

Morfološke značajke vrste *Ancylus fluviatilis* O. F. Müller, 1774 (Gastropoda, Planorbidae)

Gudelj, Karolina

Master's thesis / Diplomski rad

2016

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

Permanent link / Trajna poveznica: <https://um.nsk.hr/um:nbn:hr:217:534493>

Rights / Prava: [In copyright](#) / [Zaštićeno autorskim pravom.](#)

Download date / Datum preuzimanja: **2025-02-09**



Repository / Repozitorij:

[Repository of the Faculty of Science - University of Zagreb](#)



Sveučilište u Zagrebu
Prirodoslovno-matematički fakultet
Biološki odsjek

Karolina Gudelj

Morfološke značajke vrste *Ancylus fluviatilis* O. F. Müller, 1774
(Gastropoda: Planorbidae)

Diplomski rad

Zagreb, 2016.

Ovaj rad, izrađen u Zoologijskom zavodu Biološkog odsjeka Prirodoslovno-matematičkog fakulteta Sveučilišta u Zagrebu, pod vodstvom doc. dr. sc. Jasne Lajtner, predan je na ocjenu Biološkom odsjeku Prirodoslovno-matematičkog fakulteta Sveučilišta u Zagrebu radi stjecanja zvanja magistra struke znanosti o okolišu.

Najprije želim zahvaliti dragom Bogu i Njegovoj Providnosti koja me vodila, snažila te inspirirala na putu prema kruni obrazovanja, diplomi.

Posebna zahvala dragoj mentorici, doc. dr. sc. Jasni Lajtner na svesrdnoj pomoći, trudu i strpljenju te dragocjenom vremenu koje je izdvojila kako bi ovaj diplomski rad bio realiziran.

Od srca zahvaljujem majci i ocu koji su me moralno i financijski podupirali kroz čitavo moje obrazovanje i bili mi uvijek primjer kako se uz molitvu i rad sve može postići.

Hvala dragim sestrama, prijateljima i kolegama koji su mi studentske dane učinili nezaboravnim i najljepšim periodom života.

„Bez obrazovanja smo u strašnoj i smrtonosnoj opasnosti da obrazovane ljude shvatimo ozbiljno.“ G.K. Chesterton

Sveučilište u Zagrebu
Prirodoslovno-matematički fakultet
Biološki odsjek

Diplomski rad

**MORFOLOŠKE ZNAČAJKE VRSTE *ANCYLUS FLUVIATILIS* O. F. MÜLLER, 1774
(GASTROPODA: PLANORBIDAE)**

Karolina Gudelj

Rooseveltov trg 6, 10 000 Zagreb

Glavni cilj ovog rada bio je usporediti morfološke značajke dviju populacija slatkovodnog puža *Ancylus fluviatilis* te utvrditi razlike i sličnosti u mjerenim vrijednostima. Jedna populacija uzorkovana je u rijeci Rudi (Dalmacija) koja pripada jadranskom slijevu, a druga u potoku Slapnica (Žumberak) koja pripada crnomorskom slijevu. Na oba lokaliteta jedinke su ručno skupljane s kamenja i valutica na koje su bile pričvršćene. Za određivanje morfoloških značajki vrste iz svake populacije odabrano je 110 jedinki kojima su izmjerene četiri morfometrijske značajke kućice (duljina, visina, anteriorna širina, posteriorna širina) te je određena suha i mokra masa jedinke. Osim toga, analizirano je i pet omjera morfoloških značajki kućice. Deskriptivna statistika mjerenih značajki pokazala je da jedinke uzorkovane u Rudi imaju manje kućice u usporedbi s puževima iz Slapnice. Prema rezultatima t-testa sve morfološke značajke, omjeri visine i duljine kućice, kao i omjeri visine i anteriorne širine kućice statistički se značajno razlikuju između dvije populacije. Visoke vrijednosti Pearsonovog koeficijenta korelacije za sve mjerene morfometrijske značajke pokazuju da je korelacija gotovo potpuna. Najjača linearna povezanost među mjerenim obilježjima populacije puževa u rijeci Rudi uočena je između duljine i anteriorne širine kućice (koeficijent determinacije linearnog regresijskog modela $R^2 = 0,939$). Za rijeku Slapnicu najjača je linearna povezanost uočena između duljine kućice i suhe mase jedinke ($R^2 = 0,862$).

(34 stranice, 14 slika, 7 tablica, 35 literaturnih navoda, jezik izvornika: hrvatski)

Rad je pohranjen u Središnjoj biološkoj knjižnici

Ključne riječi: Ancyliidae, morfologija ljuske, mekušci, slatkovodni puževi

Voditelj: Doc. dr. sc. Jasna Lajtner

Ocjenitelji: Doc. dr. sc. Jasna Lajtner
Prof. dr. sc. Božena Mitić

Izv. prof. dr. sc. Blanka Cvetko Tešović

Izv. prof. dr. sc. Danijel Orešić

Rad prihvaćen: 18. veljače 2016.

BASIC DOCUMENTATION CARD

University of Zagreb
Faculty of Science
Department of Biology

Graduation thesis

MORPHOLOGICAL CHARACTERISTICS OF *ANCYLUS FLUVIATILIS* O. F. MÜLLER, 1774 (GASTROPODA: PLANORBIDAE)

Karolina Gudelj

Rooseveltova trg 6, 10 000 Zagreb, Croatia

The main objective of this study was comparison of the morphological characteristics of the two populations of freshwater snail *Ancylus fluviatilis* and to determine differences and similarities between measured values. One snail population was sampled from Ruda River (Dalmacija) which belongs to the Adriatic basin and the second population was sampled from stream Slapnica which belongs to the basin of Black Sea. At both sites individuals were manually collected from rocks and pebbles. To determine the morphological characteristics of species, 110 individuals were selected from each of the two populations. For each of the individuals, four morphometric values of the shell were measured (length, height, anterior width, posterior width), as well as their dry and wet mass. Five morphometric ratios of shell were also calculated. Descriptive statistics indicated that the individuals sampled from Ruda River have smaller shells compared to snails from stream Slapnica. According to the results of t-test, all the morphological features and ratios between shell height and shell length, as well as ratios between shell height and shell anterior width were significantly different among two populations. The high value of Pearson correlation coefficient for all measured morphometric features indicated that the correlation was almost perfect. The strongest linear relationship among the measured characteristics of the snail population in the river Ruda was observed between the shell length and shell anterior width (coefficient of determination $R^2 = 0,939$). For stream Slapnica the strongest linear relationship was observed between the shell length and its dry mass ($R^2 = 0,862$).

(34 pages, 14 figures, 7 tables, 35 references, original in: Croatian language)

Thesis deposited in the Central Biological Library

Key words: Ancyliidae, shell morphology, molluscs, freshwater snails

Supervisor: Dr. Jasna Lajtner, Asst. Prof.

Reviewers: Dr. Jasna Lajtner, Asst. Prof.
Dr. Božena Mitić, Prof.
Dr. Blanka Cvetko Tešović, Assoc. Prof.
Dr. Danijel Orešić, Assoc. Prof.

Thesis accepted: 18th February, 2016

Sadržaj

| | |
|---|----|
| 1. UVOD | 1 |
| 1.1. Opće značajke mekušaca..... | 1 |
| 1.2. Morfologija i anatomija puževa | 1 |
| 1.3. Ekologija puževa | 4 |
| 1.3.1. Ekologija slatkovodnih puževa | 5 |
| 1.4. Ugroženost slatkovodnih puževa..... | 7 |
| 1.5. Značajke vrste <i>Ancylus fluviatilis</i> | 8 |
| 1.6. Cilj istraživanja..... | 9 |
| 2. MATERIJALI I METODE | 10 |
| 2.1. Područje istraživanja i sakupljanje uzoraka | 10 |
| 2.2. Laboratorijska obrada uzoraka..... | 12 |
| 2.3. Obrada podataka | 14 |
| 3. REZULTATI | 15 |
| 3.1 Deskriptivna statistika mjerenih morfoloških značajki | 15 |
| 3.2 Koeficijent korelacije | 19 |
| 3.3 Parametrijski test značajnosti..... | 19 |
| 3.4 Jednostavna linearna regresija..... | 20 |
| 4. RASPRAVA | 26 |
| 5. ZAKLJUČAK | 30 |
| 6. LITERATURA | 31 |
| 7. ŽIVOTOPIS | 34 |

1. UVOD

1.1. Opće značajke mekušaca

Mollusca (mekušci) su koljeno beskraljeznjaka koje pripada natkoljenu Lophotrochozoa (Trochozoa). Skupina je dobila ime prema latinskoj riječi "mollis" što znači mekan, savitljiv, nježan, a odnosi se na mekano tijelo koje je zaštićeno unutar čvrste ljuske. Grana zoologije koja proučava mekušce je malakologija (Matoničkin i sur., 1998).

Najstariji fosilni nalazi datiraju iz kasnog prekambrija dok je najveća raznolikost fosilnih mekušaca iz razdoblja ordovicija. Evolucijski su stara polifiletska skupina s oko 35 000 opisanih izumrlih vrsta (Matoničkin i sur., 1998).

Raznolikost unutar koljena mekušaca potvrđuje broj od oko 81 000 recentnih vrsta (Bouchet, 2007) raspoređenih u sedam razreda: Monoplacophora (jednoljušturaši), Aplacophora (bezljušturaši), Polyplacophora (mnogoljušturaši), Scaphopoda (koponošci), Gastropoda (puževi), Bivalvia (školjkaši) i Cephalopoda (glavonošci) (Habdija i sur., 2011). Najbrojnije su morske vrste (55 000) dok je 25 000 kopnenih i 6 000 slatkovodnih vrsta (Bouchet, 2007). Daljnjim istraživanjima broj ovih vrsta se povećava svake godine (Cuttelod i sur., 2011).

Mekušci su rasprostranjeni u gotovo svim ekosustavima diljem svijeta gdje čine stabilne zajednice. Širok spektar anatomskih, morfoloških i etoloških prilagodbi Gastropoda na životne uvjete je omogućio nastanjivanje morskog, slatkovodnog i kopnenog okoliša (Habdija i sur., 2011). Predstavnici razreda Bivalvia žive u slatkim vodama te u moru dok su ostali razredi mekušaca isključivo morski organizmi (Matoničkin i sur., 1998).

Mekušci su važan izvor hrane za ljude, ptice, ribe, sisavce i druge beskraljeznjake te imaju ključnu ulogu u kruženju nutrijenata, obnovi tla i filtraciji vode. Dobri su indikatori kakvoće okoliša, posebno u rijekama, jezerima, močvarama, napuštenim travnjacima i šumama (Cuttelod i sur., 2011).

1.2. Morfologija i anatomija puževa

Gastropoda (puževi) su najbrojniji i najraznovrsniji razred koji čini oko 80 % recentnih mekušaca. Velika varijabilnost veličine, boje i oblika kućice omogućava determinaciju vrsta i porodica. Zbog raznolikosti u veličini te morfologiji tijela i kućice zauzimaju različite ekološke niše i jedina su skupina mekušaca koja naseljava kopno (Holthuis, 1995).

Recentni puževi podijeljeni su u dva podrazreda: Eogastropoda i Orthogastropoda (Ponder i Lindberg, 2008), ali i dalje se najčešće koristi stara podjela na tri podrazreda prema stupnju torzije (Habdija i sur., 2011): prednoškržnjaci (Prosobranchia), stražnoškržnjaci (Opisthobranchia) i plućnjaci (Pulmonata).

Tijelo puževa je podijeljeno na glavu, stopalo, utrobnu vrećicu i vapnenačku ljušturu (kućicu) s plaštem. Na prednjem dijelu tijela je smještena glava i na njoj se nalaze oči te jedan ili dva par ticala koja su kod nekih vrsta zakržljala. Stopalo se nalazi na trbušnoj strani te se zajedno s glavom može uvući u kućicu. Na leđnoj strani je smještena spiralno savijena utroba obavijena plaštem koji zaštićuje tijelo i stvara ljusku (Habdija i sur., 2004).

Tijekom embrionalnog razvoja došlo je do torzije ili zakretanja utrobne vrećice i plaštanog kompleksa (Matoničkin i sur., 1998). Posljedice različitog stupnja torzije tijekom embriogeneze vidljive su u raznolikosti građe i asimetričnosti živčanog sustava (Habdija i sur., 2011).

Puževi su mekušci s najčešće jednodijelnom i asimetričnom kućicom koja raste spiralno oko osi rasta (Matoničkin i sur., 1998). Kućica djelomično ili u cijelosti nedostaje u juvenilnim ili odraslim stadijima pojedinih skupina, a potpuni gubitak kućice je vidljiv kod nekoliko skupina kopnenih i morskih puževa (Holthuis, 1995). Rub plašta izlučuje kućicu koja kao vanjski skelet daje mehaničku potporu i zaštitu tijelu (Habdija i sur., 2004). Kućica je građena od tri sloja, tankog vanjskog sloja (*periostracum*) izgrađenog od bjelančevine konhiolina, srednjeg prizmatičnog sloja (*ostracum*) i unutarnjeg sedefastog sloja (*hypostracum*). Srednji i unutarnji sloj sadrže kristale kalcita, aragonita i verita koji se ugrađuju u organski matriks (Matoničkin i sur., 1998; Habdija i sur., 2004). Gornji dio kućice je vrh ili *apex* koji se prvi razvija dok je bazalni dio najkasnije razvijen. Broj zavoja kućice je promjenjiv i može biti od dva do 16. Posljednji zavoj je najveći i otvara se ušćem ili aperturom kroz koje se uvlači ili izvlači glava i stopalo jedinke (Matoničkin i sur., 1998). Položaj ušća se određuje pravilnom orijentacijom kućice tako da je vrh usmjeren prema gore, a ušće dolje i prema promatraču. Ukoliko je ušće smješteno na desnoj strani kućica je dekstrozna, a ako je ušće na lijevoj strani, kućica je sinistrozna (Habdija i sur., 2004). Prednoškržnjaci (Prosobranchiata) imaju ušće koje zatvara rožnati poklopac, operkulum. Stražnji dio stopala izlučuje operkulum što omogućuje puževima zaštitu od gubitka vode i potencijalnih predatora. S obzirom na rast i način zatvaranja ušća operkulum se osnovno dijeli na flexiclaudentni koji je nekalcificiran i ne raste usporedno s rastom jedinke te rigidoclaudentni operkulum koji je dijelom kalcificiran i raste usporedno s jedinkom. Dotiču li se zavoji u osi spirale nastaje vreteno ili *columella*, a

ukoliko se ne dotiču razvija se šuplja kolumela koja s donje strane ima otvor, pupak ili *umbilicus* (Matoničkin, 1978; Habdija i sur., 2004).

