schopné vyrobiť a poskytnúť svojim zákazníkom presne danú kvalitu, ktorú od nich

požadujú bez nutnosti opakovania výroby chybných kusov.

Poďakovanie

„Táto publikácia vznikla vďaka podpore v rámci operačného programu Integrovaná infraštruktúra 2014 - 2020 pre projekt: Centrum excelentnosti lesnícko-drevárskeho komplexu LignoSilva (kód ITMS: 313011S735), spolufinancovaný zo zdrojov Európskeho fondu regionálneho rozvoja."

Použitá literatúra

[1] KRKOSKA, P., PANAK, J., HANUS, J., VIZAROVA, K., SUTY, S., 2014: Technológia výroby papiera. STU v Bratislave. 650 s., ISBN 978-80-227-4127-9.

[2] GOYAL, H., 2020: Properties of Paper (online): Dostupné na: <https://paperonweb.com/paperpro.htm>

[3] BOHACEK, S., PAZITNY, A., HALAJ, M., BALBERCAK, J. & KUNA, V. (2021): Freeze-thaw pretreatment of poplar sapwood dust. Wood Research 65 (6), 905-916 pp., ISSN 1336-4561.Doi: 10.37763/wr.1336-4561/65.6.905916.

[4] BAJPAI, P., 2015: Pulp and Paper Industry: Chemicals,1st Edition. Elsevier Inc. 334 pp., ISBN: 978-0-12-803408-8.

[5] FULGENCIO, A. C. C., RESENDE, G. A. P., TEIXEIRA, M. C. F, BOTELHO, B. G., SENA, M. M. Combining portable NIR spectroscopy and multivariate calibration for the determination of ethanol in fermented alcoholic beverages by a multi-product model. Talanta Open Volume 7, 2023. ISSN 26668319. Doi: 10.1016/j.talo.2023.100180.

[6] TOTARO, M. P., SQUEO, G., DE ANGELIS, D., PASQUALONE, A., CAPONIO, F. & SUMMO, C. Application of NIR spectroscopy coupled with DD-SIMCA class modelling for the authentication of pork meat. Journal of Food Composition and Analysis Volume 118, 2023. ISSN 08891575. Doi: 10.1016/j.jfca.2023.105211.

[7] RUSS, A., FISEROVA, M., 2011: Estimation of hardwood species in mixture by Near Infrared Spectroscopy, WoodResearch 56 (1), ISSN 1336-4561, VUPC (SDVU), 93-104 pp.

[8] HLAWICZKA S., KUBICA K., ZIELONKA U., WILKOSZ K. Wlasciwosci emisii pylu i metali ciezkich w procesie spalaniawegla w paleniskach domowych. Archiwu mochronys rodowiska, Vol. 27, no. 2, 2001, Institute of Environmental Engineering, Polish Academy of Sciences. 29-45 s., ISSN 0324-8461.

[9] SIESLER, H.W., OZAKI, Y., KAWATA, S., HEISE, H.M., 2006: Near-Infrared Spectroscopy Principles, Instruments, Applications. 348 pp., ISBN 3-527-30149-6.

[10] TRENFIELD, S. J., XU, X., GOYANES, A., ROWLAND, M., WILSDON, D., GAISFORD, S. & BASIT, A. W. Releasing fast and slow: Non-destructive prediction of density and drug release from SLS 3D printed tablets using NIR spectroscopy. International Journal of Pharmaceutics: X Volume 5, 2023, Article number 100148, ISSN 25901567. Doi: 10.1016/j.ijpx.2022.100148.

[11] FISEROVA, M., ILLA, A., BOHACEK, S. & KASAJOVA, M. (2013): Handsheet properties of recovered and virgin fibre blends. In: Wood Research 58 (1), ISSN 1336-4561, VUPC (SDVU), 57-65 pp.

[12] FISEROVA, M., MAHOLANYIOVA, M., GIGAC, J., 2010: Model riadenia pevnostných vlastností bielených sulfátových buničín v procese výroby a spracovania. Výskumná správa APVV projektu.

[13] ISO 2493-2:2020: Paper and board — Determination of resistance to bending — Part 2: Taber-type tester. Dostupné na: <https://www.iso.org/standard/76346.html>

[14] Interné materiály VÚPC, a. s.

Benzimidazoly ako potenciálne chemosenzory pre vysoko reaktívne organické častice: Syntéza a zmeny fyzikálno-chemických vlastností po reakcii s tionylchloridom

Benzimidazole as potential chemosensor for highly reactive organic species: Synthesis and changes of physico-chemical properties upon reaction with thionyl chloride

Natália Kabaňová[1] – Zita Tokárová[2]
Školiteľ: Zita Tokárová[2]
[1,2] Katedra chémie, FPV UCM, Herdu 2, 917 01 Trnava,
[1]kabanova1@ucm.sk, [2]zita.tokarova@ucm.sk

Abstrakt

Syntéza benzimidazolových derivátov *N*-(1*H*-benzimidazol-2-ylmetyl)benzamidu (**3d**) a (*Z*)-*N*-((1*H*-benzo[*d*]imidazol-2-yl)metyl)-3-fenylakrylamid (**3e**) ako potenciálnych chemosenzorov pre ľahko reaktívne organické častice, ako je tionyl chlorid ($SOCl_2$) je uvedená v tomto výskume. Akokoľvek sa štruktúry týchto dvoch prezentovaných zlúčenín javia ako bežné, syntetický prístup ešte nie je úplne zavedený – podarilo sa nám opísať reakčnú metódu, ktorou sme pripravili cielené **3d** v dostačujúcom výťažku a čistote. Zlúčenina **3e** bola po čistení stĺpcovou chromatografiou získaná čistá vo veľmi malom množstve. Ďalšie zameranie výskumu smerovalo k použitiu zlúčenín **3d** a **3e** ako fluorescenčného chemosenzoru pre nízkomolekulové toxické činidlo - tionylchlorid ($SOCl_2$).

Je nevyhnutné charakterizovať syntetizované produkty pred snímaním a najmä zmeny v chemickej štruktúre senzorov po snímaní $SOCl_2$. Podstatné zmeny v štruktúre a fyzikálno-chemických vlastnostiach boli pozorované spektroskopickými metódami, vrátane ^{1}H NMR, IR, UV-Vis a fluorescenčnej intenzity spektroskopie.

Kľúčové slová: benzimidazol, chemosenzor, fluorescencia, tionylchorid

Abstract

Synthesis of benzimidazole derivates *N*-(1*H*-benzimidazol-2-ylmethyl)benzamide (**3d**) and (*Z*)-*N*-((1*H*-benzo[*d*]imidazol-2-yl)methyl)-3-phenylacrylamide (**3e**) as potential chemosensors for readily reactive organic particles such as thionyl chloride ($SOCl_2$) is presented. However the structures of these two presented compounds appear basic, the synthetic approach have not been fully established yet – We have been able to describe the reaction method by which we have prepared targeted **3d** in acceptable yield and purity.

Compound **3e** after purification by column chromatography was obtained pure in very small amount. Focusing further, our research deals with the use of compounds **3d** and **3e** as fluorescent chemosensor for low-molecular weight hazardous reagent - tionyl chloride ($SOCl_2$).

It is essential to characterize synthesized products before sensing and changes in the chemical structure upon sensing mentioned. Essential changes in the structure and physico-chemical properties were observed by spectroscopic methods, including ^{1}H NMR, IR, UV-Vis, and fluorescence intensity spectroscopy.

