#### UNIVERZITET U BEOGRADU BIOLOŠKI FAKULTET

Nataša R. Barišić Klisarić

# Fluktuirajuća asimetrija kao pokazatelj stabilnosti razvića odabranih biljnih taksona u uslovima nenarušene životne sredine i antropogeno indukovanog stresa

Doktorska disertacija

# UNIVERSITY OF BELGRADE FACULTY OF BIOLOGY

Nataša R. Barišić Klisarić

# Fluctuating asymmetry as an indicator of developmental stability of selected plant taxa in unpolluted environment and under anthropogenically induced stress

**Doctoral dissertation** 

Mentori:	
	dr Aleksej Tarasjev, viši naučni saradnik
Ins	Univerzitet u Beogradu stitut za biološka istraživanja "Siniša Stanković"
	dr Vladimir Stevanović, redovni profesor
	Univerzitet u Beogradu
	Biološki fakultet
	redovni član SANU
Članovi komisije:	
	dr Danijela Miljković, naučni saradnik
Ins	Univerzitet u Beogradu stitut za biološka istraživanja "Siniša Stanković"
	dr Stevan Avramov, naučni saradnik Univerzitet u Beogradu stitut za biološka istraživanja "Siniša Stanković"
Datum odbrane:	

Eksperimentalni deo doktorske disertacije je urađen u okviru projekata osnovnih istraživanja Ministarstva prosvete, nauke i tehnološkog razvoja Republike Srbije "Evolucija u heterogenim sredinama" (br. 1725 i br. 143040, rukovodioci dr Jelka Crnobrnja Isailović i dr Aleksej Tarasjev) i "Evolucija u heterogenim sredinama: mehanizmi adaptacija, biomonitoring i konzervacija biodiverziteta" (br. 17302, rukovodilac prof dr Predrag Simonović), u okviru Odeljenja za evolucionu biologiju, Instituta za biološka istraživanja "Siniša Stanković", Univerziteta u Beogradu.

Veliku zahvalnost dugujem mentorima dr Alekseju Tarasjevu i prof dr Vladimiru Stevanoviću na stručnim savetima, sugestijama i ukazanom poverenju.

Najsrdačnije hvala dr Danijeli Miljković i dr Stevanu Avramovu, kao i dr Biljani Stojković i kolegama Urošu Živkoviću i Danijeli Prokić na svakolikoj pomoći i podršci. Zahvaljujem se od srca svim kolegama i koleginicama sa projekta, kao i sa Odeljenja za evolucionu biologiju i Odeljenja za genetička istraživanja na pomoći, podršci i velikom razumevanju.

Hvala mojoj porodici na ljubavi i strpljenju.

#### Fluktuirajuća asimetrija kao pokazatelj stabilnosti razvića odabranih biljnih taksona u uslovima nenarušene životne sredine i antropogeno indukovanog stresa

#### REZIME

Promene u životnoj sredini od industrijske revolucije do danas su bez presedana u istoriji živog sveta i svojim razmerama prete da nadmaše adaptivni potencijal mnogih živih organizama, naročito biljaka, koje kao sesilni organizmi imaju samo ograničene mehanizme za izbegavanje stresa. Razumevanje kako biljke reaguju na ovakve promene, od subcelularnog do nivoa zajednica, je od krucijalnog značaja.

U ovom radu smo ispitivali mogućnosti korišćenja analiza fluktuirajuće i radijalne asimetrije kao pokazatelja stabilnosti razvića vegetativnih i reproduktivnih organa kod dve zeljaste monokotile (*Iris pumila* i *Iris germanica*) i jedne drvenaste dikotile (*Robinia pseudoacacia*), u uslovima nenarušene životne sredine i u uslovima antropogeno uzrokovanog stresa (zagađenja u industrijskim i urbanim zonama). Analizirali smo mogućnosti korišćenja ovih analiza kao primarnih indikatora u sredinama sa negativnim antropogenim uticajem, kao i prednosti i mane ovog i nekih drugih metoda detekcije zagađenja.

