



BOTANIČKI PRAKTIKUM

Goran Anačkov

Department za biologiju i ekologiju
Prirodno-matematički fakultet
Univerzitet u Novom Sadu

Predgovor

Okupljeni u zajedničkoj ideji unapređivanja nastave iz oblasti ekologije, nastavnici i saradnici - učesnici projekta *ECOBIAS* su prvenstveno vođeni idejom da svoje znanje i iskustvo u radu sa studentima podele sa kolegama sa drugih univerziteta. Tako je i predmet – Botanički praktikum, osmišljen zapravo kao skup praktičnih veština iz oblasti botanike, koje su aktuelne u pripremi studenata za budući uspešan rad sa botaničkim materijalom. Istoimeni predmet postoji kao izborni, na studijskim programima osnovnih akademskih studija na Univerzitetu u Novom Sadu Prirodno-matematičkom fakultetu. Nastavne celine tog predmeta predstavljale su osnovu za prepremanje poglavlja priručnika. Savladavanje veština rada sa biljkama u smislu njihovog proučavanja i pre svega determinacija, jesu srž fundamentalnog botaničkog znanja. One su rezultat duge prakse rada u prirodi i u laboratoriji, iskustva u tom radu, sklonosti ka taksonomiji biljaka, istraživačkom duhu i spremnosti na iscrpljujući i naporan pre svega, terenski rad. Pored toga praktične veštine rada sa biljkama su i odraz velike ljubavi prema njima kao objektu istraživanja, ali i herbarijumu kao dokumentu njihovog postojanja, kao dokazu i uspomeni na pronalazke staništa i vrsta, identifikovanje i upoznavanje sa vrstama, njihovom biologijom i ekologijom. U pripremanju tekstova vanredno veliku pomoć sam imao u literaturi koja je iz ove oblasti već publikovana na prostorima zapadnog Balkana. Iz tih razloga, veliku zahvalnost za mogućnost upotrebe te literature dugujem redovnom profesoru Univerziteta u Zagrebu dr Toniju Nikoliću [15, 16, 17] kao i dr Vladimiru Randeloviću, redovnom profesoru i dr Danijeli Nikolić, vanrednom profesoru Univerziteta u Nišu [23] čije publikacije su mi u mnogome bile uzor prilikom pripremanja teksta ovog priručnika. Mom učitelju dr Palu Boži, redovnom profesoru Univerziteta u Novom Sadu u penziji, dugujem životnu zahvalnost što sam od njega, sa njim i pored njega učio o radu sa biljkama. Veliku zahvalnost dugujem mlađim saradnicima i mojim doktorandima naučnom saradniku dr Milici Rat, kustosu herbarijuma Univerziteta u Novom Sadu, dr Borisu Radaku, docentu i dr Bojani Bokić asistentu sa doktoratom, kao i dr Milošu Iliću, docent na pripremanju delova teksta koji se odnosi na oblasti praktičnog rada sa biljkama u kojima su se usavršili.

Na kraju u želji da ovaj priručnik bude često korišten kod studenata kada dođu u situaciju da trebaju da otpočnu rad sa biljkama, želim da se zahvalim prof. dr Snežani Radulović, rukovodiocu i prof. dr Dušanki Cvijanović, administrator projekata *ECOBIAS* na poverenju da svoje iskustvom stečene veštine u radu sa biljkama predstavim širokoj grupi studenata.

Autor

Sadržaj

Predgovor.....	0
Sadržaj	2
1. HERBARIJUM	4
1.2 Tipovi herbarijuma.....	9
1.3 Organizacija i funkcionisanje herbarijuma	9
1.4 Uređenje herbarijuma	13
1.5 Zaštita i čuvanje herbarijuma	15
2. UZORKOVANJE BILJNOG MATERIJALA.....	18
2.1 Plan istraživanja	18
2.2 Tipovi botaničkih istraživanja	22
3. DETERMINACIJA BILJNOG MATERIJALA.....	36
3.1 Ključevi za determinaciju biljaka	37
4. NOMENKLATURA KOD BILJAKA	44
4.1 Davanje imena biljkama	46
4.2 Tipifikacija	48
5. HERBARSKI MATERIJAL, UZORKOVANJE, PREPARIRANJE I ČUVANJE.....	50
5.1 Uzorkovanje	50
5.2 Prepariranje sušenjem pod pritiskom - presovanje	55
5.3 Konzerviranje biljaka u tečnom medijumu	59
5.4 Sakupljanje i prepariranje specifičnih grupa biljaka	60
5.5 Aranžiranje primeraka za herbarske kolekcije	67
6. IDENTIFIKACIJA.....	71
6.1 Specifičnosti determinacije pojedinih grupa biljaka	72
6.2 Determinacija biljnog materijala iz herbarijumskih uzoraka – izrada preparata za morfometriju cvetova	78
7. UPOREDNO-MORFOLOŠKA ISTRAŽIVANJA VARIJABILNOSTI BILJAKA	81
7.1 Odabir karaktera i rad sa karakterima	82
7.2 Mikromorfološka istraživanja i citološke analize	86
7.3 Statističke analize u uporednomorfološkim botaničkim istraživanjima	90
8. LITERATURA	93
9. PRILOG	95

Sadržaj

The European Commission's support for the production of this publication does not constitute an endorsement of the contents, which reflect the views only of the authors, and the Commission cannot be held responsible for any use which may be made of the information contained therein.

Erasmus + Project No ECOBIAS_609967-EPP-1-2019-1-RS-EPPKA2-CBHE-JP
Development of master curricula in ecological monitoring and aquatic bioassessment for Western Balkans HEIs

Co-funded by the
Erasmus+ Programme
of the European Union



1. HERBARIJUM

1.1 Institucija Herbarijuma, značaj herbarijumskih kolekcija

Tradicionalno zanimanje ljudske populacije za biljke nametalo je potrebu za uspostavljanjem mogućnosti da se u svakom trenutku pojedine biljne vrste mogu videti i proučavati. Činjenica, da su biljke jedan deo godine u fazi mirovanja, a da se njihova osobina sezonskog dimorfizma odražava na njihov habitus (spoljašnji izgled) u mnogome su doprinele da se ova ideja čuvanja sasušenog materijala raširi, te postane osnovni način rada u nauci koja se istorijski zove Botanika, a danas češće „nauka o biljkama“ (The Plant Sciences). Biljke su se pokazale veoma zahvalan tip organizama koji se na relativno jednostavan način mogu preparirati i čuvati, te da se njihove opšte morfološke karakteristike ne mogu tako lako promeniti, ukoliko je proces prepariranja sproveden korektno i u odgovarajuće vreme.

Tradicionalno sakupljanje biljaka podrazumeva zbirku osušenog biljnog materijala koja osim celih biljaka, ili nekih njihovih delova sadraži i set podataka o njima, pre svega nomenklaturnim, kao i podataka o poreklu. Takva zbirka, uređena na odgovarajući način tradicionalno se naziva herbarijum. Samo ime potiče od reči *herbal* koja se odnosila na knjigu o lekovitom bilju koja je u prošlosti kao termin često upotrebljavana. Pored toga knjige u kojima su opisivane biljke ili češće sušene i ulagane u njih nazivane su *hortus siccus* (suva bašta), *hortus mortuus* (mrtva bašta) ili *hortus hiemalis* (zimski bašta).



Slika 1. *Hortus siccus* Jacoba Bobarta [el1].

Nesumnjivo da je ovakav način sakupljanja biljaka otežavao dalje proučavanje, a posebno komparaciju materijala za kojom se istorijskim razvojem botanike kao naučne discipline sve više težilo. Termin *Herbarium* je u botaničku nauku uveo francuski botaničar Žozef Turnefor (*J.P. Toufrnefort*, 1656-1708). Naime, baveći se različitim oblicima klasifikacije biljaka i njihovom efikasnom determinacijom svoja saznanja je objedinio u poznato delo

7. HERBARIJUM

Institutiones rei Herbariae koje je objavljeno 1700 godine u Parizu. Stručna i naučna javnost se tada po prvi put susrela sa terminom **Herbarium**.



Slika 2. Žozef Turnefor [e12] i naslovna stranica njegove publikacije *Institutiones rei Herbariae* [e13]

Upravo povezujući ovaj termin, koji je iskoristio Turnefor za svoje enciklopedijsko izdanje, sa tada već poznatim *hortus siccus*, Karl Line (C. *Linnaeus*, 1707-1778) je omogućio da termin Herbarijum zaživi i do današnjih dana bude sinonim za nauku o biljkama. Međutim, pod herbarijumom su se podrazumevale različito preparirane biljke, od sasušanih pojedinačnih primeraka, do zbirke sakupljenih delova – suvih plodova na primer. Metodološki postupak koji se do danas zadržao u prepariranju biljkaka – tzv. sušenje biljaka pod pritiskom, osmislio je i prvi sprovodio italijanski profesor botanike Luka Đini (L. *Gini*, 1490-1556). Od Luke Đinija do danas, metoda prepariranja biljaka, poznatija kao "presovanje" nije dobila adekvatnu zamenu. Ovaj metodološki postupak je jednostavan, jeftin, praktičan i ne zahteva posebnu obuku. Dobija se kvalitetan materijal koji se može koristiti za mnoge analize, može biti dobar dokument i muzejski artefakt i relativno je trajan. Generacije botaničara i biologa, naučnika i profesora, učenika i studenata, su prepariranjem biljaka po metodi Luke Đinija danas stvorile izuzetne kolekcije koje broje vanredno veliki broj eksikata. Samo u zvaničnim kolekcijama u svetu, pohranjeno je više od 390 000 000 herbarskih listova [e14].



Slika 3 Italijanski profesor botanike Luka Đini [e15]

Danas se pod herbarijumom podrazumevaju organizovane celine, kao delovi Prirodnjačkih muzeja, Univerziteta, botaničkih bašti i dr. Od privatnih kolekcija do institucija, herbarijumi su prošli dugu i tešku istoriju. Međutim ostala je činjenica da su, i nekada i danas, jedini očigledni dokaz o postojanju pojedinih biljnih vrsta na nekom području/lokalitetu. Herbarijumi su danas izvori podataka za nacionalne, regionalne i panregionalne analize o diverzitetu biljaka, dokazi postojanja i izučavanja pojedinačnih taksona i nepresušni izvor za istraživače.

Pored toga što je svaki Herbarijum prepoznatljiva institucija za sebe, na globalnom nivou razvijena je i mreža herbarijuma – naučnih i muzejskih kolekcija okupljena u asocijaciji *Index herbariorum*, čije je sedište u Botaničkoj bašti u Njujorku [e14].

Na području zapadnog Balkana, u državama koje se nalaze na tim prostorima postoje mnogi herbarijumi (tabela 1). U njima se čuva ogromno florističko bogatstvo ovog područja. Bez obzira na vreme osnivanja i veličinu samih zbirki, svi herbari sa ovih prostora su veoma posećeni od brojnih evropskih i regionalnih istraživača flore. To se naročito dešava kada se u nekim od gradova u kojima su sedišta ovih Herbarijuma održavaju Botanički kongresi. Tada su herbarijumi prepuni posetilaca i tada se ideja i misija herbarijuma najbolje i sagledava.

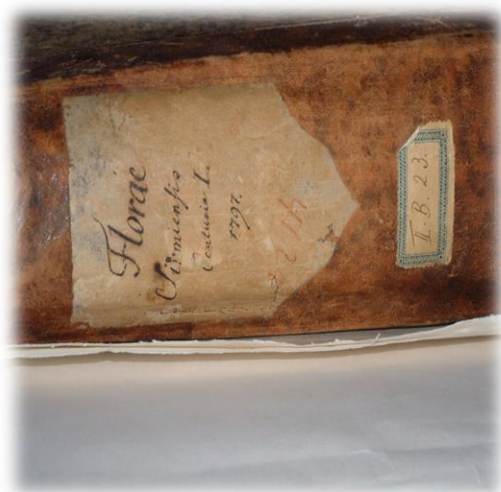
7. HERBARIJUM

Tabela 1 Pregled registrovanih herbarijuma po državama regiona Zapadnog Balkana [el4]

država	broj herbarijuma	akronimi	ukupan broj primeraka (circ.)
Bosna i Hercegovina	3	-; FAMU; SARA	112.500
Crna Gora	1	TGU	10.000
Hrvatska	12	ADRZ; CNF; CNHM; DEND; HRNDC; MAKAR; NHMR; NHMS; RI; ZA; ZAHO	385.884
Severna Makedonija	5	HMMNH; MCF; MKMEL; MKNH; MKNDC	256.430
Slovenija	4	LJF; LJM; LJS; LJU	220.000
Srbija	5	BEO; BEOU; BUNS; DCSR; PZZP	747.950

Podaci prikazani u tabeli 1 delimično govore o veličini i značaju botaničkih kolekcija država zapadnog Balkana. Međutim, pretpostavka je da su kolekcije mnogo bogatije, a i da mnoge nisu registrovane, te ne postoji jasna i precizna informacija o njihovom postojanju i veličini kolektovanog materijala. Ovako brojni podaci rezultat su, pre svega, vekovne tradicije prikupljanja materijala. Danas su oni osnova za sva brojna istraživanja i revizije, posebno kada se radi o florističkom diverzitetu, proceni stanja prirodnih vrednosti, zastupljenosti pojedinih vrsta od posebnog značaja, endemita, relikata, vrednostima u bogatstvu predela i staništa, bogatstvu u prirodnim resursima lekovitog ili jestivog bilja, itd. Međutim, sa druge strane Herbarijumi su i muzejske kolekcije, sa muzeološkom vrednošću i izuzetnim kulturnim i istorijskim značajem. Oni su dokumenti jednog vremena i jednog prostora. Često su i izvor informacija za mnoge kulturološke, sociološke, etnološke studije. I na kraju, to su i umetnička dela, dela ruku pregaoca i zaljubljenika u svoj posao, posvećenika i odanih istraživača. Mnogi herbarijumi su remek dela tehnike prepariranja i uklapanja, često obogaćeni dodatnim crtežima vanvremenskog kvaliteta i lepote. U mnogim zemljama herbarijumi su i deo kulturnog nasleđa, te su i registrovani kao nacionalna kulturna blaga. Jedan od takvih primera je i herbarska kolekcija organizovana u zbirke od po 100 primeraka - *Centuria* koje je prikupio , preparirao, obradio i pripremio profesor prirodnih nauka Gimnazije u Sremskim Karlovcima (Srbija) - Andrija Volni (slika 4).

7. HERBARIJUM



Slika 4. Centurija *Andrije Volnog* - jedan od najstarijih herbarijuma u regionu iz XVIII veka

Ovako brojni podaci rezultat su, kako smo već istakli, vekovne tradicije prikupljanja materijala. Danas su oni osnova za sva brojna istraživanja i revizije posebno kada se radi o florističkom diverzitetu, zaštiti prirode i proceni uticaja čoveka na životnu sredinu. Takođe, podaci herbarijumskih kolekcija su nepresušan izvor za nova istraživanja u fundamentalnoj i aplikativnoj botanici. Veliki broj podataka prikuplja se aktivnim terenskim radom botaničara, a rezultati tog rada se pohranjuju u herbarijumskim kolekcijama. Iz tih razloga, botaničari, pre svega taksonomi i sistematičari se u svojim istraživanjima prvenstveno oslanjaju na herbarijume. Herbarijumski uposlenici često vrše determinaciju materijala kolegama, koji taj isti materijal koriste za druge tipove istraživanja. Na napred opisanom primeru Herbarijuma *Andrije Volnija* videli smo koliki je značaj herbarijuma u očuvanju istorijski i kulturno važnih kolekcija. Ideja *Volnija* je bila podučavanje i iniciranje mladih da se bave istraživanjima prirode. To je, takođe jedna od veoma važnih misija herbarijuma, stimulacija delatnosti mladih istraživača. Rad sa herbarskim materijalom uopšte, determinacija i njeno usavršavanje, neprestano otkrivaju nove i nove problem, što su u stvari novi zadaci za istraživače i nove ideje za projekte. Svedoci smo velike dinamike i konstatnih promena u florističkom sastavu i kompoziciji vegetacijskog pokrivača. Viševjekovno sakupljanje predstavlja stvarni materijalni dokaz vegetacije koja je nekada prekrivala pojedina područja. I na kraju, herbarijum je definitivno ostao i najmoćnije sredstvo u nastavi botanike. Činjenica da je osnovan zbog edukacije je svakako postala jedna od glavnih okosnica njegovog delovanja i mnogo vekova kasnije.

1.2 Tipovi herbarijuma

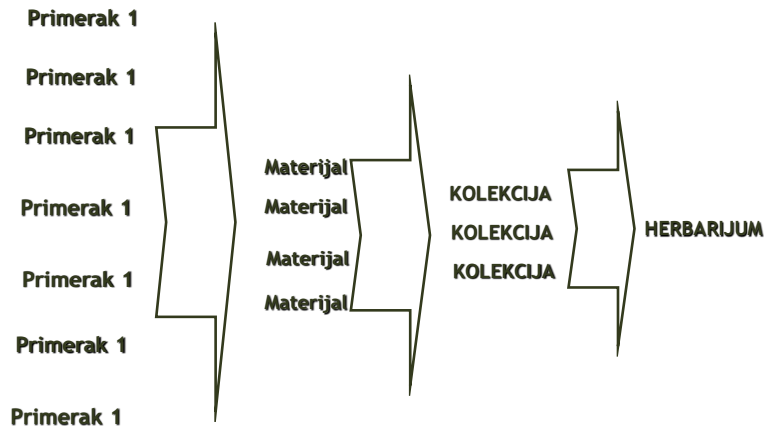
Herbarijumi su tokom istorije svog razvoja, te različitih potreba društva, prevazišli svoj prvobitni cilj, a to je edukacija u oblasti botanike. Iz tih razloga su se vremenom definisali osnovni i posebni tipovi herbarijuma. Njihova podela može biti prema veličini kolekcija, prostoru sa kog su poreklom eksikati ili na osnovu nekih drugih karakteristika. Osnovni tipovi herbarijuma su uglavnom formirani na osnovu teritorije sa koje potiču primerci. Najveći i najčešći herbarijumi su tzv. generalni ili opšti herbarijumi (*herbarium generale*) koji su obično najbogatiji primercima. Često su i međunarodnog karaktera. Nacionalni herbarijumi su takođe česti i mogu biti rezultat rada na nacionalnim botaničkim projektima ili rezultat projektnih zadataka (na primer Herbarijum Prirodno-matematičkog fakulteta Univerziteta u Skoplju, Severna Makedonija ili Nacionalni herbarijum Belorusije Instituta za eksperimentalnu botaniku Beloruske Akademije nauka). Prilikom obrade i pripreme nacionalne flore, često se pripremaju i ovakvi herbarijumi koji neretko sadrže i primerke zemalja iz okruženja ili sličnih fitogeografskih područja. Unutar herbarijuma mogu se prirediti i lokalne herbarijumske kolekcije koje predstavljaju zbirku materijala sakupljenu sa nekog šireg ili užeg područja (na primer nekog nacionalnog parka). Nasuprot ovim osnovnim i uvek bročano bogatim herbarijumima postoje i tematske kolekcije, koje su u biti mnogo manje. To su pre svega istorijski važne kolekcije (Herbarijum Andrije Volnija, Herbarijum Josifa Pančića i dr.). Herbarijumi ograničene namene (Nikolić, 1996), su kolekcije koje su veoma male, na primer herbarijumi indikatora tipova staništa, herbarijumi ekoloških tipova biljaka ili herbarijumi jedne tksonomski, specifične grupe. Svakako da takvom tipu herbarijuma pripadaju i nastavni herbarijumi za različite teme iz botanike koje se obrađuju na svim pedagoškim nivoima na kojima se pohađa nastava iz botanike/biologije. Postoje i tzv. herbarijumi za praktičnu upotrebu (herbarijumi korovskih vrsta, herbarijumi kultivara i dr.) i svakako posebne kolekcije su herbarijumi istraživačkih programa/projekata. Oni su kako vredan izvor podataka, tako i izuzetan muzejski potencijal, izvor ideja za produblivanje istraživanja ili započinjanje novih.

1.3 Organizacija i funkcionisanje herbarijuma

Rad u herbarijumu u mnogome liči na rad ostalih muzejskih kolekcija. Primerci su deo grupe primeraka - materijala. Materijali grade kolekcije, a kolekcije se nalaze u instituciji Herbarijuma (slika 5). Međutim, pored lagera i odeljenja za prikazivanje i posmatranje uzoraka, herbarijumi moraju posedovati i svoje laboratorije za pripremu, preparaciju materijala, biblioteku, administrativni prostor i dr. (slika 6). Odabir prostora za herbarijum je veoma kompleksan zadatak. Često je to jedan od osnovnih problema u radu sa herbarima. Pre svega: zgrade u kojima se nalaze herbarijumi moraju biti u zonama koje nisu izložene nepogodama (poplavama, potresima ili požarima). Prostorije u kojima se smeštaju kolekciju moraju se održavati u konstatnom procentu vlage (do 60%) i sa

7. HERBARIJUM

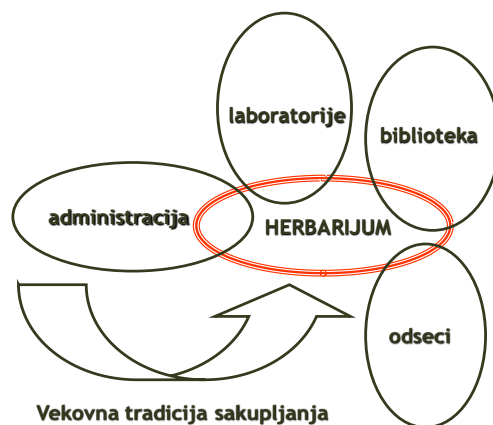
konstantnom temperaturnim kolebanjem maksimalno oko pet stepeni (najpogodnije između 16-21°C), sa odgovarajućom protivpožarnom opremom i sistemom za ventilaciju. Herbarijum svakako podrazumeva postojanje više prostorija, a ne samo lagera za odlaganje i čuvanje amterijala. To su pre svega prijemne i radne laboratorije, prostorija za prepariranje, kao i laboratorija za determinaciju i obradu materijala.



Slika 5 Šema organizacije herbarijumskih primeraka

Najveći deo prostora predstavlja lager za kolekcije. Za adekvatno smeštanje kolekcija, neophodno je da se obezbede dobri i kvalitetni ormani odgovarajućih dimenzija sa mnogobrojnim policama i pregradama za smeštaj različitih tipova i količine materijala. Ormani koji se koriste u herbarijumima su različiti; drveni, stakleni ili danas najupotrebljavaniji tzv. *compact*or pomični ormani (slika 7), kojima se u mnogome štedi prostor i koji mogu sakupiti veliku količinu materijala. Oprema herbarijuma zahteva velike stolove za rad u stojećoj visini i to najmanje sa dubinom do dužine dva herbarska tabaka, kako bi se na njima lagodno mogla sprovoditi determinacija i uporedne analize. Na radnim stolovima u pojedinim delovima mogu se nalaziti radne police za sortiranje materijala. Tu su svakako i radni stolovi sa optičkim uređajima, te binokularne lupe statične ili herbarske (na šinama) koje se mogu pomerati iznad materijala i materijal tako analizirati. Danas se sve više u herbarijumima nalazi i kompletno postavljen sistem za digitalizaciju sa foto operemom. Na zasebnim stolovima pored nosača papira moraju se nalaziti veliki noževi za njegovo sečenje.

7. HERBARIJUM



Slika 6 Šema organizacije herbarijuma



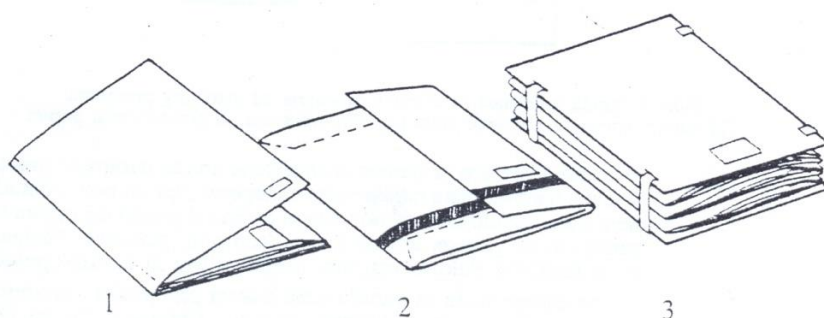
Slika 7. Pomični *compact* ormani u herbarijumskom lageru (BUNS)

Materijal za pakovanje i kolektovanje biljaka mora biti kvalitetan. Pre svega, treba izbegavati česta seljenja herbarijuma, jer se tako najlakše oštećuju primerci. Sa druge strane i materijal za pakovanje ukoliko je nekvalitetan, neće dovoljno štititi preparirane primerke, te će se oni lakše oštetiti i time biti nepodobni za upotrebu. Danas su u upotrebi različite vrste herbarskih listova, prema veličini i kvalitetu. Međutim, osnovni herbarski list mora biti od papira koji ne sadrže nikakve kiseline (*acid free*), posebno ne sumpor. Listovi ne smeju biti sjajni, već isključivo *mat*. Ukoliko se materijal ne pričvršćuje za papir, koriste se arci papira (dvolisnice), od herbarskog ili novinskog papira, koji se pored osnovnog herbarskog lista, mogu koristiti i kao omoti za grupe taksona i sl. Materijali za pakovanje podrazumevaju i listove voštanog papira, prozirnog, paus papira kao i pvc folija, te

7. HERBARIJUM

značajnu količinu talasastog ambalažnog kartona za lakše rukovanje i prenos listova, kao i za upotrebu u sušenju materijala.

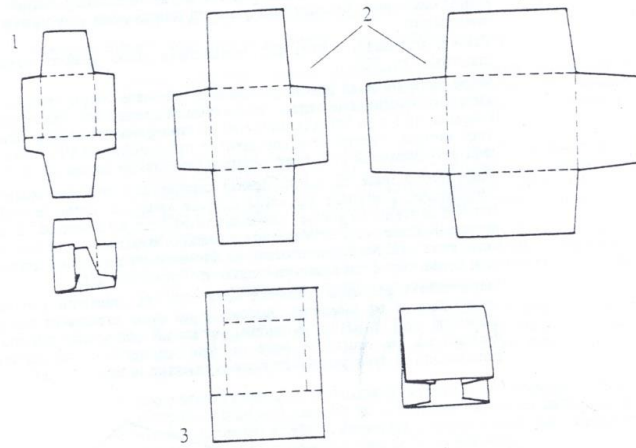
Poseban deo herbarskog materijala za pakovanje su mape (vrsta, rodova i tipova). Sve one predstavljaju dodatne elemente zaštite primeraka, ali i način na koji se primerci i grupe primeraka prepoznaju u herbarijumu. Mape u stvari predstavljaju fascikle u koje se postavljaju primerci iste vrsta (mape vrsta) ili pripadnici istog roda (mape rodova). Izuzetak su svakako mape tipova, najčešće napravljane kao fascikle za pojedinačne eksikate koji predstavljaju nomenklaturne tipove (*typus*) za pojedine taksone. Mape tipova su od posebno tvrdog kartona i sa obavezno naglašenom oznakom u vidu trake upadljive boje, na kojoj stoji i oznaka da je u pitanju *typus* (slika 8).



Slika 8 Izgled mapa vrste tipova i roda [15]

Herbarijumski listovi obiluju etiketama, različitim tipovima, funkcija i veličinama. Takođe, tu su i isečci papira organizovani kao osnovne, radne, kolektorske i definitivne etikete, kao i prateći isečci za opaske i primedbe. Svi oni treba da budu na kvalitetnijem bezkiselinskom papiru kako bi se uredno i bez oštećenja trajno održali. Za potrebe čuvanja delova biljaka koji su se odvojili ili poispadali (latice, prašnici, delovi cveta korišteni u determinaciji, itd.) izrađuju se posebne omotnice. Omotnice se prave od papira sličnog onom za etikete i moraju se lako otvoriti bez mogućnosti oštećenja sadržaja (slika 9). Slično se pripremaju i providne omotnice koje služe za pakovanje semena koja su deo materijala. Postoje i pastične omotnice, ali se ne preporučuju posebno ukoliko bi se u njih skladištilo polen.

Determinacija biljnog materijala se najčešće vrši pod binokularnim lupama (stereo mikroskop). Posebno kod onog koji je fiksiran za herbarske listove, posmatranja koja se vrše pod uvećanjima za koja je neophodna binokularna lupa moraju se vršiti tako, da se materijal ne ošteti. U tu svrhu, najpogodnije su se pokazale binokularne lupe postavljene na šinama (slika10).



Slika 9 Omotnica za dodatne materijale [9]



Slika 10 Binokularna lupa na dugim držačima (šinama)

Herbarski materijal često sadrži i dodatne elemente, kao što su kutije za plodove i posude za tzv. *mokru zbirku* u kojima se čuvaju materijali u tečnom medijumu. Različiti tipovi lepila (polivinil-acetatna smeša ili Arehov lepak i dr.), trake za uklapanje materijala, kao i konac za šivenje primeraka za herbarske listove su takođe sastavni i delovi opreme herbarijuma.

1.4 Uređenje herbarijuma

Preparirani primerci, presovani, sasušeni ili konzervirani u odgovarajućim rastvorima se ulažu u herbarsku zbirku. Bez obzira na koji su način konzervirani/preparirani, materijali se moraju pravilno uložiti, jer je na taj način garantovano komuniciranje sa materijalima, odnosno njihovo lako pronalaženje. Način ulaganja se razlikuje po različitim kolekcijama, međutim ono što je najpreporučljivije jeste sistem razvijen u Kju herbarijumu [9], koji se sada i najčešće koristi. Sadržaj vrsta se pakuje u svoje omote koje se ulažu u mapu roda. Tipski primerci se postavljaju nezavisno u mape tipova. Herbarski primerci uvek leže horizontalno u mapama i na policama, ne postavljaju se nikada uspravno. Primerci koji nisu

7. HERBARIJUM

u fazi definitivne determinacije označavaju se oznakama *cf.* (*confer* - uporedi) ili *aff.* (*affinis* - srodno sa) i stavljaju se na kraju mape vrste. Infraspicijski taksoni se postavljaju takođe na kraju omota i to prvo tipični oblici, a potom ostali. Ukoliko su primerci označeni imenom vrste sa oznakom *sensu lato* - u širem smislu (obuhvataju širi spektar infraspicijskih oblika koji su morfološki varijabilni ili su u pitanju srodni taksoni nedefinisiranog statusa) postavljaju se u posebne omote vrste koji se postavljaju van omota vrste u kome su primerci kod kojih je status jasan.

Uređenje herbarijuma podrazumeva organizovani sistem koji garantuje brzo i efikasno pronalaženje primerka koji je potreban. Postoji više sistema uređivanja herbarijuma i svaki herbarijum je nezavistan u odabiru sistema organizovanja kolekcija. Većina sistema je definisana na bazi porodica ili rodova. Međutim i pojedini delovi kolekcije mogu biti organizovani na različite načine ukoliko je praktičnost odabranog modela dokazana. Najčešći načini klasifikacije su sistematski i abecedni, a po nekada i geografski. Pored toga, može se i definisati interni sistem klasifikacije.

Sistematsko uređenje herbarijuma je bazirano na filogenetskoj srodnosti porodica. Sistem koji se primenjuje je uglavnom tradicionalan i vezan za pojedine herbarijumske zbirke. Naime u vremenu formiranja prvih nauč kolekcija postojao je neki od prihvatljivih sistem klasifikacije i on je odabran. Sistemi su se kasnije menjali, ali ne i sistemi organizacije herbarijuma. Najzastupljeniji sistem ovakve organizacije je Englerov sistem klasifikacije koji je opšte prihvaćen, iz razloga što je dugo bio neprikosnoveni sistem po kome su se organizovale i prikazivale regionalne i panregionalne flore.

Abecedno uređivanje herbarijuma se može sprovoditi kako na nivou porodica, tako i na nivou rodova. Ukoliko se takvo uređivanje primenjuje na nivou porodica, najpre se izvrši klasifikacija na krupnije grupe (po razdelima ili klasama biljaka), dok se na nivou rodova abecedni sistem može primenjivati i bez takve klasifikacije. Abecedni sistem uređivanja herbarijuma je veoma praktičan i ne iziskuje potrebu za velikim brojem stručnjaka koji bi pomagali u pronalaženju primeraka.

Geografsko uređenje herbarijuma je do sada najmanje primenjivano. Uglavnom se najpre izvrši podela na velika područja, a potom unutar njih na manja. To je svakako korisno prilikom proučavanja florističkog diverziteta, međutim u mnogome otežava rad sa kolekcijom.

Ukoliko se prihvati uređivanje po porodicama, onda se unutar njih, na isti način radi i paralelno uređivanje po rodovima i vrstama. Dakle, unutar porodice rodovi se organizuju prema filogenetskoj srodnosti, a unutar rodova vrste uglavnom abecednim redom. Iz tih razloga, a verovatno po najviše zbog pragmatičnih razloga, primenjuje se metod, da se kompletna kolekcija uredi po abecednom redu rodova. Svi ostali modeli su gotovo pod svakodnevnim pritiskom izmene filogenetske srodnosti ili preimenovanja ili transfera taksona iz jednog u drugi rod /familiju. Kod bilo kog sistematskog načina uređivanja

7. HERBARIJUM

herbarijuma prednost je svakako ta što se u neposrednoj blizini nalaze srodni taksoni. Međutim lakoća rukovanja i brzina kojom se pronalaze herbarski primerci u abecedno organizovanoj kolekciji je nešto, što je danas veoma prihvatljivo i iz pragmatičnih razloga, najviše i korišteno.

Mogući su i posebni sistemi organizacije, kao što su: odvajanje tipova (posebna kolekcija samo tipova), odvajanje kultivara, kolekcije za rutinsko određivanje (postavljanje na početku omota tipičnih predstavnika kako bi se determinatoru olakšao postupak dalje determinacije - nije široko prihvaćena tehnika), izdvajanje materijala sa masovnih sabiranja ili naučnih projekata, izdvajanje istorijski važnih kolekcija, izdvajanje neodređenih i nedeterminisanih primeraka, izdvajanje iz generalne kolekcije zbirke u tečnom medijumu, karpološke zborke, zbirke

drvenastog materijala - ksiloteke, zbirke semena, zbirke gljiva i lišajeva, zbirke algi i dr. Koji god od sistema da se primeni, veliki herbarijumi preporučuju izradu vodiča kako bi se posetioци mogli lakše snaći i organizovati svoju radnu posetu zbirci.

U herbarskoj kolekciji postoje posebna pravila rada i rukovanja sa herbarskim materijalom. Materijal je nešto što se posebno čuva i mora ostaviti narednim generacijama Iz tih razloga postoji set pravila o rukovanju materijalom [15]:

*list sa primerkom uzimati sa obe ruke, ne na jednom kraju ili jednom rukom
herbarski list se nikada ne okreće
primerak se pomera položen na podlogu od kartona
primerci na adekvatan način povezani treba da budu uvek osim kada se koriste
ne naslanjati se laktovima ili stavljati teške predmete na herbarske listove
ne savijati omote ni listove sa uklopljenim primercima
ne ispuštati naglo listove ni omote
ne stavljati neuklopljene primerke na rubove radnih površina
ne pokušavati ubaciti deblje omote u prostore i police ako to ne ide lako uklopljene
primerke stavljati horizontalno
prilikom ulaganja novog primerka ne oštećivati stari
za pregled koristiti lupe na dugim držačima
obavezna pažnja prilikom vraćanja korišćenog materijala
obavezno zatvarati ormare
ako primerak duže vreme stoji izvan mape treba ga prekriti tankim kartonom
polomljene delovi odlagati u posebne omote.*

1.5 Zaštita i čuvanje herbarijuma

Adekvatni uslovi čuvanja herbarijumskih kolekcija podrazumevaju i intenzivne mere zaštite materijala od štetnih uticaja, pre svega od naseljavanja insekata i gljiva. Takođe, podrazumevaju se i strogo definisani sistemi i norme osnovnih parametara uslova grejanja i hlađenja, te održavanja nivoa vlage u herbarijumima.

7. HERBARIJUM

Primljeni materijal, u Herbarijum, pristiže u novinskom papiru, razvrstan ili ne, sa pretpostavkom da je uredno obeležen. Prvi osnovni postupak jeste dezinfekcija materijala. Pre dezinfekcije u fumigatorima treba iz paketa odstraniti sve viškove kartona, papira ili kanapa, kojima su paketi bili uvezani. Nakon tretmana u dezinfikatorima materijal se prepušta fazama uklapanja, prepariranja i ulaganja u herbarijum. Postupci fumigacije obavljaju se ustaljenim procedurama više od pola veka, međutim smatraju se danas zastarelim i pre svega štetnim po zdravlja. Sa druge strane oni su i neophodni, jer je materijal koji se ulaže u herbarijume pre svega materijal iz prirode i sa sobom nosi prirodno naseljene spore i micelijume gljiva. Sa druge strane tu je zasigurno prisutna i mikoflora kao i jaja insekata koja je naseljena tokom različitih faza sakupljanja i prepariranja.

Postupak fumigacije se ranije sprovodio preparatima koji su bili i potvrđeno kancerogeni, međutim i danas postupak tretiranja herbarijuma ili zasebnog materijala metilbromidom ili ugljenik di-sulfidom su redovni postupci i često su u upotrebi. Postupak ventilacije nakon tretiranja, je jedini način da se višak gasa koji je pušten u prostorije herbarijuma odstrani.