Key Words: benzimidazole, chemosensor, fluorescence, tionyl chloride

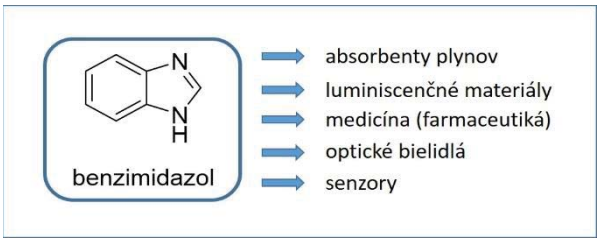
Úvod

Chemosensory sú organické molekuly určené na viazanie a snímanie malých molekúl alebo kovových iónov [1], zvyčajne bez možnosti pôsobiť vo vnútri živej bunky/tkaniva/tela. [2] Od návrhu, charakterizácie chemickej štruktúry a jej zmien pri snímaní, chemické snímanie pomocou chemosenzora získalo väčší záujem ako biosnímanie. Identifikácia snímaním navyše využíva analytickú a supramolekulárnu chémiu ako hlavný zdroj poznatkov pre návrh nových a efektívnejších chemosenzorov. Molekulárne alebo chemické snímanie je obľúbené kvôli svojej schopnosti zachytiť rôzne molekuly. Výhodou je určitá jednoduchosť meraní, nízky detekčný limit, analýza v reálnom čase a kvantifikované aplikácie v priemysle s nadmerným používaním nebezpečných činidiel. V Pri vývoji chemosenzorov je dôležité navrhnúť ich štruktúru tak, aby boli splnené všetky atribúty. Tými sú najmä nízka

molekulová hmotnosť chemosenzoru, cenová dostupnosť východiskových látok, časová a inštrumentálna nenáročnosť syntézy chemosenzoru, efektívnosť v podobe okamžitej a zrejmej informácie o naviazaní detegovanej častice s vysokou selektivitou v podobe zmeny fyzikálno-chemických vlastností, ako je zmena vo fluorescenčnej intenzite, alebo zmena vo farebnosti viditeľná voľným okom (kolorimetrická zmena). [3]

Príkladom potreby využitia chemosenzoru v praxi je snímanie a zachytávanie tionylchloridu pre jeho „in-time" detekciu v prípade jeho uvoľnenia. [4] Tionylchlorid je široko používaný ako súčasť Li/$SOCl_2$ batérie, čo je druh nevodnej elektrolytickej batérie. Tie sú široko používané v priemyselnej a vojenskej oblasti. [5] V prítomnosti $SOCl_2$/EtOH ako katalyzátora sa aldolovou kondenzáciou syntetizujú rôzne substituované chalkóny. [6]

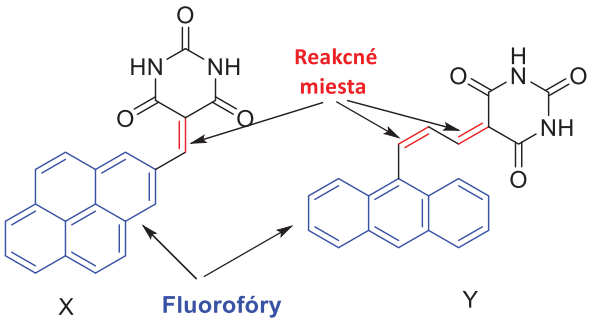
Benzimidazoly sú jednými z najdôležitejších heterocyklických derivátov, ktoré sa často používajú na medicínske aplikácie a výskum, materiálový výskum, liečivá, farbivá a chromofóry (**Obr. 1**).



Obr. 1 Základná štruktúra benzimidazolu a využitie zlúčenín na báze benzimidazolu [Zdroj: Autor]

Napríklad benzimidazoly doplnené karbazolovou skupinou sú schopné stabilizovať ľudskú telomerickú G-kvadruplex DNA, ktorá pôsobí ako telomerické inhibítory. Niektoré benzimidazolové skeletové polyméry s pórmi sa považujú za dobré absorbenty CO_2, H_2 a organických výparov. Okrem toho benzimidazolové farbivá so substituovanou fenylovou skupinou pôsobia ako farbivo senzibilizované solárne články [7]. Sulfonované benzimidazoly sa používajú v textilnom priemysle ako zmäkčovadlá, emulgátory, penotvorné činidlá alebo ako dispergačné činidlá na použitie pri farbení. Ďalšie využitie je pri úprave vlákien na vybielenie materiálu, alebo ako optické bielidlo. 2-Aminobenzimidazoly sa používajú pri príprave fluorescenčných farbív. 2-Metylbenzimidazol na polymerizáciu inhibítora a iniciátora v izopréne. [8] Jedným zo spoločných znakov derivátov na báze benzimidazolu, okrem fotoluminiscencie, je ich citlivosť na kyseliny, zásady a anióny, samozrejme, sprevádzaná zmenami vo fluorescencii [9]. Z tohto dôvodu sa benzimidazolové deriváty často vyberajú na vývoj chemosenzorov na rozpoznávanie a viazanie najmä aniónov (biologicky a environmentálne významných analytov) [10], katiónov, radikálov a nízkomolekulových druhov (**Obr. 1**).

Senzory disponujúce dvojitou väzbou sú skúmané v súvislosti s jej výhodnými vlastnosťami. Tou je najmä vysoká reaktivita dvojitej väzby, na ktorej v prípade senzorov z **Obr. 2** prebieha nukleofilná adícia, kde donorom je kyselina barbiturová a akceptorom antracén (senzor **Y**), alebo pyrén (senzor **X**), tie sú zároveň fluorofórmi. [11]



Obr. 2 Fluorescenčné chemosenzory na senzoring HSO_3^- aniónu disponujúce dvojitou väzbou [11]

Naším cieľom bola syntéza benzimidazolových derivátov, ktoré dlhodobo v oblasti senzoringu dosahujú významné výsledky. Predpokladáme, že v našich zlúčeninách je fluorofórom benzimidazolové jadro. Zlúčeniny ktoré sme navrhli spĺňajú základné požiadavky chemosenzorov - ide o nízkomolekulové zlúčeniny s dostupnou syntézou a najmä po reakcii s detegovanou časticou vykazujú zmeny vo svojich fyzikálno-chemických vlastnostiach - zmena štruktúry, potvrdené zhášanie fluorescencie v prípade zlúčeniny **3d**, zmena v zafarbení roz[oku **3e** po reakcii s detegovanou časticou.)

Podarilo sa nám pripraviť a identifikovať viacero zlúčenín, príkladom sú deriváty **3d** a **3e**. Zlúčenina **3e** vo svojej štruktúre obsahuje dvojitú väzbu. Táto zlúčenina je v porovnaní so zlúčeninou **3d** reaktívnejšia, a taktiež vykazovala zreteľnejšie kolorimetrické zmeny po reakcii s detegovanou časticou (zmena farebnosti viditeľná voľným okom). Na základe predbežného skríningu sa tiež očakáva vyššia využiteľnosť, teda senzoring viacerých druhov nízkomolekulových organických činidiel alebo rôznych radikálov.

1 Experiment

1.1 Materiály a metódy

Všetky komerčne dostupné chemikálie sa použili bez ďalšieho čistenia. Na syntézu cieľového derivátu **3d** bola použitá kyselina hippurová syntetizovaná v našom laboratóriu. Reakcie sa monitorovali chromatografiou na tenkej vrstve (TLC) na platniach potiahnutých silikagélom (veľkosť častíc 200 - 400 mesh). Infračervené spektrá boli získané na spektrometri Agilent Cary 630 FTIR typu Simadzu. ^{1}H NMR spektrá sa merali na prístroji typu Brucker (400 MHz) v deuterovanom dimetylsulfoxide (DMSO-d6) ako rozpúšťadle. Chemické posuny vodíkov boli zaznamenané vzhľadom na tetrametylsilán (TMS, 0,0 ppm). Absorpčné spektrá (UV-Vis) roztokov v metanole a acetonitrile boli zaznamenané na spektrofotometri Varian - Cary 50 Bio UV Visible a fluorescencia na zariadení typu RF 5301 PC (Simadzu, Jpn).

1.2 *N*-(1*H*-benzimidazol-2-ylmetyl)benzamid (3d)

o-Fenyléndiamín (**1a**, 1,0 ekv., 15 mmol, 1,2 g) sa rozpustil v 50 cm^3 dietylénglykolu pri laboratórnej teplote. Do zmesi sa pridala kyselina hippurová (**2d**, 1,0 ekv., 15 mmol, 2,7 g). Po miešaní pri teplote varu dietylénglykolu (244,9 °C) počas 18 hodín sa zmes ochladila na laboratórnu teplotu a naliala na drvený ľad. Zrazenina sa odfiltrovala a čistila rýchlou kolónovou chromatografiou s elučnou zmesou chloroform/etanol (7:3), čím sa získalo 72,3 % (2,72 g) zlúčeniny **3d**.

1.3 (*Z*)-*N*-((1*H*-benzo[*d*]imidazol-2-yl)metyl)-3-fenylakrylamid (3e)

o-Fenyléndiamín (**1a**, 1,0 ekv., 0,2 mmol, 0,02 g) sa rozpustil v 10 cm^3 dimetylformamide pri laboratórnej teplote. Do zmesi sa pridal *N*-cinnamoylglycín (**2e**, 1,0 ekv., 0,2 mmol, 0,05 g). Po miešaní pri teplote varu dimetylformamidu (153 °C) počas 24 hodín sa zmes ochladila na laboratórnu teplotu a naliala na drvený ľad. Zrazenina sa odfiltrovala a čistila rýchlou kolónovou chromatografiou s elučnou zmesou chloroform/etanol (9:1), čím sa získalo 54,2 % (0,03 g) zlúčeniny **3e**.