Stabilnost razvića procenjena putem fluktuirajuće i radijalne asimetrije se razlikuje između izučavanih sredina u slučaju sve tri vrste. Kod vrste *R. pseudoacacia* kao sredina u kojoj je detektovan najveći stepen razvojne nestabilnosti se izdvojio Kostolac (antropogeno degradirana sredina). Kod vrste *I. pumila* su biljke poreklom iz sredine pod antropogenim uticajem pokazale veću razvojnu nestabilnost kako u slučaju fluktuirajuće asimetrije, tako i u slučaju radijalne asimetrije. Kod vrste *I. germanica* su detektovane značajne razlike između zagađenja u slučaju indeksa radijalne asimetrije gde su biljke poreklom sa zagađenog staništa pokazale značajno veću razvojnu nestabilnost od biljaka poreklom sa nezagađenog staništa.

Kod sve tri vrste je utvrđena značajna interakcija individue i asimetrije osobina, tj. da ekspresija razlika u fluktuirajućoj i radijalnoj asimetriji između ispitivanih osobina zavisi od klona tj. individue. Slično je i za interakciju lokaliteta i asimetrije osobina, što

Rezime/Summary

znači da su se različite osobine sve tri vrste razlikovale u stepenu detekcije razlika

između lokaliteta.

Koncentracija hlorofila a, hlorofila b, ukupnog hlorofila, karotenoida, kao i odnos

hlorofila a i karotenoida u listu *I. pumila* je bio značajno manji u zagađenoj sredini, dok

je odnos hlorofila a i hlorofila b u ovoj sredini bio veći u odnosu na nezagađenu sredinu.

Za teške metale značajne razlike su detektovane između zagađenih i nezagađenih

sredina. Arsenik je u značajno većoj koncentraciji detektovan u zagađenim lokalitetima-

Obrenovcu i Kostolcu, a olovo i nikl na lokalitetu Autoput, dok za Cd nisu detektovane

značajne razlike.

Iako je analiza koncentracije teških metala pokazala jasnu diskriminaciju između

sredina pod antropogenim uticajem i onih koje to nisu, kao i koncentracija

fotosintetičkih pigmenata, analiza razvojne stabilnosti ima prednosti u odnosu na ove

metode jer se može jednostavno primeniti na sve taksone, ne zahteva posebne

laboratorijske i druge preduslove i ispituje već unapred poznat optimum tj. simetriju.

Može se zaključiti da iako je povezanost asimetrije, razvojne stabilnosti i stresa

neosporna, analize radijalne i fluktuirajuće asimetrije ne detektuju uvek efekte

zagađenja na svim vrstama i svim osobinama jednoznačno, da bi se na osnovu ovih

razlika moglo sa sigurnošću tvrditi da li je izučavana populacija pod stresom ili ne.

Najpreciznije su se pokazale analize koje su uključivale više osobina tj.

multikomponentni i kompozitni indeksi, kao i multivarijantne analize koje mogu bolje

detektovati razlike na nivou individue tj. populacije.

Ključne reči: Robinia pseudoacacia, Iris pumila, Iris germanica, razvojna

stabilnost, radijalna asimetrija, fluktuirajuća asimetrija, biomonitoring

Naučna oblast: Biologija

Uža naučna oblast: Ekologija i Evoluciona biologija

**UDK broj:** 574.2:581.151]+[575.21+575.826]: [582.736.3+582.572.7](043.3)

# Fluctuating asymmetry as an indicator of developmental stability of selected plant taxa in unpolluted environment and under anthropogenically induced stress

#### **SUMMARY**

Changes in the environment from the industrial revolution till present are unprecedented in the history of the life on Earth and their magnitude can overpower the adaptive potential of many living organisms, especially plants, that are sessile and have only limited mechanisms for avoiding stress. Understanding how plants respond to these changes, from subcellular to the community level, is crucial.