Površinu tijela puževa pokriva jednoslojna trepetljikava epiderma sastavljena od epitelnih trepetljikavih stanica poredanih na stopalu te žljezdanih stanica koje luče sluz koja zaštićuje tijelo od isušivanja i omogućava kretanje kopnenim puževima. Veću koncentraciju žljezdanih stanica ima epiderma na rubu plašta. Plašt ili *pallium* je ektodermalno udvostručenje koje obavija tijelo, osim glave i stopala (Habdija i sur., 2004). Plaštana šupljina je smještena između tijela i plašta, a između plašta i ljuske se nalazi izvanplaštana tekućina u kojoj se odvijaju procesi izlučivanja organskog matriksa (Matoničkin i sur., 1998; Habdija i sur., 2004).

Puževi imaju specijalizirane mišiće koji svojim kontrakcijama pokreću jedan ili više organa. Za kolumelu je pričvršćen vretenasti mišić koji se grana u mišićne snopove povezane s glavom, stopalom, ticalima i ždrijelom. Dorzoventralni mišići izlaze iz stopala i pričvršćeni su za vrh kućice te stezanjem omogućuju njegovo koljenasto savijanje i uvlačenje u kućicu. Stopalo je prilagođeno puzanju kod kopnenih vrsta, a morskim puževim omogućava plivanje. Stražnjokrznjaci imaju i postrano razvijene parapodije za plivanje (Matoničkin i sur., 1998).

Mehanička i kemijska osjetila se nalaze u epidermi, a najgušće su raspoređena na rubu stopala i ticalima. Statocisti su organi za ravnotežu, a nalaze se na stopalu (Habdija i sur., 2011). Svjetlosne podražaje primaju pomoću očiju smještenih na ticalima ili u njihovoj blizini. Osfradiji (kemoreceptori) se nalaze blizu osnovice škrge i karakteristični su za vodene puževe (Habdija i sur., 2004).

Građa i položaj probavnog sustava su povezani s vrstom i načinom uzimanja hrane. Puževi su svejedi, biljojedi, strvinari i detritivori (Habdija i sur., 2011). Trenica ili radula je hitinska membrana s brojnim redovima zubića, a smještena je na trbušnoj strani ždrijela. Radula i kutikulizirane čeljusti služe za prihvaćanje i mehaničko usitnjavanje hrane (Habdija i sur., 2011). Radula se razlikuje među pojedinim skupinama što omogućava determinaciju puževa. Probavne žlijezde su povezane sa želucem i sudjeluju u ekstracelularnoj i intracelularnoj probavi (Habdija i sur., 2004).

Puževi imaju otvoreni optjecajni sustav kojim hemolimfa struji kroz tjelesne zatone i arterije. Hemolimfa je bezbojna tjelesna tekućina koja u oksidiranom stanju poprima plavu boju. Ima važnu ulogu u prijenosu hranjivih tvari, metaboličkih plinova i ekskreta. Kao hidroskelet svojim turgorom sudjeluje u izvlačenju i uvlačenju tijela puža u kućicu. U hemolimfi je

otopljen respiratorni pigment hemocijanin, a kod nekih vrsta puževa hemoglobin (Habdija i sur., 2004). U blizini dišnog sustava smješteno je srce koje se ovisno o stupnju torzije sastoji od jedne ili dvije pretklijetke i klijetke. Primitivniji prednjoškržnjaci (Diotocardia) imaju dvije pretklijetke, a napredniji prednjoškržnjaci (Monotocardia), stražnjoškržnjaci i plućnjaci imaju samo jednu pretklijetku (Habdija i sur., 2011).

Vodeni puževi imaju preraste škrge ili ktenidije koje strše u plaštanu šupljinu, a kod kopnenih puževa prokrvljeni plašt omogućava disanje. Kožni nabori i krpasti nastavci preuzimaju funkciju škrge kod mnogih puževa (Habdija i sur., 2004).

Većina prednjoškržnjaka je razdvojena spola, a stražnjoškržnjaci i plućnjaci su dvospolci. Nakon oplodnje slijedi spiralno brazdanje oplođenih jaja puževa. Plivajuća ličinka veliger koja se razvija nakon gastrulacije na leđnoj strani ima začetak ljuštore, a na trbušnoj stopala (Habdija i sur., 2004). Veliger ličinke su u početnom stadiju bilateralno simetrične sve do pojave torzije koja uzrokuje promjenu položaja visceralnih i plaštanih organa za 180° (Matoničkin i Erben, 2002).

1.3. Ekologija puževa

Osim što naseljavaju morska staništa, puževi su jedina skupina mekušaca koja živi na kopnu i u kopnenim vodama. Nastanjuju širok spektar vodenih staništa od dubokih oceanskih bazena i supralitoralne zone do slanih jezera te slatkovodnih staništa diljem svijeta. Na kopnu su rasprostranjeni od visokih planinskih područja, preko pustinja do tropskih kišnih šuma (Holthuis, 1995).

Prednjoškržnjaci su najbrojniji podrazred koji živi u moru dok je manji broj vrsta u vodama na kopnu i terestrički (Habdija, 2011). Većina su mesojedi i hrane se mnogočetinašima, ježincima, trpovima, zvjezdačama, školjkašima, ribama i drugim puževima. Alge, vodeno bilje i morske trave su dio prehrane manjeg broja prednjoškržnjaka, a neki se od njih hrane i organskim detritusom iz mulja ili pijeska. Veliki bačvaš (*Tonna galea*) je vrsta grabežljivog puža koji izlučujući sumpornu kiselinu otapa vapnenac i tako dolazi do izvora hrane (Matoničkin, 1978).

Stražnjoškržnjaci isključivo žive u moru kao bentoski organizmi ili u planktonu (Habdija i sur., 2004). Neke vrste su biljojedi koji se hrane isključivo algama. Vrste sa snažnim mišićavim želucem gutaju i drobe čitave jedinke školjkaša dok se sitnijim životinjama bez čvrstog vanjskog ovoja hrane druge vrste mesojeda (Matoničkin, 1978).

Predstavnici podrazreda plućnjaka su većinom kopneni puževi. Žive u kopnenim vodama, a morske vrste ne postoje (Habdija i sur., 2004). Najveći broj vrsta su biljojedi koji se hrane svježim i vlažnim biljkama bogatim mineralnim solima koje su im potrebne za izgradnju kućice. Druge vrste su mesojedi ili detritivori. Hrane se puževima, oblicima i virnjacima (Matoničkin, 1978).

Kopneni puževi imaju dobro prokrvljeni plašt koji je preuzeo funkciju škrge u izmjeni plinova. Disanje prokrvljenim plaštom je adaptacija na kopnene uvjete. Ljetna estivacija ili mirovanje je jedna od prilagodbi kopnenih vrsta na vruća i sušna razdoblja. Smanjenjem metaboličke aktivnosti tijekom ljetne estivacije jedinke preživljavaju negativan utjecaj visokih temperatura (Habdija i sur., 2011).

1.3.1. Ekologija slatkovodnih puževa

Slatkovodni puževi su rasprostranjeni u gotovo svim kopnenim vodama, uključujući plitke vode jezera, rijeka, močvara, potoka, bara, kao i podzemne vode i izvore. Prednjoškržnjaci i plućnjaci su podrazredi koji nastanjuju slatke vode. Većina živi pod vodom kao bentoski puževi na vodenoj vegetaciji, kamenju, drvu i drugim čvrstim površinama ili mekanom sedimentu. Nisu zabilježene pelagičke ili nektonske vrste. Pojedine vrste mogu živjeti i u vodi i na kopnu, a neke podnose dulji period izvan vode. Nekoliko skupina slatkovodnih puževa je pronađeno u staništima visokog saliniteta poput Kaspijskog jezera ili slanih jezera Azije, Afrike i Australije (Strong i sur., 2008).

Slatkovodni puževi su najvećim dijelom mikroherbivorni i mikroomnivorni strugači koji se hrane algama, dijatomejama i bakterijama. Iznimke su porodice *Viviparidae* i *Bithyniidae* koje se ktenidijima hrane i suspendiranom hranom. *Glacorbidae* su predatori, a *Ampullariidae* makroherbivori koji se hrane i jajima drugih puževa i mahovnjaka (Strong i sur., 2008).

Za rast i razvoj puževa u slatkovodnim ekosustavima važni su optimalni ekološki čimbenici koji uključuju koncentraciju kalcijevih iona, temperaturu vode, pH vrijednost, salinitet, količinu otopljenog kisika, strujanje vode, supstrat, intraspecijske i interspecijske odnose (Glöer, 2002).

Koncentracija kalcijevih iona utječe na veličinu i težinu kućice. Puževi koji žive u vodi s većom koncentracijom kalcijevih iona imaju teže i deblje kućice od onih koji nastanjuju vode siromašnije kalcijevim ionima. Puževi unose 80 % kalcija iz vode, a 20 % prehranom. Niska

koncentracija kalcijevih iona je pokazatelj niske pH vrijednosti. Najveći broj vrsta puževa živi u vodama koje imaju pH vrijednost iznad 5, a optimalan pH je iznad 6 (Glöer, 2002).

Salinitet je važan čimbenik koji određuje rasprostranjenost i brojnost vodenih puževa. Slatkovodni puževi su se prilagodili niskoj koncentraciji natrijevog klorida, a mali broj vrsta živi u bočatim vodama. Puževi roda *Theodoxus* imaju metanefridije u kojima se odvija resorpcija iona što je prilagodba na život u brakičnim vodama (salinitet od 11 ‰). Analizom morfometrijskih značajki kućica jedinki istog roda koje žive u slatkim vodama utvrđeno je kako vrste iz bočatih voda dosežu tek 70 % veličine kućica u odnosu na slatkovodne vrste jer se osmoregulacijom troši energija koja je predviđena za rast jedinke (Glöer, 2002).

S udaljavanjem od izvora povećavaju se kolebanja temperature što utječe na populaciju puževa. Različite vrste imaju različite temperaturne optimume. U periodima niskih temperatura puževi se zakopavaju u sediment ili zaklanjaju među vodeno bilje dok neki hiberniraju (Glöer, 2002).

Za slatkovodne puževe je važna količina otopljenog kisika koji iz atmosfere dospjeva u vodeni ekosustav ili je produkt fotosinteze vodenog bilja. S povećanjem temperature opada koncentracija otopljenog kisika stoga hladniji gornji tokovi tekućica imaju više otopljenog kisika od donjih tokova. Slatkovodni prednoškržnjaci koriste isključivo otopljeni kisik iz vode, a plućnjaci udišu atmosferski kisik izlazeći na površinu vode. U područjima s većom koncentracijom fosfata se razvija vegetacija koja svojom površinom zasjenjuje stanište i koristi kisik koji je neophodan za metabolizam jedinki puževa (Glöer, 2002).

Za razliku od drugih kopnenih voda, tekućice su dinamičan hidrološki sustav longitudinalnog gradijenta abiotičkih i biotičkih čimbenika. Brzina strujanja vode određuje svojstva dna tekućice, tj. utječe na veličinu čestica supstrata. U gornjim tokovima je najveća brzina strujanja vode i dno je prekriveno kamenjem s oskudnom vegetacijom. Manja brzina strujanja vode je karakteristična za srednji tok. U ovom dijelu tekućice supstrat čine šljunak i valutice. Najmanja brzina strujanja vode je u donjem toku rijeke gdje je zbog sedimentacije dno pjeskovito i muljevito te bogato detritusom. Detritofagne bentoske vrste su u najvećem broju prisutne u donjem toku (Bogut i sur., 2006). Najveća strujanja vode preferiraju samo određeni rodovi puževa npr. *Theodoxus* i *Ancylus* koji žive bočno na stijenama i kamenju. Posebno strukturirana kućica i široko stopalo omogućuju uspješnije prianjanje za supstrat (Glöer, 2002).

Slatkovodni puževi su hrana pojedinim sisavcima kao što su vidre, voluharice, miševi i rakuni (Dillon, 2004). Među predatorima su ptice i ribe, ali i beskralježnjaci poput kukaca i pijavica (Glöer, 2002).

1.4. Ugroženost slatkovodnih puževa

Slatkovodni puževi čine 5 % svjetske faune puževa i 20 % izumrlih vrsta mekušaca. Stupanj ugroženosti većine svojiti je nepoznat zbog nedostatka stručnjaka i nepotpune baze podataka o rasprostranjenosti, brojnosti, fiziologiji, morfologiji i prehrani (Strong i sur., 2008).

