

Univerzitet u Beogradu

Biološki fakultet

Sanja Đ. Budečević

**MORFOLOŠKO VARIRANJE,
FENOTIPSKA PLASTIČNOST I
FLUKTUIRAJUĆA ASIMETRIJA OBLIKA
CVETNIH ORGANA KOD *Iris pumila* L.**

doktorska disertacija

Beograd, 2018.

University of Belgrade

Faculty of Biology

Sanja Đ. Budečević

**MORPHOLOGICAL VARIATION,
PHENOTYPIC PLASTICITY AND
FLUCTUATING ASYMMETRY OF FLORAL
ORGAN SHAPES IN *Iris pumila* L.**

Doctoral Dissertation

Belgrade, 2018.

“Studying phenotypic variation is thus important to understand evolution, ecology, and development; but considering evolution, development, and ecology is necessary to understand phenotypic variation”.

Debat et al. (2009, p.2865)

Mentorka:

Dr Ana IVANOVIĆ, redovna profesorka

Biološki fakultet

Univerzitet u Beogradu

Članice komisije:

Dr Sanja MANITAŠEVIĆ JOVANOVIĆ, naučna saradnica

Institut za biološka istraživanja "Siniša Stanković"

Univerzitet u Beogradu

Dr Biljana STOJKOVIĆ, vanredna profesorka

Biološki fakultet

Univerzitet u Beogradu

Dr Tamara RAKIĆ, vanredna profesorka

Biološki fakultet

Univerzitet u Beogradu

Datum odbrane: _____

Mojim roditeljima

Zahvalnica

Ova doktorska disertacija urađena je u okviru projekta #173007 "Evolucija u laboratoriji i adaptacije u prirodi" (rukovodilac dr Branka Tucić), finansiranog od strane Ministarstva prosvete, nauke i tehnološkog razvoja Republike Srbije. Eksperimenti su realizovani u laboratoriji Odeljenja za evolucionu biologiju Instituta za biološka istraživanja "Siniša Stanković" (IBISS), Univerziteta u Beogradu.

Veliko hvala dr Branki Tucić na ukazanom poverenju, pomoći i podršci tokom eksperimentalnog rada, kao i na savetima i sugestijama tokom pisanja doktorske disertacije.

Mentorki, dr Ani Ivanović veliko hvala na pružanju podrške tokom doktorskih studija, važnim sugestijama i korisnim idejama koji su doprineli realizaciji teze. Posebno hvala na optimizmu i motivaciji kada mi je bila neophodna.

Srdačno se zahvaljujem profesoru Krisu Klingenbergu na nesebičnoj pomoći tokom eksperimentalnog rada i pisanja radova, kao i na prijateljskim savetima.

Hvala dr Biljani Stojković i dr Tamari Rakić na sugestijama koje su doprinele kvalitetu ove disertacije.

Mojim dragim kolegicama Sanji, Ani i Kaći veliko hvala na stručnoj pomoći, ali i na prijateljskoj podršci koju su mi pružale u svim fazama izrade teze.

Dragom kolegi Aci hvala na strpljenju i vremenu koje je odvojio da bi mi pomogao u učenju metoda geometrijske morfometrije.

Dragim kolegama Mirku, Urošu i Darki hvala na iskrenoj i prijateljskoj podršci.

*Posebno se zahvaljujem mami, tati i Sneži zato što su moja sigurna luka.
Hvala vam na ogromnoj ljubavi i razumevanju.*

*Mom Milanu, hvala na neizmernoj ljubavi. Hvala ti što si bio oslonac i
podrška u trenucima kada je najviše bilo potrebno.*

MORFOLOŠKO VARIRANJE, FENOTIPSKA PLASTIČNOST I FLUKTUIRAJUĆA ASIMETRIJA OBLIKA CVETNIH ORGANA KOD *Iris pumila* L.

Sažetak

Analize unutar - i među - individualnih razlika morfoloških struktura omogućuju otkrivanje obrazaca fenotipskog variranja, kao i ekološko - evolucionih mehanizama koji dovode do njihove divergencije. U ovoj disertaciji utvrđene su komponente fenotipske varijanse oblika funkcionalno različitih cvetnih organa kod entomofilne biljne vrste *Iris pumila* L., polimorfne u odnosu na boju cveta. Eksperimenti su vršeni na biljkama gajenim u eksperimentalnoj bašti, poreklom iz recipročnih ukrštanja 24 klonalna genotipa. Metodama geometrijske morfometrije utvrđeni su obrasci variranja oblika tri bilateralno simetrična organa: fola, standarda i grane tučka. Kod sva tri organa udeo simetrične komponente u ukupnom variranju oblika bio je najveći, dok je fluktuirajuća asimetrija (FA) dominirala u asimetričnoj komponenti. Iako se smatra da je primarni uzrok FA nestabilnost razvića, naša istraživanja su pokazala da fenotipska plastičnost može takođe da proizvede FA. Naime, replike cvetnih organa sa različitom orijentacijom prema suncu imale su različite vrednosti asimetričnih komponenti varijanse oblika, kao rezultat plastičnosti u odnosu na mikro-sredinsku heterogenost ambijentalne svetlosti.

Da veličina, oblik i boja cveta predstavljaju vizuelne signale za privlačenje potencijalnih oprašivača potvrdila su poređenja veličine cvetnih organa oprašenih i neoprašenih biljaka. Oprašeni cvetovi su, po pravilu, imali veće organe od neoprašenih, sa izuzetkom grane tučka. Regresione analize su pokazale da je veličina fola bila pod delovanjem pozitivne, a grane tučka negativne direkcione selekcije. Suprotno tome, oblik cvetnih organa se razlikovao u zavisnosti od boje, što ukazuje da je preferencija oprašivača prema specifičnim kombinacijama vizuelnih signala bila važan mehanizam morfološke divergencije reproduktivnih organa *I. pumila*.

KLJUČNE REČI: *Iris pumila*, morfološko variranje, oblik, polimorfizam boje, preferencija oprašivača, razvojna nestabilnost, fenotipska plastičnost.

NAUČNA OBLAST: Biologija

UŽA NAUČNA OBLAST: Evoluciona biologija

UDK: [[575.21+581.46]+582.572.7]:581.162.3(043.3)

MORPHOLOGICAL VARIATION, PHENOTYPIC PLASTICITY AND FLUCTUATING ASYMMETRY OF FLORAL ORGAN SHAPES IN *Iris pumila* L.

Abstract

Analyzes of intra - and inter - individual differences of morphological structures allow the detection of patterns of phenotypic variation, as well as ecological evolutionary mechanisms leading to their divergence. In this dissertation, components of the phenotypic variation of the shape of functionally distinctive flower organs were determined in the entomophilous plant, specific for striking flower color polymorphism, *Iris pumila* L. Experiments were carried out on plants grown in experimental garden, originating from reciprocal crossing of 24 clonal genotypes. Using the methods of geometric morphometrics patterns of variation of the shape of three bilaterally symmetrical organs (falls, standards and style branches) have been revealed. In all three floral organs, the proportion of the symmetric component in the overall shape variation was the highest, while the fluctuating asymmetry (FA) was dominated in asymmetric component. Although it is thought that primary cause of FA is developmental instability, our research has shown that phenotypic plasticity can also produce FA. Namely, replicas of flower organs with different orientations towards the sun had different values of asymmetric components of variance of the shape, as an outcome of plasticity in relation to the microenvironmental heterogeneity of ambient light.

In this dissertation it is confirmed that size, shape and color of flowers are visual attractants for pollinators. Pairwise comparisons in size between pollinated and unpollinated flowers revealed that pollinated falls and standards are bigger related to their unpollinated pairs. Regression analyzes have shown that the size of the falls was under positive selection, while size of style branches was under negative direct selection. In contrast, the shape of the flower organs differed depending on their color, indicating that the pollinator's

preference for specific combinations of visual signals was an important mechanism of morphological divergence of the reproductive organs of *I. pumila*.

KEY WORDS: *Iris pumila*, morphological variation, shape, color polymorphism, pollinators' preferences, developmental instability, phenotypic plasticity.

SCIENTIFIC FIELD: Biology

SPECIFIC SCIENTIFIC FIELD: Evolutionary Biology

UDC: [[575.21+581.46]+582.572.7]:581.162.3(043.3)

| | |
|--|-----------|
| 1 Uvod | 1 |
| 1.1 Varijabilnost <i>versus</i> variranje | 1 |
| 1.2 Fenotipska varijabilnost | 1 |
| 1.2.1 Komponente fenotipske varijabilnosti | 6 |
| 1.2.2 Merenje varijabilnosti na osnovu obrazaca variranja | 11 |
| 1.3 Biljke kao model organizmi u istraživanjima ekološko - evolucione biologije razvića | 15 |
| 1.3.1 Fluktuirajuća asimetrija kao indikator stresa | 15 |
| 1.3.2 Fluktuirajuća asimetrija cveta | 17 |
| 1.4 Morfološka raznovrsnost cvetnih organa i faktori koji je strukturiraju | 17 |
| 1.4.1 Morfološke karakteristike cveta kao vizuelni signali za oprašivače | 19 |
| 1.4.2 Polimorfizam boje cveta i mehanizmi njegovog održavanja | 22 |
| 1.5 Geometrijska morfometrija kao metodološki pristup u kvantifikaciji fenotipskog variranja složenih morfoloških struktura | 26 |
| 1.5.1 Korišćenje specifičnih tačaka za opisivanje oblika morfoloških struktura | 27 |
| 1.5.2 Generalizovana Prokrustova superimpozicija | 28 |
| 1.5.3 Grafički prikaz promene oblika | 29 |
| 1.5.5 Alometrija | 32 |
| 2 Ciljevi istraživanja | 33 |
| 3 Materijal i metode | 35 |
| 3.1 Ispitivana vrsta | 35 |

| | |
|--|------------------|
| 3.2 Eksperimentalna populacija | 38 |
| 3.3 Priprema cvetova za geometrijsko - morfometrijske analize | 40 |
| 3.3.1 Uzimanje uzoraka cvetova, konzervisanje, disekovanje i skeniranje cvetnih organa <i>I. pumila</i> | 40 |
| 3.3.2 Obrasci u variranju veličine i oblika različito orijentisanih cvetnih organa <i>I. pumila</i> | 42 |
| 3.3.3 Obrasci u variranju veličine i oblika cvetnih organa <i>I. pumila</i> kod biljaka različite boje cveta | 44 |
| 3.3.4 Preferencija oprašivača prema morfološkim osobinama cvetnih organa i boji cveta <i>I. pumila</i> | 44 |
| 3.4 Geometrijska morfometrija | 46 |
| 3.4.1 Statističke analize | 46 |
| <u>4 Rezultati</u> | <u>53</u> |
| 4.1 Variranje oblika cvetnih organa <i>I. pumila</i> | 53 |
| 4.1.1 Obrasci variranja oblika fola | 53 |
| 4.1.2 Obrasci variranja oblika standarda | 54 |
| 4.1.3 Obrasci variranja oblika grane tučka | 54 |
| 4.1.4 Alometrijske promene oblika cvetnih organa <i>I. pumila</i> | 55 |
| 4.2 Uticaj mikrosredinskog gradijenta ambijentalne svetlosti na variranje veličine, oblika i asimetrije cvetnih organa <i>I. pumila</i> | 56 |
| 4.3 Variranje veličine i oblika cvetnih organa u odnosu na boju | 60 |
| 4.4 Preferencija oprašivača prema morfologiji cvetnih organa i boji cveta | 61 |

5 Diskusija **64**

- 5.1 Funkcija, okruženje ili slučajnost? Obrasci variranja veličine i oblika
cvetnih organa *I. pumila* 64
- 5.2 Kada životna sredina oblikuje fenotip: plastičnost kao komponenta
fluktuirajuće asimetrije 66
- 5.3 Šta se krije iza duge? Morfološki diverzitet cvetnih organa *I. pumila*
polimorfnih u odnosu na boju 70
- 5.4 Da li je važno biti privlačan da bi bio izabran? Preferencija oprašivača
prema morfologiji cveta kod *I. pumila* 74

6 Zaključci **77**

7. Tabele **79**

8. Slike **112**

9. Literatura **124**

1 Uvod

1.1 Varijabilnost *versus* variranje

Termin **fenotipska varijabilnost** označava sklonost ili mogućnost bioloških sistema da se menjaju (Wagner i Altenberg 1996; Willmore i sar. 2007). Ovim pojmom opisuju se očekivane promene u fenotipskoj ekspresiji neke morfološke osobine kao odgovor na variranje sredinskih ili genetičkih činilaca. Pošto obuhvata sve potencijalne fenotipske ishode, od kojih samo neki mogu da budu realizovani, fenotipska varijabilnost nije direktno merljiva, već predstavlja apstraktan pojam (Wagner i Altenberg 1996; Hallgrímsson i Hall 2005; Willmore i sar. 2007).

Nasuprot tome, **fenotipsko variranje** označava postojanje individualnih razlika u odnosu na neku osobinu unutar određene populacije ili uzorka, ili između vrsta neke klade, i uključuje samo onaj deo spektra potencijalnih fenotipskih ishoda koji su ispoljeni (Wagner i Altenberg 1996). Pošto predstavlja karakteristiku grupe, fenotipsko variranje je moguće kvantifikovati (Barton i Turreli 1989; Falconer i Mackay 1996). Suštinska razlika između pojmova varijabilnosti i variranja je u tome što prvi opisuje **proces**, dok drugi opisuje **obrazac** (Hallgrímsson i Hall 2005).

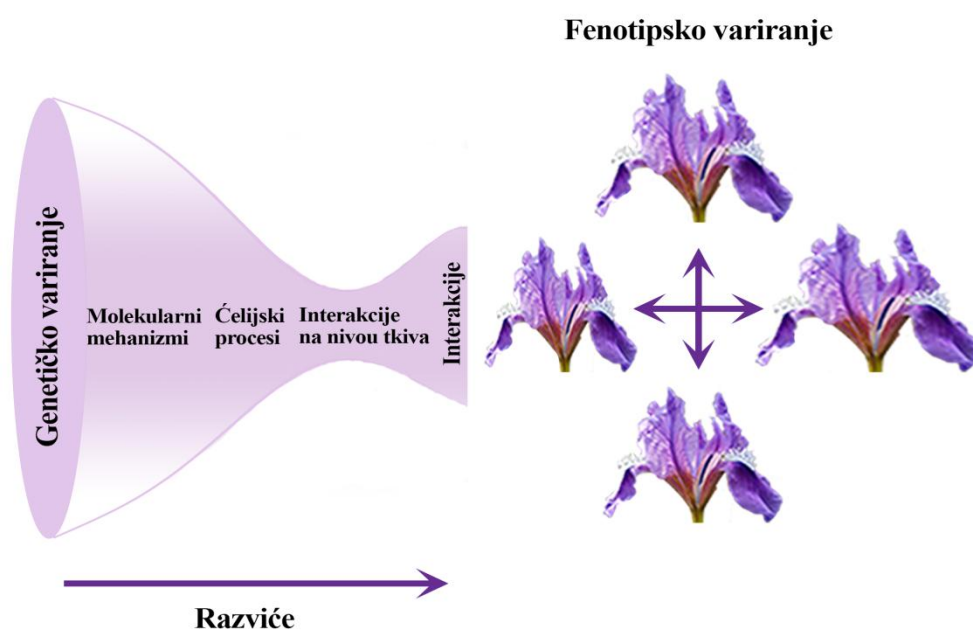
1.2 Fenotipska varijabilnost

Fenotipsko variranje je karakteristika svih bioloških sistema, i prisutna je na svim hijerarhijskim nivoima: od molekula do fenotipa organizma (Hallgrímsson i Hall 2005). Dosadašnja istraživanja ovog fenomena uglavnom su bila usmerena na objašnjavanje obrazaca variranja na nekom od nivoa biološke hijerarhije, dok je pitanje nastanka fenotipskog variranja bilo izvan fokusa interesovanja (Hallgrímsson i Hall 2005). Sklonost ili mogućnost fenotipa da se menja od fundamentalnog je značaja za njegovu evoluciju pod delovanjem prirodne selekcije. Naime, da bi prirodna selekcija "proizvela" određenu adaptaciju neophodna je takva genetička promena koja će omogućiti

nastanak funkcionalno odgovarajuće (adaptivne) promene fenotipa u odnosu na aktuelni ekološki kontekst. Međutim, da li će uopšte doći do adaptivne promene fenotipa zavisi isključivo od načina na koji se genotipska promena preslikava na fenotipsku promenu, odnosno od njegove genotipsko - fenotipske mape (Alberch 1991; Wagner i Altenberg 1996; Fortuna i sar. 2017). Prema definiciji koju su formulisali Fortuna i saradnici (Fortuna i sar. 2017), "genotipsko - fenotipska mapa je odnos (matematička funkcija) između genotipskog i fenotipskog prostora, koji određuje način na koji se informacija sadržana u genotipu preslikava u fenotipove kroz procese, kao što su tercijarna i kvarтерна struktura proteina i embrionalno razviće". Na osnovu ove definicije može se jasno zaključiti da su genotipsko - fenotipske mape apstraktni teorijski ili matematički modeli, koji su specifični za različite hijerarhijske nivoe živih sistema (Ahnert 2017). Dosadašnja istraživanja genotipsko - fenotipskih mapa otkrila su strukturne karakteristike koje su zajedničke za svaku od analiziranih mapa u koje spadaju: *mnogostrukost* (engl. *redundancy*) genotipova, što znači da više različitih genotipova određuje isti fenotip; *asimetrična distribucija* broja genotipova po jednom fenotipu; sposobnost formiranja *velikog broja različitih fenotipova* uzrokovano malim brojem mutacija istog genotipa; i što je takođe od izuzetne važnosti, sposobnost određenog fenotipa da evoluira u funkcionalno odgovarajući fenotip (engl. *evolvability*) (Ahnert 2017).

Za razliku od genotipsko - fenotipskih mapa jednostavnih bioloških struktura kao što su proteini (Lau i Dill 1989) ili RNK molekuli (Schuster 2006; Schuster i sar. 1994), genotipsko - fenotipsko mapiranje složenih morfoloških osobina je izuzetno komplikovano (Pigliucci 2010; Wu 2012; Fortuna i sar. 2017). Razlog tome je što je njihovo fenotipsko variranje determinisano ne samo kompleksnim interakcijama između velikog broja gena, već i interakcijama između brojnih razvojnih procesa (koji se dešavaju na različitim hijerarhijskim nivoima i u različitom vremenskom periodu), kao i ekološkim kontekstom unutar koga se odvija individualno razviće (Wagner 1996; Wagner i Altenberg 1996; Wolfe i sar. 2001, 2006; Pigliucci 2010; Wu 2012; Hallgrímsson i sar. 2014) (Slika 1.2.1).

Fenotipska varijabilnost je karakteristika genoma (Wagner i Altenberg 1996) koju determiniše genetička arhitektura određenog fenotipa, tj. broj lokusa koji kodiraju taj fenotip, njihovi pojedinačni aditivni i dominantni genetički efekti, kao i njihove epistatičke interakcije (Wade i sar. 2001). Brojni literaturni podaci pokazuju da varijabilnost takođe evoluira pod delovanjem prirodne selekcije (Wagner i Altenberg 1996; Pélaboni sar. 2010). Utvrđeno je, naime, da su neke varijabilne osobine postale fiksirane (Stebbins 1974) dok su druge, nakon nestanka razvojnih ograničenja, evoluirale u varijabilne (Vermeij 1970, 1973, 1977). Međutim, još uvek je otvoreno pitanje koliko je efikasno delovanje selekcije na varijacioni potencijal, kao i kakav je odnos između selekcije na fenotipsko variranje i selekcije na varijabilnost (Pélaboni sar. 2010).



Slika 1.2.1. Grafički prikaz razvojno - genetičke arhitekture fenotipskog variranja složenih morfoloških struktura. Prema prikazanom modelu, efekti velikog broja gena utiču na fenotipsko variranje složenih morfoloških struktura delujući na različite procese razvića. Zbog modularnosti genetičkih efekata na razvojne procese i njihove međusobne interakcije, kao i modularnosti efekata ovih procesa na grupe fenotipskih karakteristika, fenotipska varijansa i kovarijansa složenih morfoloških struktura ispoljavaće takođe modularnu organizaciju (prema Hallgrímsson i sar. 2014).

Kao što je već navedeno, nivo varijabilnosti fenotipa determinisan je stepenom njegove osetljivosti na genetičke ili sredinske promene. U tom kontekstu, kanalisnost označava proces kojim se neka struktura ili organizam razvija u pravcu determinisanog fenotipa, bez obzira na promenu genetičkih ili sredinskih uslova, i ispoljava se na među - individualnom nivou (Palmer i Strobeck 2003; Wagner i sar. 1997; Flatt 2005). Međutim, razvojne putanje morfoloških struktura u određenoj sredini mogu da budu narušene ne samo delovanjem genetičkih i sredinskih činilaca, već i zbog malih slučajnih poremećaja razvića (tzv. razvojni šum) izazvanih stohastičkom prirodom ćelijskih procesa (Palmer 1994). Razvojna stabilnost označava rezistentnost organizma na prisustvo razvojnih šumova, koji, iako se možda dešavaju, ne ispoljavaju se na morfološkom nivou (Klingenberg 2003). Nasuprot stabilnosti razvića, termin nestabilnost razvića odnosi se na osetljivost organizma na prisustvo razvojnog šuma i manifestuje se kao suptilna morfološka promena lokalizovana samo na jednoj od strana kod bilateralno simetričnih struktura. Ovakva mala razlika u veličini i/ili obliku leve i desne strane bilateralno simetričnih osobina uzrokovana razvojnim šumom označava se kao fluktuirajuća asimetrija (FA), i najčešće se koristi kao mera nestabilnosti razvića (Klingenberg 2015).

Iako je generalno prihvaćeno da varijacioni potencijal može da evoluira, još uvek nije u potpunosti otkriveno kakav je efekat različitih selekcionih režima na komponente fenotipskog variranja, kao što su kanalisnost i razvojna stabilnost (Hansen 2006). Teorijskim izučavanjima delovanja selekcije na fenotipsko variranje došlo se do izvesnih otkrića koja još uvek nisu eksperimentalno potvrđena. Jedno od njih je da efekat selekcije zavisi od oblika funkcije adaptivne vrednosti (Layzer 1980). Prema ovoj hipotezi, konkavne funkcije adaptivne vrednosti dovešće do smanjenja fenotipske varijanse, dok će je konveksne funkcije povećavati. Drugim rečima, očekuje se da će se varijansa neke poligenske osobine smanjivati pod delovanjem stabilizacione selekcije, a povećavati pod delovanjem disruptivne selekcije. Međutim, efekat linearne direkcione selekcije zavisice od zakrivljenja krive koja prikazuje distribuciju razmatrane osobine, pri čemu se očekuje da će intenzitet selekcije pak biti slab

zbog rekombinacija koje dovode do skoro normalne distribucije u slučaju poligenских osobina (Hansen 1992). Utvrđeno je takođe da linearna selekcija može da dovede do brze promene aditivne genetičke varijanse u prisustvu direkcione epistaze. Direkciona epistaza je proces sistematske međusobne modifikacije gena u određenom pravcu unutar morfološkog prostora, pri čemu pozitivna direkciona epistaza dovodi do povećanja aditivne varijanse, dok negativna epistaza dovodi do njenog smanjenja (Hansen i Wagner 2001; Hansen i sar. 2006). Takođe se smatra da u evolucionoj vremenskoj skali, delovanje stabilizacione selekcije na epistatičku genetičku arhitekturu može da dovede do određenog stepena genetičkog kanalisanja (Álvarez-Castro i sar. 2009), dok efekat selekcije na sredinsku komponentu fenotipske varijanse još uvek nije dovoljno proučen (Pélaboni sar. 2011).

Jedno od retkih istraživanja evolucije variranja i varijabilnosti pod delovanjem prirodne selekcije obavili su Pelabon i saradnici početkom ove dekade (Pélaboni sar. 2011). Analizom obrazaca variranja veličine i oblika krila kod *Drosophila melanogaster* pod delovanjem fluktuirajuće, stabilizacione i disruptivne selekcije, ovi autori su otkrili da je disruptivna selekcija značajno povećavala fenotipsko variranje oblika krila, dok je variranje veličine krila bilo nepromenjeno. Nasuprot disruptivnoj selekciji, fluktuirajuća i stabilizaciona selekcija su smanjivale variranje svih analiziranih osobina. Analizom unutar - individualnog variranja, na osnovu veličine fluktuirajuće asimetrije, utvrđeno je da se nivo fluktuirajuće asimetrije povećavao pod svim selekcionim režimima. Rezultati ovih eksperimenata su potvrdili da kanalisnost i stabilnost razvića, kao komponente fenotipske varijabilnosti, mogu da evoluiraju pod delovanjem prirodne selekcije, iako se pretpostavlja da su ova dva procesa determinisana različitim kombinacijama gena (Pélaboni sar. 2011).

1.2.1 Komponente fenotipske varijabilnosti

Fenotipska varijabilnost (sposobnost variranja) je karakteristika koja nastaje kao rezultat dva suprotna trenda: jednog, koji obuhvata izvore variranja kao što su genetičke mutacije, sredinski efekti i greške u razviću, i drugog, koga čini više međusobno povezanih regulatornih procesa, od kojih su četiri od posebnog značaja: kanalisnost razvića, razvojna stabilnost, fenotipska plastičnost i morfološka integracija (Debat i David 2001; Hallgrímsson i sar. 2002; Willmore i sar. 2007; Takahashi 2018). Iako se radi o fundamentalnim biološkim koncepcijama, razumevanje ovih procesa je često pogrešno i zbunjujuće zbog nepravilnog korišćenja tehničkih termina kojima se opisuje rezistentnost fenotipa na prisustvo različitih izvora variranja (Takahashi 2018).

Kanalisnost razvića. Rodonačelnik koncepcije kanalisnosti razvića je bio Waddington (Waddington 1942). Prema Waddington-u kanalisnost razvića je sposobnost fenotipa da ostane konzistentan u prisustvu sredinskih i/ili genetičkih poremećaja. Tokom proteklih više od pola veka formulisan je veliki broj različitih definicija kanalisnosti, pre svega zbog novih otkrića vezanih za genetičku osnovu i evolucionu značaj ove komponente fenotipske varijabilnosti (videti detaljan prikaz kod Debat i David 2001; Takahashi 2018). Genetička kanalisnost je koncepcija teorijski najbliža onoj koju je proklamovao Waddington (1942), a odnosi se na proces koji smanjuje alelske efekte uzrokovane mutacijama i rekombinacijama (Takahashi 2018). Ovaj proces se takođe naziva "genetičko puferisanje", jer obuhvata sisteme koji sprečavaju (puferišu) ekspresiju određenih genetičkih varijanti na određenim sekvencama genoma (tzv. genetički kondezatori; Takahashi 2013, 2015). Smatra se da kanalisani fenotipovi imaju isti selektivni optimum u različitim genetičkim kontekstima, što potvrđuje njihova rezistentnost na delovanje selekcije i mutacione pritiske (Debat i David 2001). Kao što je to uobičajeno za kvantitativne osobine, stepen genetičke kanalisnosti moguće je proceniti na osnovu veličine komponente fenotipske varijanse između genotipova.

Sredinsko kanalisanje je koncepcija slična genetičkom kanalisanju, međutim, u ovom slučaju uzrok fenotipskog variranja su sredinske promene.

Sredinsko kanalisanje se definiše kao neosetljivost ili otpornost fenotipa na variranje sredinskih činilaca (Wilkins 1997; Debat i David 2001; Takahashi 2018). Pretpostavlja se da će kanalisane osobine imati isti selektivni optimum unutar niza razmatranih sredina. Kao potvrda ove pretpostavke je rezistentnost na nespecifične sredinske promene, recimo one između jedinki iste populacije, ili iznenadno povećanje fenotipske varijanse uzrokovano ekstremnim promenama sredine na koje data vrsta nije bila u mogućnosti da se adaptira tokom svoje evolucione istorije (Debat i David 2001). U određenom broju eksperimentalnih istraživanja je utvrđeno da neke fenotipske osobine koje su kanalisane pod normalnim sredinskim uslovima mogu da postanu varijabilne u zavisnosti od veličine sredinskih poremećaja (Stearns i Kawecki 1994; Dworkin 2005; Manitašević i sar. 2007). U ovim istraživanjima je pokazano da je sredinski stres uslovljen visokom temperaturom doveo do narušavanja kanalisnosti razvića, što je rezultiralo u povećanoj fenotipskoj varijansi analiziranih osobina.

Fenotipska plastičnost. Fenotipska plastičnost predstavlja sposobnost genotipa da formira različite fenotipove u različitim sredinama (Via i sar. 1995; Callahani sar. 1997; Schlichting i Pigliucci 1998; Pigliucci 2001). Variranje u fenotipskoj ekspresiji poligenskih osobina pod uticajem sredinskih činilaca fundamentalno je svojstvo organizama koje može da utiče na njihovo razviće, ekologiju, genetiku i evoluciju (Lewontin 1985; Stearns 1989; Scheiner 1993; Pigliucci 2001; Sultan 2003). Biotički i abiotički faktori životne sredine mogu da indukuju fenotipske promene na svim nivoima biološke hijerarhije, što je od izuzetnog značaja za preživljavanje i reprodukciju u heterogenim sredinama (Schlichting i Pigliucci 1998; Pigliucci 2001).

Pošto fenotipska plastičnost predstavlja osobinu koja je genetički determinisana, to implicira da će variranje genetičkih činilaca za fenotipsku plastičnost uzrokovati variranje nivoa (količine) fenotipske plastičnosti u zavisnosti od vrednosti i stepena promenljivosti određenog ekološkog faktora (Via i Lande 1987; Van Kleunen i Fisher 2005). Pretpostavlja se da će plastične osobine ispoljavati različite optimume u zavisnosti od vrednosti različitih sredinskih parametara. Potvrde za ovu tvrdnju bile bi veće adaptivne vrednosti

genotipa sa optimalnim vrednostima određene osobine u sredinama u kojima se odvijalo razviće date osobine od onih sa optimalnim vrednostima iste osobine ispoljene u drugim sredinama (Sultan 2003).

Fenotipska plastičnost više je “pravilo nego izuzetak” (Gilbert i Bolker 2003), jer interakcije genetičkih i sredinskih činilaca utiču na sve aspekte razvića organizma i njegovih funkcija. Jedan od najbolje proučenih primera jeste sindrom izbegavanja senke kod zelenih biljaka. Sindrom izbegavanja senke karakterističan je za period vegetativnog rasta biljke kada one detektuju prisustvo i blizinu drugih biljaka percepcijom svetlosnih signala (odnos crvene i tamno crvene svetlosti) reflektovanih sa listova suseda (Smith 1995). Vrednosti svetlosnih signala mogu da iniciraju različite adaptivne odgovore na morfološkom nivou, kao što su povećanje stope izduživanja stabla, supresija bočnog grananja i ubrzavanje početka cvetanja. Hipoteza o adaptivnoj prirodi sindroma izbegavanja senke potvrđena je u istraživanjima u kojima su korišćene mutantne i transgene biljke koje su izgubile sposobnost signalne percepcije (Pigliucci i Schmitt 1999). Ova istraživanja su takođe pokazala da plastični odgovori različitih ekotipova *Arabidopsis thaliana* nisu uvek rezultirali istom morfološkom promenom. Ovakav adaptivni diverzitet u okviru jedne vrste može da bude rezultat varijabilnosti gena za fotoreceptore ili target gena specifičnih za fotomorfogenezu, kao i različite uloge regulatornih gena čija aktivnost zavisi od uticaja fitohroma (Schlichting i Smith 2002). Sindrom izbegavanja senke je, takođe, dobar primer kako prirodna selekcija može funkcionisati 'protiv' plastičnosti. U prilog ovoj hipotezi su i rezultati recipročno - transplantacionog ekseperimenta rađenog na populacijama *Iris pumila* poreklom sa otvorenih i zasenčenih staništa. Naime, biljke poreklom iz šume, koje su rasle u uslovima punog intenziteta ambijentalne svetlosti, pokazivale su manji nivo plastičnosti za iste osobine u odnosu na one poreklom iz otvorenog staništa (Tucić i sar. 1990). Pošto biljke koje naseljavaju senku unutar vegetacionog sklopa nemaju koristi od izduživanja stabla (ne mogu da dosegnu pun intenzitet svetlosti), u ovom slučaju, odnos između cene i koristi plastičnosti bio je faktor koji je odredio adaptivnu strategiju u zasenčenim staništima.

Stabilnost razvića. Stabilnost razvića predstavlja tendenciju morfoloških osobina - određenog genotipa u određenoj sredini - da se ne menjaju pod uticajem razvojnog šuma (Klingenberg 2003). Kao i kanalisnost, stabilnost razvića je takođe rezultat sposobnosti sistema razvića da puferiše poremećaje koji narušavaju razvojne putanje (Palmer 1994). Razlika između ove dve koncepcije je u prirodi faktora koji generišu poremećaje. Smatra da razvojni šum nastaje kao posledica stohastičke prirode ćelijskih procesa (McAdams i Arkin 1999). Tako, na primer, do nastanka razvojnog šuma može da dođe tokom ćelijske deobe, zbog slučajne neravnomerne raspodele različitih molekula između dve ćerke ćelije (Huh i Paulsson 2011). Takođe, jedan od uzroka slučajnog variranja može da bude odlaganje molekularnih interakcija unutar ćelije (Klingenberg i Nijhout 1999). Pošto je trajanje transporta molekula od citoplazme do jedra nepredvidivo, pitanje verovatnoće je koliko će biti potrebno određenom regulatornom proteinu da se veže za specifično mesto na DNK molekulu (Phair i Misteli 2000).

Iako stabilnost razvića i kanalisnost sprečavaju ispoljavanje fenotipske varijabilnosti, ova dva procesa se razlikuju u odnosu na uzorke koji dovode do poremećaja koje "ispravljaju". Dok kanalisnost razvića puferiše efekat variranja spoljašnje sredine, razvojna stabilnost "ispravlja" potencijalne efekte razvojnog šuma koji nastaje unutar jedinke (Willmore 2007). Ova činjenica je od izuzetne važnosti zbog odabira metoda za merenje obrazaca variranja (Van Valen 1962) (videti odeljak **1.2.2.**).

Smatra se da je stabilnost razvića rezultat dva suprotna procesa koji se dešavaju unutar jedinke: "razvojnog šuma" koji nastaje u toku procesa razvića, s jedne strane, i molekularnih mehanizama koji ograničavaju fenotipske efekte takvog izvora variranja, s druge strane (Lens i sar. 2002; Willmore i Hallgrímsson 2005; Breuker i sar. 2006). Imajući to u vidu, jasno je da razvojna stabilnost predstavlja relativno svojstvo (Willmore i sar. 2007). Ukoliko je nivo razvojnog šuma u dve populacije jednak, smatra se da je populacija sa manjim stepenom unutar - individualnog variranja razvojno stabilnija. Međutim, kada je nivo razvojnog šuma u populaciji nepoznat, manji stepen unutar - individualnog variranja mogao bi da bude rezultat ili efikasnih samoregulatornih mehanizama

razvojne stabilnosti, ili niskog nivoa prisutnog razvojnog šuma (Willmore i sar. 2007).

Morfološka integracija. Morfološka integracija je međusobna zavisnost grupa osobina neke jedinke, do koje dolazi zbog zajedničkog uticaja funkcionalnih i/ili razvojnih činilaca (Olson i Miller 1958; Cheverud 1996; Wagner 1996; Klingenberg 2003; Rolian i Willmore 2009). Prema Olson-u i Miller-u, morfološka integracija je "ukupan zbir svih osobina koje, sačinjavajući međusobno zavisne strukture, tvore organizam" (Olson i Miller, 1958). Različite morfološke strukture čine setovi snažno korelisanih fenotipskih osobina zbog razvojnih i funkcionalnih interakcija. Svaka ponaosob učestvuje u formiranju integrisanog organizma, u kome harmonično funkcionišu jedna u odnosu na drugu (Olson i Miller 1958). Olson i Miller (1958) su prvi formulisali metod, baziran na statističkim korelacijama, za empirijsko identifikovanje razvojno i/ili funkcionalno integrisanih fenotipskih osobina (p-grupe). Proučavanje morfološke integracije intenzivirano je 80-tih godina prošlog veka, a James Cheverud (Cheverud 1982, 1995, 1996) je bio prvi evolucionisti biolog koji se bavio integracijom koristeći kvantitativno-genetičku teoriju. U svom pristupu, Cheverud je koristio korelacione matrice kao matematičku alatku za utvrđivanje odnosa između morfoloških osobina. Na taj način, ovaj naučnik je identifikovao četiri tipa integracije hijerarhijski organizovane između jedinki i populacija. Na nivou jedinke, to je integracija uzrokovana delovanjem *razvojnih* i *funkcionalnih* faktora. Prema Cheverud-u ova dva tipa integracije se međusobno ne isključuju pošto "razviće treba shvatiti kao dinamičku funkciju, pri čemu je funkcionalna integracija kod adulta najverovatnije nastala razvojnom integracijom" (Cheverud, 1996:45). Na populacionom nivou, može doći do *genetičke* integracije ukoliko se grupe fenotipskih osobina zajednički nasleđuju, više ili manje nezavisno od drugih grupa osobina. Genetička integracija može da dovede do *evolucione* integracije, odnosno koevolucije grupa fenotipskih osobina zbog koordinisanih odgovora na delovanje selekcije. Generalno je prihvaćeno mišljenje da do evolucije osobina u integrisane grupe, koje su u određenom stepenu nezavisne od drugih grupa osobina, može da dođe zbog

diferencijalne supresije plejotropnih efekata gena između grupa i pojačavanja ovih efekata između osobina unutar grupa (Rolian i Willmore 2009).

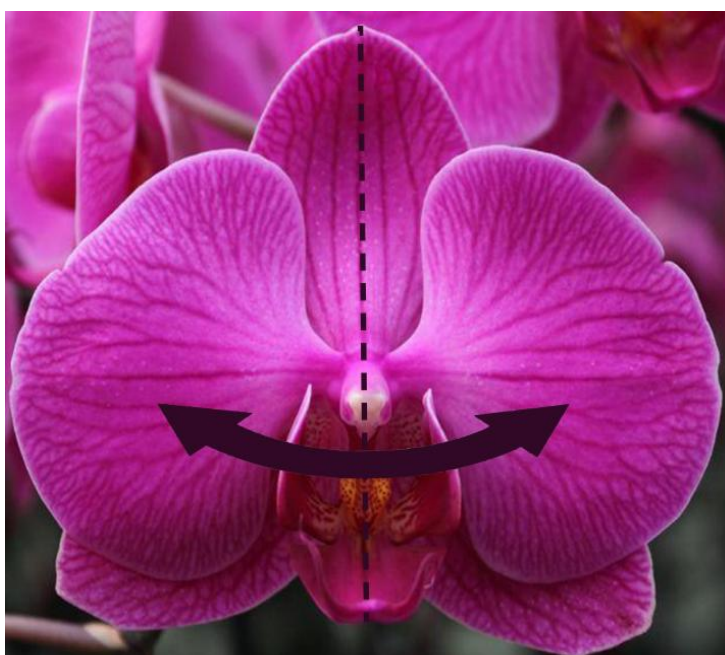
1.2.2 Merenje varijabilnosti na osnovu obrazaca variranja

Kako je napomenuto ranije, fenotipsko variranje predstavlja samo jedan deo ukupne fenotipske varijabilnosti, što ograničava mogućnost njene kvantifikacije. Iz tog razloga, uobičajeno je da studije koje se bave problematikom fenotipskog variranja analiziraju posledice delovanja određenih genetičkih ili sredinskih faktora na odstupanja u razviću (na primer, izloženost različitim toksinima ili ekstremnim temperaturama). Na taj način, moguće je utvrditi genotipove, specifične osobine, pa čak i razvojne stupnjeve koji su najpodložniji promeni. To omogućuje da se na osnovu obrazaca fenotipskog variranja sagledaju potencijalni razvojni procesi uključeni u formiranje fenotipske varijabilnosti (Willmore i sar. 2007).

Pošto se fenotipske osobine jedinki razvijaju pod različitim genetičkim i sredinskim uslovima, razlike u inter - individualnom variranju osobine mogu da ukažu na sposobnost jedinke da kanališe svoje razviće u odnosu na variranje ovih činilaca. Inter - individualno fenotipsko variranje predstavlja meru koja se najčešće upotrebljava za kvantifikaciju kanalisnosti, naime, variranje će imati širi opseg ukoliko je kanališući potencijal jedinke manji (Willmore i sar. 2007; Jojić i sar. 2011). Jedan od nedostataka ovakvog načina kvantifikovanja jeste taj što se oslanja na poređenja između populacija, jer ne postoji standard u odnosu na koji bi se vršile procene (Rutherford 2000).

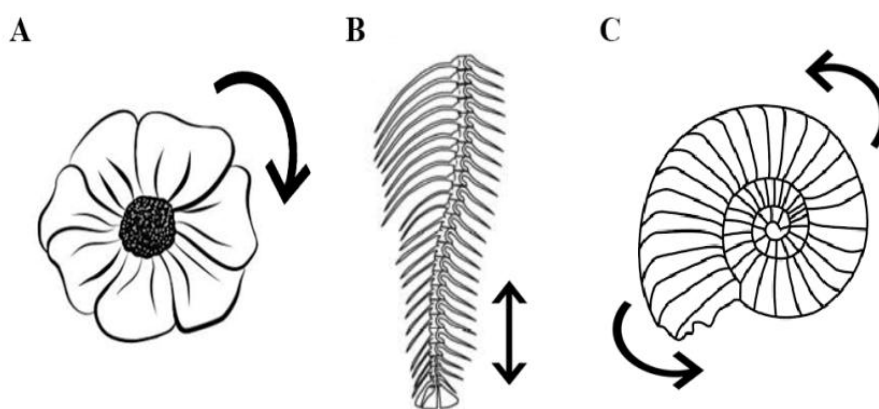
Jedna od morfoloških karakteristika organizama koja je pogodna za istraživanja komponenti fenotipske varijabilnosti, ali i za faktore koji je struktuiraju, jeste simetrija različitih bioloških struktura, koja se definiše kao specifično ponavljanje delova morfološke celine u različitim pozicijama i orijentacijama (Debat i David 2001; Klingenberg 2015). Za mnoge biološke sisteme, a naročito za životinjske organizme, karakteristična je bilateralna simetrija. Bilateralna simetrija se odlikuje prisustvom parnih delova, koji se nalaze sa leve i desne strane središnje ose. Kod bilateralno simetričnih organizama postoje dva osnovna tipa simetrije koji se mogu razlikovati na

osnovu odnosa između parnih delova celine i ose simetrije (Klingenberg i sar. 2002). Prvi tip je *preklapajuća simetrija* (engl. *matching symmetry*) gde su parne strukture prisutne kao nezavisne kopije sa obe strane neke morfološke celine (Slika 1.2.2.1), a drugi tip je *simetrija objekta* (engl. *object symmetry*) kod koje se osa simetrije nalazi u okviru same celine (Slika 1.2.2.1) (Klingenberg i sar. 2002).



Slika 1.2.2.1. Tipovi bilateralne simetrije morfoloških celina. Preklapajuća simetrija (engl. *matching symmetry*): nezavisne kopije latica orhideje sa osom simetrije između njih koja fizički ne dodiruje replike latica (dvosmerna strela). Simetrija objekta (engl. *object symmetry*): cvet orideje podeljen na levu i desnu stranu osom simetrije koja predstavlja deo morfološke celine (isprekidana linija).

Ostali tipovi simetrije su kompleksniji od bilateralne, jer uključuju ponavljanje više strukturnih jedinica. To su, na primer: *radijalna simetrija*, gde se replike ponavljaju pod određenim uglom u odnosu na centralnu osu (Slika 1.2.2.2A), *translaciona simetrija*, gde se replike ponavljaju duž ose (Slika 1.2.2.2B) i *spiralna simetrija*, kod koje se rotacija i translacija dešavaju istovremeno (Slika 1.2.2.2C) (Savriama i Klingenberg 2011). Ipak, najveći broj studija koje se bave simetrijom odnose se na bilateralno simetrične organizme.