In this study we investigated the possibility of using analysis of fluctuating and radial asymmetry as an indicator of developmental stability of vegetative and reproductive organs in two herbaceous monocots (*Iris pumila* and *Iris germanica*) and one wooden dikotile (*Robinia pseudoacacia*), in unpolluted environment, as well as in environment characterized by anthropogenically induced stress (industrial and urban zones pollution). We have analyzed the possibility of using this analysis as a primary indicator of pollution in areas with negative human impact, and the advantages and disadvantages of these and some other methods of pollution detection.

Developmental stability estimated by fluctuating and radial asymmetry differed between the studied habitats for all three species. For *R. pseudoacacia* plants from Kostolac (polluted environment) had the highest degree of developmental instability. *I. pumila* plants originated from the environment under the influence of anthropogenic stress showed greater developmental instability in the case of fluctuating asymmetry, as well as radial asymmetry. In *I. germanica* species we detected significant differences between polluted and unpolluted habitats estimated by radial asymmetry where the plants originated from contaminated habitats showed significantly greater developmental instability.

In all three species we detected significant interaction between individuals and trait asymmetries, e.g. expression of the difference in the radial and fluctuating asymmetry between the studied traits depended on the individual (clone). Similar situation is with

Rezime/Summary

the habitat x trait assymetry interaction, where different traits of all the three species

differed in the degree of discrimination between the habitats studied.

Concentration of chlorophyll a, chlorophyll b, total chlorophyll, carotenoids, and the

chlorophyll a and carotenoids ratio in the *I. pumila* leaf had significantly lesser values in

a polluted environment, while the ratio of chlorophyll a and chlorophyll b in this

environment had higher values compared to unpolluted environment.

Significant differences in heavy metal concentration were detected between polluted

and unpolluted areas. Arsenic was detected in significantly higher concentrations in leaf

samples from polluted sites-Obrenovac and Kostolac, lead and nickel were detected in

significantly higher concentrations on the site Autoput, while no significant differences

were detected for Cd.

Although the analysis of heavy metal concentrations showed a clear discrimination

between the environments, similar to discrimination obtained in analysis of

photosythetic pigments, developmental stability analysis has overall advantage because

it is easily applied to all taxa, demands no specific laboratory testings and is based on

already known optimum-symmetry.

It can be concluded that although the positive relationship between asymmetry,

developmental instability and stress is indisputable, analysis of radial and fluctuating

asymmetry does not always detect pollution effects on all species and all traits,

unequivocally, so one could with certainty conclude if the studied population is under

stress or not. The most accurate analysis were those involving more traits-analysis of

multicomponent and composite indices, and multivariate analysis that can better detect

differences at the individual as well as population level.