1.4 Senzorovanie tionylchloridu ako predstaviteľa nebezpečných nízkomolekulových organických látok

Do 2 cm^3 roztoku derivátu **3d** a **3e** v acetonitrile s koncentráciou 10^{-4} mol.dm^{-3} bol pridaný $SOCl_2$ ako roztok v acetonitrile v koncentračnom rozmedzí 0,7 – 4,6 mol.dm^{-3}, ako je zhrnuté **v Tab. 1**. Toto senzorovanie bolo založené na reakcii derivátu **3d** a **3e** s $SOCl_2$ pri izbovej teplote a teplote 80 °C. Pri deriváte **3d** tieto reakcie viedli ku vzniku sulfoxidu **4** (kineticky riadená reakcia) a produktu termolytickej eliminácie **5** (termodynamicky riadená reakcia). Produkty totožného senzoringu senzorom **3e** sú v súčasnosti predmetom našich štúdií.

2 Výsledky a diskusia

2.1 Syntéza

Použili sme dva základné spôsoby syntézy benzimidazolového derivátu **3d**, oba z *o*-fenyléndiamínu. Z našich pokusov syntéza s použitím rozpúšťadla s vysokou teplotou varu – etylénglykolu a reakcia medzi *o*-fenyléndiamínom a kyselinou hippurovou poskytli požadovaný produkt **3d**. Syntézou *o*-fenyléndiamínu a *N*-cinnamoylglycínu v dimetylformamide sme získali produkt **3e**. Oba v prijateľných výťažkoch a čistote, po prečistení kolónovou chromatografiou. Získali sme senzor **3d** v 72,3 % výťažku a senzor **3e** v 54,2% výťažku a oba sa ďalej úspešne použili na zachytávanie a snímanie tionylchloridu.

Schéma 1 Syntéza cieleného benzimidazolového derivátu **3d** obsahujúceho zvyšok kyseliny hippurovej s vyznačeným predpokladaným reakčným miestom [Zdroj: Autor]

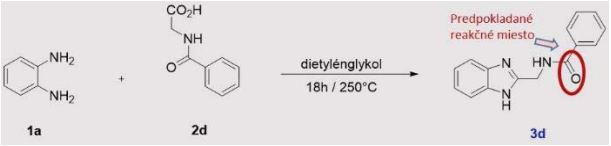
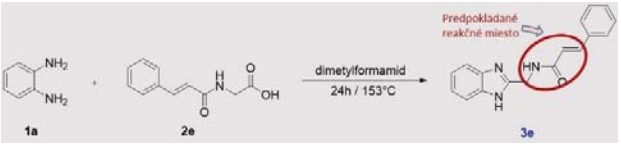


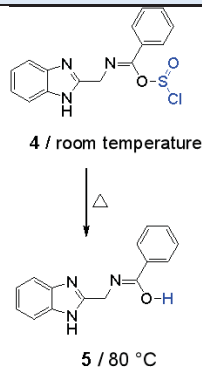
Schéma 2 Syntéza cieleného benzimidazolového derivátu **3e** obsahujúceho dvojitú väzbu z derivátu glycínu *N*-substituovaného zvyškom kyseliny škoricovej s vyznačeným predpokladaným reakčným miestom [Zdroj: Autor]



2.2 Senzorovanie tionylchloridu

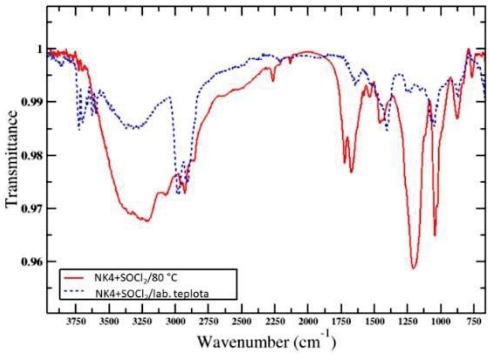
Koncentrácie chemosenzorov **3d** a **3e** na báze benzimidazolu v roztoku acetonitrilu ako aj množstvo detegovaného tionylchloridu sú zhrnuté v **Tab. 1**. Reakcia medzi molekulou chemosenzora **3d** a detegovanou časticou $SOCl_2$ pri laboratórnej teplote je kineticky usporiadaná ako elektrofilná substitúcia alkoholov na kyslíku. Pretože zlúčenina **3d** je vo svojej podstate karbonylový derivát, reakcia sa iniciuje vo svojej imino forme, kde hydroxyskupina pôsobí ako slabá kyselina. Vytvorený sulfoxid **4** je nestabilný. Zahriatím roztoku obsahujúceho už vytvorený produkt **4** na 80 °C prebieha termolýza sprevádzaná odsírením [12,13]. Produkt **5**, čo je imino forma senzora **3d**, bol izolovaný. V dôsledku vlastností samotnej síry, ktorá sa môže vyskytovať v mnohých rôznych redoxných stavoch v jej zlúčeninách, je proces termolýzy dosť nejasný. Štruktúry produktov **4** a **5**, ako sú uvedené v **Tab. 1**, boli úplne identifikované.

Tab. 1 Podmienky snímania častice $SOCl_2$ pomocou *N*-(1*H*-benzimidazol-2-ylmetyl)benzamidu (**3d**) so štruktúrou najpravdepodobnejších produktov **4** a **5** [Zdroj: Autor]

Senzorovaná častica	Koncentrácie senzorovanej častice [mol.dm^{-3}]	Štruktúra vytvorených produktov po senzoringu s 3d
$SOCl_2$	0.7 1.8 2.8 3.6 4.6	

2.3 Charakterizácia štruktúry

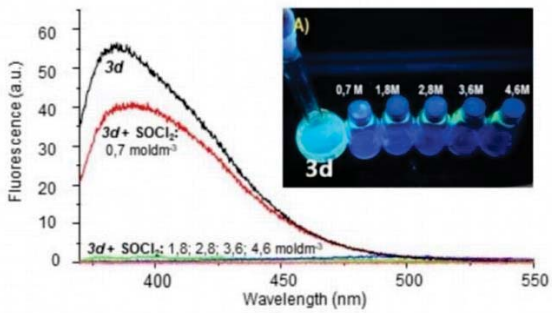
Chemická štruktúra všetkých vytvorených produktov bola potvrdená ^{1}H NMR spektroskopiou. V prípade produktov senzoringu $SOCl_2$ senzorom **3d** boli tieto produkty identifikované aj pomocou IČ spektroskopie. Prekrytie IČ spektier sulfoxidu **4** a oxímu **5** (**Obr. 3**) vzniknutého ako produkt pri snímaní pri rôznych teplotách, potvrdzuje existenciu dvoch rôznych produktov.



Obr. 3 Prekrytie IČ spektier zlúčenín vytvorených pri snímaní $SOCl_2$ senzorom **3d**: prerušovaná modrá čiara – sulfoxid **4**, červená čiara – oxím **5** [Zdroj: Autor]

2.4 UV-Vis a fluorescencia

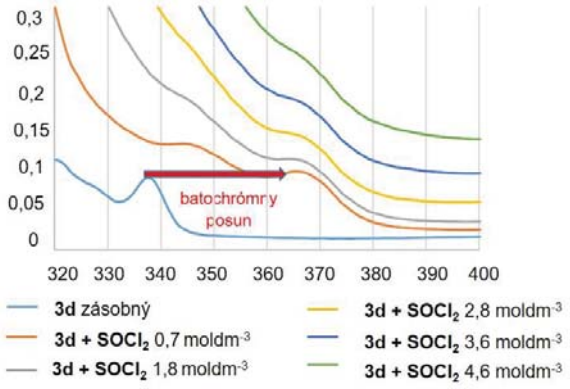
Úspešný návrh chemosenzora by mal disponovať viditeľnými zmenami vo fyzikálno-chemických vlastnostiach. Najžiadúcejšia je okamžitá vizuálna zmena, ako voľným okom viditeľná zmena farebnosti senzoru v roztoku. Takáto zmena bola výraznejšia v prípade senzoringu $SOCl_2$ pomocou **3e**. V prípade chemosenzora **3d** v acetonitrile je pozorovaná významná fotoluminiscencia (**Obr. 4**). Pridanie tionylchloridu spôsobí zhášanie fotoluminiscencie, takže sulfoxid **4** nie je luminiscenčný. Takýto výsledok bol očakávaný, ale nie žiadúci. Podobný jav bol doteraz vysvetlený v literatúre pre zlúčeninu navrhnutú ako platný chemosenzor [14].