Slika 1.2.2.2. Različiti tipovi simetrije A - Rotaciona (radijalna) simetrija cveta; B-Translaciona simetrija pršljenova kičme ribe; C- Spiralna simetrija ljuštore puža (prema Savriama i Klingenberg 2011).

Pretpostavlja se da se razviće idealno simetričnih organizama odvija u konstantnim genetičkim i sredinskim uslovima. Stoga, svako odstupanje od idealne simetrije morfoloških struktura može da pruži uvid u biološke procese koji su do njega doveli (Klingenberg 2005).

Za razliku od razvojne stabilnosti, nestabilnost razvića se ispoljava kao fenotipska promena nastala uprkos istim genetičkim i sredinskim uslovima (Willmore 2007). Zbog toga se kao mera razvojne nestabilnosti koristi unutar - individualno variranje, odnosno fluktuirajuća asimetrija (FA) (Klingenberg 2003, 2015). Osnovni argument za upotrebu FA kao mere razvojne nestabilnosti jeste pretpostavka da su leva i desna strana bilateralno simetričnog organizma (ili organa) nezavisne replike jedne iste strukture koje imaju isti genom i čije se razviće odvija u istim spoljašnjim uslovima (Klingenberg 2015). Kada razviće ne

bi bilo dinamičan, već strogo genetički determinisan proces, leva i desna strana predstavljale bi identične kopije, ispoljavajući "ciljni" fenotip određenog genotipa. Međutim, pošto procesi razvića nisu deterministički, čak se i u homogenim sredinama mogu dešavati stohastički poremećaji ćelijskih procesa, odnosno razvojni šumovi koji dovode do odstupanja od očekivanog fenotipa. Razvojni šumovi se odigravaju lokalno, akumulirajući se samo na jednom ili jednoj strani bilateralno simetričnih organa. Dakle, iako dve suprotne strane nekog organizma dele isti genom i uslove životne sredine, neizbežno je prisustvo malih fenotipskih razlika među njima (FA), kao odraz razvojne nestabilnosti (Klingenberg 2015).

Među evolucionim biolozima intenzivno je razmatrana mogućnost da fluktuirajuća asimetrija kod sesilnih organizama može da bude rezultat fenotipske plastičnosti (Palmer i Strobeck 1986; Nijhout i Davidowitz 2003; Klingenberg i sar. 2012; Savriama i sar. 2012; Klingenberg 2015). Iako je kod sisara pokazano da se somatičke mutacije tokom vremena akumuliraju (Zhou i sar. 2013), nejasno je u kojoj meri one doprinose fenotipskoj varijabilnosti. Na osnovu postojećih istraživanja na biljkama, utvrđeno je da somatičke mutacije ne utiču bitno na njihovu varijabilnost (Herrera 2009). Isto tako, smatra se da variranje sredinskih faktora ne može da utiče na asimetriju neke bilateralno simetrične strukture, jer je ono zanemarljivo malo tokom razvića. Iako ovo obrazloženje načelno može da važi za organizme koji se kreću, ono se ne može odnositi na biljke, koje su usled svog sedentarnog načina života konstantno izložene heterogenoj sredini. Kod pokretljivih organizama, intenzitet i pravac delovanja abiotičkih faktora menja se njihovim kretanjem, usled čega razlike između desne i leve imaju prosečne vrednosti (Klingenberg 2015). Kod sesilnih organizama, kao i kod organizama koji u svom životnom ciklusu prolaze kroz statičnu fazu (npr. stadijum lutke kod holometabolnih insekata), razvojna nestabilnost nije jedino i nužno objašnjenje asimetričnosti morfoloških struktura. U ovim slučajevima, do fluktuirajuće asimetrije može delimično da dođe zbog plastičnog odgovora na mikrosredinska variranja. Očigledno je da je testiranje hipoteze da plastičnost predstavlja komponentu FA do sada bilo neostvarivo

zbog nedostatka adekvatnih eksperimentalnih rezultata, pre svega zbog metodoloških poteškoća.

Geni, njihove međusobne interakcije, kao i regulacione genske mreže mogu da doprinesu varijabilnosti složenih osobina utičući na različite razvojne mehanizme tokom ontogeneze. Zbog toga, istraživanje genetičke arhitekture varijabilnosti složenih fenotipova zahteva različit eksperimentalni pristup u odnosu na analiziranje genetičke osnove njihovog fenotipskog variranja (Hallgrímsson 2005). Jedan od pristupa koji je do sada dao najviše rezultata potrebnih za utvrđivanje svojstava razvojnih procesa koji utiču na varijabilnost složenih morfoloških osobina je upoređivanje očekivanih obrazaca variranja sa uočenim (Hallgrímsson 2005). Za ovakve analize, vrlo je uobičajena primena fluktuirajuće asimetrije (Debat i David 2001; Klingenberg 2015; Hallgrímsson 2005).

1.3 Biljke kao model organizmi u istraživanjima ekološko - evolucione biologije razvića

Biljke kao sesilni organizmi vrlo su pogodni model sistemi za eksperimentalna istraživanja razvića u ekološkom kontekstu. Pošto na promenu uslova životne sredine odgovaraju na svim hijerarhijskim nivoima - od molekula do celog organizma (Freeman i sar. 2003) i budući da je njihova organizacija modularna, što znači da se razviće modula koji imaju istu genetičku osnovu po pravilu odvija pod različitim sredinskim uslovima (nutritivni status, sezonsko i godišnje variranje abiotičkih faktora), biljke su posebno pogodne za izučavanje fenomena kao što su razvojna stabilnost i fenotipska plastičnost (Møller i Shykoff 1999).

1.3.1 Fluktuirajuća asimetrija kao indikator stresa

Predmeti ekološko - evolucionih istraživanja u kojima je fluktuirajuća asimetrija korišćena kao indikator nestabilnosti razvića bili su veoma različiti: utvrđivanje efekata genetičkog i sredinskog stresa (Palmer i Strobeck 1986; Parsons 1990; Telhado i sar. 2017), kao i sagledavanje biološkog kvaliteta jedinki (Frey i Bukoski 2014; Komac i Alados 2012).

U odnosu na biljke, fluktuirajuća asimetrija se smatra pouzdanim indikatorom sredinskog i genetičkog stresa (Siikamäki i Lammi 1998; Graham i sar. 2010). Polazeći od hipoteze da sredinski stres može da dovede do povećanja razvojnog šuma, a time i do smanjenog kapaciteta organizma da ispravi odstupanja u toku razvića (Klingenberg 2015), utvrđeno je da je veličina fluktuirajuće asimetrije analiziranih bioloških struktura bila veća u zagađenim nego u nezagađenim sredinama (Lezcano i sar. 2015), pod delovanjem toplotnog stresa (Santos i sar. 2006), kao i u klimatskim uslovima nepogodnim za razviće datih struktura (Maestri i sar. 2015). Takođe je utvrđeno da se veličina FA listova statistički značajno povećavala prilikom delovanja hemijskih stresora na biljku (Freeman i sar. 1993), radioaktivnih supstanci (Møller 1998), UV zračenja (Midgley i sar. 1998) ili elektromagnetnog zračenja (Freeman i sar. 1993). Sredinski stres nastao usled kompeticije, prisustva herbivora ili parazita može isto tako da dovede do povećanja veličine FA (Møller i Sorci 1998; Shykoff i Kaltz 1998). Jedan od zanimljivijih rezultata je da višak nutrijenata kod biljaka može da utiče na istovremeno povećanje rasta i asimetrije (Freeman i sar. 1993), kao i da između stope rasta i razvojne stabilnosti postoji jasno uzajamno ograničavanje (engl. *trade-off*). Naime, Martel i saradnici (1999) su utvrdili da su listovi koji su brže rasli imali viši nivo asimetrije. Međutim, bilo je istraživanja u kojima nije utvrđena asocijacija između FA i toplotnog stresa (Radwan i sar. 2003) ili zagađenosti sredine (Arambourou i sar. 2014).

Upoređujući veličinu fluktuirajuće asimetrije listova i cvetova kod 19 evropskih biljnih vrsta, Møller i Eriksson (1994) su utvrdili da je veličina FA slična između vegetativnih i reproduktivnih organa analiziranih biljaka. Međutim, novija istraživanja (Sandner i Matthies 2017) pokazala su da, iako je stres uticao na smanjivanje biomase i broja cvetova kod *Silene vulgaris*, fluktuirajuća asimetrija lista ove biljne vrste nije se povećavala u stresnim uslovima. U ovom slučaju, list nije predstavljao najpouzdaniji indikator sredinskog stresa, za razliku od cveta čija je simetrija pod većim selekcionim pritiskom, te može da bude bolja mera razvojne nestabilnosti kod biljaka.

1.3.2 Fluktuirajuća asimetrija cveta

Simetričnost cveta se dovodi u vezu sa preferencijom oprašivača, odnosno, sa njihovom sklonošću da češće posećuju simetrične nego asimetrične cvetove, zbog veće "nagrade", odnosno količine dostupnog polena ili nektara (Møller 1995). Pored toga, smatra se da kod određenih vrsta insekata postoji urođena sklonost ka simetričnim strukturama, tako da i u ovom slučaju simetričniji cvetovi imaju selektivnu prednost u odnosu na asimetrične (Møller i Eriksson 1994).

Poslednjih godina, istraživanja asimetrije oblika cveta i cvetnih organa vrlo su intenzivna (Gómez i sar. 2006, 2014; Savriama i Klingenberg 2010; Savriama i sar. 2012; Gardner i sar. 2016; Radović i sar. 2017; Tucić i sar. 2018). Jedno od najčešćih pitanja jeste da li je FA odraz samo razvojne nestabilnosti ili još nekih bioloških procesa (Klingenberg 2015)?

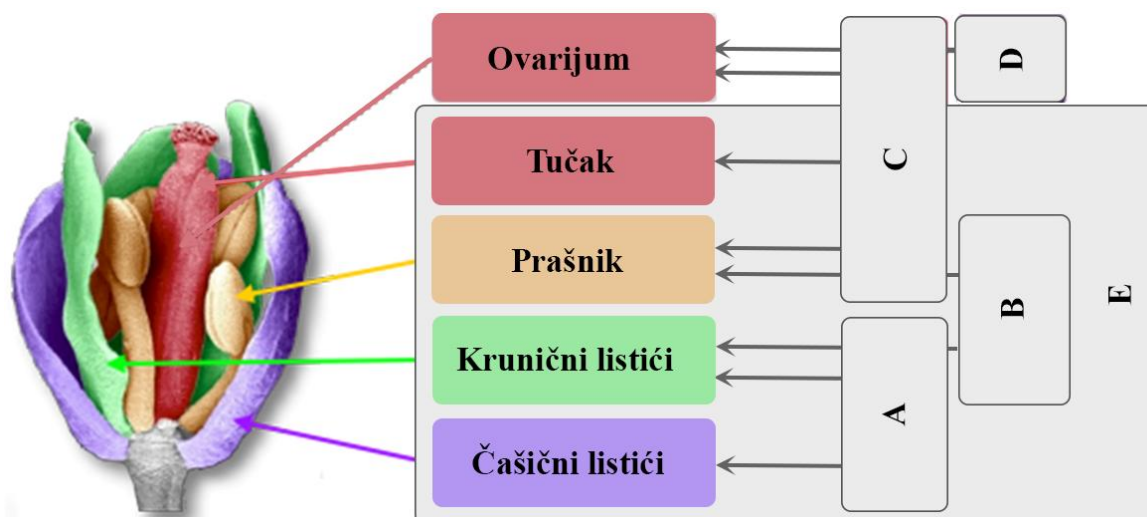
1.4 Morfološka raznovrsnost cvetnih organa i faktori koji je strukturiraju

Jedna od osnovnih odlika angiospremi jeste njihova ogromna raznovrsnost, pre svega zbog modularne organizacije razvića cvetnih organa (Chahtane i sar. 2017). Najprihvaćeniji model do sada, koji objašnjava genetičku osnovu razvića četiri tipa cvetnih organa, ali i njihovu poziciju u cvetu jeste ABC(DE) model (Theißen i sar. 2016). Prema ovom modelu, identitet cvetnih organa određen je aktivnošću različitih grupa transkripcionih faktora u primordijama cvetnog meristema (Litt i Kramer 2010). Tako, proteini klase A i B utiču na razviće kruničnih listića, dok je identitet prašnika definisan aktivnošću B i C klase proteina. Proteini klase E, uz prethodno navedene, uključeni su u određivanje identiteta čašičnih i kruničnih listića, kao i prašnika i tučka. Aktivnošću grupe C i D, samostalno, definiše se identitet tučka i ovarijuma, redom (Slika 1.4.1) (Theißen i sar. 2016). Kao rezultat modularno organizovanog programa razvića cveta nastaje struktura sastavljena od različitih organa specifično raspoređenih u koncentrične krugove. To

omogućava određeni stepen autonomije pojedinačnih cvetnih organa čije morfološke osobine mogu nezavisno da variraju (Glover 2014).

Osobine koje bitno utiču na morfološki diverzitet cveta i cvetnih organa su njihova veličina, oblik, simetrija, i svakako, boja. Kada su veličina i oblik cveta u pitanju, njihovo variranje prisutno je na različitim nivoima, kao na primer, variranje unutar populacija (Elle i Carney 2003), između populacija bliskih vrsta (Barkman i sar. 2008) ili u zavisnosti od pola cveta (Meagher 1992). Međutim, iako se različite vrste međusobno značajno razlikuju u veličini, stepen variranja unutar vrsta je niži (Bradshaw 1965). Veliku raznovrsnost u veličini cveta potvrđuje i činjenica da različiti rodovi iste familije mogu da variraju u širokom opsegu (od 2 - 50 mm) (Razafimandimbison i sar. 2012). Takođe, fenotipskoj raznovrsnosti cveta doprinose i različiti tipovi njegove simetrije. Na osnovu ABC(DE) modela, po kojem se različiti organi razvijaju u koncentričnim krugovima, biljka formira radialni (aktinomorfni) cvet. Međutim, zbog promena u razviću, veliki broj vrsta formira i bilateralne (zigomorfne, monosimetrične) cvetove (Busch i Zachgo 2009). Ovaj tip simetrije može značajno da utiče na efikasnost prenošenja polena sa cveta na cvet, kao i na uspešnost samooprašivanja (Cubas 2004).

Ipak, najupečatljivija fenotipska različitost između cvetova različitih biljnih taksona svakako se odnosi na njihovu boju (Glover 2014). Iako je variranje u boji cveta sveprisutno kod angiospermi, dugo se smatralo da ono nije uobičajeno na intraspecijskom nivou (Wheldale 1916; Kay 1978). Međutim, u novijoj literaturi postoje podaci koji ukazuju da je prisustvo različitih varijanti boja cveta daleko od neuobičajenog, štaviše, vrlo je karakteristično za veliki broj biljnih vrsta (Tucić i sar. 1988, 1989; Warren i Mackenzie 2001; Carlson i Holsinger 2015; Ellis i Field 2016; Narbona i sar. 2018).



Slika 1.4.1. Genetički ABC(DE) model razvića cveta. Geni koji određuju identitet cvetnih organa: A - identitet čašičnih listića, A i B - identitet kruničnih listića, B i C - identitet prašnika, C - identitet tučka, D - identitet ovarijuma, E - identitet kruničnih i čašičnih listića, prašnika i delova tučka izuzev ovarijuma.

1.4.1 Morfološke karakteristike cveta kao vizuelni signali za oprašivače

Sindrom oprašivanja cveta. Osnovna funkcija cveta je reprodukcija, fenomen koji uključuje dva različita procesa: oprašivanje, koje podrazumeva prenošenje polenovih zrna sa prašnika na stigm tučka, i oplodjenje, odnosno, spajanje muških i ženskih gameta (Harder i Routley 2006). Kod entomofilnih biljaka, osobine cveta i cvetnih organa, kao i stepen njihovog variranja unutar i između populacija, tradicionalno se dovode u vezu sa ponašanjem oprašivača, u smislu njihove preferencije prema određenom cvetnom fenotipu (Møller 1995; Willmer 2011; Schiestl i Johnson 2013). Među oprašivačima najbrojniji su insekti, iako oprašivanje vrše i ptice, slepi miševi i drugi kičmenjaci (Kevan i Baker 1983). Osobine, kao što su veličina cveta i cvetnih organa, njihov oblik, miris, boja, čak i električno polje cveta, imaju ulogu u privlačenju oprašivača, pa tako predstavljaju važne ekološke signale za efikasno prenošenje polena sa jednog cveta na drugi (Willmer 2011; Clarke i sar. 2013). Međutim, pošto oprašivači doživljavaju cvet kao izvor hrane, oprašivanje je praktično nuspojava njihovog

traganja za nektarom i polenom, bogatih šećerima i drugim važnim nutrijentima. Dakle, nektar i polen se smatraju nagradom za oprašivače koji će za uzvrat obezbediti efikasno prenošenje polena sa jednog cveta na drugi (Glover 2014). Za mnoge cvetove karakteristične su određene morfološke modifikacije koje poboljšavaju "nenamerni" kontakt između tela oprašivača i reproduktivnih organa biljke, kao što su: uzak donji deo "cevi" krunice (engl. *corolla tube*), dorzalno postavljene antere ili duboko proširenje dela cveta u kojem se nalazi nektar (engl. *nectar spur*) (Glover 2014).

Polovinom dvadesetog veka, u polinacionoj ekologiji je formulisana koncepcija pod nazivom "sindrom oprašivanja", koga sačinjavaju grupe osobina cveta evoluiranih pod delovanjem prirodne selekcije gde su uključeni različiti oprašivači: od biotičkih (insekti, ptice, mali sisari) do abiotičkih (vetar, voda) (Proctor i sar. 1996; Faegri i Van der Pijl 2013). Ove osobine obuhvataju veličinu, oblik, boju i miris cveta, količinu i sastav nektara i polena, vreme cvetanja i slično. Smatra se da je sindrom oprašivanja posledica koevolucije biljaka i njihovih oprašivača (Schiestl i Johnson 2013), što može da dovede do specijalizacije interakcije između oprašivača i cveta (Glover 2014). Kao očigledni primeri navode se slična veličina cveta i oprašivača, boja cveta koju preferira određena grupa oprašivača kao i struktura cveta koja morfološki odgovara usnom aparatu oprašivača (Schiestl i Johnson 2013).

Preferencija oprašivača u odnosu na morfološke karakteristike cveta.

Reprodukcija biljaka cvetnica, kao što je već istaknuto, zavisi od ponašanja oprašivača. Budući da su sesilni organizmi, biljke su razvile posebnu strategiju za efikasnu reprodukciju, a to je "korišćenje" morfoloških karakteristika u svrhu privlačenja oprašivača. Ovo je vrlo važan korak u životnom ciklusu biljaka i životinjskih oprašivača, jer njihova interakcija dovodi do povećavanja adaptivne vrednosti biljke, uz istovremeno nagrađivanje oprašivača nektarom ili polenom, čime se povećava njihova efikasnost kada je u pitanju potraga za hranom (Valenta i sar. 2017). Ponašanje oprašivača može da bude takvo da diskriminišu cvetove konsecificiranih vrsta na osnovu količine i kvaliteta nagrade (Waddington 2001). Na taj način, dinamika proizvodnje polena ili nektara po cvetu može mnogo da utiče na stepen posećenosti cveta od strane oprašivača

(Klinkhamer i Van der Lugt 2004), na vreme cvetanja (Galen i Plowright 1985), kao i na efikasnost u prenošenju polena unutar cveta ili između različitih cvetova (Thomson i Plowright 1980). U kontekstu selekcije koju vrše oprašivači, ono što može da poveća reproduktivni uspeh biljke svakako je proizvodnja kvalitetne i obimne nagrade (Cresswell 2000). Pokazano je da određene morfološke osobine cveta mogu da se dovedu u vezu sa kvalitetom i količinom nagrade koju proizvodi biljka, tako da, pod tim okolnostima, oprašivači mogu da nauče da biraju između različitih osobina cveta koje promovišu prisustvo i kvalitet polena ili nektara (Blarer i sar. 2002; Internicola i sar. 2007).

Literaturni podaci ukazuju da oprašivači preferiraju cvetove i cvetne elemente većih dimenzija, usled njihove bolje uočljivosti, ali i usled većeg sadržaja nutrijenata (Schaefer i Ruxton 2011). Isto tako, oblik i simetrija cveta mogu da se dovedu u vezu sa količinom nagrade za oprašivače. Gomez i saradnici (2008) su pokazali da su veličina cvetne tube kao i dijametar cveta kod *Erysimum mediohispanicum* pozitivnoj korelaciji sa količinom nektara i polena, redom. Utvrđeno je da su oprašivači značajno češće posećivali cvetove sa dužim tubama i većim dijametrom u odnosu na druge cvetove u populaciji. Jedan od primera kako morfološke karakteristike cveta mogu da predstavljaju odraz kvaliteta i količine nagrade jeste studija na cvetovima *Epilobium angustifolium* (Møller 1995). Naime, utvrđeno je da su bumbari češće posećivali veće i simetričnije cvetove u populaciji, kod kojih je takođe detektovana veća količina nektara (Møller 1995).

Svakako jedan od najznačajnijih vizuelnih signala za oprašivače jeste boja cveta, ali i kontrast boje cveta u odnosu na podlogu (Valenta i sar. 2017). Rezultati istraživanja u tom kontekstu su kontroverzni (Mogford 1978; Miller 1981; Morgan i Schoen 1997; Jones i Reithel 2001). Oprašivači mogu da imaju urođenu sklonost ka određenoj boji, kao što je to slučaj kod različitih vrsta bumbara, koji pokazuju preferenciju ka plavim i ljubičastim cvetovima (Lunau i Maier 1995; Dyer i Chittka 2004). Generalno, pčele i bumbari pokazuju naročitu sklonost ka cvetovima čija boja ima talasnu dužinu između 400 i 420 nm (Dyer i Chittka 2004). Pored toga, neke grupe oprašivača imaju sposobnost učenja kroz iskustvo, na osnovu čega mogu da dovedu u vezu određenu boju cveta i

dobit koju im ona donosi, a koja se uglavnom odnose na kvalitet i količinu nagrade u obliku hranljivih materija (Dyer 2006; Glover 2014). Imajući sve ovo u vidu, jasno je da je morfološki diverzitet cveta, uz neizostavne efekte fizioloških i filogenetskih ograničenja, mogao da bude rezultat selekcije koju vrše oprašivači (Darwin 1862; Ollerton i Lack 1998; Schiestl i Johnson 2013).

1.4.2 Polimorfizam boje cveta i mehanizmi njegovog održavanja

Polimorfizam boje cveta definiše se kao prisustvo dve ili više različitih boja cveta u istoj populaciji (Clegg i Durbin 2000; Narbona i sar. 2018). Vrste mogu biti polimorfne za boju cveta u jednom, a monomorfne u drugim populacijama, usled variranja u frekvenciji pojavljivanja određenih fenotipskih varijanti u različitim heterogenim sredinama (Wright 1978). Ukoliko je za razdvojene monomorfne populacije karakteristična određena boja cveta, takve vrste ne mogu da se smatraju polimorfnim (Narbona i sar. 2018). Korišćenje termina "polimorfizam" u kontekstu boje cveta podložno je diskusiji iz dva razloga. Prvi se odnosi na činjenicu da boja kao osobina nije uvek diskretna, već može kontinuirano da varira usled različite koncentracije biljnih pigmenata (Clegg i Durbin 2000), dok se drugi odnosi na poteškoće prilikom procene vrste kao polimorfne. Naime, moguće je da se jedinke, koje iako pripadaju vrsti monomorfnoj za boju cveta, sporadično pojavljuju u različitoj boji u populaciji, i da se tako vrsta pogrešno identifikuje kao polimorfna (Ford 1945; Wright 1978; Forsman i Wennersten 2016). Uzrok ovome, u najvećem broju slučajeva, jeste prisustvo povratnih mutacija koje dovode do prestanka sinteze pigmenata, te su osim obojenih cvetova u populaciji, u malom broju prisutni i oni bele boje (Schatz i sar. 2013). Ovakvi fenotipovi, zastupljeni sa niskom učestalošću kod vrsta monomorfnih za boju cveta, nestaju iz populacija nakon nekoliko generacija (Forsman i Wennersten 2016).

Obojenost cveta može da bude rezultat refleksije određene talasne dužine svetlosti (strukturna obojenost), ili, češće, rezultat efekata biljnih pigmenata (Schatz i sar. 2013). Pigmenti apsorbuju deo spektra vidljive svetlosti, reflektujući onu talasnu dužinu koja nije apsorbovana (Glover 2014). Četiri grupe pigmenata odgovorne su za obojenost kod biljaka, a to su:

flavonoidi, betalaini, karotenoidi i hlorofil (Tanaka i sar. 2008). Pored toga što određuju boju cveta, pigmenti funkcionišu i kao fotoprotektori prilikom zračenja UV i vidljivog dela spektra. Takođe, pigmenti kao što su hlorofil i karotenoidi imaju bitnu ulogu u fotosintezi, dok flavonoidi mogu da učestvuju u fiziološkim odgovorima biljaka na stres (Harborne i Williams 2000; Tanaka i sar. 2008). Flavonoidi su pigmenti koji od svih navedenih u najvećoj meri doprinose obojenosti cveta. U ovu grupu pigmenata spadaju auron, halkoni, flavoni i flavonoli koji cvetu daju boju žutih nijansi, kao i antocijani koji boje cvet u plavo, ljubičasto, crveno i narandžasto (Miller i sar. 2011). Betalaini su pigmenti karakteristični za red Caryophyllales koji cvetu daju boju od žute do crvene (Tanaka i sar. 2008). Karotenoidi daju boju, u opsegu od žute do crvene, dok hlorofil daje zelenu boju različitim delovima biljke (Tanaka i sar. 2010).

Polimorfizam boje cveta može da se javi usled promena u koncentraciji i sastavu pigmenata (Narbona i sar. 2018). Promenom koncentracije pigmenata dolazi do stvaranja gradijenta intenziteta određene boje (od svetlih ka tamnim nijansama), dok promene u njihovom sastavu dovode do pojave različitih nijansi boja (na primer, crvena i roze boja) (Sobel i Streisfeld 2013).

Genetičku osnovu polimorfizma boje cveta najčešće čine promene u biosintetskom putu antocijana. One mogu da nastanu usled mutacija koje pogađaju funkcionalne gene koji kodiraju za enzime uključene u sintezu pigmenata, ali i usled promena u regulaciji transkripcije tih gena (Sobel i Streisfeld 2013).

Evolucioni mehanizmi održavanja polimorfizma boje cveta. Genetička i fenotipska varijabilnost su preduslov za delovanje evolucionih mehanizama, pa je pitanje o održavanju polimorfizama u prirodnim populacijama od velikog značaja za evoluciono - biološka istraživanja. Polimorfizam boje cveta u populacijama održava se kroz selekciju posredovanu različitim biotičkim i abiotičkim faktorima (Strauss i Whittall 2006). Isto tako, moguće je da polimorfizam opstaje i neadaptivnim mehanizmima, kao što je ekvilibrijum između protoka gena i genetičkog drifta (Wright 1978).

Oprašivači predstavljaju dominantne selektivne agente u odnosu na sve ostale biotičke faktore koji imaju ulogu u održavanju polimorfizma boje cveta (Meléndez-Ackerman i sar. 1997). Oni mogu da pokažu preferenciju ka specifičnoj boji i tako učine da određeni fenotipovi budu favorizovani u populacijama vrsta polimorfni u odnosu na boju (Medel i sar. 2003). Tako, na primer, kod vrste *Mimulus*, pčele preferiraju cvetove sa manjim sadržajem pigmenata, dok kolibriji češće posećuju one bogate nektarom i sa visokim sadržajem antocijana (Schemske i Bradshaw 1999). Osim toga, smenjivanje grupa oprašivača tokom godina može da doprinese održavanju polimorfizma boje (Meléndez-Ackerman i Campbell 1998). Ovakav način održavanja polimorfizma boje moguć je samo u populacijama biljaka generalista koje posećuju najmanje dve različite grupe oprašivača sa različitim obrascem ponašanja u odnosu na izbor boje. Selekcija koju vrše oprašivači može da zavisi od učestalosti određene varijante boje cveta u populaciji. Kod vrsta koje ne pružaju nagradu u vidu nektara, održavanje polimorfizma boje može da se objasni negativnom selekcijom zavisnom od učestalosti (Imbert i sar. 2014). U ovom slučaju, određena boja cveta koju oprašivač preferira postaje negativan signal, nakon čega on uči da izbegava takve varijante i menja svoje ponašanje tako što bira drugu varijantu boje (Gigord i sar. 2001). Ipak, smatra se da je ovo redak selektivni mehanizam koji učestvuje u održavanju polimorfizma boje (Tremblay i sar. 2004).

Pored oprašivača koji nesumnjivo imaju značajnu ulogu u evoluciji cveta, biljke su često izložene delovanju različitih biotičkih faktora, kao što su na primer, herbivore i patogeni koji mogu da vrše selekciju u odnosu na boju (Narbona i sar. 2018). Imajući u vidu zaštitnu ulogu koju biljni pigmenti imaju u tom kontekstu, njihova količina i sadržaj uticaće na obrazac preferencije herbivora i patogena (Strauss i Whittall 2006). Jedan od primera kako herbivori mogu da utiču na održavanje polimorfizma boje je studija na vrsti *Raphanus sativus* za koju su karakteristične dve varijante boje cveta: bela (bez antocijana) i roze (sa antocijanima) (Irwin i sar. 2003). Budući da je pokazano da oprašivači preferiraju bele varijante, očekuje se da će se njihova učestalost u populacijama povećavati, međutim pokazano je suprotno (Stanton 1987). Objašnjenje za

održavanje polimorfizma boje ove vrste leži u tome da herbivore, izbegavajući obojene cvetove i birajući iste varijante kao i oprašivači, utiču na smanjenje adaptivne vrednosti (engl. *fitness*) biljaka belih cvetova (Irwin i sar. 2003).

Isto tako, i abiotički faktori (temperatura vazduha i UV zračenje, na primer) mogu da održavaju polimorfizam boje cveta u populaciji. Biljke sa različitim varijantama boje cveta u različitom stepenu su tolerantne na delovanje abiotičkih faktora, zbog različite količine pigmenata (npr. antocijana) za koje je pokazano da imaju važnu ulogu u zaštiti biljnih ćelija od brojnih abiotičkih stresora koji dovode do oksidativnog stresa (Narbona i sar. 2018). Antocijani obavljaju svoju funkciju delujući kao antioksidanti ili apsorbujući svetlost čime štite biljku od štetnih efekata visokog intenziteta vidljive i UV svetlosti. Tako, na primer, jedinke sa belim cvetovima opstaju u manje stresnim sredinama, za razliku od onih obojenih koje pokazuju veću toleranciju na različite stresore (Strauss i Whittall 2006).

Polimorfizam boje cveta može da se održi i evolucionim mehanizmima kao što su genetički drift, migracije i mutacije (Narbona i sar. 2018). Proučavajući polimorfizam boje cveta vrste *Linanthus parryae*, Wright je zaključio da je prostorna distribucija monomorfnih i polimorfnih populacija posledica slučajnih procesa, odnosno genetičkog drifta (Wright 1943, 1978). Međutim, naredne studije nisu potvrdile ove rezultate, već su pokazale da je prirodna selekcija dominantni mehanizam koji utiče na postojanje razlika u frekvenciji određenih boja zastupljenih u različitim lokalnim populacijama (Epling i sar. 1960; Schemske i Bierzychudek 2001).

Važnu ulogu u održavanju polimorfizma boje cveta mogu da imaju i dva tipa reprodukcije karakterističnih za biljke: klonalna propagacija i samooplodnja (Narbona i sar. 2018). Pojava nove varijante boje cveta u populaciji usled mutacija vrlo je česta, ali kod vrsta koje se razmnožavaju seksualnim putem takve varijante vrlo brzo bivaju eliminisane iz populacije (Wu i sar. 2013). Međutim, kod vrsta koje imaju sposobnost klonalnog razmnožavanja, ovakvi mutanti mogu da se održe duži vremenski period, što povećava šansu za njihovu stabilizaciju (Imbert i sar. 2014). Polimorfizam boje cveta naročito je

čest kod monokotiledonih, klonalnih biljaka, kao što su orhideje ili irisi (Narbona i sar. 2018). Samooplodnja može da, u narednoj generaciji, poveća učestalost varijanti boje cveta koje se retko pojavljuju u određenim populacijama i za koje postoji mala verovatnoća da će biti prvi izbor oprašivača (Subramaniam i Rausher 2000).

1.5 Geometrijska morfometrija kao metodološki pristup u kvantifikaciji fenotipskog variranja složenih morfoloških struktura

Morfometrija je disciplina koja metodama multivarijantne statistike omogućava kvantifikaciju veličine i oblika morfoloških struktura (Dryden i Mardia 2016). Ova metoda je od velikog značaja u evolucionoj biologiji, jer omogućava utvrđivanje obrazaca fenotipskog variranja, kao i sagledavanje mehanizama evolucionih promena. Šezdesestih i sedamdesetih godina prošlog veka, istraživači počinju da koriste metode multivarijantne statistike da bi opisali variranje oblika unutar i između definisanih grupa. Ovaj pristup, nazvan tradicionalna ili multivarijantna morfometrija (Blackith i Reyment 1971), sastoji se od statističkih analiza različitih setova morfoloških varijabli. Najčešće varijable koje se koriste jesu linearne dužinske mere, ali uključeni su i njihovi odnosi, kao i uglovi. Mnoga pitanja u morfometriji se odnose i na alometriju, odnosno, na promenu oblika zavisnu od promene veličine (Jolicoeur 1963). Štaviše, mnogo truda je uloženo za razvijanje metoda koji bi korigovali efekat veličine, i izdvojili varijable oblika koje bi se zatim koristile u statističkim analizama (Jungers i sar. 1995).

Vremenom, postalo je očigledno da tradicionalna morfometrija nosi i određene nedostatke. Na primer, dužinske mere i njihov odnos često imaju iste vrednosti za različite oblike morfoloških struktura, što može da dovede do pogrešne slike o realnim oblicima (Strauss i Bookstein 1982). Isto tako, predložene su mnoge metode za korekciju efekta veličine, ali nije bilo jednostavno utvrditi koja je od metoda davala najpouzdanije i najpreciznije rezultate (Smith 1980, 1984; Blackstone 1987).

Koncepcijski nov način analize oblika morfoloških celina nastaje pojavom geometrijske morfometrije koja počinje šire da se primenjuje krajem dvadesetog veka (Rohlf i Slice 1990; Klingenberg i sar. 2002; Adams i sar. 2004). Ova relativno nova oblast zasniva se na idejama škotskog zoologa i matematičara Thompson-a (Thompson 1917), kao i matematičara i statističara koji su razvijali nov način geometrijskih analiza oblika morfoloških celina (Kendall 1984; Goodall 1991; Bookstein 1997). Jedna od najupečatljivijih razlika u odnosu na tradicionalnu morfometriju jeste ta što se definicija oblika poklapa sa matematičkom definicijom (Kendall 1984). Dakle, oblik se u geometrijskoj morfometriji definiše kao skup geometrijskih informacija koje su nepromenljive u odnosu na skaliranje, translaciju i rotaciju (Klingenberg i Monteiro 2005). Mogućnost grafičkog prikazivanja, odnosno, vizuelizacija promena oblika čini ovu metodu pogodnom za utvrđivanje faktora i mehanizama koji dovode do datih promena (Monteiro i sar. 2000). Nakon što je ova metoda istovremeno omogućila statističku obradu podataka sa jedne, i vizuelizaciju promene oblika sa druge strane, geometrijska morfometrija označena je još i kao "morfometrijska sinteza" (Adams i sar. 2004).

1.5.1 Korišćenje specifičnih tačaka za opisivanje oblika morfoloških struktura

Oblik u geometrijskoj morfometriji može da bude opisan koordinatama specifičnih tačaka i njihovim odnosima. Specifične tačke (engl. *landmarks*) predstavljaju jasno, i sa velikom preciznošću, definisane anatomske tačke postavljene na određenoj morfološkoj strukturi, a njihove konfiguracije predstavljaju polazne podatke u analizama geometrijske morfometrije (Bookstein 1997).

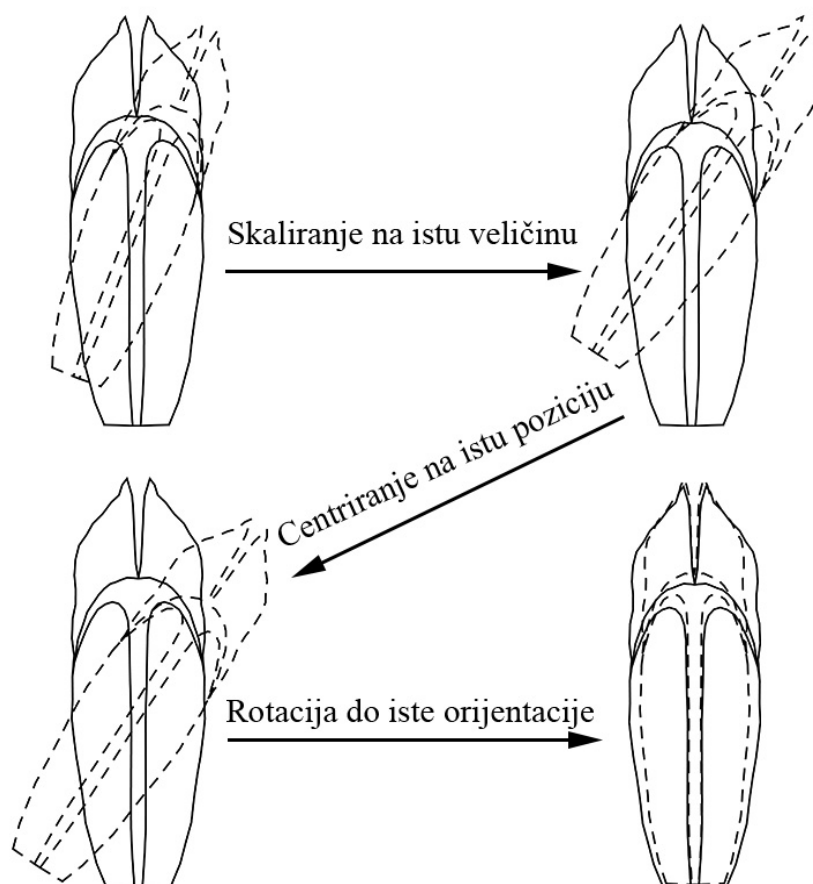
Na osnovu geometrijskih kriterijuma, definisana su tri osnovna tipa specifičnih tačaka (Bookstein 1997). Prvom tipu tačaka pripadaju specifične tačke koje se nalaze na mestima susticanja različitih delova morfoloških celina. Drugom tipu pripadaju specifične tačke koje predstavljaju mesta najistaknutijih zakrivljenja analizirane strukture. Trećem tipu pripadaju tačke čija se mesta mogu odrediti isključivo u odnosu na celu strukturu. Isto tako, sve češće su u

upotrebi i tačke koje ne pripadaju ni jednom tipu, nego su ravnomerno raspoređene duž kontura morfološke celine. Takve tačke se označavaju kao specifične polutačke (engl. *semilandmarks*).

Mera veličine objekta opisanog specifičnim tačkama u geometrijskoj morfometriji predstavljena je veličinom centroida (engl. *Centroid Size* - CS). Veličina centroida se definiše kao mera disperzije specifičnih tačaka od središta (centroida) date konfiguracije (Zelditch i sar. 2012), dok, matematički predstavlja kvadratni koren sume kvadrata rastojanja specifičnih tačaka od centroida (Bookstein 1997).

1.5.2 Generalizovana Prokrustova superimpozicija

Da bi se dobile geometrijske informacije o obliku, neophodno je ukloniti razlike koje su uslovljene efektima veličine, položaja i orijentacije. Generalizovana Prokrustova analiza, odnosno Prokrustova superimpozicija (engl. *Generalized Procrustes Analysis*- GPA), najšire je prihvaćena procedura kojom se, eliminacijom navedenih efekata, dobijaju varijable oblika za svaku uzorkovanu jedinku (Rohlf i Slice 1990; Dryden i Mardia 2016). Ovom metodom skaliraju se konfiguracije specifičnih tačaka na jediničnu vrednost centroida, centriraju u odnosu na početak koordinatnog sistema i rotiraju u odnosu na referentnu vrednost. Na taj način, eliminišu se razlike u veličini, položaju i orijentaciji, te se zadržavaju isključivo informacije o *obliku* morfološke celine (Dryden i Mardia 2016) (Slika 1.5.2.1). Koordinate specifičnih tačaka nakon Prokrustove superimpozicije nazivaju se **Prokrustve koordinate** i predstavljaju polazne podatke za dalje analize varijabilnosti oblika. Osnovna mera razlika u obliku označava se kao **Prokrustova distanca**, a izračunava se kao kvadratni koren sume kvadrata rastojanja između odgovarajućih specifičnih tačaka nakon Prokrustove superimpozicije (Dryden i Mardia 2016). Jedna od najvećih prednosti geometrijske u odnosu na tradicionalnu morfometriju je što omogućava razgraničavanje veličine, predstavljene veličinom centroida, i oblika morfološke strukture, koji su opisani Prokrustovim koordinatama.



Slika 1.5.2.1. Grafički prikaz osnovnih koraka Generalizovane Prokrustove analize: skaliranje, translacija i rotacija.

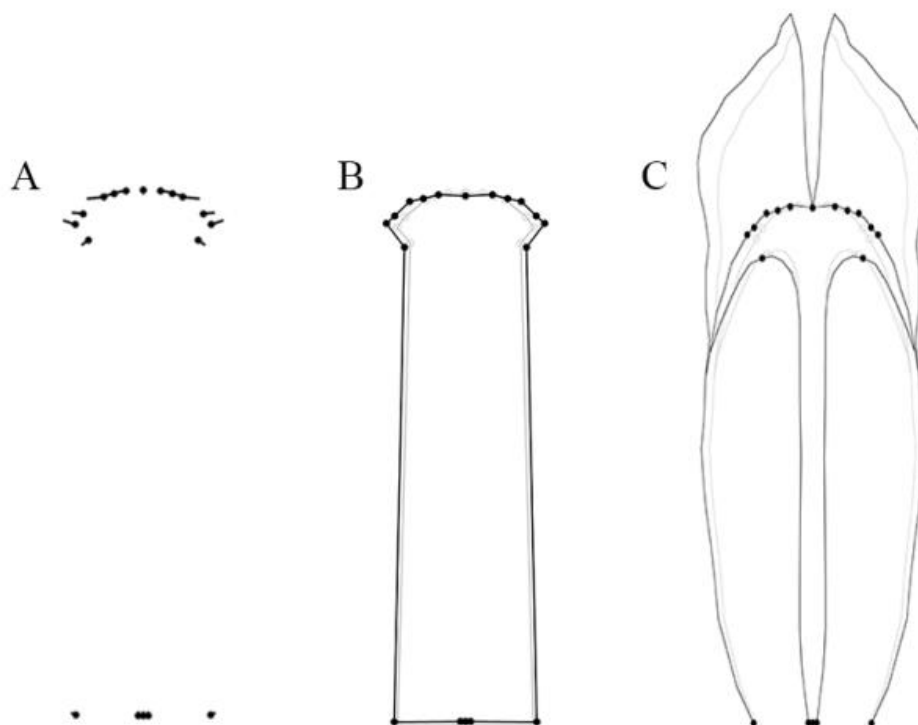
1.5.3 Grafički prikaz promene oblika

Polazna osnova koja omogućava vizuelizaciju promene oblika analiziranog objekta je ta da su konfiguracije specifičnih tačaka postavljene na beskonačnoj i tankoj metalnoj ploči (engl. *thin plate spline*- TPS). Deformacija i promena oblika tanke metalne ploče isključivo zavisi od postojećih razlika u konfiguracijama specifičnih tačaka, a energija koja je potrebna za deformaciju predstavlja osnovu za izračunavanje varijabli oblika (engl. *bending energy*) (Bookstein 1997; Zelditch i sar. 2012). Tako, ovaj pristup ne samo da je značajan zbog grafičkog predstavljanja promene oblika, nego i zbog

matematičke osnove koja omogućava izračunavanje varijabli oblika koje se dalje koriste u statističkim analizama. Promene u obliku, odnosno, promene položaja specifičnih tačaka posle Prokrustove superimpozicije, moguće je prikazati na različite načine. Najprostiji način grafičkog predstavljanja promene oblika, koji se koristio na samim počecima korišćenja geometrijske morfometrije kao metode, jeste upotreba, takozvanih, grafika "lizalica" (engl. *lollipop*) čime je promena položaja specifičnih tačaka predstavljena vektorima (Slika 1.5.3.1A) (Siegel i Benson 1982; Chapman 1990; Klingenberg 2013). Međutim, ovakav tip grafika ne pruža informaciju o realnim promenama oblika, nego isključivo o položaju tačaka.