**Key words:** Robinia pseudoacacia, Iris pumila, Iris germanica, developmental

stability, radial asymmetry, fluctuating asymmetry, biomonitoring

Scientific field: Biology

**Specific scientific field:** Ecology and Evolutionary Biology

**UDC number:** 574.2:581.151]+[575.21+575.826]: [582.736.3+582.572.7](043.3)

# Sadržaj

1. UVOD	1
1.1. NARUŠAVANJE PRIRODNIH EKOSISTEMA	1
1.1.1. Zagađenje i zagađivači	2
1.1.2. Zagađenje vazduha, vode i zemljišta	3
1.1.2.1. Zagađenje vazduha	3
1.1.2.2. Zagađenje vode	3
1.1.2.3. Zagađenje zemljišta	4
1.1.2.4. Teški metali	4
1.1.3. Biomonitoring	6
1.2. STRES	7
1.2.1. Definicija stresa	7
1.2.2. Odgovor na stres kod biljaka	8
1.3. STABILNOST RAZVIĆA	10
1.3.1. Simetrija	11
1.3.2. Fenotipska varijabilnost	12
1.3.3. Fluktuirajuća i radijalna asimetrija	13
1.3.4. Primena analize radijalne i fluktuirajuće asimetrije u biomonitoringu	17
2. CILJEVI ISTRAŽIVANJA	21
3. MATERIJAL I METODE	23
3.1. OBJEKTI ISTRAŽIVANJA	23
3.1.1. Familija <i>Fabaceae</i>	23
3.1.1.1. Robinia pseudoacacia L.	24
3.1.2. Familija <i>Iridaceae</i>	25
3.1.2.1. <i>Iris pumila</i> L.	26
3.1.2.2. Iris germanica L.	29
3.2. LOKALITETI	31
3.2.1. Deliblatska peščara	31

3.2.2. Vršački breg	32
3.2.3. Stari Banovci, Novi Banovci i Belegiš	33
3.2.4. Pančevo	34
3.2.5. Obrenovac	36
3.2.6. Kostolac	37
3.2.7. Autoput E-75 i put Beograd-Novi Sad	39
3.2.8. Beograd	40
3.3. UZORCI	42
3.3.1. Robinia pseudoacacia	42
3.3.1.1. Fluktuirajuća asimetrija, morfološke osobine i teški metali	42
3.3.2. Iris pumila	43
3.3.2.1. Ontogenija razvića	43
3.3.2.2. Radijalna i fluktuirajuća asimetrija, morfološke osobine i	43
fotosintetički pigmenti	
3.3.3. Iris germanica	44
3.3.1. Radijalna i fluktuirajuća asimetrija	44
3.4. ANALIZE OSOBINA	44
3.4.1. Analiza osobina lista Robinia pseudoacacia	45
3.4.1.1. Morfološke osobine	46
3.4.1.2. Fluktuirajuća asimetrija	47
3.4.1.3. Koncentracija teških metala	47
3.4.2. Analiza osobina cveta i lista Iris pumila	48
3.4.2.1. Analiza osobina cveta Iris pumila.	48
3.4.2.1.1. Stadijumi razvića cvetnog pupoljka	48
3.4.2.1.2. Osobine cveta <i>I. pumila</i>	50
3.4.2.1.2.1. Morfološke osobine	52
3.4.2.1.2.2. Radijalna i fluktuirajuća asimetrija cveta	52
3.4.2.1.2.3. Analiza osobina listova <i>Iris pumila</i>	52
3.4.3. Analiza osobina cveta Iris germanica	54
3.4.3.1. Morfološke osobine	55
3.4.3.2. Radijalna i fluktuirajuća asimetrija cveta	55

3.5. STATISTIČKA OBRADA PODATAKA	56
3.5.1. Statistička analiza fluktuirajuće i radijalne asimetrije	56
3.5.1.1. Odabir osobina	56
3.5.1.2. Indeksi radijalne i fluktuirajuće asimetrije	58
3.5.1.2.1. Indeksi radijalne asimetrije	58
3.5.1.2.2. Indeksi fluktuirajuće asimetrije	58
3.5.1.3. Analiza <i>outlier-</i> a	60
3.5.1.4. Greška merenja i ponovljivost	61
3.5.1.5. Odstupanja od normalne raspodele	63
3.5.1.5.1. Kurtosis i skewness	63
3.5.1.5.2. Direkciona asimetrija	65
3.5.1.6. Zavisnost fluktuirajuće asimetrije od veličine osobine	65
3.5.2. Razlike između grupa	66
3.5.2.1. Test razlika za multipne osobine	67
4. REZULTATI	69
4.1. ANALIZA OSOBINA LISTA ROBINIA PSEUDOACACIA	69
4.1.1. Morfološke osobine	69
4.1.2. Fluktuirajuća asimetrija	70
4.1.3. Koncentracija teških metala	77
4.2. ANALIZA OSOBINA CVETA I LISTA <i>IRIS PUMILA</i>	79
4.2.1. Stadijumi razvića cvetnog pupoljka	79
4.2.1.1. Morfološke faze razvića	79
4.2.1.2. Vremenske faze razvića	79
4.2.2. Analiza osobina eveta Iris pumila	81
4.2.2.1. Morfološke osobine	81
4.2.2.2. Radijalna i fluktuirajuća asimetrija cveta	81
4.2.2.2.1. Analiza radijalne asimetrije	81
4.2.2.2.2. Analiza fluktuirajuće asimetrije	83
4.2.3. Analiza osobina lista <i>Iris pumila</i>	86
4.2.3.1. Hlorofili i karotenoidi	86
4.3. ANALIZA OSOBINA CVETA IRIS GERMANICA	87