Ugroženost slatkovodnih puževa je posljedica načina života i antropogenih utjecaja. Osim što su slabo pokretne vrste, najosjetljiviji slatkovodni puževi su specijalizirani za određeni tip staništa i imaju ograničeni geografski areal. Kasno spolno sazrijevaju te imaju nisku stopu plodnosti i dug životni vijek. Navedene osobine im onemogućavaju prilagodbu na izražene promjene vodnog režima, siltaciju i onečišćenje te učinkovitu kompeticiju s unesenim vrstama. U mnogim područjima, najznačajniji uzrok smanjenju populacije puževa je izgradnja brane za kontrolu poplava i proizvodnju električne energije što za posljedicu ima gubitak bioraznolikosti i povećanje broja kozmopolitskih vrsta. Puževi koji žive na izvorištima tekućica su najčešće endemi uskog areala rasprostranjenosti. Neodrživo upravljanje podzemnim vodama, modifikacije krajolika i uništavanje zaliha nepovoljno utječu na mnoge tokove i izvore u ruralnim područjima što predstavlja značajnu prijetnju velikoj raznovrsnosti endemskih vrsta na izvorima i u podzemnim vodama (Strong i sur., 2008). Pretjerano iskorištavanje vode utječe na 33 % vrsta (Cuttelod i sur., 2011).

Slatkovodni puževi su osjetljivi na promjene kvalitete vode. Onečišćenje vode je najčešće posljedica intenzivne poljoprivrede (utječe na 36 % vrsta) i urbanizacije (utječe na 29 % vrsta). Povećanje koncentracije nitrata i fosfata u površinskim i podzemnim vodama je uzrokovano pretjeranim korištenjem pesticida i kemijskih gnojiva (Cuttelod i sur., 2011).

Invazivne vrste koje su široko rasprostranjene imaju utjecaj na određene skupine, ali nisu značajan čimbenik i utječu na manje od 5 % ugroženih vrsta (Cuttelod i sur., 2011).

Povećanje učestalosti i intenziteta suše je problem za slatkovodne mekušce, naročito slatkovodne puževe. U Europi nekoliko rijeka i izvora ima periode potpune suše što uzrokuje nestanak populacija. S druge strane, česte poplave mijenjaju razinu sedimenta što uništava stanište i zatrpava manje vrste (Cuttelod i sur., 2011).

1.5. Značajke vrste *Ancylus fluviatilis*

Vrstu *Ancylus fluviatilis* taksonomski (www.faunaeur.org) svrstavamo u:

CARSTVO: Animalia

KOLJENO: Mollusca

RAZRED: Gastropoda

PODRAZRED: Orthogastropoda

RED: Pulmonata

PORODICA: Planorbidae

ROD: *Ancylus*

VRSTA: *Ancylus fluviatilis* O. F. Müller, 1774

Ancylus fluviatilis je slatkovodna vrsta puža koji pripada skupini plućnjaka. Hrvatsko ime vrste je riječna zdjelica (Matoničkin i sur., 1998). Jedinke ove vrste nastanjuju litoralnu zonu slabo produktivnih jezera, a najbrojnije su u hladnim brzim tekućicama s većom koncentracijom otopljenog kisika i malim promjenama temperature vode (Geldiay, 1956). Vrsta se pojavljuje u manjim i lokaliziranim populacijama, ali podaci o populacijskom trendu nisu dostupni.



Slika 1. Jedinke vrste *Ancylus fluviatilis* pričvršćene na kamenu (foto I. Lajtner).

Na različite uvjete staništa jedinke su prilagođene kapičastim oblikom kućice i širokim stopalom kojim se pričvršćuju za kamenje i veće valutice (Slika 1). Vrsta nije usko vezana za izvore i može se pronaći i u nizvodnijim dijelovima potoka, rijeka i jezera (Glöer, 2002; Moog, 2002). Ovaj je puž rasprostranjen diljem Europe, sjeverne Afrike i Bliskog Istoka (Kerney, 1999). U Hrvatskoj je vrsta prisutna u rijekama jadranskog i crnomorskog slijeva (Srkoč, 2015).

Jedinke se hrane dijatomejama koje obraštaju supstrat. Razmnožavaju se u proljeće nakon čega većina jedinki ugiba (Pfenninger i sur., 2003). Ispod kućica jedinki žive ličinke Oligochaetae i Chironomidae za koje se pretpostavlja da su komenzali (Geldiay, 1956).

Populacija vrste se smanjuje u vodenim ekosustavima gdje je istaložena velika količina organskog materijala. Mulj i pijesak pokrivaju kamenje na kojem se jedinke hrane što nepovoljno utječe na brojnost vrste. Ova je vrsta dobar indikator kvalitete okoliša jer nastanjuje čiste vode. Prema dostupnim podacima (www.iucnredlist.org) vrsta je ocijenjena kao najmanje zabrinjavajuća (LC) zbog široke rasprostranjenosti diljem Europe i sjeverne Afrike. Populacije u srednjoj Europi i Africi ugrožavaju potencijalni izvori onečišćenja vode koji su posljedica gospodarskih aktivnosti. U Africi nije zabilježeno značajno smanjenje populacije unatoč degradaciji staništa i sedimentaciji koje su rezultat deforestacije. Vrsta slabo podnosi kolebanja temperature i kemijskih uvjeta zbog čega je osjetljiva na onečišćenje i promjene klimatskih uvjeta (Durrant, 1977; Geldiay, 1956).

Potreban je daljnji rad na istraživanju taksonomije i populacijskog trenda vrste te strategije kojima bi se smanjio utjecaj onečišćenja i deforestacije.

1.6. Cilj istraživanja

Vrsta *A. fluviatilis* u Hrvatskoj je široko rasprostranjena (Srkoč, 2015). U ovom istraživanju odabrane su dvije populacije ove vrste, jedna iz potoka Slapnica koji pripada crnomorskom slijevu, i druga iz rijeke Rude koja pripada jadranskom slijevu.

Ciljevi istraživanja su bili:

- Utvrditi morfološke značajke vrste *A. fluviatilis* zasebno za svaku populaciju;
- Međusobno usporediti morfološke značajke dviju populacija.

2. MATERIJALI I METODE

2.1. Područje istraživanja i sakupljanje uzoraka

Morfološke značajke vrste *Ancylus fluviatilis* analizirane su na jedinkama prikupljenim u rijeci Rudi, koja pripada Jadranskom slijevu i potoku Slapnici, koji pripada Crnomorskom slijevu.

Rijeka Ruda je lijevi pritok rijeke Cetine, a nalazi se u Sinjskom polju. Izvire kod istoimenog mjesta Ruda, a u Cetinu se ulijeva oko 1 km sjeverno od Trilja. Značajna je za područje srednje Dalmacije jer se koristi za ribolov, proizvodnju struje, navodnjavanje i vodoopskrbu lokalnog stanovništva.

Istraživanje na rijeci Rudi provedeno je u razdoblju od kolovoza 2004. godine do kolovoza 2005. godine u okviru znanstveno-stručnog projekta koji je obuhvatio cijeli tok rijeke Cetine te rijeku Rudu kao njezinu najveću pritoku (Kerovec i Kučinić, 2007). Tijekom tog istraživanja odabrane su dvije postaje na rijeci Rudi. Uzorkovanje makrozoobentosa je provedeno sa kvadratnom bentos mrežom dimenzija 25 x 25 cm, promjera oka 500 µm. Uzorci su konzervirani u 75 %-tnom alkoholu. Nakon izdvajanja od ostalih skupina makrozoobentosa puževi su u laboratoriju prebačeni u epruvete sa 75 %-tnim alkoholom.

Za potrebe ovog diplomskog rada analizirala sam jedinke vrste *A. fluviatilis* skupljene u izvorišnom dijelu rijeke Rude u mjesecu lipnju 2005. godine (N 43° 40' 7,86"; E 16° 47' 29,31"). Postaja se nalazi 250 m nizvodnije od izvora rijeke, na 308 m nadmorske visine, a značajke staništa su stijene obrasle mahovinom (Slika 2).

Slapnica je potočni pritok rijeke Kupčine koji teče duboko usječenom dolinom Slapnicom u središnjem dijelu Žumberačke gore. Izvire ispod mjesta Gornja Vas, a u Kupčinu se ulijeva kod Medven Drage. Ime je dobio po brojnim slapovima sastavljenih od niza sedrenih barijera. Količina vode oscilira između visokog vodostaja u proljeće i niske razine vode u ljetnom periodu kad manji pritoci presušuju.

Jedinke vrste *A. fluviatilis*, za potrebe ovog diplomskog rada, skupljene su u potoku Slapnica u lipnju 2015. godine. Postaja je udaljena nekoliko kilometara od Medven Drage i nalazi se na 160 m nadmorske visine (N 45° 42' 44,2"; E 15° 29' 81,2"). Potok je u tom dijelu u proljetnom i ljetnom periodu zasjenjen obalnom vegetacijom, a dno se pretežito sastoji od krupnih valutica i šljunka (Slika 3). Puževi su ručno skupljani sa kamenja na koje su bili

pričvršćeni (Slika 4), a pri tome se posebno vodilo računa da budu obuhvaćene sve veličinske kategorije. Uzorak je označen i konzerviran u 75 %-tnom alkoholu.



Slika 2. Postaja Ruda (foto A. Previšić).



Slika 3. Postaja Slapnica (foto I. Lajtner).

Na obje istraživane postaje izmjereni su slijedeći fizikalno-kemijski čimbenici: temperatura vode (°C), koncentracija otopljenog kisika u vodi (mg l^{-1}), zasićenje vode kisikom (%) i pH

vode. Za rijeku Rudu te su vrijednosti preuzete iz Kerovec i Kučinić (2007), a u potoku Slapnici su izmjerene tijekom skupljanja puževa. Vrijednosti mjerenih čimbenika su prikazani u Tablici 1.

Tablica 1. Fizikalno-kemijski čimbenici vode na postaji Ruda u lipnju 2005. godine i postaji Slapnica u lipnju 2015. godine.

| Vodotok | Temperatura vode (°C) | Zasićenje kisikom (%) | Koncentracija kisika (mg/L) | pH |
|----------|-----------------------|-----------------------|-----------------------------|------|
| Ruda | 13,2 | 111,3 | 11,20 | 7,70 |
| Slapnica | 13,6 | 101,8 | 10,25 | 7,84 |

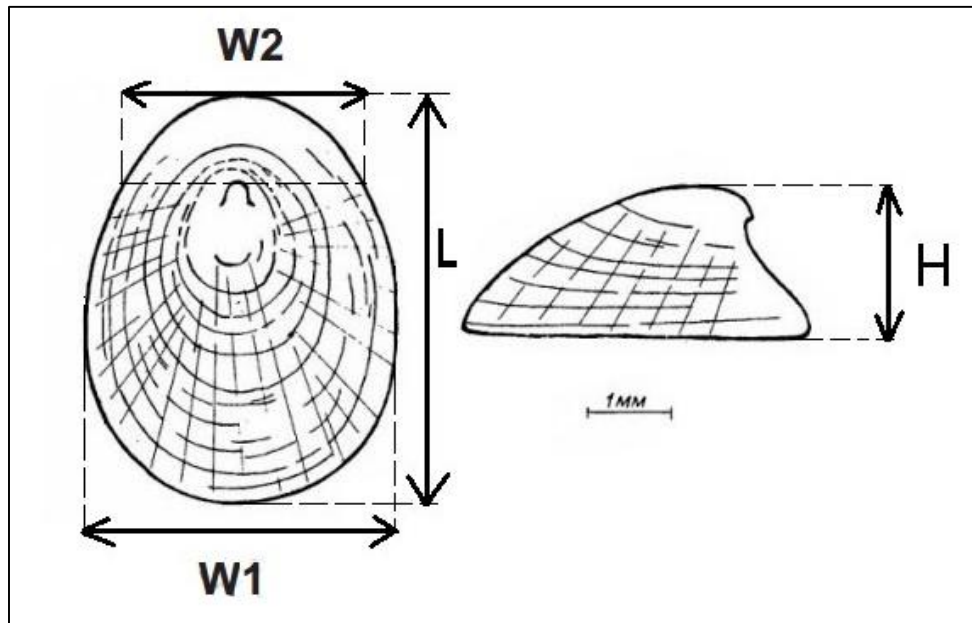


Slika 4. Kamen s pričvršćenim jedinkama vrste *Ancyclus fluviatilis* u potoku Slapnici (foto I. Lajtner).

2.2. Laboratorijska obrada uzoraka

Puževe sam iz epruvete prebacivala u Petrijevu zdjelicu i pincetom sam izdvajala jedinke koje je trebalo morfometrijski odrediti, a jedinke koje su imale oštećenja kućice ili tijela nisu

analizirane. Služeći se binokularnom lupom (Olympus SZ61) i prethodno određenom mikrometarskom vrijednosti skale okularnog mikrometra, izmjerila sam 4 morfometrijske značajke: visinu kućice (H), duljinu kućice (L), anteriornu širinu kućice (W1) i posteriornu širinu kućice (W2) (Slika 5).



Slika 5. Shematski prikaz mjerenih morfometrijskih značajki: visina kućice (H), duljina kućice (L), anteriorna širina kućice (W1), posteriorna širina kućice (W2) (preuzeto i prilagođeno prema www.ecosystema.ru).