Da bi se preciznije i realnije prikazale promene oblika, koriste se grafici u kojima su specifične tačke nakon Prokrustove superimpozicije spojene pravim linijama (engl. *wireframe*) (Slika 1.5.3.1B) ili crteži (obrisi morfoloških struktura koje se analiziraju) koji menjaju svoj oblik koristeći informacije iz konfiguracija specifičnih tačaka postavljenih na tankoj savitljivoj ploči (engl. *outline drawings*) (Slika 1.5.3.1C) (Klingenberg 2013).

Poslednjih decenija, geometrijska morfometrija postaje metoda koja se intenzivno koristi u izučavanju asimetrije oblika različitih organizama (Klingenberg i McIntyre 1998; Klingenberg i sar. 2002; Savriama i Klingenberg 2011; Klingenberg 2015). Geometrijsko morfometrijskim pristupom potvrđeni su rezultati dobijeni u tradicionalno morfometrijskim studijama asimetrije (Palmer i Strobeck 1986; Jojić i sar. 2011), ali je otvorena i mogućnost za dobijanje odgovora na nova pitanja, posebno ona postavljena u kontekstu evolucione biologije razvića (Klingenberg i McIntyre 1998; Klingenberg 2015). Naročito je intenzivirana primena geometrijske morfometrije u evoluciono biološkim istraživanjima vezanih za oblik i veličinu cveta i cvetnih elemenata, kao i preferenciju oprašivača ka ovim morfološkim osobinama (Gómez i sar. 2006, 2008a; Gómez i Perfectti 2010; Savriama i sar. 2012).



Slika 1.5.3.1. Načini vizuelizovanja (grafički prikazi) promene oblika grane tučkal. *pumila*. A - Grafik "Lizalica" (engl. *lollipop graph*): promena položaja specifičnih tačaka predstavljena je vektorima. B - Grafik u kojem su specifične tačke spojene pravim linijama (engl. *wireframe graph*): sivom bojom je predstavljen polazni oblik grane tučkal, a crnom ciljni oblik strukture. C - Grafik u formi crteža (engl. *outline drawing*): sivom bojom je predstavljen polazni oblik grane tučkal, a crnom ciljni oblik strukture.

1.5.5 Alometrija

Kao jedan od važnih faktora koji utiču na morfološku evoluciju, navodi se koncept alometrije koji se odnosi na zavisnost variranja određenih osobina morfološke celine od promena u njoj celokupnoj veličini (Gould 1966; Klingenberg 1998; Ivanović i Kalezić 2013). Na taj način, promene u veličini mogu da utiču na promene u obliku čitavog organizma, usled čega alometrija predstavlja ograničavajući faktor promene oblika tokom ontogenije (Klingenberg 2010). Sa druge strane, pored alometrijske komponente oblika postoji i nealometrijska komponenta koja se odnosi na promene oblika morfološke strukture koje nisu praćene promenama u njoj veličini (Klingenberg 2010; Ivanović i Kalezić 2013). Mogućnost razdvajanja ove dve komponente obezbeđuje sagledavanje i prikazivanje varijabilnosti oblika neke morfološke strukture nezavisno od promene veličine.

Jedna od najvećih prednosti geometrijske morfometrije u odnosu na ranije metode za analizu oblika jeste to što se kao ulazni podaci ne koriste samo dužinske mere i njihovi odnosi, već konfiguracije specifičnih tačaka, što omogućuje da informacija o obliku ostane kompletna. Multivarijantnom regresijom varijabli oblika na geometrijsku meru veličine (veličina centroida) utvrđuje se statistička značajnost prisustva alometrije, kao i udeo u varijabilnosti oblika koji je uslovljen alometrijom (Gould 1966; Monteiro 1999; Klingenberg 2016). Očigledno je da početak 21. veka sa sobom donosi sazrevanje geometrijske morfometrije kao metode, ali i prihvatanje Prokrustove paradigme kao standarda u metodološkom pristupu za analizu oblika bioloških struktura (Klingenberg i sar. 2002; Viscosi i Cardini 2011; Viscosi 2015).

2 Ciljevi istraživanja

Cvet je biljni organ izuzetno složene morfologije, čiji diverzitet u pogledu oblika, veličine i boje daleko premašuje druge biljne organe. Specifične forme cveta entomofilnih vrsta i njegovih delova predstavljaju adaptacije (najčešće nastale delovanjem oprašivača kao selekcionih faktora) koje obezbeđuju maksimalni reproduktivni uspeh biljaka. Ne samo da jedinke različitih biljnih vrsta ili populacija iste vrste mogu da produkuju cvetove različite spoljašnjosti, već i različiti genotipovi iste populacije mogu da budu morfološki različiti. Jedan od takvih primera je i entomofilna biljka *Iris pumila*, karakteristična po izuzetno atraktivnim cvetovima različitih boja, koja potiče od pigmentata antocijana i karotenoida. Kao i kod drugih vrsta iz roda *Iris*, cvet *I. pumila* čine četiri trimerna navojka (engl. *whorls*) funkcionalno različitih organa: dva spoljašnja navojka pigmentisanih struktura, tzv. tepala (engl. *tepals*), jednog navojka prašnika i trogranog tučka tepaloidnog izgleda u sredini. Cvetovi *I. pumila* su radijalno simetrični, sa cvetnim organima raspoređenim oko centralne ose pod uglom od 120°. Iako je simetrija cveta kao celine radijalna, cvetni organi *I. pumila* su bilateralno simetrični.

Ovako kompleksna morfologija cveta *I. pumila* omogućila nam je da istražimo relativni uticaj tri glavne determinante fenotipske varijabilnosti: kanalisanosti, fenotipske plastičnosti i stabilnosti razvića na ekspresiju fenotipskog variranja oblika funkcionalno različitih cvetnih organa, korišćenjem geometrijske morfometrije kao pouzdanog metodološkog pristupa za kvantifikovanje variranja oblika složenih morfoloških struktura.

Korišćenjem *I. pumila* kao model-sistema, postavljeni su sledeći ciljevi ove disertacije:

- Utvrđivanje obrazaca fenotipskog variranja oblika tri cvetna organa *I. pumila*: fola, standarda i grane tučka, koji vrše različite funkcije u procesu seksualne reprodukcije.

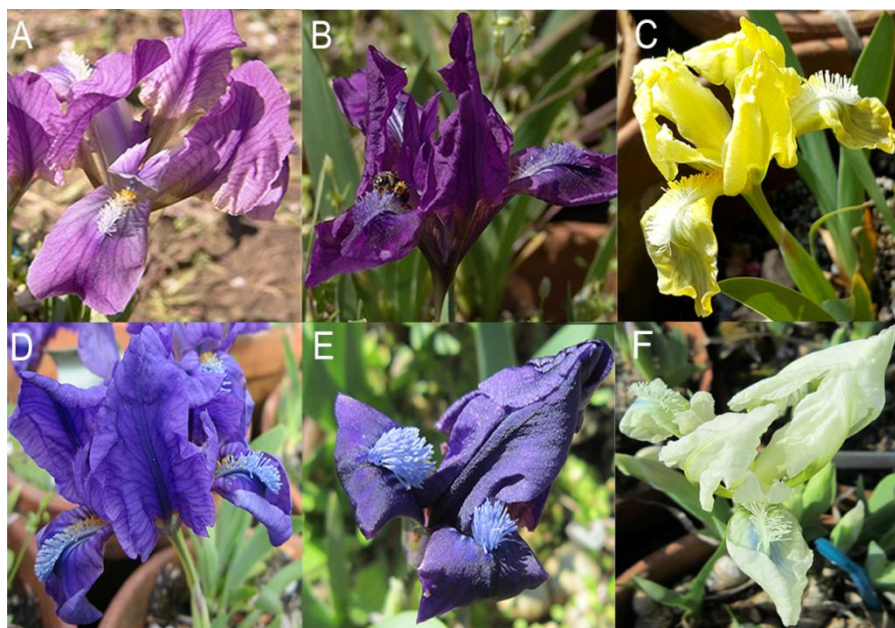
- Procena uticaja alometrije na veličinu variranja oblika cvetnih organa.
- Testiranje hipoteze da fenotipska plastičnost u odnosu na mikrosredinsko variranje direkcionih sredinskih faktora predstavlja komponentu asimetrične varijanse oblika cvetnih organa.
- Utvrđivanje obrazaca variranja veličine i oblika cvetnih organa *I. pumila* u odnosu na boju cveta.
- Detektovanje preferencije oprašivača *I. pumila* prema određenim morfološkim osobinama cvetnih organa i njihova potencijalna uloga kao selekcionih medijatora.

3 Materijal i metode

3.1 Ispitivana vrsta

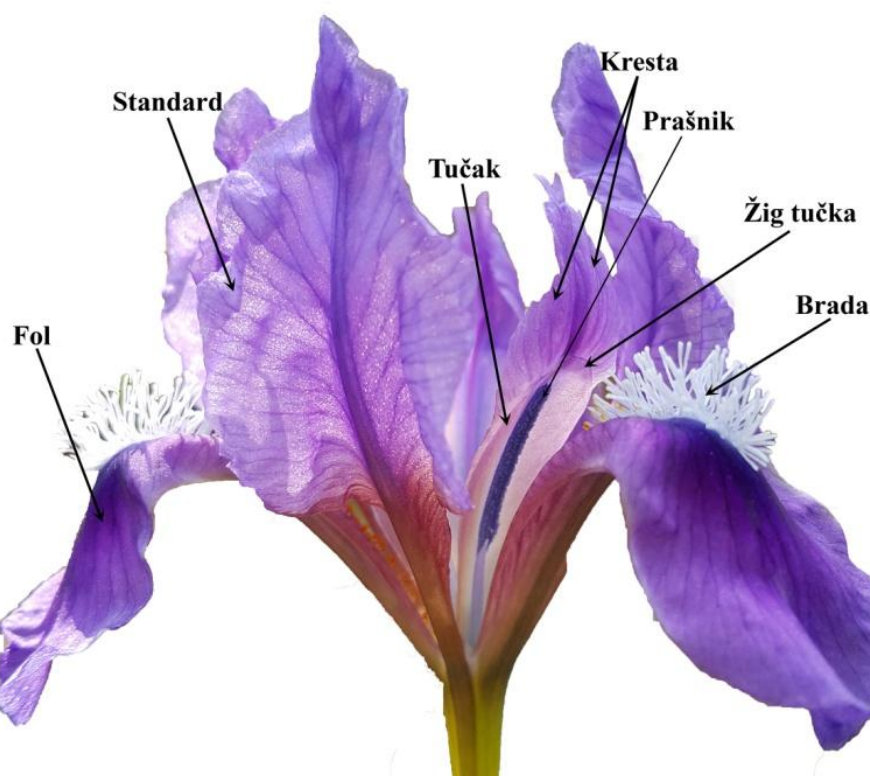
Bradata patuljasta perunika *Iris pumila* L. je višegodišnja entomofilna biljka koja naseljava livadsko - stepske predele centralne i jugoistočne Evrope (Randolf 1955). Prirodna staništa ove vrste u Srbiji su njen severni i istočni deo, a najzastupljenija je u Deliblatskoj peščari koju čini kompleks peščanih dina u južnom Banatu (44° 47' N, 21° 20' E; Gajić 1983). Specifičnost vrste su člankoviti rizomi (podzemna stabla) koji bočnim grananjem u odnosu na roditeljski izdanak formiraju klonove kružnog oblika. Kako je godišnji prirast klona oko 50 mm, na osnovu prečnika se može proceniti njegova starost (Tucić i sar. 1989).

I. pumila cveta u aprilu, a period cvetanja traje oko dve nedelje. Cvetovi su pojedinačni i izrazito polimorfni u odnosu na boju (Slika 3.1.1). Polimorfizam boje cveta nastaje kao rezultat segregacije većeg broja genskih lokusa, tako da cvetni fenotip omogućava identifikaciju različitih klonova u sezoni cvetanja (Tucić i sar. 1988).



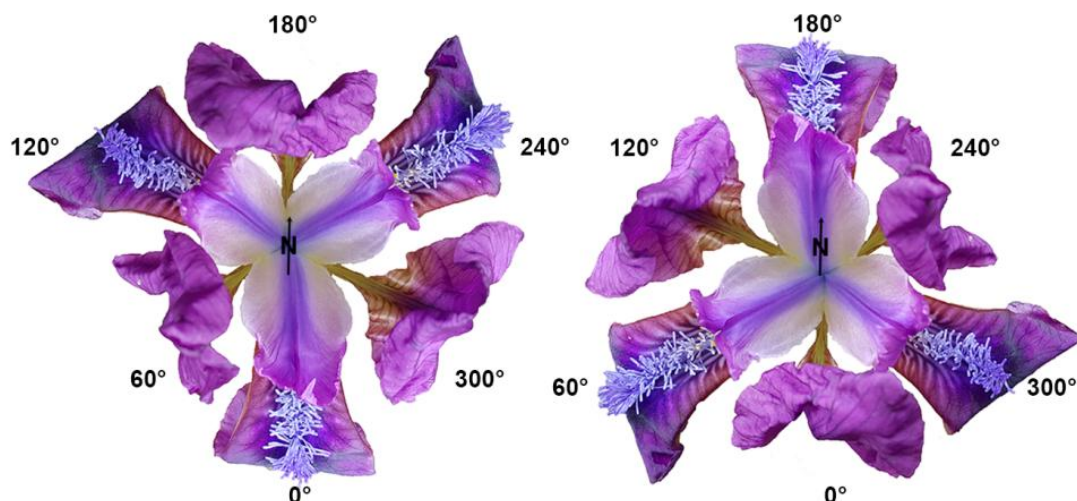
Slika 3.1.1. Šest različitih varijanti boje cveta *I. pumila*.

Cvet *I. pumila* je izuzetno kompleksna morfološka struktura koja se sastoji od organa različitih u svojoj funkciji i obliku (Mathew 1981). Svaki cvetni organ je sačinjen od tri identična elementa koji su radijalno raspoređeni oko centralne ose, formirajući jedan od četiri koncentrična kruga. Dva spoljašnja kruga se sastoje od "tepala": horizontalno usmerenih "folova" i vertikalno usmerenih "standarda", koji čine sterilni deo cveta. Folovi imaju ulogu u privlačenju oprašivača sa kraće, dok standardi imaju ulogu u privlačenju oprašivača sa duže distance. Duž centralnog nerva fola nalazi se karakteristična brada sačinjena od velikog broja resica koja ima ulogu u mehaničkoj podršci oprašivačima prilikom sletanja. Unutrašnja dva kruga, odnosno fertilni deo cveta, sačinjavju tri prašnika i tri tepaloidna tučka sa žigom na vrhu. Upadljiva karakteristika cveta *I. pumila* jeste polinacioni tunel koji se sastoji iz ventralno postavljenog fola i dorzalno postavljenog tučka, savijenog iznad prašnika (Slika 3.1.2).



Slika 3.1.2. Fotografija cveta *I. pumila*. Prikazani su sterilni (fol, standard) i fertilni (tučak, prašnici) delovi cveta.

Geometrija cveta *I. pumila* je kompleksna. Cvetovi su aktinomorfni, sa bilateralno simetričnim cvetnim organima raspoređenim oko centralne ose, tako da se organi koji pripadaju istom koncentričnom krugu nalaze pod uglom od 120° jedan u odnosu na drugi (Slika 3.1.3).



Slika 3.1.3. Fotografija cvetova *I. pumila*. Prikazani su cvetovi dva rameta istog klona sa različitom orijentacijom cvetnih organa. N - pravac ka severu (engl. *North*).

Razmnožavanje *I. pumila* odvija se polnim i vegetativnim putem. Polna ili seksualna reprodukcija vrste je omogućena oprašivanjem uz pomoć insekata. Najčešći oprašivač vrste *I. pumila* je bumbar (*Bombus* sp.), mada je oprašuju i druge vrste roda *Apis*. Plod je čaura koja nakon sazrevanja puca po uzdužnim šavovima (lokulama), rasejavajući semena u neposrednoj blizini majke biljke. Bespolno, aseksualno, razmnožavanje odvija se putem rizoma.

Niz osobina *I. pumila* čine ovu vrstu pogodnim i često korišćenim model organizmom (Tarasjev i sar. 2012). Mogućnost kontrolisanog oprašivanja obezbeđuje sprovođenje eksperimenata u kojima se istražuju genetički, sredinski i/ili materinski efekti u ukupnom variranju fenotipa (Tucić i Avramov 1996). Takođe, visok nivo genetičke varijabilnosti koji je prisutan u prirodnim populacijama *I. pumila*, pogodan je za populaciono - genetička istraživanja. Tako, polimorfizam boje cveta irisa, kao i njegovo održavanje, čini ove populacije pogodnim za istraživanje ovog važnog fenomena u evolucionoj

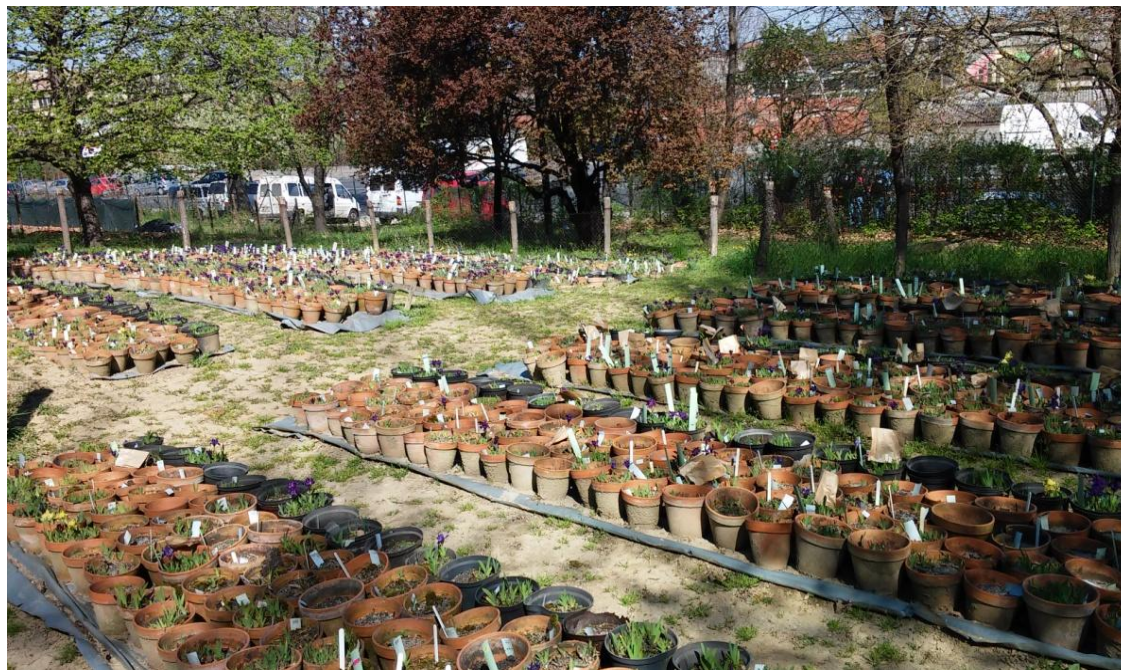
biologiji (Tucić i sar. 1988; Tarasjev 1997). Kako se *I. pumila* pored polnog, razmnožava i vegetativnim putem, to vrstu čini izuzetno pogodnom za evoluciono - ekološka istraživanja, odnosno, za analiziranje uticaja različitih faktora životne sredine na evoluciju osobina (npr. morfoloških i biohemijskih) (Tucić i sar. 1990; Manitašević i sar. 2007; Vuleta i sar. 2009; Tucić i Miljković 2010; Manitašević Jovanović i sar. 2011). Uzimajući u obzir njen sesilni način života, moguće je analizirati odgovore vegetativnih i seksualnih organa (na različitim nivoima biološke hijerarhije) na heterogenost sredine, što ovu vrstu čini adekvatnim model organizmom za istraživanje jednog od važnih bioloških fenomena - fenotipske plastičnosti (Tucić i sar. 1998, 2009; Avramov i sar. 2007; Vuleta i sar. 2009; Manitašević Jovanović i sar. 2011).

3.2 Eksperimentalna populacija

U eksperimentalnom radu u ovoj disertaciji, kao model organizmi korišćene su jedinke *I. pumila* proistekle iz recipročno faktorskog eksperimenta obavljenog u aprilu 1996. godine na području Deliblatske peščare. U sredini fenofaze cvetanja određene su dve grupe od po 12 klonova (ukupno 24 klonalna genotipa) koji su nasumično odabrani u odnosu na njihovu boju cveta. U okviru svake grupe, vršeno je recipročno ukrštanje. U direktnom ukrštanju, jedna polovina klonova određena je za primaoca polena, a druga polovina za davaoca, dok je u povratnom ukrštanju primalac polena postao davalac i obrnuto. Ukrštanje parova vršeno je ručno, prevlačenjem antere muškog roditelja (davalac polena) preko vrha tučka ženskog roditelja (primalac polena).

Semena dobijena iz ovih ukrštanja su čuvana na 4°C do početka isključavanja, a zatim su isključale biljke, po stepenu srodstva braća/polubraća i sestre/polusestre, gajene, tokom juvenilne faze, u sobi za rast biljaka pod kontrolisanim uslovima (temperatura: 21°C noću i 26°C danju; fotoperiod: 16h; intenzitet svetlosti: 110 $\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$). Adultne biljke stare šest meseci presađene su u keramičke saksije dijametra 20 cm, premeštene u eksperimentalnu baštu Instituta za biološka istraživanja „Siniša Stanković” i poređane po principu slučajnosti u odnosu na stepen srodstva u blokove, gde i

dalje rastu pod sličnim sredinskim uslovima (engl. *Common garden experiment*) više od 23 godine (Slika 3.2.1) (Tucić i sar. 2008, 2013; Radović i sar. 2017).



Slika 3.2.1. Eksperimentalna bašta Instituta za biološka istraživanja „Siniša Stanković”, Beograd. Potomstvo *I. pumila* poreklom iz semenskog materijala dobijenog iz recipročnog faktorskog eksperimenta u prirodnom staništu ove vrste na području Deliblatske peščare.

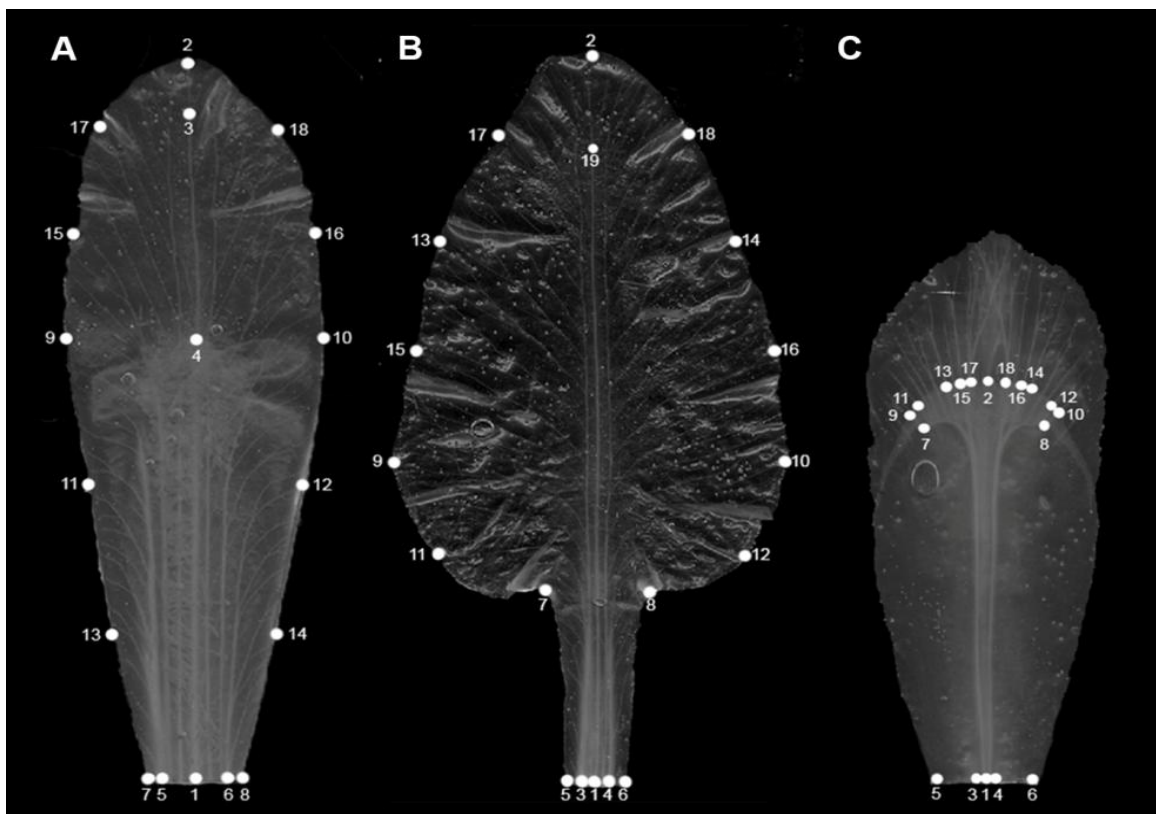
3.3 Priprema cvetova za geometrijsko - morfometrijske analize

3.3.1 Uzimanje uzoraka cvetova, konzervisanje, disekovanje i skeniranje cvetnih organa *I. pumila*

Za utvrđivanje obrazaca variranja oblika i veličine cvetnih organa *I. pumila* korišćen je 101 cvet biljaka. Biljke su rasle u saksijama gde su formirale klonove od većeg broja rameta. Cvetovi su sakupljeni svakodnevno od 21. marta do 1. aprila 2008. godine, u vremenskom intervalu od 11h do 15h. Sveže uzorkovani cvetovi su pojedinično stavljeni u plastične teglice (50ml) napunjene 70% etanolom. Biljni materijal je čuvan na sobnoj temperaturi do disekcije. Procedura disekcije podrazumevala je jedan rez na kraju cvetne tube (1 mm ispod račvanja tepala) koji je razdvojio pojedinačne cvetne organe. Folovi, standardi i grane tučkova su, zatim, postavljeni na staklenu ploču prekrivenu 50% glicerolom, na kojoj su pažljivo razvlačeni do njihovog prirodnog oblika. Na ovaj način fiksirani cvetni organi skenirani su optičkim skenerom (CanoScan 5600F) na istoj rezoluciji (600dpi).

Za opis i kvantifikaciju veličine i oblika cvetnih organa definisali smo konfiguracije od 18 tačaka za fol i granu tučka, kao i konfiguraciju od 19 tačaka za standard (Slika 3.3.1.1). Detaljan opis specifičnih tačaka dat je u tabeli 1.

Specifične tačke su postavljane korišćenjem programa ImageJ (Rasband 1997) u koji je instaliran namenski programiran paket u kojem su sadržani geometrijski parametri za definisanje mesta specifičnih tačaka tri različita organa cveta *I. pumila*. Nakon ubacivanja skeniranih fotografija disekovanih cvetova, program je automatski navodio na precizno definisana mesta na cvetnim organima na koja bi trebalo postaviti specifične tačke.

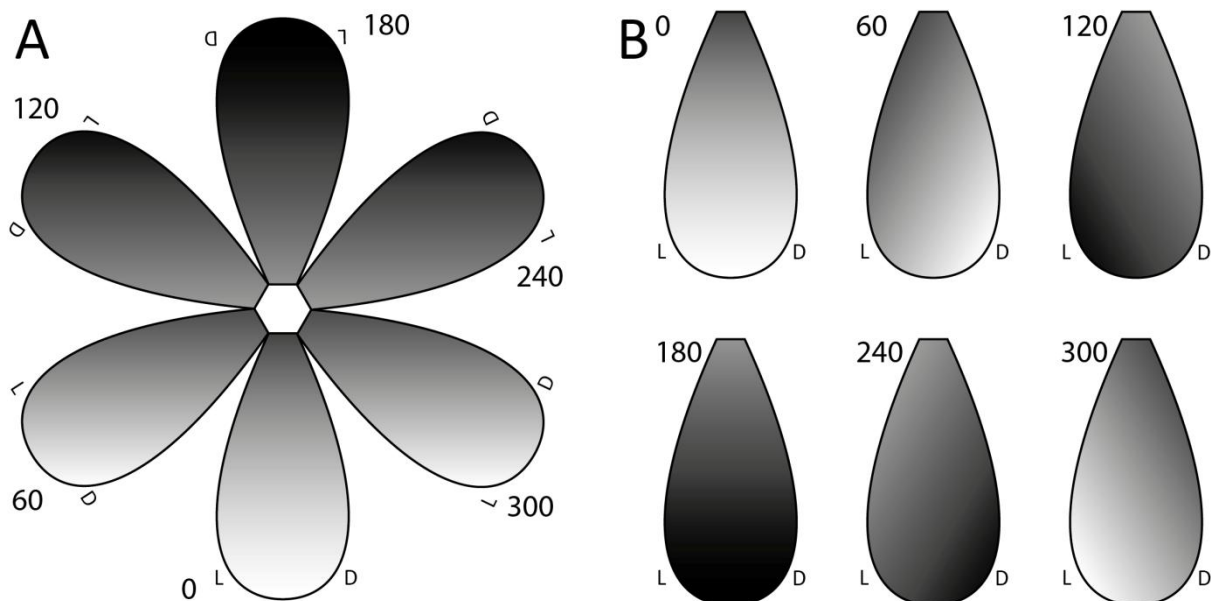


Slika 3.3.1.1. Položaj i definicije specifičnih tačaka na cvetnim organima *I. pumila*: A - Fol. B - Standard. C - Grana tučka.

3.3.2 Obrasci u variranju veličine i oblika različito orijentisanih cvetnih organa *I. pumila*

Da bismo utvrdili da li postoji karakterističan obrazac variranja veličine i oblika cvetnih organa *I. pumila* u odnosu na gradijent mikrosredine kojem su izloženi, kao i da li je asimetrija različito orijentisanih cvetnih organa rezultat fenotipske plastičnosti, svakodnevno smo sakupljali cvetove u eksperimentalnoj bašti od 21. marta do 1. aprila 2014. godine, u vremenskom intervalu od dva sata, počevši od 11h. Orijehtaciju cvetnih organa smo određivali u odnosu na položaj Sunca definisanog azimutom: 164,08° do 164,05° u periodu od 21. do 29. marta i 143,64° do 143,40° u periodu od 30. marta do 1. aprila (promena u vrednostima je prisutna zbog prelaska sa zimskog na letnje računanje vremena koje je počelo 30. marta 2014). Ove vrednosti ukazuju na to da se Sunce tokom uzorkovanja nalazilo na jugu. Položaj Sunca definisan je korišćenjem kalkulatora dostupnog na internet adresi <http://www.esrl.noaa.gov/gmd/grad/solcalc/>. Organi istog cveta orijentisani ka jugu bili su izloženi većoj količini sunčevog zračenja od onih orijentisanih ka severu. Takođe, organi orijentisani ka istoku primali su veću količinu zračenja sa desne strane, a oni orijentisani ka zapadu, sa leve strane (Slika 3.3.2.1).

Za potrebe ovog eksperimenta izabrali smo 267 klonova od kojih je svaki imao dva istovremeno otvorena cveta različitih orijentacija: jedan cvet sa folom direktno okrenutog ka jugu, i drugi sa standardom direktno okrenutog ka jugu. Kako su po tri replike različitih cvetnih organa irisa raspoređene u intervalu od 120°, finalni uzorak se satojao od šest grupa organa različitih u orijentaciji. Cvetni organi jednog rameta sa istog klona obeležavali smo sa 0° (fol koji je okrenut direktno ka Suncu, odnosno, jugu), 120° i 240°, dok su organi drugog rameta obeleževani sa 60°, 180° i 300° (Slika 3.1.3). Prosečni intenzitet svetlosti (PAR) merenje svakodnevno u toku trajanja eksperimenta u periodu od 11h do 12h, i to u dva položaja: vertikalno u odnosu na ramet i horizontalno, za svaku od tri orijentacije cvetnih organa (0°, 120° i 240°) (Tabela 2).



Slika 3.3.2.1. Grafički prikaz mikro-gradijenta ambijentalne svetlosti kome su izloženi cvetni organi različitih orijentacija. A - Gradijent svetlosti predstavljen kao postepeno zasenčavanje ka vrhu dijagrama (od 0° do 180°). Cvetni organi se nalaze pod različitim uglom u odnosu na gradijent zbog različitih orijentacija. L (levo) i D (desno) označavaju levu i desnu stranu pojedinačnih organa. B - Efekat gradijenta svetlosti na pojedinačne cvetne organe.

Cvetovi su sakupljeni i disekovani na isti način kao u prethodnom eksperimentu. Specifične tačke (Tabela 1, Slika 3.3.1.1) su postavljane koristeći program tpsDig2 (Rohlf 2006).

3.3.3 Obrasci u variranju veličine i oblika cvetnih organa *I. pumila* kod biljaka različite boje cveta

U aprilu 2008. godine, u sredini fenofaze cvetanja, uzorkovano je ukupno 155 cvetova iz eksperimentalne bašte koji su, na osnovu boje, podeljeni u pet grupa: lila (n= 60), plava (n= 59), tamno lila (n= 15), tamno plava (n= 7) i žuta (n= 14). Čuvanje uzoraka cvetova i disekcija su obavljani po prethodno opisanom protokolu (videti odeljak 3.3.1.). Na digitalne fotografije skeniranih cvetnih organa postavljane su specifične tačke korišćenjem programa ImageJ (Rasband 1997) (Tabela 1, Slika 3.3.1.1).

3.3.4 Preferencija oprašivača prema morfološkim osobinama cvetnih organa i boji cveta *I. pumila*

U ovom eksperimentu, svakodnevno su, sa početkom u 11h, prikupljani upravo otvoreni cvetovi. Uzorkovanje se obavljalo, u periodu od 9. do 16. aprila 2015. godine. Prikupljeno je po 90 oprašenih i neoprašenih cvetova *I. pumila*. Kriterijum po kojem bi cvet određenog klona pripao jednoj od dve navedene grupe jeste prisustvo polenovih zrna na žigu tučka. Uzorkovani su samo oni neoprašeni cvetovi koji su se nalazili na udaljenosti od oko 1m u odnosu na oprašen cvet. Uzorkujući parove oprašenih i neoprašenih cvetova na pomenutoj razdaljini, izbegnut je uticaj prostorno bliskih cvetova biljaka na slučajni odabir oprašivača.

3.3.4.1 Morfološke osobine cveta i cvetnih organa

Da bi se utvrdilo da li obrasci u variranju morfoloških osobina utiču na izbor oprašivača, za 90 parova oprašenih i neoprašenih cvetova, nonijusom je izmerena i zabeležena visina cveta, odnosno, razdaljina od površinskog nivoa zemlje u saksiji do vrha standarda. Cvetovi su, odmah potom, sakupljeni za morfometrijske analize. Procedura sakupljanja i disekovanja cvetova je ista kao i u prethodnim eksperimentima. Nakon skeniranja cvetnih organa, postavljane su specifične tačke u programu ImageJ (Rasband 1997) (Tabela 1, Slika 3.3.1.1).

3.3.4.2 Ekstrakcija i određivanje apsorpcije antocijana

Radi određivanja količine pigmenata, uzete su konfete dijametra 6 mm sa standarda, oprušenih i neoprušenih cvetova. Nakon prikupljanja, uzorci su zamrznuti u tečnom azotu i tako transportovani iz eksperimentalne bašte do laboratorije, gde su čuvani na temperaturi od -70°C do upotrebe.

Antocijani su ekstrahovani u kiselom metanolu (0,5% HCl), uz sonifikaciju u ultrazvučnom vodenom kupatilu u trajanju od 10 minuta, i potom kontinuirano mešanje 17 h na 4°C. Nakon centrifugiranja (12000 x g, 4°C), apsopcija supernatanta je merena spektrofotometrom (Multiskan Spectrum, Thermo Electron Corporation) u mikrotitar pločama na 540nm.

3.4 Geometrijska morfometrija

Za cvetne organe *I. pumila* karakteristična je simetrija objekta (engl. *object symmetry*), tako da simetričnu komponentu čine prosečne vrednosti specifičnih tačaka originalne konfiguracije i njene refleksije. Asimetrična komponenta kvantifikovana je odstupanjima originalnih konfiguracija od srednjeg oblika originalnih i reflektovanih konfiguracija (Klingenberg i sar. 2002).

Za odvajanje simetrične i asimetrične komponente variranja oblika cvetnih organa, kao i za procenu statističke značajnosti različitih komponenti asimetrije, koristili smo delimično modifikovanu analizu varijanse, odnosno, Prokrustovu analizu varijanse (Prokrustova ANOVA) (Klingenberg i McIntyre 1998). U analizama asimetrije i njenih komponenti, nužna je i procena greške merenja, te su zbog toga specifične tačke postavljane dva puta na digitalne fotografije cvetnih organa sa određenim vremenskim razmakom. Prokrustovom analizom varijanse smo procenili efekte nekoliko faktora na ukupnu varijansu oblika analiziranih cvetnih organa: efekat jedinke (međuindividualno variranje), efekat strane (prisustvo direkcione asimetrije), efekat interakcije jedinke i strane (prisustvo fluktuirajuće asimetrije), kao i efekat greške merenja.

3.4.1 Statističke analize

3.4.1.1 Obrasci variranja oblika cvetnih organa i procena alometrije

Da bi sagledali varijabilnost simetrične i asimetrične komponente variranja oblika cvetnih organa *I. pumila*, koristili smo analizu glavnih komponenti (engl. *Principal Component Analyses* - PCA). Matematički, ulazne podatke za izračunavanje glavnih komponenti u geometrijskoj morfometriji čine matrice kovarijansi koordinata specifičnih tačaka.

Da bi utvrdili prisustvo alometrije, odnosno, vezu između veličine i oblika cvetnih organa urađena je multivarijantna regresija varijabli oblika simetrične komponente na log vrednosti veličine centroida (log CS) (Monteiro 1999). Multivarijantna regresija urađena je za fol, standard i granu tučka. Dobijenim procentom ukupnog variranja cvetnih organa koja se može objasniti promenom njihove veličine, opisana je zavisnost variranja oblika cvetnih organa i njihove

veliĉine. Statistiĉka znaĉajnost nasuprot nulte hipoteze o nezavisnosti oblika i veliĉine procenjena je permutacionim testom sa 10000 iteracija (Good 1994).

Prokrustova superimpozicija, analiza glavnih komponenti i regresiona analiza su uraĉene pomoću programa MorphoJ (Klingenberg 2011).

3.4.1.2 Variranje obrazaca veliĉine, oblika i asimetrije cvetnih organa *I. pumila* indukovano heterogenošću ambijentalne svetlosti

Kao mera veliĉine cvetnih organa *I. pumila*, korišćena je veliĉina centroida (CS). Da bi se ispitao uticaj orijentacije na srednju vrednost veliĉine cvetnih organa, primenjena je jednofaktorska analiza varijanse (ANOVA). Statistiĉke analize veliĉine uraĉene su pomoću statistiĉkog softverskog paketa SAS (SAS Institute Inc 2010).

Kako je cvet *I. pumila* struktura kompleksne simetrije, u ovom eksperimentu simetrija i asimetrija su analizirane na dva nivoa (Savriama i Klingenberg 2011). Prvi nivo se odnosi na ceo cvet kao morfološku strukturu sa preklapajućom simetrijom. U ovom sluĉaju, nivo asimetrije cveta procenjen je razlikama veliĉine i oblika izmeĉu cvetnih organa razliĉitih u orijentaciji. Drugi nivo se odnosi na cvetne organe kao zasebne bilateralno simetriĉne morfološke celine. Uzimajući u obzir simetriju objekta kao morfološku karakteristiku cvetnih organa, razdvajanjem ukupne varijanse oblika na komponente omogućena je procena efekta gradijenta svetlosne sredine na simetriju i asimetriju cvetnih organa razliĉite orijentacije.

Razlike izmeĉu srednjih oblika cvetnih organa *I. pumila* razliĉite orijentacije analizirane su pomoću kanonijske diskriminantne analize (engl. *Canonical variate analysis* - CVA), statistiĉke procedure koja pronalazeći linearne kombinacije promenljivih, na osnovu srednjih vrednosti osobina i njihovog variranja, doprinosi maksimalnom razdvajanju analiziranih grupa (Zelditch i sar. 2012). CVA je uraĉena za simetriĉnu i asimetriĉnu komponentu ukupne varijanse oblika cvetnih organa. Statistiĉka znaĉajnost razlika izmeĉu srednjih oblika cvetnih organa razliĉitih orijentacija dobijena je permutacionim testovima sa 10000 iteracija koristeći Mahalanobisove i Prokrustove distance kao ulazne podatke.

Prokrustova superimpozicija i kanonijska diskriminativna analiza su urađene pomoću programa MorphoJ (Klingenberg 2011).

Da bi se od ukupne fenotipske varijanse izdvojio deo uzrokovan različitom orijentacijom cvetnih organa, Prokrustova suma kvadrata za strukture sa preklapajućom simetrijom rastavljena je na komponente po sledećoj formuli (1) (Savriama i Klingenberg 2011):

$$\sum_{i=1}^n \sum_{s=1}^p D^2(x_{is}, \bar{x}) = p \sum_{i=1}^n D^2(\bar{x}_i, \bar{x}) + n \sum_{s=1}^p D^2(\bar{x}_s, \bar{x}) + \sum_{i=1}^n \sum_{s=1}^p D^2(x_{is}, \bar{x}) + (\bar{x}_s - \bar{x}), (1)$$

gde promenljiva D predstavlja kvadrat Prokrustovih distanci između dve konfiguracije tačaka, p broj replika cvetnih organa, x_{is} označava konfiguraciju tačaka replike s (može imati vrednosti od 1 do p) jedinice i , \bar{x} je srednja vrednost konfiguracije ukupnog uzorka, \bar{x}_i je srednja vrednost jedinice i , a \bar{x}_s predstavlja srednju vrednost za repliku s . U ovu jednačinu smo uključili dodatni efekat cveta (rameta) ugnježđenog u efekat biljke (klona). Prokrustove sume kvadrata za pojedinačne cvetne organe izračunavane su odvojeno za simetričnu i asimetričnu komponentu.

Procenat fluktuirajuće asimetrije koja je uzrokovana različitom orijentacijom cvetnih delova, izračunata je kao odnos sume kvadrata asimetrije uzrokovane različitim orijentacijom i sume kvadrata ukupne asimetrije u cvetu. Na isti način je određen udeo drugih tipova asimetrije koji su deo asimetrične komponente fenotipskog variranja.