4.3.1. Morfološke osobine	
4.3.2. Analiza radijalne i fluktuirajuće asimetrije	87
4.3.2.1. Analiza radijalne asimetrije	87
4.3.2.2. Analiza fluktuirajuće asimetrije	89
5. DISKUSIJA	92
5.1. Osobine lista <i>Robinia pseudoacacia</i> u uslovima nenarušene životne sredine i	93
u uslovima antropogeno indukovanog stresa	
5.1.1. Fluktuirajuća asimetrija lista Robinia pseudoacacia	94
5.1.2. Koncentracija teških metala u listu Robinia pseudoacacia	98
5.2. Osobine cveta i lista <i>Iris pumila</i> u uslovima nenarušene životne sredine i u	101
uslovima antropogeno indukovanog stresa	
5.2.1. Analiza osobina cveta Iris pumila	101
5.2.1.1. Radijalna asimetrija cveta Iris pumila	103
5.2.1.2. Fluktuirajuća asimetrija cveta <i>Iris pumila</i>	104
5.2.2. Analiza osobina lista <i>Iris pumila</i>	105
5.2.2.1. Koncentracija fotosintetičkih pigmenata	105
5.3. Osobine cveta <i>Iris germanica</i> u uslovima nenarušene životne sredine i u	106
uslovima antropogeno indukovanog stresa	
5.3.1. Radijalna asimetrija cveta Iris germanica	107
5.3.2. Fluktuirajuća asimetrija cveta Iris germanica	107
5.4. Odgovor različitih biljnih vrsta na antropogeno uzrokovani stres (zagađenje	108
u industrijskim i urbanim zonama)	
6. ZAKLJUČCI	114
7. LITERATURA	118
8. PRILOZI	144
8.1. Prilog 1-Tabele	145
8.2. Prilog 2-Slike	185
BIOGRAFIJA AUTORA	213

#### 1. Uvod

#### 1.1. NARUŠAVANJE PRIRODNIH EKOSISTEMA

"...we are changing Earth more rapidly than we are understanding it..."