Jedna od opasnijih stvari u herbarijumu jeste najezda insekata koji se hrane biljnim materijalom. Među insektima koji koriste herbarski materijal kao hranu nalaze se vrste iz grupe opnokrilaca, larve moljaca i mnoge druge. Među najdestruktivnije i po herbarijumski materijal najopasnije vrste prepoznajemo sledeće insekte: *Stegobium paniceum*, *Lasioderma serricorne*, *Anthrenus scrophulariae*, *A. verbascii*, *Sterrhia bonifata*, *S. inquinata*, *Ephistia cautella*, *Anagasta kuhniella*, *Lepisma saccharina*, *Cartodere filum* i dr. U početku se na listovima herbarskog papira primećuju sitna tamna zrnca, što predstavlja signal, da se u herbarijumu nalaze neke od pomenutih vrsta i da je dezinsekcija neophodna. Kasnije se pojavljuju rupice na papiru i samom materijalu. U ovoj fazi je već došlo do širenja pre svega larvi i da je invazija već započela. Pojava adultnih jedinki naročito po prozorskim oknima ili uglovima prostorija je znak da kompletna zbirka se mora, pod hitno, tretirati. Nakon toga, pojedinačne primerke treba obraditi i na kraju, ponovo hemijski tretirati. Insekti po najpre ugrožavaju nežnije i sočnije delove biljaka, cvetove, mlade izdanke i sl. Posebno su ugrožene vrste porodica: Alliaceae, Apiaceae, Asteraceae, Brassicaceae, Fabaceae, Lamiaceae. Međutim, kada započne invazija i mnogi drugi predstavnici ne ostaju zaštićeni, uključujući i predstavnike koji u svojim sudovima sadrže otrovni lateks. Pored ovih vrsta herbarijumske eksikate oštećuju i *knjiške vaši* koje se hrane papirom pre svega, te stradaju i etikete i uklopni papiri, a tu su i grinje, glodari i svakako različite vrste plesni i dr.

Kako se sve ove vrste najbolje razvijaju u fazi umerene temperature, neophodno je konstanto u našim uslovima sprovoditi postupak hlađenja, uz obavezno redovno vizuelno pregledanje materijala. Zamrzavanje je jedan od najpreporučljivijih metoda koji se poslednjih decenija široko prihvata i predstavlja jednostavno i efikasnu metodu ubijanja larvi insekata. Po prvi puta, ova metoda je primenjena 1979 godine u Kju Herbarijumu nakon višegodišnjeg testiranja. Preporuka je da temperatura bude što niža, ali se smatra

7. HERBARIJUM

da je -18°C sasvim dovoljno, da uništi larve pominjanih vrsta, a preporuka je da to bude i temperatura niža od -20°C . Materijal se postavlja u plastične vreće da bi se sprečilo njihovo vlaženje, a vreće se mogu ponovo upotrebljavati. Nekoliko sati na ovoj temperaturi je dovoljno za ubijanje svih vrsta. Ukoliko se radi o drvenastom materijalu vreme je duže, tako da se preporučuje sedam časova na temperaturi -18°C .

Čuvanje materijala u lagerima takođe je podložno kontroli temperature. Prosečna temperatura ne bi smela preći $18-21^{\circ}\text{C}$, sa što manje variranja.

Posebni postupak je individualno trovanje, ubrizgavanjem otrova u materijal što ga čini nejestivim za insekte. Kako se radi o jakim preparatima, mora se voditi i stroga evidencija vremena i količine aplikovanog otrova, što mora da se naznači na etiketi. Brojni su preparati koji se na takav način mogu koristiti (živin hlorid, lauril-pentahlorpenat, ili DDT). U pojedinim herbarijumima, u upotrebi su i feromonske trake na koje se lepe mužjaci. Na taj način se ne uništavaju ženke i larve, ali se prekida razvojni ciklus i na taj način smanjuje ukupna populacija. Prirodnjački muzej u Parizu usavršio je i metodu mikrotalasnog tretmana materijala koji se može primenjivati i na svežem, ali i presovanom materijalu.

2. UZORKOVANJE BILJNOG MATERIJALA

Botanika, kao i mnoge druge biološke discipline, u svojim istraživanjima se oslanja na materijal koji je donešen iz prirode. Mnoga istraživanja se sprovode u prirodi, često su i eksperimenti postavljeni u prirodnim celinama. To ima za prednost prijatan rad, boravak u prirodi i direktan kontakt istraživača i objekta istraživanja. Međutim, ovakav rad sa sobom nosi čitav niz problema koji su pre svega, povezani sa neizvesnošću uspešne realizacije eksperimenta ili pronalaska taksona na prirodnom staništu, a potom i pronalaženja dovoljne količine materijala, fenofaze i dr. Sa druge strane, neizvesnost rada u prirodi, povezana je i sa meteorološkim prilikama, ali i sa tehničkim mogućnostima, dostupnim terenskim vozilima, putevima, smeštajem uslovima za organizovanje istraživačkog kampa i sl. Sve u svemu, veliki entuzijazam koji krasi istraživače u oblasti botanike povezan je i sa dugotrajnim boravkom u prirodi i često nesvakidašnjim oduševljenjem prilikom pronalaska retkog taksona ili "taksona za kojim se traga".

Botanika kao tradicionalna naučna disciplina biologije, se u osnovi deli na terensku i laboratorijsku. Ova tradicionalna podela nije bez razloga, i ne predstavlja posledicu sukoba između dva koncepta botaničkih istraživanja. Ona je jednostavno nastala na osnovu realne podele vremena koje istraživači provode na terenu ili u laboratoriji. Terenski botaničari su mnogo više na terenu, dok deo godine kada je vegetacija u fazi mirovanja provode u laboratoriji. Nasuprot tome, laboratorijski botaničar na terenu provodi onoliko vremena koliko je potrebno da se uzme uzorak, dok sav ostali deo aktivnosti sprovodi u laboratoriji. Ova dva oblika rada su tesno povezana. Iz tih razloga, danas su sve više popularni timovi koji uključuju istraživače oba opredeljenja, te se jednostavno istraživačke aktivnosti nadopunjuju, a time i znatno povećava kvalitet rada.

2.1 Plan istraživanja

Sva istraživanja imaju za početni korak definisan i organizovan dobar plan istraživanja. Sistemski i studiozno osmišljena istraživanja su garant uspeha u svakom pa i istraživačkom poduhvatu. Prepuštanje rada stihiji i aktivnostima koja se ne sprovode planski, dovode do produžavanja trajanja istraživanja, gubitka istraživačkog entuzijazma i neretko, do odustajanja. Kako bi se to predupredilo i istraživanja dobila od početka pravilno usmerenje i definisani tok, razmatranje i studiozno planiranje istraživanja je neophodno. U slučaju rada sa biljkama, plan mora sadržati i dobro analiziranu i pripremljenu šemu fenofaza, te raspored pojavljivanja i sazrevanja delova biljaka neophodnih za dalju analizu. U većini slučajeva zimski meseci botaničara rezervisani su za definisanje ovakvih planova koji uključuju i posete herbarijumskim zbirkama referentnim za odgovarajuća područja neophodna za istraživački projekat, kao i ukoliko postoje, specijalizovane kolekcije sa značajnijom količinom materijala istih ili srodnih taksona.

2. UZORKOVANJE BILJNOG MATERIJALA

Prikupljanje podataka je prvi korak u pripremi dobrog plana istraživanja. U ovom koraku koriste se svi raspoloživi izvori podataka. Počinje se sa opservacijom literature, posebno florističke vezane za područje istraživanja. Podaci iz florističkih, fitocenoloških i svih ostalih studija u kojima se navode lokaliteti nalaženja i vreme sakupljanja pojedinih vrsta su osnova za formiranje baze podataka o taksonima koji su predmet istraživanja. Sledi taksonomska priprema, odnosno upoznavanje sa taksonom u dostupnoj herbarskoj kolekciji. Pregled što većeg broja primeraka je osnova upoznavanja istraživača sa veličinom varijabilnog i fenoplastičnog prostora koji svaki pojedini takson pokazuje. Kada se završi pregled i revizija materijala u osnovnoj kolekciji (u mestu gde istraživač aktivno radi) prelazi se na pregled ostalih kolekcija u kojima se pretpostavlja da se može dobiti značajan broj podataka. To su pre svega herbarijumi u okolini i herbarske kolekcije koje su referentne za šire istraživano područje (na primer Balkansko poluostrvo ili Panonsku niziju). Preostali podaci su poreklom od drugih istraživača (usmena saopštenja) ili podaci koje je istraživač sam prikupio tokom svojih prethodnih istraživanja. Iz tih razloga terenska sveska predstavlja neiscrpan izvor informacija.

Svi podaci se **sintetišu u jedinstvenu bazu** podataka koja sadrži zbirno sve podatke: literatura, kolekcije, usmena saopštenja drugih istraživača, ali i lične podatke (slika 11). Svi podaci podležu postupku nomenklaturnog i geografskog ujednačavanja. Na taj način, dobijaju se efikasno priređeni podaci za odgovarajući takson. Svi podaci u bazi su usklađeni nomenklaturno, a oni koji odstupaju su isključeni u daljim postupcima. Kao rezultat dobijen je veliki broj lokaliteta na kojima su prethodni istraživači registrovali i prikupili materijale. Svakako da se podaci razlikuju po vrednostima. Najverodostojniji su podaci iz kolekcija koji su podložni proveri istraživača, te ih treba najčešće i uzimati kao najvalidnije.

1	red.br.	herb.br.	kutija	pozicija	subnomen	familija	rod	vrsta	aut.	god.	subsp.	aut.	god.
341	340	00000121			11124 Achillea distans W. et K.	Asteraceae	Achillea L. 1753	Achillea distans	Waldst. & Kit. ex Willd				1803
342	341	00000122			11124 Achillea crithmifolia W. et K.	Asteraceae	Achillea L. 1753	Achillea distans	Waldst. & Kit. ex Willd				1803
343	342	00000123			11124 Achillea distans W. et K.	Asteraceae	Achillea L. 1753	Achillea distans	Waldst. & Kit. ex Willd				1803
344	343	00000124			11124 Achillea distans W. et K.	Asteraceae	Achillea L. 1753	Achillea distans	Waldst. & Kit. ex Willd				1803
345	344	00000125			11124 Achillea distans W. et K.	Asteraceae	Achillea L. 1753	Achillea distans	Waldst. & Kit. ex Willd				1803
346	345	00000126			11124 Achillea distans W. et K.	Asteraceae	Achillea L. 1753	Achillea distans	Waldst. & Kit. ex Willd				1803
347	346	00000242			11124 Achillea distans Waldst. et Kit. ex Willd 1803?	Asteraceae	Achillea L. 1753	Achillea distans	Waldst. & Kit. ex Willd				1803
348	347	00000204			11125 Achillea millefolium var. collina Becker.	Asteraceae	Achillea L. 1753	Achillea collina	J. Becker ex Reichenb.				1832
349	348	00000205			11125 Achillea collina Becker.	Asteraceae	Achillea L. 1753	Achillea collina	J. Becker ex Reichenb.				1832
350	349	00000206			11125 Achillea collina Becker.	Asteraceae	Achillea L. 1753	Achillea collina	J. Becker ex Reichenb.				1832
351	350	00000207			11125 Achillea collina Becker.	Asteraceae	Achillea L. 1753	Achillea collina	J. Becker ex Reichenb.				1832
352	351	00000208			11125 Achillea collina Becker.	Asteraceae	Achillea L. 1753	Achillea collina	J. Becker ex Reichenb.				1832
353	352	00000209			11125 Achillea collina Becker.	Asteraceae	Achillea L. 1753	Achillea collina	J. Becker ex Reichenb.				1832
354	353	00000210			11125 Achillea collina Becker.	Asteraceae	Achillea L. 1753	Achillea collina	J. Becker ex Reichenb.				1832
355	354	00000211			11125 Achillea millefolium L. var. collina Becker.	Asteraceae	Achillea L. 1753	Achillea collina	J. Becker ex Reichenb.				1832
356	355	00000128			11125 Achillea collina Becker.	Asteraceae	Achillea L. 1753	Achillea collina	J. Becker ex Reichenb.				1832
357	356	00000129			11125 Achillea collina Becker.	Asteraceae	Achillea L. 1753	Achillea collina	J. Becker ex Reichenb.				1832
358	357	00000130			11125 Achillea collina Becker.	Asteraceae	Achillea L. 1753	Achillea collina	J. Becker ex Reichenb.				1832
359	358	00000131			11125 Achillea collina Becker.	Asteraceae	Achillea L. 1753	Achillea collina	J. Becker ex Reichenb.				1832
360	359	00000132			11125 Achillea collina Becker.	Asteraceae	Achillea L. 1753	Achillea collina	J. Becker ex Reichenb.				1832
361	360	00000133			11125 Achillea collina Becker.	Asteraceae	Achillea L. 1753	Achillea collina	J. Becker ex Reichenb.				1832
362	361	00000134			11125 Achillea asplenifolia Vent.	Asteraceae	Achillea L. 1753	Achillea collina	J. Becker ex Reichenb.				1832
363	362	00000135			11125 Achillea collina Becker.	Asteraceae	Achillea L. 1753	Achillea collina	J. Becker ex Reichenb.				1832
364	363	00000136			11125 Achillea asplenifolia Vent.	Asteraceae	Achillea L. 1753	Achillea collina	J. Becker ex Reichenb.				1832
365	364	00000137			11125 Achillea collina Becker.	Asteraceae	Achillea L. 1753	Achillea collina	J. Becker ex Reichenb.				1832
366	365	00000138			11125 Achillea collina Becker.	Asteraceae	Achillea L. 1753	Achillea collina	J. Becker ex Reichenb.				1832
367	366	00000139			11125 Achillea collina Becker.	Asteraceae	Achillea L. 1753	Achillea collina	J. Becker ex Reichenb.				1832
368	367	00000140			11125 Achillea collina Becker.	Asteraceae	Achillea L. 1753	Achillea collina	J. Becker ex Reichenb.				1832
369	368	00000141			11125 Achillea collina Becker.	Asteraceae	Achillea L. 1753	Achillea collina	J. Becker ex Reichenb.				1832

Slika 11 Baza podataka sintetisana na osnovu raspoloživih podataka, format Excel for Windows (BUNS)

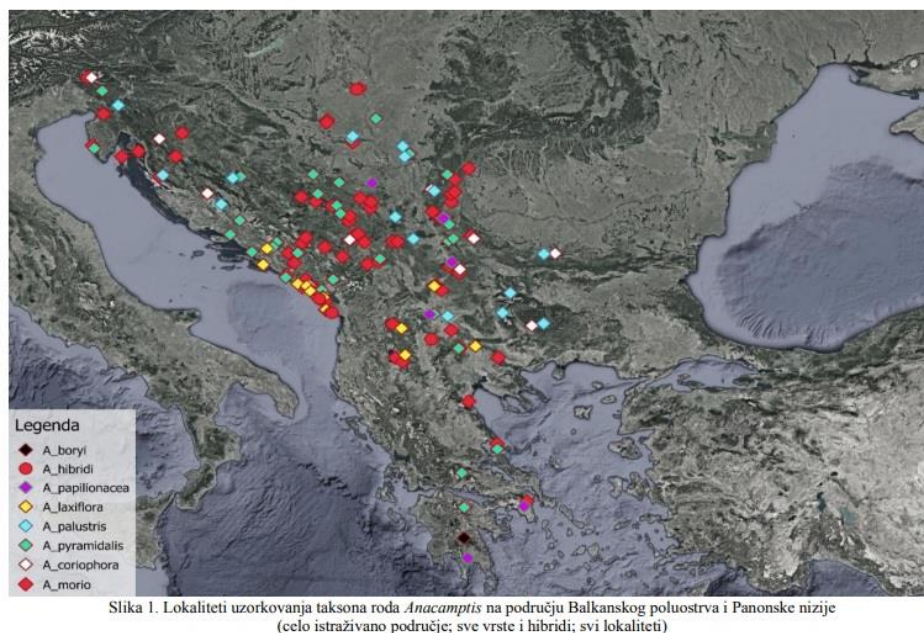
Odabir formata u kome će biti konstruisana baza podataka istraživača je individualna, zavisi pre svega, od preferencija samog istraživača za neki softverski paket. Ono što je velika prednost ukoliko postoji mogućnost, je da se literaturne, herbarijumske i taksonomske baze mogu integrisati. Tome doprinose nacionalni projekti iz oblasti botanike. Srbija se

2. UZORKOVANJE BILJNOG MATERIJALA

može pohvaliti činjenicom da je u bliskoj prošlosti, grupa botaničara okupljena u realizaciji mnogih strateški važnih projekata (Flora Srbije, Crvena knjiga vaskularne flore Srbije, Ekološke mreže, Botanički značajna područja u Srbiji, nacionalna Natura, kartiranje staništa i sl.) usvojila jedinstveni model baze podataka za sve tipove botaničkih istraživanja. Ideja osnovne baze podataka u Excel formatu potekla je sa Katedre za ekologiju i geografiju biljaka Biološkog fakulteta Univerziteta u Beogradu. Međutim kasnije je razrađivana od svih učesnika navedenih projekata, tako da je danas postala jedinstvena u svom osnovnom obliku, te su komparacije podataka znatno olakšane. Osnovni model baze podrazumeva sintetski i atomizirani podatak. Osnovni podaci se prenose u jedinstvenu ćeliju, a onda u zavisnosti od potreba istraživanja atomiziraju (razdeljuju) na što veći broj podataka (slika 11).

Prenos informacija na kartografsku podlogu i **formiranje karte distribucije taksona** predstavlja naredni korak u kreiranju plana terenskih istraživanja. Za potrebe istraživačkog poduhvata definisanog projektnim ciljevima, temom izrade disertacije i sl., po nekada nije potrebno da se kreira karta distribucije koja će obuhvatiti kompletan areal taksona, već se ona može ograničiti na pretpostavljeno područje istraživanja. Međutim, uvek je mnogo korisnije i bolje, a za samo kreiranje dinamike i rasporeda terenskog rada izuzetno korisno, kreirati što kompletniju i detaljniju kartu distribucije. Na taj način se sagledavaju sve mogućnosti i pravovremeno predviđaju modeli rada, te blagovremeno definiše pravilan raspored uzorkovanja. Postavljanjem zabeleženih lokaliteta na geografsku kartu, istraživač dobija sliku veličine istraživanog prostora, raspored gomorfoloških objekata, tipova matičnih stena i pedoloških profila, makro i mikroklimatske uslove, i sve to u gradijentima geografske širine i dužine, ili nadmorske visine. Za potrebe istraživanja flore ali i taksonomskih problema, filogenetskih i filogeografskih odnosa, od posebnog su zanačaja podaci (a i uzorci) sa ivice, odnosno nekih od granica autohtonog areala. Jedino na detaljno i savesno urađenoj karti distribucije taksona je to moguće sagledati, prepoznati i definisati (slika 12).

2. UZORKOVANJE BILJNOG MATERIJALA



Slika 12 Karta distribucije taksona izrađena na osnovu podataka uzorkovanja [18]

Na kartama distribucije se posebnim bojama mogu označavati lokaliteti prema poreklu podataka. To u mnogome olakšava posao istraživačima. Sigurni su oni podaci koji su dobijeni iz kolekcija, te prilikom izrade itinerera terenskih istraživanja najekonomičnije je pratiti model – siguran podatak=siguran nalaz.

Karta distribucije koristi se za izradu plana terenskih istraživanja. Koristeći podatke iz kolekcija o vremenu cvetanja ili sporonošenja na primer, odredi se vreme terenskih putovanja u pojedine delove areala predviđenog za istraživanje. Pri tome se vodi računa o nadmorskoj visini i tipovima staništa, jer se time značajno menja i period fenofaze cvetanja, na primer. Nakon toga, vrši se odabir lokaliteta koji će se posetiti i na kojima će se uzimati uzorak. Kod biljaka manjih areala (stenoendemita ili endemita) dozvoljeno je uzimanje uzoraka na manjoj udaljenosti. Kod široko rasprostranjenih vrsta razlika između uzoraka mora biti pravilna ukoliko se radi o istim tipovima staništa. Tako se dobija gradijent geografske širine ili geografske dužine u zavisnosti od pravca prostiranja areala. Odabir tačaka mora obuhvatiti sve tipove staništa, dijapazon nadmorskih visina, kao i preporučljivo granice areala. Dobijena **mreža odabranih lokaliteta** predstavlja osnovu za uzorkovanje u narednoj vegetacijskoj sezoni. Mreža je podložna promenama, u zavisnosti od toga što je potencijalno moguće pribavljati informacija o distribuciji koji odstupaju od prvobitne karte. Međutim, i ovakvi slučajevi neće u mnogome promeniti dinamiku uzorkovanja. Opisani model je uglavnom primenljiv kod uporedno florističkih, anatomskih, taksonomskih, fiogenetskih, citoloških i biohemijskih istraživanja. Za klasična floristička istraživanja, istraživanja distribucije invazivnih vrsta, uporednoekološka ili istraživanja vegetacije, umesto formiranja mreže lokaliteta praktičnije je primeniti metod odabranih teritorija koji se izdvajaju prema svojim opštim ekološkim uslovima ili svojom geomorološkom i pedološkom specifičnošću. U tom slučaju karta odabranih lokaliteta

dobija izgled **mozaika lokaliteta** sačinjenog od većeg broja krugova (ostrvaca) različite veličine.

Na osnovu definisanog plana istraživanja otpočne prikupljanje uzoraka za različite tipove botaničkih istraživanja. Svako od njih je specifično po pripremi, alatima neophodnim za uzorkovanje, načinu uzorkovanja i količini materijala koje se mora sakupiti. Zajedničko je svakako da se na botanički teren odlazi sa velikim entuzijazmom, jer ste prepušteni svom pre svega istraživačkom osećaju za prostor, stanište i vreme. Ali ste isto tako ili možda pre svega, motivisani željom za pronalaskom vrste, ljubavlju prema prirodi i biljkama i pod obavezno oprezni u meri sakupljanja. Jer da ne zaboravimo, često su mnoge odabrane vrste kao modeli za istraživanje, taksoni na nacionalnim i međunarodnim listama zaštićenih vrsta. Opšta kultura istraživanja u prirodi podrazumeva da je istraživač prethodno pripremio sve moguće administrativne elemente – dozvole za sakupljanje, transfer i upotrebu biljaka u istraživačke svrhe, kao i da je uredno prijavljen upravi prirodnog dobra ukoliko su lokaliteti na kojima se uzorkovanje sprovodi, a što je veoma često, na području zaštićenog prirodnog dobra bilo koje kategorije.

2.2 Tipovi botaničkih istraživanja

Istorijski najduže postoje klasična **floristička istraživanja**. U početku (mada je to i danas prisutno), istraživanja flore se povezuju sa dvema disciplinama – fitogeografijom i taksonomijom. Istina, oni su u direktnom kontaktu, ali nikako ne bi trebalo da idu paralelno. Svakako da ne smeta, da se prilikom florističkih istraživanja prikuplja materijal i za druge tipove istraživanja (taksonomska, na primer?), međutim tipove istraživanja treba jasno razgraničiti, jer u želji da se uradi što više, često se gubi fokus i nivo istraživanja gubi na kvalitetu. Ovo tradicionalno, danas pomalo romantičarsko istraživanje je osnovni model dopunjavanja i obnavljanja herbarijumskih kolekcija. Sa jedne strane prikupljaju se podaci o flori nekog područja, a sa druge dobijamo informacije o pojedinim taksonima za isto to područje, te se eventualno ti podaci koriste prilikom drugih tipova istraživanja (deo mreže odabranih lokaliteta uzorkovanja). U moderno vreme narasta potreba za rezultatima ovakvih istraživanja prvenstveno pri formiranju nacionalnih i međunarodnih baza podataka o diverzitetu biljaka, radu na nacionalnim programima iz oblasti zaštite prirode i sl. Sa druge strane sve manji broj istraživača se odlučuje da se bavi floristikom kao svojim prepoznatljivim modelom rada. To je dugotrajan posao koji zahteva puno rada, a rezultati dolaze sporo i danas su slabo prisutni u publikacijama koje su od posebnog značaja. Međutim kada je neophodno, često se posegne za ovim podacima, tako da su baze podataka o flori prepune podataka iz literature koja je tematski vezana za florističku botaniku. Kao što je napred rečeno, ova romantična, tradicionalna i nadasve prelepa disciplina, danas je sve manje predmet interesovanja mladih istraživača. Naime, tradicionalne botaničke škole obavezno gaje floristiku. Međutim, potreba za što većim brojem publikacija navodi mlade istraživače da više vremena posvećuju drugim tipovima

2. UZORKOVANJE BILJNOG MATERIJALA

botaničkih istraživanja. Tradicionalna floristika podrazumeva definisani plan istraživanja, opserviranu literaturu za područje na kome se radi i spremnost istraživača na dugotrajne i iscrpljujuće terene. Neophodni rekviziti su oprema za standardno botaničko istraživanje (kese različitih veličina, alatke za kopanje materijala ili makaze za sečenje žbunastih ili drvenastih predstavnika), terenska prozirna presa, terenska sveska, GPS uređaj i fotoaparata). Terenski izlazak je sukcesivan na istim lokalitetima u zavisnosti od vegetacijske smene i sezone (slika 13). Tokom zimskih meseci i pre pojave prvih perena, obavi se pregled literature dosadašnjih istraživanja na ciljanom lokalitetu, pregledaju se geografske karte, provere putevi i komunikacija. Ukoliko postoje baze podataka u herbarijumima, moguće je izdvojiti iz glavnih kolekcija materijale sa datog lokaliteta i pregledati material. Pored toga, neophodno je proučiti geološku podlogu i pedološki supstrat. Za to se koriste geološki i pedološki atlas. Na terenski rad se odlazi pripremljen za višednevni rad koji po nekada zbog terena podrazumeva i podizanje terenskog kampa. Materijal se sakuplja i preparira, do osnovnog nivoa herbarizacije. Uredno obeležava. Sve informacije se beleže u terensku svesku, koja predstavlja dokument od posebnog značaja. Sakuplja se uvek velika količina materijala. Prilikom sakupljanja posebno voditi računa o kvalitetu sakupljenog materijala. Po dolasku u kamp materijal se privremeno smešta u prozirnu terensku presu. Nakon dolaska u laboratoriju, materijal se otpakiva, prerađuje, rearanžira i postavlja na definitivno prepariranje – herbarizovanje. Po završenom postupku pristupa se determinaciji i unošenju svih podataka u bazu. Determinacija je moguća i odmah na terenu, ali to je retko. Materijal odlazi na tretman hlađenja, a potom se on predaje kustosu koji ga muzeološki obradi i uloži u veliku kolekciju. Do predaje kustosu i definitivnog ulaganja u zbirku materijal je obeležen tzv. kolektorskim brojevima koji pomažu istraživaču da lakše manipuliše materijalom.



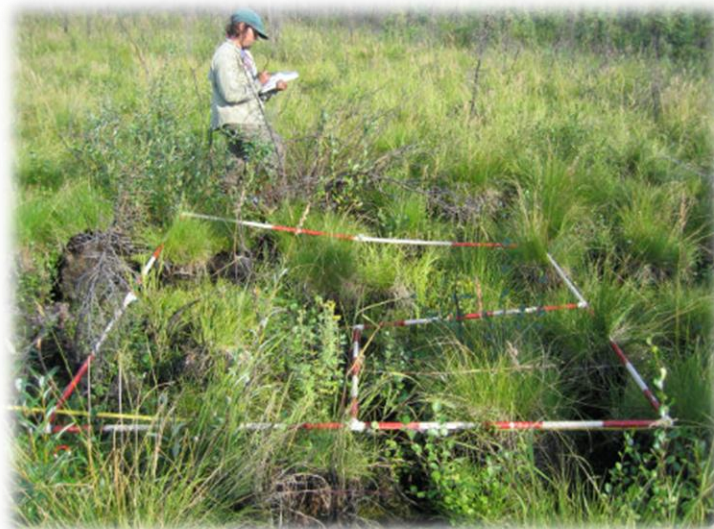
Slika 13 Floristička istraživanja na terenu

Kao što je ranije navedeno, istraživanja ovog tipa su dugotrajna i naporna. Neophodno je za dobru procenu flore nekog područja terenski rad sprovoditi u tri sukcesivne vegetacijske sezone, a tokom svake od njih na teren izlaziti svake druge do treće nedelje. Svi uzorci se taksonomski obrađuju i kombinuju sa prethodnim istraživanjima, te se izrađuju floristički

2. UZORKOVANJE BILJNOG MATERIJALA

(taksonomski), fitogeografski i biološki spektri flore [21]. Izdvajaju se vrste karakterističnih areala, endemiti, relikti, te vrste koje se nalaze na spiskovima zaštićenih vrsta. Takođe, izdvajaju se i vrste alohtonog karaktera i naglašavaju one koje su invazivnog karaktera.

Slično prethodno opisanim florističkim (fitogeografskim) istraživanjima, baziranim na relaciji vrsta-lokalitet-stanište-datum, u okviru terenskih aktivnosti, sprovode se i istraživanja biljnih zajednica – vegetacije ili **fitocenološka istraživanja**. Osnova tih istraživanja je detektovanja i opisivanje biljnih zajednica, njihovog kvalitativnog i kvantitativnog sastava, te osnovnih ekoloških karakteristika staništa, prezentovanih preko realne vegetacije [21]. Na taj način proučavaju se zakonitosti nastanka i razvoja biljnih zajednica koje su posledica delovanja biljaka i staništa jedni na druge te međusobnim interakcijama biljnih vrsta u tim zajednicama na različitim geografskim područjima (uglavnom od vremena tercijara pa do danas). Sam proces istraživanja deli se na analitički i sintetski. Međutim, primarni korak je terenski rad na kome se "uzorak vegetacije" uzima preko fitocenološkog snimka. To je osnovni metod koji je danas narašireniji u Evropi i zasnovan je na osnovama rada ciriško-monpelješke vegetacijske ekološke škole koju je osnovao poznati istraživač vegetacije Josias Braun-Blanquet. Za dobru realizaciju ovog postupka neophodno je pre svega dobro florističko znanje. Naime, uzimanje fitocenološkog snimka je izuzetno kompleksan postupak, koji podrazumeva poznavanje značajnog fonda vrsta i njihovo lako prepoznavanje na terenu. Takođe, kako bi se uzeo pravilan snimak, neophodno je i iskustveno znanje prepoznavanja smene sastojina (osnovna jedinica u fitocenologiji) i odabir najhomogenijeg uzorka. Rad na terenu zahteva posebnu koncentraciju jer se pored prepoznavanja vrsta u uzorkovanom kvadrantu daju i numeričke ocene koje se odnose na kvantitet pojedinih vrsta u prostoru uzorkovanja. Sam rad na terenu, dodatno je otežan specifičnošću samog terena, te definisanju prostora na kome se vrši fitocenološko snimanje, veličini prostora koji se posmatra (za različite tipove vegetacije, različita je veličina snimajućeg kvadranta), te svakako potrebnim kolektovanjem materijala radi konsultacija sa taksonomima oko spornih ili neprepoznatljivih vrsta koje su terenskim radom zabeležene [14]. Rad na terenu nastavlja se laboratorijskim radom, koji pored provere vrsta i herbarijumske procedure, podrazumeva dugotrajan rad na objedinjavanju podataka iz pojedinačnih snimaka, te izradi analitičkih i sintetskih tabela pre finalne obrade rezultata.



Slika 14 Fitocenološka istraživanja na terenu

Kao i prethodna, fitocenološka istraživanja takođe, podrazumevaju izradu fotodokumentacije i obavezno vođenje terenskog dnevnika-sveske. Današnje mogućnosti preciznog georeferenciranja, te upotreba uređaja za snimanje iz vazduha u mnogome olakšava rad na terenu, te su napuštene faze rada sa geografskim kartama, busolama, kurvimetrima, altmetrima i sl. Savremena istraživanja vegetacije bazirana na florističkom principu danas su osavremenjena upotrebom snimanja iz vazduha (metoda pomoću dronova), te daljinskom detekcijom. Međutim, florističko znanje za potrebe ove metodologije ostaje veoma važan element u terenskom radu.

Rezultati ovih istraživanja su možda danas i najviše u upotrebi. S obzirom da je definsanje staništa jedino oslonjeno na vegetaciju, podaci fitocenoloških studija su danas osnova svake ekološke evaluacije prostora, procene promena lokalnog i globalnog karaktera i mnoge druge.

Uporedno morfološka istraživanja varijabilnosti habitusa biljaka se sprovode u svrhu sagledavanja širine fenotipske plastičnosti vrsta ili u cilju otkrivanja novih ili potvrđivanja skrivenih, te razgraničavanja poznatih taksona [25]. Ovaj tip botaničkih istraživanja podrazumeva obilazak velikog broja lokaliteta, sakupljanje velike količine materijala, njihovo pravilno pripremanje za obradu i transport do laboratorije gde se postupak nastavlja. Priprema rada i plan terenskih aktivnosti sprovodi se tokom vegetacijski neaktivnih meseci, da bi se sa pojavom vegetacije otpočelo sa terenskim radom. Nezgoda koji prati ova istraživanja jeste činjenica da se biljke za ovakav tip istraživanja moraju sakupljati u istoj fenofazi. To otežava, ili po nekada, onemogućava istraživača da u jednoj vegetacijskoj sezoni to i ostvari. Često se za te potrebe organizuju timovi koji simultano obilaze serije lokaliteta duže definisanog plana putovanja, prikupljaju materijal, adekvatno ga pripremaju i transportuju do laboratorija. Terenski rad koji podrazumeva odlazak na ciljani lokalitet kod istraživača ne bi trebao da se svede na puko sakupljanje

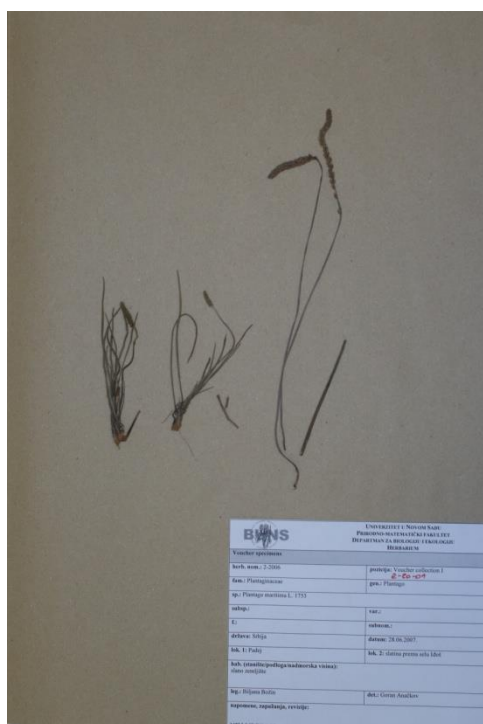
2. UZORKOVANJE BILJNOG MATERIJALA

samo primeraka određenog taksona. Negovanje tradicionalnog florističkog pristupa terenu, kod mladih botaničara je jedini garant, da će i naredne generacije, boravkom u prirodi i upoznavanjem velikog broja vrsta, uspeti da tokom svog rada na živim predstavnicima prepoznaju istraživačke izazove ili nerešene probleme koje su spoznali iz literature. Uzimanje ideja iz starih herbarskih listova, delimično i iz stare literature jeste pravo istraživačke zajednice da baštini kolekcije svojih prethodnika, međutim kao i u svemu, obaveza istraživača je da takvu mogućnost ostavi i generacijama koje dolaze. Preporuka, ali bolje rečeno, obaveza istraživača je da pored materijala sakupljenih na posećenim lokalitetima, prikupljaju i materijal za obogaćivanje matičnih herbarskih zbirki.

Po dolasku na lokalitet definisan planom terenskih istraživanja, istraživači treba pre svega da pronađu mikrostanište sa ciljanim taksonom. Nakon toga vrši se georeferenciranje i uzimanje osnovnih podataka o staništu. Za svaki tip istraživanja koji ima definisan svoj cilj formira se poseban protokol koji obuhvata spektar informacija neophodnih za normalan tok istraživačkog postupka. Međutim, nije na odmet zabeležiti i sva ostala zapažanja koja nisu predviđena protokolom. Uzimanje uzoraka podrazumeva prikupljanje kompletnih biljaka sa svim organima ili prikupljanje delova biljaka (samo cvetova, plodova i dr.) Prvi primerak koji se sakupi mora biti rezervisan za **primerak jemstva** (*voucher specimen*) (slika 16). Ovaj primerak podrazumeva da ga je pregledao neki taksonom, da je kolektovan u registrovanu naučnu herbarsku zbirku pod odgovarajućim brojem, te da služi za navođenje u naučnim publikacijama kao garant da je materijal taksonomski obrađen i da pripada ciljanom taksonu. Za postupak jemstvovanja (*guarantee procedure*) zadužen je kustos herbarijumske zbirke koji u odnosu na specijalnosti može zatražiti pomoć drugog taksonoma u potvrđivanju identiteta uzorka. Postupak se završava izdavanjem broja primerka jemstva (*issuing voucher numbers*). Nakon uzimanja primeraka jemstva, prelazi se na uzimanje uzorka. Neophodan broj za uobičajene statističke operacije jeste 30 primeraka po lokalitetu. Međutim, kako savremene statističke procedure (posebno multivarijantne), mogu da u svojim obradama tolerišu i manji broj uzoraka, ne sakuplja se po svaku cenu 30 primeraka, posebno ukoliko se radi o vrstama pod odgovarajućim režimom zaštite. Ukoliko nije moguće na jednom mikrolokalitetu pronaći dovoljan broj primeraka, podrazumeva se da u neposrednoj okolini postoje takođe jedinke i da se može sakupiti dovoljan uzorak. Na kraju uzorkovanja, uvek se ostavi prostor i za jedna do dva primerka za obogaćivanje matične herbarske kolekcije, nakon čega se sakuplja i floristički materijal sa posećenog lokaliteta. Uzorak se može obrađivati odmah, što znači da se svi primerci budu obeleženi OTJ – originalna taksonomska jedinica (*OUT-Original Taxonomycal Unit*) oznakama [25] (vidi dalje). Primerak jemstva i ostali floristički materijal stavlja se u terensku prozračnu presu, a primerci za dalja istraživanja se obrađuju shodno definisanom protokolu. Vrš se merenja, (morfološki kvantitativni morfometrijski karakteri), brojanja (morfološki kvantitativni meristički karakteri) ili opisivanja (morfološki kvalitativni karakteri). Nakon obavljene procedure svi OTJ primerci se herbarizuju sa originalnom postavljenim numerisanim etiketama. Češći je postupak, da se vrste herbarizuju, te se merenja, nakon

2. UZORKOVANJE BILJNOG MATERIJALA

rehidratacije, rade u laboratoriji ili se stavljaju u neki tečni konzervans kako bi se kasnije obrađivale. Najređi slučaj je da se odmah po uzorkovanju istraživači vraćaju u laboratoriju i tu vrše merenja. U ovoj fazi se, ukoliko to protokolom nije definisano, određuje i način merenja, na terenu ili preparirano. U svakom slučaju, jednom započet proces na jedan način mora da se uradi kod svih ostalih uzoraka identično. Na taj način eliminiše se greška koja je posledica različitog pristupa obradi materijala na različitim lokalitetima. Sa druge strane, kako su merenja, posebno određivanje kvalitativnih osobina sa velikom dozom subjektivnog pritiska, merenja i opisivanja tokom istraživanja mora da radi jedna osoba, kako bi se i ovaj momenat greške isključio.