Ukupno sam izmjerila 220 kućica vrste *A. fluviatilis*, od čega je 110 jedinki iz rijeke Rude i 110 jedinki iz potoka Slapnice. Pri odabiru jedinki pazila sam da budu podjednako zastupljene sve veličinske kategorije zastupljene na pojedinoj postaji. Nakon mjerenja uslijedilo je pojedinačno vaganje jedinki na analitičkoj vagi preciznosti 0,0001 g (WM - mokra masa jedinki). Zatim sam uzorke premjestila u prethodno izvagane ladice napravljene od aluminijske folije i sušila u termostatu 48 sati pri temperaturi od 60 °C, nakon čega sam ih ponovo izvagala (DM - suha masa jedinki). Uslijedilo je žarenje uzoraka u mufolnoj peći na temperaturi od 600° C kroz 4 sata. Nakon žarenja uzorke sam ponovo izvagala. Masa izmjerena nakon žarenja predstavlja vrijednost anorganske tvari (AM) dok je organska tvar (AFDM) izračunata kao razlika suhe mase uzorka i anorganske tvari.

2.3. Obrada podataka

Za statističku i grafičku obradu svih podataka korišteni su programi SPSS 17 (IBM, 2008) i Microsoft Excel 2010 (Microsoft Corporation, 2010).

Prikupljeni podaci o morfometrijskim značajkama jedinki vrste *A. fluviatilis* opisani su pomoću standardne deskriptivne statistike. Povezanost serija morfoloških podataka utvrđena je na osnovu Pearsonovog koeficijenta korelacije (r) koji je korišten za utvrđivanje linearne povezanosti pri normalnoj distribuciji analiziranih podataka (Zar, 1996). Uz pomoć korelacijskih histograma prikazane su frekvencije međuodnosa analiziranih morfoloških parametara i omjera.

Kod interpretacije rezultata korelativne povezanosti korištena je skala prikazana u Tablici 2 prema Hopkinsu (2000).

Tablica 2. Prikaz skale interpretacije korelacija prema Hopkins (2000).

| Koeficijent korelacije | Opis korelacije |
|------------------------|--|
| 0.0-0.1 | trivijalna, vrlo mala, nebitna, malena, praktički nula |
| 0.1-0.3 | mala, niska, manja |
| 0.3-0.5 | umjerena, srednja |
| 0.5-0.7 | velika, visoka, glavna |
| 0.7-0.9 | vrlo velika, vrlo visoka, izrazita |
| 0.9-1 | gotovo ili praktično: savršena, potpuna, beskonačna |

Neupareni dvostrani Studentov test (t -test) korišten je pri utvrđivanju razlika rezultata između populacija ($p = 0,05$). Razlika dviju aritmetičkih sredina u jedinicama varijabilnosti u odnosu na centar distribucije, izražava razlike između dvaju slučajnih, velikih i neovisnih uzoraka, odnosno u ovom slučaju razlika između morfoloških karakteristika populacija vrste *A. fluviatilis*. Homogenost varijance u analizama t -testa provjeravana je upotrebom Levene testa (F), pri čemu su uz detekciju nehomogenih varijanci korištene vrijednosti T testa za slučajeve kada jednake varijance nisu pretpostavljene (Field, 2005).

Za utvrđivanje međuovisnosti duljine jedinice s ostalim morfološkim značajkama i standardnim morfometrijskim omjerima za vrstu *A. fluviatilis* primijenjena je linearna regresijska analiza.

3. REZULTATI

3.1 Deskriptivna statistika mjerenih morfoloških značajki

Rezultati deskriptivne statistike mjerenih morfoloških značajki jedinki vrste *Ancylus fluviatilis* uzorkovanih na postajama Ruda i Slapnica prikazani su u Tablici 3. Najniže vrijednosti svih morfoloških značajki izmjerene su na jedinkama s postaje Ruda dok su najviše vrijednosti utvrđene kod jedinki uzorkovanih na postaji Slapnica (Tablice 4 i 5). Za jedinke s postaje Ruda utvrđene su najniže i najviše vrijednosti svih standardnih morfometrijskih omjera, a samo je najviša vrijednost omjera visine i anteriorne širine kućice (H/W1) utvrđena kod jedinke s postaje Slapnica (Tablice 4 i 5). Zbog jako male mase najmanjih jedinki, koju nije bilo moguće izvagati na analitičkoj vagi nakon žarenja uzoraka, podaci za organsku i anorgansku tvar nisu detaljnije analizirani.

Tablica 3. Rezultati mjerenih morfoloških značajki i standardnih morfometrijskih omjera vrste *Ancylus fluviatilis* za postaje Ruda i Slapnica (N - broj jedinki, L - duljina kućice, W1 - anteriorna širina kućice, W2 - posteriorna širina kućice, H -visina kućice, WM - mokra masa jedinke, DM - suha masa jedinke).

| Varijabla | N | Minimum | Maksimum | Srednja vrijednost | Standardna greška | Standardna devijacija |
|-----------|-----|---------|----------|--------------------|-------------------|-----------------------|
| L (mm) | 220 | 1,6 | 8,8 | 4,806 | 0,124 | 1,841 |
| W1 (mm) | 220 | 1,2 | 7,2 | 3,799 | 0,098 | 1,452 |
| W2 (mm) | 220 | 0,8 | 5,0 | 2,413 | 0,069 | 1,031 |
| H (mm) | 220 | 0,6 | 4,8 | 2,370 | 0,066 | 0,984 |
| WM (mg) | 220 | 0,1 | 52,0 | 12,602 | 0,820 | 12,166 |
| DM (mg) | 220 | 0,1 | 32,2 | 9,250 | 0,552 | 8,194 |
| W1/L | 220 | 0,667 | 1,250 | 0,793 | 0,005 | 0,071 |
| W2/L | 220 | 0,205 | 0,900 | 0,506 | 0,007 | 0,103 |
| H/L | 220 | 0,353 | 0,714 | 0,488 | 0,003 | 0,049 |
| H/W1 | 220 | 0,444 | 0,941 | 0,618 | 0,005 | 0,067 |
| W2/W1 | 220 | 0,258 | 1,029 | 0,639 | 0,009 | 0,130 |

Tablica 4. Rezultati deskriptivne statistike mjerenih morfoloških značajki i standardnih morfometrijskih omjera za vrstu *Ancylus fluviatilis* s postaje Ruda (za objašnjenje kratica pogledati Tablicu 3).

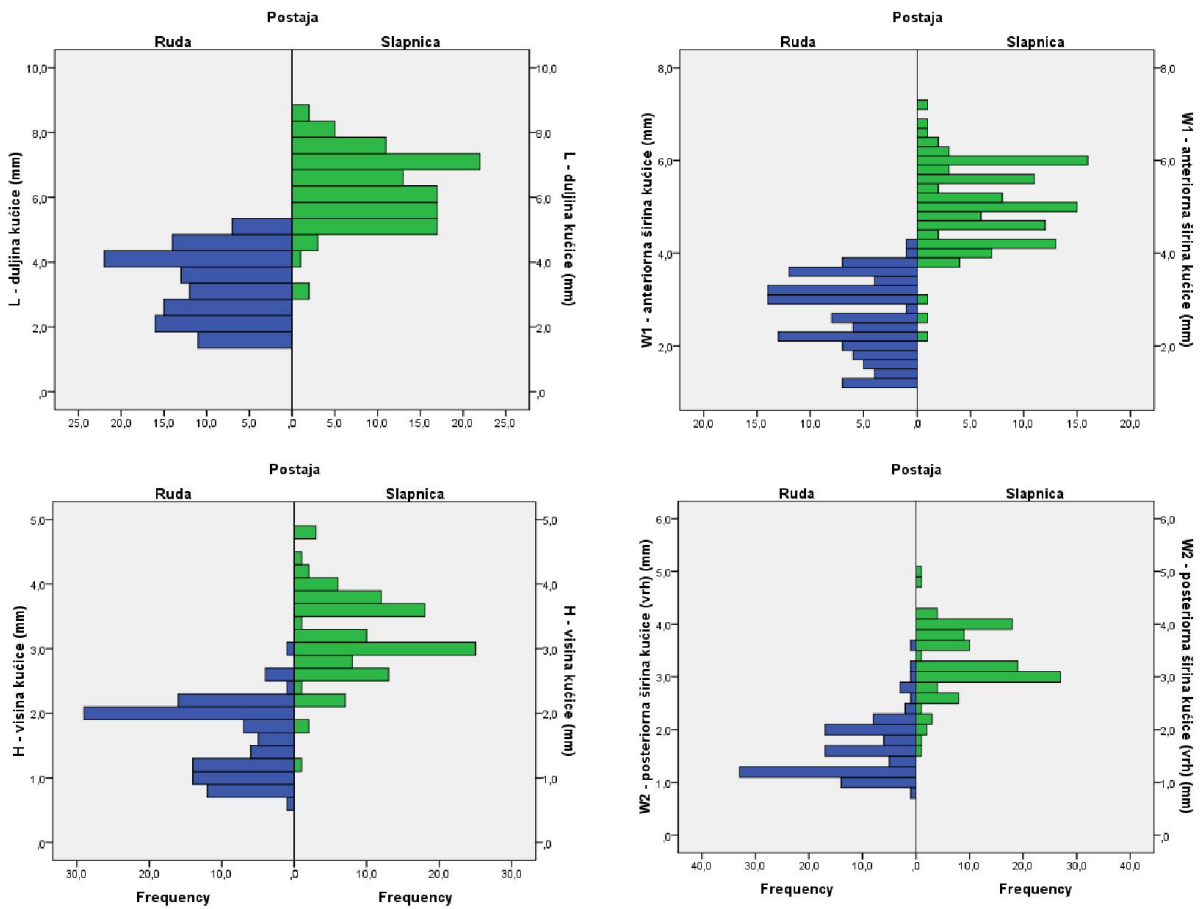
| Varijabla | N | Minimum | Maksimum | Srednja vrijednost | Standardna devijacija | Standardna greška |
|-----------|-----|---------|----------|--------------------|-----------------------|-------------------|
| L (mm) | 110 | 1,6 | 5,0 | 3,305 | 1,041 | 0,099 |
| W1 (mm) | 110 | 1,2 | 4,1 | 2,609 | 0,794 | 0,076 |
| W2 (mm) | 110 | 0,8 | 3,5 | 1,562 | 0,538 | 0,051 |
| H (mm) | 110 | 0,6 | 2,9 | 1,588 | 0,543 | 0,052 |
| WM (mg) | 110 | 0,1 | 14,2 | 3,267 | 2,640 | 0,252 |
| DM (mg) | 110 | 0,1 | 8,6 | 2,853 | 2,146 | 0,205 |
| W1/L | 110 | 0,667 | 1,250 | 0,794 | 0,081 | 0,008 |
| W2/L | 110 | 0,205 | 0,900 | 0,492 | 0,132 | 0,013 |
| H/L | 110 | 0,353 | 0,714 | 0,478 | 0,054 | 0,005 |
| H/W1 | 110 | 0,444 | 0,829 | 0,604 | 0,068 | 0,006 |
| W2/W1 | 110 | 0,258 | 1,029 | 0,623 | 0,168 | 0,016 |

Tablica 5. Rezultati deskriptivne statistike mjerenih morfoloških značajki i standardnih morfometrijskih omjera za vrstu *Ancylus fluviatilis* s postaje Slapnica (za objašnjenje kratica pogledati Tablicu 3).

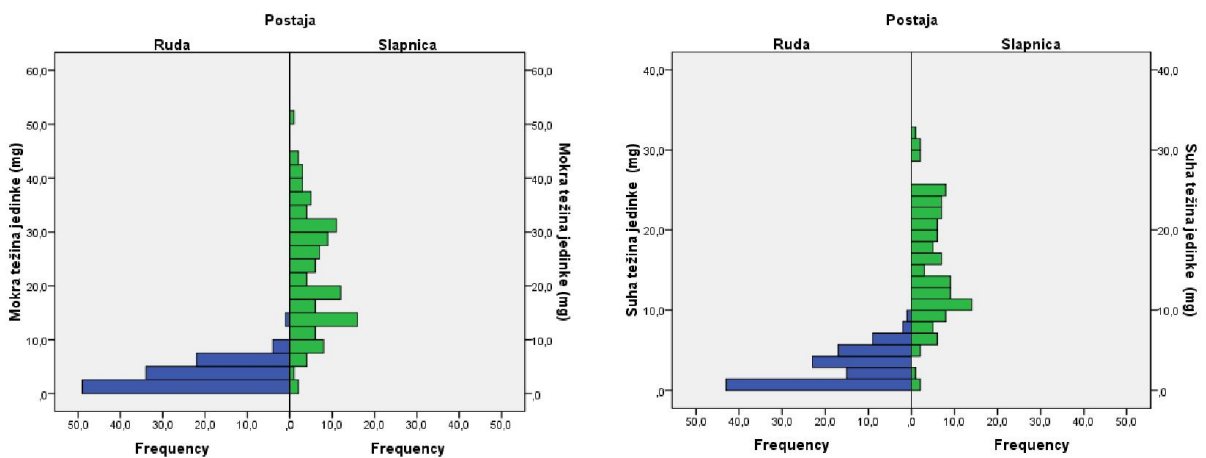
| Varijabla | N | Minimum | Maksimum | Srednja vrijednost | Standardna devijacija | Standardna greška |
|-----------|-----|---------|----------|--------------------|-----------------------|-------------------|
| L (mm) | 110 | 3,1 | 8,8 | 6,306 | 1,085 | 0,104 |
| W1 (mm) | 110 | 2,2 | 7,2 | 4,988 | 0,866 | 0,083 |
| W2 (mm) | 110 | 1,5 | 5,0 | 3,264 | 0,621 | 0,059 |
| H (mm) | 110 | 1,2 | 4,8 | 3,151 | 0,647 | 0,062 |
| WM (mg) | 110 | 1,0 | 52,0 | 21,937 | 10,702 | 1,020 |
| DM (mg) | 110 | 0,8 | 32,2 | 15,646 | 6,907 | 0,659 |
| W1/L | 110 | 0,680 | 1,220 | 0,793 | 0,060 | 0,006 |
| W2/L | 110 | 0,379 | 0,712 | 0,519 | 0,059 | 0,006 |
| H/L | 110 | 0,387 | 0,640 | 0,498 | 0,040 | 0,004 |
| H/W1 | 110 | 0,475 | 0,941 | 0,631 | 0,065 | 0,006 |
| W2/W1 | 110 | 0,479 | 0,870 | 0,657 | 0,073 | 0,007 |