3.4.1.3 Testiranje razlika u veličini i obliku cvetnih organa u odnosu na boju cveta

Parametri deskriptivne statistike (srednja vrednost CS, standardna greška i koeficijent variranja) izračunati su za pet različitih boja cvetnih organa. Razlike između boja u veličini (CS) fola, standarda i grane tučka testirane su jednofaktorskom analizom varijanse (ANOVA). Parna poređenja prosečnih vrednosti CS između različitih boja cvetnih organa testirana su Tukey post - hoc testom. Deskriptivna statistika, jednofaktorska ANOVA i Tukey post - hoc test

urađeni su korišćenjem PROC MEANS i PROC GLM procedura programa SAS (SAS Institute Inc 2010).

Da bi procenili statističku značajnost razlika u simetričnoj i asimetričnoj komponenti u odnosu na boju cveta kao faktor, urađena je Prokrustova analiza varijanse (Prokrustova ANOVA).

Za svaku od navedenih boja izračunat je prosečan (srednji) oblik cvetnih organa. Parno poređenje prosečnih oblika za fol, standard i granu tučka, i značajnost razlika u obliku cvetnih organa kod različitih boja cveta testirana je primenom diskriminantne analize (engl. *Discriminant Function Analysis* - DFA). Kada uzorak sadrži više od dve grupe, kao što je to slučaj u ovom eksperimentu, DFA se obavlja za svaki par posebno (Timm 2002). Razlika između srednjih oblika različitih boja cvetnih organa *I. pumila* testirane su na simetričnoj komponenti ukupnog variranja oblika. DFA je izvedena i za podatke bez alometrije, odnosno na rezidualnim vrednostima multivarijantne regresije varijabli oblika na veličinu centroida. Statistička značajnost razlika između srednjih oblika parova određenih boja folova, standarda i grana tučkova, utvrđena je permutacionim testovima sa 10000 iteracija koristeći Prokrustove distance kao ulazne podatke.

Prokrustova superimpozicija, Prokrustova ANOVA, multivarijantna regresija i diskriminatna funkcionalna analiza urađene su pomoću programa MorphoJ (Klingenberg 2011).

3.4.1.4 Preferencija oprašivača u odnosu na morfologiju i boju cvetnih organa i boji cveta *I. pumila*

Srednja vrednost i standardna greška za morfološke osobine cveta (visina cveta i CS cvetnih organa), kao i za apsorpciju antocijana izračunata je za grupe oprašenih i neoprašenih cvetova *I. pumila*. Poređenja srednjih vrednosti morfoloških osobina cveta i apsorpcije antocijana između dve eksperimentalne grupe testirana su Studentovim *t* testom.

Kako bi utvrdili koja od varijabli najviše doprinosi razlikama između eksperimentalnih grupa, urađena je analiza glavnih komponenti (engl. *Principal*

component analysis- PCA) korišćenjem korelacionih matrica pojedinačnih osobina cveta (visina cveta i količina antocijana) i cvetnih organa (CS) *I. pumila*.

Prisustvo selekcije zavisne od oprašivača na morfološke (visina cveta, veličina centroida cvetnih organa) i biohemijske (apsorpcija antocijana) osobine testirano je multivarijantnom regresijom relativne adaptivne vrednosti (engl. *fitness*) na transformisane vrednosti osobina, kao i na vrednostima dobijenim iz analize glavnih komponenti (PC skorovi). Kao komponenta adaptivne vrednosti u ovim analizama bilo je prisustvo, odnosno odsustvo polena na žigu tučka. Adaptivna vrednost je bila jednaka nuli, za neoprašene cvetove, i jedinici, za oprašene. Pošto je adaptivna vrednost definisana kao nezavisna kategorijska promenljiva sa dva moguća ishoda, koristili smo logističku regresiju za dobijanje selekcionog gradijenta α (Menard 2002). Za utvrđivanje tipova selekcije od strane oprašivača na analizirane osobine, kvantifikovali smo linearne i kvadratne selekzione gradijente (β i γ , redom) (Lande i Arnold 1983; Arnold i Wade 1984). Selekcioni gradijenti izračunati iz logističke i linearne regresije (α i β) interpretiraju se kao direkciona selekcija, dok se kvadratni selekcioni gradijent (γ), u zavisnosti da li ima pozitivnu ili negativnu vrednost, definiše kao koeficijenti stabilizacije, odnosno disruptivne selekcije, redom.

Kako uzorak nije zadovoljavao kriterijum normalne raspodele, vrednosti osobina su pre analize glavnih komponenti i regresionih analiza transformisane kubnim korenovanjem. Parametri deksriptive statistike, *t* test, analiza glavnih komponenti, kao i regresione analize urađene su pomoću SAS softverskog paketa (SAS Institute Inc 2010).

Za poređenja srednjih oblika cvetnih organa oprašenih i neoprašenih cvetova primenjena je diskriminativna analiza (DFA) na simetričnoj komponenti varijanse oblika. Takođe, pomoću iste analize, poređeni su srednji oblici parova oprašenih i neoprašenih cvetnih organa određene boje. Da bi se eliminisale razlike između srednjih oblika uzrokovane promenom u veličini, DFA je ponovljena sa rezidualnim vrednostima multivarijantne regresije varijabli oblika na veličinu centroida kao ulaznim podacima. Statistička značajnost razlika

između srednjih oblika parova cvetnih organa, dobijena je permutacionim testovima sa 10000 iteracija, koristeći Prokrustove distance.

Prokrustova ANOVA je urađena u cilju ispitivanja efekata nekoliko faktora na ukupno variranje oblika analiziranih cvetnih organa: efekta međuindividualnog variranja, efekta strane (prisustvo direkcione asimetrije) i efekta interakcije između individue i strane (prisustvo fluktuirajuće asimetrije).

Prokrustova superimpozicija, multivarijantna regresija, diskriminativna funkcionalna analiza i Prokrustova ANOVA su urađene pomoću programa MorphoJ (Klingenberg 2011).

Vrednosti dobijene pomoću Prokrustove analize varijanse (suma kvadrata odstupanja za fluktuirajuću asimetriju i grešku merenja) korišćene su za izračunavanje indeksa fluktuirajuće asimetrije (FA10 indeks) (Palmer i Strobeck 1986) oblika cvetnih organa oprašenih i neoprašenih cvetova koristeći formulu (2).

$$FA10 = (MS_{jedinka \times strana} - MS_{greška \text{ merenja}}) / M \quad (2)$$

$MS_{jedinka \times strana}$ predstavlja sumu kvadrata odstupanja za fluktuirajuću asimetriju, a $MS_{greška \text{ merenja}}$ sumu kvadrata odstupanja greške merenja procenjenih Prokrustovom analizom varijanse za određeni cvetni organ. Promenljiva M u formuli predstavlja broj ponovljenih merenja.

FA10 indeks je bilo moguće izračunati samo za one grupe koje su zadovoljavale osnovno pravilo veličine uzorka primenljivo u geometrijskoj morfometriji, a koje glasi da broj jedinki u analiziranoj grupi mora da bude veći od broja definisanih specifičnih tačaka koje opisuju njihov oblik (Zelditch i sar. 2012). Statističku značajnost razlika između FA10 indeksa izračunatih za cvetne organe oprašenih i neoprašenih cvetova, kao i za cvetne organe oprašenih i neoprašenih cvetova klasifikovanih po različitim bojama dobili smo pomoću F testa (Palmer i Strobeck 1986). Vrednost F smo računali deljenjem veće i manje vrednosti FA10 indeksa grupa koje poredimo. Broj stepeni slobode se izračunava za svaku grupu pojedinačno (2)

$$df_{FA10} = (MS_{jedinka \times strana} - MS_{greška \text{ merenja}})^2 /$$

$$\{ (MS_{jedinka \times strana})^2 / [(S-1)(J-1)] + (MS_{greška \text{ merenja}})^2 / [SJ(M-1)] \}, (2);$$

gde je $MS_{jedinka \times strana}$ suma kvadrata odstupanja za fluktuirajuću asimetriju, a $MS_{greška \text{ merenja}}$ suma kvadrata odstupanja greške merenja izračunate pomoću Prokrustove analize varijanse. Promenljiva S predstavlja broj strana, J broj jedinki, a M broj ponovljenih merenja. Deo formule $(S-1)(J-1)$ se odnosi na broj stepeni slobode (df) za faktor interakcije jedinka \times strana, dok se deo formule $SJ(M-1)$ odnosi na broj stepeni slobode (df) za grešku merenja Prokrustove analize varijanse. Da bi se utvrdilo da li se analizirane grupe razlikuju u nivou fluktuirajuće asimetrije, dobijena F vrednost upoređena je sa pretpostavljenom F distribucijom za dati stepen slobode.

4 Rezultati

4.1 Variranje oblika cvetnih organa *I. pumila*

Variranje oblika cvetnih organa u eksperimentalnoj populaciji procenjeno je analizom glavnih komponenti (PCA). Rezultati PCA pokazuju da se najveći procenat variranja oblika može opisati pomoću prve tri PC ose za sva tri analizirana cvetna organa (Tabela 3 A-C).

4.1.1 Obrasci variranja oblika fola

Simetrična komponenta variranja oblika. Prva PC osa simetrične komponente variranja oblika fola opisuje 43,4% ukupnog fenotipskog variranja (Tabela 3A). Promene u obliku fola opisane prvom osom odnose se na izduživanje i sužavanje ovog organa u pozitivnom, odnosno skraćivanje i širenje celokupne strukture u negativnom delu PC ose (Slika 1A). Druga PC osa opisuje promene oblika koje se odnose se na sužavanje gornje polovine (engl. *blade*) uz istovremeno proširivanje donje polovine, odnosno drške fola (engl. *haft*) u pozitivnom smeru ose. Suprotan trend može se zapaziti u negativnom smeru iste PC ose (Slika 1A). Obrazac variranja uočen za treću PC osu odnosi se na širenje gornje polovine i sužavanje drške fola u pozitivnom, i obrnuto u negativnom delu smeru PC ose (Slika 1A).

Asimetrična komponenta variranja oblika. Najveći udeo variranja asimetrične komponente oblika fola opisan je prvom PC osom (41,7%) (Tabela 3A). Promene asimetrične komponente oblika fola opisane prvom osom odnose se na blago naginjanje gornje polovine fola u levu ili desnu stranu, u zavisnosti od dela ose za koji se promena vezuje (Slika 1B). Promene oblika opisane drugom PC osom su istovremeno izduživanje donje desne i gornje leve površine fola u pozitivnom, i obrnuto, u negativnom smeru PC ose (Slika 1B). Promene oblika opisane trećom PC osom podrazumevaju istovremeno intenzivno savijanje gornje leve površine u levu stranu i donje desne površine u desnu stranu za pozitivan deo PC ose (Slika 1B).

4.1.2 Obrasci variranja oblika standarda

Simetrična komponenta variranja oblika. Prva PC osa za simetričnu komponentu variranja oblika standarda opisuje 43,2% ukupnog variranja (Tabela 3B). Promene u obliku standarda opisane prvom osom odnose se na izduživanje i sužavanje standarda u pozitivnom, odnosno, njegovo skraćivanje i širenje u negativnom delu PC ose (Slika 2A). Promene oblika koje su pridružene drugoj PC osi odnose se na izduživanje ploče (engl. *blade*) i istovremeno skraćivanje drške standarda (engl. *haft*) za pozitivan, i obratno za negativan deo PC ose (Slika 2A). Obrazac variranja uočen na trećoj PC osi odnosi se na širenje gornje polovine ploče standarda u pozitivnom smeru i njeno sužavanje u negativom smeru PC3 ose (Slika 2A).

Asimetrična komponenta variranja oblika. Više od 60% ukupne varijanse oblika standarda opisano je pomoću prve tri PC ose za asimetričnu komponentu (Tabela 3B). Promene oblika standarda opisane prvom osom odnose se na blago nagnjanje vrha ploče i drške standarda u levu stranu u negativnom smeru, odnosno u desnu stranu u pozitivnom smeru PC1 ose (Slika 2B). Promene oblika vezane za drugu PC osu se ispoljavaju kroz blago savijanje vrha ploče standarda u desnu stranu u slučaju pozitivnog, i obrnuto u slučaju negativnog dela ose (Slika 2B). Promene oblika vezane za treću PC osu podrazumevaju torziju ploče standarda u desnu, odnosno, levu stranu za pozitivan i negativan deo PC3 ose, redom (Slika 2B).

4.1.3 Obrasci variranja oblika grane tučka

Simetrična komponenta variranja oblika. Najveći procenat ukupnog variranja oblika grane tučka za simetričnu komponentu, opisan je pomoću prve dve PC ose (83,4%) (Tabela 3C). Promene u obliku grane tučka opisane prvom osom odnose se na njihovo sužavanje u pozitivnom, odnosno, na širenje ove strukture u negativnom delu PC ose (Slika 3A). Promene oblika koje su pridružene drugoj PC osi odnose se na proširivanje donjeg dela grane tučka idući od negativnih ka pozitivnim vrednostima ove ose (Slika 3A). Promene oblika pridružene trećoj PC osi ispoljavaju se kroz promene u širini i dužini žiga tučka (Slika 3A).

Asimetrična komponenta variranja oblika. Nešto manje od polovine ukupne varijanse oblika grane tučka za asimetričnu komponentu (39,3%) opisano je prvom PC osom (Tabela 3C). Promene oblika opisane PC1 osom odnose se na savijanje žiga tučka u desnu ili levu stranu, u zavisnosti da li je promena vezana za njen pozitivni ili negativni deo (Slika 3B). Slične promene oblika vezane su za drugu PC osu, uz dodatno savijanje donjeg dela u određenu stranu (Slika 3B). Treća PC osa opisuje promene oblika koje se odnose na donji deo grane tučka (Slika 3B).

4.1.4 Alometrijske promene oblika cvetnih organa *I. pumila*

Statistički značajan uticaj alometrije utvrđen je za sva tri analizirana cvetna organa, pri čemu je udeo alometrije u variranju oblika bio specifičan za svaki cvetni organ: 6,07% za fol, 3,26% za standard i 9,76% za granu tučka (Tabela 4).

Uticaj alometrije na promenu oblika mogao se vizuelno uočiti kao relativno proširivanje svih cvetnih struktura. Na primer, kod fola je sa povećanjem veličine dolazilo do relativnog proširenja drške (Slika 4A), dok su kod standarda najuočljivije promene oblika bile izduživanje drške i relativno proširenje ploče (Slika 4B). Za granu tučka je uočeno da se proširivala sa povećanjem veličine (Slika 4C).

4.2 Uticaj mikrosredinskog gradijenta ambijentalne svetlosti na variranje veličine, oblika i asimetrije cvetnih organa *I. pumila*

Uticaj mikrosredinskog gradijenta ambijentalne svetlosti na fenotipske vrednosti veličine i oblika cvetnih organa *I. pumila* različite orijentacije testiran je primenom jednofaktorske analize varijanse, kao i kanonijske diskriminativne analize, kojom su upoređeni srednji oblici fola, standarda i grane tučka različitih orijentacija.

Srednje vrednosti veličine centroida (CS) cvetnih organa su imale približno jednake vrednosti u odnosu na njihovu orijentaciju (Tabela 5). Jednofaktorska ANOVA potvrdila je da ne postoji statistički značajna razlika između prosečne veličine centroida za sva tri analizirana cvetna organa različite orijentacije (Tabela 6).

Razlike u oblicima različito orijentisanih folova su suptilne - ali ne i zanemarljive (Slika 5). U odnosu na simetričnu komponentu varijanse, razlike u obliku se uglavnom odnose na širinu njegove drške; folovi sa najužom drškom bili su južno orijentisani (0°; Slika 5A). U slučaju asimetrične komponente, uočen je karakterističan obrazac promene, a to je naginjanje centralnog nerva u smeru obrnutom od kazaljke na satu. Posmatrajući cvet kao celinu, njegova simetrija izgledom podseća na oblik vetrenjače (engl. *pinwheel symmetry*) (Slika 5B). Dakle, iako suptilna, asimetrija oblika fola je specifična za svaku definisanu orijentaciju.

Obrasci variranja oblika fola različitih orijentacija za simetričnu i asimetričnu komponentu prikazani su grafički na slici 5 C i D, redom. Ono što je uočljivo za obe komponente variranja oblika jeste da su neke elipse poverenja, odnosno, one koje obuhvataju 90% srednjih vrednosti uzorka, jasno međusobno odvojene, dok se druge preklapaju. Takav obrazac ukazuje na postojanje statistički značajnih razlika između oblika fola različitih orijentacija, što je i potvrđeno rezultatima dobijenim permutacionim testovima (Tabele 7A i 8A). U slučaju simetrične komponente, ne postoji karakterističan obrazac variranja oblika fola u zavisnosti od njegove orijentacije. Ipak, očigledno je da se

oblik fola koji je bio orijentisan ka jugu (0°) razlikuje od oblika folova ostalih orijentacija (Slika 5C). Ovo odvajanje je potvrđeno i rezultatima dobijenim iz permutacionih testova. Konkretno, P vrednosti Prokrustovih i Mahalanobisovih distanci između srednjih oblika folova orijentacije 0° i ostalih orijentacija ukazuju da se one statistički značajno razlikuju (Tabele 7A i 8A). Međutim, u slučaju asimetrične komponente obrazac variranja oblika fola bio je karakterističan u odnosu na orijentaciju, a može se uočiti na osnovu položaja pojedinačnih folova različitih orijentacija u odnosu na CV ose, gde elipse poverenja oblika folova različitih orijentacija formiraju karakterističan krug: od elipse koja predstavlja folove sa orijentacijom 0° , preko onih sa orijentacijom 60° , 120° , 180° , 240° , do elipse sa orijentacijom 300° , koja zatvara krug (Slika 5D). Uz to, na grafiku je primetno preklapanje elipsi sa orijentacijom 120° i 180° . Ovakav obrazac potvrđen je i permutacionim testovima, nakon kojih je pokazano da Prokrustove i Mahalanobisove distance između srednjih oblika jedino nisu bile značajne za folove sa orijentacijama 120° i 180° . Dakle, bitno je istaći da za asimetričnu komponentu obrazac variranja oblika fola različitih orijentacija odgovara njihovom prostornom rasporedu u cvetu.

Procentualna zastupljenost asimetrije oblika folova zbog njihove različite orijentacije je iznosila 11,5% za simetričnu komponentu, 5,7% za asimetričnu komponentu i 10,4% za ukupno variranje oblika (Tabela 9).

Kada je u pitanju promena oblika standarda u odnosu na orijentaciju, za simetričnu komponentu je to menjanje dužine i širine drške nasuprot širenja ploče (Slika 6A). Kao što je bio slučaj i kod folova, standardi koji su južno orijentisani, odnosno, oni koji su označeni orijentacijom 0° , bili su najuži. Međutim, važno je napomenuti da fol i standard sa orijentacijom 0° ne pripadaju istom rametu. Imajući u vidu da su ti organi u jednom cvetu razmešteni naizmenično, pod uglom od 60° , fol i standard sa istim orijentacijama su organi dva rameta iste klonalne biljke. Asimetrična komponenta standarda, kao što je slučaj i kod fola (Slika 5B), ispoljavala je karakterističan obrazac variranja oblika sa zakrivljenjem na istu stranu (*'pinwheel symmetry'*) (Slika 6B).

Položaji pojedinačnih standarda različite orijentacije na CVA grafiku za simetričnu komponentu oblika nisu pokazivali jasan obrazac, ali su ipak određena odvajanja bila očigledna (Slika 6C). Kao i kod fola, najuočljivije je izdvajanje standarda orijentacije 0° . Ove rezultate potvrđuju i permutacioni testovi Prokrustovih i Mahalanobisovih distanci prikazani u tabelama 7B i 8B. Što se tiče asimetrične komponente, još jednom se uočava obrazac po kojem varira oblik organa (Slika 6D). On ima oblik kruga koji počinje elipsom kojoj pripadaju standardi sa orijentacijom 0° , preko onih sa orijentacijom 60° , 120° , 180° , 240° i 300° i završava se u početnoj tački (Slika 6D). Ono što je svakako primetno jeste preklapanje elipsi kojima pripadaju standardi sa orijentacijom 120° i 180° , što su potvrdili i permutacioni testovi. Naime, značajnost razlika između oblika standarda različitih orijentacija utvrđena je za sve, osim onih sa orijentacijama 120° i 180° (Tabele 7B i 8B).

Udeo asimetrije koja je uzrokovana različitom orijentacijom organa u cvetu iznosio je 12,8% za simetričnu komponentu, 7,3% za asimetričnu komponentu i 11,4% za ukupno variranje oblika standarda (Tabela 9).

Kod grana tučka različitih orijentacija, simetrična komponenta variranja odnosila se na vrlo suptilne razlike između dužine i širine ovog organa (Slika 7A). Za asimetričnu komponentu, kao i u slučajevima prethodno analiziranih organa, uočava se specifičan obrazac zakrivljenja na istu stranu (*'pinwheel symmetry'*). U ovom slučaju se primećuje promena položaja apikalno postavljenih specifičnih tačaka na žig tučka u odnosu na proksimalno postavljene tačke za svih šest orijentacija (Slika 7B). Smer promene oblika koji se odnosi na žig tučka je u pravcu kretanja kazaljke na satu (Slika 7B), što je suprotno od smera promena oblika koje su karakteristične za fol i standard (Slike 5B i 6B, redom).

Položaji pojedinačnih grana tučka različite orijentacije u odnosu na prve dve CV ose, za simetričnu komponentu ne pokazuju karakterističan obrazac; štaviše, prisutno je međusobno preklapanje elipsi poverenja srednjih oblika svih orijentacija (Slika 7C). Permutacionim testovima nisu konstatovane statistički značajne Prokrustove i Mahalanobisove distance između srednjih oblika grana

tučka (Tabela 7C i 8C). Za asimetričnu komponentu variranja, kao i u slučaju fola i standarda, elipse poverenja za srednje oblike grane tučka su raspoređene u karakterističan krug (Slika 7D). Jasno razdvajanje elipsi poverenja prisutno je za sve orijentacije organa, osim za srednje oblike 120° i 180° , čije se elipse skoro u potpunosti preklapaju (Slika 7D). Ovaj obrazac potvrđen je permutacionim testovima koji su potvrdili postojanje značajne razlika između srednjih oblika grana tučka različitih orijentacija, sa jednim izuzetkom orijentacija 120° i 180° , koje nije bilo statistički značajno (Tabele 7C i 8C).

Procentualna zastupljenost asimetrije koja je uzrokovana orijentacijom grana tučkova u okviru cveta imala je vrlo male vrednosti. Za simetričnu komponentu iznosila je 1,6%, 3,1% za asimetričnu komponentu i svega 2,2% za ukupno variranje oblika (Tabela 9).

Na osnovu ovih rezultata može se zaključiti da mikrosredinski gradijent utiče na variranje oblika, ali ne i na promenu u veličini različito orijentisanih cvetnih organa *I. pumila*.

4.3 Variranje veličine i oblika cvetnih organa u odnosu na boju

Srednje vrednosti i standardne devijacije veličine centroida (CS) za svaku od pet klasa boje (lila, plava, tamno lila, tamno plava i žuta), kod svakog od tri analizirana cvetna organa prikazane su u tabeli 10. Vrednosti koeficijenta varijacije (CV) ukazuju na sličan raspon variranja analiziranih cvetnih organa: fola - od 7% do 11%; standarda - od 5% do 13% i grana tučkova - od 5% do 10%) (Tabela 10). Analiza varijanse (ANOVA) pokazala je da se srednje vrednosti za veličinu cvetnih organa statistički značajno razlikuju između pet klasa boja cvetova (Tabela 11). Primenom Tukey post-hoc testa utvrđene su statistički značajne razlike u veličini sva tri cvetna organa između lila i tamno lila, lila i žute, plave i žute, tamno plave i žute varijante boje (Tabela 12).

Rezultati Prokrustovih ANOVA-a za pet kategorija boja prikazani su na tabeli 13 (A-C). Utvrđena je statistički značajno međuindividualno variranje, kao i statistički značajno prisustvo direkcione i fluktuirajuće asimetrije za fol, standard i granu tučka, sa izuzetkom cvetova tamno lila boje kod čijih organa nije uočena značajna direkciona asimetrija (Tabela 13C).

Diskriminantnom analizom (DFA) utvrđene su i opisane razlike u obliku cvetnih organa između različitih varijanti boje, sa i bez alometrijske komponente variranja (Tabela 14, Slike 8, 9 i 10). Posebno je interesantno to što su se žuti cvetni organi razlikovali od istih organa drugih boja (Tabela 14). Rezultati ovih analiza su takođe pokazali da alometrija nije bitno uticala na značajnost razlika u obliku cvetnih organa različitih boja (Tabela 14).

Na slici 8 prikazane su razlike između srednjih oblika folova različitih boja, sa i bez alometrijske komponente. Poređenjem su utvrđene razlike između njihovih srednjih oblika koje se ispoljavaju kroz sužavanje i širenje struktura određene boje. Najuočljivije razlike su utvrđene između žutih, sa jedne, i folova ostalih boja, sa druge strane (Slika 8). Diskriminativna analiza ukazala je da je obrazac variranja oblika standarda u odnosu na boju cveta sličan obrascu variranja oblika folova. U najvećem broju poređenja, srednji oblici standarda različitih boja se razlikuju u širini i visini ploče ovog organa (Slika 9). Kao i kod folova, najizraženije razlike uočene su između oblika žutih standarda, koji su u

celini bili širi od analiziranih standarda drugih boja (Slika 9). Razlike između srednjih oblika grana tučkova različitih boja su se ispoljavale kao proširenja, odnosno, suženja celokupne strukture (Slika 10). Zanimljivo je da je grana tučka kod cvetova žute boje bila uža i kraća u odnosu na cvetove ostalih boja (Slika 10).

4.4 Preferencija oprašivača prema morfologiji cvetnih organa i boji cveta

U tabeli 15 prikazane su srednje vrednosti i standardne greške (SE) za visinu cveta, apsorpciju antocijana, kao i za veličinu centroida fola, standarda i grane tučka kod oprašenih i neoprašenih cvetova *I. pumila*. Studentovim *t* testom utvrđena je značajna razlika u visini cveta kao i u veličini fola i standarda između oprašenih i neoprašenih cvetova (Tabela 15). Važno je istaći da su statistički značajne razlike u veličini uočene kod organa koji učestvuju u privlačenju oprašivača (fol i standard), ali ne i kod organa koji su direktno uključeni u proces oprašivanja (grana tučka).

PCA je pokazala da su vrednosti opterećenja svih morfoloških osobina bile najveće na prvoj komponenti (PC1), nasuprot apsorpcije antocijana čije je opterećenje bilo najveće na PC2 (Tabela 16).

Analize linearnih selekcionih gradijenata, α i β , ukazuju na statistički značajan efekat direkcione selekcije usmeren ka smanjivanju veličine grane tučka (Tabela 17). Da morfološke karakteristike cveta jesu pod selekcionim pritiskom oprašivača, ukazuje statistički značajna vrednost linearnog selekcionog gradijenta utvrđena za PC1 osu, kao i za veličinu centroida fola i grane tučka (Tabela 17). Na osnovu predznaka selekcionog gradijenta β , koji je bio pozitivan za fol, a negativan za granu tučka, može se zaključiti da su efekti direkcione selekcije bili usmereni ka povećanju površine fola (pozitivna vrednost koeficijenta β) uz istovremeno smanjenje površine grane tučka (negativna vrednost koeficijenta β), dok je površina standarda bila selektivno neutralna (vrednost koeficijenta β nije bila statistički signifikantna) (Tabela 17). To znači da cvetovi sa polinacionim tunelom čija je gornja strana (grana tučka) manja, a

donja strana (površina fola) veća, dostižu višu adaptivnu vrednost od onih sa suprotnim dimenzijama ovih organa (grana tučka: $\alpha = -4,9812 \pm 1,8166$ i $\beta = -0,0850 \pm 0,0288$; fol: $\alpha = 4,0138 \pm 1,9745$ i $\beta = -0,0814 \pm 0,041$; Tabela 17).

Razlike u obliku između cvetnih organa oprашenih i neoprашenih cvetova testirane su primenom DFA (Tabela 18). Od tri analizirana cvetna organa, statistički značajne razlike jedino su utvrđene između oblika oprашenih i neoprашenih grana tučkova, dok kod organa uključenih u privlačenje oprашivača (fol i standard) ta razlika nije uočena (Tabela 18). Isti trend zapažen je i na podacima iz kojih je statistički eliminisana alometrijska komponenta. Važno je istaći da je za oprашene cvetove karakteristična uža grana tučka u odnosu na neoprășene (Slika 11). Parnim poređenjem oblika cvetnih organa između varijanti različite boje, statistički značajne razlike detektovane su isključivo između tamno ljubičastih i svih ostalih varijanti boja (Tabela 18). Standardi tamno lila oprășenih i neoprășenih cvetova statistički su se značajno razlikovali u obliku. Takođe, kod ovih cvetova utvrđena je razlika u obliku grane tučka, ali samo u slučaju kada je bila prisutna alometrijska komponenta fenotipskog variranja oblika (Tabela 18). Na osnovu ovih analiza i statističke značajnosti selekcionih gradijenata stiče se utisak da oprășivači *I. pumila* biraju cvetove različitih veličina folova, bez obzira na njihov oblik.

Prokrustovom analizom varijanse utvrđena je statistički značajna međuindividualna različitost, kao i direkciona i fluktuirajuća asimetrija za sva tri analizirana organa, kako kod oprășenih - tako i kod neoprășenih cvetova (Tabela 19). Izračunavanjem FA10 indeksa, kvantifikovana je fluktuirajuća asimetrija. Vrednosti FA indeksa analiziranih cvetnih organa prikazani su u tabeli 20 i na slici 12. Značajna razlika dobijena F testom uočena je kod organa koji imaju ulogu u privlačenju oprășivača (fol i standard), ali ne i između indeksa fluktuirajuće asimetrije grane tučka oprășenih i neoprășenih cvetova (Tabela 20, Slika 12). Vrednosti FA indeksa između oprășenih i neoprășenih cvetova određene boje upoređivane su samo onda kada su zadovoljavali statistički uslov vezan za veličinu uzorka. Kako je veličina uzorka za lila i tamno lila grupe cvetova bila zadovoljavajuća, izračunati su indeksi fluktuirajuće asimetrije za

njihova sva tri organa (Tabele 21 A-C). F testom je utvrđena statistički značajna razlika isključivo između oprašenih i neoprašenih folova cvetova lila boje (Tabela 21A).

5 Diskusija

Metodama geometrijske morfometrije utvrđeni su obrasci variranja oblika i veličine tri bilateralno simetrična organa: fola, standarda i grane tučka kod entomofilne biljne vrste *Iris pumila*, polimorfne u odnosu na boju cveta. Kod sva tri cvetna organa i svih varijanti boje udeo simetrične komponente u ukupnom variranju oblika bio je najveći, dok je fluktuirajuća asimetrija (FA) dominirala u asimetričnoj komponenti.

5.1 Funkcija, okruženje ili slučajnost? Obrasci variranja veličine i oblika cvetnih organa *I. pumila*

Geometrijsko morfometrijskim analizama funkcionalno različitih cvetnih organa *I. pumila* ispitivan je obrazac variranja u veličini i obliku ovih morfoloških struktura na dva različita nivoa: između jedinki - analizom simetrične komponente i unutar jedinki - analizom asimetrične komponente. Takođe je procenjen i udeo alometrije u fenotipskom variranju oblika cvetnih organa (Klingenberg i sar. 2012; Zelditch i sar. 2012). Rezultati analize glavnih komponenti (PCA) pokazali su da se najveći procenat ukupnog variranja oblika cvetnih organa može opisati PC1 osom i to kako za simetričnu tako i za asimetričnu komponentu (Tabele 3A-C). Na osnovu ovih rezultata moglo bi se zaključiti da su isti biološki procesi odgovorni za variranje na oba analizirana nivoa variranja (Klingenberg i McIntyre 1998; Klingenberg i sar. 2002, 2012).

Utvrđene promene oblika cvetnih organa koje se odnose na simetričnu komponentu fenotipskog variranja mogu da budu uslovljene kako genotipom tako i uticajima sredinskih faktora (Klingenberg i sar. 2012). Kako se cvet irisa sastoji od tri "polinaciona tunela", koga formiraju fol i grana tučka, utvrđeni obrasci variranja u obliku ovih cvetnih organa, pogotovo onih vezanih za njihove proksimalne delove, mogu da utiču na veličinu i oblik ulaza u polinacioni tunel. Na taj način, variranje oblika fola i grane tučka može da ima direktne posledice na učestalost kojom će oprašivači posećivati cvetove *I. pumila*, a time i na reproduktivni uspeh biljke (Møller 1995). Poznato je da oprašivači imaju

preferencije ka određenoj veličini i obliku cvetnih elemenata (Lunau i Maier 1995; Mauer i Rowley 1999; Chess i sar. 2008), što ukazuje da bi u slučaju *I. pumila* obrasci variranja cvetnih organa mogli da imaju presudnu ulogu u privlačenju oprašivača sa većih distanci (standard), kao i u uspešnosti oprašivanja (fol i grana tučka).

Promene oblika koje su vezane za asimetričnu komponentu uzrokovane su direkcionom i fluktuirajućom asimetrijom (Klingenberg 2015). U skladu sa literaturnim podacima, ispoljavanje direkcione asimetrije genetički je uslovljeno, dok je fluktuirajuća asimetrija posledica razvojnog šuma koji se obično pojavljuje na jednoj od različitih strana bilateralno simetričnih struktura, odnosno, u slučaju *I. pumila*, pojedinačnih replika cvetnih organa (Palmer i Strobeck 1986; Klingenberg i McIntyre 1998; Klingenberg 2003, 2015; Merlin 2015). Dakle, uzroci fluktuirajuće asimetrije potpuno su negenetičke prirode (Klingenberg i sar. 2012). Štaviše, najnoviji eksperimentalni rezultati su potvrdili teorijsku pretpostavku da FA nije samo rezultat razvojne nestabilnosti, koja nastaje zbog stohastičke prirode ćelijskih procesa, nego i fenotipske plastičnosti, kao odgovora razvojnog sistema na variranje faktora mikrosredine koje se dešavaju tokom procesa razvića (Freeman i sar. 2003; Breuker i sar. 2006; Drake i Klingenberg 2010; Klingenberg i sar. 2012; Tucić i sar. 2018).

U ovim istraživanjima je utvrđeno da je alometrija imala statistički značajan uticaj na variranje oblika analiziranih cvetnih organa *I. pumila* (Tabela 4, Slika 4). Alometrijske promene oblika fola, standarda i grane tučka su se podudarale sa obrascima variranja oblika koji su karakteristični za PC1 osu (Slike 1-4). Pošto alometrija predstavlja jedan od najvažnijih faktora koji doprinose morfološkoj integraciji (Klingenberg 2009) i budući da je njen uticaj na oblik utvrđen za sva tri analizirana cvetna organa, naredna istraživanja bi trebalo da daju odgovor na pitanje da li i koliko međusobna zavisnost veličine i oblika cvetnih elemenata imaju uticaja na morfološku integraciju cveta kao celine.

5.2 Kada životna sredina oblikuje fenotip: plastičnost kao komponenta fluktuirajuće asimetrije

Prema hipotezi da fenotipska plastičnost kao odgovor na različitost sredinskih uslova doprinosi fluktuirajućoj asimetriji kod sesilnih organizama, očekuje se da će se biljne strukture izložene gradijentu nekog direkcionog sredinskog faktora, kao što je sunčevo zračenje, međusobno fenotipski razlikovati zbog različite orijentacije u odnosu na izvor zračenja. U skladu sa ovim očekivanjem, rezultati naših istraživanja su potvrdili da su replike istih cvetnih organa *I. pumila*, koje su pripadale jednoj od šest orijentacija: 0°, 60°, 120°, 180°, 240° i 300°, imale ne samo različit oblik, već i stepen asimetrije. Uticaj gradijenta ambijentalne svetlosti na oblik sva tri cvetna organa bio je generalno vrlo mali, ali statistički značajan, i kretao se u rasponu od 1,6% do 12,8% od veličine FA u odgovarajućoj komponenti variranja. Zanimljivo je, međutim, da mikrosredinski gradijent nije uticao na promenu veličine cvetnih organa različitih orijentacija.

U odnosu na simetričnu komponentu variranja oblika sva tri cvetna organa, glavna razlika između orijentacija bilo je variranje relativne dužine nasuprot širine njihovih replika. Variranje oblika u odnosu na orijentaciju bilo je statistički značajno za fol i standard, ali ne i za granu tučka (Slike 5A, 6A i 7A). Štaviše, na CVA plotovima za simetričnu komponentu nije se mogao uočiti obrazac promene oblika koji bi ukazivao na uticaj orijentacije analiziranih organa, bilo da pripadaju istom ili različitim cvetovima (Slike 5C, 6C i 7C).

Nasuprot simetričnoj komponenti, promene oblika cvetnih organa koje su se odnosile na asimetričnu komponentu pokazivale su vrlo specifičan obrazac (Slike 5B, 6B i 7B). Prosečni oblici sva tri tipa cvetnih organa koji su pripadali jednoj od šest orijentacija bili su raspoređeni u zatvoren krug na CVA plotovima, počinjući i završavajući se orijentacijom 0°. Iako oni nisu formirali savršeni heksagon, veza između asimetrije cvetnih organa i njihove pozicije u cvetu vrlo je jasno uočljiva. Ovakav obrazac promene oblika mogao bi da se objasni načinom “pakovanja” cvetnih organa unutar pupoljka, koji se obmotavaju jedan

preko drugoga u istom smeru, što je karakteristično za sve vrste roda *Iris* (Schoute 1935).

Izloženost biljaka nekom direkcionom sredinskom faktoru trebalo bi da indukuje fenotipske odgovore koji će biti slični za sve. Međutim, ukoliko biljke reaguju fenotipskom plastičnošću pojedinačnih modula na određeni sredinski faktor, neophodno je odrediti orijentaciju replika istih cvetnih organa u odnosu na strane sveta i utvrditi da li postoje sistematske razlike u njihovom obliku zavisno od orijentacije. Ukoliko postoje, razlike između prosečnih oblika različite orijentacije u obe komponente variranja - simetričnoj i asimetričnoj – svakog pojedinačnog cvetnog organa ukazuju na sistematsku asimetriju cveta kao celine (Klingenberg 2015). Saglasno tome, utvrđene sistematske razlike u prosečnim oblicima cvetnih organa različitih orijentacija kod *I. pumila* predstavljaju direkcione asimetrije. Ova studija je pokazala da se prosečni oblici kako simetrične, tako i asimetrične komponente razlikuju u zavisnosti od orijentacije u cvetu koju zauzimaju. Na osnovu ovog rezultata, može se izvesti zaključak o prisustvu direkcione asimetrije cveta u celini, jer ona može biti predstavljena razlikama između prosečnih oblika ponovljivih delova cveta (Klingenberg 2015).

Posebnost ovih istraživanja, a u odnosu na druga koja su se bavila asimetrijom biljaka, predstavlja to što je praćena orijentacija cvetnih delova u odnosu na strane sveta. U dosadašnjim istraživanjima asimetrija je bila definisana u odnosu na arhitekturu cveta, kao što su adaksijalne i abaksijalne ose cveta (Savriama i sar. 2012; Baranov i Gavrikov 2013; Martinez i sar. 2016; Gardner i sar. 2016) ili između leve i desne strane lista (Pélabon i sar. 2006; Chitwood i sar. 2012), pri čemu nije uzimana u obzir i geografska orijentacija biljnih organa. Sasvim je izvesno da je ovaj tip asimetrije u navedenim istraživanjima uključen kao komponenta FA. S druge strane, ovo istraživanje ukazuje na postojanje direkcione asimetrije cveta *I. pumila* i u odnosu na njegovu arhitekturu, imajući u vidu da je raspored cvetnih delova u odnosu na spatu cveta stalan (Pande i Singh 1981). Ipak, veličina takve direkcione asimetrije vrlo je mala. Pošto su saksije sa biljkama *I. pumila* u eksperimentalnoj bašti postavljene po principu slučajnosti u odnosu na

orijentaciju, nikakva unutrašnja asimetrija ne bi mogla da bude uzrok uočenih sistematskih razlika između prosečnih oblika cvetnih organa različite orijentacije.

Iz svega navedenog možemo da zaključimo da direkciona asimetrija u odnosu na prostornu orijentaciju predstavlja plastični odgovor na određeni direkcionu sredinski faktor. Pošto takav sredinski faktor utiče na isti način na veliki broj cvetova istovremeno, moguće ga je otkriti statističkim metodama. Sve to nam je omogućilo da empirijski pokažemo – po prvi put – da fenotipska plastičnost kao odgovor na heterogenost faktora životne sredine, zaista doprinosi morfološkoj asimetriji kod biljnih organizama (Palmer i Strobeck 1986; Nijhout i Davidowitz 2003; Klingenberg i sar. 2012; Savriama i sar. 2012; Klingenberg 2015).

Sunčevo zračenje je sredinski faktor koji ima izuzetno važan uticaj na fiziološke procese biljaka (Larcher 2003; Taiz i Zeiger 2010). Fenotipska plastičnost kao odgovor na različit intenzitet svetlosti pokazana je kod izdanaka *Picea abies* L. (Kubínová i sar. 2018), kao i kod cvetnih organa ove vrste (Weinig 2002; Brock i Weinig 2007; Kurepin i sar. 2016). Jedan od faktora koji takođe može da utiče na pojavu plastičnih odgovora cvetnih organa jeste geomagnetizam (Maffei 2014). Isto tako, pokazano je da gravitacija može da utičena asimetriju rasporeda krunicnih listića kod nekih vrsta roda *Saxifraga* (Koethe i sar. 2017).

Činjenica da fenotipska plastičnost može da utiče na fluktuirajuću asimetriju ima veliki značaj za brojna istraživanja koja koriste FA kao indikator nestabilnosti razvića za merenje efekata sredinskog stresa (npr., zagađenost vazduha ili nepovoljni uslovi za rast) (Kozlov i sar. 1996; Cornelissen i Stiling 2010; Raz i sar. 2011; Baranov i Gavrikov 2013), procenu kvaliteta biljaka u interakcijama sa herbivorama i oprašivačima (Møller 1995; Cornelissen i Stiling 2005; Anton i sar. 2013; Frey i Bukoski 2014; Alves-Silva i Del-Claro 2016), ili uticaja genetičkih faktora kao što su hibridizacija ili inbriding (Siikamäki i Lammi 1998; Waldmann 2001; Rao i sar. 2002; Albarrán-Lara i sar. 2010; Vaupel i Matthies 2012; Helsen i Van Dongen 2016; Sandner i Matthies 2017). Pošto FA

može da bude rezultat ne samo razvojne nestabilnosti, nego i plastičnosti, zbog heterogenosti neposrednog okruženja različitih delova biljke, tvrdnja o načinu delovanja nekog sredinskog faktora na FA može da bude dvojaka. Na primer, rezultati istraživanja koji su pokazali da je nivo FA viši kod cvetova ili listova biljaka izloženih suncu nego kod onih iz senke na istom stablu (Coward i Graham 1999; Perfectti i Camacho 1999) mogu da se objasne na dva alternativna načina. Izloženost punom intenzitetu sunčeve svetlosti može da dovede do povećavanja razvojne nestabilnosti, a time i FA. Isto tako, povećan nivo FA može prosteći iz većeg plastičnog odgovora na eksponiranim delovima krošnje gde su izraženije razlike između svetlosti i senke. Takođe, razlike nivoa FA kod biljaka koje naseljavaju mikrosredinski različita staništa, mogu da budu posledica veće nestabilnosti razvića u datom staništu ili izraženije mikrosredinske heterogenosti u jednom nego u drugom staništu. Na sličan način mogu da se interpretiraju rezultati istraživanja koji su ukazali da je veličina FA viša u otvorenim nego u zasenčenim staništima.