Slika 16 Herbarski primerak jemstva *Voucher specimens* (Herbarijum BUNS Novi Sad)

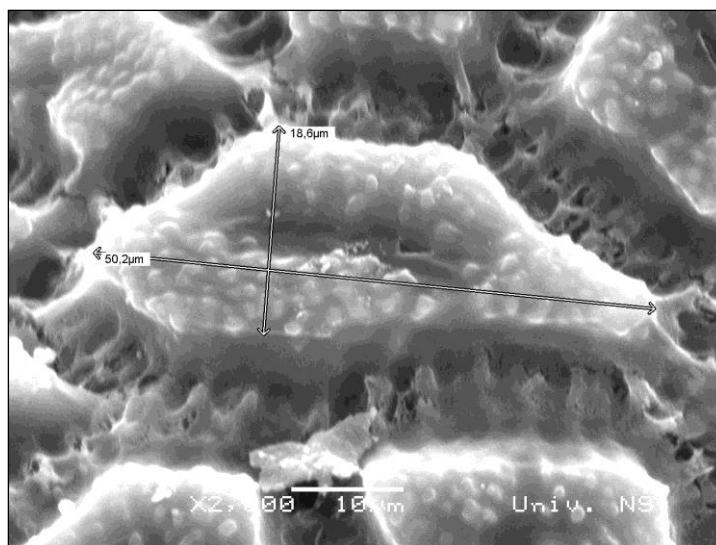
Prikupljeni primerci za ovakav tip istraživanja se prepariraju sa posebnom pažnjom, tako da svi delovi biljke moraju biti dostupni istraživaču za dalje analize. Rezultati ovih istraživanja se koriste pre svega, u taksonomskim analizama, razgraničavanju postojećih, otkrivanju novih taksona, kao i u analizama širine fenotipske plastičnosti, klinalne varijabilnosti i evolutivnim ekseperimentima. Takođe, dobijene vrednosti su uvek izuzetno korisne za proširivanje i dopunu postojećih dijagnoza taksona i za njihovu klasifikaciju. U fundamentalnom smislu ove analize doprinose proširivanju znanja o oblicima organa, promenama i tendencijama koje postoje kod pojedinih grupa nižeg ili višeg sistematskog ranga.

Ono što je specifičnost ovog tipa uzorkovanja, a vezano za plan istraživanja jeste pravilan raspored tačaka na karti distribucije taksona. Pored toga, neophodno je dobro poznavanje biologije istraživanog taksona. Izbegavati uzimanje primeraka u neposrednoj blizini

2. UZORKOVANJE BILJNOG MATERIJALA

posebno kod vrsta koje poseduju stolone (klonovi) ili imaju snažno razvijene modele vegetativnog razmnožavanja.

Uzimanje uzoraka za **mikromorfološka istraživanja**, se sa uzorkovanjem materijala za uporedno morfološka istraživanja, ili se na iste lokalitete po uzorke dolazi u drugoj vegetacionoj (fenološkoj) fazi biljaka. Jedno od najčešćih modela mikromorfoloških istraživanja jeste rad sa semenima kod skriveno i golosemenica, nešto ređe rad sa sporama kod sporonosnih vrsta. Uzorkovanje podrazumeva prepoznavanje semena ili spora u punoj zrelosti. Semena se uzimaju čista, bez ostataka okolnog tkiva, ili se uzorkuju plodovi, a ekstrakcija semena se vrši u laboratoriji. Semena se suše na otvorenom ili u eksikatorima, pakuju se i odlažu do nastavka postupka. Semena se najčešće istražuju morfološki što podrazumeva opisivanje spoljašnje ornamentike posmatranjem u nativnom stanju na uvećanjima ili njihovo snimanje na elektronskom mikroskopu. Daju se opisi spoljašnje morfologije, specifičnih struktura, veličine, boje i težine semena (pojedinačnog i mase 1000 semena), dok se kod snimanja površine na elektronskom mikroskopu, prvo rade tretmani pripreme semena za posmatranja pod izuzetnim uvećanjima u laboratoriji sa skenirajućim elektronskim mikroskopom (slika 17). Mikrografija semena je često specifična na nivou vrsta ili grupa vrsta, te se može koristiti i u uporednim morfološkim analizama, a isto tako i u filogenetskim studijama.

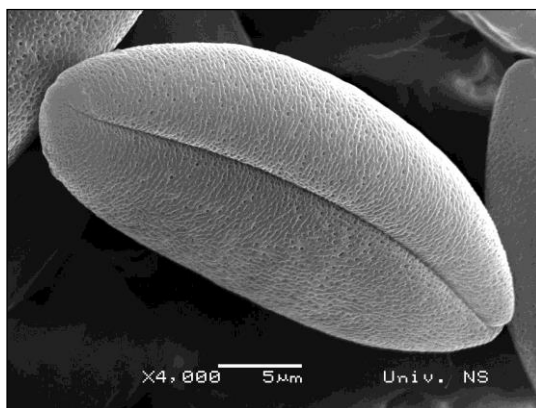


Slika 17 SEM (skenigelektronska) mikrografija semena sa postavljenim koordinatama merenja [1]

Često se i površina lista snima pod elektronskim mikroskopom, kako bi se analizirala morfologija i status voštane kutikule, te gustina i raspored stoma. Mogu se posmatrati listovi, nativno, svetlosnim mikroskopom najčešće uzimanjem otiska (metoda replikacije), ili pripremljeni odgovarajućom procedurom za potrebe skening elektronske mikroskopije. Mikromorfološka istraživanja kod biljaka često obuhvataju, slično semenima i mikromorfologiju polena. Ona se obrađuje na svetlosnom, transmissionom i skening

2. UZORKOVANJE BILJNOG MATERIJALA

elektronskom mikroskopu. Za ovakav tip analiza uzimaju se kompletne prašnice (antere) u fazi otvorenog cveta koje se mogu sušiti ili konzervirati u rastvoru omjera 40:40:20 (etilalkohol 96%: destilovana voda:glicerol 86% dehidratirani). Ono što u značajnoj mjeri olakšava prikupljanje uzoraka jeste što se prilikom sakupljanja biljaka u punoj fenofazi cvetanja može sakupiti izuzetna količina materijala. Na svetlosnom mikroskopu mogu se raditi kvantitativna i kvalitativna opisivanja polenovog zrna te postojanja pora i njihova pozicija. Poprečni preseki polenovih zrna vrše se ultramikrotomom i posmatraju na transmisionom elektronskom mikroskopu. Posebna pažnja se posvećuje unutrašnjoj strukturalnoj morfologiji intine, te veličini i rasporedu nabora (*crista*). Mikromorfologija polenovog zrna odražava specifičnosti koje mogu imati taksonomski značaj i važan su segment kompleksnijih filogenetskih analiza (slika 18). To se posebno odnosi na raspored brazda i strija i prisustvo/odsustvo peroracija perforacija.



Slika 18 SEM (skenielektronska) mikrografija polenovog [1]

Često se na terenu prikupljaju uzorci za **anatomska istraživanja**. Ovi uzorci moraju biti reprezentativni na način da u potpunosti mogu da omoguće pripremu anatomskih preparata. Mogu se uzorkovati kompletne biljke ili samo njihovi delovi. Uzorkovanje materijala za istraživanje anatomskih struktura i adaptacija se može vršiti uporedo sa prikupljanjem materijala za uporedno-morfološka i mikromorfološka istraživanja, ali i potpuno zasebno. Postupak je znatno jednostavniji ukoliko se vrši uporedo, s obzirom da su i primerci tada već u startu prošli odgovarajući taksonomski tretman i nema potrebe da nakon dolaska u laboratoriju odlaze na potvrdu taksonoma. Svi primerci moraju pre svega biti zdravi i bez oštećenja. Korenske strukture oprane vodom, pre nego što se uzorci postave u odgovarajući fiksativ. Fiksiranje materijala odmah na terenu se pokazalo kao naefikasniji model uzorkovanja jer se strukture ne menjaju ni najmanje. U suprotnom, intenzivnom dehidratacijom koja se dešava ukoliko se sakupljeni materijal transportuje do terenskog kampa ili laboratorije i onda (na primer na kraju terenskog dana) vrši fiksiranje materijala pojedine biljne strukture menjaju svoj izgled naglom dehidratacijom i postaju neupotrebljive za dalje procedure anatomskih istraživanja. Za fiksiranje treba upotrebljavati fiksative koji pre svega brzo i potpuno prodiru u tkiva, brzo ubijaju ćelije, čuvaju strukturu,

2. UZORKOVANJE BILJNOG MATERIJALA

ne izazivaju dodatne deformacije i ne izazivaju povećanje ili smanjenje zapremine organa u odnosu na prirodne veličine [27]. Potapanje materijala u fiksativ podrazumeva da fiksativ potpuno prekriva tkivo. Nakon 30 do 60 minuta ispiranje destilovanom vodom omogućava pakovanje uzoraka u posude u kome će se transportovati do laboratorije na dalje analize (slika 19). Za to su najpogodniji sledeći omeri rastvora:

1:1 (etanol 96% : voda)
3:2:1 (etanol 96% : voda% : glycerol 86% dehidratirani)
1:1 (etanol 96% : glycerol 86% dehidratirani).



Slika 19 Posude sa materijalom za anatomske analize (BUNS)

Sakupljena semena za potrebe mikromorfoloških analiza mogu se koristiti i za neke od naprednijih analiza, na primer **genetička ili citogenetička istraživanja**. Sadržaj proteina u semenima se često upotrebljava za analize proteinskih markera koji mogu poslužiti za određivanje srodničkih odnosa kod nekih taksona. Ova istraživanja su poslednjih decenija potpuno zapostavljena iako su u 70-tim godinama XX veka bila izuzetno popularana i često korišćena. Danas su ih zamenila istraživanja molekularnih markera koja daju mnogo preciznije informacije. Međutim, iako stara metodološki (od sredine 30-tih godina XX veka) **citogenetička istraživanja**¹ u botanici su i danas nezaobilazan deo, posebno taksonomskih studija. Dobijeni rezultati metafaznih hromozoma, određivanje njihovog broja i morfologije (slika 20) i izrada idiograma (slika 21) su danas nezaobilazni citotaksonomski podaci, posebno prilikom opisivanja taksona. Posmatranje i analiziranje hromozoma kod biljaka je postupak koji uključuje nekoliko tehničkih koraka, kojima prethodi uzorkovanje, odnosno sakupljanje materijala koji će potom biti analiziran. Zbog velikog broja ponavljanja tokom rada, biljni materijal koji se analizira mora biti sakupljen u odgovarajućoj količini i održavan (gajen) tokom eksperimentalnog perioda. Ukoliko se

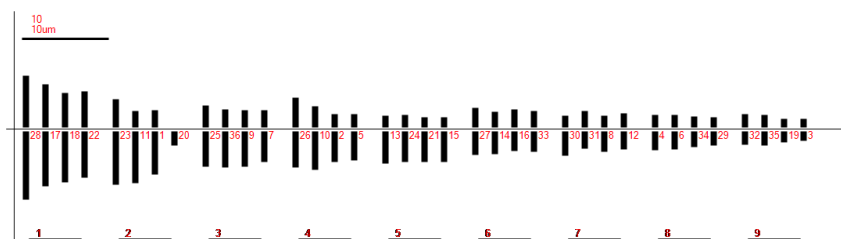
¹ Deo teksta o citogenetičkim istraživanjima pripremila naučni saradnik i kustos Herbarijuma BUNS Univerziteta u Novom Sadu, dr Milica Rat.

2. UZORKOVANJE BILJNOG MATERIJALA

istražuje materijal poreklom iz prirode preporuka je da se do deset jedinki (zavisno od brojnosti) sakupi i gaji u polukontrolisanim uslovima botaničke bašte. Proces održavanja biljnog materijala podrazumeva uzgoj biljke u saksiji, po principu jedna jedinka jedna saksija. Svaka saksija/posuda mora da bude obeležena, a od podataka su neophodni: redni broj, naziv vrste (ili oznaka), lokalitet i datum sakupljanja. Ukoliko se analize vrše naklijavanjem semena, neophodno je semena čuvati u odgovarajućim uslovima, kako bi se održala vijabilnost semena. Osim toga, u ovom slučaju je neophodno pripremiti, tj. naklijati dovoljan broj semena, kako bi se kod deset primeraka razvili korenčići neophodni za analizu. U ovom slučaju obezbediti separatno čuvanje semena, odnosno da semena jedinki budu razdvojena kako bi odgovarajući broj jedinki bio analiziran. Za posmatranje hromozoma u mejozi uzorkuju se mladi cvetovi, tj. pupoljci čiji su plodnici u ranoj fazi razvoja. U ovom slučaju nije neophodno materijal uzgajati u kontrolisanim uslovima, već se na terenu pristupa postupku fiksiranja materijala. Postupak podrazumeva da se pupoljci jedne jedinke isitne i smeste u odgovarajuće bočice i fiksiraju standardnom tehnikom (dalje u tekstu opisano). Uzimajući u obzir nemogućnost jasne predikcije krajnjeg rezultata preporuka je da biljni materijal imate i u rezervi, kako bi se postupak ponovio. Hromozomi biljaka se najčešće posmatraju u ćelijama vrha korenčića koji se dobijaju bilo iz gajene biljke bilo iz semenskog materijala. Za pravilnu organizaciju eksperimenta neophodno je isplanirati vreme potrebno za ovu fazu, koja podrazumeva tri do deset dana naklijavanja materijala, zavisno od biljne vrste.



Slika 20 Hromozomi jedne ćelije, u metafazi mitoze.



Slika 21 Prikaz analize hromozoma – idiogram; (poređani po morfološkom tipu i veličini)

Počevši od 80-tih godina XX veka, **molekularna istraživanja** se intenzivno upotrebljavaju u botaničkim istraživanjima, u cilju sticanja novih saznanja neophodnih za preciznije definisanje pojedinih taksonomskih relacija. Međutim, uloga i pravi značaj molekularnih

2. UZORKOVANJE BILJNOG MATERIJALA

istraživanja je prvenstveno u rasvetljavanju filogenetskih odnosa na svim taksonomskim nivoima. Iz tih razloga su i klasične sistematike i pristupi klasifikaciji preživeli značajne revizije, nakon objavljivanja prvih rezultata molekularnih istraživanja. U većini slučajeva rezultati molekularnih istraživanja potvrdili su dotadašnja znanja o filogenetskim relacijama pojedinih, posebno monofiletskih grupa. Međutim, u situaciji polifiletskog porekla u velikom broju slučajeva, rezultati molekularne sistematike u značajno su promenili stavove i doprineli reviziji statusa pojedinih grupa i filogenetskih odnosa među njima. U botanici se koriste tri tipa biljnih genoma: mitohondrijalni, hloroplastni i jedarni genom sa manje ili više uspeha. Uzorci za taksonomske filogenetske i filogeografske molekularne analize se sakupljaju na isti način. U ovom slučaju posebna pažnja se obraća na udaljenost jedinki sa kojih se uzimaju uzorci - delovi biljaka (list, cvet, deo izdanka), te na međusobnu geografsku udaljenost lokaliteta. Kod filogenetskih analiza dodatnu pažnju treba posvetiti srodnim grupama i uzorcima pokriti što veći prostor na kome je razvijena i morfološka varijabilnost. U filogeografskim molekularnim analizama obavezno je sakupiti uzorke sa ivica areala, kontaktnih zona te različitih tipova staništa u geografskom horizontalnom i vertikalnom gradijentu. Uzorci biljaka pakuju se u zasebne (najbolje zip) kesice sa silika-gelom koji zahvaljujući brzom dehidraciji inaktivira enzimi set koji bi pokrenuo fragmentaciju DNK (Slika 20). Količina silika-gela u svakoj kesici je po potrebi, a u zavisnosti od karaktera samog uzorka, odnosno od količine vode koja se nalazi u delovima biljnog tkiva. Silika-gel se mora redovno menjati, posebno ako se radi o sočnom materijalu ili ako terenske aktivnosti dugo traju. Tako osušeni uzorci se čuvaju na sobnoj temperature, u mraku, bez vlage. Ukoliko se ispoštuju ovi uslovi i povremeno menja silika-gel mogu se čuvati i do nekoliko godina bez straha od negativnih efekata na DNK. Postoji i metod prikupljanja materijala u filter kesice sa silika-gelom koje se onda stavljaju u jednu zajedničku u kojoj se takođe nalazi silika-gel. Ukoliko ne želimo da materijal konzerviramo u silika-gelu, može se pakovati u zip kesice i nekoliko dana u terenskom frižideru čuvati na temperature 70 do 11°C do transporta u laboratoriju gde bi se morao odmah obraditi. Po dolasku u laboratoriju ovi uzorci se prepakiraju u aluminijumsku foliju uredno obeležavaju i čuvaju u zamrzivaču na -20°C. Za duže vreme uzorci se prebacuju u zamrzivač na -80°C [31].



2. UZORKOVANJE BILNOG MATERIJALA

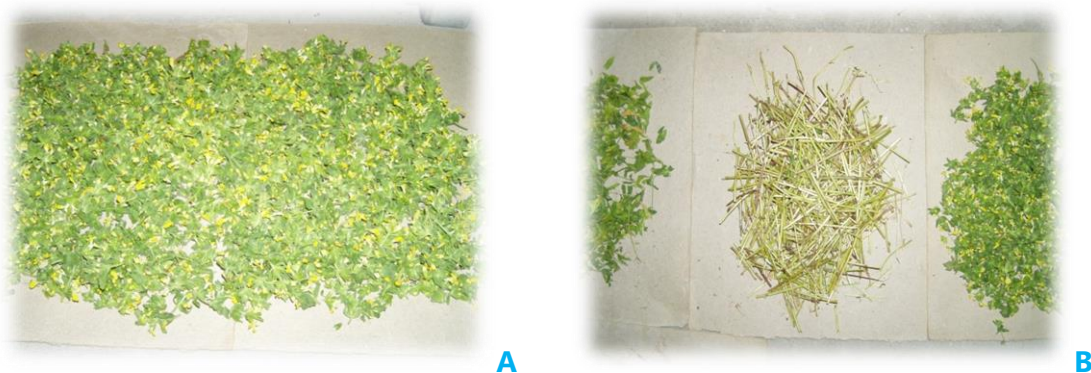
Slika 20 Pakovanje materijala za molekularne analize u filter vrećice sa silika gelom

U pripremama za sakupljanje materijala za **fitohemijska istraživanja** posebnu pažnju treba obratiti na nekoliko važnih momenata. Pre svega prikupljanje materijala za ova istraživanja bi najbolje bilo da vrši botaničar, te da ukoliko se radi o taksonima sa bliskim srođnicima koji se teško fenotipski razlikuju može pravilno da prepozna ciljani takson. Takođe, kako se radi o većim količinama materijala pravna regulativa je zahtevnija. Posebno, ukoliko se sakupljaju biljke specifičnih areala (endemiti, uzorak retkih biljaka i sl.). Svakako da, kako god, sakupljen materijal se mora proveriti u taksonomskoj laboratoriji i dobiti potvrda o taksonomskoj pripadnosti materijala. Kod prikupljanja materijala za ovakav tip istraživanja, plan istraživanja treba posebno pripremiti kada se radi o ekološkim karakteristikama staništa, odgovarajućoj fenofazi, jer mnogi od ovih parametara utiču na koncentracije i time količinu ili uopšte detekciju pojedinih produkata metabolizma koji su najčešće ciljane jedinjenja. Takođe prilikom prikupljanja materijala za fitohemijska istraživanja obavezno je pregledati prikupljeni materijal da nije kontaminiran biljnim vašima, gljivicama ili na bilo koji drugi način i isto tako da ne postoje sasušeni delovi koji su rezultat nekih oboljenja, nedostatka nekog od mikro ili makroelemenata i slično. Terenski rad za potrebe ovih istraživanja je često opterećen količinom potrebnog materijala. Za pojedine tipove fitohemijskih analiza dovoljna je veoma mala količina materijala, dok ukoliko je potrebno pripremiti veće količine ekstrakata za dalja ispitivanja (posebno potencijala vrste kao resursa) neophodno je prikupiti i zavidnu količinu materijala (slika 21). Po nekada se za potrebe analiz amaterijal usitnjava na samom terenu i to kompletna biljka (slika 22A) ili razdvojeno po organima (slika 22B).



Slika 21 Prikupljanje materijala za fitohemijske analize, razdvajanje po vrstama

2. UZORKOVANJE BILJNOG MATERIJALA



Slika 22 Prikupljanje materijala za fitohemijske analize, usitnjavanje:
A kompletna biljka, **B** po organima

Pojedini autori smatraju da je za fitohemijska istraživanja pogodniji svež biljni materijal, međutim u najvećem broju slučajeva upotrebljava se sušeni. Adekvatna procedura podrazumeva mesto sušenja bez direktnog uticaja sunčeve svetlosti, i temperature do 30°C, te sa obaveznim strujanjem vazduha. Sasušeni materijal pakuje se u platnene ili papirne vreće koje su porozne. Na taj način spakovan i uredno obeležen, ostavlja se u mračne prostorije sa konstantom temperaturom, vlagom i dovoljnom količinom svežeg vazduha do upotrebe u daljim istraživačkim postupcima. Takođe, prostorija u kojoj se materijal čuva, mora da bude pripremljena za ovakva skladištenja i da ne postoji mogućnost kontaminacije usitnjenog ili sasušenog materijala gljivicama, insektima i njihovim larvama itd [10].

Kod svih navedenih tipova istraživanja legator (sakupljač) materijala mora strogo da vodi računa o etiketiranju materijala. Prilikom svakog boravka na terenu, treba u prirodi prikupiti što više podataka o samom lokalitetu i staništu na kome se materijal sakuplja (slika 19). Svi ti podaci mogu da budu od velike koristi prilikom analiza rezultata dobijenih daljim istraživanjima, ili se i sami unose u dalje analize kao parametri ili varijable. Prikazan je jedan tip formulara za evidentiranje podataka o staništu prilikom sakupljanja semena [slika 29], međutim ovakav, ili sličan oblik formulara se može koristiti za sve tipove botaničkog uzorkovanja.

2. UZORKOVANJE BILJNOG MATERIJALA

OBRAZAC ZA POPUNJAVANJE PODATAKA (Primer)

Kolektorski broj	<input type="text"/>	Datum	<input type="text"/>
Podaci o vrsti			
Naziv vrste	<input type="text"/>	Familija	<input type="text"/>
Podvrsta	<input type="text"/>	Narodni naziv	<input type="text"/>
Broj uzorkovanih biljaka	<input type="text"/>	Brojnost populacije	<input type="text"/>
Podaci o semenu (zaokruži)			
Sezona sakupljanja	a) proleće	b) leto	c) jesen
Semena sakupljana sa	a) biljke	b) zemljišta	c) oba
Stanje semena	a) vlažna	b) suva	d) drugo
Podaci o učesnicima			
Kolektor(i)	<input type="text"/>		
Institucija	<input type="text"/>		
Verifikator	<input type="text"/>		
Institucija	<input type="text"/>		
Podaci o lokalitetu			
Država	<input type="text"/>	Region	<input type="text"/>
Lokalitet	<input type="text"/>	Uži lokalitet	<input type="text"/>
Geografska širina	<input type="text"/>	Geografska dužina	<input type="text"/>
Nadmorska visina	<input type="text"/> m		
Podaci o staništu			
EUNIS kod	<input type="text"/>	CLC kod	<input type="text"/>
Tip staništa	<input type="text"/>		
Tip vegetacije	<input type="text"/>		
Edifikatorske vrste	<input type="text"/>		
Tip zemljišta	<input type="text"/>	pH zemljišta	<input type="text"/>
Boja zemljišta	<input type="text"/>	Tekstura zemljišta	<input type="text"/>
Nagib terena (°)	<input type="text"/>	Geološki sastav	<input type="text"/>

Slika 23 Primer formulara za uzimanje podataka sa lokaliteta i staništa na kojima se sakuplja materijal za specifične tipove botaničkih istraživanja

3. DETERMINACIJA BILJNOG MATERIJALA

Od vremena prepoznavanja botanike kao naučne discipline, kao i mnogo pre toga, još u starijim ljudskim civilizacijama, identifikacija biljaka je bila veština od posebnog značaja. Ona je bila opšte prisutna u ljudskoj civilizaciji, međutim, uvek su se i izdvajali ljudi koji su malo bolje poznavali biljke i znali njihova imena, mesto gde one rastu, kada cvetaju i za šta služe. Od tradicionalne veštine koja se prenosila sa kolena na koleno i generacijama negovala i unapređivala izrasla je botanička disciplina koja se zove identifikacija ili determinacija biljaka. Povezivanje biljke iz prirode, primerka ili eksikata iz kolekcije sa njegovim imenom (naučno ime *nomina latina*), naziva se identifikacija ili determinacija (određivanje). Determinacija ne podrazumeva samo određivanje imena vrste, iako se na to najčešće misli. Isto tako, ona se odnosi i na sve druge taksonomske nivoe (rodove, porodice i dr.), koje se gotovo uvek na indirektan ili spontan način realizuju tokom determinacije vrste. Ova, tradicionalna botanička disciplina je osnova svake druge istraživačke delatnosti, od klasične floristike i fitocenologije do modernih molekularnih, genetičkih i fitohemijskih studija. Pogrešno određen takson koji predstavlja objekat istraživanja izaziva čitav niz negativnih rezultata i pogrešnu primenu. Kako bi ovaj prvi korak u botaničkoj nauci bio valjan, determinator, identifikator ili tačnije taksonom, mora pre svega postupku prići krajnje objektivno i bez ikakve želje da vidi neki takson. Naprotiv, treba da u potpunosti isključi svoju subjektivnost i realno posmatra one osobine koje su važne u determinaciji. Osobine koje opisuju neki takson i značajne su za njegovo razlikovanje od drugih, nazivaju se dijagnostičkim osobinama, a sveukupnost tih osobina, upotpunjena varijabilnošću koja odlikuje biljke kao organizme, predstavlja dijagnozu taksona. Varijabilnost osobina kod biljaka se, pre svega, odnosi na kvantitativne parametre. Isto tako, možda i veću šarolikost u intenzitetu ispoljavanja osobine, mogu da pokažu kvalitativni (opisni) karakteri. Veština uspešne determinacije bazirana je pre svega na dobrom poznavanju mnogih osobina i širokom spektru variranja oblika, s obzirom da dva primerka nikada u potpunosti ne liče jedan na drugog. Takva veština se stiče samo iskustvom rada sa biljkama. Nekada je i na osnovu nekompletno sakupljenog materijala moguće dobro determinisati biljku, međutim, podrazumeva se da je rad na određivanju vrsta jednostavniji kada je materijal kompletan, a da determinator poznaje mnoge tehnike koje doprinose uspešnom radu, dobro poznaje literaturu i pre svega ima iskustvo u radu sa biljkama. Rad na determinaciji ne bi smeo biti opterećen vremenom jer se pre svega od osobe koja radi na određivanju vrsta zaheva da svoj posao obavlja temeljno, da dobro prouči pitanja u ključevima za determinaciju i bude spremna da više puta ponovi postupak determinacije ukoliko nije u potpunosti sigurna u dobijeni rezultat.

3.1 Ključevi za determinaciju biljaka

Ključevi za determinaciju biljaka su poseban tip botaničke literature. Mogu biti nezavisne publikacije ili deo kompleksnijih botaničkih dela kao što su regionalne ili nacionalne Flore. Međutim, posebno su važni oni ključevi za grupe koje su poznate kao teške za determinaciju (*crux botanicorum*), te su ih autori, eksperti za pojedine rodove monografski pripremili. Sistem upotrebe ključa je po modelu pitanja i odgovora. Odnosno, sistemom tvrdnji koje su tačne ili netačne za primerak koji se determiniše ključ omogućava određivanje primerka [16]. Koristeći elemente iz dijagnoza biljaka koje su uključene u tzv. determinacioni niz, uobičajeno je da se prvo razdvajaju krupniji taksonomski nivoi (porodice), a potom rodovi, pa vrste. Kako je sistem definisan tako, da pomoću dva pitanja vrši selekciju odabirom jednog, ključ se naziva dihotoim. Dihotomi ključevi mogu biti tekstualni ili ilustrirani. Ilustrovani ključevi pored opisa sadrže i male ilustracije pored teksta (slika 24), što mnogome olakšava odabir ispravnog odgovora. Pored ovakvih modela postoje i posebno pripremljene i štampane publikacije sa ilustracijama vrsta i istaknutim detaljima važnim za određivanje vrsta. Takve publikacije se nazivaju ikonografije (slika 25), i imaju značajnu ulogu prilikom potvrde determinisanog materijala.



Slika 24 Primer ilustriranog ključa za determinaciju [17]

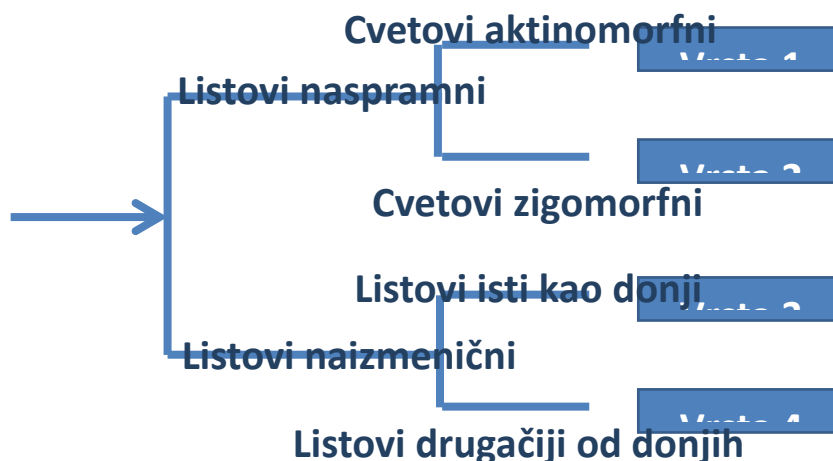
3. DETERMINACIJA BILNOG MATERIJALA



Slika 25 Primer ikonografije [12]

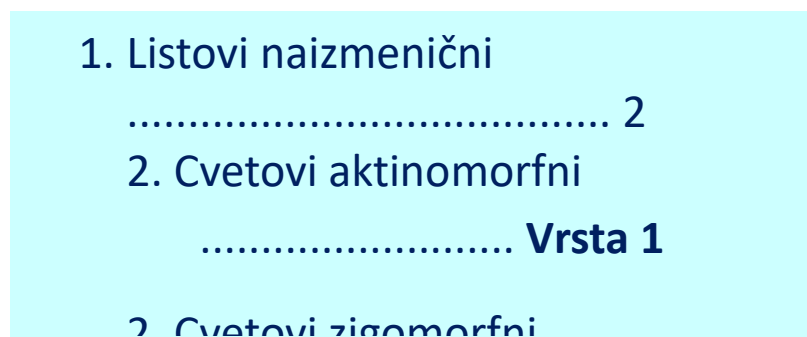
Dihotomi tekstualni ključ nema organizovani raspored vrsta koje se u njemu nalaze po nekom redu (filogenetskom, sistematskom), osim ukoliko nije definisan i odabirom viših taksonomskih podkategorija (tipa sekcije). I tada, niti raspored sekcija niti raspored vrsta unutar njih ne odražava realnu filogenetsku sliku i relacije tih taksona. Tekst sastavljen od dijagnostičkih osobina organizovan je u obliku teze i antiteze, odnosno postavlja pred čitaoca mogućnost odabira jedne opcije. Teze i antiteze koriste osobine biljaka ili karaktere koji se mogu javiti u jednom ili više stanja. Na primer boja cveta je osobina (karakter), a može biti žuta ili bledo žuta, što su stanja nekog karaktera. Na bazi postavljenih pitanja vrši se konstrukcija dihotomije i odabirom jedne od ponuđenih opcija, istraživač dolazi do narednog pitanja ili do imena vrste. Na primeru (slika 26) prikazana je dihotomija koja je bazirana stanjima koja se nalaze na dva biljna organa, koriste se tri osobine (karaktera), koji se javljaju u šest stanja. Organi koji se koriste su listovi i cvet. Osobine ili karakteri su: raspored i oblik listova na stablu i rozeti (kod listova) i simetrija krunice (kod cveta). Sve opcije koje se nude, listovi naspramni, listovi naizmenični, i dr. su stanja upotrebljenih karaktera. Pitanja koja se postavljaju na osnovu ovakve konstrukcije su: raspored listova je naspraman (teza) ili raspored listova je naizmeničan (antiteza) itd.

3. DETERMINACIJA BILJNOG MATERIJALA

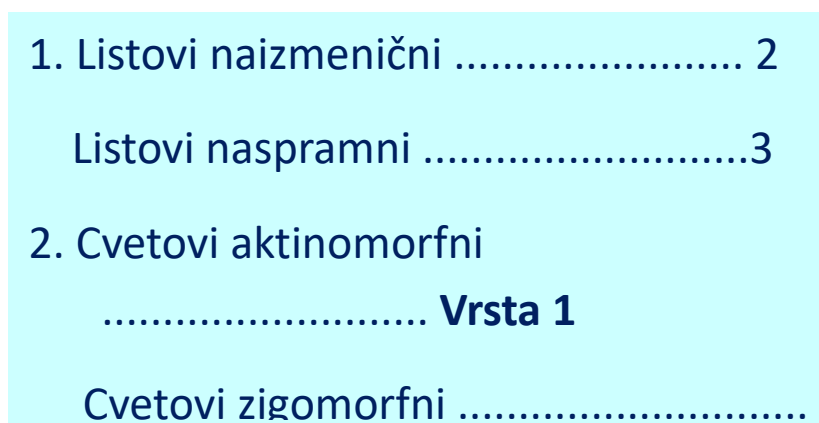


Slika 26 Šema konstrukcije ključa [16,prerađeno]

U zavisnosti od načina postavljanja teze i antiteze, ključevi za determinaciju se dele na usmerene i paralelne. Kod usmerenih ključeva teza i antiteza ne stoje jedna pored druge u delu ključa koji razdvaja grupe taksona. Jedna pored druge se teza i antiteza nalaze jedino kada se njihovim odabirom dobija ime vrste (slika 27). Primer takvog ključa je čest i nalazi se u poznatoj ediciji Flora Evrope [26] (slika 28). Paralelni dihotomi ključ postavlja tezu i antitezu isključivo jednu pored druge (slika 29). Primer takvog ključ je u izdanju Flora Srbije [24] (slika 30).