Histogrami frekvencije mjerenih morfoloških značajki i morfometrijskih omjera prikazani su na Slikama od 6 do 8. Iz histograma je vidljivo da su jединke puževa iz rijeke Rude manje,

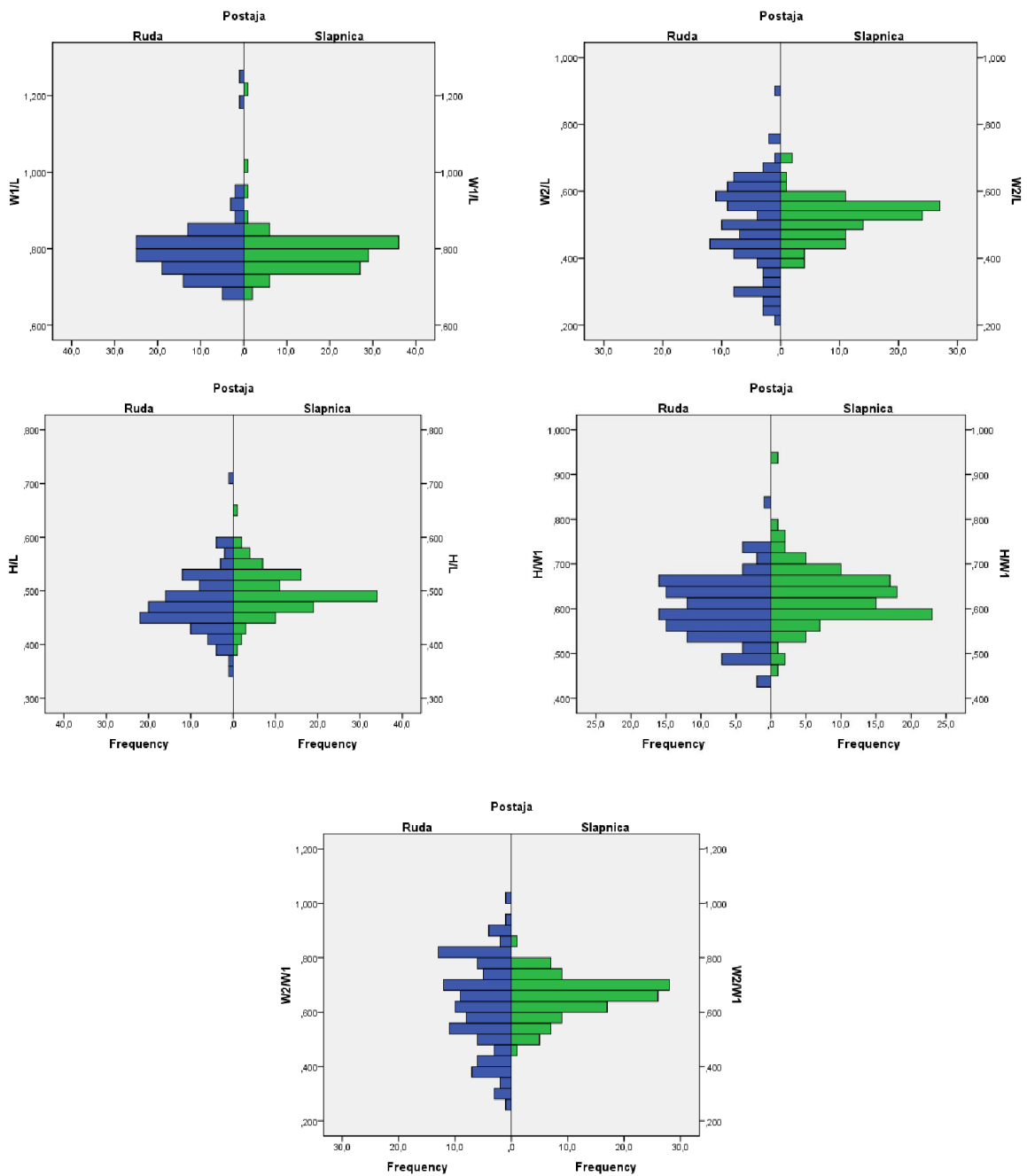
uže i niže u usporedbi s jedinkama s postaje Slapnica (Slika 6), što vrijedi i za vrijednosti svih mjenjenih masa (Slika 7).



Slika 6. Histogrami frekvencije mjenjenih morfometrijskih značajki vrste *Ancylus fluviatilis* s postaja Ruda i Slapnica (za objašnjenje kratica pogledati Tablicu 3).



Slika 7. Histogrami frekvencije masa jedinki vrste *Ancylus fluviatilis* (mokra masa, suha masa) s postaja Ruda i Slapnica.



Slika 8. Histogrami relativne frekvencije standardnih morfometrijskih omjera za vrstu *Ancylus fluviatilis* s postaja Ruda i Slapnica (za objašnjenje kratica pogledati Tablicu 3).

3.2 Koeficijent korelacije

Vrijednosti Pearsonovog koeficijenta korelacije prikazani su u Tablici 6. Iz tablice je vidljivo da je za sve mjerene morfometrijske značajke korelacija gotovo potpuna. Mokra (WM) i suha masa jedinke (DM) najbolje su korelirane što je potvrđeno najvišom vrijednost koeficijenta korelacije koji je iznosio 0,98461.

Tablica 6. Povezanost mjerenih morfoloških značajki vrste *Ancylus fluviatilis* izražena Pearsonovim koeficijentom korelacije (crvena boja – gotovo potpuna korelacija) (za objašnjenje kratica pogledati Tablicu 3).

| Korelacija | L (mm) | W1 (mm) | W2 (mm) | H (mm) | WM (mg) | DM (mg) |
|------------|---------|---------|---------|---------|---------|---------|
| L (mm) | 1 | | | | | |
| W1 (mm) | 0,97932 | 1 | | | | |
| W2 (mm) | 0,91279 | 0,91471 | 1 | | | |
| H (mm) | 0,97754 | 0,96331 | 0,87975 | 1 | | |
| WM (mg) | 0,92043 | 0,91841 | 0,86298 | 0,92368 | 1 | |
| DM (mg) | 0,93968 | 0,93402 | 0,86967 | 0,94253 | 0,98461 | 1 |

3.3 Parametarski test značajnosti

Rezultati t-testa (Tablica 7) su pokazali da se populacije puževa međusobno statistički značajno razlikuju u svim mjerenim značajkama i omjerima, osim omjera anteriorne širine i duljine (W1/L), posteriorne širine i duljine (W2/L) i posteriorne i anteriorne širine (W2/W1). Za utvrđivanje statističke značajnosti rezultata primjenjivan je $p = 0,05$.

Statistički značajna razlika za omjere visine i duljine kućica (H/L) kao i visine i anteriorne širine kućica (H/W1) ukazuje na postojanje razlika u morfologiji kućica bez obzira na individualnu veličinu jedinki. Usporedbom srednjih vrijednosti omjera (Tablice 4 i 5) vidljivo je da su kućice puževa iz rijeke Rude niže (H/L = 0,478; H/W1 = 0,604) u odnosu na kućice puževa iz potoka Slapnica (H/L = 0,498; H/W1 = 0,631).

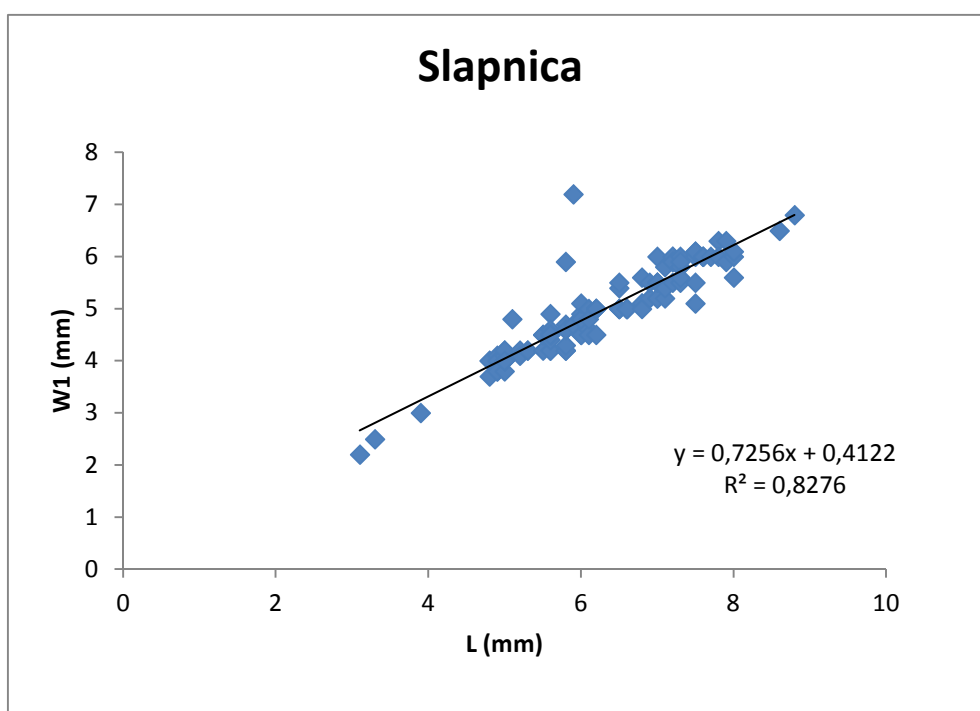
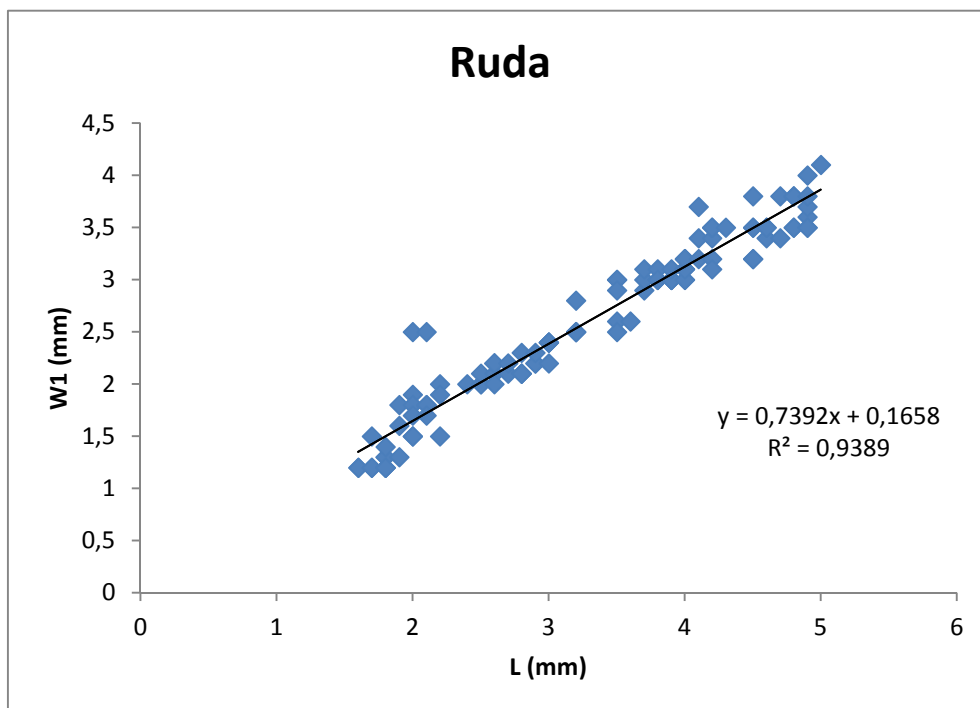
Tablica 7. Usporedba mjerenih morfoloških značajki i standardnih morfometrijskih omjera jedinki vrste *Ancylus fluviatilis* s postaja Rude i Slapnice (crvena boja – statistički značajna razlika) (za objašnjenje kratica pogledati Tablicu 3).

| t-test razlike između aritmetičkih sredina dva velika nezavisna uzorka | | | | | |
|--|---------|-------------------|-------|-------------------------------------|------------------------------------|
| Morfološke značajke i omjeri | t | Stupnjevi slobode | p | Razlike između srednjih vrijednosti | Razlike između standardnih grešaka |
| L (mm) | -20,928 | 218 | 0,000 | -3,0009 | 0,1434 |
| W1 (mm) | -21,240 | 218 | 0,000 | -2,3791 | 0,1120 |
| W2 (mm) | -21,737 | 218 | 0,000 | -1,7018 | 0,0783 |
| H (mm) | -19,404 | 218 | 0,000 | -1,5627 | 0,0805 |
| WM (mg) | -17,765 | 122,219 | 0,000 | -18,6700 | 1,0509 |
| DM (mg) | -18,553 | 129,843 | 0,000 | -12,7936 | 0,6896 |
| W1/L | 0,158 | 201,772 | 0,875 | ,001518 | 0,009627 |
| W2/L | -1,943 | 150,876 | 0,054 | -,026818 | 0,013806 |
| H/L | -3,130 | 200,383 | 0,002 | -,020145 | 0,006437 |
| H/W1 | -2,971 | 218 | 0,003 | -,026536 | 0,008931 |
| W2/W1 | -1,919 | 149,040 | 0,057 | -,033455 | 0,017429 |