U ovom trenutku, najbitniji zaključak koji proizilazi iz ovih istraživanja je neophodnost da se prilikom budućih ekološko-razvojnih istraživanja uzme u obzir argument da fluktuirajuća asimetrija kod biljaka i drugih sesilnih organizama potiče od kombinovanog delovanja razvojne nestabilnosti i fenotipske plastičnosti, indukovane heterogenošću životne sredine.

5.3 Šta se krije iza duge? Morfološki diverzitet cvetnih organa *I. pumila* polimorfni u odnosu na boju

Jedan od ciljeva ovih istraživanja je bilo je da se utvrdi da li se fenotipovi *I. pumila*, različiti u odnosu na boju cveta (lila, plava, tamno lila, tamno plava i žuta), međusobno razlikuju u veličini i obliku tri cvetna organa: fola, standarda i grane tučka. Analizom varijanse utvrđeno je da je prosečna veličina sva tri cvetna organa različita između cvetova različitih boja (Tabele 11 i 12). Rezultati Prokrustove ANOVA-e su takođe pokazali da se fenotipovi različitih boja cveta razlikuju i u prosečnom obliku cvetnih organa (Tabele 13 A-C i 14, Slike 8-10).

Morfološki diverzitet cvetnih organa različitih boja cveta, utvrđen u eksperimentalnoj populaciji *I. pumila*, najverovatnije je posledica delovanja različitih biotičkih i/ili abiotičkih faktora koji utiču na održavanje polimorfizma u prirodnim staništima ove biljne vrste. Jedna od verovatnih mogućnosti je preferencija oprašivača prema određenom fenotipu boje (Glover 2014). Postoje studije čiji rezultati pokazuju da bumbari, inače dominantni oprašivači irisa, imaju urođenu preferenciju prema biljkama čija je boja cveta u opsegu talasnih dužina plave boje (Lunau i Maier 1995; Smithson i MacNair 1996; Dyer i sar. 2016), što je osobina čiji se obrazac teško ili uopšte ne može promeniti (Gumbert 2000). Skorija istraživanja na vrsti *I. pumila* otkrila su pozitivnu korelaciju između koncentracije biljnih pigmenata i ženske reproduktivne adaptivne vrednosti kod plavih cvetova ove biljke, što je takođe u saglasnosti sa pretpostavkom o urođenoj preferenciji oprašivača prema određenoj boji cveta (Souto-Vilarós i sar. 2018). Uzimajući u obzir da *I. pumila*, slično drugim deceptivnim vrstama (vrste koje ne nude nagradu oprašivačima u vidu nektara), rano cveta, a period cvetanja traje oko dve nedelje, očekuje se da će bumbari bez iskustva u oprašivanju, ali sa urođenom sklonošću prema plavoj boji cveta predstavljati dominantni selekcionni pritisak. U mnogim istraživanjima je potvrđeno je da su oprašivači selekcionni agenti osobina cveta koje utiču na njihovo privlačenje (Jones i Reithel 2001; Irwin i Strauss 2004; Caruso i sar. 2010; Hirota i sar. 2013; Sletvold i sar. 2016), mada ima i onih sa suprotnim rezultatima (Parachnowitsch i Kessler 2010; Campbell i sar. 2012;

Parachnowitsch i sar. 2012; Lavi i Sapir 2015). Vrlo je verovatno da su oprašivači jedan od mnogih faktora koji utiču na održavanje polimorfizma boje i morfološkog diverziteta cveta kod *I. pumila*.

Naši rezultati su pokazali da je koeficijent varijacije veličine grane tučka – cvetnog organa direktno uključenog u oprašivanje, manji u odnosu na koeficijente varijacije fola i standarda, odnosno, organa koji imaju ulogu u privlačenju oprašivača (Tabela 10). Imajući u vidu da bi cvet i oprašivač trebalo da budu komplementarni u odnosu na veličinu i oblik (Harder i Barrett 1996), davanje i primanje polena manje je verovatno za one cvetove čije vrednosti morfoloških osobina u mnogome odstupaju od srednje vrednosti u populaciji (Fenster 1991). U tom smislu, fizičko poklapanje delova cveta i oprašivača važnije je kod organa koji su direktno uključeni u proces oprašivanja u odnosu na one uključene u privlačenje oprašivača (Ushimaru i sar. 2003). Rezultati ove studije u saglasnosti su sa literaturnim podacima koji pokazuju da fertilni organi cveta manje variraju u dužini u odnosu na variranje organa koji su uključeni u privlačenje oprašivača (Mazer i Hultgard 1993; Worley i Barrett 2000; Ushimaru i Nakata 2001). U tom kontekstu, potpuno je očekivano da variranje u veličini fertilnih organa bude u uskom opsegu kod cvetova specijalizovanih za jednu vrstu, budući da odgovarajuća veličina cveta uvećava šanse za efikasno oprašivanje (Fenster 1991; Conner i Via 1993; Wolfe i Krstolic 1999; Ushimaru i Nakata 2001; Ushimaru i sar. 2003).

Selekcija koju vrše oprašivači jeste mehanizam koji utiče na fenotipsko variranje cvetnih organa u prirodnim populacijama *I. pumila*. Različite vrednosti koeficijenta variranja u veličini cvetnih organa različitih boja ukazuju da su oprašivači ove biljne vrste verovatno insekti sa različitom sklonošću u odnosu na, istovremeno, i veličinu i boju cveta (Waser i Price 1981).

Rezultati novijih istraživanja na polimorfnoj vrsti *I. lutescens* potvrdili su pretpostavku da, osim prirodne selekcije, neutralni evolucionari mehanizmi (npr. genetički drift) mogu da utiču na učestalost određene boje cveta u populaciji (Wang i sar. 2016). Takođe, pošto biljni pigmenti, pored toga što daju boju cvetu, imaju važnu ulogu u zaštiti protiv sredinskog stresa (Chalker-Scott 1999;

Winkel-Shirley 2002; Coberly i Rausher 2008; Tucić i sar. 2009; Arista i sar. 2013; Landi i sar. 2015), moguće je da lokalno variranje u fizičkim karakteristikama staništa utiče na njihovu koncentraciju. U tom kontekstu, pokazano je da su pigmenti koji pripadaju grupi flavonoida efikasni u zaštiti biljaka stresiranih sušom i visokim intenzitetom svetlosti, te na taj način utiču na održavanje polimorfizma boje cveta u različitim sredinskim uslovima (Tattini i sar. 2004; Tanaka i sar. 2008). Isto tako, jedan od dokaza za tvrdnju da abiotički faktori mogu da utiču na održavanje polimorfizma boje cveta jeste studija na prirodnim populacijama *I. pumila* (Tucić i sar. 1989). U studiji je pokazano da variranje klimatskih faktora koji doprinose heterogenosti sredine (npr., temperatura) mogu da budu uzrok koegzistiranja različitih varijanti boja u prirodnim populacijama (Tucić i sar. 1989).

Pored veličine, cvetni organi *I. pumila* različitih boja imaju karakteristične oblike (Slike 8, 9 i 10). Smatra se da je oblik cveta jedan od važnih vizuelnih signala za privlačenje oprašivača (Lehrer i sar. 1995; Møller 1995; Rodríguez i sar. 2004; Gong i Huang 2009). Gómez i Perfectti (2010) su otkrili da oprašivači vrste *Eryzimum mediohispanicum* imaju sposobnost da razlikuju cvetove u odnosu na oblik, pri čemu su različiti oprašivači preferirali cvetove drugačijih oblika. Jedan od mogućih razloga jeste taj što je oblik cveta za oprašivače indikator količine i kvaliteta nektara ili polena (Smithson i MacNair 1997; Neal i sar. 1998; Makino i Sakai 2007). Budući da su potraga za hranom i letenje energetski skupe aktivnosti za insekte (Heinrich 2013), oprašivačima bi, u energetskom smislu, svakako odgovaralo da posećuju cvetove sa oblikom cvetnih organa koji im omogućuje da na njima stabilno stoje dok uzimaju hranu (Gómez i Perfectti 2010).

Kod *I. pumila*, žuti cvetni organi statistički se značajno razlikuju u veličini i obliku u odnosu na organe drugih boja. Cvetni organi žute boje su relativno manji od svih drugih analiziranih boja (lila, plave, tamno lila i tamno plave). Folovi i standardi žutih cvetova su širi i duži, a grane tučkova uže i kraće u odnosu na odgovarajuće organe drugih boja (Slike 8, 9 i 10). Budući da je žuta boja cveta fenotip koji se može smatrati retkim u populaciji *I. pumila*, jedan od predloženih mehanizama za održavanje polimorfizma boje kod deceptivnih

vrsta jeste negativna selekcija zavisna od učestalosti (Smithson i MacNair 1997; Ferdy i sar. 1998; Kagawa i Takimoto 2016). Iako je to jedan od teorijski mogućih mehanizama, studije na vrsti *I. lutescens* (Imbert i sar. 2014), ali i na drugim deceptivnim vrstama (Aragón i Ackerman 2004; Jersáková i sar. 2006), nisu uspele da potvrde delovanje ovog tipa selekcije. U ovim istraživanjima analizirano je pet najčešćih varijanti boje cveta, iako je variranje boje cveta u prirodnim populacijama *I. pumila* kontinuirano. Imajući to u vidu, a u skladu sa novijim literaturnim podacima, kod biljnih vrsta koje ne nagrađuju oprašivače nektarom ili polenom, održavanje kontinuiranog variranja boje i morfoloških razlika može da bude rezultat selekcije od strane više oprašivača koji imaju različite preferencije ka određenom fenotipu (Kagawa i Takimoto 2016). Na osnovu naših rezultata i podataka publikovanih za druge vrste roda *Iris*, opravdano je zaključiti da je boja cveta evoluciono promenljiva osobina, podložna različitim selekcionim pritiscima (Tucić i sar. 1989; Imbert i sar. 2014; Lavi i Sapir 2015; Pellegrino 2015; Wang i sar. 2016; Souto-Vilarós i sar. 2018).

5.4 Da li je važno biti privlačan da bi bio izabran? Preferencija oprašivača prema morfologiji cveta kod *I. pumila*

Budući da se kod entimofilnih biljaka evolucija oblika i veličine cveta odvija u pravcu što uspešnijeg prenošenja polena oprašivačima (Galen i Newport 1987), ova studija imala je za cilj da rasvetli koje morfološke osobine utiču na ponašanje oprašivača, odnosno, da li oni pokazuju posebnu preferenciju ka određenim karakteristikama cveta. Dobijeni rezultati su ukazali da postoji statistički značajna razlika u visini cveta, kao i u veličini fola i standarda između oprašenih i neoprašenih cvetova (Tabela 15). Istovremeno je zapaženo da su razlike u veličini između oprašenih i neoprašenih cvetova prisutne samo kod organa koji imaju ulogu u privlačenju oprašivača, ali ne i kod onih od kojih zavisi uspešnost oprašivanja, kao što je grana tučka (Tabela 15). Ovi rezultati su u skladu sa literaturnim podacima koji ukazuju da stopa posećenosti cveta od strane oprašivača raste sa povećavanjem veličine cveta (Willson i Schemske 1980; Stanton 1987; Firmage i Cole 1988; Murren i Ellison 1996). Imajući u vidu da cvet *I. pumila* ne sadrži nektar i da, istovremeno, njegovo oprašivanje zavisi isključivo od aktivnosti i ponašanja oprašivača (Mathew 1981), osobine cveta kao što su veličina, oblik i boja trebalo bi da evoluiraju tako da svaku, inače retku šansu za oprašivanje, učine uspešnom (Neiland i Wilcock 1998; Johnson i Nilsson 1999). Ovim rezultatima je potvrđeno da oprašivači češće posećuju uočljivije biljke sa većim folovima i standardima.

Analizom selekcionih gradijenata je utvrđeno da se fol i grana tučka kod cvetova *I. pumila* nalaze pod delovanjem direkcione selekcije, ali suprotnog smera (Tabela 17). Selektivnu prednost pokazuju cvetovi veće površine fola, a manje grane tučka, u odnosu na one sa alternativnim morfološkim osobinama. Pored veličine, i oblik grana tučka uticao je na izbor oprašivača (Tabela 18), za razliku od oblika fola i standarda. Dakle, moglo bi se zaključiti da su oprašivačima bili privlačniji cvetovi sa relativno užim granama tučka (Slika 11). Veći folovi kod cvetova *I. pumila* efikasnije su privlačili oprašivače koji se nalaze u neposrednoj blizini, ali isto tako su komfornija i sigurnija površina za sletanje i

ulaz u polinacioni tunel. Brojne studije na različitim model sistemima ukazale su na pozitivne efekte direkcione selekcije od strane oprašivača na veličinu cveta i cvetnih delova (Harder i Johnson 2009; Lavi i Sapir 2015). Nasuprot tome, rezultat prema kom cvetovi sa manjim i užim žigom tučka kod *I. pumila* imaju veću adaptivnu vrednost nije u skladu sa literaturnim podacima (Cruden i Miller-Ward 1981; Yang i sar. 2002, 2004; Sanchez i sar. 2004). Ulaganje resursa biljke u rast fola, koji ima izuzetno važnu ulogu za sletanje insekata prilikom potrage za hranom, moglo bi da ograniči rast tučka do optimalne veličine pogodne za primanje polena (Caruso 2004; Muchhala 2007). Sa druge strane, grane tučka manje površine mogu da obezbede veću zasićenost (gustinu) žiga tučka polenom, što se u određenim literaturnim podacima navodi kao prednost. Naime, količina primljenog polena može da ima pozitivne efekte na broj formiranih semena i plodova, kao i na njihov kvalitet (Zhang i sar. 2010; Montgomery i Rathcke 2012). U skladu sa tim, izgledno je da se evolucija polinacionog tunela kod cveta *I. pumila* odvijala u pravcu ostvarivanja strategije koja podrazumeva ulaganje resursa u obe faze oprašivanja (privlačenje polinatora i oplodnja) čineći ih istovremeno efikasnijim i uspešnijim.

U ovim istraživanjima nije utvrđena asocijacija između apsorpcije antocijana i preferencije oprašivača. Do sličnih rezultata došli su Lavi i Sapir (2015) u studiji na vrsti *I. oncocyclus*. Prema ovim autorima, visoka koncentracija antocijana ima ulogu u zaštiti od herbivora (Lavi i Sapir 2015).

Rezultati geometrijsko-morfološke analize oblika oprašenih i neoprašenih cvetnih organa ukazali su na postojanje statistički značajnih razlike u asimetriji fola i standarda, dakle, organa koji imaju ulogu u privlačenju oprašivača (Tabela 15, Slika 9). Međutim, simetričnost oprašenih i neoprašenih cvetova nije se razlikovala u pogledu boje, iako je boja cveta jedan od važnih vizuelnih signala za prilačenje oprašivača. Simetrija cveta bila je predmet mnogobrojnih studija koje su se bavile preferencijom oprašivača u odnosu na ovu osobinu (Willson i Schemske 1980; Møller 1995, 1998; West i Laverty 1998; Gómez i sar. 2006, 2008, 2014; Yoshioka i sar. 2007; Gómez i Perfectti 2010; Savriama i sar. 2012). Neki od rezultata nedvosmisleno ukazuju da oprašivači biraju simetričnije cvetne organe, jer postoji pozitivna korelacija između nivoa njihove

simetrije i količine i kvaliteta nagrade (polen/nektar) (Møller 1995, 1998). Rezultati ove disertacije nisu u skladu sa navedenim literaturnim podacima, imajući u vidu zapažanje da su fol i standard značajno asimetričniji kod oprašenih cvetova (Tabela 20, Slika 12). Kako se pokazalo da je veličina, a ne oblik cvetnih organa, presudna za privlačenje oprašivača, fluktuirajuća asimetrija njihovog oblika i različite vrednosti FA indeksa mogli bi da se interpretiraju kao rezultat interakcije između procesa razvića i abiotičkih faktora životne sredine.

6 Zaključci

Na osnovu analiza obrazaca morfološkog variranja cvetnih organa *Iris pumila* u funkcionalnom, ekološkom i evolucionom kontekstu došli smo do sledećih zaključaka:

- Stepfen fenotipskog variranja oblika i veličine cvetnih organa *I. pumila* zavisi od funkcije koju oni vrše u procesu oprašivanja. Opseg variranja organa uključenih u prenos polena, kao što je grana tučka, znatno je uži od opsega variranja fola i standarda, čija je uloga privlačenje oprašivača.
- Više od 80% ukupne fenotipske varijanse sva tri cvetna organa sadržano je u prvih nekoliko glavnih komponenti (PC) - kako u odnosu na simetričnu tako i na asimetričnu komponentu variranja.
- Alometrija statistički značajno utiče na veličinu variranja simetrične komponente oblika fola i grane tučka, ali ne i standarda.
- Asimetrična komponenta fenotipskog variranja oblika cvetnih organa uključuje dva tipa asimetrije: fluktuirajuću (FA) i direkcionu (DI). Fluktuirajuća asimetrija je dominantna komponenta asimetričnog variranja oblika fola i standarda, dok je udeo FA u variranju grane tučka neznan. Uticaj direkcionne asimetrije na ukupno variranje oblika je statistički signifikantan za sva tri cvetna organa *I. pumila*, ali je procentualno vrlo nizak.
- Prosečna veličina centroida replika fola, standarda i grane tučka je slična, bez obzira na njihovu orijentaciju (0° , 60° , 120° , 180° , 240° i 360°) u odnosu na stranu sveta.

- Prosečni oblici cvetnih organa različite orijentacije međusobno se statistički značajno razlikuju, posebno u asimetričnoj komponenti variranja. Uticaj orijentacije na variranje oblika cvetnih organa je vrlo nizak, i iznosi od 1,6% do 12,8% FA u odgovarajućim komponentama variranja.
- Glavna karakteristika simetrične komponente variranja oblika sva tri cvetna organa uslovljenog orijentacijom je promena širine u odnosu na dužinu ovih organa.
- Obrazac asimetrične komponente variranja oblika sva tri cvetna organa karakteriše simetrija u obliku vetrenjače, pri čemu su proseci svih šest orijentacija raspoređenih na CVA plotovima u obliku prstena, što se podudara sa njihovim prostornim rasporedom unutar cveta.
- Sistematske razlike između prosečnih oblika ponovljenih delova cveta različite orijentacije predstavljaju direkcionu asimetriju nastalu kao plastični odgovor na neki direkcionu sredinski faktor, što nedvosmisleno ukazuje da je FA kod sesilnih organizama rezultat kombinovanog delovanja nestabilnosti razvića i fenotipske plastičnosti.
- Cvetni organi različite boje (lila, plava, tamno lila, tamno plava i žuta) statistički se značajno razlikuju u odnosu na oblik i veličinu, pri čemu su folovi i standardi žutih cvetova širi, a grane tučka uže u odnosu na odgovarajuće organe drugih boja.
- Veličina cvetnih organa oprašenih cvetova *I. pumila* po pravilu je bila veća u odnosu na neoprašene, ukazujući na prisustvo direkcionu fenotipske selekcije koju vrše oprašivači. Vrednosti linearnih selekcionih gradijenata za veličinu cvetnih organa bili su statistički značajni, i imali su pozitivnu vrednost za fol, a negativnu za granu tučka, što je u saglasnosti sa preferencijom oprašivača.

7. Tabele

Tabela 1. Detaljan opis položaja specifičnih tačaka na cvetnim organima *Iris pumila*.

| Položaj specifičnih tačaka | |
|----------------------------|---|
| FOL | |
| 1 | Kraj centralnog nerva |
| 2 | Vrh centralnog nerva |
| 3 | Prvo račvanje centralnog nerva od vrha fola |
| 4 | Kraj brade |
| 5 | Kraj levog perifernog nerva |
| 6 | Kraj desnog perifernog nerva |
| 7 | Levi donji rub |
| 8 | Desni donji rub |
| 9 | Leva margina u nivou tačke 4 |
| 10 | Desna margina u nivou tačke 4 |
| 11 | Prva trećina dužine između tačaka 9 i 7 |
| 12 | Prva trećina dužine između tačaka 10 i 8 |
| 13 | Druga trećina dužine između tačaka 9 i 7 |
| 14 | Druga trećina dužine između tačaka 10 i 8 |
| 15 | Prva trećina dužine između tačaka 9 i 2 |
| 16 | Prva trećina dužine između tačaka 10 i 2 |
| 17 | Druga trećina dužine između tačaka 9 i 2 |
| 18 | Druga trećina dužine između tačaka 10 i 2 |

Tabela 1. Nastavak.

| Položaj specifičnih tačaka | |
|----------------------------|---|
| STANDARD | |
| 1 | Kraj centralnog nerva |
| 2 | Vrh centralnog nerva |
| 3 | Kraj levog perifernog nerva |
| 4 | Kraj desnog perifernog nerva |
| 5 | Levi donji rub |
| 6 | Desni donji rub |
| 7 | Levi nabor, mesto prelaska drške u ploču |
| 8 | Desni nabor, mesto prelaska drške u ploču |
| 9 | Najširi deo leve strane |
| 10 | Najširi deo desne strane |
| 11 | Polovina dužine između tačaka 9 i 7 |
| 12 | Polovina dužine između tačaka 8 i 10 |
| 13 | Polovina dužine između tačaka 9 i 2 |
| 14 | Polovina dužine između tačaka 9 i 2 |
| 15 | Polovina dužine između tačaka 9 i 13 |
| 16 | Polovina dužine između tačaka 10 i 14 |
| 17 | Polovina dužine između tačaka 13 i 2 |
| 18 | Polovina dužine između tačaka 14 i 2 |
| 19 | Prvo račvanje centralnog nerva od vrha |

Tabela 1. Nastavak.

| Položaj specifičnih tačaka | |
|----------------------------|--|
| GRANA TUČKA | |
| 1 | Polovina dužine između krajeva dva centralna nerva |
| 2 | Središte gornje margine žiga |
| 3 | Kraj levog centralnog nerva |
| 4 | Kraj desnog centralnog nerva |
| 5 | Levi donji rub |
| 6 | Desni donji rub |
| 7 | Presek prvog levog perifernog nerva sa spoljašnje strane i donje margine žiga |
| 8 | Presek prvog desnog perifernog nerva sa spoljašnje strane i donje margine žiga |
| 9 | Presek prvog levog perifernog nerva sa spoljašnje strane i gornje margine žiga |
| 10 | Presek prvog desnog perifernog nerva sa spoljašnje strane i gornje margine žiga |
| 11 | Presek drugog levog perifernog nerva sa spoljašnje strane i gornje margine žiga |
| 12 | Presek drugog desnog perifernog nerva sa spoljašnje strane i gornje margine žiga |
| 13 | Presek trećeg levog perifernog nerva sa unutrašnje strane i gornje margine žiga |
| 14 | Presek trećeg desnog perifernog nerva sa unutrašnje strane i gornje margine žiga |
| 15 | Presek drugog levog perifernog nerva sa unutrašnje strane i gornje margine žiga |
| 16 | Presek drugog desnog perifernog nerva sa unutrašnje strane i gornje margine žiga |
| 17 | Presek prvog levog perifernog nerva sa unutrašnje strane i gornje margine žiga |
| 18 | Presek prvog desnog perifernog nerva sa unutrašnje strane i gornje margine žiga |

Tabela 2. Intenzitet svetlosti (PAR) izmeren u eksperimentalnoj bašti tokom uzimanja uzoraka u aprilu 2014. godine vertikalno, u odnosu na podlogu, i horizontalno, pod različitim uglovima u odnosu na Sunce.
 \bar{X} - srednja vrednost.

| Vertikalno | PAR ($\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$) | | |
|------------|--|---------------|--------------|
| | Horizontalno | | |
| | 0° | 120° | 240° |
| 1087,0 | 1126,5 | 136,0 | 92,5 |
| 1113,0 | 1122,0 | 158,5 | 118,0 |
| 1045,5 | 1070,0 | 142,5 | 135,0 |
| 1147,5 | 1111,1 | 136,0 | 107,0 |
| 1044,5 | 1050,5 | 139,0 | 135,5 |
| 1263,0 | 1167,0 | 162,0 | 151,5 |
| 1191,5 | 1163,5 | 177,5 | 145,0 |
| 1254,5 | 1341,0 | 185,5 | 271,0 |
| 1310,5 | 1480,0 | 180,5 | 137,5 |
| 1280,5 | 1156,5 | 179,5 | 149,5 |
| 1232,5 | 1253,0 | 189,0 | 151,0 |
| 1270,0 | 1317,5 | 177,0 | 129,5 |
| 1222,5 | 1161,5 | 179,0 | 150,0 |
| 1055,5 | 1220,0 | 188,0 | 129,0 |
| 1149,0 | 1418,5 | 196,0 | 157,5 |
| 1281,5 | 1185,5 | 171,5 | 147,0 |
| 1220,0 | 1138,0 | 187,5 | 107,5 |
| 1033,0 | 1225,0 | 158,0 | 101,5 |
| 1192,0 | 1223,0 | 151,5 | 135,5 |
| 1071,5 | 1221,0 | 162,5 | 151,5 |
| 1114,0 | 1156,0 | 181,5 | 123,0 |
| 1190,0 | 1106,5 | 157,5 | 149,0 |
| 1110,5 | 1229,0 | 149,0 | 141,5 |
| 1197,5 | 1210,0 | 146,5 | 143,0 |
| 1139,5 | 1139,5 | 144,0 | 126,5 |
| 763,5 | 692,0 | 118,5 | 83,5 |
| \bar{X} | 1153,1 | 1180,2 | 137,6 |

Tabela 3A. Analiza glavnih komponenti (PCA) za simetričnu i asimetričnu varijansu fola. λ - sopstvena vrednost; proporcija%- procentualni udeo svake komponente (PC) u ukupnoj varijansi.

| | Simetrična komponenta | | | Asimetrična komponenta | | |
|--------------------------------|-------------------------|-------------|--------------|-------------------------|-------------|--------------|
| | λ (10^{-5}) | Proporcija% | Kumulativno% | λ (10^{-5}) | Proporcija% | Kumulativno% |
| PC1 | 143,344 | 43,448 | 43,448 | 10,767 | 41,697 | 41,697 |
| PC2 | 97,492 | 29,550 | 72,998 | 4,802 | 18,596 | 60,293 |
| PC3 | 45,156 | 13,687 | 86,685 | 3,250 | 12,586 | 72,879 |
| PC4 | 22,983 | 6,966 | 93,651 | 1,620 | 6,276 | 79,154 |
| PC5 | 6,792 | 2,059 | 95,709 | 1,239 | 4,798 | 83,952 |
| PC6 | 4,241 | 1,285 | 96,995 | 1,030 | 3,989 | 87,941 |
| PC7 | 2,544 | 0,771 | 97,766 | 0,893 | 3,456 | 91,398 |
| PC8 | 2,116 | 0,641 | 98,407 | 0,782 | 3,030 | 94,428 |
| PC9 | 1,678 | 0,509 | 98,916 | 0,435 | 1,686 | 96,114 |
| PC10 | 1,493 | 0,453 | 99,368 | 0,351 | 1,358 | 97,472 |
| PC11 | 0,822 | 0,249 | 99,618 | 0,258 | 1,000 | 98,472 |
| PC12 | 0,732 | 0,222 | 99,840 | 0,175 | 0,678 | 99,150 |
| PC13 | 0,411 | 0,125 | 99,964 | 0,080 | 0,309 | 99,459 |
| PC14 | 0,053 | 0,016 | 99,980 | 0,068 | 0,263 | 99,721 |
| PC15 | 0,046 | 0,014 | 99,994 | 0,051 | 0,199 | 99,920 |
| PC16 | 0,019 | 0,006 | 100,00 | 0,021 | 0,080 | 100,000 |
| Ukupna varijansa (10^{-5}) | 329,922 | | | 25,822 | | |

Tabela 3B. Analiza glavnih komponenti (PCA) za simetričnu i asimetričnu varijansu standarda. λ - sopstvena vrednost; proporcija%- procentualni udeo svake komponente (PC) u ukupnoj varijansi.

| | Simetrična komponenta | | | Asimetrična komponenta | | |
|--------------------------------|-------------------------|-------------|--------------|-------------------------|-------------|--------------|
| | λ (10^{-5}) | Proporcija% | Kumulativno% | λ (10^{-5}) | Proporcija% | Kumulativno% |
| PC1 | 191,245 | 43,186 | 43,186 | 9,332 | 30,596 | 30,596 |
| PC2 | 122,604 | 27,686 | 70,872 | 5,337 | 17,496 | 48,092 |
| PC3 | 42,312 | 9,555 | 80,427 | 4,164 | 13,652 | 61,744 |
| PC4 | 36,818 | 8,314 | 88,741 | 2,993 | 9,812 | 71,556 |
| PC5 | 19,089 | 4,311 | 93,052 | 2,232 | 7,317 | 78,872 |
| PC6 | 13,179 | 2,976 | 96,028 | 1,661 | 5,445 | 84,318 |
| PC7 | 5,067 | 1,144 | 97,172 | 1,526 | 5,003 | 89,321 |
| PC8 | 3,610 | 0,815 | 97,987 | 1,076 | 3,527 | 92,848 |
| PC9 | 2,678 | 0,605 | 98,592 | 0,717 | 2,350 | 95,198 |
| PC10 | 2,174 | 0,491 | 99,083 | 0,584 | 1,914 | 97,111 |
| PC11 | 1,498 | 0,338 | 99,421 | 0,299 | 0,982 | 98,093 |
| PC12 | 1,014 | 0,229 | 99,650 | 0,272 | 0,892 | 98,985 |
| PC13 | 0,574 | 0,130 | 99,780 | 0,141 | 0,462 | 99,448 |
| PC14 | 0,527 | 0,119 | 99,899 | 0,090 | 0,295 | 99,743 |
| PC15 | 0,401 | 0,090 | 99,989 | 0,043 | 0,141 | 99,884 |
| PC16 | 0,041 | 0,009 | 99,999 | 0,029 | 0,096 | 99,980 |
| PC17 | 0,006 | 0,001 | 100,000 | 0,006 | 0,020 | 100,000 |
| Ukupna varijansa (10^{-5}) | 442,839 | | | 30,501 | | |

Tabela 3C. Analiza glavnih komponenti (PCA) za simetričnu i asimetričnu varijansu grane tučka. λ - sopstvena vrednost; proporcija%- procentualni udeo svake komponente (PC) u ukupnoj varijansi.

| | Simetrična komponenta | | | Asimetrična komponenta | | |
|--------------------------------|-------------------------|-------------|--------------|-------------------------|-------------|--------------|
| | λ (10^{-5}) | Proporcija% | Kumulativno% | λ (10^{-5}) | Proporcija% | Kumulativno% |
| PC1 | 115,702 | 60,359 | 60,359 | 8,929 | 39,332 | 39,332 |
| PC2 | 44,197 | 23,057 | 83,416 | 5,454 | 24,022 | 63,353 |
| PC3 | 13,145 | 6,857 | 90,273 | 2,498 | 11,002 | 74,355 |
| PC4 | 8,649 | 4,512 | 94,785 | 1,334 | 5,877 | 80,232 |
| PC5 | 3,888 | 2,028 | 96,814 | 0,950 | 4,187 | 84,419 |
| PC6 | 2,042 | 1,065 | 97,879 | 0,894 | 3,938 | 88,357 |
| PC7 | 1,633 | 0,852 | 98,731 | 0,727 | 3,203 | 91,560 |
| PC8 | 0,742 | 0,387 | 99,118 | 0,615 | 2,709 | 94,269 |
| PC9 | 0,577 | 0,301 | 99,419 | 0,386 | 1,702 | 95,971 |
| PC10 | 0,373 | 0,194 | 99,613 | 0,342 | 1,508 | 97,480 |
| PC11 | 0,226 | 0,118 | 99,731 | 0,257 | 1,134 | 98,614 |
| PC12 | 0,200 | 0,104 | 99,835 | 0,145 | 0,637 | 99,251 |
| PC13 | 0,189 | 0,098 | 99,934 | 0,112 | 0,493 | 99,745 |
| PC14 | 0,086 | 0,045 | 99,979 | 0,041 | 0,178 | 99,923 |
| PC15 | 0,040 | 0,021 | 100,000 | 0,014 | 0,062 | 99,985 |
| PC16 | 0,001 | 0,000 | 100,000 | 0,003 | 0,015 | 100,000 |
| Ukupna varijansa (10^{-5}) | 191,690 | | | 22,702 | | |

Tabela 4. Multivarijantna regresija varijabli oblika na veličinu centroida cvetnih organa *I. pumila*. % - procenat variranja oblika zavistan od variranja veličine, *P*-nivo statističke značajnosti.

| | % | <i>P</i> |
|--------------------|------|----------|
| FOL | 6,07 | <,0001 |
| STANDARD | 3,26 | <,0001 |
| GRANA TUČKA | 9,76 | <,0001 |

Tabela 5. Deskriptivna statistika za veličinu centroida (CS) cvetnih organa različite orijentacije (0°, 60°, 120°, 180°, 240°, 300°). Prikazani su veličina uzorka (n), srednja vrednost (\bar{X}) i standardna greška (SE).

| Orijentacija | <i>FOL</i> | | | <i>STANDARD</i> | | | <i>GRANA TUČKA</i> | | |
|--------------|------------|-----------|------|-----------------|-----------|------|--------------------|-----------|------|
| | n | \bar{X} | SE | n | \bar{X} | SE | n | \bar{X} | SE |
| 0° | 266 | 7,37 | 0,21 | 262 | 7,43 | 0,21 | 257 | 6,86 | 0,16 |
| 60° | 265 | 7,35 | 0,20 | 262 | 7,39 | 0,22 | 257 | 6,87 | 0,16 |
| 120° | 266 | 7,34 | 0,21 | 262 | 7,40 | 0,21 | 257 | 6,87 | 0,16 |
| 180° | 266 | 7,36 | 0,22 | 262 | 7,40 | 0,22 | 257 | 6,87 | 0,16 |
| 240° | 266 | 7,34 | 0,22 | 262 | 7,39 | 0,21 | 257 | 6,87 | 0,15 |
| 300° | 266 | 7,35 | 0,21 | 262 | 7,39 | 0,22 | 257 | 6,87 | 0,16 |

Tabela 6. Analiza varijanse (ANOVA) za veličinu centroida cvetnih organa *I. pumila*. MS - srednja vrednost sume kvadrata, df - stepen slobode, *F* - vrednost F testa, *P* - nivo statističke značajnosti.

| Izvor variranja | df | MS | <i>F</i> | <i>P</i> |
|---------------------------|------|-------|----------|----------|
| <i>FOL</i> | | | | |
| Orijentacija | 5 | 0,037 | 0,82 | 0,54 |
| Greška | 1588 | 0,045 | | |
| <i>STANDARD</i> | | | | |
| Orijentacija | 5 | 0,063 | 1,39 | 0,22 |
| Greška | 1566 | 0,045 | | |
| <i>GRANA TUČKA</i> | | | | |
| Orijentacija | 5 | 0,002 | 0,11 | 0,99 |
| Greška | 1536 | 0,024 | | |

Tabela 7A. Kanonijska diskriminativna analiza za fol. Prikazane su Prokrustove distnace između srednjih oblika cvetnih organa različite orijentacije (gornji red) i P vrednosti dobijene permutacionim testovima (donji red). Vrednosti za simetričnu komponentu variranja oblika su prikazane iznad, a za asimetričnu komponentu ispod dijagonale.

| Orijentacija | 0° | 60° | 120° | 180° | 240° | 300° |
|--------------|------------------------|------------------------|------------------------|------------------------|------------------------|------------------------|
| 0° | | 0,0234 $P < 0,0001$ | 0,0237 $P < 0,0001$ | 0,0155 $P < 0,0001$ | 0,0221 $P < 0,0001$ | 0,0260 $P < 0,0001$ |
| 60° | 0,0041 $P < 0,0001$ | | 0,0024 $P = 0,9321$ | 0,0090 $P = 0,0254$ | 0,0073 $P = 0,1046$ | 0,0039 $P = 0,6501$ |
| 120° | 0,0069 $P < 0,0001$ | 0,0043 $P < 0,0001$ | | 0,0098 $P = 0,0126$ | 0,0059 $P = 0,2685$ | 0,0027 $P = 0,8942$ |
| 180° | 0,0057 $P < 0,0001$ | 0,0043 $P < 0,0001$ | 0,0019 $P = 0,0893$ | | 0,0114 $P = 0,0012$ | 0,0120 $P = 0,0014$ |
| 240° | 0,0064 $P < 0,0001$ | 0,0062 $P < 0,0001$ | 0,0039 $P < 0,0001$ | 0,0027 $P = 0,0039$ | | 0,0068 $P = 0,1495$ |
| 300° | 0,0067 $P < 0,0001$ | 0,0072 $P < 0,0001$ | 0,0051 $P < 0,0001$ | 0,0037 $P = 0,0001$ | 0,0018 $P = 0,1394$ | |

Tabela 7B. Kanonijska diskriminativna analiza za standard. Prikazane su Prokrustove distnace između srednjih oblika cvetnih organa različite orijentacije (gornji red) i P vrednosti dobijene permutacionim testovima (donji red). Vrednosti za simetričnu komponentu variranja oblika su prikazane iznad, a za asimetričnu komponentu ispod dijagonale.

| Orijentacija | 0° | 60° | 120° | 180° | 240° | 300° |
|--------------|------------------------|------------------------|------------------------|------------------------|------------------------|------------------------|
| 0° | | 0,0316 $P < 0,0001$ | 0,0234 $P < 0,0001$ | 0,0283 $P < 0,0001$ | 0,0330 $P < 0,0001$ | 0,0344 $P < 0,0001$ |
| 60° | 0,0031 $P = 0,0003$ | | 0,0042 $P = 0,7024$ | 0,0103 $P = 0,0164$ | 0,0063 $P = 0,2719$ | 0,0045 $P = 0,6505$ |
| 120° | 0,0059 $P < 0,0001$ | 0,0034 $P < 0,0001$ | | 0,0063 $P = 0,2982$ | 0,0064 $P = 0,2877$ | 0,0067 $P = 0,2564$ |
| 180° | 0,0050 $P < 0,0001$ | 0,0028 $P = 0,0020$ | 0,0018 $P = 0,1598$ | | 0,0105 $P = 0,0137$ | 0,0122 $P = 0,0046$ |
| 240° | 0,0064 $P < 0,0001$ | 0,0053 $P < 0,0001$ | 0,0037 $P < 0,0001$ | 0,0030 $P = 0,0011$ | | 0,0038 $P = 0,7859$ |
| 300° | 0,0039 $P = 0,0001$ | 0,0045 $P < 0,0001$ | 0,0055 $P < 0,0001$ | 0,0044 $P < 0,0001$ | 0,0042 $P < 0,0001$ | |

Tabela 7C. Kanonijska diskriminativna analiza za granu tučka. Prikazane su Prokrustove distnace između srednjih oblika cvetnih organa različite orijentacije (gornji red) i P vrednosti dobijene permutacionim testovima (donji red). Vrednosti za simetričnu komponentu variranja oblika su prikazane iznad, a za asimetričnu komponentu ispod dijagonale.

| Orijentacija | 0° | 60° | 120° | 180° | 240° | 300° |
|--------------|------------------------|------------------------|------------------------|------------------------|------------------------|------------------------|
| 0° | | 0,0013 $P = 0,9814$ | 0,0017 $P = 0,9277$ | 0,0052 $P = 0,1387$ | 0,0032 $P = 0,5098$ | 0,0013 $P = 0,9733$ |
| 60° | 0,0020 $P = 0,0399$ | | 0,0013 $P = 0,9782$ | 0,0048 $P = 0,1885$ | 0,0026 $P = 0,6864$ | 0,0009 $P = 0,9971$ |
| 120° | 0,0012 $P = 0,4112$ | 0,0014 $P = 0,2503$ | | 0,0043 $P = 0,2615$ | 0,0028 $P = 0,6362$ | 0,0012 $P = 0,9849$ |
| 180° | 0,0012 $P = 0,4205$ | 0,0017 $P = 0,0966$ | 0,0009 $P = 0,7880$ | | 0,0031 $P = 0,5420$ | 0,0048 $P = 0,1848$ |
| 240° | 0,0031 $P = 0,0005$ | 0,0040 $P < 0,0001$ | 0,0030 $P < 0,0001$ | 0,0030 $P = 0,0002$ | | 0,0028 $P = 0,6465$ |
| 300° | 0,0046 $P < 0,0001$ | 0,0057 $P < 0,0001$ | 0,0047 $P < 0,0001$ | 0,0045 $P < 0,0001$ | 0,0023 $P = 0,0098$ | |

Tabela 8A. Kanonijska diskriminativna analiza za fol. Prikazane su Mahalanobisove distnace između srednjih oblika cvetnih organa različite orijentacije (gornji red) i P vrednosti dobijene permutacionim testovima (donji red). Vrednosti za simetričnu komponentu variranja oblika su prikazane iznad, a za asimetričnu komponentu ispod dijagonale.

| Orijentacija | 0° | 60° | 120° | 180° | 240° | 300° |
|--------------|------------------------|------------------------|------------------------|------------------------|------------------------|------------------------|
| 0° | | 0,8887 $P < 0,0001$ | 0,9123 $P < 0,0001$ | 0,6169 $P < 0,0001$ | 1,0131 $P < 0,0001$ | 1,1095 $P < 0,0001$ |
| 60° | 0,5485 $P = 0,0003$ | | 0,4038 $P = 0,1031$ | 0,4495 $P = 0,0208$ | 0,4355 $P = 0,0480$ | 0,5494 $P = 0,0004$ |
| 120° | 0,9579 $P < 0,0001$ | 0,7109 $P < 0,0001$ | | 0,4788 $P = 0,0051$ | 0,3483 $P = 0,3678$ | 0,4467 $P = 0,0292$ |
| 180° | 0,9080 $P < 0,0001$ | 0,7204 $P < 0,0001$ | 0,3504 $P = 0,3283$ | | 0,5764 $P < 0,0001$ | 0,6110 $P < 0,0001$ |
| 240° | 1,2450 $P < 0,0001$ | 1,1769 $P < 0,0001$ | 0,6788 $P < 0,0001$ | 0,7645 $P < 0,0001$ | | 0,3721 $P = 0,2472$ |
| 300° | 1,1800 $P < 0,0001$ | 1,1939 $P < 0,0001$ | 0,6929 $P < 0,0001$ | 0,6945 $P < 0,0001$ | 0,4727 $P = 0,0143$ | |

Tabela 8B. Kanonijska diskriminativna analiza za standard. Prikazane su Mahalanobisove distnace između srednjih oblika cvetnih organa različite orijentacije (gornji red) i P vrednosti dobijene permutacionim testovima (donji red). Vrednosti za simetričnu komponentuvariranja oblika su prikazane iznad, a za asimetričnu komponentu ispod dijagonale.

| Orijentacija | 0° | 60° | 120° | 180° | 240° | 300° |
|--------------|------------------------|------------------------|------------------------|------------------------|------------------------|------------------------|
| 0° | | 0,9659 $P < 0,0001$ | 0,8422 $P < 0,0001$ | 0,7523 $P < 0,0001$ | 1,0110 $P < 0,0001$ | 1,0816 $P < 0,0001$ |
| 60° | 0,5476 $P = 0,0006$ | | 0,2990 $P = 0,7563$ | 0,4535 $P = 0,0261$ | 0,5566 $P = 0,0002$ | 0,4776 $P = 0,0142$ |
| 120° | 0,7597 $P < 0,0001$ | 0,5917 $P < 0,0001$ | | 0,2959 $P = 0,7566$ | 0,4887 $P = 0,0132$ | 0,4732 $P = 0,0184$ |
| 180° | 0,7393 $P < 0,0001$ | 0,5705 $P = 0,0002$ | 0,4062 $P = 0,1195$ | | 0,5441 $P = 0,0006$ | 0,5266 $P = 0,0007$ |
| 240° | 1,1685 $P < 0,0001$ | 1,2040 $P < 0,0001$ | 0,9075 $P < 0,0001$ | 0,8180 $P < 0,0001$ | | 0,2964 $P = 0,7926$ |
| 300° | 0,9579 $P < 0,0001$ | 1,0832 $P < 0,0001$ | 0,9616 $P < 0,0001$ | 0,8113 $P < 0,0001$ | 0,5532 $P = 0,0005$ | |