Obr. 4 Fluorescencia **3d** pred a po snímaní rôznych koncentrácií $SOCl_2$ pri izbovej teplote spolu s fotografiou A) **3d** s rôznymi koncentráciami $SOCl_2$ pod UV lampou (365 nm) so zjavným poklesom fluorescencie po pridaní vyšších množstiev $SOCl_2$. [Zdroj: Autor]

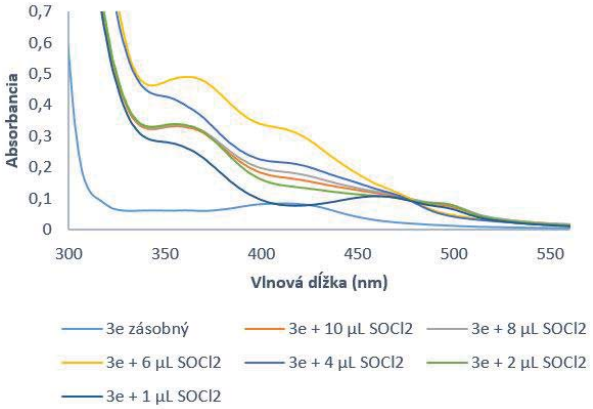
Čo sa týka UV-Vis spektier pre senzor **3d**, pridanie tionylchloridu spôsobilo významný batochrómny posun z λ max 338 nm pre čistý chemosenzor **3d** na 370 nm

pre sulfoxid **4** ako produkt senzoringu (**Obr. 5**). Z UV-Vis spektier je viditeľné, že zvýšenie množstva pridaného do roztoku **3d** nebolo absorpčné maximum ovplyvnené koncentráciou pridaného $SOCl_2$.



Obr. 5 UV-Vis spektrum senzoru **3d** pred a po reakcii s rôznymi koncentráciami $SOCl_2$ pri laboratórnej teplote [Zdroj: Autor]

Výsledky merania UV-Vis spektier pre senzor **3e** sú porovnateľné s výsledkami merania spektier pre senzor **3d**. Taktiež tu nastal batochrómny posun z λ max 421 nm pre čistý chemosenzor **3e** na 475 nm. (**Obr. 6**) Týmto je potvrdená zmena fyzikálno-chemických vlastností po reakcii s tionylchloridom. Senzor **3e** dokázal pri svojej koncentrácii 10^{-4} mol.dm^3 zachytiť senzorovanú časticu pri veľmi nízkej koncentrácii 1 µL.



Obr. 6 UV-Vis spektrum senzoru **3e** pred a po reakcii s rôznymi koncentráciami $SOCl_2$ pri laboratórnej teplote [Zdroj: Autor]

Záver

Tento výskum sa zaoberá návrhom a syntézou derivátov benzimidazolového typu ako potenciálnych chemosenzorov na zachytávanie a snímanie nebezpečných organických malých molekúl. Najúčinnejší syntetický prístup bol pre senzor **3d** - skonštruovaný s benzimidazolovým jadrom a zvyškom kyseliny hippurovej a taktiež pre senzor **3e**, ktorý je benzimidazolovým senzor obohatený o dvojitú väzbu zo zlúčeniny N-cinnamoylglycín. Vplyv tejto väzby na reaktivitu, ako aj produkty reakcie senzorovania $SOCl_2$ pomocou tohto senzoru pri laboratórnej teplote a teplote 80°C budú predmetom ďalších štúdií.

V senzore **3d** je časť kyseliny hippurovej zodpovedná za reakciu medzi senzorovanou časticou, v našom prípade tionylchloridom, zatiaľ čo benzimidazolová jednotka hrá dôležitú úlohu pri zmenách fyzikálno-chemických vlastností. Vhodná funkcia pre túto úlohu bola potvrdená meraním UV-Vis a fluorescencie **3d** pred a po reakcii s toxickým nízkomolekulovým organickým činidlom – $SOCl_2$. Výsledky TLC a ^{1}H NMR spektroskopie ukázali značnú kontamináciu produktov, ale zvolený spôsob je výhodný, pretože ide o jednoduchú jednokrokovú reakciu. Z tohto dôvodu sme pokračovali v úprave pôvodnej reakčnej metódy a jej podmienok spolu so správnou metódou izolácie. Ukázali sme, že *N*-(1*H*-benzimidazol-2-ylmetyl)benzamid (**3d**) je schopný zachytiť nebezpečné organické činidlo $SOCl_2$, čo sa prejavuje zhášaním fluorescencie. Hoci vo všeobecnosti je žiadanejším javom „zapnutie“ fluorescencie po reakcii s detekovanou časticou, poznáme niekoľko senzorov, ktoré fluorescenciu aj zhášajú, ako napríklad náš **3d** senzor. Tento jav je bežný v procese vývoja senzorov. Benzimidazolový senzor s dvojitou väzbou **3e** v predbežných testoch vynikal najmä v zmene zafarbenia svojho roztoku po reakcii už s 1 µL $SOCl_2$, čo je impulzom k hlbšiemu štúdiu tohto perspektívneho senzoru.

Poďakovanie

Za finančnú podporu potrebnú k zrealizovaniu prezentovaného výskumu ďakujeme projektom: VEGA 2/0055/21, VEGA 1/0191/22 a APVV 19-0087.

Použitá literatúra

[1] KUMAR, Jutika, SARMA, Manas Jyoti, PHUKAN, Prodeep, DAS, Diganta Kumar. 2015. A new simple Schiff base fluorescence “on” sensor for Al3+ and its living cell imaging. In Dalton Transactions, vol. 44, no. 10, pp. 4576–4581. ISSN 1477-9234.

[2] JIANG, Pengju, GUO Zijian. 2004. Fluorescent detection of zinc in biological systems: recent development on the design of chemosensors and biosensors. In Coordination Chemistry Reviews, vol. 248, no. 1–2, pp. 205–229. ISSN 00108545.

[3] SHREE, Ganesan Jeya, SIVARAMAN, Gandhi, SIVA, Ayyanar, CHELLAPPA, Duraisamy. 2019. Anthracene- and pyrene-bearing imidazoles as turn-on fluorescent chemosensor for aluminum ion in living cells. In Dyes and Pigments. vol. 163, pp. 204–212. ISSN 0143-7208.

[4] FUKUHARA, Gaku. 2020. Analytical supramolecular chemistry: Colorimetric and fluorimetric chemosensors. In Journal of Photochemistry and Photobiology C: Photochemistry Reviews, vol. 42, pp. 100340. ISSN 1389-5567.

[5] GAO, Yan, CHEN, Liangting, QUAN, Mengkai, ZHANG, Gai, ZHENG, Ying, ZHAO, Jianshe. 2018. A series of new Phthalocyanine derivatives with large conjugated system as catalysts for the Li/SOCl2 battery. In Journal of Electroanalytical Chemistry, vol. 808, pp. 8–13. ISSN 1572-6657.

[6] PETROV, Ognyan, IVANOVA, Yordanka, GEROVA, Mariana. 2008. SOCl2/EtOH: Catalytic system for synthesis of chalcones. In Catalysis Communications, vol. 9, pp. 315–316. ISSN 1566-7367.

[7] WANG, Yong-Tao, LÜ, Lin-Rui, TANG, Gui-Mei. 2018. Syntheses, crystal structures and luminescent properties of two salts with 2-((1H-imidazol-1-yl)methyl)-1H-benzimidazole. In Journal of Molecular Structure, vol. 1156, pp. 156–163. ISSN 0022-2860.

[8] VERMA, Rohit, GUPTA, Chitra, GANIE, Ali Mohd, KUMAR, Vaibhav, SINGH, Sanjaya, SINGH, P K. 2021. CHEMISTRY OF BENZIMIDAZOLE AND THEIR DERIVATIVES: MINI REVIEW. In International Journal of Modern Pharmaceutical Research, vol 5, no. 3. pp. 167-197. ISSN 2319-5878.

[9] LIRAG, Rio Carlo, TM LE, Ha, MILJANIĆ, Š, Ognjen. 2013. L-shaped benzimidazole fluorophores: synthesis, characterization and optical response to bases, acids and anions. In Chemical Communications, vol. 49 no. 39, pp. 4304–4306. ISSN 1364-548X.

[10] SINGH, Narinder, JANG, Doo Ok. 2007. Benzimidazole-Based Tripodal Receptor: Highly Selective Fluorescent Chemosensor for Iodide in Aqueous Solution. In Organic Letters, vol. 9, no. 10, pp. 1991–1994. ISSN 1523-7060.

[11] DAS, Asesh, DAS, Gopal. 2021. Selective Chemodosimetric 'Turn-On' fluorescence sensor for HSO3- : Comparing the reactivity of the exocyclic vs. non-exocyclic C=C double bond. In Journal of Photochemistry and Photobiology A: Chemistry, vol. 425, pp. 113669. ISSN 1010-6030.

[12] CUBBAGE, Jerry W., GUO, Yushen , MCCULLA, Ryan D, JENKS, William S. 2001. Thermolysis of Alkyl Sulfoxides and Derivatives: A Comparison of Experiment and Theory. In The Journal of Organic Chemistry, vol. 66, no. 26, pp. 8722–8736. ISSN 0022-3263.