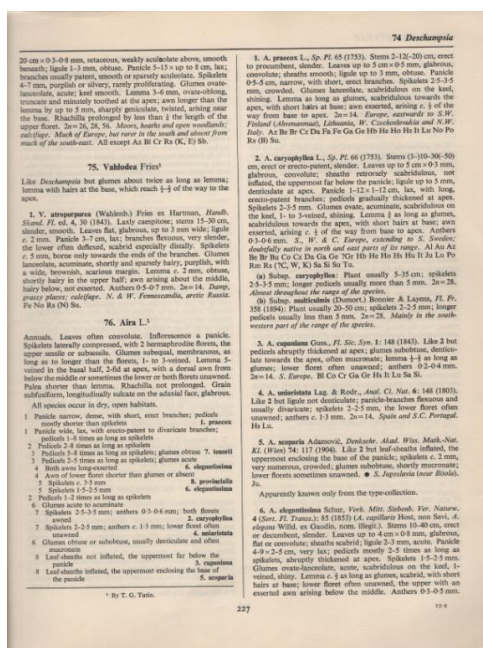


Slika 27 Šema usmerenog dihotomog ključa [16]

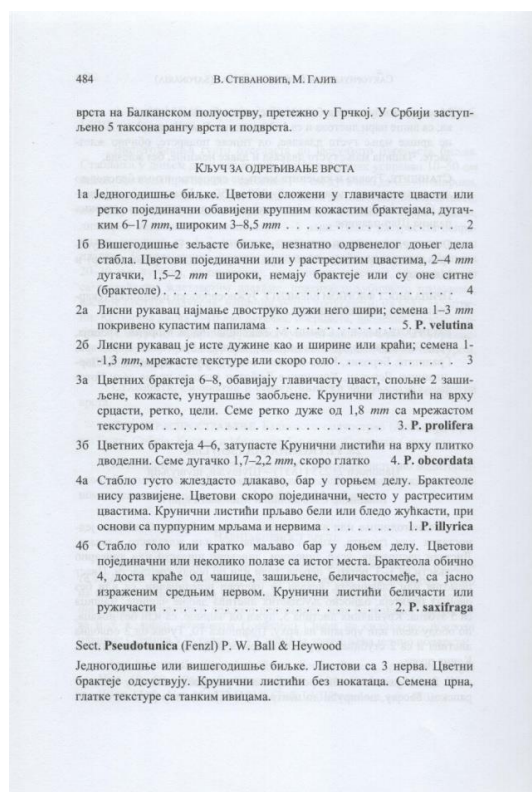


3. DETERMINACIJA BILJNOG MATERIJALA

Slika 28 Šema paralelnog dihotomog ključa [16]



Slika 29 Usmereni dihotomi ključ Flore Evrope [26]

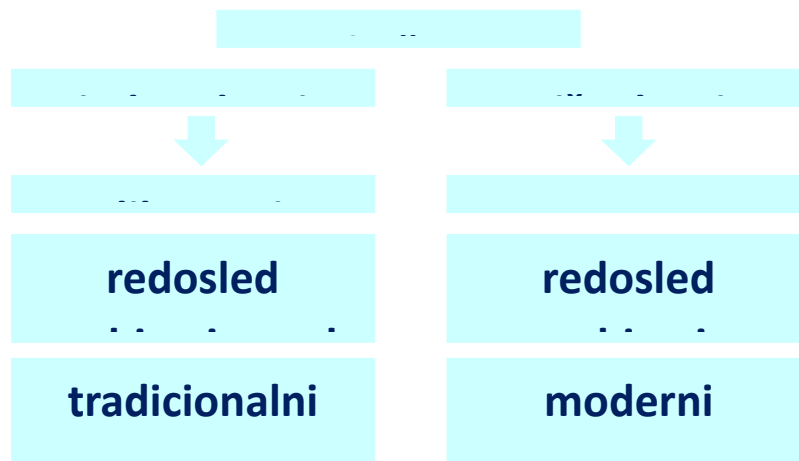


Slika 30 Paralelni dihotomi ključ Flore Srbije [24]

Ukoliko postupak detreminacije započinjemo sa jednom, striktno definisanom osobinom ili osobinama, odnosno determinacija se započinje na odgovarajućim mestima. Ukoliko prepoznajemo porodicu, krećemo sa determinacijom roda, a ukoliko poznajemo i rod,

3. DETERMINACIJA BILJNOG MATERIJALA

onda determinacija kreće na poziciji razdvajanja prvih vrsta. Takav ključ se naziva jednoulazni jer je broj ulaza ograničen. Ovakvu strukturu imaju tradicionalni ključevi, nasuprot savremenijem modelu višeulaznih ključeva. Kod višeulaznih ključeva odabir osobina koje će se posmatrati vrši sam determinator. Evidentirajući setove osobina, uključuje se i sistem eliminacije, s tim što redosled karaktera nije unapred definisan (slika 31). Ovakav sistem je moguće koristiti samo uz pomoć računara, te je još uvek slabo u upotrebi.



Slika 31 Šema funkcionisanja jednoulaznih i višeulaznih ključeva

Ukoliko ključevi nude kratku informaciju koja se odnosi na jedan ili više karaktera, oni se nazivaju nedijagnostički. Mogu biti nejadignostički monokarakterni ili nedijagnostički višekarakterni (slika 32). Ovakvi ključevi se koriste prvenstveno kod definisanja krupnijih taksona.

Nedijagnostički, monokarakterni

Nedijagnostički, višekarakterni

Slika 32 Primeri nedijagnostičkih ključeva

Ukoliko se u ključevima koriste setovi podataka koji obuhvataju više organa, na njima više karaktera koji se javljaju u različitim stanjima, takve ključeve nazivamo dijagnostičkim (slika 33). Kod ključeva koji dovode do determinacije vrsta česta je upotreba ovakvih ključeva. Dijagnostički ključevi su uglavnom linearni i prate jedan sled informacija, međutim mogu se razlikovati u modelu da li ili ne, informacije idu paralelno. Tačnije, model dijagnostičkog harmonijskog ključa podrazumeva da se u tezi i antitezi javljaju uporedna suprotna stanja posmatranih karaktera. Oni ne moraju biti u potpunosti u suprotnosti. Na primer mogu pojedine informacije biti i identične, međutim bar u jednoj, se teza i antiteza moraju razlikovati. Ukoliko rod ima više vrsta, koristi se upravo ovaj model dijagnostičkog

3. DETERMINACIJA BILJNOG MATERIJALA

harmonijskog ključa. U slučaju da se u ključu nalazi jedna vrsta koja u mnogome odudara svojim osobinama od drugih, koristi se neharmonijski oblik ključa. U ovom slučaju ne moraju se poklapati ni osobine sa istih organa, ali ih ima dovoljno da se opišu karakteristike vrste (slika 33).

Dijagnostički, linearno-harmonijski

1. Drvenaste biljke, cvetovi zigomorfni, listovi neparno perasto složeni, zalisci često

Dijagnostički, linearno-neharmonijski

1. Drvenaste biljke, cvetovi zigomorfni, listovi neparno perasto složeni, zalisci često

Slika 33 Primeri dijagnostičkih ključeva

S obzirom da ključevi ne moraju da budu konstruisani redosledom vrsta na osnovama filogenetske sličnosti (i obično nisu), mogu se koristiti i drugi alati i tehnike za konstruisanje ključeva. Jedan od modela je raspored morfološki sličnih taksona u grupe (*Clavis grexiorum*). Ovakav model se koristi za efikasniju determinaciju porodica (*Clavis familiarum*). Ovaj model ne isključuje da se ista porodica ne sme naći u više grupa. Naprotiv, to se često i dešava. Primer ovakvog ključa je veoma pogodan za uvežbavanje procesa determinacije, te se kod ovakvih ključeva koristi isključivo model nedijagnostičkih harmonijskih ključeva. Dalje se nalazi tekst klasifikacije grupa u klasi monokotila [4]:

Ključ za određivanje grupa

(*Clavis grexiorum*)

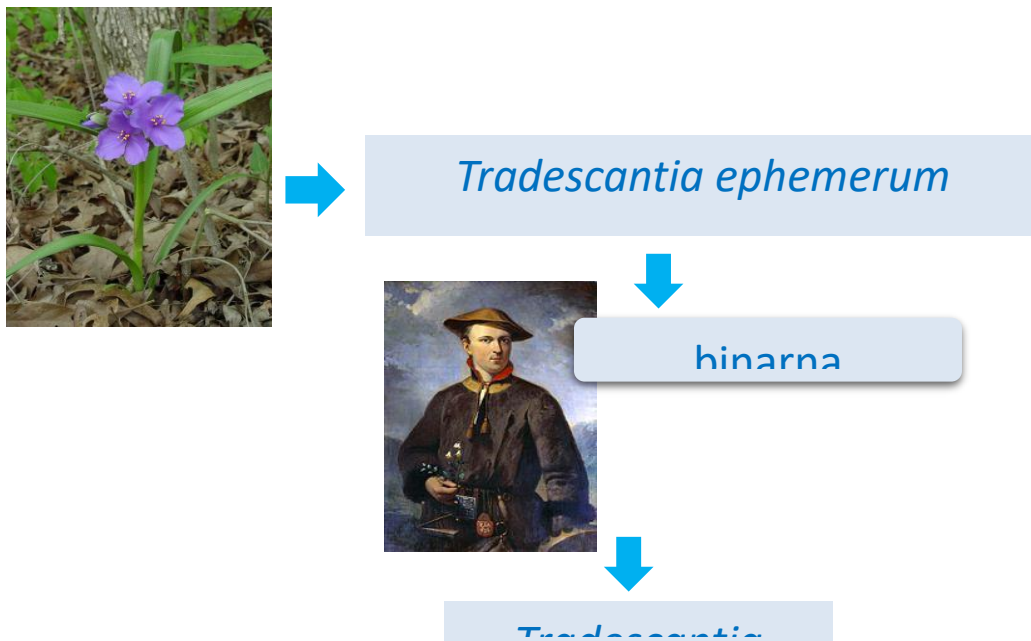
1a	Zeljaste, jedno-, dvo- ili višegodišnje biljke	5
1b	Drveta, žbunovi ili lijane (puzavice)	2
2a	Lijane (puzavice)	grupa D str. 49
2b	Drveta ili žbunovi	3
3a	Listovi su prosti	4
3b	Listovi su složeni	grupa C str. 48
4a	Obod lista je ceo	grupa A str. 46
4b	Obod lista je testerast, nazubljen ili režnjeviti	grupa B str. 47
5a	Vodene biljke, ili parazitske biljke bez hlorofila	grupa E str. 68
5b	Kopnene biljke sa hlorofilom	6
6a	Listovi su raspoređeni naspramno, pršljenasto ili su u prizemnoj rozeti	grupa F str. 70
6b	Listovi su raspoređeni naizmenično	7

3. DETERMINACIJA BILJNOG MATERIJALA

7a	Biljke bez cvetnog omotača. Ako je cvetni omotač razvijen krunica je bleđa (bela ili žuto-zelena), sastoji se od sitnih listića. Plod je orašica.	grupa G str. 47
7b	Biljke sa cvetnim omotačem. Krunica je živo obojena, sastoji se od krupnijih listića, ako su oni sitni, plod je ljuska ili ljuščica.	8
8a	Krunični listići su srasli	grupa H str. 72
8b	Krunični listići su slobodni	grupa J str. 73

4. NOMENKLATURA KOD BILJAKA

U tradiciji ljudske civilizacije je i davanje imena biljkama. Kroz istoriju, život sa biljkama i oko njih, upotreba biljaka u svakodnevnom životu, nagonila je ljude da isprva spontano, a kasnije i smisleno počinju da daju imena biljkama. Korišteni su motive iz svakodnevnog života ili jezičke kovanice od reči koje oslikavaju upotrebu biljke. Po nekada, postepeno, su u rečnik imena biljaka ulazili i motivi običajnih pa i magijskih rituala, ili njihova lekovitost, vidarske ili isceliteljske osobine i dr. Ta uobičajena ili narodna imena (ponegde se ona nazivaju i upotrebna imena) su razvojem botanike kao naučne discipline morala biti ujednačena, jer se i danas imena mnogih vrsta u narodu razlikuju i to od naselja do naselja, a posebno u različitim nacijama, religijama, kulturama na udaljenim prostorima. Upotreba latinskih imena biljaka ustalila se sa razvojem nauke kod starih civilizacija, a kasnije u Evropi, širokom upotrebom latinskog jezika na Univerzitetima. Međutim, i tada usled zatvorenosti naučnih krugova, a i usled nedostatka efikasne komunikacije koju danas poznajemo, opisivanje biljaka je za posledicu imalo davanje različitih imena istim vrstama. Ovaj problem je bio problem vekova, trajao je do pojave masovne komunikacije – interneta, pa i dalje. Međutim, još pre toga, uvidevši nemogućnost rada sa biljkama i otežanu klasifikaciju, nekadašnja latinska imena su ustrojena tzv. Binarnom (binominalnom) nomenklaturom koju je definisao Karl Line (Carl von Linné). Do tada ime biljke na latinskom je u stvari, bio deo njene dijagnoze i sadržao je gotovo čitave rečenice. Primer koji očitno prikazuje koliki je značaj uvođenja binarne nomenklature (slika 34) dat je za vrstu *Tradescantia virginiana*.

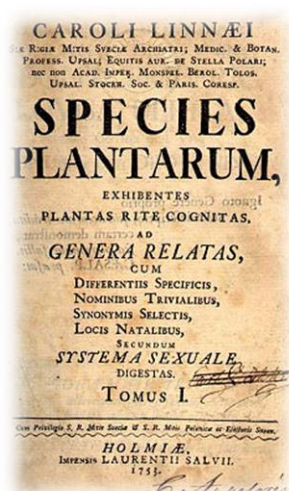


Slika 34 Značaj binarne nomenklature Karla Linea, transformacija imena od polinominalnog do binominalnog (binarnog)

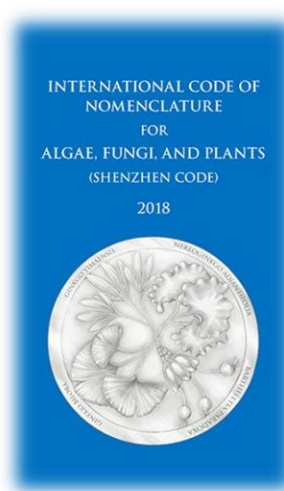
Počevši od izdavanja Lineove *Species Plantarum* 1753. godine, počelo je i definisano upotrebljavanje latinskih imena biljaka u nauci prvenstveno, a i u drugim praktičnijim

4. NOMENKLATURA KOD BILJAKA

disciplinama. Objavljivanje ove publikacije, u neku ruku predstavlja i početak primene pravila u botanici, koja se odnose na dodelu imena biljkama. Tradicija bazirana na Lineovoj zaostavštini, prerasla je kasnije u Međunarodni botanički Kodeks ili danas u Kodeks nomenklature algi, gljiva i biljaka. Danas, kriterijumi za dodelu imena biljaka su definisani Kodeksom nomenklature algi gljiva i biljaka putem njegovih načela, pravila i preporuka. Kodeks se donosi na svakom Svetskom botaničkom kongresu i dobija ime po gradu u kome se kongres održao. Poslednji i trenutno aktuelni Kodeks je publikovan 2018., nakon Svetskog botaničkog kongresa održanog u kineskom gradu Šenžen, te je i kodeks tako dobio ime *Shenzhen Code* (slika 35) i naziva se međunarodni kodeks nomenklature algi gljiva i biljaka – *International Code of nomenclature for Algae, Fungi and Plants – ICN*.



A



B

Slika 35 Pravila nomenklature biljaka:

A Lineovo delo *Species Plantarum* iz 1753 godine i **B** ICN objavljen 2018. godine

Osnovni pojam u Kodeksu je takson – taksonomski definisna grupa organizama (na primer biljaka) bilo kog nivoa (klasa, porodica, rod, vrsta,...). Uloga Kodeksa je pre svega, da definiše pravila imenovanja biljaka koje se opisuju po prvi put kao i da definiše pravila upotrebe imena za one taksonone koji su već opisani. Takson koji je publikovan prema pravilima definisanim Kodeksom smatra se validnim imenom (*nomen legitimum*) i ona su jedino ispravna. Imena koja su data, a nisu u skladu minimalno sa jednom odredbom Kodeksa, smatraju se nevalidnim imenima (*nomen illegitimum*). Osnovna načela Kodeksa su gotovo zakletno pravilo ponašanja u naučnoj javnosti. Načela Kodeksa glase:

1. Botanička nomenklatura je nezavisna od zoološke i nomenklature prokariota. Kodeks se na isti način primenjuje na imena grupa koje se smatraju biljkama, bez obzira da li su one originalno tako tretirane.

2. Primena imena taksonomskih grupa, definisana je postojanjem nomenklaturnih tipova

4. NOMENKLATURA KOD BILJAKA

3. Nomenklatura taksonomske grupe zasnovana je naprvenstnu objavljivana - principu prioriteta
4. Svaka taksonomska grupa, sa određenim opisom, položajem i rangom može imati samo jedno validno ime i to ono koje je najranije poznato a u skladu je sa odredbama Kodeksa, osim posebnih izuzetaka
5. Naučna imena taksonomskih grupa su latinska bez obzira na poreklo
6. Nomenklatura pravila su retroaktivna, osim ukoliko nisu na osebani način ograničena

4.1 Davanje imena biljkama

Kodeks pored načela, sadrži i pravila i opaske koje su vezane za pravila i pomažu njihovom tumačenju, kao i preporuke za upotrebu pojedinih rešenja uz kojih obavezno idu i liste primera.

Za pravilno pisanje i izgovaranje latinskih imena neophodno je poznavanje osnova latinskog jezika. Ime se sastoji od dve reči (što je i princip binarne nomenklature). Prvo ime piše se veliki slovom i predstavlja generičko ime (ime roda) i dato je u nominativu singulara. Druga reč je epitet – pridev i predstavlja specifičnost vrste toga roda. Ona može odražavati boju cveta, neke specifičnosti na biljci, geografsko poreklo taksona odakle je zabeležen prvi preimerak ili latinizovani oblik vlastitog imena naučnika kome je opis novog taksona posvećen (tabela 2).

Tabela 2 Primeri davanje specifičnog epiteta taksonima prema prepoznatljivim osobenostima

takson	epitet	opis
<i>Linum flavum</i>	flavum	vrsta divljeg lana koja ima žute cvetove
<i>Asphodelus microcarpus</i>	microcarpus	vrsta roda čapljana sa sitnim plodovima
<i>Euphorbia spinosa</i>	spinosa	vrsta roda mlečika sa trnovima
<i>Ramonda serbica</i>	serbica	vrsta roda ramonda opisana iz Srbije
<i>Aquilegia pancicii</i>	pancicii	vrsta roda kandilki čije je ime dato u čast naučnika Josifa Pančića
<i>Convallaria majalis</i>	majalis	vrsta đurđevka koji cveta u maju
<i>Glechoma hederacea</i>	hederacea	vrsta roda dobričica koja imajuće stablo i listove nalik bršljenu
<i>Salix rosmarinifolia</i>	rosmarinifolia	vrsta vrbe sa uskim listovima koji nalikuju ruzmarinu
<i>Althaea officinalis</i>	officinalis	biljka je lekovita i upotreblava se za lečenje

Imena rodova su latinske ili latinizirane imenice. No isto tako mogu biti i grčke ili grecizirane, što je takođe, neretko slučaj. Za davanje imena rodovima, mogu se koristiti i

4. NOMENKLATURA KOD BILJAKA

imena iz ostalih jezika, ali u latiniziranom obliku. Kao na primeru vrste *Pancica serbica* ime roda je dato u čast Josifa Pančića, ali se ne upotrebljavaju slova "č" i "ć", već se koristi njihov latinski oblik "c". Takođe, moguće je davati i generičko ili ime epiteta po različitim ličnostima, ali obavezno u latiniziranom obliku (primer *Bornmullera dieckii*).

Ime taksona je u potpunosti validno kada se na njegovom kraju doda ime autora koji ga je opisao i godina kada je to ime valjano publikovano. Za pojedine istraživače u prošlosti standardizovane su skraćénice imena (na primer: *L.* – *Linnaeus*; *Lam.* – *Lamarck*; *DC.* – *de Candolle*; *Juss* – *Jussieu*). Noviji istraživači postavljaju celo ime. Skraćénice su standardizovane i ne smeju se menjati [6]. Pored vlastitih imena u autorizaciji se često nalaze i skraćénice posebno kada su u kombinaciji objavljivanja dva autora: "et" ili "&" što znači „i“, odnosno da su dva autora zajedno opisali takson. Često se javljaju i druge skraćénice, na primer „in“ koja podrazumeva da je jedan autor opisao novi takson, ali u delu drugog autora. Po nekada se ime drugog autora ovde može izostaviti. Takođe u često upotrebi je i skraćénica "ex" koja podrazumeva da je prvi autor dao ime taksonu, međutim tom prilikom takson nije valjano publikovan i da je to učinio drugi autor, te se u ovom slučaju prvi autor može izostaviti.

Načelo koje reguliše pravilo prioriteta autorstva u objavljivanju taksona (III načelo) definiše ime koje će se upotrebljavati u odnosu na sva imena istog taksona koja su u prošlosti objavljena. Akumuliranje velikog broja imena za isti takson, posledica je činjenice da su u prošlosti mnogi istraživači iz udaljenih krajeva opisivali iste taksone različitim imenima usled nedostatka komunikacije. U tom slučaju, najpre se vrši odabir svih imena koja su valjana objavljena, nakon čega se određuje ime koje je prvo validno objavljeno. Princip prioriteta se primenjuje, počevši od 01. januara 1753, odnosno datuma publikovanja Lineovog dela. Kada se odredi najstarije ime koje postaje važeće, ostala imena prelaze u sinonime. Međutim, ukoliko je neko ime rasprostranjeno i često u upotrebi, koristi se klauzula *nomina conservanda*, što omogućava da uz odgovarajuću proceduru i to ime bude zadržano.

Za razliku od zoološkog Kodeksa, upotreba tautonima, odnosno model da su generičko ime i epitet isti (primer *Allium allium*), prema odredbama botaničkog Kodeksa nije dozvoljena. Izostanak komunikacije istraživača u prošlosti doveo je i do pojave homonima, odnosno da su različiti taksoni imenovani istim imenom. U tom slučaju pravilom prioriteta definiše se kom taksonu ostaje dato ime, dok drugi takson – homonim dobija novo ime.

Takođe, najčešće kao posledica taksonomskih istraživanja pojavljuje se potreba da neki taksoni menjaju ime. U tom slučaju, izdvaja se osnovno ime kao bazionim, a takson dobija novu konstrukciju imena, ali se citiraju i autor bazionima (u zagradi) i autor novog imena (van zagrade). Ta promena imena naziva se i nova kombinacija (*combinatio nova*).

Međunarodni Kodeks imena algi, gljiva i biljaka određuje i pravila imenovanja viših taksonomskih kategorija, dodavajući sufiks (nastavak) na osnovu koja predstavlja ime

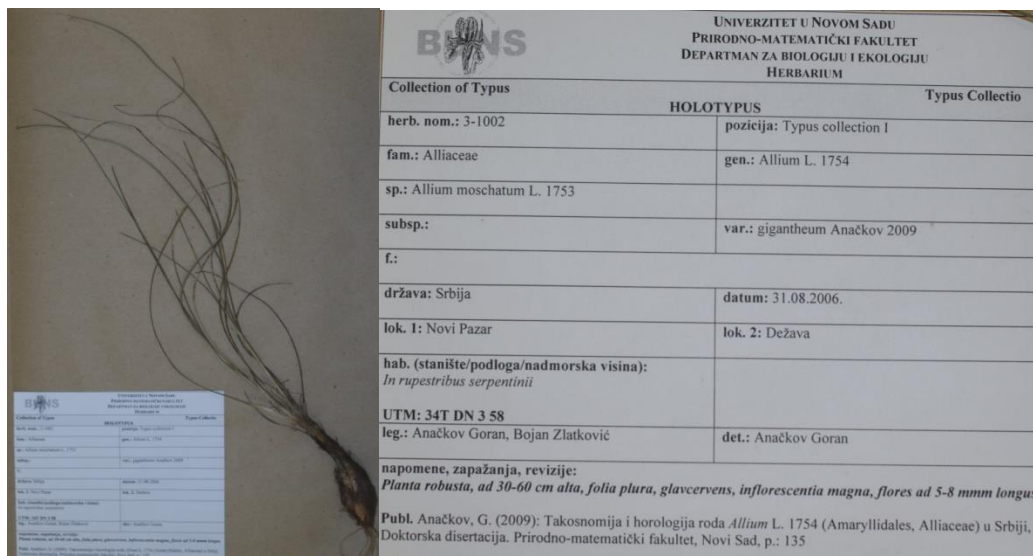
4. NOMENKLATURA KOD BILJAKA

tipičnog roda. Dakle rod *Rosa* je bazičan za porodicu Rosaceae, gde je nastavak *-aceae* dodatak za status porodice. Isto tako je ime roda *Rosa* poslužilo i za konstruisanje imena reda Rosales, gde je nastavak *-ales* prepoznatljiv za status reda. Izuzetci koje dopušta četvrto načelo Kodeksa je primenjeno na rešavanje statusa imena osam porodica kod kojih je postojao uobičajeni naziv bez prepoznatljivog imena sa nastavkom *-aceae*. Te porodice, izuzetno, imaju dva zvanična imena što se smatra nedopustivim, iako se oni nalaze u širokoj upotrebi. To su porodice Asteraceae = Compositae; Brassicaceae = Cruciferae; Poaceae = Gramineae; Clusiaceae/Hypericaceae = Guttiferae, Lamiaceae = Labiatae, Fabaceae = Leguminosae, Arecaceae = Palmae; Apiaceae = Umbelliferae.

Prilikom pisanja latinskih imena često se nepravilno koristi tehnika pisanja kosim slovima za svako ime, odnosno za sve što je napisano latinskim rečima, Naime pravila određuju da se kosim (*italyc*) slovima pišu imena taksonomski nižih rangova od nivoa roda, kao i ime samog roda. Imena taksonomskih grupa – taksona višim u hijerarhijskoj lestvici od roda pišu se na uobičajeni način, odnosno redovnim pismom.

4.2 Tipifikacija

Tipifikacija ili etaloniranje je postupak označavanja primerka biljke koja će se iskoristiti za formiranje osnovnog opisa dijagnoze vrste. Postupak ima utemeljenje u II načelu Međunarodnog Kodeksa imena algi, gljiva i biljaka. Naime svako naučno ime mora biti povezano sa tačno označenim primerkom biljke koja se trajno čuva (pohranjuje) u herbarijskoj zbirci. Dakle radi se o prepariranom primerku nekog taksona koji se označava oznakom *typus* i predstavlja nomenklturni tip. Ime taksona i primerak povezani su trajno i to je za vrste obično herbarski eksikat, ređe crtež biljke. Ukoliko se kasnije reklasifikuje primerak, na primer vrste iz jednog u drugi rod i tip se takođe premešta (slika 36).



Slika 36 Etiketiranje holotipa (BUNSB)

4. NOMENKLATURA KOD BILJAKA

Pored tipskog predstavnika vrste, postoje i tipski predstavnici ostalih, viših kategorija. Na primer tipski primerak roda je onaj na osnovu koga je opisana prva vrsta u tom rodu, a za porodicu je to primerak na osnovu koga je opisan prvi rod.

Primerci tipova su posebna vrednost herbarijumskih kolekcija i čuvaju se u posebnim kolekcijama unutar herbarijumskih zbirki. Često se različite kategorije istog ili različitih tipova šalju na više adresa – više herbarijuma, kako bi se osiguralo postojanje tipskog primerka u slučaju destrukcije ili nezgode koja bi mogla zadesiti neku herbarijumsku zbirku. Sa tipovima, odnosno u njihovom obeležavanju koriste se dodatni elementi, kao što su specijalne etikete koje označavaju da se radi o tipskom primerku. Takođe, ove primerke posebno zaštićujemo omotima za pojedinačne primerke. Preporuka je da ovi primerci odmah prođu kroz postupak digitalizacije.

Uz označavanje tipova povezan je i termin *locus classicus*. Ovaj termin označava mesto na kome je ubran prvi primerak opisanog taksona. To je deo tipskog primerka, i od posebnog je značaja da bude veoma precizno naveden.

Primerci koji su označeni kao nomenklturni tipovi nisu od podjednakog značaja u zavisnosti od vremena sakupljanja kao i legatora koji ih je sakupio. Postoji šest modela nomenklturnih tipova. Kod svih modela to može biti primerak vrste ili crtež biljke.

holotip (*holotypus*) – primerak koji je autor označio kao tipičan, na osnovu kojeg je uradio prvi opis i dok god postoji određuje upotrebu imena koji je za njega povezano.

izotip (*isotypus*) – primerak iz izvorne zbirke autora, tačnije duplikat holotipa, sakupljen od autora na istom mestu i u isto vreme kada i holotip.

sintip (*syntypus*) – primerak ili više primeraka koje je sakupio autor taksona, ali ni jedan nije označio kao holotip ili je tim statusom označio više primeraka.

lektotip (*lectotypus*) – je naknadno izabran holotip između sintipova. Naime ukoliko autor nije ni jedan primerak označio ni na kakv način. Osim što je to preparirani primerak, često je ovaj tip crtež biljke, posebno ukoliko je izvorni materijal propao.

neotip (*neotypus*) – primerak ili crtež koji je uzet iz druge kolekcije ili od drugog autora koji zamenjuje primerak na osnovu kojeg je opisana i uspostavljen status taksona.

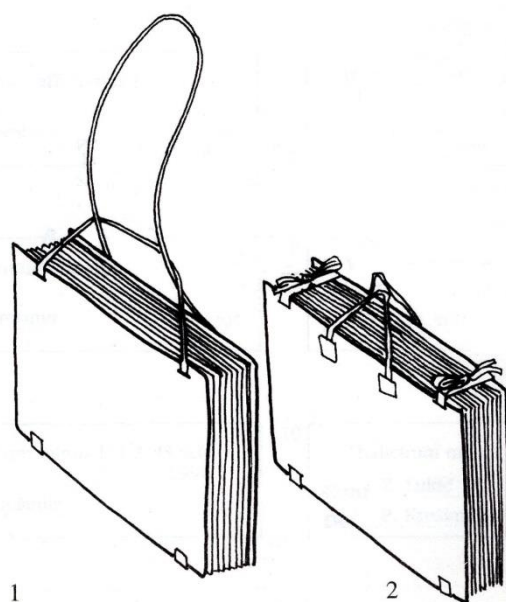
paratip (*paratypus*) – primerak citiran u originalnoj publiakciji, a nije označen ni kao holotip niti kao izotip. Upotrebljava se onda, kada autor u opisu taksona navodi više primeraka, prvi je holotip, a ostali su paratipovi.

5. HERBARSKI MATERIJAL, UZORKOVANJE, PREPARIRANJE I ČUVANJE

Osnova dobre determinacije, a time i svih tipova istraživanja je pravilno uzorkovanje. Bez pravilnog uzorkovanja, nema ni dobre i precizne determinacije. Pri tome primerak se mora dobro obraditi i preparirati i postaviti za čuvanje u herbarskim kolekcijama.

5.1 Uzorkovanje

Uzorkovanje ne podrazumeva samo jednostavno sakupljanje materijala. Naime, na osnovu plana istraživanja, sakupljač dolazi na lokalitet. Otpočinjanje postupka sakupljanja započinje odabirom materijala, selekcijom jedinki unutar grupe jedinki koja raste zajedno, uzimanje onih primeraka koji najviše odgovaraju tipu istraživanja koje će se sprovoditi, čišćenje materijala i njegovo adekvatno pakovanje u zavisnosti od tipa uzorka. U svakom slučaju, pored bilo kog drugog tipa uzorka obavezno je uzimanje i primerka jemstva, te njegovo pohranjivanje u terensku mapu (slika 37) ili najlonsku vrećicu. U terenskim mapama uzorak se transportuje do mesta gde se vrši terensko prepariranje. Postavljanje materijala u terensku mapu mora biti adekvatno i u što prirodnijem položaju biljke. Sličan postupak se vrši i kada se uzimaju isključivo pojedini delovi biljaka (cvetovi, listovi, prašnici, semena, i dr.).



Slika 37 Terenska mapa [15]

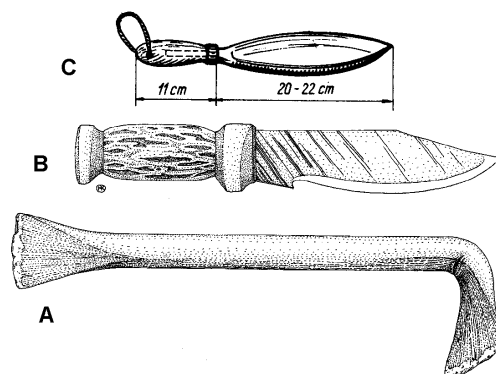
Prilikom sakupljanja materijala na terenu, istraživač mora u potpunosti da bude fokusiran na rad i na materijal koji prikuplja. Iz tih razloga mora da je pripremljen za terenski rad i da poseduje odgovarajuću opremu. Pre svega, na terenski rad, posebno u specifičnim uslovima i na nepristupačnim mestima nikada ne treba ići sam. Mere predostrožnosti od

5. HERBARSKI MATERIJAL, UZORKOVANJE, PREPARIRANJE I ČUVANJE

bilo kakvih incidenata moraju da budu uvek prisutne u pripremi samog istraživača, ali i u obliku opreme koja se koristi za sakupljanje i za ličnu zaštitu istraživača. To podrazumeva kvalitetnu odeću i obuću posebno kada se radi o specifičnim mestima, uključujući kako kopnena tako i vodena staništa. Tu su i odgovarajuća sredstva zaštite od insekata i neizostavna zaštita od vremenskih neprilika, prvenstveno kiše. Posebnu opremu zahtevaju istraživanja vodenih ekosistema, reke, jezera, bara, močvara i mora. Zavisno od dubine vode koristi se čamac, motorni ili na vesla, duboke ili ribolovačke čizme.

Nekadašnje terenske ekipe nisu polazile na teren bez odgovarajućih karata (posebno su u upotrebi ranije bile topografske karte), kao i kompasa (busole). Danas se na terenski rad polazi sa obaveznim GPS uređajem (*Global System Position*), i sa što je moguće kvalitetnijom foto opremom. Ono, što je ostalo neophodno, je nezamenljivi notes za terenske beleške i pre svega vođenje terenskog dnevnika, dnevnika sakupljanja i za ispisivanje privremenih etiketa. Za vođenje dnevnika i ispisivanje terenskih etiketa se isključivo koristi grafitna olovka, jer se ne razliva ako se papir ovlaži.

Korišćeni pribor, kao i oprema, zavisi od izabranog terena i biljaka koje se sakupljaju. Navodimo osnovni i najčešće korišćeni pribor koji odgovara svim tipovima staništa i najrazličitijim grupama biljaka. Za ekstrakovanje biljaka sa razvijenim podzemnim organima, jakim korenovima, krtolama, lukovicama, rizomima i sl. koriste se kopačice, noževi i lopatice (slika 38). Materijal od kojeg su napravljene ove alatke treba da bude čvrst i elastičan, posebno kada se ekstrakcija radi na staništima koja su u letnjim mesecima tvrda (slatine, glinovita zemljišta) ili ako se organi moraju vaditi iz pukotina stena. Pored toga, poželjno je imati i džepni nož za presecanje biljaka ili nekih organa (lukovica, rizom, glavičasta cvast), za čišćenje biljke pre presovanja (odstranjivanje oštećenih i suvih delova).

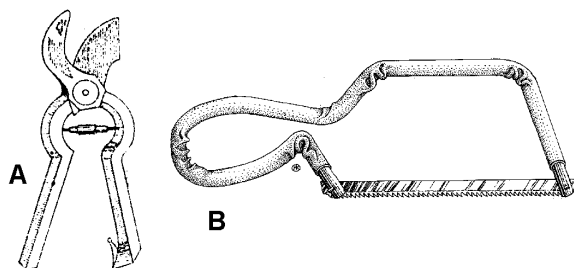


Slika 38 Alatke za tvrde podloge: **A** kopačica, **B** nož, **C** lopatica [4]

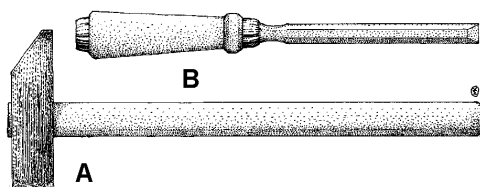
Prilikom sakupljanja drvenastih biljaka koriste se vinogradarske makaze, a po nekada i testerica (slika 39). Odsecanje grančica pomoću ovog pribora najmanje oštećuje biljku. Od testerica najviše odgovara testerica malih dimenzija i težine. Čekić i dleto (slika 40) se upotrebljavaju pri sakupljanju mahovina, na primer, jer se one uzimaju sa delom podloge

5. HERBARSKI MATERIJAL, UZORKOVANJE, PREPARIRANJE I ČUVANJE

na kojoj raste (kora drveta, stena). Ovaj прибор se koristi i pri uzimanju kore drveta za dendrološke zbirke ili zbirke lišajeva.

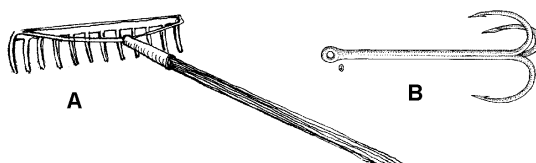


Slika 39 Alatkе za drvenaste vrste: **A** vinogradske makaze, **B** testerica [4]



Slika 40 Alatkе za sakupljanje mahovina i lišajeva: **A** čekić, **B** dleto [4]

Opremu koja se koristi pri sakupljanju vodenih biljaka čine grabulja (najbolje sa teleskopskom drškom), trokraka ribolovačka udica, santimetar sa diskom (slika 41). Ova grabulja treba da je napravljena od lakog, nerđajućeg materijala, da ima dugačku (oko 2 m) i laganu dršku. Ovakvom grabuljom je lako rukovati i lakše je izvući biljku iz mulja sa korenom. Umesto grabulje može da se koristi i ribolovačka trokraka udica, dugačka oko 15 cm, koja se veže na jaki kanap. Ovakvom udicom, posle kratkog vežbanja, lako se gađa željeno, nepristupačno mesto, a može da se baca i mnogo dalje od domašaja grabulje. Santimetar se koristi za merenje dubine i providnosti vode.