Tabela 8C. Kanonijska diskriminativna analiza za granu tučka. Prikazane su Mahalanobisove distnace između srednjih oblika cvetnih organa različite orijentacije (gornji red) i P vrednosti dobijene permutacionim testovima (donji red). Vrednosti za simetričnu komponentu variranja oblika su prikazane iznad, a za asimetričnu komponentu ispod dijagonale.

| Orijentacija | 0° | 60° | 120° | 180° | 240° | 300° |
|--------------|------------------------|------------------------|------------------------|------------------------|------------------------|------------------------|
| 0° | | 0,4287 $P = 0,0497$ | 0,2896 $P = 0,7824$ | 0,3746 $P = 0,2145$ | 0,2760 $P = 0,8238$ | 0,3646 $P = 0,3082$ |
| 60° | 0,4912 $P = 0,0032$ | | 0,3474 $P = 0,3660$ | 0,3529 $P = 0,2907$ | 0,4555 $P = 0,0140$ | 0,3889 $P = 0,1454$ |
| 120° | 0,5490 $P = 0,0002$ | 0,5123 $P = 0,0011$ | | 0,2842 $P = 0,7674$ | 0,2787 $P = 0,8113$ | 0,3105 $P = 0,6409$ |
| 180° | 0,5727 $P = 0,0002$ | 0,5195 $P = 0,0006$ | 0,2642 $P = 0,8738$ | | 0,3132 $P = 0,5465$ | 0,3615 $P = 0,2737$ |
| 240° | 0,9014 $P < 0,0001$ | 1,0300 $P < 0,0001$ | 0,6418 $P < 0,0001$ | 0,6476 $P < 0,0001$ | | 0,3282 $P = 0,4927$ |
| 300° | 1,0537 $P < 0,0001$ | 1,2698 $P < 0,0001$ | 0,9063 $P < 0,0001$ | 0,9086 $P < 0,0001$ | 0,5134 $P = 0,0017$ | |

Tabela 9. Dekompozicija Prokrustovih suma kvadrata za različite cvetne organe. Prikazane su Prokrustove sume kvadrata tri cvetna organa za simetričnu i asimetričnu komponentu variranja oblika, kao i za ukupno variranje oblika dobijeno kombinovanjem simetrične i asimetrične komponente. Procenti (u zagradi) predstavljaju udeo asimetrije u cvetu koji jeste odnosno, nije uzrokovan orijentacijom cvetnih organa.

| | <i>FOL</i> | <i>STANDARD</i> | <i>GRANA TUČKA</i> |
|---|----------------|-----------------|--------------------|
| Simetrična komponenta variranja oblika | | | |
| Orijentacija | 0,1415 (11,5%) | 0,2147 (12,8%) | 0,00569 (1,6%) |
| Biljka | 4,0045 | 4,6509 | 2,3826 |
| Cvet | 0,7545 | 0,9263 | 0,3683 |
| Drugi tipovi asimetrije | 1,0851 (88,5%) | 1,4601 (87,2%) | 0,3643 (98,4%) |
| Ukupno | 5,9856 | 7,2520 | 3,1212 |
| Asimetrična komponenta variranja oblika | | | |
| Orijentacija | 0,0157 (5,7%) | 0,0117 (7,3%) | 0,0073 (3,1%) |
| Biljka | 0,0811 | 0,0939 | 0,0566 |
| Cvet | 0,0534 | 0,0713 | 0,0505 |
| Drugi tipovi asimetrije | 0,2617 (94,3%) | 0,3016 (96,3%) | 0,2308 (96,9%) |
| Ukupno | 0,4188 | 0,4785 | 0,3452 |
| Ukupno variranje oblika (simetrična i asimetrična komponenta) | | | |
| Orijentacija | 0,1571 (10,4%) | 0,2263 (11,4%) | 0,0132 (2,2%) |
| Biljka | 4,0856 | 4,7448 | 2,4392 |
| Cvet | 0,8079 | 0,9976 | 0,4189 |
| Drugi tipovi asimetrije | 1,3468 (89,6%) | 1,7618 (88,6%) | 0,5950 (97,8) |
| Ukupno | 6,3974 | 7,7305 | 3,4663 |

Tabela 10. Deskriptivna statistika veličine centroida cvetnih organa *I. pumila* različitih boja. Prikazani su veličina uzorka (n), srednja vrednost (\bar{X}), standardna devijacija (SD) i koeficijent varijacije (CV%).

| | n | \bar{X} | SD | CV% |
|--------------------|-----|-----------|----|-----|
| FOL | | | | |
| Lila | 360 | 329 | 35 | 11 |
| Plava | 354 | 317 | 30 | 10 |
| Tamno lila | 66 | 307 | 20 | 10 |
| Tamno plava | 42 | 315 | 19 | 7 |
| Žuta | 84 | 291 | 31 | 11 |
| STANDARD | | | | |
| Lila | 312 | 345 | 39 | 11 |
| Plava | 318 | 339 | 34 | 10 |
| Tamno lila | 90 | 322 | 24 | 10 |
| Tamno plava | 42 | 330 | 15 | 5 |
| Žuta | 72 | 301 | 22 | 13 |
| GRANA TUČKA | | | | |
| Lila | 288 | 217 | 16 | 9 |
| Plava | 318 | 214 | 16 | 8 |
| Tamno lila | 42 | 201 | 7 | 6 |
| Tamno plava | 24 | 191 | 4 | 10 |
| Žuta | 84 | 208 | 11 | 5 |

Tabela 11. Analiza varijanse (ANOVA) za veličinu centroida cvetnih organa *I. pumila*. MS - srednja vrednost sume kvadrata, df - stepen slobode, *F*- vrednost *F* testa, *P* - nivo statističke značajnosti.

| Izvor variranja | df | MS | <i>F</i> | <i>P</i> |
|---------------------------|-----|----------|----------|----------|
| <i>FOL</i> | | | | |
| Boja | 4 | 27971,08 | 28,27 | <,0001 |
| Greška | 901 | 989,34 | | |
| <i>STANDARD</i> | | | | |
| Boja | 4 | 38911,06 | 34,06 | <,0001 |
| Greška | 829 | 1142,30 | | |
| <i>GRANA TUČKA</i> | | | | |
| Boja | 4 | 60088,86 | 27,43 | <,0001 |
| Greška | 751 | 221,95 | | |

Tabela 12. Razlike u srednjim vrednostima veličine centroida oblika cvetnih organa *I. pumila* različitih u boji dobijene Tuckey-jevim testom. Statistički značajne razlike ($P \leq 0.05$) su označene podebljanim fontom.

| | <i>FOL</i> | <i>STANDARD</i> | <i>GRANA TUČKA</i> |
|--------------------------|---------------|-----------------|--------------------|
| Lila i plava | 12,196 | 8,378 | 2,591 |
| Lila i tamno lila | 21,738 | 26,115 | 15,859 |
| Lila i tamno plava | 13,665 | 17,362 | 25,547 |
| Lila i žuta | 37,760 | 47,026 | 9,002 |
| Plava i tamno lila | 9,542 | 17,737 | 13,268 |
| Plava i tamno plava | 1,469 | 8,984 | 22,957 |
| Plava i žuta | 25,564 | 38,648 | 6,412 |
| Tamno lila i tamno plava | 8,073 | 8,754 | 9,688 |
| Tamno lila i žuta | 16,023 | 20,910 | 6,857 |
| Tamno plava i žuta | 24,095 | 29,664 | 16,545 |

Tabela 13A. Prokrustova ANOVA oblika fola različite boje cveta *I. pumila*. Prikazani su efekti sa interpretacijom: jedinke (međuindividualno variranje), strane (DA - direkciona asimetrija), interakcije jedinke i strane (FA - fluktuirajuća asimetrija) i greške merenja. SS-suma kvadrata, MS - srednja vrednost sume kvadrata, df- stepen slobode, *F*- vrednost F testa, *P*- nivo statističke značajnosti.

| Efekat | SS | MS | df | <i>F</i> | <i>P</i> |
|--------------------|---------|---------|------|----------|----------|
| LILA | | | | | |
| Jedinka | 0,64718 | 0,00023 | 2864 | 3,58 | <,0001 |
| Strana | 0,03917 | 0,00245 | 16 | 38,74 | <,0001 |
| Jedinka*Strana | 0,18097 | 0,00006 | 2864 | 1,26 | <,0001 |
| Greška merenja | 0,28834 | 0,00005 | 5760 | | |
| PLAVA | | | | | |
| Jedinka | 0,53508 | 0,00019 | 2816 | 2,53 | <,0001 |
| Strana | 0,04320 | 0,00270 | 16 | 35,99 | <,0001 |
| Jedinka*Strana | 0,21128 | 0,00007 | 2816 | 1,70 | <,0001 |
| Greška merenja | 0,25058 | 0,00004 | 5664 | | |
| TAMNO LILA | | | | | |
| Jedinka | 0,07486 | 0,00012 | 608 | 2,19 | <,0001 |
| Strana | 0,01074 | 0,00067 | 16 | 11,97 | <,0001 |
| Jedinka*Strana | 0,03411 | 0,00006 | 608 | 1,36 | <,0001 |
| Greška merenja | 0,03563 | 0,00004 | 864 | | |
| TAMNO PLAVA | | | | | |
| Jedinka | 0,03719 | 0,00011 | 320 | 1,77 | <,0001 |
| Strana | 0,00455 | 0,00028 | 16 | 4,33 | <,0001 |
| Jedinka*Strana | 0,02101 | 0,00007 | 320 | 1,37 | 0,0005 |
| Greška merenja | 0,03228 | 0,00005 | 672 | | |
| ŽUTA | | | | | |
| Jedinka | 0,18641 | 0,00028 | 656 | 3,68 | <,0001 |
| Strana | 0,00729 | 0,00045 | 16 | 5,90 | <,0001 |
| Jedinka*Strana | 0,05067 | 0,00008 | 656 | 2,36 | <,0001 |
| Greška merenja | 0,04399 | 0,00003 | 1344 | | |

Tabela 13B. Prokrustova ANOVA oblika standarda različite boje cveta *I. pumila*. Prikazani su efekti sa interpretacijom: jedinke (međuinдивидуalno variranje), strane (DA - direkciona asimetrija), interakcije jedinke i strane (FA-fluktuirajuća asimetrija) i greške merenja. SS - suma kvadrata, MS - srednja vrednost sume kvadrata, df - stepen slobode, *F*- vrednost F testa, *P*- nivo statističke značajnosti.

| Efekat | SS | MS | df | <i>F</i> | <i>P</i> |
|---------------------|---------|---------|------|----------|----------|
| LILA | | | | | |
| Jedinka | 1,05891 | 0,00039 | 2737 | 7,29 | <,0001 |
| Strana (DA) | 0,01630 | 0,00096 | 17 | 18,07 | <,0001 |
| Jedinka*Strana (FA) | 0,14523 | 0,00005 | 2737 | 2,17 | <,0001 |
| Greška merenja | 0,12478 | 0,00002 | 5100 | | |
| PLAVA | | | | | |
| Jedinka | 0,84348 | 0,00030 | 2788 | 5,02 | <,0001 |
| Strana (DA) | 0,02470 | 0,00145 | 17 | 24,13 | <,0001 |
| Jedinka*Strana (FA) | 0,16786 | 0,00006 | 2788 | 3,05 | <,0001 |
| Greška merenja | 0,10253 | 0,00002 | 5202 | | |
| TAMNO LILA | | | | | |
| Jedinka | 0,22731 | 0,00027 | 850 | 4,17 | <,0001 |
| Strana (DA) | 0,00700 | 0,00041 | 17 | 6,43 | <,0001 |
| Jedinka*Strana (FA) | 0,05447 | 0,00006 | 850 | 2,11 | <,0001 |
| Greška merenja | 0,04028 | 0,00003 | 1326 | | |
| TAMNO PLAVA | | | | | |
| Jedinka | 0,07445 | 0,00021 | 340 | 3,95 | <,0001 |
| Strana (DA) | 0,00392 | 0,00023 | 17 | 4,16 | <,0001 |
| Jedinka*Strana (FA) | 0,01883 | 0,00005 | 340 | 2,11 | <,0001 |
| Greška merenja | 0,01871 | 0,00003 | 714 | | |
| ŽUTA | | | | | |
| Jedinka | 0,18508 | 0,00031 | 595 | 5,04 | <,0001 |
| Strana (DA) | 0,00691 | 0,00041 | 17 | 6,59 | <,0001 |
| Jedinka*Strana (FA) | 0,03669 | 0,00006 | 595 | 3,57 | <,0001 |
| Greška merenja | 0,02115 | 0,00002 | 1224 | | |

Tabela 13C. Prokrustova ANOVA oblika grana tučkova različite boje cveta *I.pumila*. Prikazani su efekti sa interpretacijom: jedinke (međuinдивидуalno variranje), strane (DA - direkciona asimetrija), interakcije jedinke i strane (FA-fluktuirajuća asimetrija) i greške merenja. SS - suma kvadrata, MS - srednja vrednost sume kvadrata, df - stepen slobode, *F*- vrednost *F* testa, *P*- nivo statističke značajnosti.

| Efekat | SS | MS | df | <i>F</i> | <i>P</i> |
|---------------------|---------|---------|------|----------|----------|
| LILA | | | | | |
| Jedinka | 0,23221 | 0,00010 | 2384 | 4,60 | <,0001 |
| Strana (DA) | 0,00144 | 0,00009 | 16 | 4,26 | <,0001 |
| Jedinka*Strana (FA) | 0,05053 | 0,00002 | 2384 | 1,27 | <,0001 |
| Greška merenja | 0,07376 | 0,00001 | 4416 | | |
| PLAVA | | | | | |
| Jedinka | 0,22198 | 0,00008 | 2624 | 4,08 | <,0001 |
| Strana (DA) | 0,00227 | 0,00014 | 16 | 6,86 | <,0001 |
| Jedinka*Strana (FA) | 0,05440 | 0,00002 | 2624 | 1,79 | <,0001 |
| Greška merenja | 0,05673 | 0,00001 | 4896 | | |
| TAMNO LILA | | | | | |
| Jedinka | 0,01815 | 0,00006 | 320 | 2,60 | <,0001 |
| Strana (DA) | 0,00056 | 0,00003 | 16 | 1,60 | 0,0666 |
| Jedinka*Strana (FA) | 0,00699 | 0,00002 | 320 | 1,86 | <,0001 |
| Greška merenja | 0,00790 | 0,00001 | 672 | | |
| TAMNO PLAVA | | | | | |
| Jedinka | 0,00897 | 0,00005 | 176 | 2,86 | <,0001 |
| Strana (DA) | 0,00164 | 0,00010 | 16 | 5,73 | <,0001 |
| Jedinka*Strana (FA) | 0,00314 | 0,00002 | 176 | 1,74 | <,0001 |
| Greška merenja | 0,00393 | 0,00001 | 384 | | |
| ŽUTA | | | | | |
| Jedinka | 0,05187 | 0,00008 | 656 | 4,12 | <,0001 |
| Strana (DA) | 0,00077 | 0,00005 | 16 | 2,50 | 0,0010 |
| Jedinka*Strana (FA) | 0,01258 | 0,00002 | 656 | 1,66 | <,0001 |
| Greška merenja | 0,01554 | 0,00001 | 1344 | | |

Tabela 14. Diskriminantna analiza. Prikazane su vrednosti Prokrustovih distanci između srednjih oblika određenih boja cvetnih organa *I. pumila* sa i bez alometrijske komponente. Statistički značajne vrednosti su obeležene podebljanim fontom.

| | <i>FOL</i> | | <i>STANDARD</i> | | <i>GRANA TUČKA</i> | |
|--------------------------|----------------|----------------|-----------------|----------------|--------------------|----------------|
| | Sa alometrijom | Bez alometrije | Sa alometrijom | Bez alometrije | Sa alometrijom | Bez alometrije |
| Lila i plava | 0,008 | 0,005 | 0,006 | 0,006 | 0,003 | 0,004 |
| Lila i tamno lila | 0,015 | 0,009 | 0,010 | 0,013 | 0,016 | 0,010 |
| Lila i tamno plava | 0,008 | 0,008 | 0,021 | 0,020 | 0,015 | 0,011 |
| Lila i žuta | 0,032 | 0,020 | 0,029 | 0,027 | 0,007 | 0,006 |
| Plava i tamno lila | 0,008 | 0,007 | 0,014 | 0,016 | 0,014 | 0,007 |
| Plava i tamno plava | 0,010 | 0,009 | 0,017 | 0,017 | 0,012 | 0,009 |
| Plava i žuta | 0,025 | 0,017 | 0,024 | 0,023 | 0,006 | 0,004 |
| Tamno lila i tamno plava | 0,017 | 0,015 | 0,029 | 0,031 | 0,007 | 0,007 |
| Tamno lila i žuta | 0,022 | 0,016 | 0,033 | 0,031 | 0,010 | 0,008 |
| Tamno plava i žuta | 0,032 | 0,021 | 0,018 | 0,021 | 0,008 | 0,007 |

Tabela 15. Poređenje srednjih vrednosti osobina cveta između oprašenih i neoprašenih cvetova Studentovim t testom. Prikazane su srednja vrednost (\bar{X}), standardna greška (SE) i nivo statističke značajnosti (P). Statistički značajne razlike su obeležene podebljanim fontom. Anth – apsorpcija antocijana (540nm), CS- veličina centroida.

| Osobina | Oprašeni | | Neoprašeni | | P |
|-------------------|-----------|----------|------------|----------|---------------|
| | \bar{X} | \pm SE | \bar{X} | \pm SE | |
| Visina cveta (mm) | 111,32 | 2,62 | 101,42 | 2,71 | 0,0101 |
| Anth | 0,88 | 0,07 | 0,89 | 0,05 | 0,9281 |
| Fol CS | 330,64 | 4,40 | 313,76 | 3,95 | 0,0057 |
| Standard CS | 333,97 | 6,10 | 312,26 | 5,26 | 0,0084 |
| Grana tučka CS | 193,17 | 0,01 | 197,13 | 2,61 | 0,2636 |

Tabela 16. Analiza glavnih komponenti. Prikazani su sopstveni vektori osobina cveta *I. pumila*, sopstvene vrednosti i procenti varijanse. Opterećenja na PC osama veća od 0.4 su označena podebljanim fontom. Anth - apsorpcija antocijana (540nm), CS- veličina centroida.

| Sopstveni vektori | PC1 | PC2 |
|---------------------|---------------|---------------|
| Visina cveta | 0,4862 | -0,0039 |
| Anth | 0,0459 | 0,9477 |
| Fol (CS) | 0,5426 | -0,0163 |
| Standard (CS) | 0,5498 | 0,1487 |
| Grana tučka (CS) | 0,4060 | -0,2820 |
| Sopstvene vrednosti | 2,5947 | 1,0413 |
| Proporcija% | 0,5189 | 0,2083 |
| Kumulativno% | 0,5189 | 0,7272 |

Tabela 17. Selekcioni gradijenti i njihove standardne greške (\pm SE) osobina cveta i cvetnih organa *I. pumila*. Prikazani su koeficijenti logističke (α), linearne (β) i kvadratne regresije (γ). Anth - apsorpcija antocijana (540nm), CS- veličina centroida. Statistički značajne vrednosti gradijenata su obeležene podebljanim fontom.

| | α | \pm SE | <i>P</i> | β | \pm SE | <i>P</i> | γ | \pm SE | <i>P</i> |
|---------------------------|----------|----------|---------------|----------|----------|---------------|----------|----------|----------|
| Osobine cveta | | | | | | | | | |
| Visina cveta | 1,8498 | 1,1126 | 0,0964 | 0,05378 | 0,03265 | 0,1033 | -0,00327 | 0,69105 | 0,9962 |
| Anth | -0,00165 | 0,6363 | 0,9979 | -0,00263 | 0,02619 | 0,9204 | -0,24820 | 0,69105 | 0,1304 |
| Fol CS | 4,0021 | 2,0905 | 0,0556 | 0,07427 | 0,04153 | 0,0774 | -1,21957 | 1,77677 | 0,4945 |
| Standard CS | 0,4918 | 1,4296 | 0,7309 | 0,01947 | 0,04349 | 0,6556 | 0,12697 | 1,32103 | 0,9237 |
| Grana tučka CS | -5,7305 | 1,9393 | 0,0031 | -0,09322 | 0,02924 | 0,0020 | 1,03209 | 1,27746 | 0,4216 |
| Glavne komponente | | | | | | | | | |
| PC1 | 0,3254 | 0,1460 | 0,0258 | 0,06309 | 0,02703 | 0,0219 | 0,00999 | 0,02758 | 0,7182 |
| PC2 | 0,2091 | 0,2203 | 0,3427 | 0,02579 | 0,02703 | 0,3427 | 0,00882 | 0,03779 | 0,8161 |
| Veličina centroida | | | | | | | | | |
| Fol | 4,0138 | 1,9745 | 0,0421 | 0,08145 | 0,04124 | 0,0514 | -1,18176 | 1,76126 | 0,5041 |
| Standard | 1,3879 | 1,2931 | 0,2832 | 0,04251 | 0,04014 | 0,2926 | 0,12291 | 1,24707 | 0,9217 |
| Grana tučka | -4,9812 | 1,8166 | 0,0061 | -0,08495 | 0,02882 | 0,0041 | 0,84555 | 1,23645 | 0,4960 |

Tabela 18. Diskriminantna analiza. Prikazane su vrednosti Prokrustovih distanci između srednjih oblika cvetnih organa oprашenih i neoprашenih cvetova *I. pumila*, kao i između cvetnih organa oprашenih i neoprашenih cvetova određene boje. Predstavljani su rezultati sa i bez alometrijske komponente. Statistički značajne vrednosti su obeležene podebljanim fontom.

| | <i>FOL</i> | | <i>STANDARD</i> | | <i>GRANA TUČKA</i> | |
|---|----------------|----------------|-----------------|----------------|--------------------|----------------|
| | Sa alometrijom | Bez alometrije | Sa alometrijom | Bez alometrije | Sa alometrijom | Bez alometrije |
| Oprašeni i neoprašeni | 0,010 | 0,010 | 0,008 | 0,018 | 0,022 | 0,017 |
| <i>LILA</i> oprašeni i neoprašeni | 0,012 | 0,012 | 0,015 | 0,018 | 0,018 | 0,011 |
| <i>PLAVA</i> oprašeni i neoprašeni | 0,008 | 0,020 | 0,040 | 0,048 | 0,035 | 0,034 |
| <i>TAMNO LILA</i> oprašeni i neoprašeni | 0,024 | 0,020 | 0,046 | 0,049 | 0,041 | 0,028 |
| <i>TAMNO PLAVA</i> oprašeni i neoprašeni | 0,037 | 0,035 | 0,022 | 0,019 | 0,047 | 0,047 |
| <i>ŽUTA</i> oprašeni i neoprašeni | 0,032 | 0,019 | 0,083 | 0,032 | 0,029 | 0,033 |

Tabela 19. Prokrustova ANOVA oblika oprušenih i neoprušenih cvetnih organa *I. pumila*. Prikazani su efekti sa interpretacijom: jedinke (međuindividualno variranje), strane (DA - direkciona asimetrija), interakcije jedinke i strane (FA - fluktuirajuća asimetrija) i greške merenja. SS - suma kvadrata, M - srednja vrednost sume kvadrata, df - stepen slobode, F- vrednost F testa, P- nivostatističke značajnosti.

| | SS | MS | df | F | P |
|-------------------------------|---------|---------|------|-------|--------|
| FOL OPRAŠENI | | | | | |
| Jedinka | 0,14758 | 0,00026 | 560 | 3,50 | <,0001 |
| Strana | 0,00637 | 0,00039 | 16 | 5,28 | <,0001 |
| Jedinka*Strana | 0,04219 | 0,00007 | 560 | 1,86 | <,0001 |
| Greška merenja | 0,04658 | 0,00004 | 1152 | | |
| FOL NEOPRAŠENI | | | | | |
| Jedinka | 0,09792 | 0,00001 | 560 | 4,56 | <,0001 |
| Strana (DA) | 0,00644 | 0,00040 | 16 | 10,5 | <,0001 |
| Jedinka*Strana | 0,02147 | 0,00004 | 560 | 1,27 | 0,0004 |
| Greška merenja | 0,03480 | 0,00003 | 1152 | | |
| STANDARD OPRAŠENI | | | | | |
| Jedinka | 0,28335 | 0,00048 | 595 | 10,56 | <,0001 |
| Strana (DA) | 0,00355 | 0,00021 | 17 | 4,63 | <,0001 |
| Jedinka*Strana | 0,02683 | 0,00004 | 595 | 1,99 | <,0001 |
| Greška merenja | 0,39188 | 0,00002 | 1224 | | |
| STANDARD NEOPRAŠENI | | | | | |
| Jedinka | 0,32486 | 0,00055 | 595 | 14,37 | <,0001 |
| Strana | 0,00325 | 0,00019 | 17 | 5,03 | <,0001 |
| Jedinka*Strana) | 0,02260 | 0,00004 | 595 | 1,74 | <,0001 |
| Greška merenja | 0,02672 | 0,00002 | 1224 | | |
| GRANA TUČKA OPRAŠENI | | | | | |
| Jedinka | 0,09585 | 0,00017 | 576 | 5,95 | <,0001 |
| Strana | 0,00092 | 0,00006 | 16 | 2,07 | 0,0085 |
| Jedinka*Strana | 0,01608 | 0,00003 | 576 | 1,44 | <,0001 |
| Greška merenja | 0,22924 | 0,00002 | 1184 | | |
| GRANA TUČKA NEOPRAŠENI | | | | | |
| Jedinka | 0,10849 | 0,00019 | 576 | 7,98 | <,0001 |
| Strana | 0,00217 | 0,00013 | 16 | 5,74 | <,0001 |
| Jedinka*Strana | 0,01359 | 0,00002 | 576 | 1,46 | <,0001 |
| Greška merenja | 0,01910 | 0,00001 | 1184 | | |

Tabela 20. Indeksi fluktuirajuće asimetrije (FA10) i poređenje njihovih vrednosti F testom cvetnih organa oprašenih i neoprašenih cvetova *I. pumila*. Prikazani su veličina uzorka (n), vrednosti FA10 indeksa, stepeni slobode (df), F vrednost i statistička značajnost (P). Statistički značajne vrednosti su obeležene podebljanim fontom

| | n | FA10 (x 10 ⁻⁵) | df | F | P |
|-------------------------------|----|----------------------------|--------|-------------|---------------|
| FOL OPRAŠENI | 72 | 2,78 | 105,41 | 4,28 | 0,0004 |
| FOL NEOPRAŠENI | 72 | 0,65 | 19,34 | | |
| STANDARD OPRAŠENI | 72 | 1,79 | 131,72 | 1,39 | 0,0046 |
| STANDARD NEOPRAŠENI | 72 | 1,29 | 92,74 | | |
| GRANA TUČKA OPRAŠENI | 74 | 0,68 | 43,84 | 1,15 | 0,3180 |
| GRANA TUČKA NEOPRAŠENI | 74 | 0,59 | 46,93 | | |

Tabela 21A. Indeksi fluktuirajuće asimetrije (FA10) fol i poređenje njihovih vrednosti F testom između oprашenih i neoprашenih cvetova *I. pumila* određene boje. Prikazani su veličina uzorka (n), vrednosti FA10 indeksa, stepeni slobode (df), *F* vrednost i statistička značajnost (*P*). Statistički značajne vrednosti su obeležene podebljanim fontom.

| | n | FA10(x 10 ⁻⁵) | df | <i>F</i> | <i>P</i> |
|-------------------------------|----|---------------------------|-------|-------------|---------------|
| LILA OPRAŠENI | 26 | 2,78 | 49,83 | 2,35 | 0,0086 |
| LILA NEOPRAŠENI | 44 | 0,65 | 27,82 | | |
| <i>PLAVA OPRAŠENI</i> | 12 | - | - | - | - |
| <i>PLAVA NEOPRAŠENI</i> | 6 | - | - | - | - |
| <i>TAMNO LILA OPRAŠENI</i> | 20 | 0,68 | 1,61 | 2,87 | 0,4230 |
| <i>TAMNO LILA NEOPRAŠENI</i> | 14 | 0,59 | 5,69 | | |
| <i>TAMNO PLAVI OPRAŠENI</i> | 8 | - | - | - | - |
| <i>TAMNO PLAVI NEOPRAŠENI</i> | 2 | - | - | - | - |
| <i>ŽUTA OPRAŠENI</i> | 6 | - | - | - | - |
| <i>ŽUTA NEOPRAŠENI</i> | 6 | - | - | - | - |

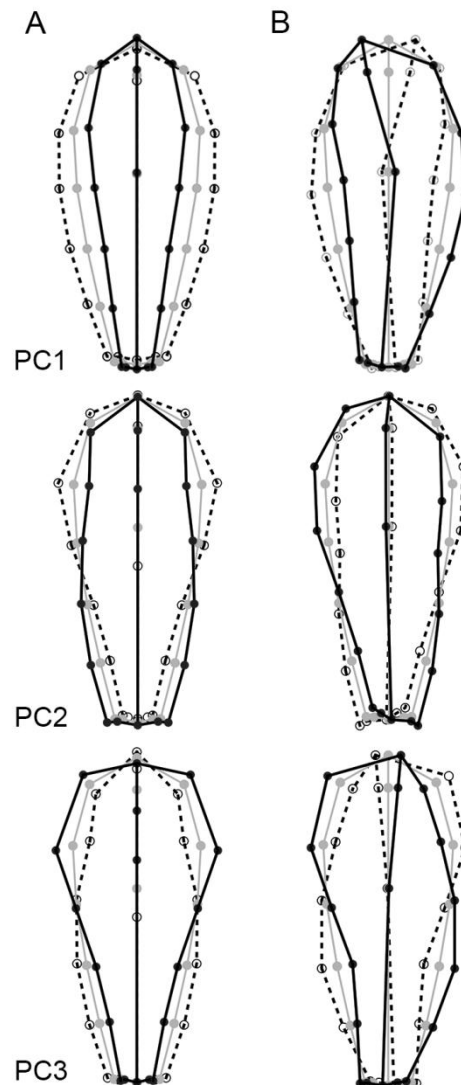
Tabela 21B. Indeksi fluktuirajuće asimetrije (FA10) standarda i poređenje njihovih vrednosti F testom između oprашenih i neoprашenih cvetova *I. pumila* određene boje. Prikazani su veličina uzorka (n), vrednosti FA10 indeksa, stepeni slobode (df), F vrednost i statistička značajnost (P).

| | n | FA10(x 10 ⁻⁵) | df | F | P |
|-----------------------------------|----|---------------------------|-------|------|-------|
| LILA OPRAŠENI | 26 | 0,40 | 4,43 | 4,60 | 0,072 |
| LILA NEOPRAŠENI | 44 | 1,84 | 97,72 | | |
| PLAVA OPRAŠENI | 14 | - | - | - | - |
| PLAVA NEOPRAŠENI | 6 | - | - | - | - |
| TAMNO LILA OPRAŠENI | 20 | 1,93 | 34,37 | 1,86 | 0,149 |
| TAMNO LILA NEOPRAŠENI | 14 | 1,04 | 10,40 | | |
| TAMNO PLAVI OPRAŠENI | 8 | - | - | - | - |
| TAMNO PLAVI NEOPRAŠENI | 2 | - | - | - | - |
| ŽUTA OPRAŠENI | 4 | - | - | - | - |
| ŽUTA NEOPRAŠENI | 8 | - | - | - | - |

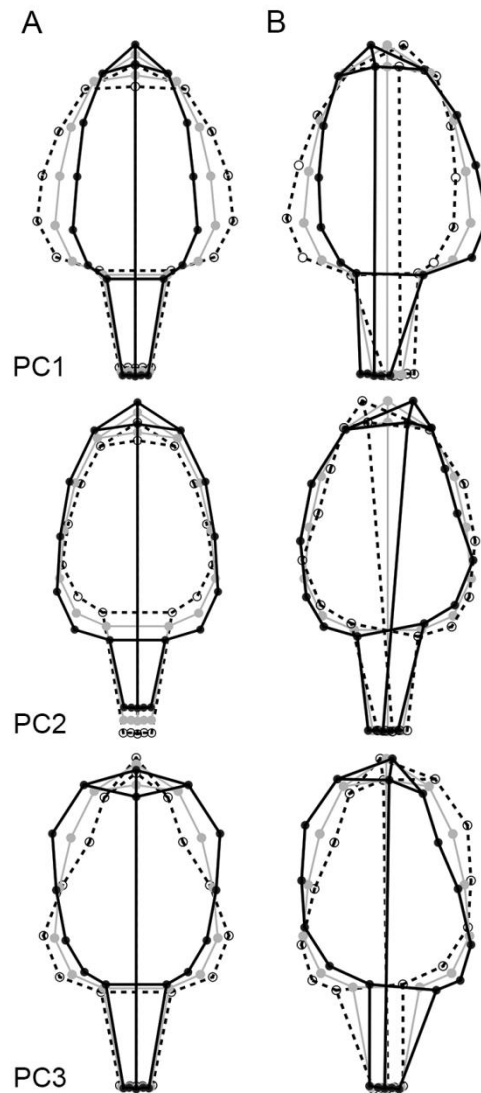
Tabela 21C. Indeksi fluktuirajuće asimetrije (FA10) grane tučka i poređenje njihovih vrednosti F testom između oprашenih i neoprашenih cvetova *I. pumila* određene boje. Prikazani su veličina uzorka (n), vrednosti FA10 indeksa, stepeni slobode (df), F vrednost i statistička značajnost (P).

| | n | FA10(x 10 ⁻⁵) | df | F | P |
|-------------------------------|----|---------------------------|-------|------|-------|
| LILA OPRAŠENI | 26 | 0,68 | 12,44 | 1,38 | 0,279 |
| LILA NEOPRAŠENI | 44 | 0,94 | 50,59 | | |
| PLAVA OPRAŠENI | 12 | - | - | - | - |
| PLAVA NEOPRAŠENI | 6 | - | - | - | - |
| TAMNO LILA OPRAŠENI | 22 | 0,99 | 20,68 | 1,90 | 0,177 |
| TAMNO LILA NEOPRAŠENI | 14 | 0,52 | 7,81 | | |
| TAMNO PLAVI OPRAŠENI | 8 | - | - | - | - |
| TAMNO PLAVI NEOPRAŠENI | 2 | - | - | - | - |
| ŽUTA OPRAŠENI | 6 | - | - | - | - |
| ŽUTA NEOPRAŠENI | 8 | - | - | - | - |

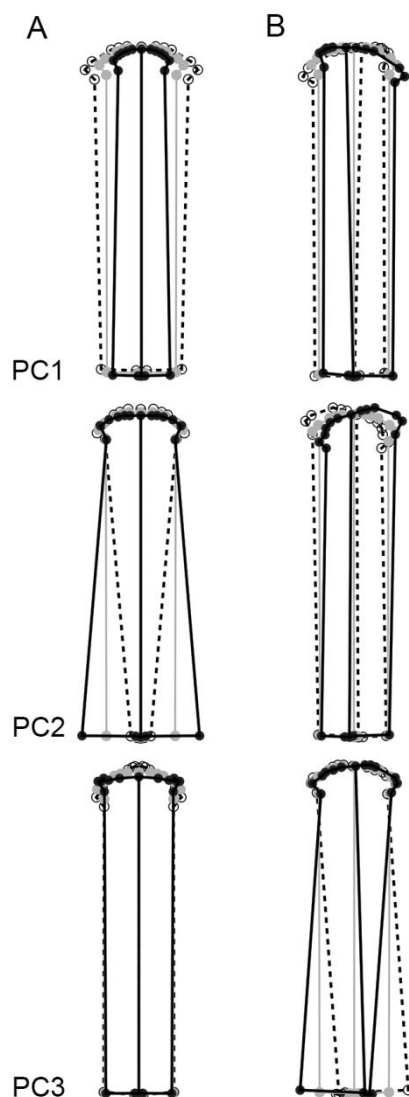
8. Slike



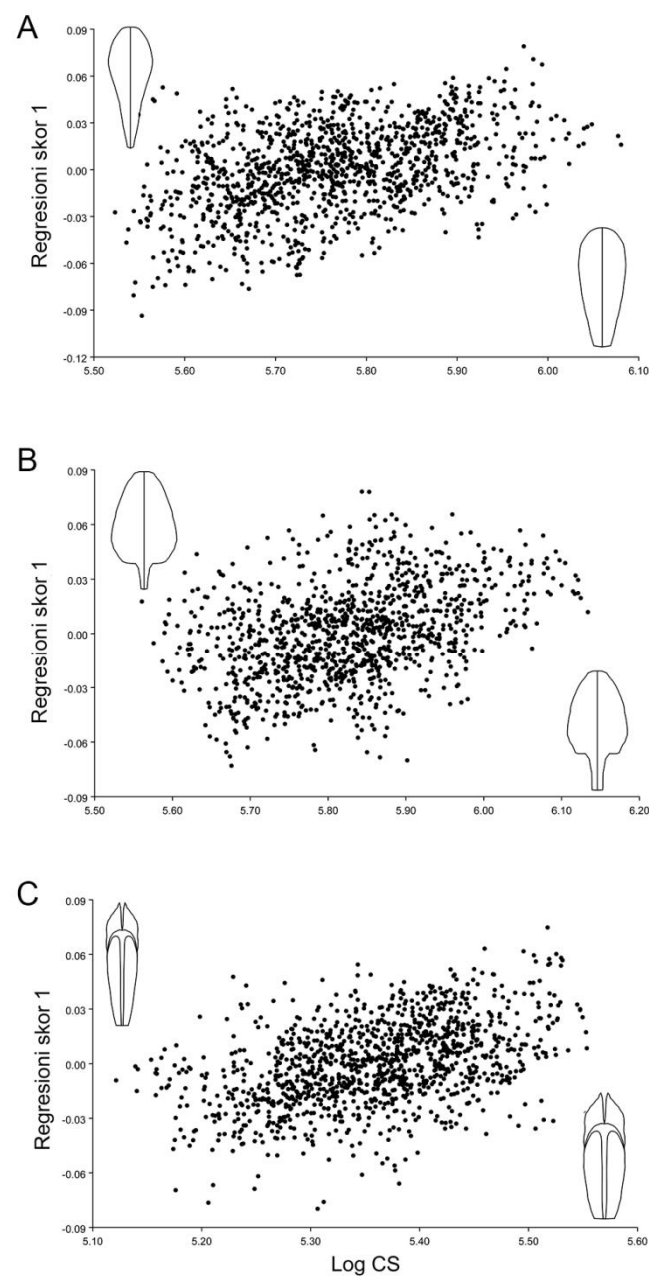
Slika 1. Promene oblika fola cveta *I. pumila* opisane glavnim komponentama (PC). A - Obrazac individualnog variranja oblika. B - Obrazac variranja oblika uslovljen fluktuirajućom asimetrijom. Predstavljene su dijagrami tri glavne komponente kojima se opisuje više od 10% ukupnog variranja oblika (PC1-PC3). Promena oblika u pozitivnom pravcu prikazana je punom crnom linijom sa ispunjenim krugovima, u negativnom pravcu sa isprekidanom linijom sa praznim krugovima, a srednji oblik punom sivom linijom sa punim krugovima.



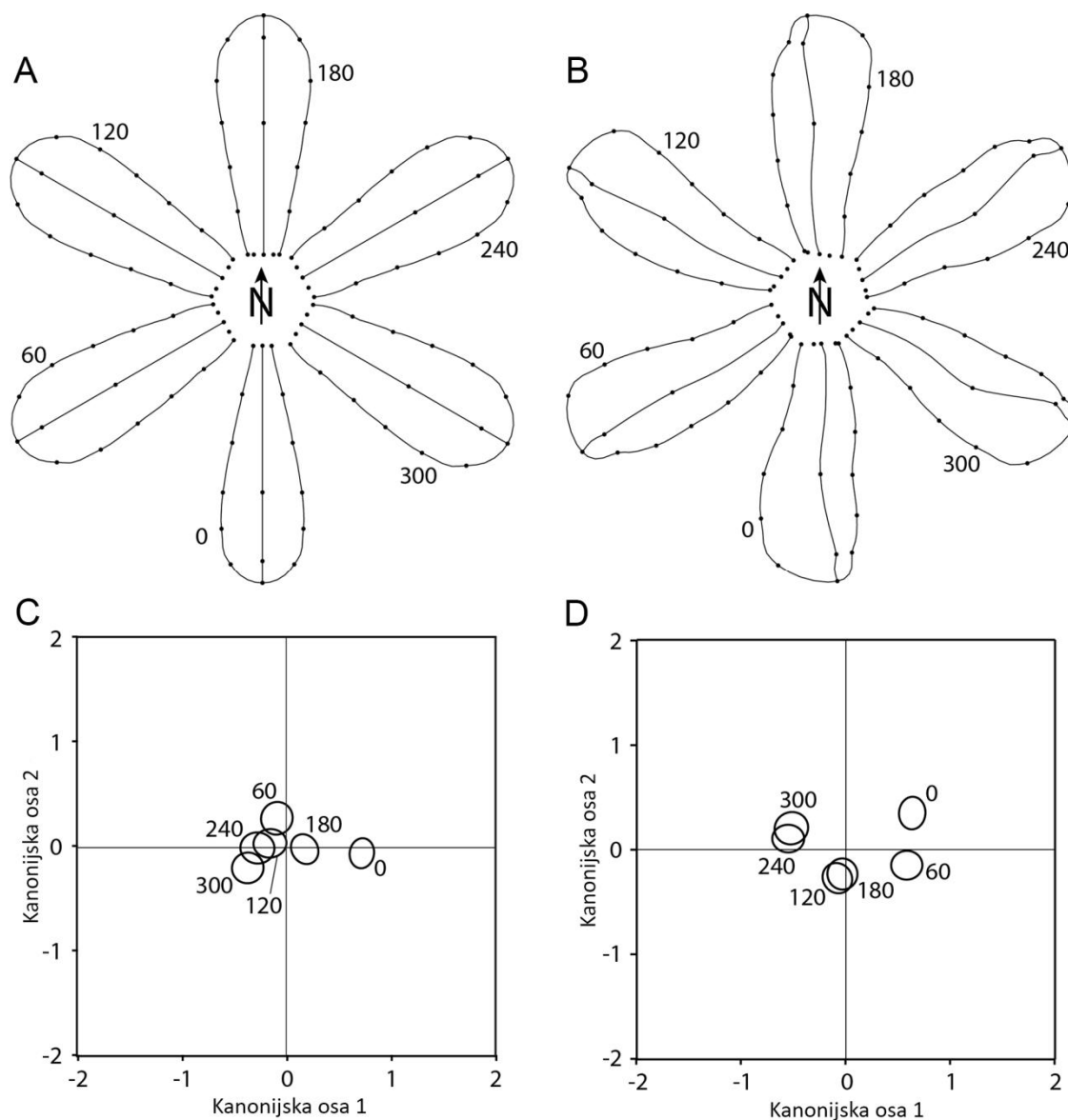
Slika 2. Promene oblika standarda cveta *I. pumila* opisane glavnim komponentama (PC). A - Obrazac individualnog variranja oblika. B - Obrazac variranja oblika uslovljen fluktuirajućom asimetrijom. Predstavljene su dijagrami tri glavne komponente kojima se opisuje više od 10% ukupnog variranja oblika (PC1- PC3). Promena oblika u pozitivnom pravcu prikazana je punom crnom linijom sa ispunjenim krugovima, u negativnom pravcu sa isprekidanom linijom sa praznim krugovima, a srednji oblik punom sivom linijom sa punim krugovima.