[13] ALVES DE SOUSA, Rodolphe, ARTAUD, Isabelle. 2008. Bis-β-sulfanylethylester and cyclic disulfide-S-oxides as precursors of bifunctionalized anionic derivatives with two oxidized sulfurs. In Tetrahedron, vol. 64, no.9, pp. 2198–2206. ISSN 0040-4020.

[14] DEY, Nilanjan. 2020. 'Off-the-Shelf' Material for Ratiometric Sensing of Phosgene at Nanomolar Level Both in Solution and Gaseous Phase. In ChemistrySelect, vol. 5, no. 22, pp. 6823–6827. ISSN 2365-6549.

Získavanie Dát z Podniku pre Detekciu Únikov vo Vodovodných Distribučných Sieťach pomocou Metód Strojového a Hlbokého Učenia

Data Acquisition From Enterprises for Leak Detection in Water Distribution Networks Using Machine and Deep Learning Methods

Ján Bábela[1]
Školiteľ: Michal Munk[2]
[1,2]Katedra informatiky, FPVaI UKF, Tr. A. Hlinku 1, 949 01 Nitra
[1] jan.babela@ukf.sk, [2] mmunk@ukf.sk

Abstrakt
Tento článok sa zameriava na efektívne získavanie dát z veľkých podnikov, ktoré spravujú vodovodné siete, s cieľom identifikovať potenciálne úniky a zlepšiť riadenie vodných zdrojov. Autor článku, ktorý spolupracuje v reálnom vodohospodárskom podniku, diskutuje o spolupráci s podnikom, identifikácii potrebných dát a informačných systémov, ako aj o formátoch a integrácii dát do platformy "Data Lake". Článok tiež popisuje konkrétne príklady identifikovaných informačných systémov a dátových setov a ponúka odporúčania na efektívne spracovanie a analýzu dát, ako aj na správu životného cyklu dát. Cieľom článku je poskytnúť čitateľom ucelený pohľad na výzvy spojené so získavaním dát a ich identifikáciou v podniku.

Kľúčové slová: identifikácia dát, získanie dát, strata vody, únik, distribučné siete

Abstract
This article focuses on the efficient acquisition of data from large enterprises managing water supply networks, with the aim of identifying potential leaks and improving water resource management. The author of the article, who collaborates in a real-world water management company, discusses collaboration with the company, identification of necessary data and information systems, as well as data formats and integration into the "Data Lake" platform. The article also describes specific examples of identified information systems and data sets and offers recommendations for effective data processing and analysis, as well as data lifecycle management. The goal of the article is to provide readers with a comprehensive view of the challenges associated with data acquisition and identification within an enterprise.

Keywords: data identification, data acquisition, water loss, leakage, distribution networks

Úvod

Voda je neoddeliteľnou súčasťou života na našej planéte, pričom zohráva kľúčovú úlohu v oblasti zdravia, ekonomického rozvoja a udržiavania ekosystémov. Avšak, významný podiel (30 % - 50%) vody sa stráca v dôsledku neefektívneho hospodárenia a únikov vo vodovodných distribučných sieťach [1] [2]. Tieto úniky predstavujú vážny problém pre životné prostredie, ekonomiku a spoločnosti zodpovedné za dodávku vody. Preto je nevyhnutné nájsť efektívne riešenia na znižovanie týchto strát a zlepšenie riadenia vodných zdrojov.

Tento článok sa zameriava na význam získavania dát z veľkých podnikov, ktoré spravujú vodovodné siete, s cieľom identifikovať potenciálne úniky. Budeme sa venovať metódam a technikám používaným na získavanie dát pre ich ďalšie spracovanie v súvislosti s použitím metód strojového a hlbokého učenia pri detekcii únikov vo vodovodných distribučných sieťach. Našim cieľom je poskytnúť čitateľom ucelený pohľad na výzvy spojené so získavaním dát a ich identifikáciou v podniku.

Jednou z hlavných špecifík článku je fakt, že autor článku aktuálne spolupracuje v reálnom vodohospodárskom podniku na tejto problematike a ponúka detailný popis súčasne vykonávaného postupu.

1 . Spolupráca s podnikom

Pri získavaní dát z podniku je dôležité nadviazať spoluprácu s príslušnými zamestnancami a oddeleniami. Čo zahŕňa:

- Komunikácia s manažmentom podniku pre získanie súhlasu a podporu pre projekt
- Spoluprácu s oddeleniami, ktoré spravujú dáta a informačné systémy
- Koordináciu s technickými tímami zodpovednými za údržbu a inštaláciu vodovodných sietí

2. Identifikácia potrebných dát a informačných systémov

Predtým, než sa budú dáta zhromažďovať, je dôležité identifikovať, aké informácie sú potrebné pre účinnú detekciu únikov. Medzi základné údaje patria:

- Geografické informácie o polohe potrubia
- Materiál potrubia a jeho priemer
- Vek a stav potrubia
- Dátum poslednej kontroly alebo údržby
- Zaznamenané úniky a opravy
- Dáta o tlaku a prietoku vody v sieti
- Informácie o spotrebe vody v danom území

Dôležitým krokom pre identifikáciu dát je vytvorenie prehľadu o informačných systémoch podniku. Ako účinná metóda sa osvedčuje mapovanie podnikovej architektúry (ak podniková architektúra v danom podniku neexistuje) ktorým, získame prehľad o produkovaných dátach na rôznej úrovni ich významu (biznisové, technické, štruktúrované, neštruktúrované). A ako sú dáta poskytované – technicky a legislatívne. Na neposlednom mieste je nutné dáta kategorizovať aj z pohľadu kybernetickej bezpečnosti.

Identifikujeme dodávateľov, vlastníkov a používateľov informačných systémov. Každý identifikovaný informačný systém môže obsahovať hodnotné dáta.

Z dobrej praxe odporúčame informačný systém osobne spoznať pomocou prezentácie od používateľov, resp. začať systém používať. Uľahčuje to nájsť spôsob exportovania dát a pochopenia povahe informácií ktoré sú v daných systémoch spracované. Takýmto preskúmaním sa môže zistiť, že informačné systémy majú vyvinuté rôzne reportingové moduly, ktoré poskytujú dáta už v predspracovanej podobe, čo v konečnom dôsledku šetrí mnoho úsilia súvisiace s pochopením „surových“ dát z databázy a skúmaním logického dátového modelu.

Identifikované informačné systémy a dátových setov:

- Merania tlakových snímačov z infraštruktúry
- Systém SCADA – systém kontroly a akvizície dát, výroba a distribúcia vody
- IoT – diaľkové odpočty, akustické senzory, atď.
- PTIS – prevádzkovo informačný systém
- Energetické datasety
- Dispečingové dáta
- GIS – geografické informačné systémy
- Ekonomické a zákaznícke systémy
- Hydrometeorologické údaje
- Stav vodných zdrojov

3. Dátové formáty a integrácia do „DATA LAKE“ platformy

Dáta získané z rôznych zdrojov môžu byť v rôznych formátoch, ako sú CSV, JSON, XML, SQL, alebo v iných špecifických formátoch. Aby ste tieto dáta mohli efektívne spracovať a analyzovať, je dôležité:

- Previesť dáta do jednotného formátu, ktorý je kompatibilný s vaším analytickým nástrojom alebo platformou
- Integrovať rôzne dátové zdroje a zabezpečiť konzistentnosť a kvalitu dát
- Vytvoriť dátové modely alebo štruktúry, ktoré umožnia jednoduchšie spracovanie a analýzu dát

3.1 Data Lake platforma

Inštalácia tohto nevyhnutného komponentu do podniku je základným kameňom projektu, ktorý bude mať synergický efekt pre podnik. Podnik okrem riešenia projektu získa dátovú platformu ako nástroj na dátové riadenie podniku. Pomocou platformy budú centralizované dáta z identifikovaných informačných systémov.

V podniku v ktorom projekt prebieha je k dispozícií Microsoft Azure Cloud.