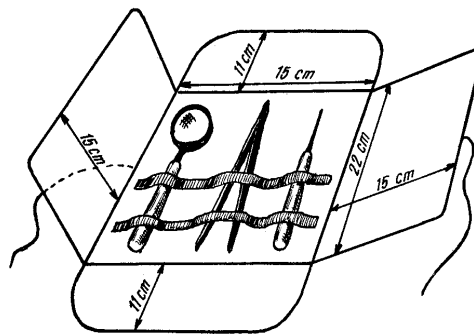
Slika 41 Alatek za prikupljanje vodenih biljaka: **A** grabulja, **B** trokraka ribolovačka udica

Plastične kese, različitih veličina se koriste za kratkotrajno držanje ili transport sakupljenog materijala. Krupnije biljke se stavljaju u vreće, a sitnije u kese. U jednu vreću ili kesu se stavlja što manje biljaka. Otvor se zatvara kanapom ili gumicom. U njih se stavlja i privremena etiketa (ceduljica) sa osnovnim podacima: lokalitet, stanište i datum. Dužina držanja sakupljenog materijala u plastičnim kesama zavisi od vremenskih prilika. Ako je vreme veoma toplo, biljke ne smeju biti u vreći duže od nekoliko sati (5-6). Ako je vreme

5. HERBARSKI MATERIJAL, UZORKOVANJE, PREPARIRANJE I ČUVANJE

umereno toplo, a sunce nije prejako, biljke mogu ostati u zatvorenom džaku jedan dan, ili da se čuvaju u istom džaku u frižideru najviše do dva dana, do presovanja.

Po nekada se odmah na terenu posmatraju pojedini delovi biljaka i vrši determinacija. Iz tih razloga je nekada veoma korisno i na terenu imati mali set za determinaciju koga čine: lupa, pinceta, anatomska igla (slika 42). Kod nekih biljaka određeni karakteri se brzo menjaju, ili neki delovi cveta opadaju, pa ih je neophodno posmatrati neposredno posle branja. Karakteri ovih delova biljaka odmah se posmatraju i zapisuju u terenski dnevnik. Santimetar je takođe važan pribor za određivanje visine onih biljaka koje se, ako nije neophodno, ne sakupljaju cele.

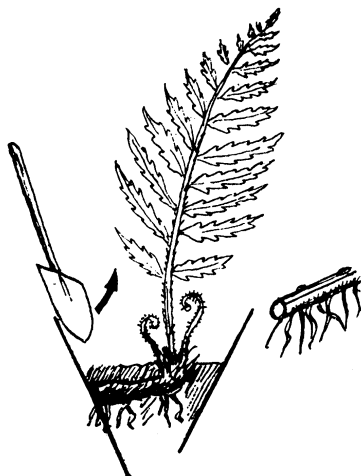


Slika 42 Terenski set za determinaciju: lupa, pinceta, anatomska igla [4]

Više puta smo naglasili da je terenska sveska neophodan deo opreme svakog terenskog istraživača botanike. Preporučuje se sveska džepnog formata i grafitna olovka, pošto se ne ispira i ne razmazuje ukoliko se sveska navlaži. Neki istraživači daju prednost dvema sveskama – jedna se nosi na teren, a druga ostaje na sigurnom mestu u koju se beleške sa terena prepisuju. Terensku svesku treba uvek nositi. Sveska služi za upisivanje svih neophodnih podataka koji se odnose na stanište i lokalitet (datum, tip staništa, konfiguracija terena, orijentacioni tip zemljišta, ekspozicija, lokalitet, vremenske prilike) ili na sakupljene biljke (masovnost pojedinih vrsta, razvojni stadijum, varijabilnost, boja krunice, prašnika itd.). Na terenski rad, posebno kod sakupljanja uzoraka za različite tipove istraživanja obavezno je pripremiti etikete ranije. Privremene etikete (ceduljice od belog papira) sa datumom sakupljanja, staništem i lokalitetom stavljamo u plastične vreće sa sakupljenim biljnim materijalom. Na privremenim etiketama se takođe piše isključivo grafitnom olovkom. Neki autori preporučuju da se prilikom korišćenja etiketa jedna postavlja na papir sa uzorkom, a da kopiju čuva sakupljač.

Na terenu se biljke sakupljaju cele, zajedno sa podzemnim delovima, krenom, rizomom, krtolom ili lukovicom. Prilikom iskopavanja mora se paziti da se okolne biljke ne oštećuju, naročito ako se radi o biljkama koje grade guste populacije, a imaju metamorfozirano podzemno stablo napr. *Ornithogalum*, *Crocus*, *Ruscus*, *Corydalis*, *Arum*, *Iris*, *Polygonatum*, *Paeonia* itd. Kod biljaka koje imaju rizom treba paziti da se ne odseče veliki deo rizoma. Oko biljke sa podzemnim metamorfoziranim organima, sa četiri strane zasečemo tlo i

vadimo ih zajedno sa zemljom, koju pre stavljanja u kesu pažljivo odstanimo (slika 43). Biljke sa lukovicom često imaju i sporedne lukovice, koje takođe treba da ostaju na biljci.



Slika 43 Pravilno iskopavanje biljaka sa podzemnim metamorfoziranim organima [4]

Biljke se bez podzemnih organa (*herba*) suše u odnosu 6:1, tj. od 6 kg sveže biljke se dobija 1 kg vazdušno suve biljne materije. Najvažniji delovi biljaka pri determinaciji su cvet i plod. Zato se, pri sakupljanju i presovanju, posebna pažnja posvećuje ovim organima. Važno je izabrati jedinke sa potpuno razvijenim, otvorenim cvetovima, a neke karaktere cveta zapisati, npr. boja kruničnih listića i prašnika, njihov oblik ako lako opadaju, položaj čašićnih listića itd. Ako u isto vreme ne nalazimo jedinke sa cvetovima i plodovima sakupljanje se ponavlja u vreme plodonošenja. Sakupljene biljke se stavljaju u plastične vreće. Ne preporučuje se savijanje visokih biljaka pre presovanja, niti držanje previše materijala u jednoj vreći. Dvodome biljke se stavljaju u manje kese i to i muški i ženski primerci. Kao što je ranije rečeno svaki sakupljač mora imati terensku svesku. Ona nije samo putni dnevnik. Svakoj vrsti, sakupljenoj na datom prostoru i u dato vreme, treba dati koleksijski broj. Najbolji je hronološki sistem počevši od broja jedan. Ne sme se koristiti isti broj za bilo koju drugu kolekciju. Svi duplikati moraju imati isti koleksijski broj. Mada neke skraćenicе mogu biti korisne na terenu one moraju biti u potpunosti zapisane kada se formiraju stalne etikete iz terenskih beleški. Uzorak bez terenskih podataka (bar lokalitet i datum) ima malu naučnu vrednost. Podaci koje treba upisati treba da sadrže broj sakupljača, tačnu lokaciju, približnu nadmorsku visinu, prirodu staništa (vrstu zemljišta, vlažnost, nagib i svetlosni uslovi biljke) i druge odgovarajuće podatke. Uz odgovarajuću biljku upišite one podatke koji nisu evidentirani na presovanom uzorku: visinu, razgranatost, dubinu korenskog sistema, miris i one osobine koje se mogu izgubiti pri sušenju, na primer boja cveta. Boja cveta može biti najbolje određena korišćenjem etalona boja. Što su kompletnije terenske beleške to će kompletnija biti etiketa i sadržaćе više informacija o uzorku.

Mada je poželjno presovati kolekciju odmah, to nije uvek praktično. Nežne materijale treba presovati što je moguće brže, a druge uzorke pogodno spakovati. Uzorci se mogu održati u dobroj formi, bez kvarenja u kontejneru, ako se drže u masnom papiru i ako nisu suviše pribijeno spakovane. Preveliko vlaženje ili preveliko sušenje mogu oštetiti uzorak. Torbe sa uzorcima treba čuvati na što je moguće hladnijem mestu, što podrazumeva da se o tome, tokom terenske ekspedicije, konstatno vodi računa. Po povratku sa terena, torbe sa uzorcima treba čuvati na hladnom mestu do presovanja. Biljke se mogu čuvati pod ovim uslovima nekoliko dana. Poželjno je uzorke sa jednog lokaliteta umotati u neodsečenom, numerisanom duplom tabaku, tako da je jedan kraj otvoren, a drugi vezan gumicom. Obeležiti brojem lokaliteta koji se unosi u terensku svesku, navlažiti i postaviti uspravno u torbu, a torbu uspravno postaviti u terensko vozilo. Materijal prskati po potrebi. Ako je neophodno držati vlažne materijale za duži period kao što je to neophodno u tropskim regionima mogu se koristiti nekoliko konzervanasa:

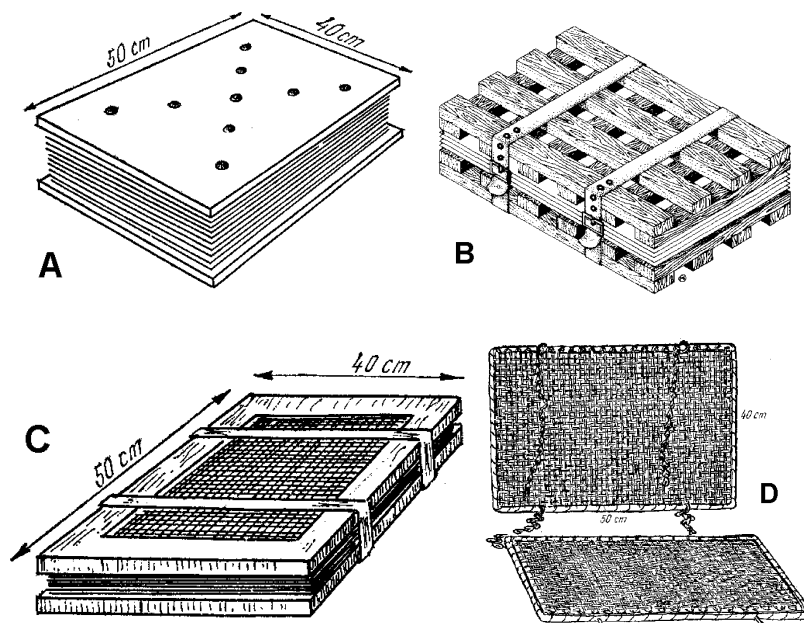
- formaldehid: voda = 2:3
- formaldehid: 70% etanol = 1:2
- 40-50% alkohol (etanol).
- 1-2% vodeni rastvor oksikvanolin sulfata.

Uzorci se umaču, prskaju ili trljaju ovim rastvorima i zatvaraju se u vakumiranim pakovanjima. Jedna od takvih metoda za održavanje biljaka do prenošenja u laboratoriju gde će se vršiti neki od oblika prepariranja, tretmanom prskanja je Švajnfurtova (Schweinfurth) metoda gde se na vlažan papir postavlja materijal koji se naprska alkoholom i tako do završetka paketa koji se uveće kanapom. Paket se postavlja u plastičnu vreću i redovno prska 75-80% alkoholom.

5.2 Prepariranje sušenjem pod pritiskom - presovanje

Prepariranje sušenjem pod pritiskom je metoda koja je poznata još od Luke Đinija. Terenska prozirna presa je najčešće upotrebljavani model. Ramovi za presovanje po principu se dele na terenske (slika 44 a b c) i laboratorijske (slika 44 d). Na terenu se presuje u terenskim presama, koje sa prave od debelog kartona, letvi ili tanke, elastične daske, koja je gusto izbušena. Prese ne smeju biti od punog drveta jer sprečavaju isparavanje vlage. Prese se stežu pomoću jakog kanapa ili kaiševa. Veličina ramova za presovanje nije standardna (zavisi od veličine papira koji se koristi za presovanje). Ipak se preporučuje veličina 40 x 50 cm. Papir ne sme da viri iz ramova. Prese se mogu praviti i od jake žice u drvenom ili metalnom ramu, ali su manje praktične (zbog svoje težine) za rad na terenu, a stežu se takođe pomoću kanapa ili kaiševa. U laboratoriji umesto stezača mogu se koristiti

i tegovi, kamen ili cigla. Postoje i specijalne statične prese od punog, teškog drveta, a stezanje se vrši pomoću metalnih šipki sa navojem i zavrtnjima.



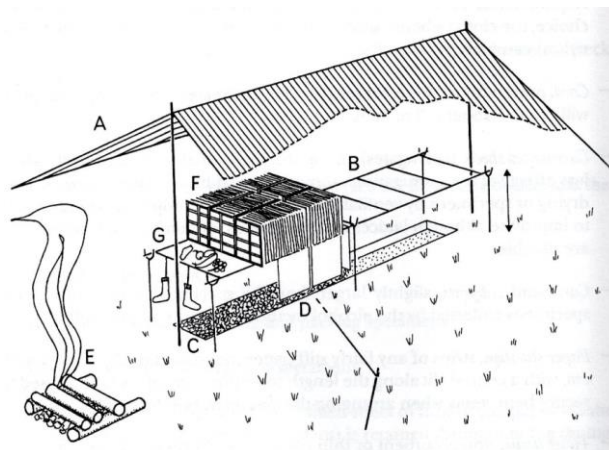
Slika 44 Ramovi za presovanje:

od **a.** kartona, **b.** letvi, **c.** jake guste žice u drvenom ramu, **d.** metalnog okvira [4]

Za zatezanje terenske prese koriste se kaiševi za presu. Par jakih kaiševa od kože sa kukastim kopčama su odlični za terenske potrebe. Međutim, u nedostatku kožnih mogu se koristiti užad ili gurtne. Minimalna dužina kaiša treba da omogući obuhvatanje prese sa biljnim materijalom i vezivanje. U prozračnoj presi ubacuje se papir za presovanje. Sakupljene biljke se stavljaju u grube bele ili sive upijač-hartije, a između njih se stavlja novinska hartija (jedan ceo dnevni list, nikako ilustrovani listovi od sjajnog papira, jer ne upijaju vlagu). Upijač-papir ne sme biti mekan, jer njegove niti posle presovanja trajno ostaju na biljci. Sušilice (upijači) se mogu izraditi tako što se iseku tabaci 27x40 cm od teškog upijajućeg papira ili herbarske upijajuće hartije. U nedostatku upijača, može se koristiti samo novinski papir. Papir za presovanje mora biti manjih dimenzija od ramova. Biljke postavljene u hartiju, stavljaju se u ramove, koji se stežu.

Kod velikih ekspedicija i prilikom sakupljanja velike količine materijala po nekada je i na terenu potrebno povećati efikasnost sušenja biljaka. Ukoliko vremenske prilike to dozvoljavaju materijal se može sušiti i na suncu u prozračnim presama, s tim što se prese moraju postaviti odignute od podloge i upravno u odnosu na sunčevu svetlost. Međutim, ukoliko su vremenske prilike nepovoljne, može se improvizovati terenska sušara u šatoru sa električnim ili plinskim grejačima ili jednostavno upotrebiti žar od sagorevanja drveta. Izvor toplote (bilo koji) postavlja se u šator ispod postolja sa poroznom pločom na kojoj su postavljene prozračne prese (slika 45).

5. HERBARSKI MATERIJAL, UZORKOVANJE, PREPARIRANJE I ČUVANJE



Slika 45 Improvizovana trenska sušara sa žarom kao izvorom toplote [4]

U laboratorijama za prepariranje biljaka sušenjem pod pritiskom, danas se koriste termostatičke prese (slika 46). One rade na gotovo identičnom principu kao i opisana terenska sušara sa dodatnim izvorom toplote. Efikasnost presovanja u ovim uređajima je izuzetna. Za vrlo kratko vreme dobija se kvalitetan materijal koji može relativno brzo biti spreman za završnu obradu i ulaganje u herbarijum



Slika 46 Termostatička botanička presa

Po mogućstvu biljke treba determinisati na terenu, jer je u svežem stanju najlakše analizirati cvet, a biljka se najmanje promenila, naročito oblik stabla - okruglo, pljosnato, trostrano (trobrido), četverostrano (četvorobrido), okriljeno, itd. Ovi karakteri se menjaju u toku presovanja i sušenja, pa ih je neophodno zapisati u terenski dnevnik. Međutim, na terenu

5. HERBARSKI MATERIJAL, UZORKOVANJE, PREPARIRANJE I ČUVANJE

nema dovoljno vremena za detaljnu determinaciju, koja se kasnije radi u laboratoriji. Zbog toga je neophodno pravilno presovanje i sušenje.

Biljke se pri presovanju stavljaju u upijač hartiju. Listovi se ispravljaju i raspoređuju tako da se ne prepokrivaju. Ako je to nemoguće zbog veoma gustog rasporeda listova, svaki se odvaja pomoću papira ili ih sa jedne strane stabla poskidamo, posebno presujemo i lepimo pored biljke na herbarski list. Dugačke, slabo razgranate biljke savljamo u obliku slova N, M, ili Z, ali mora da se pazi da se stablo potpuno ne prelomi. Ako savijena biljka ne ostaje u željenom položaju, fiksiramo je pomoću urezane kartonske trake (slika 47). Savijanje se uvek radi između dva čvora stabla. Savijene biljke se lepe tako da koren bude pri donjoj ivici herbarskog lista.



Slika 47 Fiksiranje savijene biljke pomoću kartonske trake [4]

Cvetovi se presuju tako da se vide svi delovi. Jedan cvet treba da bude presovan otvoren (kao da se gleda odozgo) a drugi sa strane i ne smeju biti pokriveni listovima. Preporučljivo je da na biljci budu i pupoljci. Pri presovanju se svaki cvet i svaki pupoljak pokriju posebnim parčićima papira.

Na sakupljenom materijalu važno je imati i plod. Krupne, mekane i sočne plodove nikada ne treba presovati. O njihovom prepariranju biće reči kasnije, kao i o presovanju sočnih plodova manjih dimenzija. Presuju se uglavnom sušni, otvarajući ili neotvarajući plodovi. Pri sakupljanju biljaka treba birati jedinke čiji plodovi još nisu potpuno zreli, jer takvi plodovi najviše sačuvaju svoje karaktere i kasnije se ne otvaraju u herbaru. Preporučljivo je i takve osušene plodove premazati bezbojnim lakom za, što će sigurno sprečiti njihovo otvaranje.

Ispravljanje, nameštanje biljke za presovanje radi se na upijač-hartiji zatim se pokrije drugim listom. Između upijača se stavlja nekoliko slojeva novinske hartije, napr. jedan ceo dnevni list. Sledeća biljka se priprema na isti način i slaže se na prethodnu. Prilikom slaganja treba voditi računa da stabla (debeli delovi) biljaka budu naizmenično slagana na levu, odnosno desnu stranu "paketa". Ovako se dobija ravan, nenakrivljen, kockast "paket", i nema opasnosti da se pri stezanju prese raspe. Drugi debeli delovi biljaka napr. lisna rozeta, cvast glavočika, štitarica (Asteraceae, Apiaceae) mogu se uzduž raseći, međutim, mora se paziti da se ne raseče i vršni deo stabla na kojem se nalazi cvast, odnosno donji deo stabla koji nosi rozetu. Odstranjeni delovi (deo cvasti ili rozete) presuju se posebno i lepe se na

herbarski list pored biljke. Broj zrakova cvasti kod štitarica, posebno kod nekih rodova, taksonomski je karakter.

U presu se stavljaju "paketi" visine 30-50 cm. Cela biljka mora biti u papiru i ne smeju da vire niti koren, niti listovi ili delovi listova. Jako je ružno ako se listovi seku, skraćuju što se može videti u studentskim herbartima. Sveže presovane biljke u početku ne smeju se jako stegnuti ili ramove previše opteretiti, jer će se biljke preterano spljoštiti. Početna težina tegova ili sila stezanja treba da je oko 10 kg, za paket debljine oko 30 cm. Prilikom menjanja papira povećavamo i opterećenje i stezanje na 15, 20 i 25 kg. Ramovi sa presovanim biljkama treba da su na promajnom, srednje toplom mestu, u senci.

Prvo menjanje papira se vrši za 24 sata (ili za 12 sati kod vodenih, sukulentnih, sočnih biljaka) od presovanja. Ovaj posao je dosta važan jer se mogu ispraviti propusti prilikom presovanja, ispraviti listove, namestiti cvetove. Menjanje papira se radi pri suvom i sunčanom vremenu. Manje biljke su suve posle 3-4 menjanja, a krupnije za 2-3 nedelje. Potpuno suva biljka je kruta, ne savija se i lako se lomi. Vlažni, korišćeni papiri za presovanje suše se na suncu ili u toploj rerni (oko 60°C) i mogu se ponovo koristiti.

Ako se papir ne menja redovno i na vreme, biljke potamne, pocrne, uplesnive se i počinju da trunu. Takav materijal je bezvredan, ne može da se determiniše, niti poslužiti kao eksikat za zbirku.

5.3 Konzerviranje biljaka u tečnom medijumu

U zavisnosti od potreba istraživanja, uključujući i rad na terenu, te tipova biljaka i olakšanu manipulaciju u zirkama, postoji potreba za konzerviranjem biljaka u tečnom medijumu. U tom slučaju neophodan deo terenske opreme za prikupljanje materijala su staklene ili plastične boce sa čepom koji ne propušta vazduh. Veličina boce zavisi od materijala koji treba sakupiti. Male staklene bočice su idealne za sakupljanje cvetnih pupoljaka i cvetova kao i drugih materijala koje treba sačuvati u tečnostima za čuvanje (konzerviranje). Veće boce su potrebne za prikupljanje krupnijih predstavnika pre svega akvatične flore. Međutim, najvažniji element prepariranja je tečnost u kojoj će se materijal čuvati - konzervans ili fiksativ. Izbor vrste tečnosti za čuvanje, zavisice od vrste materijala. Za opšte, anatomske potrebe kao i za materijale: drvo (grane), lišće, cvetovi i slično, široko se koristi rastvor formalin-sirćetna kiselina – alkohol u odnosu 1:1:18 (FAA) i može biti pripremljen na sledeći način:

Formalin (komercijalna jačina).....	5 ml.
Glacijalna sirćetna kiselina.....	5 ml.
Etil alkohol (70%).....	90 ml.

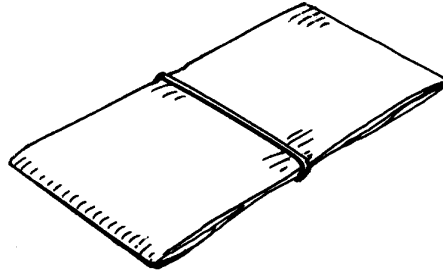
Jedna od čestih fiksativnih smeša je Karnojeva tečnost sa 95% etil alkoholom. Pored toga što je efikasan fiksativ, često se može upotrebljavati i za druge potrebe. Na primer, veoma je korisna za čišćenje lišća. Kada koristite 6:3:1 rastvor, sirćetna kiselina se ne sme dodavati pre nego što su materijali spremni da se fiksiraju. Pošto su materijali proveli 24-48 časova u fiksativu, isti treba odliti i materijale staviti u 70% alkohol ili u rastvor 50% alkohola sa dodatim 86% dehidratisanog glicerola. Jedan od veoma popularnih rastvora je i ustaljeni, tzv. Kju (Kew) rastvor koji se priprema u razmerama, 50% alkohola, 5% formalina, 5% glicerola i 40% vode se koristi za fiksiranje biljnih materijala. Svaka bočica treba da ima etiketu sa terena. Brojevi na etiketi moraju da odgovaraju brojevima u terenskoj svesci (slika 48).



Slika 48 Biljni materijala u tečnom medium, uredno obeležen (BUNS)

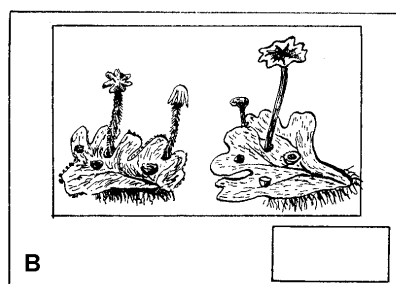
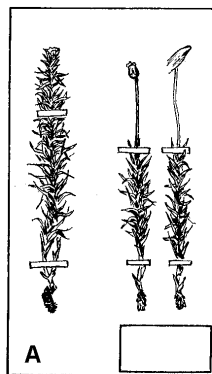
5.4 Sakupljanje i prepariranje specifičnih grupa biljaka

Mahovine su najprimitivnije više biljke. Njihov habitus je mali od nekoliko milimetara, mada postoje i predstavnici sa habitusom veličine do 60 cm. Kod ovih biljaka dominantna je gameofit generacija, a sporofit "parazitira" na gametofitu. Njihova determinacija je najčešće teža od determinacije drugih biljaka. Za determinaciju su potrebni anatomske preseki, mikroskop, gametofit i sporofit generacije. Mahovine rastu na različitim terenima i staništima, često kao pioniri zajedno sa lišajevima. Sakupljaju se u savijenu novinsku hartiju, kapsulu, koja se veže gumicom (slika 49). Busenaste mahovine sakupljamo u kartonske kutije. Od dvodomnih mahovina poželjno je imati i mušku i žensku jedinku. Zajedno sa mahovinom uzima se i deo podloge, kora drveta, stena ili zemlja debljine oko 0.5 cm.



Slika 49. Kapsula za sakupljanje mahovina [4]

U laboratoriji se odabira veći broj primeraka (10-20), dok se busenasti oblici razdvajaju na jedinke, suše se par dana na vazduhu i tek se onda presuju. Ako je podloga zemlja, ona se premaže bezbojnim lakom kako bi se izbeglo raspadanje busena. Mahovine je najbolje sakupljati od sredine maja do sredine juna, kada najviše vrsta ima i sporogon. Kod mahovina može se uklapati više primeraka na jedan herbarski list i mogu se zaštititi celofanom (slika 50 A, B).



Slika 50 Herbarski list sa **A** jednodomom, **B** dvodomom mahovinom [4]

Prečice su male biljke visine, najčešće sa poleglim stablom, dužine 10-20 cm,. Njihovo sakupljanje je jednostavno. Važno je sakupiti što veći deo izdanka sa korenom ili nosačima korena, kao i jedinke sa spornosnim klasovima.

Rastavići imaju rizom, koji treba pažljivo iskopati. Kod nekih vrsta se razlikuju fertilni i sterilni izdanci i javljaju se u različito vreme (sekcija *Vernalia*), od kojih se moraju sakupiti oba izdanka. Sterilni izdanak može biti visok i preko 1m. Na fertilnom izdanku važno je

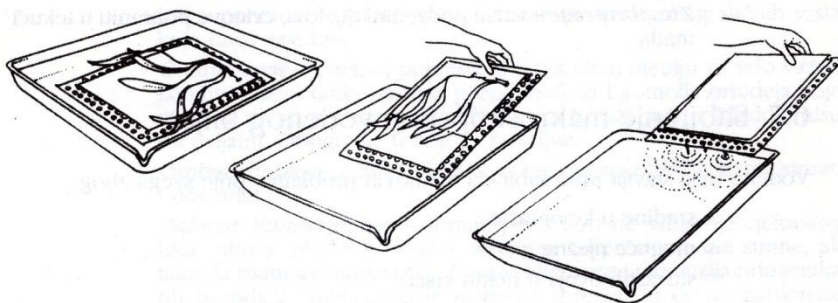
imati sponosni klas, a na sterilnom grane (ukoliko grananje postoji). Za determinaciju rastavića važni su razgranatost izdanka, karakteristike rukavca (boja, veličina, nazubljenost, oblik zubića, da li tesno ili labavo obuhvataju stablo), veličina centralne šupljine, a kod fertilnog izdanka vrh sponosnog klasa (sekcija *Aestivalia*). Iz tih razloga neophodno je da se prilikom prikupljanja materijala bude obazriv, obratiti pažnju na sve ove karakteristike i kvalitetno i obavezno ih prikupiti. Neke karaktere rukavca i veličinu centralne šupljine stabla potrebno je zapisati u terenski dnevnik, s obzirom da se na primer boja može izmeniti ili deformisati oblik centralne šupljine prilikom herbarizacije. Od visokih i gusto razgranatih stabala dovoljno je uzimati vršni deo dužine 30-40 cm, a od negranatih ceo izdanak.

Kopnene **paprati** se sakupljaju po opštim pravilima. Neophodno je sakupiti „buket listova“ sa rizomom, (s obzirom da se često i na njemu nalaze taksonomski karakteri). Listovi paprati mogu biti fertilni (sponosni) ili sterilni (trofički), ili jedan isti list vrši i fotosintezu a na naličju ima soruse sa sporangijama (trofosporofili). Listovi u buketu prilikom presovanja moraju biti razdvojeni upijač hartijom. Za deternimaciju paprati veoma su važni sorusi (oblik, veličina, raspored). Zbog toga prilikom lepljenja na herbarski tabak, jedan list mora biti nalepljen sa naličja. Pored sorusa bitni su i oblik, veličina i nazubljenost oboda induzijuma (tankog zaštitinog tkiva iznad sorusa). Induzijum veoma brzo vene, često i opadne (naročito posle presovanja i sušenja), zbog čega ove karaktere treba zapisati u terenski dnevnik. Vodene paprati se sakupljaju po pravilima sakupljanja vodenih biljaka, i najčešće fiksiraju i čuvaju u tečnom medijumu. Sve ove grupe viših biljaka se presuju i suše po opštim pravilima, a na herbarskim listovima, a ukoliko se radi o malim predstavnicima, mogu biti i dodatno zaštićeni celofanom ili paus papirom.

Kod golosemenica se sakupljaju grančice sa listovima, iglicama, po mogućstvu 3-5 grančica sa jednog stabla, sa različite strane i visine krošnje (kao kod svih drvenastih biljaka) i ženske šišarke. Važno je na terenu zabeležiti boju pupoljka kod četinara, jer je izuzetno važan taksonomski karakter, a može da se promeni tokom presovanja i sušenja. Kod predstavnika grupe efedre, zapisuju se karakteri semena, koji se takođe menjaju u herbaru. Semenke ginka se ne presuju, najbolje ih je čuvati u tečnom medijumu. Šišarke četinara se takođe ne presuju, nego se sakupljaju cele, suše se na sobnoj temperaturi i čuvaju u kartonskim kutijama. Važno je neke zrele šišarke (*Abies*, *Cedrus*) uvezati da se ne bi raspale. U novije vreme ne preporučuje se uzdužno presecanje šišarke, iako dok su mlade mogu se rasecati i čuvati materijal u tečnom medijumu. Manje bobičaste šišarke nekih vrsta iz familije čempresa (*Cupressaceae*), mogu se takođe čuvati u tečnom medijumu, presovati ili sušiti. Njihov oblik, veličina i boja se zapisuju u terenski dnevnik. Najveći problem pri presovanju i sušenju četinara je opadanje iglica, što se delimično može sprečiti držanjem grančica u čistom alkoholu oko 20 minuta ili 2-3 sata u vrućoj vodi temperature oko 60°C. Ovako tretirane grane pre presovanja treba osušiti, upijač hartijom i držanjem 1-2 sata na sobnoj temperaturi.

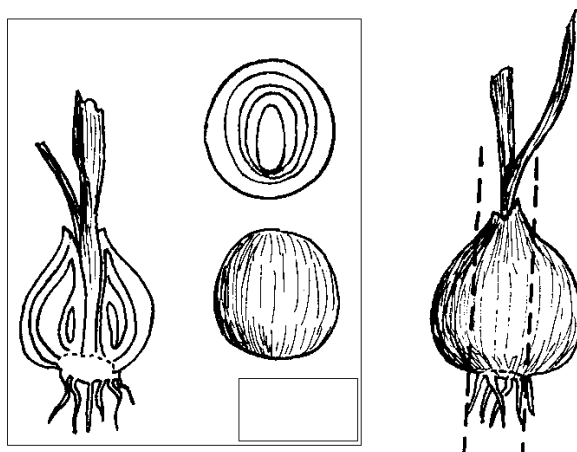
Velika većina **skrivenosemenica** se sakuplja, presuje i suši po opštim pravilima, opisanim ranije. Međutim, one su najbrojnija, najraznovrsnija grupa viših biljaka, široko su rasprostranjene, nastanjuju različita staništa, na koja su se prilagodile habitusom i građom.

1. Vodene biljke. Najsitnije vodene skrivenosemenice se ne presuju (*Lemna*, *Spirodela*), nego se sakupljaju i transportuju u vodi u teglama, a čuvaju se u staklenim posudama te nakon fiksacije odlažu u rastvore za čuvanje. Druge plivajuće, a i ukorenjene vodene biljke sakupljaju se cele. Ako mogu da se dohvate rukom, ravnomerno i lagano se vuku da bi se oslobodio korenov sistem ili rizom. Ako iz nekog razloga koren ili rizom nisu dostupni, sakuplja se cvetajuće stablo i listovi, a po mogućstvu i plod. Dubina vode se meri pomoću drške grabulje ili kanapa i tega i zapisuje se u terenski dnevnik. Mekane vodene biljke koje sadrže puno vode presuju se na paus papiru ili na upijač hartiji natopljenim parafinom. Preko biljke se stavlja nekoliko listova upijač hartije. Vodene biljke je nekada veoma korisno presovati i srednjevrućom peglom (oko 60-70°C), koja blago se ugrije, zameni se upijač i stavlja se u presu. Ovo se prvenstveno odnosi na veoma sočne vodene biljke u kojima je u intercelularima nakupljena velika količina vode. Sa drugih, manje sočnih, vodenih biljaka odstrani se voda (upijanjem, kratkotrajnim držanjem na vazduhu u senci) i presuju se. Visina naslaganog "paketa" kod vodenih biljaka može biti 20-25 cm, a papiri se u početku menjaju svakih 12 sati. Ova grupa biljaka se sakuplja od kraja maja do sredine juna (izuzev nekoliko ranoprolećnih vrsta), a njihovi plodovi krajem leta. Poseban način pripreme vodenih biljaka je da se zajedno sa papirom za presovanje potope u kadicama u vodu, ted a se polože na tanku metalnu rešetku. Takav list prekriva se voštanim papirom, a pre toga se vrše minimalne korekcije pozicija lista. Ceo paket se izvlači iz kadice iscedi voda Postupak se dalje nastavlja standardnom metodom presovanja uz češće menjanje upijajuće hartije (slika 51). Kod presovanja morskih algi postoje dodatne poteškoće prilikom prepariranja sušenjem pod velikim pritiskom. One su po prikupljanju još uvek prekrivene tankim slojem sluzi kojom se lepe za papir. Ukoliko izostaje sluz, zasigurno su prekrivene slojem morske soli koja takođe prilikom sušenja, može da izazove negativne efekte. S toga se preporučuje da se morske alge isperu vodom pre sušenja, ili da se primeni metoda sušenja na otvorenom. To se naročito preporučuje kod malenih vrsta, koje se prikupljaju sa različitih supstrata na kojima žive. Kod makroalgi, obavezna je upotreba voštanog papira da se primerci ne bi zalepili za novinsku hartiju, a i da se spreči otiskivanje štampanih tekstova sa novinske hartije na primerke.



Slika 51 Priprema za presovanje i sušenje vodenih biljaka Fosberg-Sachet metodom [15]

2. Biljke sa lukovicom, krtolom i debelim rizomom. Debeli i sočni delovi biljaka su uvek problematični prilikom presovanja i zahtevaju posebnu pripremu. Lukovice, i krtole se seku dva ili na tri dela sa jedne i druge strane od stabla, tako da srednji deo ostane na stablu (slika 52). Dva odsečena dela, koja mogu još da se stanje, sa tunikom (omotačem lukovice) se takođe presuju i lepe se na herbarski list pored biljke. Na presečenim lukovicama nekih biljaka (zbog prisustva lepljivih materija) ostaje deo hartije za presovanje, koji svaki put mora da se odstrani. Manje lukovice i krtole mogu se presovati cele, ali se moraju držati u čistom alkoholu 3-4 minuta, ili tretirati kipućom vodom. Od rizoma se pravi uzdužni (iz kojih se vadi srž) i tanki poprečni presek. Na delu uzdužnog preseka mora ostati buket listova. Tanki poprečni presek se lepi pored biljke na herbarski list. Kod prepariranja ovih sočnih organa posebnu pažnju treba obratiti na stanje organa pred prepariranje. Možda više od svih, ovi organi trpe najveće promene nakon bilo kog tretmana. Same tunike i oblici su često taksonomski karakteri te sve te informacije treba pre početka postupka proveriti i upisati u terenske sveske.



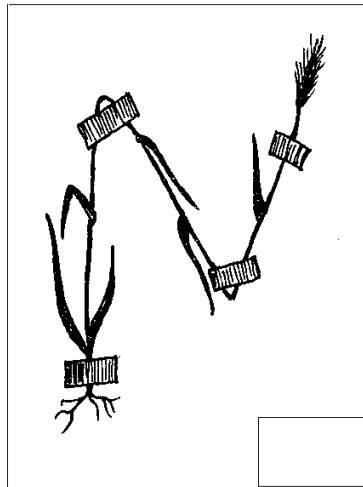
Slika 52 Pravilna priprema lukovice za presovanje [4]

3. Sukulentne biljke. Za presovanje pripremljenu, sukulentnu biljku preporučljivo je staviti u čist alkohol 3-4 minuta, da se ne bi raspala u presi i herbaru. Listove sa naličja potrebno

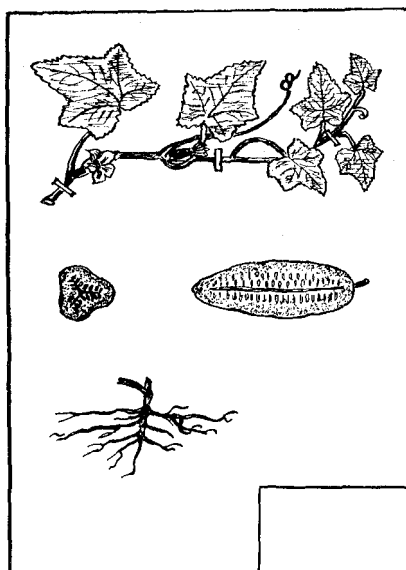
5. HERBARSKI MATERIJAL, UZORKOVANJE, PREPARIRANJE I ČUVANJE

je plitko (preseći samo epidermis), na dva tri mesta žiletom zaseći i tek onda presovati. Pre presovanja preporučljivo je da se višak vode odstrani sa blago ugrejanom peglom, na način kako je opisano kod vodenih biljaka. Za efikasnije sušenje može se koristiti silica-gel u prahu, stavljen između dva lista upijača, što se može primeniti i kod vodenih biljaka. Vrste koje imaju sitne listove, posle sušenja svaki list se lepi pomoću lepka na herbarski list. Kod ovih biljaka važno je na terenu zapisati oblik lista (valjakst, poluvaljkast, olučast), jer se ovaj karakter gubi posle presovanja, a neophodan je prilikom determinacije.