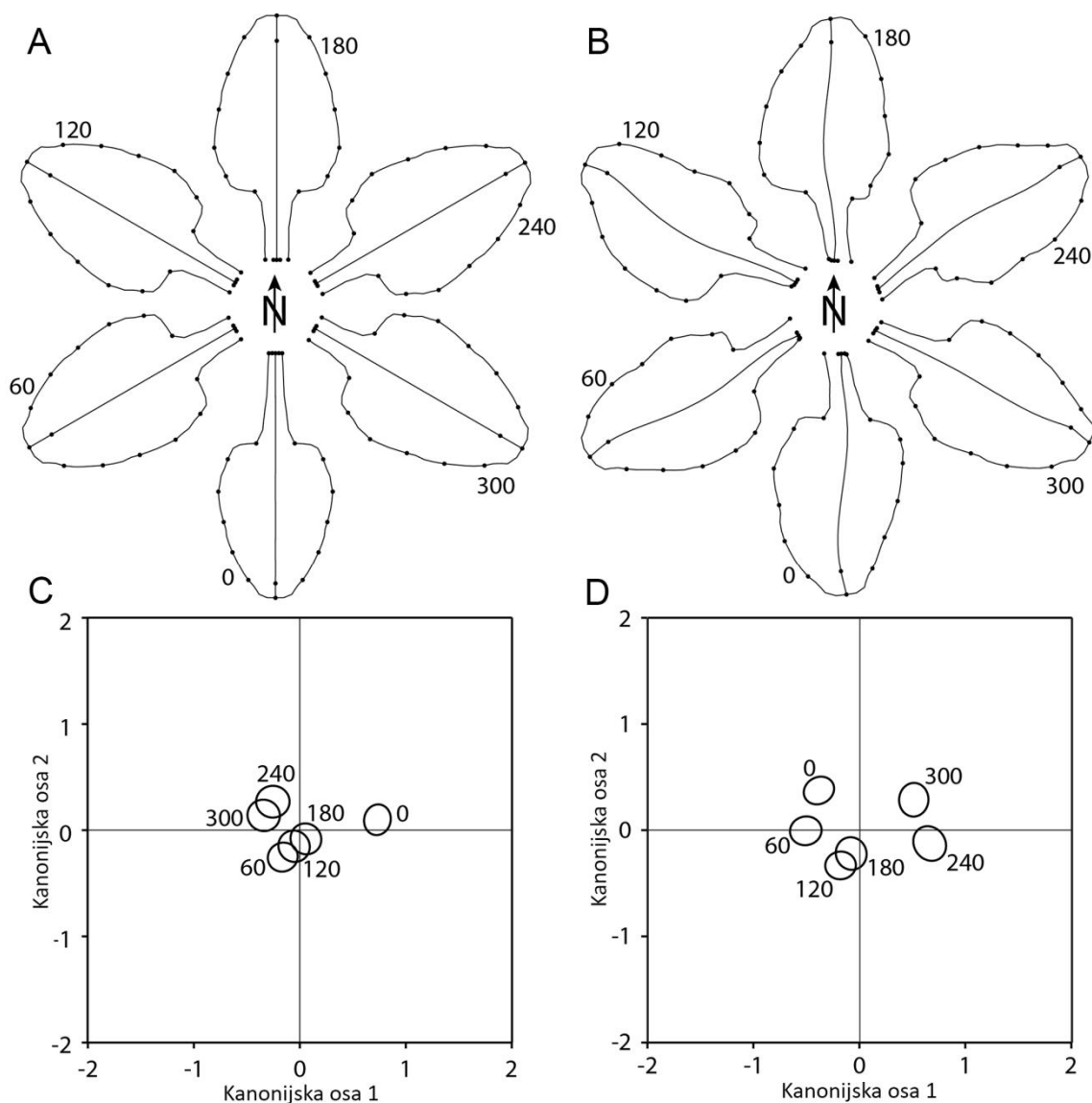
Slika 3. Promene oblika grane tučka cveta *I. pumila* opisane glavnim komponentama (PC). A - Obrazac individualnog variranja oblika. B - Obrazac variranja oblika uslovljen fluktuirajućom asimetrijom. Predstavljene su dijagrami tri glavne komponente kojima se opisuje više od 10% ukupnog variranja oblika (PC1- PC3). Promena oblika u pozitivnom pravcu prikazana je punom crnom linijom sa ispunjenim krugovima, u negativnom pravcu sa isprekidanom linijom sa praznim krugovima, a srednji oblik punom sivom linijom sa punim krugovima.



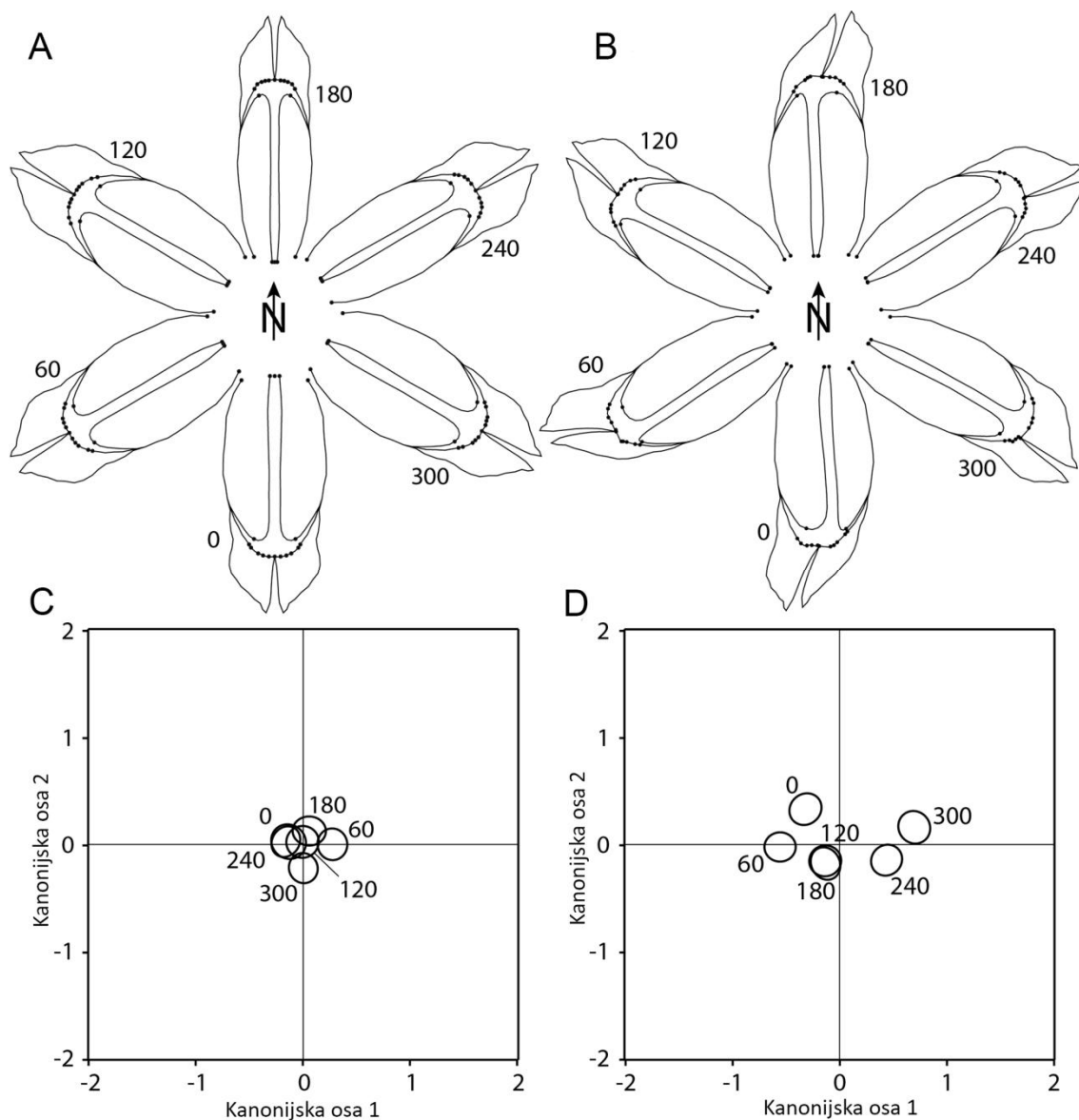
Slika 4. Multivarijantna regresija varijabli oblika na veličinu centroida (CS) kod cvetnih organa *I. pumila*. Predstavljene su skater dijagrami regresionih skorova u okviru kojih se nalaze modeli oblika tri različita organa sa minimalnom (gornji levi ugao), odnosno maksimalnom vrednošću CS (donji desni ugao): A - fol, B - standard i C - grana tučka



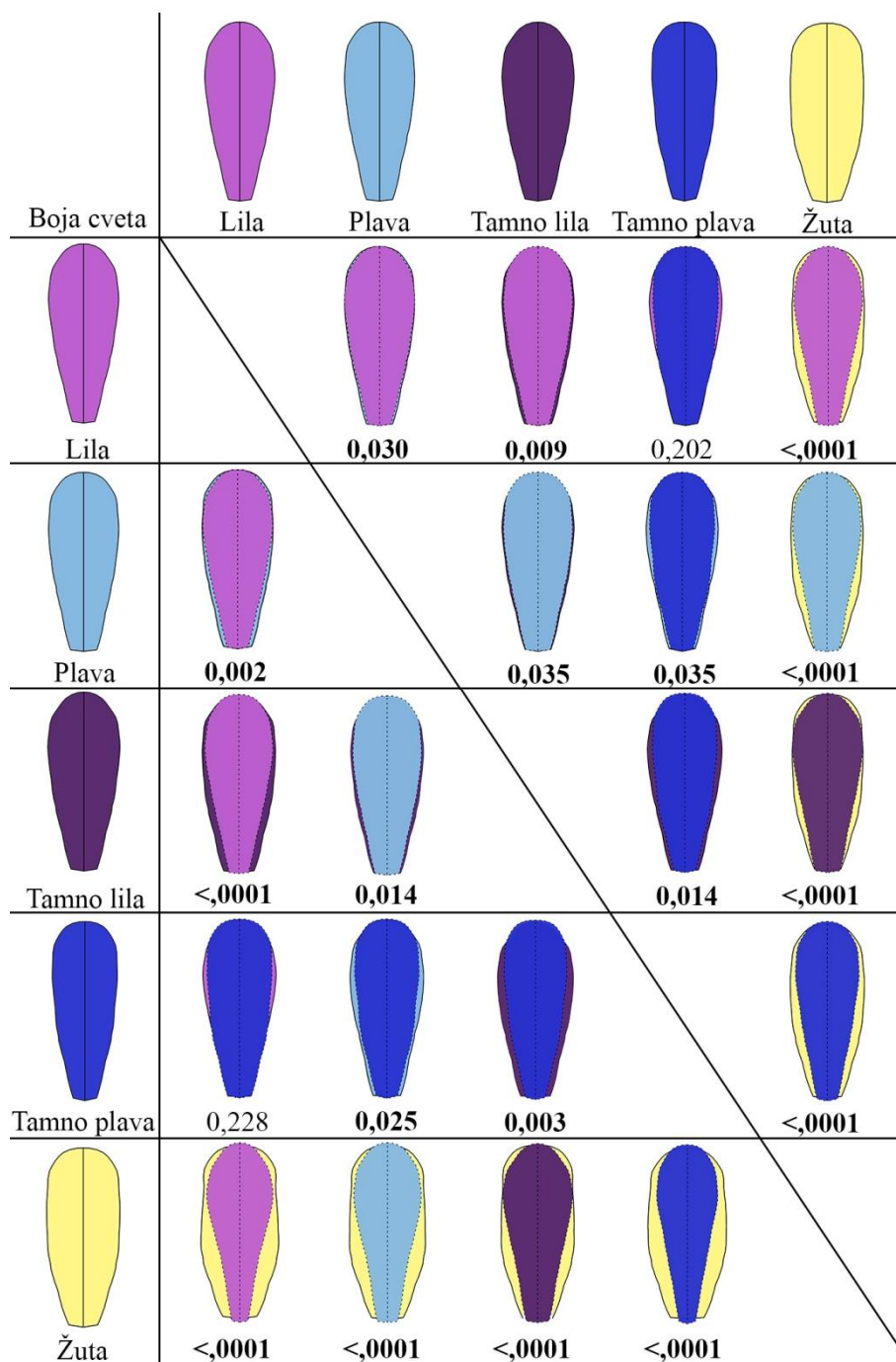
Slika 5. Uticaj orijentacije na oblik folova. A - Razlike između šest orijentacija folova u prosečnim vrednostima simetrične komponente variranja oblika (promena oblika uvećana petostruko). B - Razlike između šest orijentacija folova u prosečnim vrednostima asimetrične komponente variranja oblika (promena oblika uvećana 15 puta). C – 95% elipse poverenja za prosečne vrednosti simetrične komponente variranja oblika folova šest različitih orijentacija. D - 95% elipse poverenja za prosečne vrednosti asimetrične komponente variranja oblika folova šest različitih orijentacija.



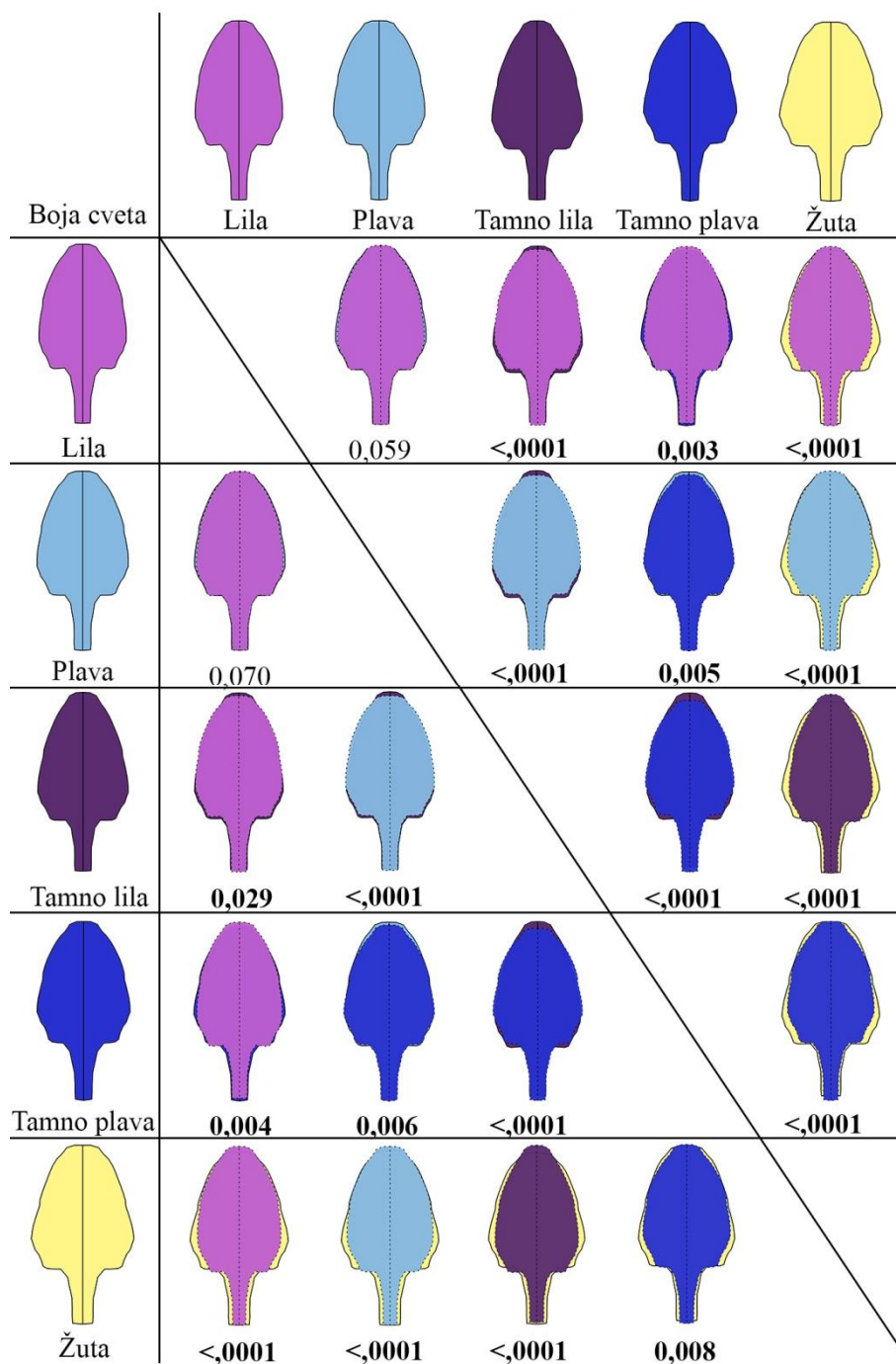
Slika 6. Uticaj orijentacije na oblik standarda. A - Razlike između šest orijentacija standarda u prosečnim vrednostima simetrične komponente variranja oblika (promena oblika uvećana petostruko). B - Razlike između šest orijentacija standarda u prosečnim vrednostima asimetrične komponente variranja oblika (promena oblika uvećana 15 puta). C – 95% elipse poverenja za prosečne vrednosti simetrične komponente variranja oblika standarda šest različitih orijentacija. D - 95% elipse poverenja za prosečne vrednosti asimetrične komponente variranja oblika standarda šest različitih orijentacija.



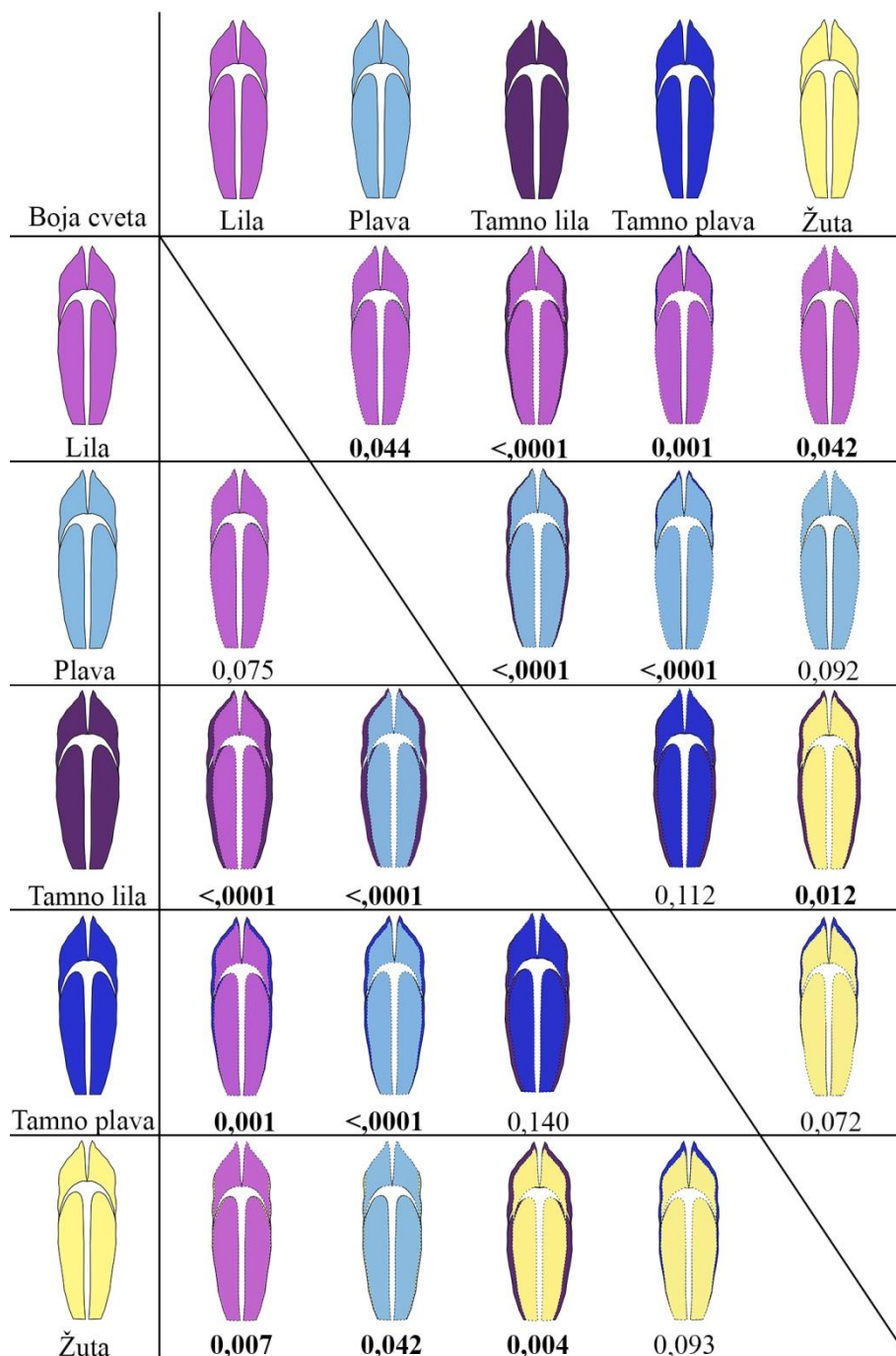
Slika 7. Uticaj orijentacije na oblik grana tučkova. A - Razlike između šest orijentacija grana tučkova u prosečnim vrednostima simetrične komponente variranja oblika (promena oblika uvećana petostruko). B - Razlike između šest orijentacija grana tučkova u prosečnim vrednostima asimetrične komponente variranja oblika (promena oblika uvećana 15 puta). C – 95% elipse poverenja za prosečne vrednosti simetrične komponente variranja oblika grana tučkova šest različitih orijentacija. D - 95% elipse poverenja za prosečne vrednosti asimetrične komponente variranja oblika grana tučkova šest različitih orijentacija.



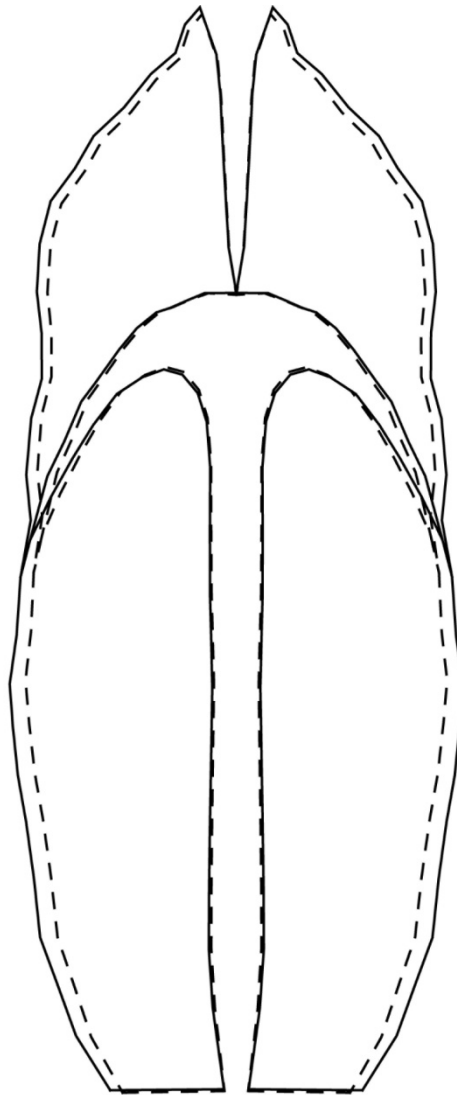
Slika 8. Grafički prikaz prosečnih oblika fola kod cvetova različite boje, dobijenih diskriminantnom analizom (DFA). Predstavljene su razlike u obliku fola uslovljene veličinom (ispod dijagonale) i bez uticaja veličine (iznad dijagonale). Statistička značajnost Prokrustovih distanci između parova srednjih oblika određenih boja data je ispod slike.



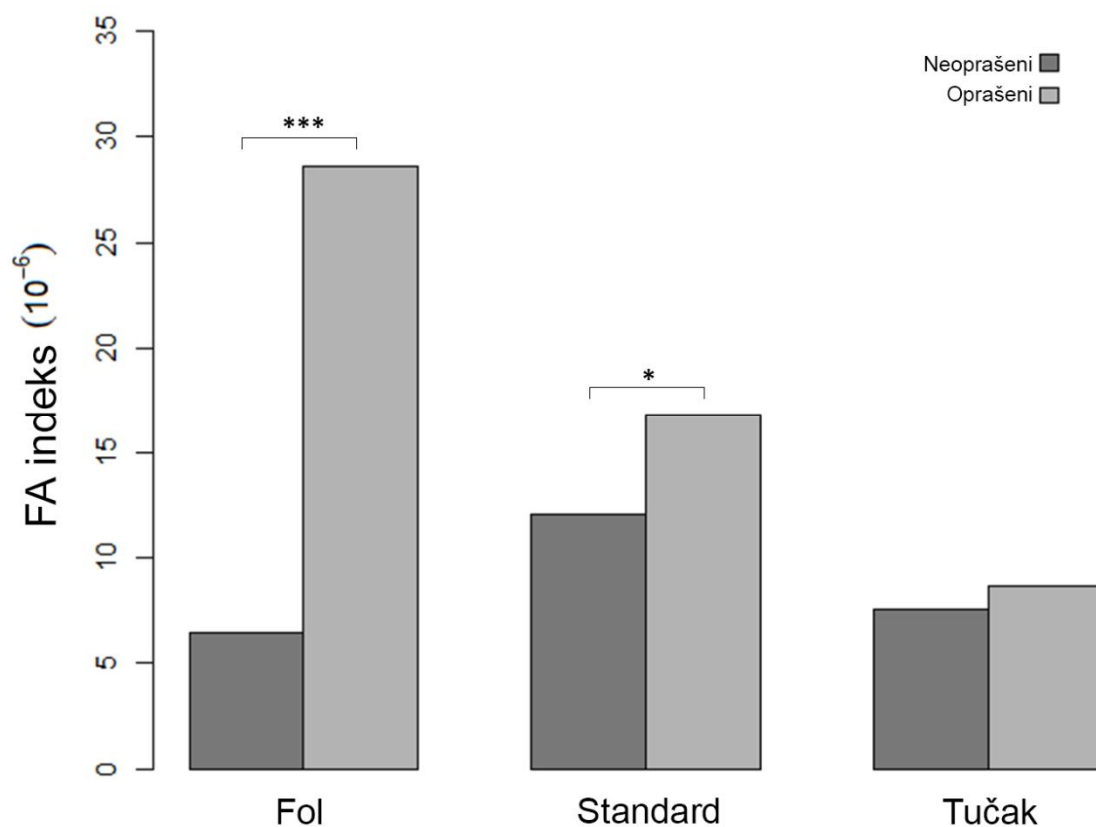
Slika 9. Grafički prikaz prosečnih oblika standarda kod cvetova različite boje, dobijenih diskriminantnom analizom (DFA). Predstavljene su razlike u obliku standarda uslovljene veličinom (ispod dijagonale) i bez uticaja veličine (iznad dijagonale). Statistička značajnost Prokrustovih distanci između parova srednjih oblika određenih boja data je ispod slike.



Slika 10. Grafički prikaz prosečnih oblika grane tučka kod cvetova različite boje, dobijenih diskriminantnom analizom (DFA). Predstavljene su razlike u obliku grane tučka uslovljene veličinom (ispod dijagonale) i bez uticaja veličine (iznad dijagonale). Statistička značajnost Prokrustovih distanci između parova srednjih oblika određenih boja data je ispod slike.



Slika 11. Razlika u srednjim oblicima oprašenih i neoprašenih grana tučkova. Srednji oblik neoprašenih grana tučka predstavljen je dijagramom sa punom linijom. Srednji oblik oprašenih tučkova predstavljen je dijagramom sa isprekidanom linijom.



Slika 12. FA10 indeksi fluktuirajuće asimetrije oblika cvetnih organa oprašenih i neoprašenih cvetova *I. pumila*. Statistička značajnost razlika u veličini fluktuirajuće asimetrije između oprašenih i neoprašenih organa utvrđena je F testom. *** $P \leq 0,001$ * $P \leq 0,05$

9. Literatura

- Adams DC, Rohlf FJ, Slice DE. 2004.** Geometric morphometrics: ten years of progress following the “revolution.” *Italian Journal of Zoology* **71**: 5–16.
- Albarrán-Lara AL, Mendoza-Cuenca L, Valencia-Avalos S, González-Rodríguez A, Oyama K. 2010.** Leaf fluctuating asymmetry increases with hybridization and introgression between *Quercus magnoliifolia* and *Quercus resinosa* (Fagaceae) through an altitudinal gradient in Mexico. *International Journal of Plant Sciences* **171**: 310–322.
- Alberch P. 1991.** From genes to phenotype: dynamical systems and evolvability. *Genetica* **84**: 5-11.
- Álvarez-Castro JM, Kopp M, Hermisson J. 2009.** Effects of epistasis and the evolution of genetic architecture: exact results for a 2-locus model. *Theoretical population biology* **75**: 109-122.
- Alves-Silva E, Del-Claro K. 2016.** Herbivory-induced stress: Leaf developmental instability is caused by herbivore damage in early stages of leaf development. *Ecological Indicators* **61**: 359–365.
- Andalo C, Bazin A, Shykoff JA. 2000.** Is there a genetic basis for fluctuating asymmetry and does it predict fitness in the plant *Lotus corniculatus* grown in different environmental conditions? *International Journal of Plant Sciences* **161**: 213–220.
- Ahnert SE. 2017.** Structural properties of genotype–phenotype maps. *Journal of The Royal Society Interface* **14**: 20170275.
- Anton KA, R Ward J, Cruzan MB. 2013.** Pollinator mediated selection on floral morphology: evidence for transgressive evolution in a derived hybrid lineage. *Journal of Evolutionary Biology* **26**: 660–673.
- Aragón S, Ackerman JD. 2004.** Does flower color variation matter in deception pollinated *Psychilis monensis* (Orchidaceae)? *Oecologia* **138**: 405–413.
- Arambourou H, Beisel J-N, Branchu P, Debat V. 2014.** Exposure to sediments from polluted rivers has limited phenotypic effects on larvae and adults of *Chironomus riparius*. *Science of the Total Environment* **484**: 92–101.

- Arista M, Talavera M, Berjano R, Ortiz PL. 2013.** Abiotic factors may explain the geographical distribution of flower colour morphs and the maintenance of colour polymorphism in the scarlet pimpernel. *Journal of Ecology* **101**: 1613–1622.
- Arnold SJ, Wade MJ. 1984.** On the measurement of natural and sexual selection: applications. *Evolution* **38**: 720–734.
- Avramov S, Pemac D, Tucić B. 2007.** Phenotypic plasticity in response to an irradiance gradient in *Iris pumila*: adaptive value and evolutionary constraints. *Plant Ecology* **190**: 275–290.
- Baranov SG, Gavrikov DE. 2013.** Use of TPS software for studying fluctuating asymmetry in flowers. *International Journal of Bioscience, Biochemistry and Bioinformatics* **3**: 284–287.
- Barkman TJ, Bendiksbj M, Lim S-H, et al. 2008.** Accelerated rates of floral evolution at the upper size limit for flowers. *Current Biology* **18**: 1508–1513.
- Barton NH, Turelli M. 1989.** Evolutionary quantitative genetics: how little do we know? *Annual Review of Genetics* **23**: 337–370.
- Blackstone NW. 1987.** Specific growth rates of parts in a hermit crab *Pagurus longicarpus*: a reductionist approach to the study of allometry. *Journal of Zoology* **211**: 531–545.
- Blackith RE, Reyment RA. 1971.** *Multivariate morphometrics*.
- Blarer A, Keasar T, Shmida A. 2002.** Possible mechanisms for the formation of flower size preferences by foraging bumblebees. *Ethology* **108**: 341–351.
- Bookstein FL. 1997.** Landmark methods for forms without landmarks: morphometrics of group differences in outline shape. *Medical image analysis* **1**: 225–243.
- Bradshaw AD. 1965.** Evolutionary significance of phenotypic plasticity in plants. *Advances in Genetics* **13**: 115–155.
- Breuker CJ, Patterson JS, Klingenberg CP. 2006.** A single basis for developmental buffering of *Drosophila* wing shape. *PLoS One* **1**: e7–e7.
- Brock MT, Weinig C. 2007.** Plasticity and environment-specific covariances: An investigation of floral-vegetative and within flower correlations. *Evolution* **61**: 2913–2924.

- Busch A, Zachgo S. 2009.** Flower symmetry evolution: towards understanding the abominable mystery of angiosperm radiation. *Bioessays* **31**: 1181–1190.
- Callahan HS, Pigliucci M, Schlichting CD. 1997.** Developmental phenotypic plasticity: where ecology and evolution meet molecular biology. *Bioessays* **19**: 519-525.
- Campbell DR, Bischoff M, Lord JM, Robertson AW. 2012.** Where have all the blue flowers gone: pollinator responses and selection on flower colour in New Zealand *Wahlenbergia albomarginata*. *Journal of Evolutionary Biology* **25**: 352–364.
- Carlson JE, Holsinger KE. 2015.** Extrapolating from local ecological processes to genus-wide patterns in colour polymorphism in South African *Protea*. *Proceedings of the Royal Society of London B: Biological Sciences* **282**: 20150583.
- Caruso CM. 2004.** The quantitative genetics of floral trait variation in *Lobelia*: potential constraints on adaptive evolution. *Evolution* **58**: 732–740.
- Caruso CM, Scott SL, Wray JC, Walsh CA. 2010.** Pollinators, herbivores, and the maintenance of flower color variation: a case study with *Lobelia siphilitica*. *International Journal of Plant Sciences* **171**: 1020–1028.
- Chahtane I, Denay G, Engelhorn J, et al. 2017.** Flower development: An integrated view. *From Molecules to Living Organisms: An Interplay Between Biology and Physics*.
- Chalker-Scott L. 1999.** Environmental significance of anthocyanins in plant stress responses. *Photochemistry and Photobiology* **70**: 1–9.
- Chapman RE. 1990.** Conventional procrustes approaches In: *Proceedings of the Michigan morphometrics workshop*. University of Michigan.
- Chess SKR, Raguso RA, LeBuhn G. 2008.** Geographic divergence in floral morphology and scent in *Linanthus dichotomus* (Polemoniaceae). *American Journal of Botany* **95**: 1652–1659.
- Cheverud JM. 1982.** Phenotypic, genetic, and environmental morphological integration in the cranium. *Evolution* **36**: 499-516.

- Cheverud JM. 1995.** Morphological integration in the saddle-back tamarin (*Saguinus fuscicollis*) cranium. *The American Naturalist* **145**: 63-89.
- Cheverud JM. 1996.** Developmental integration and the evolution of pleiotropy. *American Zoologist* **36**: 44-50.
- Chitwood DH, Headland LR, Ranjan A, et al. 2012.** Leaf asymmetry as a developmental constraint imposed by auxin-dependent phyllotactic patterning. *Plant Cell* **24**: 2318–2327.
- Clarke D, Whitney H, Sutton G, Robert D. 2013.** Detection and learning of floral electric fields by bumblebees. *Science* **340**: 66–69.
- Clegg MT, Durbin ML. 2000.** Flower color variation: a model for the experimental study of evolution. *Proceedings of the National Academy of Sciences* **97**: 7016–7023.
- Coberly LC, Rausher MD. 2008.** Pleiotropic effects of an allele producing white flowers in *Ipomoea purpurea*. *Evolution* **62**: 1076–1085.
- Conner J, Via S. 1993.** Patterns of phenotypic and genetic correlations among morphological and life-history traits in wild radish, *Raphanus raphanistrum*. *Evolution* **47**: 704–711.
- Cornelissen T, Stiling P. 2005.** Perfect is best: Low leaf fluctuating asymmetry reduces herbivory by leaf miners. *Oecologia* **142**: 46–56.
- Cornelissen T, Stiling P. 2010.** Small variations over large scales: fluctuating asymmetry over the range of two oak species. *International Journal of Plant Sciences* **171**: 303–309.
- Cowart NM, Graham JH. 1999.** Within- and among-individual variation in fluctuating asymmetry of leaves in the fig (*Ficus carica* L.). *International Journal of Plant Sciences* **160**: 116–121.
- Cresswell JE. 2000.** Manipulation of female architecture in flowers reveals a narrow optimum for pollen deposition. *Ecology* **81**: 3244–3249.
- Cruden RW, Miller-Ward S. 1981.** Pollen-ovule ratio, pollen size, and the ratio of stigmatic area to the pollen-bearing area of the pollinator: an hypothesis. *Evolution* **35**: 964–974.
- Cubas P. 2004.** Floral zygomorphy, the recurring evolution of a successful trait. *Bioessays* **26**: 1175–1184.
- Darwin C. 1862.** *On the Various Contrivances by Which British and Foreign Orchids are Fertilised by Insects: And on the Good Effect of Intercrossing*. Cambridge Library Collection.

- Debat V, David P. 2001.** Mapping phenotypes: canalization, plasticity and developmental stability. *Trends in Ecology and Evolution* **16**: 555–561.
- Drake AG, Klingenberg CP. 2010.** Large-scale diversification of skull shape in domestic dogs: disparity and modularity. *The American Naturalist* **175**: 289–301.
- Dworkin, I. 2005.** Canalization, cryptic variation, and developmental buffering: a critical examination and analytical perspective. *Variation*: 131-158
- Dryden IL, Mardia K V. 2016.** *Statistical shape analysis, with applications in R*. Wiley.
- Dyer AG. 2006.** Discrimination of flower colours in natural settings by the bumblebee species *Bombus terrestris* (Hymenoptera: Apidae). *Entomologia generalis* **28**: 257–268.
- Dyer AG, Boyd-Gerny S, Shrestha M, et al. 2016.** Innate colour preferences of the Australian native stingless bee *Tetragonula carbonaria* Sm. *Journal of Comparative Physiology A* **202**: 603–613.
- Dyer AG, Chittka L. 2004.** Biological significance of distinguishing between similar colours in spectrally variable illumination: bumblebees (*Bombus terrestris*) as a case study. *Journal of Comparative Physiology A* **190**: 105–114.
- Elle E, Carney R. 2003.** Reproductive assurance varies with flower size in *Collinsia parviflora* (Scrophulariaceae). *American Journal of Botany* **90**: 888–896.
- Ellis TJ, Field DL. 2016.** Repeated gains in yellow and anthocyanin pigmentation in flower colour transitions in the Antirrhineae. *Annals of Botany* **117**: 1133–1140.
- Epling C, Lewis H, Ball FM. 1960.** The breeding group and seed storage: a study in population dynamics. *Evolution* **14**: 238–255.
- Faegri K, Van der Pijl L. 2013.** *Principles of pollination ecology*. Elsevier.
- Falconer DS, Mackay TF. 1996.** *Introduction to Quantitative Genetics*. Longman Group Limited.

- Fenster CB. 1991.** Selection on floral morphology by hummingbirds. *Biotropica* **23**: 98–101.
- Ferdy J-B, Gouyon P-H, Moret J, Godelle B. 1998.** Pollinator behavior and deceptive pollination: learning process and floral evolution. *The American Naturalist* **152**: 696–705.
- Firmage DH, Cole FR. 1988.** Reproductive success and inflorescence size of *Calopogon tuberosus* (Orchidaceae). *American Journal of Botany* **75**: 1371–1377.
- Flatt T. 2005.** The evolutionary genetics of canalization. *The Quarterly Review of Biology* **80**: 287–316.
- Ford EB. 1945.** Polymorphism. *Biological Reviews* **20**: 73–88.
- Forsman A, Wennersten L. 2016.** Inter-individual variation promotes ecological success of populations and species: evidence from experimental and comparative studies. *Ecography* **39**: 630–648.
- Fortuna MA, Zaman L, Ofria C, Wagner A. 2017.** The genotype-phenotype map of an evolving digital organism. *PLoS Computational Biology* **13**: e1005414.
- Freeman DC, Graham JH, Emlen JM. 1993.** Developmental stability in plants: symmetries, stress and epigenesis. *Genetica* **89**: 97–119.
- Freeman DC, Graham JH, Emlen JM, et al. 2003.** Plant developmental instability: new measures, applications, and regulation. *Developmental Instability: Causes and Consequences*: 367–386.
- Frey FM, Bukoski M. 2014.** Floral symmetry is associated with flower size and pollen production but not insect visitation rates in *Geranium robertianum* (Geraniaceae). *Plant Species Biology* **29**: 272–280.
- Galen C, Newport MEA. 1987.** Bumble bee behavior and selection on flower size in the sky pilot, *Polemonium viscosum*. *Oecologia* **74**: 20–23.
- Galen C, Plowright RC. 1985.** The effects of nectar level and flower development on pollen carry-over in inflorescences of fireweed (*Epilobium angustifolium*) (Onagraceae). *Canadian Journal of Botany* **63**: 488–491.

- Gardner AG, Fitz Gerald JN, Menz J, Shepherd KA, Howarth DG, Jabaily RS. 2016.** Characterizing Floral Symmetry in the Core Goodeniaceae with Geometric Morphometrics. *PLoS One* **11**: e0154736–e0154736.
- Gigord LDB, Macnair MR, Smithson A. 2001.** Negative frequency-dependent selection maintains a dramatic flower color polymorphism in the rewardless orchid *Dactylorhiza sambucina* (L.) Soo. *Proceedings of the National Academy of Sciences* **98**: 6253–6255.
- Gilbert SF, Bolker JA. 2003.** Ecological developmental biology: preface to the symposium 1. *Evolution and Development* **5**: 3-8.
- Glover B. 2014.** *Understanding flowers and flowering second edition*. OUP Oxford.
- Gómez JM, Bosch J, Perfectti F, Fernández JD, Abdelaziz M, Camacho JPM. 2008a.** Association between floral traits and rewards in *Erysimum mediohispanicum* (Brassicaceae). *Annals of Botany* **101**: 1413–1420.
- Gómez JM, Bosch J, Perfectti F, Fernández JD, Abdelaziz M, Camacho JPM. 2008b.** Spatial variation in selection on corolla shape in a generalist plant is promoted by the preference patterns of its local pollinators. *Proceedings of the Royal Society of London B: Biological Sciences* **275**: 2241–2249.
- Gómez JM, Perfectti F. 2010.** Evolution of complex traits: the case of *Erysimum* corolla shape. *International Journal of Plant Sciences* **171**: 987–998.
- Gómez JM, Perfectti F, Camacho JPM. 2006.** Natural selection on *Erysimum mediohispanicum* flower shape: insights into the evolution of zygomorphy. *The American Naturalist* **168**: 531–545.
- Gómez JM, Perfectti F, Klingenberg CP. 2014.** The role of pollinator diversity in the evolution of corolla-shape integration in a pollination-generalist plant clade. *Philosophical Transactions of the Royal Society B* **369**: 20130257.
- Gong Y-B, Huang S-Q. 2009.** Floral symmetry: pollinator-mediated stabilizing selection on flower size in bilateral species. *Proceedings of the Royal Society of London B: Biological Sciences*: rspb20091254–rspb20091254.
- Good P. 1994.** Which Test Should You Use? *Permutation Tests*. Springer, 140–148.