Použitie Azure Data Lake Store pri práci s viacerými heterogénnymi dátovými zdrojmi si vyžaduje niekoľko krokov na zabezpečenie efektívneho

spracovania a správy dát. Je potrebné nasledovať tieto kroky, aby ste úspešne integrovali a uložili dáta do Azure Data Lake Store:

1. **Vytvorenie úložiska v Azure Data Lake Store**: Vytvoríme úložisko v rámci Azure Data Lake Store [3] pre uloženie vašich dát. Týmto sa zabezpečí, že vaše dáta budú centralizované a ľahko prístupné pre analýzu a spracovanie.
2. **Nastavenie prístupových práv a zabezpečenia**: Zabezpečíme, že dáta sú chránené pomocou správnych prístupových práv a šifrovania. Nastavíme IAM (Identity and Access Management) politiky a pravidlá pre prístup k dátam, a zabezpečíme, že len oprávnené osoby majú prístup k dátam.
3. **Nahrávanie dát:** Po vytvorení úložiska a nastavení prístupových práv môžeme začať nahrávať dáta do Azure Data Lake Store [4]. Možeme použiť rôzne nástroje a služby, ako napríklad Azure Data Factory, Azure Databricks [5] alebo Azure HDInsight [6], na extrakciu, transformáciu a nahrávanie dát z rôznych zdrojov do Azure Data Lake Store.
4. **Spracovanie a analýza dát:** Po uložení dát do Azure Data Lake Store môžeme použiť rôzne služby a nástroje na analýzu a spracovanie dát. Napríklad, môžeme použiť Azure Databricks alebo Azure HDInsight na vytvorenie Big Data analýz a spracovanie dát pomocou Apache Spark, Hive alebo iných technológií**.**
5. **Organizácia dát a správa životného cyklu:** Je dôležité správne organizovať dáta v Azure Data Lake Store. To zahŕňa vytvorenie zložiek a podzložiek, aby boli dáta usporiadané podľa kategórií, časových období alebo iných relevantných parametrov. Týmto zjednodušíte následné vyhľadávanie a spracovanie dát.
6. **Správa životného cyklu dát:** Spravujeme životný cyklus dát v Azure Data Lake Store pomocou pravidiel uchovávania a archivácie. Tieto pravidlá môžu byť založené na frekvencii prístupu, veku dát, právnych alebo regulačných požiadavkách a iných kritériách. Pomocou týchto pravidiel môžeme dáta archivovať alebo odstraňovať, čím zlepšujete výkon úložiska a znižujete náklady na uchovávanie dát.
7. **Monitorovanie a optimalizácia:** Monitorujeme využitie a výkon Azure Data Lake Store pomocou nástrojov, ako sú Azure Monitor a Log Analytics [7] . Tieto nástroje poskytnú prehľad o využití úložiska, prístupových vzoroch, problémoch s výkonom a iných metrikách. Na základe týchto informácií môžeme optimalizovať Azure Data Lake Store a prispôsobiť ho vašim potrebám.
8. **Integrácia s ďalšími službami Azure:** Využite možnosti integrácie Azure Data Lake Store s ďalšími službami Azure pre rozšírenie funkcionalít a zvýšenie efektívnosti. Napríklad, môžeme integrovať Azure Data Lake Store s Azure Machine Learning pre trénovanie a nasadenie modelov strojového učenia na dátach, alebo s Azure Power BI na vizualizáciu dát a vytváranie interaktívnych reportov.
9. **Zdieľanie dát a spolupráca:** Azure Data Lake Store umožňuje zdieľanie dát medzi rôznymi tímami a oddeleniami v rámci vašej organizácie. Môžeme vytvárať zdieľané úložiská dát, ktoré sú prístupné pre viacerých používateľov a umožňujú im pracovať s dátami súčasne. Týmto zjednodušíte spoluprácu, zdieľanie dát a znalostí, a zvýšite efektívnosť práce s dátami.

Vďaka dodržiavaniu týchto krokov môžeme úspešne použiť Azure Data Lake Store pri práci s viacerými heterogénnymi dátovými zdrojmi a zabezpečiť efektívne spracovanie, správu a analýzu dát.

4. Výsledky a diskusia

Výsledkom článku je hlbšie pochopenie významu získavania dát z veľkých podnikov spravujúcich vodovodné siete a procesov potrebných na efektívne spracovanie a analýzu týchto dát. Článok poskytuje ucelený pohľad na výzvy spojené so získavaním dát a ich identifikáciou v podniku. Autor článku prezentuje konkrétne príklady identifikovaných informačných systémov a dátových setov, ktoré môžu byť použité pri detekcii únikov a zlepšení riadenia vodných zdrojov.

Pre získanie užitočných znalostí z informácií nás čaká ešte dlhá cesta. Meritum tohto článku bola fáza získavania dát. Fáza získavania dát je kľúčovou súčasťou procesu dátovej vedy, pretože predstavuje základ, na ktorom sa vykonávajú všetky následné analýzy a modelovanie. Dôležitosť tejto fázy spočíva v niekoľkých aspektoch:

- Kvalita dát: Správne získané dáta sú nevyhnutné pre dosiahnutie presných a

spoľahlivých výsledkov analýzy. Ak sú dáta nekvalitné, nepresné alebo neúplné, môže to negatívne ovplyvniť celý proces dátového vedy a výsledky.

- Reprezentatívnosť dát: Pri získavaní dát je dôležité zaistiť, že dáta sú reprezentatívne pre skúmanú populáciu alebo jav. Ak dáta neposkytujú dostatočný obraz o skúmanom javu, môžu byť výsledky analýzy neplatné alebo neaplikovateľné.

- Integrácia dát: V mnohých prípadoch je potrebné kombinovať dáta z rôznych zdrojov alebo formátov. Fáza získavania dát zahŕňa procesy integrácie, transformácie a čistenia dát, ktoré sú nevyhnutné pre ich správne využitie v analýze a modelovaní.

- Časová úspora: Efektívne získavanie dát môže značne zredukovať čas potrebný na ich analýzu a modelovanie. Automatizácia a štandardizácia procesov získavania dát umožňujú dátovým vedcom rýchlo získať potrebné informácie a zamerať sa na vytváranie hodnoty prostredníctvom analýzy a modelovania.

- Legálnosť a etika: Fáza získavania dát zahŕňa aj otázky súvisiace s legálnosťou a etikou spracovania osobných údajov. Dodržiavanie právnych predpisov a etických zásad je nevyhnutné pre zabezpečenie dôveryhodnosti a zodpovednosti vo využívaní dát.

Fáza získavania dát je kľúčovým prvkom procesu dátovej vedy, pretože umožňuje spracovanie kvalitných, reprezentatívnych a integrovaných dát, zabezpečuje dodržiavanie právnych a etických zásad a uľahčuje efektívne využívanie času a zdrojov dátových vedcov. Bez tejto fázy by boli analýzy a modely založené na nesprávnych alebo neúplných dátach, čo by viedlo k nepresným alebo neplatným výsledkom. Preto je dôležité, aby dátoví vedci venovali dostatočnú pozornosť získavaniu dát a usilovali sa o kontinuálne zlepšovanie a optimalizáciu tohto procesu.

Záver

V dnešnej dobe rýchlo rastúcej technologickej a digitálnej revolúcie sa generuje obrovské množstvo dát z rôznych zdrojov a v rôznych formátoch. Efektívne získavanie dát z týchto zdrojov umožňuje dátovým vedcom prístup k bohatým informáciám, ktoré môžu byť použité na získavanie nových poznatkov a vytváranie hodnoty pre organizácie a spoločnosť ako celok. Preto, aby boli dátoví vedci schopní efektívne analyzovať a modelovať rôzne javy, musia mať silné základy a skúsenosti v oblasti získavania dát.

Toto zahŕňa aj schopnosť identifikovať vhodné zdroje dát, získavať a spracovávať dáta z rôznych formátov, čistiť a transformovať dáta pre analýzu a modelovanie, a dodržiavať právne a etické zásady pri spracovaní dát. Týmto spôsobom je fáza získavania dát zásadným krokom pre úspešný proces dátovej vedy a vytváranie hodnoty z dát.

Spolupráca s veľkými podnikmi v oblasti vodárenstva je kľúčová pre úspešnú implementáciu týchto metód. Je nevyhnutné vytvoriť platformy a nástroje na zhromažďovanie, spracovanie a analýzu dát z rôznych zdrojov, ako aj na integráciu týchto dát do existujúcich informačných systémov. Okrem toho je potrebné zabezpečiť kontinuálne vzdelávanie a odbornú prípravu zamestnancov v oblasti využitia dát a analýzy, aby boli schopní efektívne pracovať s modernými technológiami a metódami.

Do budúcnosti bude potrebné sledovať nové technologické inovácie a výskumné poznatky v oblasti detekcie únikov vo vodovodných distribučných sieťach, aby sme mohli kontinuálne zlepšovať a optimalizovať procesy získavania a analýzy dát. Spolupráca medzi podnikmi, akademickým sektorom a verejnými inštitúciami bude naďalej kľúčovou zložkou pri riešení tejto globálnej problematiky a zabezpečení udržateľného riadenia vodných zdrojov na celom svete.

Poďakovanie

Rád by som sa poďakoval svojmu školiteľovi prof. RNDr. Michalovi Munkovi, PhD. Za odborné rady, konzultácie a trpezlivosť.

Článok bol podporený grantom UGA VII/2/2023.