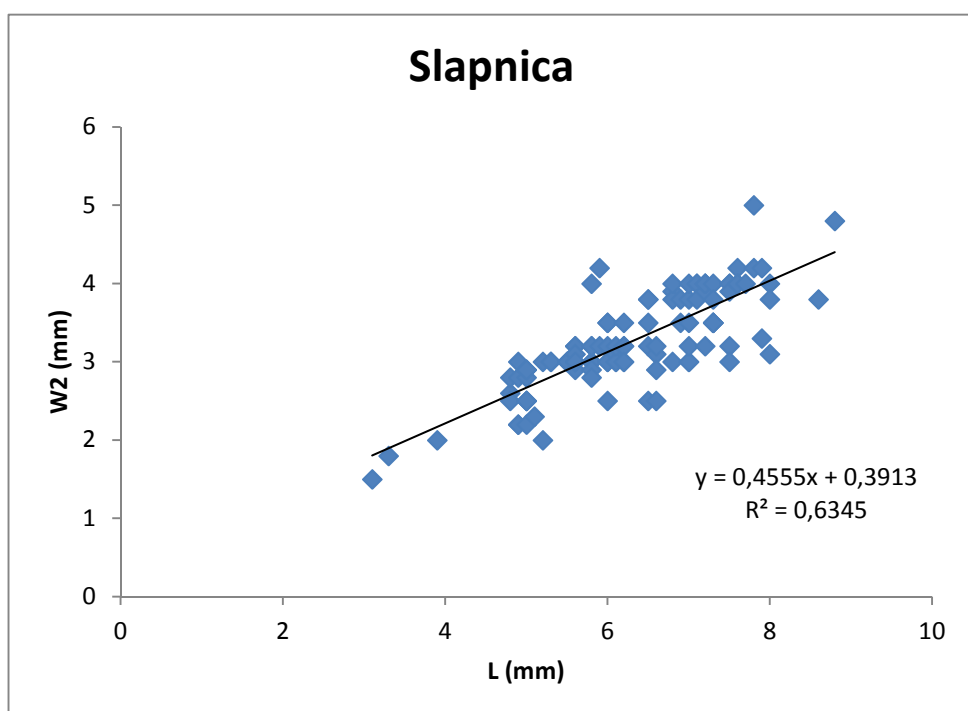
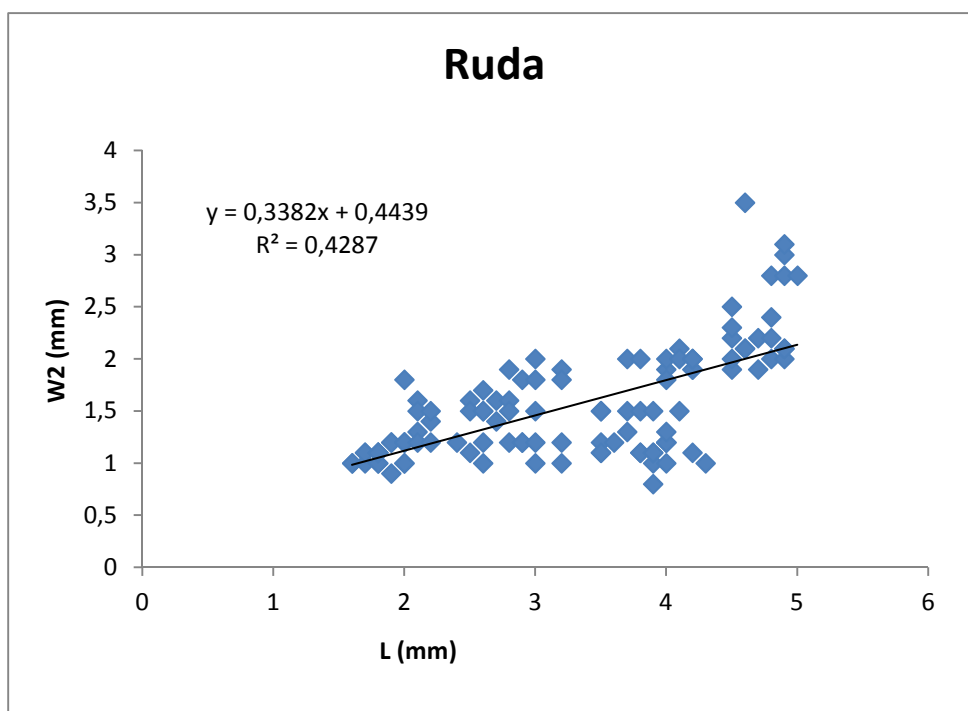
3.4 Jednostavna linearna regresija

Rezultati linearne regresije prikazani su na Slikama od 9 do 13. Prema vrijednostima koeficijenta determinacije (R^2) linearnom regresijom za rijeku Rudu je najbolje opisan odnos između duljine i anteriorne širine kućice pri čemu je regresijskim modelom protumačeno 93 % podataka (L/W1; $R^2 = 0,9389$) (Slika 9), zatim slijede visina i duljina kućice (H/L; $R^2 = 0,9119$) (Slika 11) te suha masa jedinke i duljina kućice (DM/L; $R^2 = 0,9182$) (Slika 13). Najlošije je opisan odnos posteriorne širine i duljine kućice (W2/L; $R^2 = 0,4287$) (Slika 10) što upućuje da se posteriorna širina kućice ne može predviđati upotrebom linearnog regresijskog modela jer njime ostaje neobjašnjeno 58 % podataka.

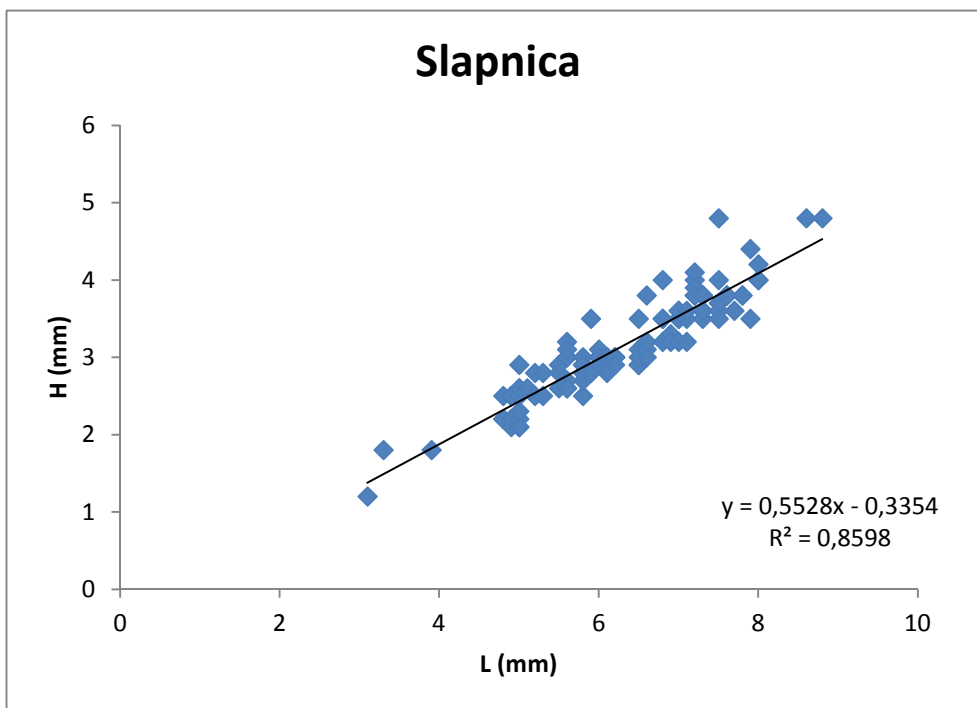
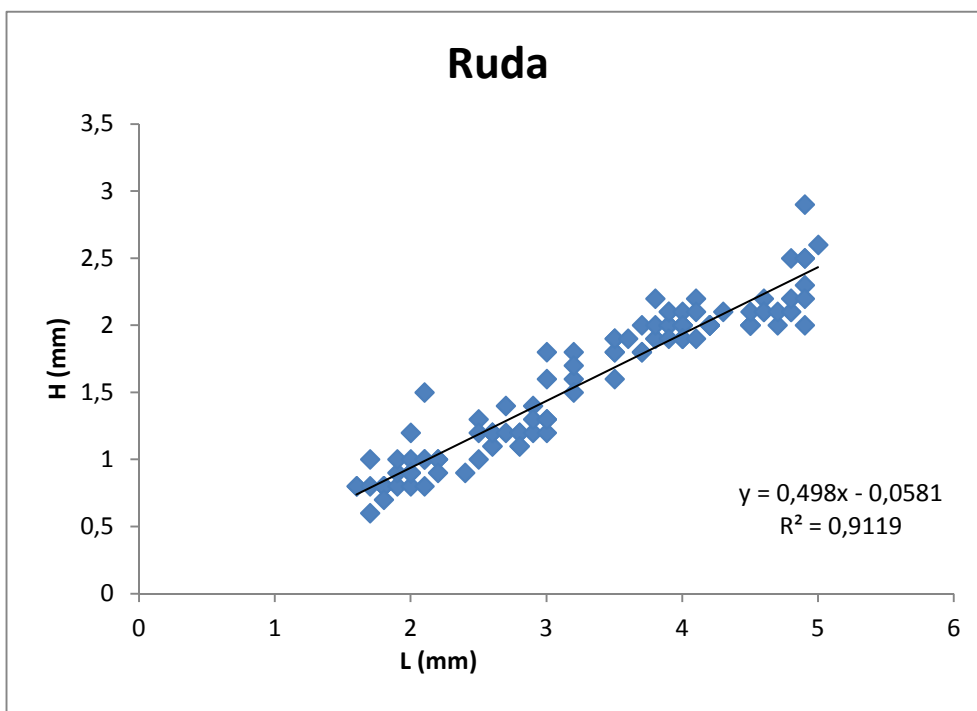
Populaciju puževa iz rijeke Slapnice najbolje opisuje odnos suhe mase jedinke i duljine kućice (DM/L; $R^2 = 0,862$) (Slika 13), dok je najlošija mjera, kao i za populacija puževa iz rijeke Rude, posteriorna širina i duljina kućice (W2/L; $R^2 = 0,6345$) (Slika 10).



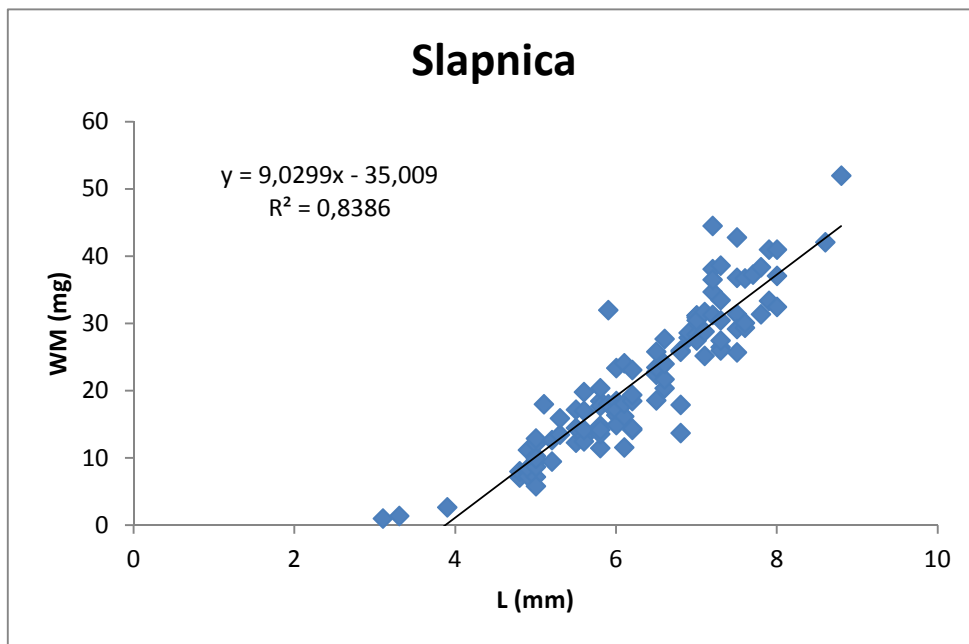
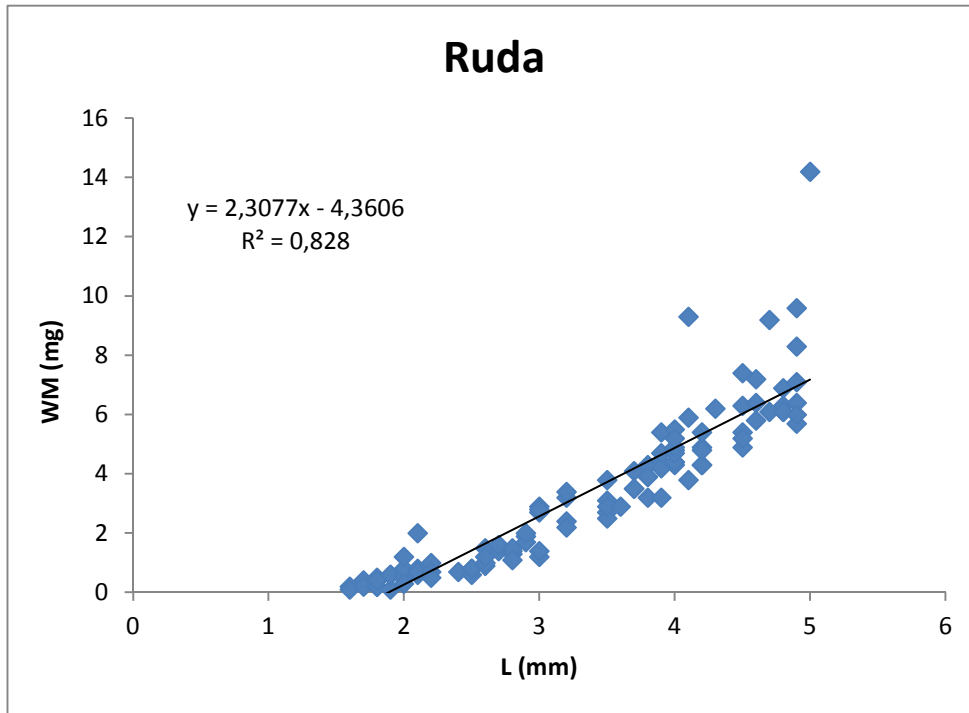
Slika 9. Odnos duljine (L) i anteriorne širine kućice (W1) vrste *Ancylus fluviatilis* s postaja Ruda i Slapnica.