- Goodall C. 1991.** Procrustes methods in the statistical analysis of shape. *Journal of the Royal Statistical Society. Series B (Methodological)*: 285–339.
- Gould SJ. 1966.** Allometry and size in ontogeny and phylogeny. *Biological Reviews* **41**: 587–638.
- Gould SJ. 1977.** *Ontogeny and Phylogeny*. Harvard University Press.
- Graham JH, Freeman DC, Emlen J M. 1994.** Antisymmetry, directional asymmetry, and dynamic morphogenesis. *Developmental instability: Its Origins and Evolutionary Implications*: 123-139.
- Graham JH, Raz S, Hel-Or H, Nevo E. 2010.** Fluctuating asymmetry: Methods, theory, and applications. *Symmetry* **2**: 466–540.
- Gumbert A. 2000.** Color choices by bumble bees (*Bombus terrestris*): innate preferences and generalization after learning. *Behavioral Ecology and Sociobiology* **48**: 36–43.
- Hallgrímsson B. 1993.** Fluctuating asymmetry in *Macaca fascicularis*: A study of the etiology of developmental noise. *International Journal of Primatology* **14**: 421-443.
- Hallgrímsson B, Willmore K, Hall BK. 2002.** Canalization, developmental stability, and morphological integration in primate limbs. *American Journal of Physical Anthropology* **119**: 131–158.
- Hallgrímsson B, Hall BK. 2005.** *Variation: A Central Concept in Biology*. Elsevier.
- Hallgrímsson B, Mio W, Marcucio RS, Spritz R. 2014.** Let's face it - complex traits are just not that simple. *PLoS Genetics* **10**: e1004724.
- Hansen TF. 1992.** Selection in asexual populations: an extension of the fundamental theorem. *Journal of Theoretical Biology* **155**: 537-544.
- Hansen TF. 2006.** The evolution of genetic architecture. *Annual Review of Ecology, Evolution and Systematics* **37**: 123-157.
- Hansen TF, Wagner GP. 2001.** Modeling genetic architecture: a multilinear theory of gene interaction. *Theoretical Population Biology* **59**: 61-86.
- Hansen TF, Álvarez-Castro JM, Carter AJ, Hermisson J, Wagner GP. 2006.** Evolution of genetic architecture under directional selection. *Evolution* **60**: 1523-1536.

- Harborne JB, Williams CA. 2000.** Advances in flavonoid research since 1992. *Phytochemistry* **55**: 481–504.
- Harder LD, Barrett SCH. 1996.** Pollen dispersal and mating patterns in animal-pollinated plants. *Floral Biology*: 140–190.
- Harder LD, Johnson SD. 2009.** Darwin's beautiful contrivances: evolutionary and functional evidence for floral adaptation. *New Phytologist* **183**: 530–545.
- Harder LD, Routley MB. 2006.** Pollen and ovule fates and reproductive performance by flowering plants. *Ecology and Evolution of Flowers*: 61–80.
- Heinrich B. 2013.** *The hot-blooded insects: strategies and mechanisms of thermoregulation*. Springer Science and Business Media.
- Helsen P, Van Dongen S. 2016.** Associations between floral asymmetry and individual genetic variability differ among three prickly pear (*Opuntia echios*) populations. *Symmetry* **8**: 116.
- Herrera CM. 2009.** *Multiplicity in unity: plant subindividual variation and interactions with animals*. University of Chicago Press.
- Hirota SK, Nitta K, Suyama Y, Kawakubo N, Yasumoto AA, Yahara T. 2013.** Pollinator-mediated selection on flower color, flower scent and flower morphology of *Hemerocallis*: Evidence from genotyping individual pollen grains on the stigma. *PloS One* **8**: e85601–e85601.
- Huh D, Paulsson J. 2011.** Non-genetic heterogeneity from stochastic partitioning at cell division. *Nature Genetics* **43**: 95–100.
- Imbert E, Wang H, Conchou L, Vincent H, Talavera M, Schatz B. 2014.** Positive effect of the yellow morph on female reproductive success in the flower colour polymorphic *Iris lutescens* (Iridaceae), a deceptive species. *Journal of Evolutionary Biology* **27**: 1965–1974.
- Internicola AI, Page PA, Bernasconi G, Gigord LDB. 2007.** Competition for pollinator visitation between deceptive and rewarding artificial inflorescences: an experimental test of the effects of floral colour similarity and spatial mingling. *Functional Ecology* **21**: 864–872.
- Irwin RE, Strauss SY. 2004.** Flower color microevolution in wild radish: evolutionary response to pollinator-mediated selection. *The American Naturalist* **165**: 225–237.

- Irwin RE, Strauss SY, Storz S, Emerson A, Guibert G. 2003.** The role of herbivores in the maintenance of a flower color polymorphism in wild radish. *Ecology* **84**: 1733–1743.
- Ivanović A, Kalezić M. 2013.** Evolucionarna morfologija: teorijske postavke i geometrijska morfometrija. *Biološki fakultet, Univerzitet u Beogradu, Beograd*.
- Jersáková J, Johnson SD, Kindlmann P. 2006.** Mechanisms and evolution of deceptive pollination in orchids. *Biological Reviews* **81**: 219–235.
- Johnson SD, Nilsson LA. 1999.** Pollen carryover, geitonogamy, and the evolution of deceptive pollination systems in orchids. *Ecology* **80**: 2607–2619.
- Jojić V, Blagojević J, Vujošević M. 2011.** B chromosomes and cranial variability in yellow-necked field mice (*Apodemus flavicollis*). *Journal of Mammalogy* **92**: 396–406.
- Jolicoeur P. 1963.** 193. Note: the multivariate generalization of the allometry equation. *Biometrics* **19**: 497–499.
- Jones KN, Reithel JS. 2001.** Pollinator-mediated selection on a flower color polymorphism in experimental populations of *Antirrhinum* (Scrophulariaceae). *American Journal of Botany* **88**: 447–454.
- Jungers WL, Falsetti AB, Wall CE. 1995.** Shape, relative size, and size adjustments in morphometrics. *American Journal of Physical Anthropology* **38**: 137–161.
- Kagawa K, Takimoto G. 2016.** Inaccurate color discrimination by pollinators promotes evolution of discrete color polymorphism in food-deceptive flowers. *The American Naturalist* **187**: 194–204.
- Kay QON. 1978.** The role of preferential and assortative pollination in the maintenance of flower colour polymorphisms. *The Pollination of Flowers by Insects*.
- Kendall DG. 1984.** Shape manifolds, procrustean metrics, and complex projective spaces. *Bulletin of the London Mathematical Society* **16**: 81–121.
- Kevan PG, Baker HG. 1983.** Insects as flower visitors and pollinators. *Annual Review of Entomology* **28**: 407–453.

- Klingenberg CP. 1998.** Heterochrony and allometry: the analysis of evolutionary change in ontogeny. *Biological Reviews* **73**: 79-123.
- Klingenberg CP. 2003.** A developmental perspective on developmental instability: theory, models and mechanisms. *Developmental Instability: Causes and Consequences*: 14–34.
- Klingenberg CP. 2008.** Morphological integration and developmental modularity. *Annual Review of Ecology, Evolution and Systematics* **39**: 115-132.
- Klingenberg CP. 2009.** Morphometric integration and modularity in configurations of landmarks: tools for evaluating a priori hypotheses. *Evolution and Development* **11**: 405–421.
- Klingenberg CP. 2010.** Evolution and development of shape: integrating quantitative approaches. *Nature Reviews Genetics* **11**: 623-635.
- Klingenberg CP. 2011.** MorphoJ: an integrated software package for geometric morphometrics. *Molecular Ecology Resources* **11**: 353–357.
- Klingenberg CP. 2013.** Visualizations in geometric morphometrics: How to read and how to make graphs showing shape changes. *Hystrix* **24**: 15–24.
- Klingenberg CP. 2015.** Analyzing fluctuating asymmetry with geometric morphometrics: concepts, methods, and applications. *Symmetry* **7**: 843–934.
- Klingenberg CP. 2016.** Size, shape, and form: concepts of allometry in geometric morphometrics. *Development Genes and Evolution* **226**: 113–137.
- Klingenberg CP, Barluenga M, Meyer A. 2002.** Shape analysis of symmetric structures: quantifying variation among individuals and asymmetry. *Evolution; International Journal of Organic Evolution* **56**: 1909–1920.
- Klingenberg CP, Duttke S, Whelan S, Kim M. 2012.** Developmental plasticity, morphological variation and evolvability: a multilevel analysis of morphometric integration in the shape of compound leaves. *Journal of Evolutionary Biology* **25**: 115–129.

- Klingenberg CP, McIntyre GS. 1998.** Geometric morphometrics of developmental instability: analyzing patterns of fluctuating asymmetry with Procrustes methods. *Evolution* **52**: 1363–1375.
- Klingenberg CP, Monteiro LR. 2005.** Distances and directions in multidimensional shape spaces: implications for morphometric applications. *Systematic Biology* **54**: 678–688.
- Klingenberg CP, Nijhout HF. 1999.** Genetics of fluctuating asymmetry: a developmental model of developmental instability. *Evolution* **53**: 358–375.
- Klinkhamer PGL, Van der Lugt P-P. 2004.** Pollinator service only depends on nectar production rates in sparse populations. *Oecologia* **140**: 491–494.
- Koethe S, Bloemer J, Lunau K. 2017.** Testing the influence of gravity on flower symmetry in five *Saxifraga* species. *Naturwissenschaften* **104**: 37.
- Komac B, Alados CL. 2012.** Fluctuating asymmetry and *Echinospartum horridum* fitness components. *Ecological Indicators* **18**: 252–258.
- Kozlov MV, Wilsey BJ, Koricheva J, Haukioja E. 1996.** Fluctuating asymmetry of birch leaves increases under pollution impact. *Journal of Applied Ecology* **33**: 1489–1495.
- Kubínová Z, Janáček J, Lhotáková Z, Šprtová M, Kubínová L, Albrechtová J. 2018.** Norway spruce needle size and cross section shape variability induced by irradiance on a macro-and microscale and CO₂ concentration. *Trees* **32**: 231–244.
- Kurepin L V, Yeung EC, Reid DM, Pharis RP. 2016.** Light signaling regulates tulip organ growth and ethylene production in a tissue-specific manner. *International Journal of Plant Sciences* **177**: 339–346.
- Lande R, Arnold SJ. 1983.** The measurement of selection on correlated characters. *Evolution* **37**: 1210–1226.
- Landi M, Tattini M, Gould KS. 2015.** Multiple functional roles of anthocyanins in plant-environment interactions. *Environmental and Experimental Botany* **119**: 4–17.
- Larcher W. 2003.** *Physiological Plant Ecology: Ecophysiology and Stress Physiology of Functional Groups*. Springer Science and Business Media.
- Lau KF, Dill KA. 1989.** A lattice statistical mechanics model of the conformational and sequence spaces of proteins. *Macromolecules* **22**: 3986–3997.

- Lavi R, Sapir Y. 2015.** Are pollinators the agents of selection for the extreme large size and dark color in *Oncocyclus* irises? *New Phytologist* **205**: 369–377.
- Layzer D. 1980.** Genetic variation and progressive evolution. *The American Naturalist* **115**: 809-826.
- Lehrer M, Horridge GA, Zhang SW, Gadagkar R. 1995.** Shape vision in bees: innate preference for flower-like patterns. *Philosophical Transactions of the Royal Society B* **347**: 123–137.
- Lens LUC, Dongen S, Kark S, Matthysen E. 2002.** Fluctuating asymmetry as an indicator of fitness: can we bridge the gap between studies? *Biological Reviews* **77**: 27–38.
- Lewontin RC. 1985.** Population genetics. *Annual Review of Genetics* **19**: 81-102.
- Lezcano AH, Quiroga MLR, Liberoff AL, Van der Molen S. 2015.** Marine pollution effects on the southern surf crab *Ovalipes trimaculatus* (Crustacea: Brachyura: Polybiidae) in Patagonia Argentina. *Marine Pollution Bulletin* **91**: 524–529.
- Litt A, Kramer EM. 2010.** The ABC model and the diversification of floral organ identity. *Seminars in cell and developmental biology*. Elsevier, 129–137.
- Lunau K, Maier EJ. 1995.** Innate colour preferences of flower visitors. *Journal of Comparative Physiology A* **177**: 1–19.
- Maestri R, Fornel R, Galiano D, de Freitas TRO. 2015.** Niche suitability affects development: Skull asymmetry increases in less suitable areas. *PloS One* **10**: e0122412–e0122412.
- Maffei ME. 2014.** Magnetic field effects on plant growth, development, and evolution. *Frontiers in Plant Science* **5**: 445.
- Makino TT, Sakai S. 2007.** Experience changes pollinator responses to floral display size: from size based to reward based foraging. *Functional Ecology* **21**: 854–863.
- Manitašević S, Dunderski J, Matic G, Tucić B. 2007.** Seasonal variation in heat shock proteins Hsp70 and Hsp90 expression in an exposed and a shaded habitat of *Iris pumila*. *Plant, Cell and Environment* **30**: 1–11.

- Manitašević Jovanović S, Tucić B, Matić G. 2011.** Differential expression of heat-shock proteins Hsp70 and Hsp90 in vegetative and reproductive tissues of *Iris pumila*. *Acta Physiologiae Plantarum* **33**: 233–240.
- Martel J, Lempa K, Haukioja E. 1999.** Effects of stress and rapid growth on fluctuating asymmetry and insect damage in birch leaves. *Oikos* **86**: 208–216.
- Martinez CC, Chitwood DH, Smith RS, Sinha NR. 2016.** Left–right leaf asymmetry in decussate and distichous phyllotactic systems. *Philosophical Transactions of the Royal Society B: Biological Sciences* **371**: 20150412.
- Mathew B. 1981.** *The Iris*. Universe Books.
- Mauer DJ, Rowley WA. 1999.** Attraction of *Culex pipiens* (Diptera: Culicidae) to flower volatiles. *Journal of Medical Entomology* **36**: 503–507.
- Mazer SJ, Hultgard U-M. 1993.** Variation and covariation among floral traits within and among four species of northern European *Primula* (Primulaceae). *American Journal of Botany* **80**: 474–485.
- McAdams, HH, Arkin, A. 1999.** It's a noisy business! Genetic regulation at the nanomolar scale. *Trends in genetics* **36**: 65–69.
- Meagher TR. 1992.** The quantitative genetics of sexual dimorphism in *Silene latifolia* (Caryophyllaceae). I. Genetic variation. *Evolution* **46**: 445–457.
- Medel R, Botto-Mahan C, Kalin-Arroyo M. 2003.** Pollinator mediated selection on the nectar guide phenotype in the Andean monkey flower, *Mimulus luteus*. *Ecology* **84**: 1721–1732.
- Meléndez-Ackerman E, Campbell DR. 1998.** Adaptive significance of flower color and inter-trait correlations in an *Ipomopsis* hybrid zone. *Evolution* **52**: 1293–1303.
- Meléndez-Ackerman E, Campbell DR, Waser NM. 1997.** Hummingbird behavior and mechanisms of selection on flower color in *Ipomopsis*. *Ecology* **78**: 2532–2541.
- Menard S. 2002.** *Applied logistic regression analysis*. Sage.
- Merlin F. 2015.** Developmental noise: Explaining the specific heterogeneity of individual organisms. *Explanation in Biology*: 91–110.

- Midgley GF, Wand SJE, Musil CF. 1998.** Repeated exposure to enhanced UVB radiation in successive generations increases developmental instability (leaf fluctuating asymmetry) in a desert annual. *Plant, Cell and Environment* **21**: 437–442.
- Miller RB. 1981.** Hawkmoths and the geographic patterns of floral variation in *Aquilegia caerulea*. *Evolution* **35**: 763–774.
- Miller R, Owens SJ, Rørslett B. 2011.** Plants and colour: flowers and pollination. *Optics and Laser Technology* **43**: 282–294.
- Mogford DJ. 1978.** Pollination and flower colour polymorphism, with special reference to *Cirsium palustre*. *The pollination of flowers by insects*.
- Møller AP. 1995.** Bumblebee preference for symmetrical flowers. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* **92**: 2288–2292.
- Møller AP. 1998.** Developmental instability of plants and radiation from Chernobyl. *Oikos* **81**: 444–448.
- Møller AP, Eriksson M. 1994.** Patterns of fluctuating asymmetry in flowers: implications for sexual selection in plants. *Journal of Evolutionary Biology* **7**: 97–113.
- Møller AP, Shykoff JA. 1999.** Morphological developmental stability in plants: patterns and causes. *International Journal of Plant Sciences* **160**: S135–S146.
- Møller AP, Sorci G. 1998.** Insect preference for symmetrical artificial flowers. *Oecologia* **114**: 37–42.
- Monteiro LR. 1999.** Multivariate Regression Models and Geometric Morphometrics: The Search for Causal Factors in the Analysis of Shape. *Systematic Biology* **48**: 192–199.
- Monteiro LR, Bordin B, dos Reis SF. 2000.** Shape distances, shape spaces and the comparison of morphometric methods. *Trends in Ecology and Evolution* **15**: 217–220.
- Montgomery BR, Rathcke BJ. 2012.** Effects of floral restrictiveness and stigma size on heterospecific pollen receipt in a prairie community. *Oecologia* **168**: 449–458.
- Morgan MT, Schoen DJ. 1997.** Selection on reproductive characters: floral morphology in *Asclepias syriaca*. *Heredity* **79**: 433.

- Muchhala N. 2007.** Adaptive trade-off in floral morphology mediates specialization for flowers pollinated by bats and hummingbirds. *The American Naturalist* **169**: 494–504.
- Murren CJ, Ellison AM. 1996.** Effects of habitat, plant size, and floral display on male and female reproductive success of the neotropical orchid *Brassavola nodosa*. *Biotropica* **28**: 30–41.
- Narbona E, Wang H, Ortiz PL, Arista M, Imbert E. 2018.** Flower colour polymorphism in the Mediterranean Basin: occurrence, maintenance and implications for speciation. *Plant Biology* **20**: 8–20.
- Neal PR, Dafni A, Giurfa M. 1998.** Floral symmetry and its role in plant-pollinator systems: terminology, distribution, and hypotheses. *Annual Review of Ecology and Systematics* **29**: 345–373.
- Neiland MRM, Wilcock CC. 1998.** Fruit set, nectar reward, and rarity in the Orchidaceae. *American Journal of Botany* **85**: 1657–1671.
- Nijhout HF, Davidowitz G. 2003.** Developmental perspectives on phenotypic variation, canalization, and fluctuating asymmetry. *Developmental Instability: Causes and Consequences*: 3–13.
- Ollerton J, Lack A. 1998.** Relationships between flowering phenology, plant size and reproductive success in shape *Lotus corniculatus* (Fabaceae). *Plant Ecology* **139**: 35–47.
- Olson EC, Miller RL. 1958.** *Morphological integration*. University of Chicago Press.
- Palmer AR. 1994.** Fluctuating asymmetry analyses: a primer. *Developmental instability: Its Origins and Evolutionary Implications*: 335–364.
- Palmer AR, Strobeck C. 1986.** Fluctuating asymmetry: measurement, analysis, patterns. *Annual review of Ecology and Systematics*: 391–421.
- Palmer AR, Strobeck C. 2003.** Fluctuating asymmetry analyses revisited. *Developmental Instability: Causes and Consequences*: 279–319.
- Pande PC, Singh V. 1981.** Floral development of *Iris decora* Wall (Iridaceae). *Botanical Journal of the Linnean Society* **83**: 41–56.
- Parachnowitsch AL, Kessler A. 2010.** Pollinators exert natural selection on flower size and floral display in *Penstemon digitalis*. *New Phytologist* **188**: 393–402.

- Parachnowitsch AL, Raguso RA, Kessler A. 2012.** Phenotypic selection to increase floral scent emission, but not flower size or colour in bee pollinated *Penstemon digitalis*. *New Phytologist* **195**: 667–675.
- Parsons PA. 1990.** Fluctuating asymmetry: an epigenetic measure of stress. *Biological reviews* **65**: 131–145.
- Pélabon C, Hansen TF, Carlson ML, Armbruster WS. 2006.** Patterns of asymmetry in the twining vine *Dalechampia scandens* (Euphorbiaceae): ontogenetic and hierarchical perspectives. *New Phytologist* **170**: 65–74.
- Pélabon C, Hansen TF, Carter AJ, Houle D. 2010.** Evolution of variation and variability under fluctuating, stabilizing, and disruptive selection. *Evolution: International Journal of Organic Evolution* **64**: 1912–1925.
- Pélabon C, Armbruster WS, Hansen TF. 2011.** Experimental evidence for the Berg hypothesis: vegetative traits are more sensitive than pollination traits to environmental variation. *Functional Ecology* **25**: 247–257.
- Pellegrino G. 2015.** Pollinator limitation on reproductive success in *Iris tuberosa*. *AoB Plants* **7**: plu089.
- Perfectti F, Camacho JPM. 1999.** Analysis of genotypic differences in developmental stability in *Annona cherimola*. *Evolution* **53**: 1396–1405.
- Phair RD, Misteli T. 2000.** High mobility of proteins in the mammalian cell nucleus. *Nature* **404**: 604.
- Pigliucci M. 2001.** *Phenotypic Plasticity: Beyond Nature and Nurture*. JHU Press.
- Pigliucci M. 2010.** Genotype–phenotype mapping and the end of the ‘genes as blueprint’ metaphor. *Philosophical Transactions of the Royal Society of London B: Biological Sciences* **365**: 557–566.
- Pigliucci M, Schmitt J. 1999.** Genes affecting phenotypic plasticity in *Arabidopsis*: pleiotropic effects and reproductive fitness of photomorphogenic mutants. *Journal of Evolutionary Biology* **12**: 551–562.
- Proctor M, Yeo P, Lack A. 1996.** *The natural history of pollination*. Harper Collins Publishers.

- Radović S, Urošević A, Hočevar K, Vuleta A, Manitašević-Jovanović S, Tucić B. 2017.** Geometric morphometrics of functionally distinct floral organs in *Iris pumila*: Analyzing patterns of symmetric and asymmetric shape variations. *Archives of Biological Sciences* **69**: 223–231.
- Radwan J, Watson PJ, Farslow J, Thornhill R. 2003.** Procrustean analysis of fluctuating asymmetry in the bulb mite *Rhizoglyphus robini* Claparede (Astigmata: Acaridae). *Biological Journal of the Linnean Society* **80**: 499–505.
- Randolf LF. 1955.** The geographic distribution of European and eastern Mediterranean species of bearded *Iris*. *Iris Year Book* **1955**: 35–46.
- Rao G-Y, Andersson S, Widén B. 2002.** Flower and cotyledon asymmetry in *Brassica cretica*: genetic variation and relationships with fitness. *Evolution* **56**: 690–698.
- Rasband WS. 1997.** ImageJ. US National Institutes of Health, Bethesda, MD.
- Raz S, Graham JH, Hel-Or H, Pavliček T, Nevo E. 2011.** Developmental instability of vascular plants in contrasting microclimates at “Evolution Canyon.” *Biological Journal of the Linnean Society* **102**: 786–797.
- Razafimandimbison SG, Ekman S, McDowell TD, Bremer B. 2012.** Evolution of growth habit, inflorescence architecture, flower size, and fruit type in rubiaceae: its ecological and evolutionary implications. *PloS One* **7**: e40851–e40851.
- Rodríguez I, Gumbert A, de Ibarra NH, Kunze J, Giurfa M. 2004.** Symmetry is in the eye of the “beeholder”: innate preference for bilateral symmetry in flower-naïve bumblebees. *Naturwissenschaften* **91**: 374–377.
- Rohlf FJ. 2006.** tpsDig 2.10. *Stony Brook, NY: Department of Ecology and Evolution, State University of New York.*
- Rohlf FJ, Slice D. 1990.** Extensions of the Procrustes method for the optimal superimposition of landmarks. *Systematic Biology* **39**: 40–59.
- Rolian C, Willmore KE. 2009.** Morphological integration at 50: patterns and processes of integration in biological anthropology. *Evolutionary Biology* **36**: 1–4.
- Rutherford SL. 2000.** From genotype to phenotype: buffering mechanisms and the storage of genetic information. *Bioessays* **22**: 1095–1105.

- Sanchez AM, Bosch M, Bots M, Nieuwland J, Feron R, Mariani C. 2004.** Pistil factors controlling pollination. *The Plant Cell* **16**: S98–S106.
- Sandner TM, Matthies D. 2017.** Fluctuating asymmetry of leaves is a poor indicator of environmental stress and genetic stress by inbreeding in *Silene vulgaris*. *Ecological Indicators* **79**: 247–253.
- Santos M, Brites D, Laayouni H. 2006.** Thermal evolution of pre adult life history traits, geometric size and shape, and developmental stability in *Drosophila subobscura*. *Journal of Evolutionary Biology* **19**: 2006 - 2021.
- SAS Institute Inc. 2010.** SAS/STAT user's guide.
- Savriama Y, Gómez JM, Perfectti F, Klingenberg CP. 2012.** Geometric morphometrics of corolla shape: dissecting components of symmetric and asymmetric variation in *Erysimum mediohispanicum* (Brassicaceae). *New Phytologist* **196**: 945–954.
- Savriama Y, Klingenberg CP. 2010.** Geometric morphometrics of symmetry and allometry in *Micrasterias rotata* (Zygnemophyceae, Viridiplantae). *Nova Hedwigia* **136**: 43–54.
- Savriama Y, Klingenberg CP. 2011.** Beyond bilateral symmetry: geometric morphometric methods for any type of symmetry. *BMC Evolutionary Biology* **11**: 280.
- Schaefer HM, Ruxton GD. 2011.** *Plant-animal communication*. OUP Oxford.
- Schatz B, Delle-Vedove R, Dormont L. 2013.** Presence, distribution and effect of white, pink and purple morphs on pollination in the orchid *Orchis mascula*. *European Journal of Environmental Sciences* **3**:119 - 128.
- Scheiner S M. 1993.** Genetics and evolution of phenotypic plasticity. *Annual Review of Ecology and Systematics* **24**: 35-68.
- Schemske DW, Bierzychudek P. 2001.** Perspective: evolution of flower color in the desert annual *Linanthus parryae*: Wright revisited. *Evolution* **55**: 1269–1282.
- Schemske DW, Bradshaw HD. 1999.** Pollinator preference and the evolution of floral traits in monkeyflowers (*Mimulus*). *Proceedings of the National Academy of Sciences* **96**: 11910–11915.
- Schiestl FP, Johnson SD. 2013.** Pollinator-mediated evolution of floral signals. *Trends in Ecology and Evolution* **28**: 307–315.

- Schlichting CD, Pigliucci M. 1998.** *Phenotypic evolution: a reaction norm perspective*. Sinauer Associates Incorporated.
- Schlichting CD, Smith H. 2002.** Phenotypic plasticity: linking molecular mechanisms with evolutionary outcomes. *Evolutionary Ecology* **16**: 189-211.
- Schoute JC. 1935.** On corolla destination and phyllotaxis of floral phyllomes. *Verh. kon. akad. Wet., Amsterdam. Afd. Natuurk* **34**: 1–77.
- Schuster P. 2006.** Prediction of RNA secondary structures: from theory to models and real molecules. *Reports on Progress in Physics* **69**: 1419.
- Schuster P, Fontana W, Stadler PF, Hofacker IL. 1994.** From sequences to shapes and back: a case study in RNA secondary structures. *Proceedings of the Royal Society of London B: Biological Sciences* **255**: 279-284.
- Shykoff JA, Kaltz O. 1998.** Phenotypic changes in host plants diseased by *Microbotryum violaceum*: parasite manipulation, side effects, and trade-offs. *International Journal of Plant Sciences* **159**: 236–243.
- Siegel AF, Benson RH. 1982.** A robust comparison of biological shapes. *Biometrics*: 341–350.
- Siikamäki P, Lammi A. 1998.** Fluctuating asymmetry in central and marginal populations of *Lychnis viscaria* in relation to genetic and environmental factors. *Evolution* **52**: 1285–1292.
- Sletvold N, Trunschke J, Smit M, Verbeek J, Ågren J. 2016.** Strong pollinator-mediated selection for increased flower brightness and contrast in a deceptive orchid. *Evolution* **70**: 716–724.
- Smith RJ. 1980.** Rethinking allometry. *Journal of Theoretical Biology* **87**: 97–111.
- Smith RJ. 1984.** Determination of relative size: the “criterion of subtraction” problem in allometry. *Journal of Theoretical Biology* **108**: 131–142.
- Smith H. 1995.** Physiological and ecological function within the phytochrome family. *Annual Review of Plant Physiology and Plant Molecular Biology* **46**: 289–315.
- Smithson A, MacNair MR. 1996.** Frequency-dependent selection by pollinators: mechanisms and consequences with regard to behaviour of bumblebees *Bombus terrestris* (L.) (Hymenoptera: Apidae). *Journal of Evolutionary Biology* **9**: 571–588.

- Smithson A, MacNair MR. 1997.** Negative frequency-dependent selection by pollinators on artificial flowers without rewards. *Evolution* **51**: 715–723.
- Sobel JM, Streisfeld MA. 2013.** Flower color as a model system for studies of plant evo-devo. *Frontiers in plant science* **4**: 321.
- Souto-Vilarós D, Vuleta A, Jovanović SM, et al. 2018.** Are pollinators the agents of selection on flower colour and size in irises? *Oikos* **127**: 834–846.
- Stanton ML. 1987.** Reproductive biology of petal color variants in wild populations of *Raphanus sativus*: II. Factors limiting seed production. *American Journal of Botany* **74**: 188–196.
- Stearns SC. 1989.** The evolutionary significance of phenotypic plasticity. *Bioscience* **39**: 436–445.
- Sterns SC, Kawecki TJ. 1994.** Fitness sensitivity and the canalization of life history traits. *Evolution* **48**: 1438–1450.
- Stebbins GL. 1974.** *Flowering plants: Evolution above the species level*. Belknap, Cambridge.
- Strauss RE, Bookstein FL. 1982.** The truss: body form reconstructions in morphometrics. *Systematic Biology* **31**: 113–135.
- Strauss SY, Whittall JB. 2006.** Non-pollinator agents of selection on floral traits. *Ecology and Evolution of Flowers*: 120–138.
- Subramaniam B, Rausher MD. 2000.** Balancing selection on a floral polymorphism. *Evolution* **54**: 691–695.
- Sultan SE. 2003.** Phenotypic plasticity in plants: a case study in ecological development. *Evolution and Development* **5**: 25–33.
- Taiz L, Zeiger E. 2010.** *Plant physiology 5th Ed.* Sunderland, MA: Sinauer Associates.
- Takahashi KH. 2013.** Multiple capacitors for natural genetic variation in *Drosophila melanogaster*. *Molecular ecology* **22**: 1356–1365.
- Takahashi KH. 2015.** Novel genetic capacitors and potentiators for the natural genetic variation of sensory bristles and their trait specificity in *Drosophila melanogaster*. *Molecular ecology* **24**: 5561–5572.
- Takahashi KH. 2018.** Multiple modes of canalization: links between genetic, environmental canalizations and developmental stability, and their trait-specificity. *Seminars in Cell and Developmental Biology*.

- Tanaka Y, Brugliera F, Kalc G, et al. 2010.** Flower color modification by engineering of the flavonoid biosynthetic pathway: practical perspectives. *Bioscience, Biotechnology and Biochemistry* **74**: 1760–1769.
- Tanaka Y, Sasaki N, Ohmiya A. 2008.** Biosynthesis of plant pigments: anthocyanins, betalains and carotenoids. *The Plant Journal* **54**: 733–749.
- Tarasjev A. 1997.** Flowering phenology in natural populations of *Iris pumila*. *Ecography* **20**: 48–54.
- Tarasjev A, Avramov S, Miljković D. 2012.** Evolutionary biology studies on the *Iris pumila* clonal plant: Advantages of a good model system, main findings and directions for further research. *Archives of Biological Sciences* **64**: 159–174.
- Tattini M, Galardi C, Pinelli P, et al. 2004.** Differential accumulation of flavonoids and hydroxycinnamates in leaves of *Ligustrum vulgare* under excess light and drought stress. *New Phytologist* **163**: 547–561.
- Telhado C, Silveira FAO, Fernandes GW, Cornelissen T. 2017.** Fluctuating asymmetry in leaves and flowers of sympatric species in a tropical montane environment. *Plant Species Biology* **32**: 3–12.
- Theißen G, Melzer R, Rümpler F. 2016.** MADS-domain transcription factors and the floral quartet model of flower development: linking plant development and evolution. *Development* **143**: 3259–3271.
- Thompson D. 1917.** *AW 1942. On growth and form.* Abridged edition
- Thomson JD, Plowright RC. 1980.** Pollen carryover, nectar rewards, and pollinator behavior with special reference to *Diervilla lonicera*. *Oecologia* **46**: 68–74.
- Timm NH. 2002.** *Applied multivariate analysis.* Springer.
- Tremblay RL, Ackerman JD, Zimmerman JK, Calvo RN. 2004.** Variation in sexual reproduction in orchids and its evolutionary consequences: a spasmodic journey to diversification. *Biological Journal of the Linnean Society* **84**: 1–54.
- Tucić B, Avramov S. 1996.** Maternal effects on early juvenile traits in *Iris pumila* (Iridaceae). *Plant systematics and evolution* **201**: 179–197.
- Tucić B, Manitašević S, Vuleta A, Matić G. 2008.** Linking Hsp90 function to micro-environmental and stochastic variation in floral organs of *Iris pumila* L. *Archives of Biological Sciences* **60**: 411–419.
- Tucić B, Miljković D. 2010.** Fluctuating asymmetry of floral organ traits in

- natural populations of *Iris pumila* from contrasting light habitats. *Plant Species Biology* **25**: 173–184.
- Tucić B, Milojković S, Tarasjev A, Vijičić S. 1989.** The influence of climatic factors on clonal diversity in a population of *Iris pumila*. *Oikos* **56**: 115–120.
- Tucić B, Milojković S, Vujčić S, Tarasjev A. 1988.** Clonal diversity and dispersion in *Iris pumila*. *Acta oecologica. Oecologia Plantarum* **9**: 211–219.
- Tucić B, Tarasjev A, Vujčić S, Milojković S, Tucić N. 1990.** Phenotypic plasticity and character differentiation in a subdivided population of *Iris pumila* (Iridaceae). *Plant Systematics and Evolution* **170**: 1–9.
- Tucić B, Tomić V, Avramov S, Pemac D. 1998.** Testing the adaptive plasticity of *Iris pumila* leaf traits to natural light conditions using phenotypic selection analysis. *Acta Oecologica* **19**: 473–481.
- Tucić B, Vuleta A, Manitašević Jovanović S. 2009.** Protective function of foliar anthocyanins: in situ experiments on a sun-exposed population of *Iris pumila* L. (Iridaceae). *Polish Journal of Ecology* **57**: 779–783.
- Tucić B, Vuleta A, Manitašević Jovanović S. 2013.** Exploring phenotypic floral integration in *Iris pumila* L.: a common-garden experiment. *Archives of Biological Sciences* **65**: 781–793.
- Tucić B, Budečević S, Manitašević Jovanović S, Vuleta A, Klingenberg CP. 2018.** Phenotypic plasticity in response to environmental heterogeneity contributes to fluctuating asymmetry in plants: first empirical evidence. *Journal of Evolutionary Biology* **31**: 197–210.
- Ushimaru A, Itagaki T, Ishii HS. 2003.** Variation in floral organ size depends on function. *Evolutionary Ecology Research* **5**: 615–622.
- Ushimaru A, Nakata K. 2001.** Evolution of flower allometry and its significance for pollination success in the deceptive orchid *Pogonia japonica*. *International Journal of Plant Sciences* **162**: 1307–1311.
- Van Kleunen M, Fischer M. 2005.** Constraints on the evolution of adaptive phenotypic plasticity in plants. *New Phytologist* **166**: 49–60.
- Van Valen L. 1962.** A study of fluctuating asymmetry. *Evolution* **16**: 125–142.
- Valenta K, Nevo O, Martel C, Chapman CA. 2017.** Plant attractants: integrating insights from pollination and seed dispersal ecology.

- Evolutionary Ecology* **31**: 249–267.
- Vaupel A, Matthies D. 2012.** Abundance, reproduction, and seed predation of an alpine plant decrease from the center toward the range limit. *Ecology* **93**: 2253–2262.
- Vermeij GJ. 1970.** Adaptive versatility and skeleton construction. *The American Naturalist* **104**: 253-260.
- Vermeij GJ. 1973.** Morphological patterns in high-intertidal gastropods: adaptive strategies and their limitations. *Marine Biology* **20**: 319-346.
- Vermeij GJ. 1977.** The Mesozoic marine revolution: evidence from snails, predators and grazers. *Paleobiology* **3**: 245-258.
- Via S, Lande R. 1987.** Evolution of genetic variability in a spatially heterogeneous environment: effects of genotype–environment interaction. *Genetics Research* **49**: 147-156.
- Via S, Gomulkiewicz R, De Jong G, Scheiner SM, Schlichting CD, Van Tienderen PH. 1995.** Adaptive phenotypic plasticity: consensus and controversy. *Trends in Ecology and Evolution* **10**: 212-217.
- Viscosi V. 2015.** Geometric morphometrics and leaf phenotypic plasticity: assessing fluctuating asymmetry and allometry in European white oaks (*Quercus*). *Botanical Journal of the Linnean Society* **179**: 335–348.
- Viscosi V, Cardini A. 2011.** Leaf morphology, taxonomy and geometric morphometrics: a simplified protocol for beginners. *PloS One* **6**: e25630–e25630.
- Vuleta A, Manitašević Jovanović S, Šešlija D, Tucić B. 2009.** Seasonal dynamics of foliar antioxidative enzymes and total anthocyanins in natural populations of *Iris pumila* L. *Journal of Plant Ecology* **3**: 59–69.
- Wade MJ, Winther RG, Agrawal AF, Goodnight CJ. 2001.** Alternative definitions of epistasis: dependence and interaction. *Trends in Ecology and Evolution* **16**: 498-504.
- Waddington CH. 1942.** Canalization of development and the inheritance of acquired characters. *Nature* **150**: 563–565.
- Waddington KD. 2001.** Subjective evaluation and choice behavior by nectar-and pollen-collecting bees. *Cognitive Ecology of Pollination: Animal Behavior and Floral Evolution*: 41–60.
- Wagner GP. 1996.** Homologues, natural kinds and the evolution of modularity. *American Zoologist* **36**: 3-43.

- Wagner GP, Altenberg L. 1996.** Perspective: complex adaptations and the evolution of evolvability. *Evolution* **50**: 967–976.
- Waldmann P. 2001.** The effect of inbreeding on fluctuating asymmetry in *Scabiosa canescens* (Dipsacaceae). *Evolutionary Ecology* **15**: 117–127.
- Wang H, Talavera M, Min Y, Flaven E, Imbert E. 2016.** Neutral processes contribute to patterns of spatial variation for flower colour in the Mediterranean *Iris lutescens* (Iridaceae). *Annals of Botany* **117**: 995–1007.
- Warren J, Mackenzie S. 2001.** Why are all colour combinations not equally represented as flower-colour polymorphisms? *New Phytologist* **151**: 237–241.
- Waser NM, Price M V. 1981.** Pollinator choice and stabilizing selection for flower color in *Delphinium nelsonii*. *Evolution* **35**: 376–390.
- Weinig C. 2002.** Phytochrome photoreceptors mediate plasticity to light quality in flowers of the Brassicaceae. *American Journal of Botany* **89**: 230–235.
- West EL, Lavery TM. 1998.** Effect of floral symmetry on flower choice and foraging behaviour of bumble bees. *Canadian Journal of Zoology* **76**: 730–739.
- Wheldale M. 1916.** *The anthocyanin pigments of plants*. Princeton University Press.
- Willmer P. 2011.** *Pollination and floral ecology*. Princeton University Press.
- Willmore KE, Hallgrímsson B. 2005.** Within individual variation: developmental noise versus developmental stability. *Variation*: 191–218.
- Willmore KE, Young NM, Richtsmeier JT. 2007.** Phenotypic variability: its components, measurement and underlying developmental processes. *Evolutionary Biology* **34**: 99–120.
- Willson MF, Schemske DW. 1980.** Pollinator limitation, fruit production, and floral display in pawpaw (*Asimina triloba*). *Bulletin of the Torrey Botanical Club* **107**: 401–408.
- Winkel-Shirley B. 2002.** Biosynthesis of flavonoids and effects of stress. *Current opinion in plant biology* **5**: 218–223.
- Wolfe LM, Krstolic JL. 1999.** Floral symmetry and its influence on variance in flower size. *The American Naturalist* **154**: 484–488.

- Wolfe JB, Frankino WA, Agrawal AF, Brodie III ED, Moore AJ. 2001.** Developmental interactions and the constituents of quantitative variation. *Evolution* **55**: 232-245.
- Wolfe JB, Pomp D, Eisen EJ, Cherevud JM, Leamy LJ. 2006.** The contribution of epistatic pleiotropy to the genetic architecture of covariation among polygenic traits in mice. *Evolution and Development* **8**: 468-476.
- Worley AC, Barrett SCH. 2000.** Evolution of floral display in *Eichhornia paniculata* (Pontederiaceae): direct and correlated responses to selection on flower size and number. *Evolution* **54**: 1533–1545.
- Wright S. 1943.** Isolation by distance. *Genetics* **28**: 114–138.
- Wright S. 1978.** *Evolution and the genetics of natural populations. Volume IV, Variability within and among natural populations.* Chicago Press.
- Wu CA, Streisfeld MA, Nutter LI, Cross KA. 2013.** The genetic basis of a rare flower color polymorphism in *Mimulus lewisii* provides insight into the repeatability of evolution. *PloS One* **8**: e81173–e81173.
- Wu R. 2012.** Predicting the genotype-phenotype map of complex traits. *Journal of Biometrics and Biostatistics* **3**: 3-5.
- Yang C-F, Guo Y-H, Gituru RW, Sun S-G. 2002.** Variation in stigma morphology—How does it contribute to pollination adaptation in *Pedicularis* (Orobanchaceae)? *Plant Systematics and Evolution* **236**: 89–98.
- Yang S-X, Yang C-F, Zhang T, Wang Q-F. 2004.** A mechanism facilitates pollination due to stigma behavior in *Campsis radicans* (Bignoniaceae). *Acta Botanica Sinica* **46**: 1071–1074.
- Yoshioka Y, Ohashi K, Konuma A, Iwata H, Ohsawa R, Ninomiya S. 2007.** Ability of bumblebees to discriminate differences in the shape of artificial flowers of *Primula sieboldii* (Primulaceae). *Annals of Botany* **99**: 1175–1182.
- Zelditch ML, Swiderski DL, Sheets HD. 2012.** *Geometric morphometrics for biologists: a primer.* Academic Press.
- Zhang C, Tateishi N, Tanabe K. 2010.** Pollen density on the stigma affects endogenous gibberellin metabolism, seed and fruit set, and fruit quality in *Pyrus pyrifolia*. *Journal of Experimental Botany* **61**: 4291–4302.

Zhou W, Tan Y, Anderson DJ, et al. 2013. Use of somatic mutations to quantify random contributions to mouse development. *BMC genomics* **14**: 39.

Biografija autora

Sanja Budečević rođena je 1. februara 1986. godine u Rumi. Nakon završene osnovne škole i gimnazije "Stevan Puzić" u Rumi, prirodno-matematički smer, školske 2005/2006 godine upisuje Biološki fakultet Univerziteta u Beogradu, studijska grupa molekularna biologija i fiziologija. Diplomirala je 2013. godine sa prosečnom ocenom 8, 09. Doktorske studije na Biološkom fakultetu Univerziteta u Beogradu, smer Biologija, upisala je školske 2014/2015. godine.

Sanja Budečević je svoju naučnoistraživačku delatnost započela 2013. godine u odeljenju Evolucionarna biologija Instituta za biološka istraživanja „Siniša Stanković“, na projektu osnovnih istraživanja Ministarstva prosvete, nauke i tehnološkog razvoja Republike Srbije „Evolucija u laboratoriji i adaptacije u prirodi“ (br. 173007). Doktorsku disertaciju pod nazivom „Morfološko variranje, fenotipska plastičnost i fluktuirajuća asimetrija oblika cvetnih organa kod *Iris pumila* L.“ prijavila je na X redovnoj sednici Nastavno-naučnog veća Biološkog fakulteta Univerziteta u Beogradu održanoj 5.10.2016. Nastavno-naučno veće fakulteta je na I redovnoj sednici održanoj 14.10.2016. godine, donelo odluku o prihvatanju Izveštaja Komisije za ocenu ispunjenosti uslova i naučne zasnovanosti teme doktorske disertacije. Dosadašnje rezultate svojih istraživanja Sanja je prikazala u tri naučna rada publikovana u vrhunskim i istaknutim međunarodnim časopisima i četiri kongresna saopštenja na međunarodnim naučnim skupovima.