Použitá literatúra

[1] D. P. Duffy, "Successful Water Leak Detection and Audit Methods", 2017. [Online]. Available:

https://www.waterworld.com/home/article/14070706/successful-water-leak-detection-and-audit-methods. [Accessed 10.08.2022].
[2] D. Rogers, "Leaking Water Networks: An Economic and Environmental Disaster", Procedia Engineering 70, Elsevier, 2014. [Online]. Available: https://doi.org/10.1016/j.proeng.2014.02.157. [Accessed 10.08.2022].
[3] Azure Data Lake Store dokumentácia, 2023. [Online]. Available: https://docs.microsoft.com/en-us/azure/data-lake-store/. [Accessed 10.03.2023].
[4] Azure Data Factory dokumentácia, 2023. [Online]. Available: https://docs.microsoft.com/en-us/azure/data-factory/. [Accessed 10.03.2023].
[5] Azure Databricks dokumentácia, 2023. [Online]. Available: https://docs.databricks.com/azure/index.html. [Accessed 12.03.2023].
[6] Azure HDInsight dokumentácia, 2023. [Online]. Available: https://docs.microsoft.com/en-s/azure/hdinsight/. [Accessed 12.03.2023].
[7] Azure Monitor dokumentácia, 2023. [Online]. Available: https://docs.microsoft.com/en-us/azure/azure-monitor/ https://docs.microsoft.com/en-us/azure/data-lake-store/. [Accessed 12.03.2023].

Využitie NLP metód pri predikcii úrovne neurodegeneratívneho ochorenia

The use of NLP methods in predicting the level of neurodegenerative disease

Nataliia Časnochová Zozuk[1]
Školiteľ: Daša Munková[2]
[1,2]Katedra informatiky, FPVaI UKF, Tr. A. Hlinku 1, 949 01 Nitra,
[1] nataliia.casnochova.zozuk@ukf.sk, [2] dmunkova@ukf.sk

Abstrakt

Alzheimerova choroba sa stala celosvetovo najčastejším neurodegeneratívnym ochorením. Včasná detekcia a intervencia sú najúčinnejšou metódou spomalenia progresu ochorenia. V súčasnosti prebieha výskum v oblasti rečového prejavu ľudí s neurodegeneratívnymi ochoreniami v rámci projektu EWA (Early Warning of Alzheimer). V práci skúmame zložitosť jazykového prejavu probandov projektu EWA pri popise obrázkov. Predpokladáme, že čím je neurodegeneratívna choroba rozvinutejšia, tým menej slov proband používa a jeho reč je významovo menej bohatá. Na overenie nášho predpokladu použijeme kvantitatívne miery jazykovej komplexnosti, pričom sa zameriame na lexikálnu rôznorodosť, hustotu a variáciu. Naše výsledky indikujú rozdiely v počte použitých slov pri popise obrázka medzi zdravými probandmi a trpiacimi Alzheimerovou chorobou. Z hľadiska pomerov jednotlivých kategórií podľa slovného druhu ku všetkým použitým slovám sa rozdiely neprejavili. Zaujímavým zistením je, že chorí probandi používajú viac slovies ako podstatných mien v porovnaní so zdravými probandmi.

Kľúčové slová: NLP metódy, lexikálne vlastnosti, neurodegeneratívne ochorenia

Abstract

Alzheimer's disease (AD) has become the most common neurodegenerative disease worldwide. Early detection and intervention are the most effective methods of slowing the progression of the disease. Research is currently underway in the field of speech utterance by people with neurodegenerative diseases within the EWA (Early Warning of Alzheimer's) project. In this study, we investigate the complexity of the language utterance of the EWA project probands, when describing a certain picture. We assume that the more developed the neurodegenerative disease is, the fewer words the proband uses to describe the picture and her/his speech is less rich in meaning. To test our assumption, we use quantitative measures of linguistic complexity, focusing on lexical diversity, density, and variation. Our results indicate differences in the number of words used to describe the picture between AD and healthy persons. From the point of view of the ratios of individual PoS categories to all words, differences were not shown. An interesting finding is that AD sufferers use more verbs than nouns compared to healthy persons.

Key Words: NLP methods, lexical properties, neurodegenerative diseases

Úvod

Jedným z najvážnejších problémov súčasnej spoločnosti je zvyšovanie priemerného veku populácie a s tým súvisí rapídne zvyšovanie počtu ľudí trpiacich rôznymi civilizačnými ochoreniami. Medzi najnebezpečnejšie z nich a najviac ohrozujúce spoločnosť sú neurodegeneratívne ochorenia ako napríklad Alzheimerova choroba (AD) [1]. Tie totiž ohrozujú nielen samotných chorých, ale negatívne ovplyvňujú celé ich okolie, pretože postihnutí sú často dlhú dobu odkázaní na intenzívnu až 24 hodinovú starostlivosť, či už ústavnú, alebo domácu [2]. Ide o globálnu ekonomickú, zdravotnú a sociálnu hrozbu spoločnosti.

Alzheimerova choroba sa stala celosvetovo najčastejším neurodegeneratívnym ochorením, ktoré vážne ovplyvňuje zdravie starších ľudí. Včasná detekcia a intervencia sú v súčasnosti najúčinnejšou metódou

spomalenia progresu ochorenia. Štúdie ukázali, že posúdenie a odhalenie kognitívnej poruchy a následná terapia môže pomôcť udržať zdravú mozgovú aktivitu, spomaliť ireverzibilný pokles výkonnosti mozgu a predĺžiť život pacienta [3].

Pre detekciu včasných príznakov Alzheimerovej choroby sa využívajú viaceré metódy (invazívne a neinvazívne). Presnými invazívnymi, ale drahými metódami, ktoré sa nedajú použiť pre plošný skríning populácie patria vyšetrenia MRI a punkcia mozgovo-miechovej tekutiny. Príznaky neurodegeneratívnych ochorení sa prejavujú však aj v spôsobe a kvalite rečového prejavu postihnutého človeka, ktoré sa dajú detekovať neinvazívnymi metódami [4]. V porovnaní s kognitívne zdravými ľuďmi pacienti s AD zvyčajne rozprávajú pomalšie s väčšími prestávkami medzi slovami a trpia ťažkosťami s hľadaním a získavaním slov [5].

V súčasnosti prebieha výskum v oblasti rečového prejavu ľudí s neurodegeneratívnymi ochoreniami v rámci projektu EWA, ktorého nositeľom je spoločnosť AXON PRO s.r.o. a riešiteľmi Ústav informatiky SAV, Paneurópska vysoká škola, Centrum Memory a LF UPJŠ Košice. Cieľom projektu je vyvinutie mobilnej aplikácie, ktorá umožní detekciu neurodegeneratívnych ochorení prostredníctvom analýzy rečových a jazykových vzorcov. V rámci projektu, kde sa zbierajú rečové nahrávky ľudí, ktorí popisujú to, čo vidia na jednoduchších, či zložitejších obrázkoch vzniká databáza týchto rečových záznamov, ktorá obsahuje desaťtisíce vzoriek.

V tejto práci sa budeme venovať skúmaniu zložitosti jazykového prejavu, konkrétne výpovedí probandov opisujúcich určitý obrázok, získaných v uvedenom výskume projektu EWA. Cieľom nášho výskumu je odhaliť rozdiely v prejavoch zdravých a chorých osôb vzhľadom na zložitosť textu. Metód na meranie zložitosti textu je veľké množstvo (Type-token ratio – TTR, Moving-Average Type-Token Ratio – MATTR, Measure of Textual Lexical Diversity – MTLD, atď.), či už zameraných na fonetickú, morfologickú, syntaktickú, lexikálnu alebo sémantickú rovinu jazykového prejavu [6]. My v našej práci sme sa zamerali iba na jednu rovinu jazyka a to na lexikálnu (slovnú zásobu), špeciálne na lexikálne vlastnosti textu.

1 Lexikálne vlastnosti textov

K lexikálnym vlastnostiam skúmaných textov patrí rozsah základnej slovnej zásoby, lexikálna rôznorodosť a lexikálna variácia [7]. Rozsah slovnej zásoby znamená počet lem, ktoré patria do rôznych slovnodruhových kategórií (podstatné mená, slovesá a pod.). Lexikálna rôznorodosť znamená pomer medzi počtom jedinečných tokenov a celkovým počtom tokenov [8].

Lexikálna variácia sa skladá z lexikálnej hustoty (pomeru medzi plnovýznamovými slovami ako slovesá, podstatné mená, prídavné mená alebo príslovky k celkovému počtu slov v texte) a rozloženia plnovýznamových slov medzi sebou. Lexikálna hustota nám ukazuje, aký bohatý je text na plnovýznamové slová, čo nám pomáha posúdiť jeho zložitosť [9].