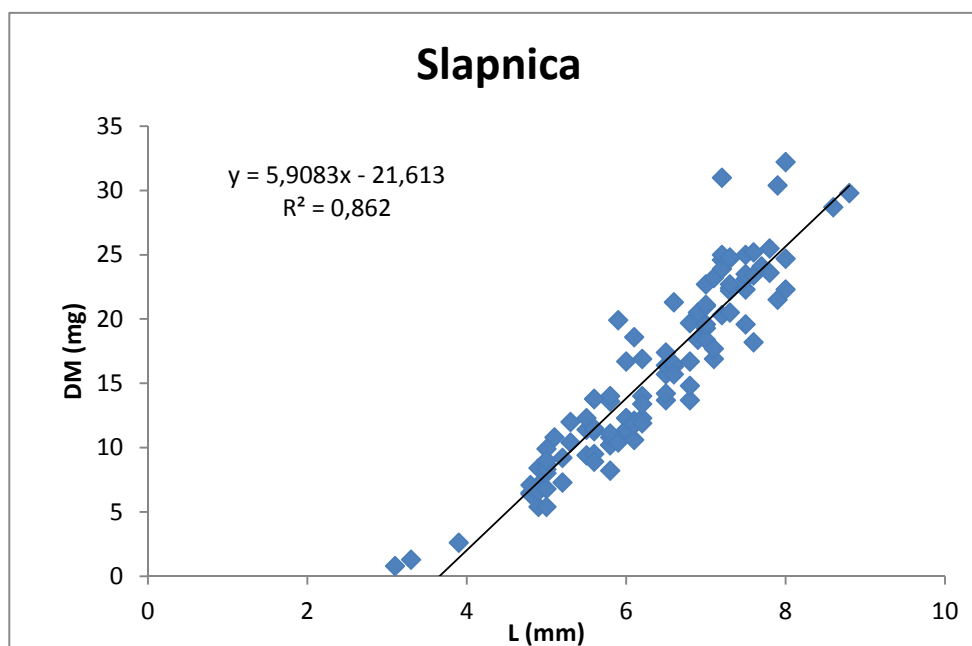
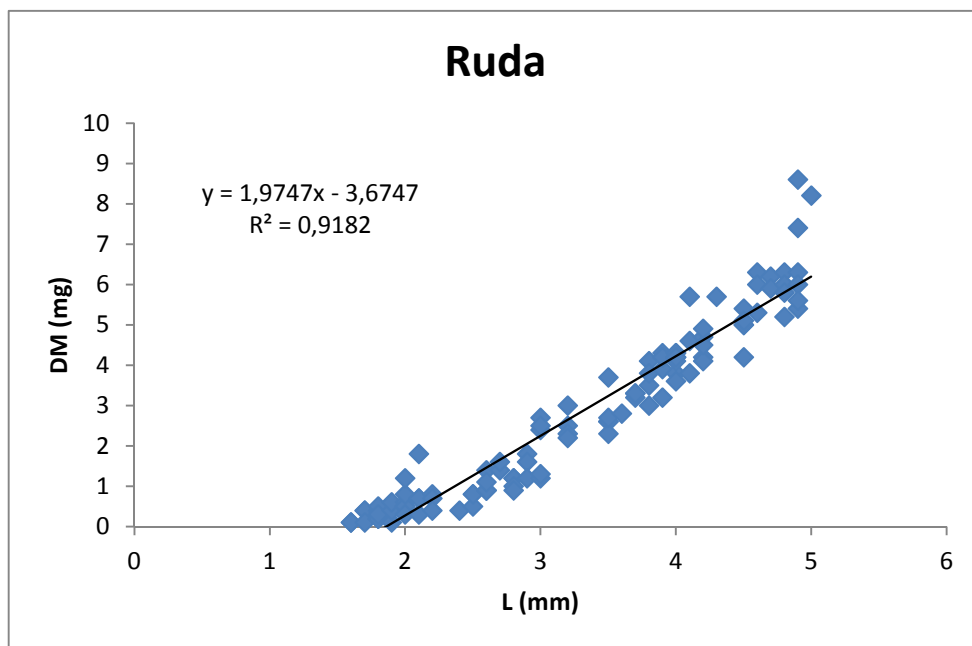
Slika 10. Odnos duljine (L) i posteriorne širine kućice (W2) vrste *Ancylus fluviatilis* s postaja Ruda i Slapnica.



Slika 11. Odnos duljine (L) i visine kućice (H) vrste *Ancyclus fluviatilis* s postaja Ruda i Slapnica.



Slika 12. Odnos duljine (L) i mokre masa jedinki (WM) vrste *Ancylus fluviatilis* s postaja Ruda i Slapnica.



Slika 13. Odnos duljine (L) i suhe mase jedinki (DM) vrste *Ancylus fluviatilis* s postaja Ruda i Slapnica.

4. RASPRAVA

Morfometrija ljuske ima veliku važnost u taksonomiji i ekologiji mekušaca (Cipriani 2007). U istraživanjima slatkovodnih puževa morfometrija se koristi za raspoznavanje različitih vrsta (Wulschleger i Jokela, 2002), za prepoznavanje morfoloških varijacija unutar iste vrste (Chiu i sur., 2002), te za povezivanje varijacija u građi ljuske s abiotičkim i biotičkim čimbenicima (MacMahon i Whitehead, 1987; Wulschleger i Jokela, 2002) i geografskom rasprostranjenosti (Pfenninger i sur., 2003).

Nepouzdanost današnje taksonomije slatkovodnih mekušaca rezultat je neadekvatnih opisa bilo rodova ili vrsta (Basch, 1963), kao i fenotipske plastičnosti u morfologiji ljuske (Basch, 1963; Durrant, 1977; MacMahon i Whitehead, 1987; Wulschleger i Jokela, 2002), što dovodi do taksonomske „inflacije“ vrsta (Strong i sur., 2008). S druge strane, odsustvo varijabilnosti ljusaka kriptičnih vrsta rezultira njihovim neprepoznavanjem kao zasebnih vrsta, što za posljedicu ima podcjenjivanje istinskog bogatstva vrsta (Walther i sur., 2006).

Lacerda i sur. (2011) su utvrdili da vanjski čimbenici, kao što je veći unos organske tvari i veća količina svjetlosti u vodotocima jugoistočnog Brazila pozitivno utječu na veličinu kućice puža *Gundlachia ticaga* (por. Ancyliidae), što je dokazano populacijama s većim jedinkama. Nepostojanje riparijske vegetacije rezultira povećanom količinom svjetla, koja zajedno s većim unosom organske tvari, dostupnosti kalcija i većim alkalinitetom (Delay i Pontier, 1997) osigurava veću dostupnost hrane jer se alge u perifitonu brže razvijaju (Dillon, 2004). Sve to se može odraziti u izraženijem rastu jedinki puževa, a samim time i njihove kućice.

U našem istraživanju promatrane su dvije populacije vrste *A. fluviatilis*. Jedna je iz rijeke Rude, koja je najveća pritoka rijeke Cetine i pripada jadranskom slijevu, a druga iz potoka Slapnica koji se ulijeva u rijeku Kupčinu i pripada crnomorskom slijevu. Na obje postaje jedinke su skupljane u mjesecu lipnju. Rezultati istraživanja, odnosno srednje vrijednosti svih mjerenih morfoloških značajki su pokazale da su jedinke iz Rude, u usporedbi s populacijom iz Slapnice, veličinski manje i s manjom tjelesnom masom. Provedena analiza (t-test) je pokazala da su razlike između postaja u svim mjerenim morfološkim značajkama kao i njihovim omjerima statističke značajne.

Zbog jako male mase najmanjih jedinki, koju nije bilo moguće izvagati na analitičkoj vagi nakon žarenja uzoraka, podaci za organsku i anorgansku tvar u ovom diplomskom radu nisu detaljnije analizirani.

Uspoređujući fizikalno-kemijske čimbenike izmjerene tijekom uzorkovanja puževa na postajama Ruda i Slapnica, može se zaključiti da su vrijednosti približno iste, odnosno nema većih razlika u vrijednostima temperature vode, koncentracije otopljenog kisika, zasićenja kisikom i vrijednosti pH. Dubina vode na obje postaje također nije značajno različita. Obje postaje karakterizira i sličan tip supstrata (kamenje djelomično obraslo mahovinom, valutice i šljunak). Razlike postoje u zasjenjenosti vodotoka i brzini strujanja vode. Naime, na postaji Slapnica potok je tijekom vegetacijske sezone velikim dijelom zasjenjen krošnjama graba i bukve dok je rijeka Ruda nezasjenjena. No, s druge strane, brzina strujanja vode je veća na postaji Ruda negoli na postaji Slapnica, što je mogući razlog zašto su jedinke na toj postaji manje.

Iako su razlike između populacija u morfometrijskim značajkama bile izražene, iz histograma frekvencije je vidljivo da su upravo omjeri mjerenih morfoloških značajki relevantni pokazatelji za uspoređivanje populacija, jer ne ovise o individualnim razlikama. Isto tako, važno je istaknuti da su rezultati t-testa pokazali da su omjeri visine i duljine (H/L) kao i omjeri visine i anteriorne širine kućice (H/W1) statistički značajni. Usporedbom srednjih vrijednosti ovih omjera vidljivo je da su kućice puževa iste duljine, odnosno anteriorne širine, niže kod jedinki uzorkovanih u rijeci Rudi, što se može tumačiti prilagodbom na brzinu strujanja vode, ali i druge čimbenike okoliša. Ostala tri omjera (omjer anteriorne širine kućice i duljine kućice - W1/L, omjer posteriorne širine kućice i duljine - W2/L, omjer posteriorne i anteriorne širine kućice - W2/W1) nisu statistički značajni.

Vrijednosti Pearsonovog koeficijenta korelacije pokazali su da je za sve mjerene morfometrijske značajke korelacija gotovo potpuna (Hopkins, 2000). Najbolje su korelirane mokra (WM) i suha masa jedinke (DM) što je potvrđeno najvišom vrijednost koeficijenta korelacije koji je iznosio 0,985 i koji upućuje na konstantan udio vode u tijelu puževa.

Rezultati linearne regresije pokazali su da je za rijeku Rudu najbolje opisan odnos između duljine i anteriorne širine kućice (L/W1) pri čemu je regresijskim modelom protumačeno 93 % podataka, zatim slijede visina i duljina kućice (H/L; $R^2 = 0,912$) te suha masa jedinke i duljina kućice (DM/L; $R^2 = 0,918$). Populaciju puževa iz rijeke Slapnice najbolje opisuje odnos suhe mase jedinke i duljine kućice (DM/L; $R^2 = 0,862$). Kako je jedan od ciljeva regresijske analize pronalaženje modela kojim bi se na osnovu jednog parametra mogla izračunati vrijednost drugog (bez njegovog mjerenja) za populaciju puževa iz rijeke Rude mogu se primijeniti sva tri regresijska modela jer je vrijednost koeficijenta determinacije (R^2) bila iznad 0,9. Prema rezultatima ove analize za obje populacije je odnos posteriorne širine i

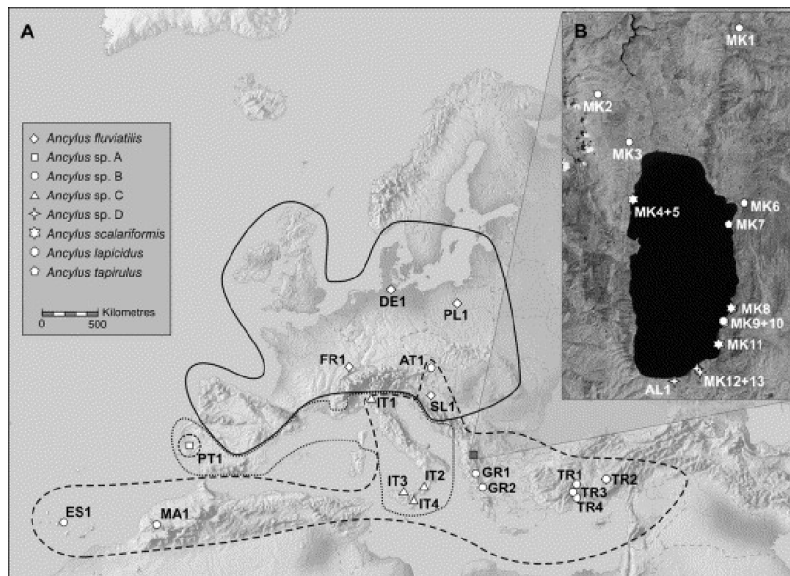
duljine kućice (W2/L) najlošija mjera. Drugim riječima, posteriorna širina kućice se ne može predviđati korištenjem linearnog regresijskog modela jer njime ostaje neobjašnjeno 36 % podataka za Slapnicu i čak 58 % podataka za Rudu što ukazuje na veliku individualnu varijaciju međuodnosa izmjerenih morfometrijskih vrijednosti.