4. Trave, site, šaševi. Među ovim biljkama ima veoma visokih predstavnika (čak više metara), koje se moraju seći ili savijati u obliku slova N, M ili Z. U tom položaju se presuju u lepe na herbarski list. Ako je biljka predugačka, nekoliko isečenih segmenata (iz srednjeg dela stabla), mogu se izbaciti, no to treba svakako izbegavati. Prilikom lepljenja biljku obavezno orijentisati tako da koren bude prema donjoj ivici herbarskog lista (slika 53). Determinacija trava, šaševa i sita je prilično teška, pa zato u terenski dnevnik treba upisati neke karaktere cvasti, cveta i jezička (*ligula*), npr. prisustvo ili odsustvo listića pleva (*gluma*) i plevica (*pallea*), kao i stanje i dužinu oske (*arista*), njihovu dužinu u odnosu na druge delove (na primer, gornja pleva u odnosu na donju plevicu, položaj oske itd.), kao i dlakavost oboda rukavca.



Slika 53 Pravilan položaj trava na herbarskom listu [4]

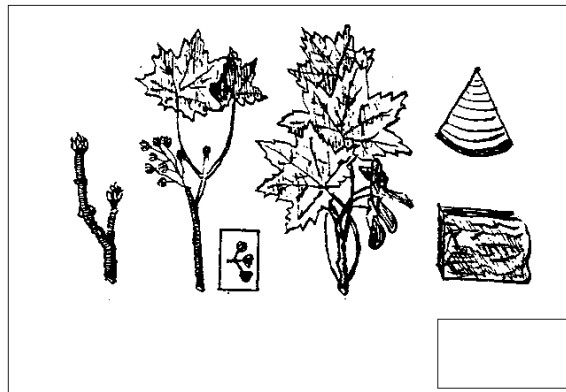


Slika 54 Herbarski list sa presecima sočnog ploda (krastavac) [4]

5. Biljke sa krupnim i sočnim plodovima. Krupni i sočni plodovi se ne presuju, nego se od njih prave vlažni preparati u staklenim teglama u 75% alkoholu ili u 4% formalinu. Izrada ovih preparata je veoma teška. Svi ovi plodovi imaju karakteristične boje te ne postoje jedinstveni fiksativi koji se mogu generalno preporučiti. Takođe, kod različitih plodova je različit efekat delovanja fiksativa na dehidraciju materijala i njegovu transformaciju. Sitnije sočne plodove možemo presovati, ali je potrebno ih pre presovanja zaseći na par mesta i presovati između više papira, koji se češće menjaju (svakih 12 sati). Prilikom sakupljanja ovakvih plodova važno je na terenu zapisati oblik, boju, veličinu itd. U novije vreme čak i od krupnih sočnih plodova (krastavac, bundeva) prave se suvi preparati. Prave se veoma tanki uzdužni i poprečni preseci, koji se presuju pažljivo u upijač hartiji, koja se menja svakih 2-3 sata, dok se najveća količina vlage ne upije. Ovi preseci se lepe pored biljke na herbarski list (slika 54). Pored ovih metoda danas su razvijeni i postupci liofiliziranja sočnih plodova koji se mogu primeniti kod većine sočnih plodova. Krupne grupe plodova mogu se sušiti na zajedničkoj osovini ili u cvetištu. Npr. kod rogoza (*Typha*) i kozlaca (*Arum*) plodovi se suše na osovini cvasti u laboratoriji, na sobnoj temperaturi, zatim se premažu bezbojnim lakom, da se sačuvaju od raspadanja. Kod glavočika (*Asteraceae*) sakuplja se mlada, još ne sasvim otvorena grupa plodova, koja se presuje zatvorena, a može da se štititi od raspadanja lakom. Kod ovih biljaka potrebno je imati i potpuno razvijene ahenije, jer su važne pri determinaciji, one se skladište u plastične ili kartonske kovertice. Zbog toga se sakupljaju zreli plodovi, ili se karakteri zapisuju u terenski dnevnik: npr. ahenija sa ili bez kljuna, nazubljenost gornjeg dela, broj uzdužnih rebara itd. Potpuno razvijeni plodovi kod glavočika mogu se dobiti i u laboratoriji na sledeći način: odseče se mlada još zatvorena grupa plodova sa cvetištem i delom stabla dužine od 5-6 cm, drži se uspravno na sobnoj temperaturi (na tankom štapiću ili žici). Usled ravnomernog sušenja, glavica će se postepeno otvoriti, a ahenije neće ispadati iz cvetišta [4].

6. Biljke sa trnovima i bodljama. Krupne bodlje pre presovanja neophodno je "omekšati", malo ih izlomiti i namestiti u jednu ravan, zatim presovati između puno papira ili tanjih dašćica. Ako su bodlje jako krupne i razgranate (*Gleditschia*) treba ih opisati u terenskom dnevniku, zatim odstraniti.

7. Drveće i žbunje. Od ovih biljaka se uzima deo grane sa listovima (malo manji od herbarskog papira). Sakupljaju se i grančice sa pupoljcima pre listanja. Na jednom herbarskom listu treba da budu: grančica sa pupoljcima, listovima (list se lepi i sa lica i sa naličja), cvastima ili cvetovima, plodovima, presek drveta (grane, starosti 3-4 godine) i kora. Kao detalj presuje se i deo cvasti (slika 55). Opšte je pravilo da se kod drvenastih biljaka (kao i kod četinara) uzimaju 3-5 grančica sa različite strane i visine krošnje. Treba uzimati što mlađe grane, ali što diferenciranije listove i što manje parče kore da se drvo ne bi oštetilo.



Slika 55 Herbarski list sa drvenastom biljkom [4]

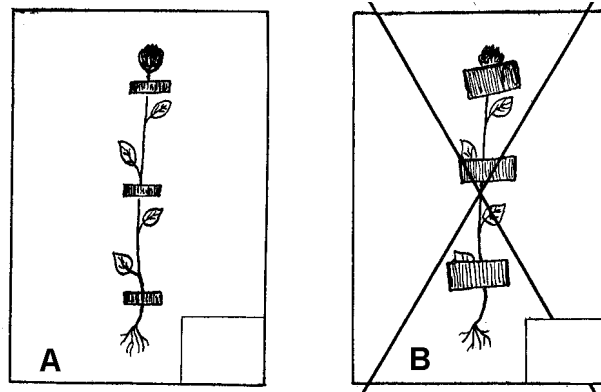
8. Parazitske, poluparazitske biljke i liane. Kod parazitskih, poluparazitskih biljaka, lijana sakuplja se i biljka domaćin i presuju se i suše zajedno. Kod lijana se uzimaju bočne grane da se glavno stablo ne bi oštetilo. Ako domaćina (biljku hraniteljku) ne sakupljamo, naziv te biljke se zapisuje u terenski dnevnik.

5.5 Aranžiranje primeraka za herbarske kolekcije

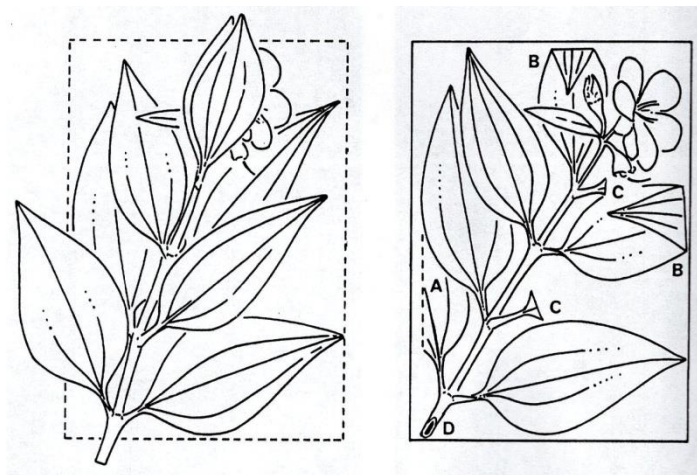
Osušene, po mogućstvu determinisane, biljke postavljaju se na herbarski list. Papir za herbarski list treba da bude čvrst, da se lako ne savija, da se ne bi izlomila nalepljena biljka. Boja papira može biti bela, svetlosiva ili svetložuta, a površina glatka ili hrapava. Papir za profesionalne, institucionalne zbirke se seče na veličinu 40x28 cm, 40x25 cm ili 57x31.5 cm. Poslednji format se presavija na polovinu duž duže strane, pri čemu se dobija dupli list, na donji se lepi biljka, a gornji služi kao zaštita. Biljke se lepe na herbarski list pomoću samolepljivih papirnih traka širine 3-5 mm. Selotejp treba izbegavati, jer se vremenom

5. HERBARSKI MATERIJAL, UZORKOVANJE, PREPARIRANJE I ČUVANJE

osuši, otpadne sa papira ostavljajući "mestan" providan trag. Lepljenje se vrši preko stabla, nikako preko cveta ili lista (slika 56).



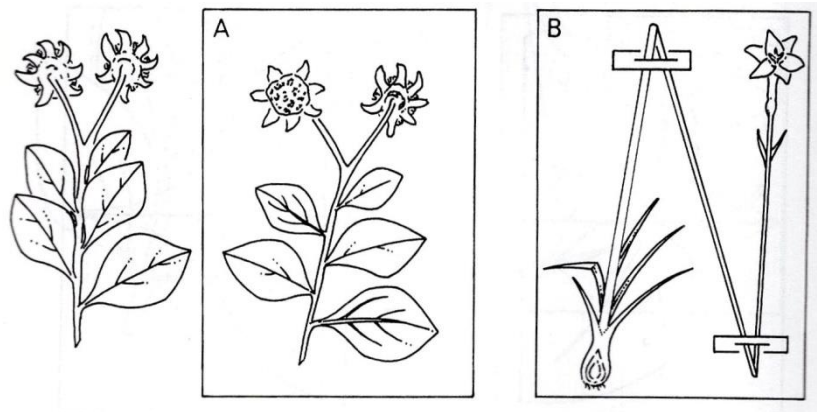
Slika 56 A. pravilno, B. nepravilno fiksirana biljka [4]



Slika 57 Aranžiranje primerka koji prevazilazi ukupnu veličinu herbarskog lista [5]

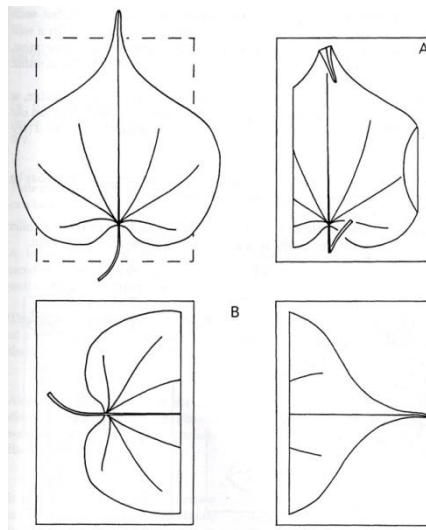
Pre lepljenja, posebno krupnijih primerak neophodno je izvršiti aranžiranje primerka na takav način da se vide uredno svi neophodni elementi, izbegavati da postoje listovi koji prekrivaju cvetove (slika 57), a ukoliko je potrebno i odstraniti neke listove. Kod primeraka koje poseduju cvasti sa involukrumom, barem jednu cvast okrenuti sa ventralne strane kako bi oblik, veličina i broj listića involukruma bili vidljivi (slika 58A). Takođe, ukoliko su primerci sa lukovicama mogu se uzdužnim rezom lukovice stanjiti (pogledaj gore), a preparirati ih i postaviti zajedno sa biljkom, kako bi se video položaj i odnos dužine prizemnih listova u odnosu na nadzemni deo stabla (slika 58B).

5. HERBARSKI MATERIJAL, UZORKOVANJE, PREPARIRANJE I ČUVANJE



Slika 58 Aranžiranje primerka sa glavičastim cvastima i lukovicom kao podzemnim organom [5]

Krupne listove treba (ispod vrha) nalepiti na herbarski list. Odsečeni, skinuti i posebno sušeni delovi se lepe pored biljke. Na jedan list, od krupnih biljaka lepi se jedan primerak, a od sitnih biljaka više primeraka, ali da list ne bude pretrpan. Po nekada, ukoliko su listovi zaista krupni mogu se aranžirati savijanjem pojedinih delova ukoliko to ne remeti pristup karakterima koji su važni u determinaciji (slika 59A) ili se mogu podeliti poprečnim rezom na dva dela (slika 59B).



Slika 59 Aranžiranje krupnih pojedinačnih listova [5]

Biljke na herbarskim listovima, posebno one nežnijeg habitusa mogu biti zaštićene celofanom. Svaki herbarski list mora da ima svoju etiketu sa neophodnim podacima. Lepe se u donji desni ugao i treba da sadrži sledeće, rukom ispisane podatke: familija, narodni naziv biljke, latinski naziv, stanište, lokalitet, datum, sakupljač. U profesionalnim, institucionalnim zbirkama, herbarima, etikete su obično formata 8x12 cm, a pored gore navedenih podataka može da sadrži i sledeće: naziv flore (Flora Vojvodine, Flore Kopaonika itd.), signaturu, inventarski broj (No.), ime legatora, sakupljača, (Leg.), determinatora, određivača (Det.) i eventualno ime onoga ko je revidirao determinisani materijal (Rev. det.).

5. HERBARSKI MATERIJAL, UZORKOVANJE, PREPARIRANJE I ČUVANJE

Preporučljivo je i ove etikete ispunjavati rukom. Broj od 40-50 herbarskih listova stavlja se u kartonske kutije ili u mape vezane platnenom trakom. U kutijama ili fasciklama biljke se mogu slagati jednim od opisanih modela uređenja herbarijuma.

6. IDENTIFIKACIJA

Postupak identifikacije nepoznatog organizma je izuzetno složen i zahteva pre svega, izuzetno poznavanje grupe organizama, te biologije, ekologije, uopšte životne istorije taksonomske grupe. Ono što je zajedničko za sve jeste dobro sakupljen materijal. Najveći problem u identifikaciji bilo kog organizma jeste neadekvatno sakupljen uzorak, koji taksonomu ne pruža dovoljno informacija, kako bi postupak identifikacije mogao da sprovede do kraja. Takođe, ne treba nikada izgubiti iz vida da ne postoje savršeni ključevi za determinaciju, te da u pojedinim situacijama nije moguće lako pronaći rešenje. Svaka grupa organizama se odlikuje svojom specifičnošću. Međutim i unutar velikih grupa postoje manje grupe kod kojih je postupak determinacije jednostavan, a naprotiv i grupe u kojima je to otežano. Ne postoji pravilo da su morfološki i evolutivno složeniji organizmi komplikovaniji za determinaciju. Naprotiv, u većini slučajeva je obrnuto. Odnosno jednostavniji organizmi nude manje prepoznatljivi set uočljivih osobina koje mogu biti važni karakteri u determinaciji vrsta.

Greške u determinaciji mogu biti objektivne i subjektivne. Objektivne greške se javljaju kao posledica same prirode materijala, njegove varijabilnosti i fenotipske plastičnosti. Širinu varijabilnog odgovora koju pojedini organizmi imaju u zavisnosti od variranja ekoloških faktora nekada nismo u stanju ni da predvidimo. Taj odgovor se odražava na setove struktura koji su elementi u procesu determinacije i samim tim postupak čine mnogo složenijim i otežanim. Čest slučaj je da se postupkom determinacije otkrivaju i novi oblici nastali kao posledica ekološke adaptabilnosti organizma. Sa druge strane subjektivne greške jesu u stvari posledica nedovoljne pripremljenosti istraživača u prikupljanju i pripremanju uzorka, u poznavanju njegove biologije i ekologije, u nedostatku iskustva u determinaciji odgovarajućih grupa i dr. Kada je u pitanju determinacija biljaka izdvojen je set preporuka za postupak determinacije [16] koje su veoma korisne.

PREPORUKE

- 1. Sakupiti potpuno razvijen primerak, voditi računa koje se biljke lako sakupljaju**
- 2. Odabrati ključ koji odgovara, geografski ili specijalizovani za tu grupu biljaka**
- 3. Obavezno pročitati uputstvo za korištenje tog ključa**
- 4. Pročitati obavezno svaku tozu i**

6.1 Specifičnosti determinacije pojedinih grupa biljaka

Imajući u vidu da su grupa **algi** najjednostavniji predstavnici kada je u pitanju unutrašnja građa i spoljašnja morfologija, pretpostavlja se da ne postoje problem u njihovoj identifikaciji. Upravo zbog ove jednostavne građe, njihova fenotipska plastičnost gotovo da nije ograničena. Morfološke karakteristike algi bilo kog tipa su izuzetno plastične te često opterećuju postupak identifikacije. To se podjednako odnosi na jednoćelijske, kolonijalne ili višćelijske oblike. Način uzorkovanja, tip i koncentracija konzervansa, gustina organizama u uzorku su najčešći tehnički problem prilikom rada sa algološkim materijalom. Kada su u pitanju makroalge, odnosno višćelijski oblici, istraživači moraju biti spremni na neverovatan diverzitet oblika. Determinacija se ne može bazirati na predloženim oblicima i veličinama, jer gotovo da ni jedan primerak ovih organizama sakupljen na terenu ne odgovara opisima ili crtežima u potpunosti. Step en izraženosti dihotomije, izraženost pojedinih struktura, prisustvo/odsustvo organa za razmnožavanje i sl su samo neki od kritičkih elemenata koji su važni u determinaciji makroalgi. Što se tiče boje kao osobine koja može da bude jedan od elemenata klasifikacije, kod ovih organizama ona pre svega nije postojana. Bilo kojom tehnikom prepariranja ili konzerviranja dolazi do neke, pa makar i minimalne promene. To se posebno vidi kod krupnih primeraka koji gubitkom veće količine vode, jednostavno izgube prepoznatljiv oblik (posebno kada se radi o predstavnicima sa sifonalnim ćelijama). Promene su izraženije ukoliko se prepariranje vrši klasičnim sušenjem materijala. Otežavajući elementi determinacije su i slaba očuvanost tipskog materijala i njihova nedostupnost. Takođe, lako propadanje sušenog materijala koji bi se koristio za upoređivanje je jedan od momenata koji u mnogome otežava rad u morfološkoj taksonomiji algi. Iz tih razloga jasno je da je determinacija algi najjednostavnija kada se one nalaze u koliko-toliko svežem stanju ili su adekvatno konzervirane u tečnom medijumu. Mnoge problem u diferenciranju vrsta pokušane su rešenjima koje bi ponudila biohemijska sistematika ove grupe. Pre svega se to odnosi na kvalitativni i kvantitativni sastav pigmenata. Međutim, generalno u živom svetu, biohemijski parametri nisu uvek pouzdani marker, posebno kada se pretpostavlja kvantitativni sastav. Na žalost mnogi od ovih momenata odvrćaju istraživače od rada u oblasti taksonomije algi, te se u ovoj oblasti primećuje nedostatak eksperata taksonoma.

Identifikacija **briofita**² je ponekad prilično zahtevan posao, kako zbog njihovih malih dimenzija, tako i zbog niza morfoloških specifičnosti koje nije lako uočiti bez odgovarajuće opreme. Veliki broj taksona briofita nije moguće determinisati na terenu čak ni do nivoa roda, zbog čega se identifikacija najčešće vrši u laboratoriji. Za efikasnu identifikaciju mahovina do nivoa vrste, potrebno je napraviti seriju anatomskih preseka različitih delova biljke i njihovo detaljno posmatranje pod mikroskopom. Pored morfoloških karaktera, od velikog značaja u identifikaciji su i neke ekološke karakteristike, kao što je tip podloge na

² Deo teksta o determinaciji mahovina pripremio docent Prirodno-matematičkog fakulteta Univerziteta u Novom Sadu, dr Miloš Ilić.

6. IDENTIFIKACIJA

kojoj se vrsta javlja. Prvi korak u identifikaciji briofita je uočavanje glavnih odlika, poput organizacije vegetativnog tela (talusno kod jetrenjača i rožnjača ili građeno od kauloida i fiolida kod mahovina), tipa grananja, boje i slično. Kod talusnih briofita (jetrenjače i rogljače) značajni taksonomski karakteri su oblik talusa, građa i raspored folijarnih izraštaja, podlistova (amfigastrija), položaj polnih organa kao i eventualno prisustvo stoma. Posebno značajan karakter u identifikaciji jetrenjača do nivoa vrste su i uljna tela prisutna u ćelijama talusa, čija su veličina, broj, oblik i boja specifične za vrstu. U identifikaciji mahovina, za prepoznavanje glavnih grupa se najpre uočava da li se radi o pleurokarpnim (polni organi se razvijaju na bočnim granama) ili akrokarpnim mahovinama (polni organi se razvijaju na vrhu kauloida). Takođe, značajni taksonomski karakteri su: filoidi (njihov oblik, veličina, raspored), kosta (zadebljanje od nekoliko slojeva ćelija u središnjem delu filoida koje može da doseže vrh listića ili se završava ranije, a takođe može biti i duplo ili da odsustvuje), alarne i marginalne ćelije filoida, postojanje sitnih izraštaja (papile ili mamile) na površini filoida, građa hijalocita (kod tresetnica), parafilije (epidermalni izraštaji na kauloidu, imaju jasan taksonomski značaj na nivou familija i rodova, a ponekad i vrsta). Jedan od najznačajnijih taksonomskih karaktera među mahovinama jeste i građa sporogona. Od karakteristika sporogona koji su veoma značajni u identifikaciji treba izdvojiti oblik, veličinu i način otvaranja čaure (kleistoikarpi i stegokarpi), građu sete, oblik operkuluma, kao i građu peristomskih zubaca.

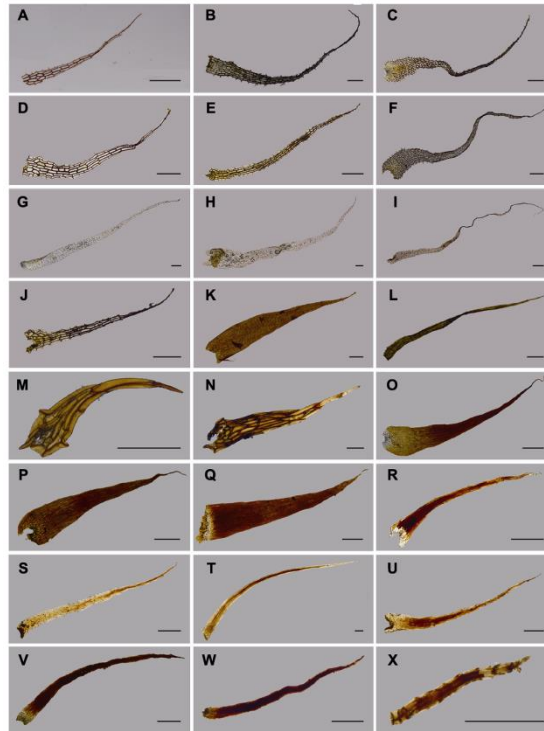
Vrste grupa **prečica, rastavića i paprati** se pre svega moraju analizirati uz obavezno uzorkovan deo biljke koji ima sporonosnu funkciju. Prikupljanje ovih biljaka je nezahvalno jer se može desiti da se ne pronađe ni jedan primerak sa sporofilima. U tom slučaju determinacija se mora zasnivati na vegetativnim organima koji su veoma varijabilni i nesiguran taksonomski karakter. I sami ključevi za determinaciju prečica su oslonjeni na vegetativne karaktere. Naime, sporangije teško opstaju u herbarskom materijalu u celini (raspadaju se). Prilikom determinacije vrsta unutar prepoznatljivih rodova pažnju treba posebno obratiti na odnose dužina fertilnih i sterilnih grana te pozicije fertilnih grana u odnosu na puzeće stablo. Jedan od važnih karaktera jeste broj izdvojenih sporofilnih klasova i njihova organizacija. U onim oblastima gde diverzitet prečica nije veliki determinacija i ne predstavlja veliki problem, jer je mali broj vrsta prisutan. Važni karakteri su veličina i mikroornamentika sporangija, oblik i obod listova i gustina njihovog rasporeda. U grupi rastavića determinacija je olakšana pre svega malim brojem vrsta u svetu. Naime ova homioisporna grupa je u istoriji pretrpela veliko osiromašenje broja vrsta. Determinacija ove grupe zahteva poiznavanje biologije ovih biljaka odnosno izražen sezonski dimorfizam koji je kod pojedinih predstavnika posebno izražen. Pred toga, značajan je i podatak da li se stome nalaze ispod ili iznad nivoa epidermis. Ovaj karakter je u segregaciji roda na podrodove gotovo odlučujući. Veličina i oblik centralne (šizogene) šupljine je determinišući karakter kod pojedinih vrsta (na primer razdvajanje vrsta *Equisetum variegatum*, *E. ramosissimum* i *E. hyemale*). Kod većine ostalih vrsta od posebnog značaja je opšti izgled fertilnog izdanka ili dela izdanka sa sporangioformnim

6. IDENTIFIKACIJA

klasom, kao i gustina i izgled, te pozicija grana na sterilnom izdanku ili sterilnom delu izdanka. Nasuprot rastavićima, grupa paprati je mnogo raznovrsnija, te daje prostora za širi spektar aktivnosti u oblasti proučavanja taksonomskih osobnosti, varijabilnosti karaktera te iznalaženje novih taksonomskih rešenja, opisivanje novih ili revitalizovanje zapostavljenih taksona. Kao i kod većine sporonosnih vaskularnih biljaka, neophodno je imati list koji nosi sporangije (sporofil ili trofosporofil). Svakako da pojedine grupe paprati zbog svojih specifičnih morfoloških karakteristika i jedinstvenog oblika trofofilia se lako određuju. To je uglavnom slučaj sa hidrofilnim (*Salvinia*, *Azolla*) ili higrofilnim vrstama (*Marsilea*, *Pilullaria*), mada i pojedine terestrične vrste (*Asplenium scolopendrium*) imaju veoma prepoznatljive lisne ploče i ne zahtevaju posebne organi prilikom determinacije. Međutim, kod pojedinih grupa, posebno u okviru Polypodiaceae (Dryopteridaceae) izdvajaju se neki manje upadljivi karakteri koji uspešno određuju vrstu. Kao takav se javlja oblik, veličina i izgled ljuspi koje se nalaze na lisnoj drški kod mnogih predstavnika (slika 61).

Ono, što je posebno jasan i taksonomski vredan karakter jeste oblik induzijuma kod onih grupa paprati koje ih imaju. Oblik induzijuma, pozicija sorusa i način otvaranja su veoma vredne informacije u determinaciji paprati. Ponekad su to ključni karakteri posebno u porodici Aspleniaceae. Pored oblika koji je veoma karakterističan i predstavlja *species specificum*, važno je prepoznati stanje sorusa (otvoren, zatvoren,...) i koristiti takve informacije u determinaciji. U okviru trofofila ili trofosporofila posebno su važni karakteri dubine ureza, oblika i veličine reženjeva listova, njihova međusobna udaljenost, obod reznja, postojanje sekundarnih reženjeva i dr., kao i oblik baze liske trofofila. Za grubu klasifikaciju se po nekada može koristiti i odnos dužine lisne drške i lisne ploče. Mikromorfologija spora nije se pokazala kao karakter visoke taksonomske značajnosti. Karakteristike mikromorfologije sporangija i spora kod paprati, veći značaj imaju kod dokazivanja filogenetskih relacija sa pojedinim krupnim grupama paprati u odnosu na razlike između vrsta []. U okvirima velikih porodica (Aspleniaceae, Polystichaceae, Dryopteridaceae i dr) determinacija vrsta je bazirana na karakteristikama trofofilnih listova, dok je većina drugih porodica sa znatno manjim brojem vrsta i specifičnijom morfologijom. Iz tih razloga unutar tih porodica je razvijena i infraspecijska varijabilnost te se kod njih ona najčešće i javlja, a i opisan je znatan broj novih infraspecijskih taksona. Vodene paprati, posebno u našem okruženju, su malobrojne, vrlo su prepoznatljive i lako se prepoznaju.

6. IDENTIFIKACIJA



Slika 61 Diverzitet oblika ljuspi na listnim drškama kod paprati [7]

Grupa **golosemenica** je veoma specifična i s obzirom da se radi o isključivo drvenastim predstavnicima smatra se jednostavnom za determinaciju. Ono što je neophodno su pre svega, šišarke (najbolje sa semenom) i listovi (četine, iglice). Međutim kvalitet sakupljenog materijala može biti presudan u slučaju da se determinacija svodi na primer na boju semena (što je slučaj kod nekih infraspecijskih oblika u rodu *Abies*). Oblik, dužina, oblik vrha i raspored stoma su odlučujući karakteri kod većine vrsta ove grupe. Za razlikovanje rodova koriste se i raspored listova, prisustvo/odsustvo kratkih izdanaka, broj listova na brahiblastu i dr. Po nekada, se determinaciji može pristupiti i samo na osnovu izgleda šišarki. Međutim, generalno posmatrano, setovi taksonomskih karaktera kod golosemenica su u osnovi konzervativni, slabo promenljivi te se svode na sledeće: oblik krošnje, tip grananja, izgled kore, izdanci, izgled listića u pupoljcima njihov međusobni odnos, položaj, oblik i veličina lista, kao i njegova tvrdoća i oblik poprečnog preseka, oblik ljuspi u mladim šišarkama, te opšte karakterisitke zrele šišarke i oblik, veličina i boja semena [7, 22].

Najveća grupa vaskularnih biljaka, **skrivenosemenice**, koja je počevši od krede naselila sve prostore na Zemlji i pokazala strašnu evolutivnu moć, prvenstveno zahvaljujući izuzetnim koevolucionim odnosima sa grupom insekata, ali i drugih oprašivača, predstavlja poseban izazov za taksonomski rad. Naime radi se o čitavom spletu oblika i gotovo obligatnoj infraspecijskoj varijabilnosti. Unutar cvetnica pored klasičnih podela na dikotile i monokotile, može se slobodno postaviti i jedna veštačka podela na biljke koje se lako i one koje se teško determinišu. I unutar takvih grupa izdvajaju se pojedini rodovi koji svojim morfološkim karakteristikama zadaju problema istraživačima u njihovoj uspešnoj determinaciji. Ovakve grupe često se nazivaju *crux botanicorum*. Ne postoji biljni organ koji

6. IDENTIFIKACIJA

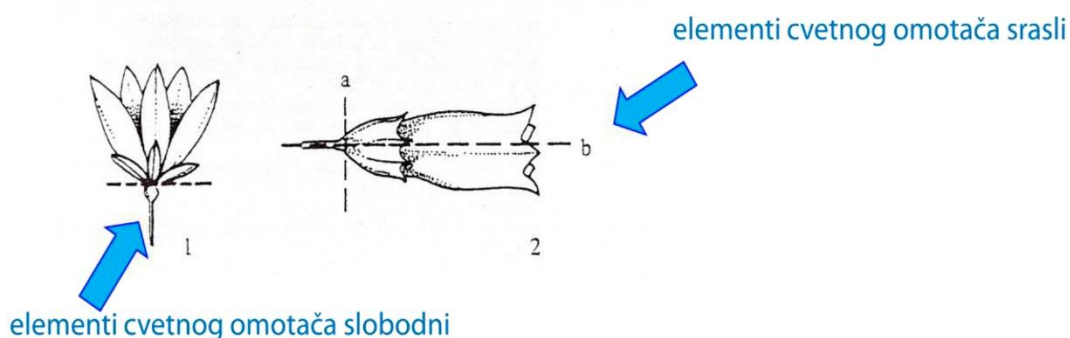
se ne upotrebljava u determinaciji vrsta ili viših kategorija, uključujući i podzemne organe njihov izgled, boju, veličinu i građu.

Izrada ključa za determinaciju porodica cvetnica je izuzetno zahtevan posao. Pojedina morfološka rešenja su prisutna kod nekoliko paralelnih grupa, te njihovo razdvajanje zahteva višestepenu proceduru odbacivanja osobina. Pored toga na prašnicima, plodnicima, nektarijama, ali i kod mnogih drugih delova mogu se uočiti specifične strukture, privesci izraštaji, proširenja i slično. Kao posebno važna tehnika prilikom determinacije cvetnica jeste raščlanjivanje cveta i posmatranje i analiza njegovih delova (slika 61). Po nekada je za ovakav tip analiza neophodno da se izvrši otvaranje sraslih struktura na biljkama. Pre svega radi se o srastanju delova cvetnog omotača, koji se za potrebe taksonomske analize mora otvoriti (disekovati), ravnim i paralelnim rezom. Najpre se radi ravan rez duž dužinske linije simpetalne krunice do baze krunice (*incisio longitudinem corona sympetala*). Nakon toga otvara se duž linije srastanja simpetalnog zvona, pri bazi listića koji su međusobno srasli (*incisio horizontali ad basin corona sympetala*) (slika 62).



Slika 61 Raščlanjivanje cvetova i njegovo aranžiranje

početni delovi za razdvajanje delova cveta

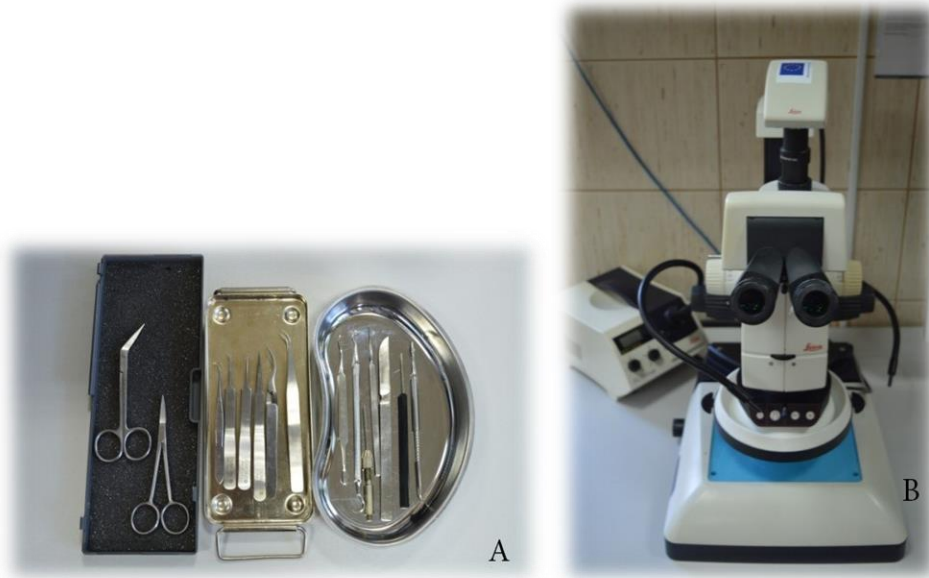


Slika 62 Pravci rezanja krunice pri disekciji

Raščlanjeni delovi cveta se najčešće postavljaju na staklenu ploču kako bi se njima lakše manipuliralo i mogli da se postavljaju ispod optičkih uređaja. Za disekciju i otvaranje

6. IDENTIFIKACIJA

cvetova koriste se setovi instrumenata (slika 63A) koji mogu što preciznije da obave aktivnosti oko otvaranja i pravilnog raščlanjivanja a da pri tome ne oštete cvetove. Dobile strukture i presece posmatraju se na optičkim uređajima na kojima se mogu sprovesti snimanja i merenja (slika 63B).



Slika 63 Oprema za disekovanje i posmatranje preparata cvetova:

A Instrumenti za disekciju i raščlanjivanje cvetova, **B** binokularna lupa

Kod akvatičnih cvetnica u determinaciji treba izbegavati neke od kvantitativnih i kvalitativnih osobina. Oslanjati se uglavnom treba na specifične strukture, kao i na evolutivna rešenja prisutna kod pojedinih rodova. Veliki broj vrsta menja ekološki važne karaktere prema uslovima koji su drugačiji u odnosu na kopno. Izražena heterofilija, povećana površina submerznih listova, translokacija mehaničkih elemenata u unutrašnjoj organizaciji biljaka, razvijene intracelularne šupljine, redukcija korenovog sistema su samo neke od osobina koje karakterišu grupe vodenih biljaka – hidrofita, a koje imaju direktnu ili posrednu informaciju važnu za uspešnu determinaciju. Pored toga ne izostaje ni infraspecijska varijabilnost, a možda je i povećana. Uzmimo za primer samo različitost oblika terestrične i akvatične forme jedne iste vrste (Na primer različite forme vrste *Persicaria amphibia* ili *Nymphaea alba*).

6.2 Determinacija biljnog materijala iz herbarijskih uzoraka – izrada preparata za morfometriju cvetova³

Determinacija se podjednako uspješno sprovodi na svežem kao i na presovanom herbarskom materijalu. Međutim, često su cvetovi gotovo neupotrebljivi te je za njihovo posmatranje, disekovanje, ali i sprovođenja morfometrijskih aktivnosti neophodno napraviti dobre preparate cvetova.