Vitousek i sar. Science ,1997

Atmosfera, pedosfera i hidrosfera predstavljaju prostorno okruženje biljaka koje uz fizičke i hemijske faktore i druge žive organizme čine njihovu životnu sredinu (Larcher 2001). Prvobitna životna sredina se umnogome razlikuje od one koja nas okružuje danas, pre svega, zbog posledica ljudskih delatnosti i sve većeg broja zagađujućih materija u vazduhu, zemljištu i vodi. Mnogi ekosistemi su direktno pod uticajem čoveka, a nema ni jednog na koga ljudska delatnost indirektno ne utiče (Vitousek i sar. 1997, Hobbs i sar. 2009, Hill 2010, Haberl 2010). Usled enormnog razvoja industrije i saobraćaja, uz neštedljivo korišćenje fosilnih goriva (uglja, nafte i zemnog gasa), dolazi do zagađenja i degradacije prirodnih ekosistema (Ružičić 2012), kao i do promena u ekološkim i evolucionim procesima koji oblikuju genetičku strukturu i evoluciju populacija (Bijlsma i Loeschcke 2005). Osim antropogenog uticaja, živi organizmi su dodatno izloženi i prirodnim uticajima kao što su toplota, hladnoća, kasni mraz, suša, poplave itd, koji mogu varirati u svom intenzitetu i trajanju (Schutzendubel i Polle 2002, Forey i sar. 2008, Pincebourde i sar. 2012). Međutim, oni se ne mogu meriti sa promenama u životnoj sredini od industrijske revolucije do danas, ove promene su bez presedana u istoriji živog sveta i svojim razmerama prete da nadmaše adaptivni potencijal mnogih živih organizama, što dovodi do redukcije veličina populacija i gubitka genetičkog diverziteta u prirodnim zajednicama (Auty 1997). Ovakve promene utiču prvenstveno na sesilne organizme, pre svega biljke, koje imaju samo ograničene mehanizme za izbegavanje nepovoljnih uslova i moraju imati fleksibilna sredstva za aklimatizaciju na novonastale promene u životnoj sredini. Razumevanje kako biljke reaguju na ovakve promene, od subcelularnog do nivoa zajednica, je od krucijalnog značaja, te su istraživanja koja se bave odgovorima i adaptacijama organizama na stres su postala krucijalno polje naučne delatnosti (Hoffmann i sar. 2011).

#### 1.1.1. Zagađenje i zagađivači

Zagađenje predstavlja uvođenje u ekosistem nečega što na njega deluje štetno. Zagađivači ili polutanti su materije koje zagađuju vazduh, vodu ili zemljište i uzrokuju zagađenje, tj "bilo koja supstanca introdukovana u sredinu koja nepovoljno utiče na iskoristljivost resursa" (Hill 2010).

Zagađivači se razlikuju prema tome da li ih ekosistem kao takav može apsorbovati ili ne. U prvu grupu spadaju materije koje se ne mogu apsorbovati ni razgraditi (sintetičke hemikalije, nebiodegradabilna plastika, teški metali itd), a šteta koju oni nanose ekosistemu raste tokom njihove akumulacije. Druga vrsta polutanata su oni koje ekosistem može delimično apsorbovati i oni postaju štetni tek kada njihova količina nadmaši kapacitet datog ekosistema (ugljen-dioksid npr). Ovakve zagađivače ekosistem ne razgrađuje u potpunosti, već ih pre prevodi u manje štetne supstance, ili im smanjuje koncentraciju do optimalnog nivoa.

Zagađivači se, takođe, mogu podeliti prema zonama svog dejstva na horizontalne i vertikalne. Prva grupa se odnosi na areal koji je pod uticajem polutanata. Lokalni polutanti imaju uticaj samo u blizini izvora zagađenja, dok regionalni mogu imati uticaj na širem području. Vertikalna podela se odnosi na to da li zagađivači imaju uticaj na nivou tla, ili u vazduhu. Površinski izazivaju posledice na samoj površini tla, dok globalni negativno deluju na atmosferu.

Prema trećoj podeli polutanti se mogu svrstati u sledeće kategorije: organske, neorganske, organometalne, kiseline, fizičke, radioaktivne i biološke polutante (Hill 2010).