U slatkovodnim ekosustavima promjena i degradacija staništa kroz uklanjanje riparijske vegetacije i zagađenja kanalizacijskim vodama stvaraju uvjete koji mogu uzrokovati ili ubrzati intraspecijske morfološke varijacije (Durrant, 1977). Višegodišnja istraživanja koja je proveo MacMahon (2004) u SAD-u pokazala su da je kod vrste *Laevapex fuscus* varijabilnost kućice utjecana promjenama u okolišu. Do istih je zaključaka došao Lacerda i sur. (2011). Autori su proučavajući četiri populacije vrste *G. ticaga* utvrdili da je na lokalitetima koji su bili antropogeno utjecani zabilježena veća morfološka varijabilnost kućice od onih na kojima nije dokazan nikakav utjecaj. Osim toga, ekofenotipska plastičnost u morfologiji kućice je zajednička za mnoge slatkovodne puževe iz porodice Ancyliidae (Hubendick, 1964; Walther i sur., 2006).

U našem istraživanju analizirane su populacije koje nisu antropogeno utjecane, što je moguće objasnjenje zašto nije uočena veća morfološka varijabilnost kućica jedinki skupljenih na istoj postaji. Istraživanja vrste *A. fluviatilis* koja su planirana u budućnosti provest će se na više postaja na istom vodotoku što će omogućiti donošenje adekvatnih zaključaka o intraspecijskoj varijabilnosti kućice uzrokovanoj promjenama i degradacijom staništa.

Molekularno-filogenetička istraživanja vrste *A. fluviatilis* na području Europe proveo je Pfenninger i sur. (2003). Analizirajući 103 populacije vrste *A. fluviatilis* iz cijele Europe, autori su zaključili da na području Europe žive 4 klade (Slika 14). Prva (klada 1) predstavlja tipsku vrstu *Ancylus fluviatilis* (O. F. Müller, 1774) koja je rasprostranjena u središnjoj i sjevernoj Europi, druga (klada 2) je rasprostranjena samo na području Portugala, treća (klada 3) je prisutna na Kanarskim otocima, Sjevernoj Africi i istočnom Mediteranu, a četvrta (klada 4) nastanjuje sjeverni dio Sredozemlja. Na osnovu molekularnog sata autori su zaključili da se glavna radijacija ove vrste odvijala u kasnom pliocenu.

Uzevši u obzir rezultate istraživanja Pfenninger i sur. (2003) možemo pretpostaviti da bi populacija vrste *A. fluviatilis* uzorkovana u potoku Slapnica na Žumberku mogla pripadati kladi 1 ili kladi 3, dok se populacija iz rijeke Rude nalazi u graničnom dijelu gdje je, uz navedene dvije, zastupljena i klada 4.



Slika 14. A. Rasprostranjenost vrste *Ancyclus fluviatilis* u Europi (puna crta - europske populacije vrste *Ancyclus fluviatilis*; kratko iscertana linija - *Ancyclus sp.*, klada 2; dugo iscertana linija - *Ancyclus sp.*, klada 3; točkasta linija - *Ancyclus sp.*, klada 4; B. lokaliteti na Ohridskom jezeru na kojima je provedeno uzorkovanje (preuzeto od Albrecht i sur., 2006, originalna karta iz Pfenninger i sur., 2003).

Na osnovu svega navedenog možemo zaključiti da bi morfometrijska mjerenja provedena na dvije populacije vrste *A. fluviatilis* u budućnosti trebalo nadopuniti molekularno-filogenetičkim istraživanjima, a poželjno bi bilo obuhvatiti što veći broj staništa u istoj rijeci kao i proširiti istraživanje na veći broj vodotoka u Hrvatskoj.

5. ZAKLJUČAK

1. Rezultati deskriptivne statistike su pokazali da jedinke uzorkovane u rijeci Rudi imaju manje kućice, za razliku od puževa iz Slapnice koji imaju veće kućice, što je najvjerojatnije posljedica prilagodbe na brzinu strujanja vode, ali i druge abiotičke i biotičke uvjete u staništu.
2. Iako su razlike između populacija u morfometrijskim značajkama bile izražene, iz histograma frekvencije je vidljivo da su upravo omjeri mjerenih morfoloških značajki relevantni pokazatelji za uspoređivanje populacija, jer ne ovise o individualnim razlikama.
3. Visoke vrijednosti Pearsonovog koeficijenta korelacije za sve mjerene morfometrijske značajke pokazuju da je korelacija gotovo potpuna. Mokra (WM) i suha masa jedinke (DM) najbolje su korelirane što je potvrđeno najvišom vrijednost koeficijenta korelacije koji je iznosio 0,985.
4. Rezultati t-testa pokazali su da sve morfološke značajke te omjeri visine i duljine (H/L) kao i omjeri visine i anteriorne širine kućice (H/W1) statistički značajno razlikuju populacije puževa.
5. Rezultati linearne regresije pokazali su da je za rijeku Rudu najbolje opisan odnos između duljine i anteriorne širine kućice (L/W1) pri čemu je regresijskim modelom protumačeno 93 % podataka. Populaciju puževa iz rijeke Slapnice najbolje opisuje odnos suhe mase jedinke i duljine kućice (DM/L, odnosno regresijskim modelom je protumačeno 86 % podataka.

6. LITERATURA

- Albrecht, C., Trajanovski, S., Kuhna, K., Streita, B., Wilke, T (2006): Rapid evolution of an ancient lake species flock: Freshwater limpets (Gastropoda: Ancyliidae) in the Balkan Lake Ohrid. *Organisms, Diversity & Evolution* **6**: 294–307
- Basch, P. (1963): A review of the recent freshwater limpet snails of North America. *Bulletin of the Museum of Comparative Zoology* **129**: 399-461.
- Bogut, I., Novoselić, D., Pavličević, J. (2006): *Biologija riba I: morfologija riba, anatomija i fiziologija riba sistematika riba, ekologija i zaštita voda*. Sveučilište u Osijeku, Sveučilište u Mostaru.
- Bouchet, P. (2007): Inventorying the molluscan fauna of the world: how far to go? U: Jordaens, K., van Houtte, N., Van Goethem, J., Backeljau, T. (ur) *Abstracts of the World Congress of Malacology*, Antwerp, Belgium.
- Chiu, Y., Chen, H., Lee, S., Chen, C. A. (2002): Morphometric analysis of shell and operculum variations in the Viviparid snail, *Cipangopaludina chinensis* (Mollusca: Gastropoda), in Taiwan. *Zoological Studies* **41**: 321-331.
- Cipriani, R. (2007); *Modelando las conchas de los moluscos, o la búsqueda de la espiral perfecta*, p. 3-11. U: Santos S. B., Pimenta, A. D., Thiengo, S. C, Fernandez, M. A., Absalão, R. S. (ur.). *Tópicos em Malacologia – Ecos do XVIII Encontro Brasileiro de Malacologia*. Rio de Janeiro, Ed. Sociedade Brasileirade Malacologia, XIV+365p.
- Cuttelod, A., Seddon, M., Neubert, E. (2011): *European Red list of Non-marine Molluscs*. Luxembourg: Publications Office of the European Union.
- Delay, B., Pointier, J. P. (1997): Factors affecting the distribution and abundance of two Prosobranch snails in a thermal spring. *Journal of Freshwater Ecology* **12**: 75-79.
- Dillon, R. T. (2004): *The ecology of freshwater molluscs*. Cambridge: Cambridge University Press.
- Durrant, P. M. (1977): Some factors that affect the distribution of *Ancylus flaviatilis* (Müller) in the river systems of Great Britain. *Journal of Molluscan Studies* **43**: 67-78.
- Field, A. (2005): *Discovering statistic using SPSS*. SAGE Publications. London . pp 779.

- Geldiay, R. (1956): Studies on the local populations of the freshwater limpet *Ancylus fluviatilis*. *Journal of Animal Ecology* **25**: 389-402.
- Glöer, P. (2002): Die Süßwassergastropoden Nord-und Mitteleuropas, Bestimmungsschlüssel, Lebensweise, Verbreitung. Die Tierwelt Deutschlands, 73 Teil, Conch Books, Hackenheim.
- Habdija, I., Primc Habdija, B., Radanović, I., Vidaković, J., Kučinić, M., Špoljar, M., Matoničkin, R., Miliša, M. (2004): Protista – Protozoa i Metazoa – Invertebrata. Funkcionalna građa i praktikum, knjiga 3, prvo izdanje, Meridijani, Samobor.
- Habdija, I., Primc Habdija, B., Radanović, I., Špoljar, M., Matoničkin Kepčija, R., Vujčić Karlo, S., Miliša, M., Ostojić, A., Sertić Perić, M. (2011): Protista - Protozoa. Metazoa – Invertebrata. Strukture i funkcije. Alfa, Zagreb.
- Holthuis, B. V. (1995): Evolution between marine and freshwater habitats: a case study of the gastropod suborder Neritopsina. Ph.D. thesis, University of Washington.
- Hopkins, W. G. (2000): A new view of statistics. Internet Society for Sport Science: preuzeto 15.11.2010. <http://www.sportsci.org/resource/stats/>
- Hubendick, B. (1964): Studies on Ancyliidae. The subgroups. Göteborgs Kungl Vetenskap- Och Vitterhets- Samhalles Handdinger 9B (6): 1-72.
- Kerney, M. P. (1999): Atlas of the Land and Freshwater Molluscs of Britain and Ireland. Harley Books, Colchester.
- Kerovec, M., Kučinić, M. (2007): Bioindikatorska i ekološka obilježja te rasprostranjenost i gustoća populacija faune tulara (Trichoptera, Insecta) duž toka rijeke Cetine. Prirodoslovno-matematički fakultet. Sveučilište u Zagrebu, Zagreb.
- Matoničkin, I. (1978): Beskralješnjaci. Biologija nižih avertebrata. Školska knjiga, Zagreb.
- Matoničkin, I., Habdija I., Primc Habdija B. (1998): Beskralješnjaci. Biologija nižih beskralješnjaka. Školska knjiga, Zagreb.
- Matoničkin, I., Erben, R. (2002): Opća zoologija. Školska knjiga, Zagreb.
- McMahon, R. F. (2004): A 15-year study of interannual shell shape variation in a population of freshwater limpets (Pulmonata:Basommatophora: Ancyliidae). *American Malacological Bulletin* 19: 101-109.

McMahon, R. F., Whitehead, B. E. (1987): Environmental induction of shell morphometric variation in the European stream limpet, *Ancylus fluviatilis* (Müller) (Pulmonata: Basommatophora). *American Malacological Bulletin* 5:105-124.

Moog, O. (2002): *Fauna Aquatica Austriaca*, 2nd Edition Wasserwirtschaftskatester, Bundesministerium für Land- und Forstwirtschaft, Umwelt und Wasserwirtschaft, Vienna.

Pfenninger, M., Staubach, S., Albrecht, C., Streit, B., Schwenk, K. (2003): Ecological and morphological differentiation among cryptic evolutionary lineages in freshwater limpets of the nominal form-group *Ancylus fluviatilis* (O. F. Müller, 1774). *Molecular Ecology* 12: 2731-2745.

Srkoč, M. (2015): Taksonomska analiza i rasprostranjenost slatkovodnih puževa iz Zbirke Zoologijskog zavoda. Diplomski rad. Prirodoslovno-matematički fakultet, Sveučilište u Zagrebu.

Strong, E. E., Gargominy, O., Ponder, W. F., Bouchet, P. (2008): Global diversity of gastropods (Gastropoda; Mollusca) in freshwater. *Hydrobiologia* 595: 149–166.

Walther, A.C., Lee, T., Burch, J. B., Foighil, D. Ó. (2006): Confirmation that the North American ancyloid *Ferrissia fragilis* (Tryon, 1863) is a cryptic invader of European and East Asian freshwater ecosystems. *Journal of Molluscan Studies* 72: 318-321.

Wullschleger, E. B., Jokela, J. (2002): Morphological plasticity and divergence in life-history traits between two closely related freshwater snails; *Lymnea ovata* and *Lymnaea peregra*. *Journal of Molluscan Studies* 68: 1-5.

Zar, J. H. (1996): *Biostatistical Analysis*. 3rd Edition, Snavey, S.L., Ed., Prentice-Hall, Upper Saddle River.

Internetski izvori:

www.ecosystema.ru Pristupljeno: 17. 12. 2015.

www.faunaeur.org Pristupljeno: 16. 12. 2015.

www.iucnredlist.org Pristupljeno: 11. 2. 2016.

7. ŽIVOTOPIS

Osobni podaci

Ime i prezime: Karolina Gudelj

Datum i mjesto rođenja: 30. 7. 1991., Osijek

Adresa: Sv. Roka 28, 10 000 Zagreb

Mobitel: 099 744 1596

E-mail adresa: karolina3.gudelj@gmail.com

Obrazovanje

2013. – 2016. Diplomski sveučilišni studij Znanosti o okolišu
Prirodoslovno – matematički fakultet, Zagreb
2010. – 2013. Preddiplomski sveučilišni studij Znanosti o okolišu,
Prirodoslovno – matematički fakultet, Zagreb
2006. – 2010. Prva gimnazija, Zagreb

Znanja i vještine

Digitalne kompetencije: MS Office, ArcGis

Znanje jezika: engleski, francuski (Diplôme d'Etudes en Langue Française , A2)

Vještine stečene na fakultetu: laboratorijski rad, izrada herbarija