Prikupljeni uzorci biljnog materijala se mogu čuvati u suvom ili vlažnom stanju. Ukoliko je cilj da materijal bude sačuvan u suvom stanju, on se presuje standardnom metodom, dok se za potrebe pravljenja „mokre zbirke“ biljni materijal pakuje u plastične ili staklene posude u koje se dodaje rastvor etanola (od 50 do 90%) i eventualno glicerol. Tako sačuvane biljke u rastvoru etanola i glicerola se odmah mogu koristiti za merenje upotrebom nonijusa ili lenjira ili digitalizovati upotrebom skenera ili fotoaparata. Prednost ovakve prezervacije biljnog materijala je u tome što biljne strukture i organi zadržavaju svoj oblik, ne dolazi do slepljivanja struktura i lako mogu biti isečene i odvojene. Osušen, odnosno ispresovan biljni materijal zahteva obradu, koja najčešće podrazumeva rehidraciju biljnog materijala, dodavanjem rastvora etanola i glicerola ili deterdženta, uz eventualno zagrevanje u mikrotalasnoj pećnici ili dodavanjem zagrejjane vode. Rastvor etanola i glicerola ili deterdženta uz eventualno zagrevanje omogućava manipulaciju biljnim materijalom, a da pri tome ne dolazi do kidanja, tj. moguće je razdvajanje ili sečenje i širenje biljnog materijala uz eventualno fiksiranje na staklene površine. Tako disekovan i razdvojen materijal dalje može biti korišćen za merenje. Prednosti merenja biljnog materijala u laboratoriji se kriju u mogućnosti dužeg rada sa materijalom, a time i izmenom prvobitnih protokola, uz naknadno dodavanje karaktera ili čitavih organa koji nisu bili predviđeni istraživanjem. Ukoliko su biljni organi sitnijih dimenzija, mora se koristiti stereomikroskop sa ili bez kamere, u zavisnosti od toga da li se merenje vrši odmah bez pravljenja fotografija ili skenova. Ukoliko se materijal digitalizuje kamerom, fotoaparatom ili skenerom uz uveličanje, fotografije se čuvaju u JPG ili TIFF formatu, a potom analiziraju upotrebom različitih softvera, kao što su Digimizer, MorphoJ, MASS u zavisnosti od karaktera koji se mere, kao i cilja samog istraživanja.

Primer 1. Izrada preparata i merenje cvetova i brakteja predstavnika monokotila sa sraslim listićima cvetnog omotača – rod *Anacamptis* (fam. Orchidaceae)

Sa svake herbarizovane jedinice uzima se po jedan cvet sa braktejom, koji se nalazi na 1/3 do 1/2 dužine od baze do vrha cvasti, zbog ublažavanja efekta znatnog smanjenja veličine cvetova i njegovih delova duž osovine cvasti [2]. Nakon toga se cvet rehidriše u vodenom etanolnom-glicerolnom rastvoru (alcohol:voda:glicerol=4:4:2), uz termičku obradu, a zatim

³ Tekst ovog poglavlja priredili docent dr Boris Radak i asistent sa doktoratom dr Bojana Bokić, Univerzitet u Novom Sadu Prirodno-matematički fakultet.

6. IDENTIFIKACIJA

i disekuje. Disekcija podrazumeva odvajanje svih delova cveta skalpelom i pincetom uz korišćenje stereomikroskopa i njihovo postavljanje između dve predmetne pločice, koje se potom lepe sa obe strane providnom lepljivom trakom, čime se stvara privremeni preparat. Cvet se razdvaja na sledeće delove: brakteja, plodnik, ostruga, labelum, bočni sepali (2), petali (2) i dorzalni sepal. Privremeni preparati se zatim digitalizuju upotrebom skenera uz postavljanje lenjira, a tako dobijene slike u TIFF formatu preparata visoke rezolucije (2400 dpi) koriste se u morfološkoj i analizi metričkih karakteristika u programu Digimiser uz obično (slika 64) ili invertovano osvetljenje (Slika 64).



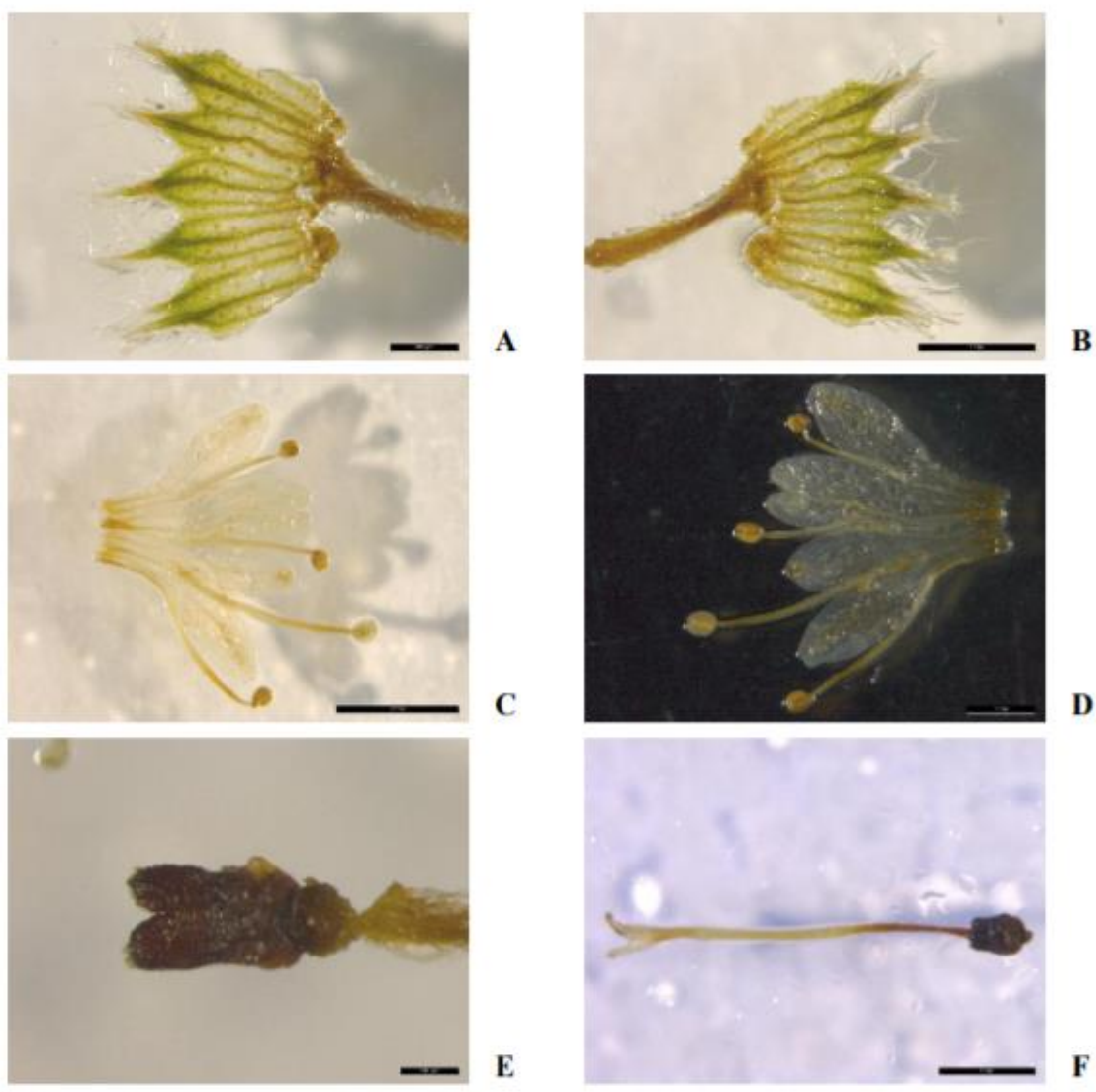
Slika 63 Preparat disekovanog cveta taksona *A. laxiflora* subsp. *laxiflora*



Slika 64 Preparat disekovanog cveta taksona *A. laxiflora* subsp. *laxiflora*, invertovno osvetljenje

Primer 2. Izrada preparata i merenje cvetova predstavnika dikotila sa sraslim listićima cvetnog omotača – rod *Mentha* (fam. Lamiaceae)

6. IDENTIFIKACIJA



Slika 65 Fotografija disekovanog cveta roda *Mentha*;
A i B – čašica, C i D – krunica, E – plodnik, F – stubić i žig

Sa svake ispresovane biljke odvaja se po nekoliko cvetova iz središnjeg dela vršne cvasti jer su oni najčešće potpuno otvoreni, razvijeni, a tokom cvetanja još uvek nije došlo do sušenja prašnika i obrazovanja plodova. Cvetovi se pre disekcije i fotografisanja ubacuju u staklene ili plastične bočice volumena do 50 ml i prelivaju sa 15 ml etanola (96%) i nekoliko kapi glicerola, a potom i 15 ml ključale vode. Flašice se zatvaraju plastičnim poklopcem i ostavljaju od 12 do 24 h da stoje. Nakon toga, cvetovi se disekuju uz korišćenje skalpela i pincete. Disekcija obuhvata pravljenje uzdužnog reza na čašici i krunici, njihovo otvaranje i širenje, vađenje plodnika sa stubićem i žigom i postavljanje svih ovih delova u odgovarajući položaj na predmetno staklo koji se potom zasebno fotografišu (sa obe strane u slučaju čašice i krunice) (slika 66) uz upotrebu kamere i stereomikroskopa Leica i čuvaju u TIFF formatu, a analiziraju u programu Digimizer ili Leica.

7. UPOREDNO-MORFOLOŠKA ISTRAŽIVANJA VARIJABILNOSTI BILJAKA

Morfometrijska istraživanja podrazumevaju skup tehnika koji se primenjuju tokom merenja ili brojanja kvantitativnih karaktera kod biljaka. Morfometrijska istraživanja se mogu izvoditi na svežem biljnom materijalu u sklopu terenskog rada ili na sakupljenom i na različit način sačuvanom biljnom materijalu u laboratoriji. U zavisnosti od odabira karaktera koji se mere, njihove veličine, teksture, simetrije i strukture, cilja i vrste analize koja se sprovodi, vremena koje je predviđeno za terenski rad i dostupnih finansijskih sredstava, pristupa se odabiru, odnosno donosi se odluka na koji način će se vršiti morfometrijsko istraživanje. Merenje u laboratoriji je možda proces koji zahteva više koraka koji su prikazani u tabeli 3, ali omogućava gotovo neograničeno vreme rada sa biljnim materijalom, ponavljanje nekih analiza ili izmenu istraživanja u bilo kom trenutku.

Tabela 3 Redosled tehnika koje se primenjuju u toku morfometrijskih istraživanja u botanici

merenje biljnog materijala na terenu	merenje biljnog materijala u laboratoriji ↓	
	sakupljanje biljnog materijala ↓	
	pakovanje biljnog materijala u rastvore alkohola i glicerola ↓	presovanje biljnog materijala standardnom metodom ↓
		rehidracija biljnog materijala uz termičku obradu ↓
	rašćlanjivanje ili disekovanje biljnog materijala uz eventualno fiksiranje ↓	
	fotografisanje/skeniranje	

U slučaju direktnog merenja na terenu biljnog materijala koji je svež, nije potrebno dodatno obrađivati materijal, a za merenje se mogu koristiti pomična merila (nonijusi) različitog nivoa preciznosti, šublerske trake i lenjiri. Jedna od prednosti merenja biljnog materijala na terenu je to što se sve analize rade na svežem biljnom materijalu, čiji oblik, struktura i simetrija nisu narušeni nekim od tipova pakovanja i čuvanja, te nema potrebe za bilo kakvom obradom materijala, a dobija se i manja greška, odnosno rezultati veće preciznosti. Na primer, populacione analize koje uključuju merenje karaktera većeg broja

jedinki neke populacije kako bi se dobila što reprezentativnija slika i rezultati se obično vrše na terenu. Ipak, mora se napomenuti da takva istraživanja zahtevaju mnogo vremena koje će istraživač provesti na terenu. Takođe, ugroženi taksoni i populacije koje su male, nestabilne i sa tendencijom opadanja ne bi trebalo da se sakupljaju u većem broju, te je za njih idealno sprovođenje morfometrijskih istraživanja na terenu, bez uzorkovanja ili sa uzorkovanjem veoma malog, ograničenog broja jedinki. Međutim, kako neke vrste imaju cvetove ili druge organe (brakteje, nektarije, listove) sitnijih dimenzija, ili cvetove čiji su cvetni omotači srasli, a cilj je morfometrijska analiza pojedinačnih delova, neophodno ih sakupljati, čuvati i obrađivati u laboratoriji uz korišćenje stereomikroskopa i gotovo ih je nemoguće uraditi u toku terenskih istraživanja.

Da bi morfometrijska istraživanja u laboratoriji mogla da budu sprovedena neophodno je nekoliko osnovnih koraka:

- 1) sakupljanje biljnog materijala za analize
- 2) obrada biljnog materijala u cilju čuvanja
- 3) priprema biljnog materijala za merenje
- 4) merenje biljnog materijala⁴

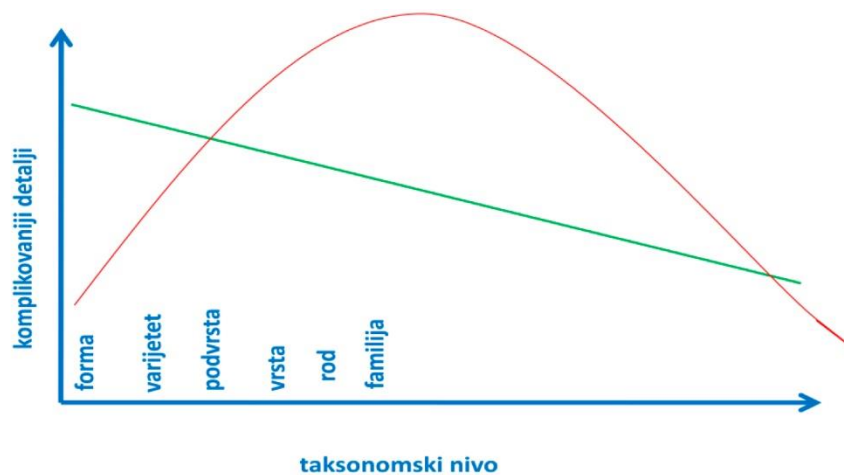
Postupak rehidratacije i pripreme za merenje opisan je u prethodnom poglavlju.

7.1 Odabir karaktera i rad sa karakterima

Metoda uporednomorfoloških analiza podrazumeva nekoliko sukcesivnih radnji. Pre svega je to odabir vrste koja će se obrađivati, u zavisnosti od potreba za ovakvom analizom. Ukoliko se radi o filogenetskim analizama, poželjno je da sve vrste imaju dobro definisane opise. Ukoliko se radi o potrebi istraživanja varijabilnosti i eventualno prepoznavanja novih taksona, potrebno je sakupiti što više podataka o morfološkim svojstvima vrsta iz različitih izvora. Iz postojećih opisa izdvajaju se karakteri ili osobine. Karakteri imaju svoju taksonomsku, ali i evolutivnu vrednost [9], oni su komplikovaniji što se analiziraju taksoni nižeg taksonomskog ranga i njihova kompleksnost je obrnuto proporcionalna visini taksonomskog ranga (slika 66). Odabir karaktera nije povezan na principu jedan organ jedan karakter.

⁴ Tekst uvodnog dela ovog poglavlja su pripremili dr Boris Radak docent i dr Bojana Bokić, asistent sa doktoratom, Univerzitet u Novom Sadu Prirodno-matematički fakultet.

7. UPOREDNO-MORFOLOŠKA ISTRAŽIVANJA VARIJABILNOSTI BILJAKA



Slika 66 Odnos taksonomskog nivoa i kompleksnosti morfološkog karaktera

Opservacijom literature prikupljaju se svi karakteri koji su od važnosti u determinaciji odabranog taksona. U obzir se uzimaju i karakteri koji su pokazali izuzetno varijabilnost, ali i oni čija varijabilnost nije naročito istražena. Prilikom uporedno-morfoloških istraživanja, kao i kod determinacije u obzir se uzimaju osobine ili karakteri - **morfološki karakteri** koji se **opisuju, mere i upoređuju**, a zatim se na osnovu tih saznanja procenjuju sličnosti i razlike između pojedinih taksona. Morfološki karakteri se dele na kvantitativni - merne i kvalitativne – opisne. Dodatno kvantitativni karakteri se dele na morfometrijske (u kojima se mere dimenzije) i merističke (u kojima se prebrojava zastupljenost pojedinih traženih osobina). Oba osnovna tipa karaktera se posmatraju kako na vegetativnim, tako i na generativnim organima. Na osnovu prikupljenih informacija vrši se odabir osobina/karaktera koji će se posmatrati i analizirati na jedinkama. Na osnovu odabranih osobina kreira se protokol analize (slika 67).

Po nekada je jasnije ukoliko uz protokol morfološke analize, radi preciznijeg definisanja kvantitativnih morfometrijskih karaktera daje i crtež biljke na kojoj su označene dimenzije koje se mere, te se na taj način definišu tačke i linijski parametri koje treba premeriti (slika 68). Prilikom uzimanja kvalitativnih (opisnih osobina), unapred se definišu oblici koji se obeležavaju numerički. Na taj način se pripremaju podaci za dalju obradu. Opisni karakteri se javljaju u jednom, dva ili više stanja. Svako stanje opisnog karaktera je subjektivno definisano i traži od istraživača maksimalnu posvećenost i realan pristup postupku uzimanja podataka.

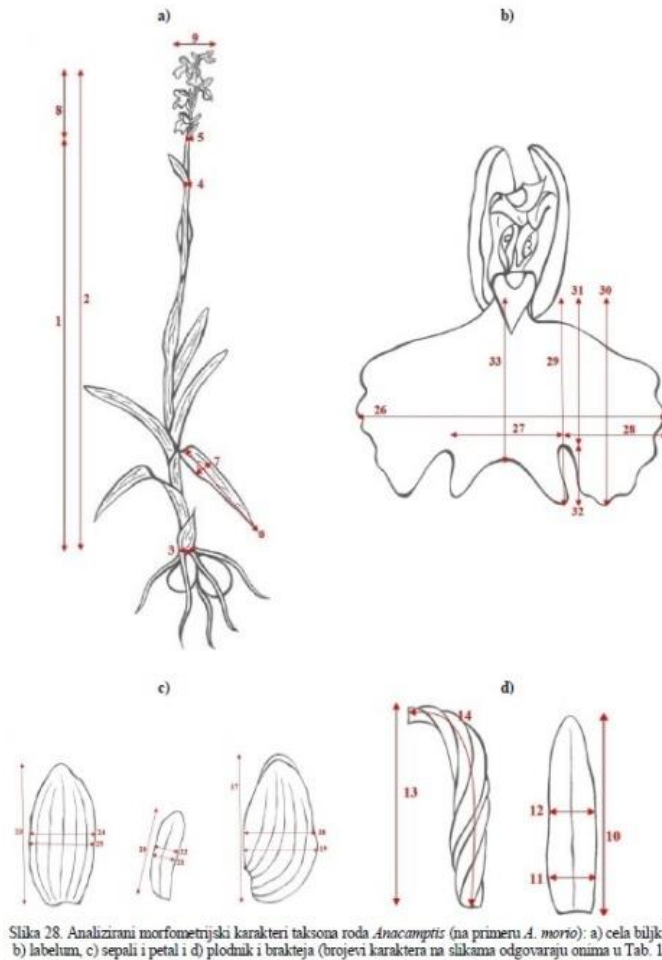
7. UPOREDNO-MORFOLOŠKA ISTRAŽIVANJA VARIJABILNOSTI BILJAKA

Tabela 1. Analizirani kvantitativni i kvalitativni morfološki karakteri roda *Mentha*

Karakteristi vegetativnog dela biljke i cvasti			
Organ	Kvantitativni karakteri		Kvalitativni karakteri
	Morfometrijski karakteri	Meristički karakteri	
Stablo	1) visina do gl. cvasti 2) dužina c. memodije	1) br. nodusa	1) položaj 2) grananje 3) tip dlaka
List	3) dužina 4) širina na sredini 5) širina pri bazi 6) dužina zubića na obodu 7) razmak između zubića na obodu	2) br. zubića	4) oblik 5) baza 6) vrh 7) obod 8) tip dlaka na naličju
Gl. cvast	8) dužina 9) širina		9) tip 10) međusobni odnos nodusa
Brakteja	10) dužina 11) širina u bazi		11) izgled
Karakteristi generativnog dela biljke (cvet)			
Čašica	12) širina zubića 13) dužina zubića 14) dužina cevi 15) ukupna dužina čašice (11+12)	3) br. nerava 4) br. zubića	
Krunica	16) širina pri bazi 17) širina na mestu nastanka f. 18) dužina ispod nastanka f. 19) dužina ispod odvajanja f. 20) max. dužina src. r. 01 21) max. širina src. r. 01 22) dužina bo. r. 02 23) max. širina bo. r. 02 24) dužina bo. r. 03 25) max. širina bo. r. 03 26) dužina n. r. 04 27) max. širina n. r. 04	5) br. režnjeva	
Prašnici	28) dužina f. 01 29) dužina f. 02 30) dužina f. 03 31) dužina f. 04 32) prosečna dužina f. 33) dužina a. 01 34) dužina a. 02 35) dužina a. 03 36) dužina a. 04 37) prosečna dužina a.	6) br. prašnika	
Plodnik	38) dužina		
Stubić	39) dužina		
Zig	40) dužina		
Odnos 1) dužine zubića i cevi čašice			
Legenda: gl. – glavne/glavna, c. – centralne, max. – maksimalna, f. – filament, src. r. – srcasti rezanj krunice, bo. r. – bočni rezanj krunice, n. r. – „najduži” rezanj krunice, a. – antera, br. – broj			

Slika 67 Protokol morfološke analize vrsta roda *Mentha* [3]

7. UPOREDNO-MORFOLOŠKA ISTRAŽIVANJA VARIJABILNOSTI BILJAKA



Slika 68 Crtež analiziranog taksona sa označenim dimenzijama koje se obrađuju morfometrijski [18]



Slika 69 Primer kvalitativnog karaktera *obod lista* koi se javlja u četiri stanja

Primer oboda lista (Slika 69) ilustruje način uzimanja podataka o opisnom karakteru koji se u uzorku javlja u četiri stanja. To znači da je istraživač pregledao kompletnu zbirku i pre početka uzimanja podataka definisao stanja karaktera *obod lista* u četiri stanja, te pregledavajući primerke konstatuje i daje oznaku svakom primerku po pitnju ove osobine/karaktera. Broj stanja u kojima se mogu javiti pojedini karakteri varira. Ukoliko se javlja u samo jednom stanju, takav karakter mora da se isključi iz daljih analiza. To je možda važna osobina koja ovaj takson izdvaja od drugih, ali ne doprinosu pojavi novih. Maksimalni broj stanja koje možemo definisati nije određen, međutim kako sledi obrada podataka nekim od softverkih paket, najbolje je kvalitativni karakter definisati u maksimalno deset stanja.

Za merenje se mogu koristiti softverski paketi, međutim po nekada posebno za veće dimenzije moramo upotrebiti neke od klasičnih modela uzimanja mera. Pre svega se tu misli na pomično merilo sa nivoom preciznosti od 0.01mm (slika 70). Podaci prikupljeni u protokolima unose se u bazu podataka koja predstavlja osnovu za statističke analize.



Slika 70 Merne alatke: pomično merilo (nonijus), lupe sa baždarenom skalom i lenjir

7.2 Mikromorfološka istraživanja i citološke analize

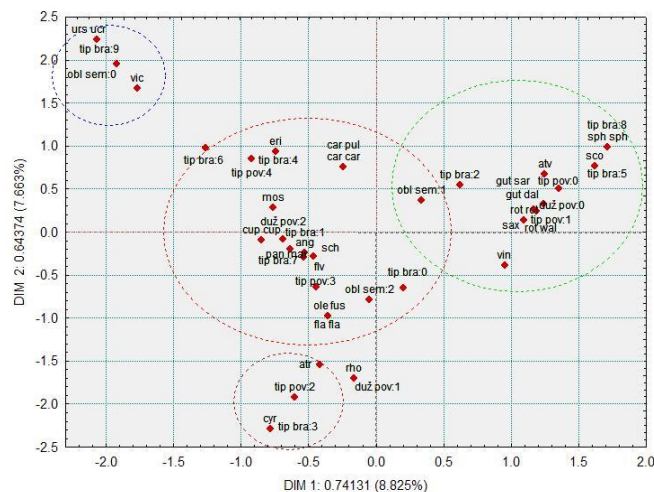
Sakupljanje semena se najčešće vrši nakon spontanog otvaranja plodova, tj. u fazi pune zrelosti, na autohtonim staništima, a polena u fenofazi punog cvetanja. Semena se suše i pohranjuju u sterilne dehidratirane viala i čuvaju se kao deo kolekcije Herbarijuma. Polen se sakuplja iz otvorenih cvetova, iz kojih se uzimaju antere. Antere se suše u eksikatoru, a potom otvaraju. Na semenima i polenu se može posmatrati veći broj karaktera i to kako niz kvantitativnih, tako i kvalitativnih karaktera (tabela 4).

Tabela 4. Mikromorfološki karakteri semena i polenovog zrna vrsta roda *Allium* L. [1]

seme	poenovo zrno
kvantitativni karakteri	
1. dužina semena	1. dužina polenovog zrna
2. širina semena	2. širina polenovog zrna
3. dužina/širina semena	3. index polenovog zrna
4. dužina poligona	
5. širina poligona	
6. dužina/širina poligona	
kvalitativni karakteri	
7. oblik semena	4. oblik
8. karakteristike semenjače	5. površina
9. tip talasastog povezivanja poligona	

Primer koji je dat vršen je na uzorku od 27 taksona roda *Allium* na području Srbije. Mikromorfološka ispitivanja vrše se na semenima i polenu sakupljenim u prirodnim populacijama ili ekstrahovanim iz herbarijumskih kolekcija. Morfologija semena se može posmatrati pomoću binokularne lupe. Mikromorfološka posmatranja semenjače i polenovih zrna se vrše na Skening elektronskom mikroskopu (SEM). U postupku se koristi uređaj na kome se vrše snimanja sa naponom ubrzanja 25kV. Priprema uzorka vrši se neparavanjem čistim zlatom u trajanju od 180 sec., strujom od 30mV na radnoj distanci od 50mm. Odabrani karakteri se nakon obrade prevode u kodirano stanje. Rezultati se takođe analiziraju putem statističkih operacija. Pored osnovnih statističkih parametara, sprovode se i statističke analize iz seta multivarijantnih analiza. Rezultati ovakvih analiza daju mogućnost analiza taksonomskih relacija vrsta u sistemima infrageneričkog grupisanja vrsta ili filogenetskih analiza baziranih na specifičnim i visokovrednim karakterima. Na daljem primeru (slika 71) prikazani su rezultati multivarijantne korespondentne kanonične analize CCA (vidi dalje) koja je bazirana na karakterima i njihovim stanjima opisanim u tabeli 4. Kombinacije karaktera i njihovih stanja u grafičkom prostoru korespondentnih osa dale su raspored analiziranih 27 taksona u četiri grupe koje u mnogome oslikavaju filogenetski raspored vrsta u aktuelne sekcije [1]. Ova tehnika je veoma primenljiva u analizi varijabilnosti kao i u taksonomskim razgraničavanjima vrsta i podvrsta.

7. UPOREDNO-MORFOLOŠKA ISTRAŽIVANJA VARIJABILNOSTI BILJAKA



Slika 71 Rezultati analize kvalitativnih osobina mikromorfoloških karaktera semena kod vrsta roda *Allium* L. na području Srbije [1]

Za citogenetička istraživanja⁵, sakupljeni korenčići se stavljaju direktno u bočicu sa tekućom hladnom vodom. Bočica u koju se uzorci spremaju treba da sadrži sve podatke o poreklu materijala (vrsta, datum, lokalitet, ili ekvivalentna šifra).

Kada su korenčići sakupljeni dalji koraci se odvijaju u kontinuitetu.

1. Tretman inhibitorom

Kako bi se u uzorkovanom svežem materijalu obezbedio dovoljan broj ćelija u odgovarajućoj fazi ćelijske deobe (metafaza), preporuka je odmah nakon sakupljanja pristupiti postupku tretmana inhibitorom ćelijske deobe. Dva najčešće inhibitora u upotrebi su: kolhicin i 8- hidroksikvinolin.

Zavisno od vrste koja se analizira i tretman inhibitorom treba prilagoditi. Koncentracija, temperatura radnog okruženja i vreme trajanja tretmana se pri tome razlikuju. Za tretman je potrebno prethodno ukloniti vodu u kojoj se do tad čuvao materijal. Količina inhibitora je proizvoljna, odnosno potrebno je potopiti korenčiće.

Primer: za pripremu kod akvatičnih vrsta, kao na primer kod roda *Potamogeton* preporučuje se upotreba 0.002 M 8-hidroksikvinolina na 4 °C, u trajanju od 12 h, dok se za lukovičaste biljke preporučuje 0.05M kolhicin u trajanju od 60 minuta, na sobnoj temperaturi

2. Fiksiranje i čuvanje

Kada je tretman inhibitorom gotov, materijal se fiksira. Ovaj postupak podrazumeva prethodno uklanjanje tečnosti inhibitora, a zatim ispiranje materijala tekućom vodom. Tada

⁵ Deo o citogenetičkim analizama pripremila kustos herbarijuma BUNS, naučni saradnik dr Milica Rat, Univerzitet u Novom Sadu Prirodno-matematički fakultet

se dodaje odgovarajuć fiksativ, po preporuci uvek sveže pripremljen. Najčešće u upotrebi kao fiksativ jeste rastvor etanola i glacijalne kiseline u odnosu 3:1. Fiksiran materijal se čuva na 4 °C, u trajanju do 48h, nakon čega se prebacuje u proctor na -16 °C.

napomena! bočica u kojoj je fiksiran materijal mora biti obeležena.

3. Priprema materijala za posmatranje

Veliki je broj tehnika dostupan danas za bojenje odnosno pripremu materijala za posmatranje.

Primer 1: upotreba aceto-karmina ili aceto-orceina kod vrsta roda *Potamogeton* i *Najas*

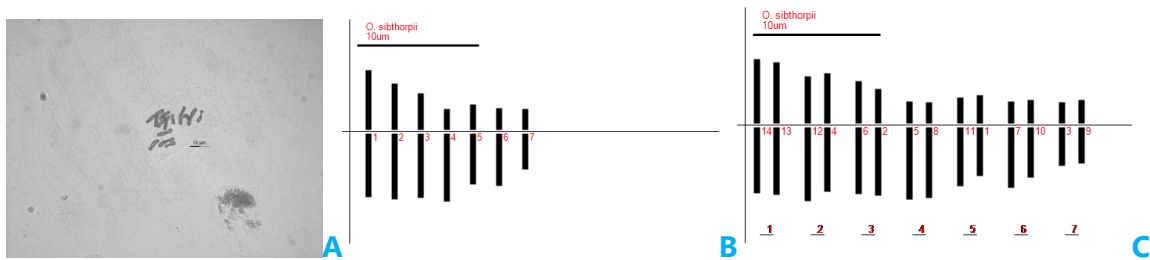
Fiksiran biljni materijal se prvo ispere dobro tekućom vodom, a zatim se potopi u 1N HCL, u trajanju od 1 sata, a zatim još 1 sat budu na 60 °C u vodenom kupatilu. Postpak hidrolize, kao i u prethodnom primeru sledi ispiranje materijala vodom, a zatim se korenčići potope u kap 1.5% aceto-orceina ili aceto-karmina. Potrebno je da korenčići odstoje 5 minuta u ovom rastvoru, a zatim se pristupa postupku usitnjavanja i pritiskanja materijala („squash), kako bi se posmatrali preparati.

Primer 2: upotreba Šifovog reagensa kod vrsta roda *Scilla*

Fiksiran biljni materijal se prvo ispere dobro tekućom vodom i potopi sa 1M HCL, na sobnoj temperaturi (~22 °C), u trajanju od 60 minuta. Ovaj postupak hidrolize po završetku daje kao produkt veoma osetljiv biljni materijal. Potrebno je pažljivim rukovanjem ukloniti 1M HCL, zatim isprati materijal vodom, i na kraju ukloniti višak vode ubrusom, papirom ili drugim upijajućim materijalom. Tako pripremljen materijal potopiti Šifovim reagensom, i ostaviti na tamnom mestu, na sobnoj temperaturi u trajanju od 120 minuta. Posle ovog postupka, materijal se prebaci u rastvor 45% glacijalne kiseline i zatim usitnjava i pritiska („squash), kako bi se posmatrali preparati.

4. Posmatranje i analiziranje

Ovako pripremljeni preparati se posmatraju upotrebom svetlosnog mikroskopa. Za preciznost podataka potrebno je do pet metafaznih ćelija posmatrati i time potvrditi tačnost podataka. Osim toga, za jednu vrstu jednu populaciju, ovaj rezultat proveriti na nekoliko jedinki. Preporučeno je sve metafazne ploče Slikati upotrebom kamere (Slika 72A). Tako dobijeni rezultati omogućavaju dalju analizu – odnosno određivanje strukture pojedinačnih hromozoma (tip hromozoma, veličina, prisustvo/odsustvo satelita i dr.). Osim toga na osnovu ovih podataka se zatim kreiraju kariogrami i idiogrami (Slika 72B, C).



Slika 72 Rezultati citoloških analiza

A Metafazna ploča, B idiogram i C kariogram vrste *Ornithogalum sibthorpii* [21]

7.3 Statističke analize u uporednomorfološkim botaničkim istraživanjima

Istraživanja iz oblasti uporedne morfologije biljaka imaju izuzetno dugu tradiciju. Duga tradicija, počevši od Linea i Kivijea, ostavila neverovatne rezultate koji su vekovima bili osnova bioloških istraživanja. Međutim, u drugoj polovini XX veka, morfologija je nepravedno zapostavljena, pa čak i smatrana arhaičnom disciplinom. Istraživači, posebno maldi su zazirali od nje, i masovno se okretali molekularnim i biohemijskim istraživanjima. Na sreću izuzetni uspesi evolucione, ekološke, teorijske i morfologije razvića, vratili su morfologiju na velika vrata u biološka istraživanja. Tome su, barem kada je botanika u pitanju, poprilično doprineli sledeći momenti: povećanje broja časopisa koji su obnovili publikovanje kvalitetnih morfoloških radova, razvoj informacionih tehnologija i ubrzanje procesa rada na morfološkim problemima, razvoj softverskih paketa za obradu podataka, pojava visokokvalitetnih skenera i usavršavanje obrade slike, ubrzani razvoj geometrijske morfometrije i dr. Rezultati uporedno-morfoloških istraživanja u botanici su u najvećem procentu usmereni ka rešavanju taksonomskih problema, analizi i dobijanju kvalitetnih informacija za potrebe rada na filogenetskim i evolutivnim studijama, ali i izuzetno važnom momentu istraživanja širine adaptivnog odgovora organizama u različitim uslovima koje diktiraju ekološki parametri. Danas se ne mogu zamisliti ozbiljne molekularne ili genetičke studije o filogenetskim odnosima vrsta bez izuzetne podrške u morfologiji. Morfologija je postal standard i važan, ako ne i vodeći činilac potvrde rezultata molekularnih analiza.

Iako su metode bazične (osnovne) statistike, poznate kao mere centralne tendencije operacije koje su se 30tih godina XX veka masovno upotrebljavale u obradi rezultata morfoloških istraživanja, i danas sve obrade rezultata počinju ovim informacijama. Za dobijene podatke u morfološkim istraživanjima najpre se urade parametri osnovne statistike koji obuhvataju: srednju vrednost, opseg (maksimalna-minimalna, +95% - -95%), standardnu grešku srednje vrednosti, varijansu, standardnu devijaciju i koeficijent varijacije kao meru varijabilnosti pojedinih morfoloških karaktera. Koeficijent varijacije (CV) je dugo

korišten kao jedini način prikazivanja ukupne varijabilnosti karaktera. On nam pre svega govorio stepenu fenotipske plastičnosti kod biljaka, odnosno, predstavlja jednu od mogućnosti izražavanja njene veličine. Radi ukazivanja na eventualne povezanosti u stepenu variranja pojedinih kvantitativnih karaktera izračunati su i koeficijenti korelacije (R) koji su korišteni u detekciji korelacionih parova i nizova kvantitativnih karaktera. Korelacioni nizovi nam izdvajaju parove i serije taksonomskih karaktera koji se menjaju na isti način u istraživanom uzorku, te u mnogome doprinose odabiru karaktera koji ulaze u ključeve za determinaciju. Korelacione serije, takođe, kao rezultat daju setove hipervarijabilnih karaktera koji su povezani te u mnogome pomažu definisanju varijacionog niza prilikom izdvajanja morfoloških karakteristika infraspecijskih taksona.

Za testiranje statističke značajnosti, često se pored uobičajenih testova, za setove morfoloških karaktera koriste i jednofaktorska analiza varijanse (ANOVA) sa vrstom kao faktorom, radi pokazivanja nivoa statističke značajnosti razlika u varijabilnosti analiziranih vrsta po svakom kvantitativnom karakteru, kao i za sagledavanje međugrupnog i unutargrupnog variranja za svaki analizirani karakter. Pored toga multifaktorska analiza varijanse (MANOVA) sa vrstom kao faktorom koristi se u cilju utvrđivanja razlika između taksona u odnosu na ukupnu morfološku varijabilnost uzorka.

Pravu revoluciju u obradi rezultata uporednomorfoloških analiza unele su operacije tzv. multivarijantne statistike. To su pre svega naliza glavnih komponenti, kanonična diskriminantna analiza, kao i klusterska analiza za prikazivanje fenograma. Sve tri se sprovode na kvantitativnim karakterima. Za kvalitativne karaktere koji se javljaju u većem broju stanja, kao veoma moćno oružje pokazala se kanonična korespondentna analiza.