#### 1.1.2. Zagađenje vazduha, vode i zemljišta

#### 1.1.2.1. Zagađenje vazduha

Do zagađenja vazduha dolazi kada se gasovi i mikroskopske čestice čađi i prašine oslobađaju u zemljinu atmosferu, što izaziva promene prirodnog odnosa i koncentracije osnovnih komponenti vazduha. Ponekad ove materije dospevaju u atmosferu prirodnim putem (vulkanske erupcije, prirodni požari), ali mnogo češće kao posledica čovekovih aktivnosti (Hoffman i Parsons 1997). Saobraćaj i industrija su osnovni izvori zagađenja vazduha (Hamilton i Harrison 1991). Tokom sagorevanja različitih oblika goriva osim oslobađanja energije, ispušta se i velika količina štetnih materija, to su najčešće: ugljenmonoksid, ugljen-dioksid, sumpor-dioksid, oksidi azota, pepeo i čađ. Specifične zagađujuće materije vazduha su i olovo, kadmijum, mangan, arsen, nikl, hrom, cink i drugi teški metali, kao i organska jedinjenja. Kada jednom dospeju u atmosferu, gasovi i druge materije stupaju u različite hemijske reakcije pri čemu nastaju mnoga nova jedinjenja. Takve su npr. sumporna i azotna kiselina od kojih nastaju kisele kiše koje uništavaju šume na velikim prostranstvima (Likens 1996, Neves i sar. 2009, Malakoff 2010).

#### 1.1.2.2. Zagađenje vode

Promene u vodenim ekosistemima je teže kvantifikovati nego one u terestrijalnim, ali su one na značajnom nivou jer je i većina ljudskih populacija naseljena u blizini voda. Naročit uticaj imaju industrijske, komunalne i otpadne vode iz poljoprivrede koje prirodni akvatični sistemi uglavnom nisu u stanju da razgrade jer prevazilaze njihove apsorpcione kapacitete (Fried 1975). Čovek značajno utiče kako na vrh lanaca ishrane u vodenim ekosistemima, tako i na njihovu bazu. Jedan od primera je frekvento "cvetanje algi" usled eutrofikacije voda što dovodi do pomora ribljih populacija zbog trovanja i anoksije, kao i do dalekosežnog negativnog uticaja na sve učesnike u lancu ishrane (Vitousek i sar. 1997, Schindler i Vallentyne 2008). Vodeni ekosistemi u celom svetu

sadrže štetne supstance kao što su soli teških matala, ulja, deterdžente i drugo (Gonzalez 1991, Adedeji i sar. 2012).

#### 1.1.2.3. Zagađenje zemljišta

Čovek svojom aktivnošću sve više ugrožava i zemljište kako formiranjem poljoprivrednih površina i urbanizacijom, tako i zagađenjem. Čovekov direktan uticaj se vidi na preko 80% zemljine površine, ili na više od 75% površine koja nije pod ledenim pokrivačem (Ellis i sar. 2008, Hobbs i sar. 2009). Zemljište se zagađuje iz atmosfere, otpadnih voda, kao i čvrstim otpadom iz privrede, domaćinstava i poljoprivrede. Poseban oblik zagađenja je i takozvano 'oticanje' (eng. *run off*)-spiranje sa autoputeva i drugih saobraćajnica koje ugrožava kako zemljište tako i podzemne vode i vodotokove (Hamilton i Harrison 1991). Izuzetan uticaj mogu imati akcidentne infiltracije pri nekontrolisanim ispuštanjima jakih zagadjivača usled oštećenja motornih vozila, cisterni i drugih transportnih sredstava kod saobraćajnih incidenata i nesreća (Srđević i sar. 1998, Pejović 2012).

#### 1.1.2.4. Teški metali

Jedan od važnih zagađivača kako vode, tako i vazduha i zemljišta su teški metali. Teški metali su oni koji imaju gustinu veću od 5g/cm³ što predstavlja čak 53 od 90 elemenata, ali nisu svi od biološke važnosti (Phipps 1981, Weast 1984, Schutzendubel i Polle 2002). Zbog svoje rastvorljivosti pod fiziološkim uslovima i samim tim dostupnosti za žive ćelije 17 teških metala se mogu smatrati važnim za živi svet. Tu spadaju Fe, Mn i Mo koji su bitni mikronutrijenti; Zn, Ni, Cu, V, Co, W i Cr se nalaze u tragovima (u koncentraciji manjoj od 100μg/g) i imaju važnu ulogu u formiranju nekih enzima, ali najčešće su toksični i na kraju, As, Hg, Ag, Sb, Cd, Pb i U koji nemaju poznatu nutrijentnu funkciju i uglavnom su toksični (Godbold i Huttermann 1985, Nies 1999). U većini ekosistema postoje dva osnovna izvora teških metala-podloga i atmosfera. Teški metali mogu nastati prirodnim putem (npr. pri vulkanskim erupcijama), ali najčešće u ekosisteme dospevaju kao posledica ljudske aktivnosti-rudarstva,

sagorevanja fosilnih goriva, metalurške industrije, upotrebe fosfatnih đubriva itd.