Predpokladáme, že že čím je neurodegeneratívna choroba rozvinutejšia, tým menej slov respondent pri popise obrázka používa.

Na overenie nášho predpokladu použijeme kvantitatívne miery komplexnosti prirodzeného jazyka, pričom sa zameriame na lexikálnu rôznorodosť, hustotu a variáciu.

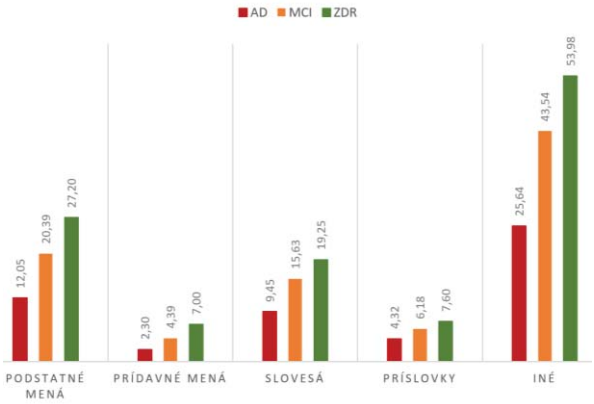
2 Výsledky a diskusia

Porovnávali sa tri skupiny - ľudia s príznakmi AD, ľudia s príznakmi MCI (Mild Cognitive Impairment - ľahká forma neurodegeneratívneho ochorenia) a zdraví ľudia. Keďže je známe, že aj u zdravých ľudí dochádza vekom k prirodzenému poklesu kognitívnych schopností, tak sme skupiny vyberali spôsobom, aby priemerný vek v skupinách bol približne rovnaký - 77 rokov. V skupine AD bolo 44 osôb, v skupine MCI 57 a v skupine zdravých 204 osôb.

Slová v ich výpovediach boli označkované (otagované) podľa slovného druhu slov (PoS tagging) a sčítal sa výskyt slov v jednotlivých kategóriách slovných druhov [10]. Zároveň sa určil celkový počet slov hovoriaceho pre danú výpoveď (opis obrázka). Obrázok mal názov “Muž v kuchyni” a bol inšpirovaný známym obrázkom používaným v psychologických výskumoch “Cookies theft” [11]. Popisovaný obrázok obsahuje scénu, kde sa muž v kuchyni venuje rôznym činnostiam a zároveň v kuchyni prebiehajú iné udalosti, ako kypenie z hrnca, vytekanie vody z drezu a hrozí pád dieťaťa zo stoličky.

Pri analýze popisu obrázka sme sa upriamili iba na PoS tagovanie štyroch slovnodruhových kategórií a to podstatných mien, slovies, prídavných mien a prísloviek. Tento výber bol daný tým, aké slová väčšinou používali hovoriaci pri popise obrázka.

2.1 Lexikálna hustota



Graf 1 Priemerné výskyty slov podľa daných kategórií
Zdroj: Autor

V grafe 1 zobrazené priemerné počty vybraných slovných druhov podľa skúmaných kategórii.

V tabuľke 1 sú uvedené pomery jednotlivých kategórii a lexikálna hustota. Smerodajná odchýlka vyjadruje mieru rozdielnosti daného parametra pre jednotlivé skupiny nahrávaných osôb. Čím je jej hodnota vyššia, tým rozdielnejšie hodnoty pre daný parameter a jednotlivé skupiny sa dosiahli.

Tab. 1 Pomery jednotlivých kategórií, lexikálna hustota
Zdroj: Autor

	podstatné mená/ počet slov	prídavné mená/ počet slov	slovesá/ počet slov	príslovky/ počet slov	lexikálna hustota
AD	0,23	0,04	0,19	0,07	0,53
MCI	0,23	0,04	0,18	0,07	0,52
ZDR	0,25	0,06	0,17	0,06	0,54
smer. odch.	*0,01*	*0,01*	*0,01*	*0,00*	*0,01*

2.2 Rozloženie plnovýznamových slov

Pod rozložením plnovýznamových slov rozumieme pomery výskytu slov v jednotlivých kategóriách medzi sebou. My sme skúmali pomer prídavných mien, slovies a prísloviek ku podstatným menám.

Tab. 2 Rozloženie plnovýznamových slov medzi sebou
Zdroj: Autor

	prídavné mená/ podstatné mená	slovesá/ podstatné mená	príslovky/ podstatné mená
AD	0,16	1,00	0,38
MCI	0,20	0,81	0,33
ZDR	0,24	0,74	0,29
smer. odch.	*0,03*	*0,11*	*0,04*

Identifikovali sme rozdiely v lexikálnej zložitosti výpovedí medzi skúmanými probandmi. Zjavnými sú rozdiely v počte použitých slov pri popise obrázka. Približne rovnaké rozdiely v počte slov sa ukázali vo všetkých kategóriách a vo všetkých troch skupinách respondentov. Z hľadiska pomerov jednotlivých kategórií podľa slovného druhu ku všetkým použitým slovám sa rozdiely neprejavili. Smerodajná odchýlka vo všetkých prípadoch nepresahuje 1%.

V prípade rozdelenia plnovýznamových slov medzi sebou sú rozdiely väčšie ako pri pomeroch uvedených druhov ku všetkým slovám.

Záver

Výskumom sa podarilo potvrdiť našu hypotézu (predpoklad), že čím je neurodegeneratívna choroba rozvinutejšia, tým menej slov respondent pri popise obrázka používa. Medzi skupinami respondentov sa neukázali rozdiely v lexikálnej hustote, ktorá sa medzi skupinami líšila len v rozsahu 2%.

Väčšie rozdiely sa ukazujú v rozložení plnovýznamových slov. Najväčší rozdiel je v pomere použitých slovies voči podstatným menám, kde smerodajná odchýlka dosahuje až 11%.

Zaujímavým je zistený fakt, že chorí probandi používali viac slovies voči podstatným menám v porovnaní so zdravými probandmi. Tento fakt by vyžadoval ďalšiu podrobnejšiu analýzu.

Poďakovanie

Pri výskumnej práci sme mohli využiť dáta získané v rámci projektu EWA, za čo patrí riešiteľom tohto projektu poďakovanie. Projekt je spolufinancovaný fondom: Európsky fond regionálneho rozvoja.

Použitá literatúra

[1] SCHACHTER, Armand, DAVIS, Kenneth. 2000. Alzheimer's disease. In Dialogues in Clinical Neuroscience, vol. 2, no. 2, pp. 91. ISSN 1958-5969.

[2] REŽNÁKOVÁ, Veronika, NOVÁKOVÁ, Michaela. 2019. Využitie štandardných diagnostických a terapeutických postupov demencií v reálnej praxi. In Psychiatria pre prax, roč. 20, č. 4, s. 164-168.

[3] MORLEY, John et al. 2015. Brain Health: The Importance of Recognizing Cognitive Impairment: An IAGG Consensus Conference. Journal of the American Medical Directors Association, vol. 16, no. 9, pp. 731-739. ISSN 1525-8610.

[4] AHMED, Samrah et al. 2013. Connected speech as a marker of disease progression in autopsy-proven Alzheimer’s disease. In Brain, vol. 136, no. 12, pp. 3727-3737. ISSN 0006-8950.

[5] KRÁLOVÁ, Mária. 2017. Demencie. Bratislava: Univerzita Komenského. ISBN 978-80-223-4307-7.

[6] KETTUNEN, Kimmo. 2014. Can type-token ratio be used to show morphological complexity of languages? In Journal of Quantitative Linguistics, vol. 21, no. 3, pp 223-245. ISSN 17445035.

[7] IMANI, Aliakbar, HABIL, Hadina. 2017. Lexical Features of Academic Writing. In LSP International Journal, vol. 1, no. 1, pp. 41-50. DOI: 10.11113/LSPI.V1N1.10

[8] GREGORI-SIGNES Carmen, CLAVEL-ARROITIA Begoña. 2015. Analysing lexical density and lexical diversity in university students' written discourse. In Procedia-Social and Behavioral Sciences, vol. 198, pp. 546-556. ISSN 1877-0428.

[9] JOHANSSON, Victoria. 2008. Lexical diversity and lexical density in speech and writing: a developmental perspective. In Working papers / Lund University, Department of Linguistics and Phonetics, vol. 53, pp. 61-79. ISSN 0280-526X.

[10] CHICHE, Alebachew, YITAGESU, Betselot. 2022. Part of speech tagging: a systematic review of deep learning and machine learning approaches. In Journal of Big Data, vol. 9, no. 1, pp. 1-25. ISSN 21961115.

[11] CUMMINGS, Louise. 2019. Describing the Cookie Theft picture: Sources of breakdown in Alzheimer’s dementia. In Pragmatics and Society, vol. 10, no. 2, pp. 153-176. ISSN 1878-9714.