Analiza glavnih komponenti (*PCA-Principal Component Analysis*) je multivarijantna statistička metoda koja redukuje broj originalnih varijabli na manji broj novih, nazvanih glavne komponente, koje predstavljaju originalnu kombinaciju osnovnih varijabli [14]. Analiza se koristi u cilju utvrđivanja onih osobina koje najviše doprinose ukupnoj morfološkoj varijabilnosti kako u veličini, tako i u obliku uzorka u celini i grupa pojedinačno, kako bi se utvrdila razlika među njima [14]. Ova analiza se radi najčešće na jedinkama grupisanim prema vrstama. Često se u skorovima rezultata jave velike razlike u vrednostima pojedinih osobina (tipa visina biljke u decimetrima, a veličina pračnika u 1 do 2 cm), te se pre daljih operacija izvrši standardizacija originalnih merenja, čime se dobija kovarijansna matrica koja u osnovi predstavlja korelacionu matricu [14]. U daljem postupku sledi izračunavanje vrednosti karakterističnih vektora (*eigenvectors*), koji daju koeficijente (opterećenja) kvantitativnih karaktera po glavnim komponentama. Karakteristični koreni (*eigenvalues*) glavnih komponenti ukazuju na veličinu segmenta ukupne varijanse koji je opisan glavnim komponentama [14]. Rezultati se prikazuju tabelarno (vrednosti karakterističnih korena, kao i opterećenja kvantitativnih karaktera u odnosu na prve tri glavne ose) i grafički. Nakon sprovedenog postupka skorovanja prikazuju su centroidi vrsta u prostoru prve dve/tri glavne ose. Centroidi vrsta se koriste i za izračunavanje UPGA

7. UPOREDNO-MORFOLOŠKA ISTRAŽIVANJA VARIJABILNOSTI BILJAKA

(UPGA-*Unweighted pair-group average*) klusterskih ekvivalenata na osnovu Euklidovih distanci i formiranja fenograma taksona (Prilog 2).

Kanonijska diskriminantna analiza je multivarijantna statistička metoda koja služi za diskriminaciju grupa na osnovu velikog broja osobina, kao i za definisanje osobina koje najviše doprinose diskriminaciji [14]. Navedenom analizom utvrđuju su morfološke razlike na multivarijantnom nivou između grupa (vrsta), u cilju definisanja kombinacija kvantitativnih karaktera koje mogu poslužiti u diskriminaciji uzorka po grupama (ili kreiranju ključa). Centroidi vrsta se predstavljaju u prostoru prve dve/tri diskriminantne ose (Prilog 3). Na osnovu diskriminantne analize izračunavaju su Mahalanobijusove distance koje su omogućile dalju UPGA klustersku analizu (Prilog 4).

Korespondentna analiza se koristi u cilju predstavljanja opšteg trenda uticaja različitih stanja kvalitativnih osobina na definisanje razlika između vrsta i/ili infraspecijskih taksona. Ovom analizom omogućeno je definisanje karaktera, stanja ili kombinacije stanja i karaktera koji najbolje definišu pojedine grupe (vrstu ili infraspecijski takson). Izračunavaju su vrednosti opterećenja osobina po prve tri korespondentne ose prema vrstama/infraspecijskim taksonima i grafički se predstavljaju u prostorima korespondentnih osa (Prilog 5).

8. LITERATURA

5. Anačkov G. (2009): Taksonomija i horologija roda *Allium* L. 1754 (Amaryllidales, Alliaceae) u Srbiji, doktorska disertacija. Univerzitet u Novom Sadu, prirodno-matematički fakultet, Novi Sad. *manuscr.*
6. Bateman R.M., Rudall P.J. (2009): Evolutionary Morphometric Implications of Morphological Variation Among Flowers Within an Inflorescence: A Case-Study Using European Orchids. *Annals of Botany*, 98: 975-993.
7. Bokić B. (2021): Morfološka i fitohemijska karakterizacijapredstavnikasekcija *Pulegium* (Mill.) Lam. et DC. 1805 i *Mentha* (*Mentha* L., Lamiaceae) sa Balkanskog poluostrva i južnog dela Panonske nizije, doktorska disertacija. Univerzitet u Novom Sadu, prirodno-matematički fakultet, Novi Sad. *manuscr.*
8. Boža P., Veljić M., Marin P., Anačkov G., Janačković P. (2004): Praktikum za determinaciju viših biljaka. Pld Commerc, Novi Sad.
9. Bridson D., Forman L. (1999): *The Herbarium Handbook*, 3rd edit. Royal Botanical Gardens, Kew.
10. Brummit R.K., Powell C.E. (1992): *Author of Plant names*. Royal Botanical Garden Kew, Whitstabe Litho Printers, London.
11. Debreczy Zs., Rácz I. (2013): *Conifers, around the World*, Vol. 1, sec. print. DendroPress, Budapest.
12. Gergely K., Virók V., Molnár A.V. (2011): *Új Magyar fűvészkönyv, Magyarország hajtásos növényei, Ábrák*. Aggteleki Nemzeti Park igazgatóság, Debrecen.
13. Ivanović A., Kalezić M. (2013): *Evoluciona morfologija – teorijske postavke i geometrijska morfometrija*. Biološki fakultet Univerziteta u Beogradu, Beograd.
14. Janačković P., Rajčević N., Gavrilović M. (2017): *Fitohemijski praktikum*. Univerzitet u Beogradu, Biološki fakultet, Beograd.
15. Janković M.M. (1998): *Vodene biljke, značaj makrofita u našim vodama*. NIC *Plavi Zmaj*, EU *Zeleni krug*, Sremski Karlovci, Beograd.
16. Jávorka S., Csapody V. (1979): *Iconographia Florae Partis Austro-Orientalis Europae Centralis*. Akadémiai Kiadó, Budapest.
17. Jović J., Marić S. (2012): *Molekularna sistematika, praktikum*. Univerzitet u Beogradu, Biološki fakultet, Beograd.
18. Manly, B.F.J. (1986): *Multivariate Statistical Methods: A Primer*. Chapman & Hall, London.
19. Nikolić T. (1996): *Herbarijski priručnik*. Školska knjiga, Zagreb.
20. Nikolić T. (2013): *Sistematska botanika, raznolikost i evolucija biljnog sveta*. Alfa, Zagreb.
21. Nikolić T. (2020): *Flora Croatica, Vaskularna flora Republike Hrvatske 3*. ALFA, Zagreb.

8. LITERATURA

22. Radak B (2019): Morfološka varijabilnost vrsta roda *Anacamptis* Rich. (Orchidoideae, Orchidaceae) na području Balkanskog poluostrva i panonske nizije, doktorska disertacija. Univerzitet u Novom Sadu, prirodno-matematički fakultet, Novi Sad. *manuscr.*
23. Randelović V., Nikolić D. (2020): Terenska istraživanja u botanici, priručnik sa posebnim osvrtom na Vlasinsku visoravan. Univerzitet u Nišu Prirodno-matematički fakultet, Zavod za zaštitu prirode Srbije, Turistička organizacija Surdulica, Niš-Beograd-Surdulica.
24. Ranker A.T., Haufler H.C. (2008): *Biology and Evolution of Ferns and Lycophytes*. Cambridge University Press, Cambridge.
25. Rat M. (2019): *Ornithogalum* Sect. *Heliochamos* Baker (Hyacinthaceae, Ornithogaloideae) Balkanskog poluostrva i Panonske nizije: revizija nomenklature, taksonomije i rasprostranjenja, doktorska disertacija. Univerzitet u Novom Sadu, prirodno-matematički fakultet, Novi Sad. *manuscr.*
26. Singh P.V. (2006): *Gymnosperm (Naked Seeds Plant), Structure and Development*. Sarup and Sons, New Delhi.
27. Stevanović M.B., Janković M.M. (2014): *Ekologija biljaka, sa osnovama fiziološke ekologije biljaka, drugo izdanje*. NNK International, Beograd.
28. Stevanović V. urednik (2012): *Flora Srbije 2*. Srpska Akademija Nauka i Umetnosti, Beograd.
29. Stuessy F.T. (2009): *Plant Taxonomy, The Systematic evaluation of comparative data*. Columbia University Press, New York.
30. Tutin, T.G., Heywood, V.H., Burges, N.A., Moore, D.M., Valentine, D.H., Walters, S.M., Webb, D.A. urednici, *Flora Europaea V*. Cambridge University Press, Cambridge.
31. Yufeng G., Dongmei J., Baodong L., Xiling D., Yuehong Y. (2020): Morphology characters and Evolution of Ferns Scale I: Pteridaceae. *Chinese Bulletin of Botanz*, 55 (2): 163-176.
32. Zorić L., Luković J. (2018): *Osnovi botaničke mikrotehnike*. Univerzitet u Novom Sadu, Prirodno-matematički fakultet, Novi Sad.

Elektronski izvori:

e1 <https://www.cabinet.ox.ac.uk/bobarts-herbaria-morisons-plantarum-historiae-universalis-oxoniensis-1699#/media=6814>

e2 https://en.wikipedia.org/wiki/Joseph_Pitton_de_Tournefort

e3 <https://www.biodiversitylibrary.org/item/14433#page/1/mode/1up>

e4 <http://sweetgum.nybg.org/science/ih/>

e5

[https://wikipedia/commons/1/1c/Scuola toscana%2C ritratto di luca ghini%2C xix secol o.jpg](https://wikipedia/commons/1/1c/Scuola_toscana%2C_ritratto_di_luca_ghini%2C_xix_secol_o.jpg)

9. PRILOG

Prilog 1 – Primer i morfoloških protokola za uporedno-morfološko istraživanje, na primerima taksona roda *Anacamptys*, *Ornithogalum* i *Mentha*



Природно-математички факултет
Департман за биологију и екологију
Лабораторија за систематику виших биљака и фитогеографију
Хербаријум БУНС

Протокол за мерење карактера цвета и брактеја			
Таксон:		Таксон:	
ОТУ:		ОТУ:	
Датум обраде:		Датум обраде:	
Обрадио:		Обрадио:	
Брактеја		Брактеја	
Дужина		Дужина	
Ширина базе		Ширина базе	
Максимална ширина		Максимална ширина	
Ширина $\frac{1}{2}$		Ширина $\frac{1}{2}$	
Плодник		Плодник	
Дужина		Дужина	
Максимална дужина		Максимална дужина	
Оструга		Оструга	
Дужина		Дужина	
Ширина		Ширина	
Бочни сепал		Бочни сепал	
Дужина		Дужина	
Ширина $\frac{1}{2}$		Ширина $\frac{1}{2}$	
Максимална ширина		Максимална ширина	
Петал		Петал	
Дужина		Дужина	
Ширина $\frac{1}{2}$		Ширина $\frac{1}{2}$	
Максимална ширина		Максимална ширина	
Дорзални сепал		Дорзални сепал	
Дужина		Дужина	
Ширина $\frac{1}{2}$		Ширина $\frac{1}{2}$	
Максимална ширина		Максимална ширина	
Лабелум		Лабелум	
Максимална ширина		Максимална ширина	
Ширина базе срл		Ширина базе срл	
Ширина десног брл		Ширина десног брл	
Максимална дужина		Максимална дужина	
Дужина десног брл		Дужина десног брл	
Дужина до базе срл		Дужина до базе срл	
Дужина срл		Дужина срл	
Дужина до врха срл		Дужина до врха срл	

$\frac{1}{2}$ - ширина на половини дужине
срл - средњи режањ лабелума
брл - бочни режањ лабелума

9. PRILOG



Taksonomska istraživanja vrsta roda *Ornithogalum* L.
doktorska disertacija Milica Rat

taxon	pop. nomen.	legatori:	datum sakupljanja:																																																																																																																																																																																
lokalitet	fenofaza	merio/la:	datum obrade:																																																																																																																																																																																
<table border="1" style="width: 100%; border-collapse: collapse;"> <tr> <th colspan="2" style="text-align: center;">lukovica</th> </tr> <tr> <td style="width: 50%;">dužina</td> <td style="width: 50%;">broj bulbila</td> </tr> <tr> <td>širina</td> <td>sedeća/drška</td> </tr> <tr> <td>prosta/složena</td> <td>unutr/spolj</td> </tr> <tr> <td>broj pupoljaka</td> <td>oblik bulbila</td> </tr> <tr> <td>boja tunike</td> <td></td> </tr> <tr> <td>oblik</td> <td></td> </tr> <tr> <th colspan="2" style="text-align: center;">list</th> </tr> <tr> <td>broj</td> <td>bela pruga</td> </tr> <tr> <td>dužina</td> <td>širina bp</td> </tr> <tr> <td>širina</td> <td></td> </tr> <tr> <th colspan="2" style="text-align: center;">skapus</th> </tr> <tr> <td>nadzemni</td> <td>ukupna dužina</td> </tr> <tr> <td>podzemni</td> <td>širina</td> </tr> <tr> <th colspan="2" style="text-align: center;">cvast</th> </tr> <tr> <td>dužina</td> <td>dužina cv. drške</td> </tr> <tr> <td>širina</td> <td>„vrh“ cv. drške</td> </tr> <tr> <td>br. cvetova</td> <td>° cv. drške juv.</td> </tr> <tr> <td>oblik</td> <td>° cv. drške fr.</td> </tr> </table>	lukovica		dužina	broj bulbila	širina	sedeća/drška	prosta/složena	unutr/spolj	broj pupoljaka	oblik bulbila	boja tunike		oblik		list		broj	bela pruga	dužina	širina bp	širina		skapus		nadzemni	ukupna dužina	podzemni	širina	cvast		dužina	dužina cv. drške	širina	„vrh“ cv. drške	br. cvetova	° cv. drške juv.	oblik	° cv. drške fr.	<table border="1" style="width: 100%; border-collapse: collapse;"> <tr> <th colspan="2" style="text-align: center;">brakteje</th> </tr> <tr> <td style="width: 50%;">dužina</td> <td style="width: 50%;">širina</td> </tr> <tr> <td>širina</td> <td>„vrh“</td> </tr> <tr> <th colspan="2" style="text-align: center;">cvet</th> </tr> <tr> <td>duž. sp. lat.</td> <td></td> </tr> <tr> <td>šir. sp. lat.</td> <td></td> </tr> <tr> <td>„vrh“ sp. lat.</td> <td></td> </tr> <tr> <td>šir. zel. pr. lat.</td> <td></td> </tr> <tr> <td>duž. un. lat.</td> <td></td> </tr> <tr> <td>šir. un. lat.</td> <td></td> </tr> <tr> <td>„vrh“ un. lat.</td> <td></td> </tr> <tr> <td>šir. zel. pr. lat.</td> <td></td> </tr> <tr> <th colspan="2" style="text-align: center;">prašnici</th> </tr> <tr> <td>duž. sp. fil.</td> <td></td> </tr> <tr> <td>šir. sp. fil.</td> <td></td> </tr> <tr> <td>duž. un. fil.</td> <td></td> </tr> <tr> <td>šir. un. fil.</td> <td></td> </tr> <tr> <td>duž. sp. ant.</td> <td></td> </tr> <tr> <td>duž. un. ant.</td> <td></td> </tr> <tr> <td>boja antere</td> <td></td> </tr> <tr> <th colspan="2" style="text-align: center;">plodnik</th> </tr> <tr> <td>duž. plodn.</td> <td></td> </tr> <tr> <td>šir. plodn.</td> <td></td> </tr> <tr> <td>br. rebara</td> <td></td> </tr> <tr> <td>grupisanost</td> <td></td> </tr> </table>	brakteje		dužina	širina	širina	„vrh“	cvet		duž. sp. lat.		šir. sp. lat.		„vrh“ sp. lat.		šir. zel. pr. lat.		duž. un. lat.		šir. un. lat.		„vrh“ un. lat.		šir. zel. pr. lat.		prašnici		duž. sp. fil.		šir. sp. fil.		duž. un. fil.		šir. un. fil.		duž. sp. ant.		duž. un. ant.		boja antere		plodnik		duž. plodn.		šir. plodn.		br. rebara		grupisanost		<table border="1" style="width: 100%; border-collapse: collapse;"> <tr> <th colspan="2" style="text-align: center;">lukovica</th> </tr> <tr> <td style="width: 50%;">dužina</td> <td style="width: 50%;">broj bulbila</td> </tr> <tr> <td>širina</td> <td>sedeća/drška</td> </tr> <tr> <td>prosta/složena</td> <td>unutr/spolj</td> </tr> <tr> <td>broj pupoljaka</td> <td>oblik bulbila</td> </tr> <tr> <td>boja tunike</td> <td></td> </tr> <tr> <td>oblik</td> <td></td> </tr> <tr> <th colspan="2" style="text-align: center;">list</th> </tr> <tr> <td>broj</td> <td>bela pruga</td> </tr> <tr> <td>dužina</td> <td>širina bp</td> </tr> <tr> <td>širina</td> <td></td> </tr> <tr> <th colspan="2" style="text-align: center;">skapus</th> </tr> <tr> <td>nadzemni</td> <td>ukupna dužina</td> </tr> <tr> <td>podzemni</td> <td>širina</td> </tr> <tr> <th colspan="2" style="text-align: center;">cvast</th> </tr> <tr> <td>dužina</td> <td>dužina cv. drške</td> </tr> <tr> <td>širina</td> <td>„vrh“ cv. drške</td> </tr> <tr> <td>br. Cvetova</td> <td>° cv. drške juv.</td> </tr> <tr> <td>oblik</td> <td>° cv. drške fr.</td> </tr> </table>	lukovica		dužina	broj bulbila	širina	sedeća/drška	prosta/složena	unutr/spolj	broj pupoljaka	oblik bulbila	boja tunike		oblik		list		broj	bela pruga	dužina	širina bp	širina		skapus		nadzemni	ukupna dužina	podzemni	širina	cvast		dužina	dužina cv. drške	širina	„vrh“ cv. drške	br. Cvetova	° cv. drške juv.	oblik	° cv. drške fr.	<table border="1" style="width: 100%; border-collapse: collapse;"> <tr> <th colspan="2" style="text-align: center;">brakteje</th> </tr> <tr> <td style="width: 50%;">dužina</td> <td style="width: 50%;">širina</td> </tr> <tr> <td>širina</td> <td>„vrh“</td> </tr> <tr> <th colspan="2" style="text-align: center;">cvet</th> </tr> <tr> <td>duž. sp. lat.</td> <td></td> </tr> <tr> <td>šir. sp. lat.</td> <td></td> </tr> <tr> <td>„vrh“ sp. lat.</td> <td></td> </tr> <tr> <td>šir. zel. pr. lat.</td> <td></td> </tr> <tr> <td>duž. un. lat.</td> <td></td> </tr> <tr> <td>šir. un. lat.</td> <td></td> </tr> <tr> <td>„vrh“ un. lat.</td> <td></td> </tr> <tr> <td>šir. zel. pr. lat.</td> <td></td> </tr> <tr> <th colspan="2" style="text-align: center;">prašnici</th> </tr> <tr> <td>duž. sp. fil.</td> <td></td> </tr> <tr> <td>šir. sp. fil.</td> <td></td> </tr> <tr> <td>duž. un. fil.</td> <td></td> </tr> <tr> <td>šir. un. fil.</td> <td></td> </tr> <tr> <td>duž. sp. ant.</td> <td></td> </tr> <tr> <td>duž. un. ant.</td> <td></td> </tr> <tr> <td>boja antere</td> <td></td> </tr> <tr> <th colspan="2" style="text-align: center;">plodnik</th> </tr> <tr> <td>duž. plodn.</td> <td></td> </tr> <tr> <td>šir. plodn.</td> <td></td> </tr> <tr> <td>br. rebara</td> <td></td> </tr> <tr> <td>grupisanost</td> <td></td> </tr> </table>	brakteje		dužina	širina	širina	„vrh“	cvet		duž. sp. lat.		šir. sp. lat.		„vrh“ sp. lat.		šir. zel. pr. lat.		duž. un. lat.		šir. un. lat.		„vrh“ un. lat.		šir. zel. pr. lat.		prašnici		duž. sp. fil.		šir. sp. fil.		duž. un. fil.		šir. un. fil.		duž. sp. ant.		duž. un. ant.		boja antere		plodnik		duž. plodn.		šir. plodn.		br. rebara		grupisanost	
lukovica																																																																																																																																																																																			
dužina	broj bulbila																																																																																																																																																																																		
širina	sedeća/drška																																																																																																																																																																																		
prosta/složena	unutr/spolj																																																																																																																																																																																		
broj pupoljaka	oblik bulbila																																																																																																																																																																																		
boja tunike																																																																																																																																																																																			
oblik																																																																																																																																																																																			
list																																																																																																																																																																																			
broj	bela pruga																																																																																																																																																																																		
dužina	širina bp																																																																																																																																																																																		
širina																																																																																																																																																																																			
skapus																																																																																																																																																																																			
nadzemni	ukupna dužina																																																																																																																																																																																		
podzemni	širina																																																																																																																																																																																		
cvast																																																																																																																																																																																			
dužina	dužina cv. drške																																																																																																																																																																																		
širina	„vrh“ cv. drške																																																																																																																																																																																		
br. cvetova	° cv. drške juv.																																																																																																																																																																																		
oblik	° cv. drške fr.																																																																																																																																																																																		
brakteje																																																																																																																																																																																			
dužina	širina																																																																																																																																																																																		
širina	„vrh“																																																																																																																																																																																		
cvet																																																																																																																																																																																			
duž. sp. lat.																																																																																																																																																																																			
šir. sp. lat.																																																																																																																																																																																			
„vrh“ sp. lat.																																																																																																																																																																																			
šir. zel. pr. lat.																																																																																																																																																																																			
duž. un. lat.																																																																																																																																																																																			
šir. un. lat.																																																																																																																																																																																			
„vrh“ un. lat.																																																																																																																																																																																			
šir. zel. pr. lat.																																																																																																																																																																																			
prašnici																																																																																																																																																																																			
duž. sp. fil.																																																																																																																																																																																			
šir. sp. fil.																																																																																																																																																																																			
duž. un. fil.																																																																																																																																																																																			
šir. un. fil.																																																																																																																																																																																			
duž. sp. ant.																																																																																																																																																																																			
duž. un. ant.																																																																																																																																																																																			
boja antere																																																																																																																																																																																			
plodnik																																																																																																																																																																																			
duž. plodn.																																																																																																																																																																																			
šir. plodn.																																																																																																																																																																																			
br. rebara																																																																																																																																																																																			
grupisanost																																																																																																																																																																																			
lukovica																																																																																																																																																																																			
dužina	broj bulbila																																																																																																																																																																																		
širina	sedeća/drška																																																																																																																																																																																		
prosta/složena	unutr/spolj																																																																																																																																																																																		
broj pupoljaka	oblik bulbila																																																																																																																																																																																		
boja tunike																																																																																																																																																																																			
oblik																																																																																																																																																																																			
list																																																																																																																																																																																			
broj	bela pruga																																																																																																																																																																																		
dužina	širina bp																																																																																																																																																																																		
širina																																																																																																																																																																																			
skapus																																																																																																																																																																																			
nadzemni	ukupna dužina																																																																																																																																																																																		
podzemni	širina																																																																																																																																																																																		
cvast																																																																																																																																																																																			
dužina	dužina cv. drške																																																																																																																																																																																		
širina	„vrh“ cv. drške																																																																																																																																																																																		
br. Cvetova	° cv. drške juv.																																																																																																																																																																																		
oblik	° cv. drške fr.																																																																																																																																																																																		
brakteje																																																																																																																																																																																			
dužina	širina																																																																																																																																																																																		
širina	„vrh“																																																																																																																																																																																		
cvet																																																																																																																																																																																			
duž. sp. lat.																																																																																																																																																																																			
šir. sp. lat.																																																																																																																																																																																			
„vrh“ sp. lat.																																																																																																																																																																																			
šir. zel. pr. lat.																																																																																																																																																																																			
duž. un. lat.																																																																																																																																																																																			
šir. un. lat.																																																																																																																																																																																			
„vrh“ un. lat.																																																																																																																																																																																			
šir. zel. pr. lat.																																																																																																																																																																																			
prašnici																																																																																																																																																																																			
duž. sp. fil.																																																																																																																																																																																			
šir. sp. fil.																																																																																																																																																																																			
duž. un. fil.																																																																																																																																																																																			
šir. un. fil.																																																																																																																																																																																			
duž. sp. ant.																																																																																																																																																																																			
duž. un. ant.																																																																																																																																																																																			
boja antere																																																																																																																																																																																			
plodnik																																																																																																																																																																																			
duž. plodn.																																																																																																																																																																																			
šir. plodn.																																																																																																																																																																																			
br. rebara																																																																																																																																																																																			
grupisanost																																																																																																																																																																																			

9. PRILOG



Taksonomska istraživanja roda *Mentha* L.

OTU:	LOKALITET:		OBRADIO:	
stablo	kvalitativni karakteri			
	habitus/položaj	postojanje brazdi	grananje	boja pri bazi
	tip dlaka	raspored dlaka	stepen dlakavosti	
	kvantitativni karakteri			
	visina	dužina internodije na glavnom stablu na sredini	broj nodusa do prve cvasti	
listovi	kvalitativni karakteri			
	oblik	baza-tip, izgled	vrh-tip, izgled	površina-izgled
	obod-izgled (nazubljenost)	usmerenost zubića	postojanje aurikula	nervatura-tip, izgled
	boja lica	boja naličja	postojanje dlaka na licu i naličju	izgled dlaka na licu i naličju (tip, oblik, granatost)
	raspored dlaka na licu i naličju	postojanje žlezdi na licu i naličju	izgled žlezdi na licu i naličju (tip, oblik)	raspored žlezdi na licu i naličju
	kvantitativni karakteri			
	dužina lista na sredini stabla	max. širina lista na sredini stabla	središnja širina lista na sredini stabla	dužina zubića na srednjem listu
	razmak između dva zubića na srednjem listu	broj zubića duž ivice na srednjem listu	veličina bazalne ćelije dlake	
lisna drška	kvalitativni karakteri			
	postojanje na donjim listovima	postojanje na srednjim listovima	postojanje na gornjim listovima	postojanje dlaka na dršci
	kvantitativni karakteri		kvantitativni karakteri	
	dužina na srednjem listu		dužina na gornjem listu	
brakteje	oblik	baza	vrh	da li vire izvan cvasti
	nazubljenost	tip, oblik, izgled dlaka	tip, oblik, izgled žlezdi	da li su savijene po dužini
	kvantitativni karakteri			
	dužina brakteje	srednja širina brakteje	maksimalna širina brakteje	
cvasti	izgled, opis:			

9. PRILOG

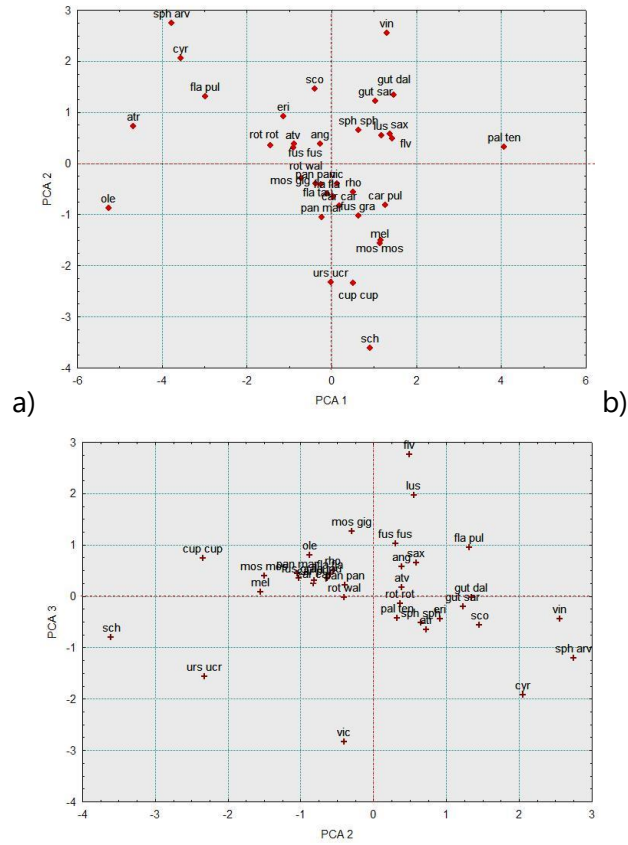


Taksonomska istraživanja roda *Mentha* L.

	kvalitativni karakteri			
	da li su internodije vidljive	tip i oblik cvasti na glavnom stablu	tip i oblik cvasti na bočnoj grani	
	kvantitativni karakteri			
	dužina sekundarne terminalne cvasti na glavnom stablu		širina sekundarne terminalne cvasti na glavnom stablu	
cvet	kvalitativni karakteri			
	polnost cvetova u cvasti na glavnom stablu	polnost cvetova u cvasti na bočnoj grani	crtež:	
čашica	kvalitativni karakteri			
	oblik	boja	tip, raspored dlaka na površini	tip, raspored žlezda na površini
	postojanje prstena dlaka u ždreću	položaj/usmerenost zubića	vrh zubića-trn?	
	kvantitativni karakteri			
	dužina cevi čашice	dužina zubića	širina zubića	broj zubaca
krunica	kvalitativni karakteri			
	boja cevi i režnjeva	postojanje dlaka na površini	postojanje žlezda na površini	postojanje prstena dlaka u ždreću
	izgled cevi	izgled gornjeg režnja	izgled bočnih režnjeva	izgled donjeg režnja
	kvantitativni karakteri			
	dužina cevi do nastanka filamenata	dužina cevi do nastanka režnjeva	dužina gornjeg režnja	dužina donjeg režnja
stubić	kvalitativni karakteri			
	viri / ne viri iz krunice		postojanje dlaka	
prašnici	kvalitativni karakter			
	međusobni odnos (jednaki, nejednaki)	vire / ne vire iz krunice	antere-izgled, oblik, razvijenost	boja
	kvantitativni karakteri			
dužina filameta		dužina antera		

9. PRILOG

Pozicije analiziranih jedinki vrsta roda *Allium* u prostoru I i II (a) i II i III (b)
ose analize glavnih komponenti

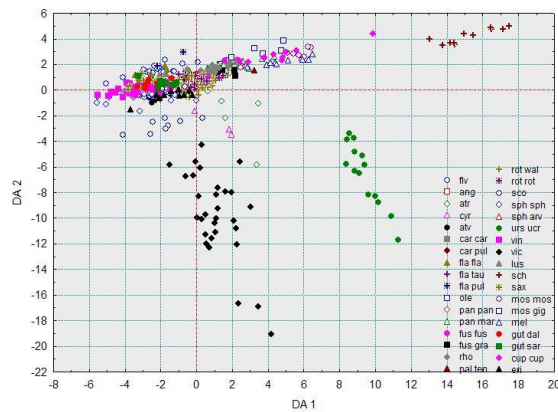


Pozicije centroida analiziranih jedinki vrsta roda *Allium* u prostoru I i II (a) i II i III (b)
ose analize glavnih komponenti

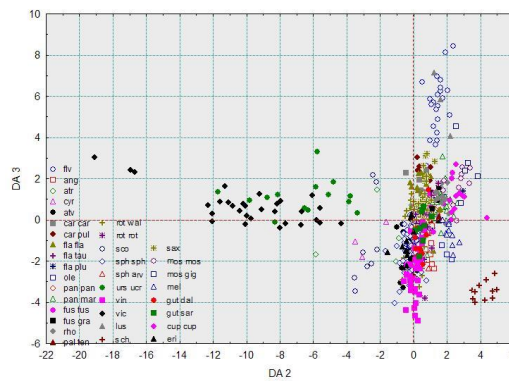
9. PRILOG

Prilog 3 – Tabelarni i grafički prikaz rezultata kanonijske diskriminantne analize, na primeru studije roda *Allium* u Srbiji [1]

Opterećenja kvantitativnih karaktera na prve tri diskriminantne ose na nivou svih taksona roda <i>Allium</i> u Srbiji			
	DA1	DA2	DA3
PLUKOVIC	-0,084	0,086	0,100
VISINA	-0,323	-0,129	-0,882
BRLISTOV	-0,154	0,144	0,683
DLISTA	0,090	0,073	-0,221
SLISTA	0,263	-0,997	0,215
PCVASTI	0,122	0,076	0,173
DCVDRSKI	-0,215	0,130	0,217
DPERIGON	1,373	0,394	-0,223
DFILAMEN	-0,843	-0,251	0,333
DANTERE	0,038	-0,279	-0,011
PPLODNIK	0,024	-0,093	-0,016
KARAKTERISTIČNA VREDNOST	11,645	8,148	3,237
KUMULATIVNI PROCENAT	38,50 %	65,40 %	76,10 %

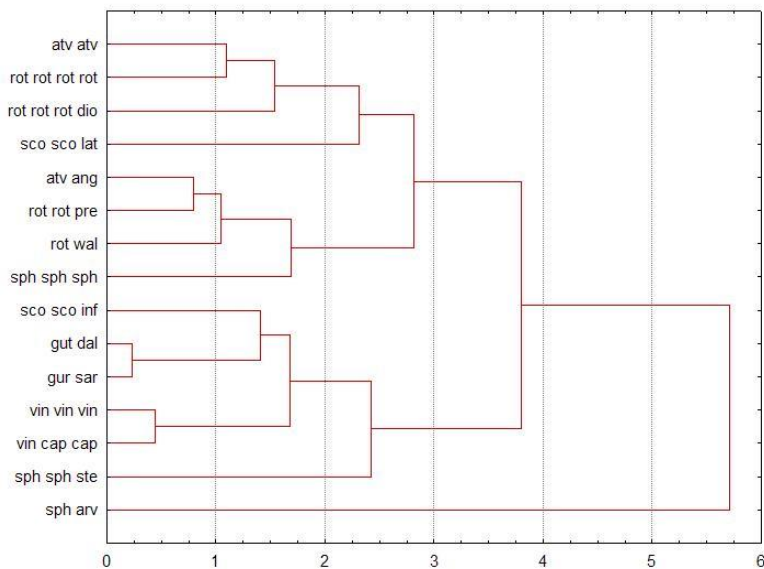


Pozicije analiziranih jedinki vrsta roda *Allium* u prostoru I i II diskriminantne ose

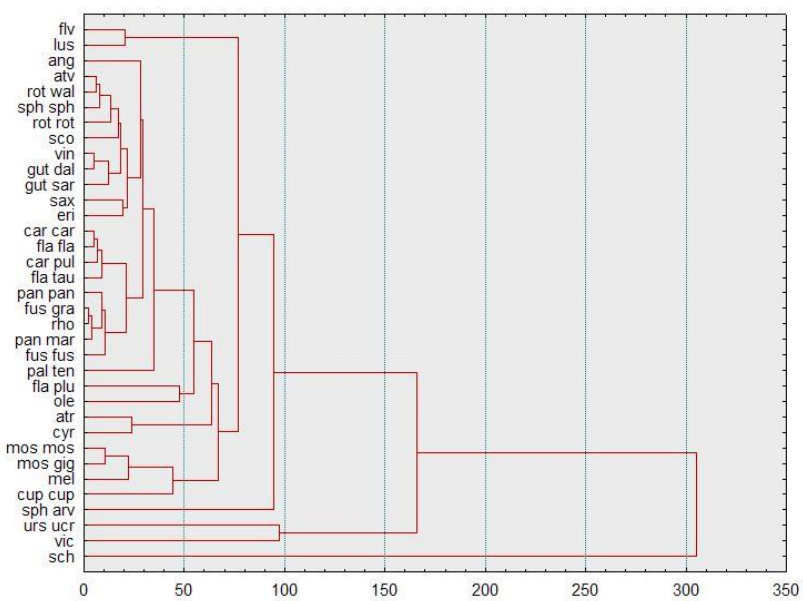


Pozicije analiziranih jedinki vrsta roda *Allium* u prostoru II i III diskriminantne ose

Prilog 4 – Grafički prikaz rezultata klusterskih analiza, na primeru studije roda *Allium* u Srbiji [1]

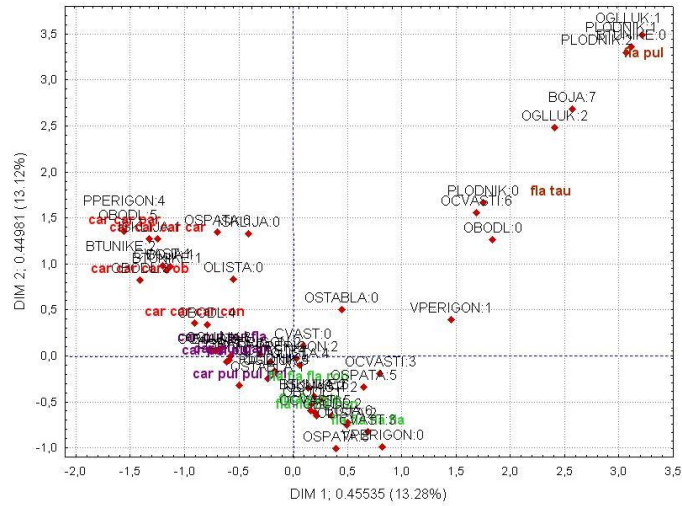


Fenogram taksona sekcije *Allium* na osnovu analize glavnih komponenti



Fenogram taksona roda *Allium* na osnovu diskriminantne analize

9. PRILOG



Pozicije stanja kvalitativnih karaktera i taksona grupe vrsta *A. carinatum* i *A. flavum* u prostoru I i II korespondentne ose

The European Commission's support for the production of this publication does not constitute an endorsement of the contents, which reflect the views only of the authors, and the Commission cannot be held responsible for any use which may be made of the information contained therein.

Erasmus + Project No ECOBIAS_609967-EPP-1-2019-1-RS-EPPKA2-CBHE-JP
Development of master curricula in ecological monitoring and aquatic bioassessment for Western Balkans HEIs

Co-funded by the
Erasmus+ Programme
of the European Union