Oni dospevaju u biljke, pre svega, putem korenovog sistema i mogu izazvati oštećenja na više načina, ali pre svega- produkovanjem rektivnih oblika kiseonika putem autooksidacije (Nieboer i Richardson 1980, Polle i Schützendübel 2003). Na ovaj način teški metali menjaju fiziološke reakcije i dovode do redukcije rasta ili do njegovog potpunog zaustavljanja.

No i pored štetnog efekta mnoge biljke opstaju na mestima koja sadrže teške metale i tolerišu njihovo prisustvo. Ovo može biti postignuto dvema strategijama preživljavanja-izbegavanjem teških metala, kada oni ostaju u spoljašnjoj sredinim, a biljka ima barijere koje sprečavaju njihov ulazak i tolerancijom-kada teški metali ulaze u organizam, ali biljke ovog tipa imaju posebne fiziološke mehanizme koji im omogućavaju da i pored toga normalno funkcionišu (Baker 1987).

Koncentracije teških metala prelaze limite (čak i za 10-50 puta) koji su postavljeni u većini nacionalnih legislativa, pre svega na mestima gde se odlaže šljaka posle sagorevanja fosilnih goriva, u arealima rudnika i u okolini puteva sa visokom frekvencijom saobraćaja (Polle i Schützendübel 2003, Hamilton i Harrison 1991).

U ovoj tezi smo ispitivali sledeće teške metale:

- Arsenik (As) hemijski je sličan fosforu te ga može zameniti u nekim jedinjenjima koja su neophodna za ishranu biljaka. Kada prodre u biljku dovodi do degradacije ćelijskih membrana, gubitka turgora i na kraju smrti (Markert 1993, Paivoke i Simola 2001).
- Nikl (Ni) neophodan je za funkcionisanje nekih enzimskih sistema i njegovo
  prisustvo u tragovima čak i pozitivno utiče na rast biljaka. Povećana
  koncentracija ovog elementa u zemljištu ima fitotoksičan efekat, usporeni rast
  praćen hlorozom tj pojavom žutih listova koji onda podležu nekrozi (Hutchinson
  1981).
- Olovo (Pb) dovodi do redukovane fotosinteze i transpiracije, povećane ćelijske smrti, promene koncentracije pigmenata u listovima i promene nekih enzima kao i hromozomalnih aberacija. Olovo poreklom iz izduvnih gasova do biljaka uglavnom stiže u obliku aerosoli koje nisu rastvorljive u vodi i zadržavaju se na površini biljke, pre svega, na površini listova. Ovaj teški metal na površini lista ima mali efekat na stome i razmenu gasova, ali zato može intenzivno uticati na

mikrofloru i naravno ovakvo olovo ima veliki efekat na lanac ishrane. Kada kod biljaka koje su izložene prisustvu olova u zemljištu olovo dospe u organizam, ono se u najvećem procentu inaktivira i taloži u samim korenovima (Koeppe 1981).

• Cd (Cd) - nema poznatu biološku funkciju kod viših biljaka. Toksičnost ovog elementa se ogleda u njegovom vezivanju za specifične hemijske grupe nekih enzima što dovodi do njihove inaktivacije kao i aktivacije enzima koji produkuju vodonik-peroksid (Bingham i Chang 198, Hirt i Shinozaki 2004). Koncentracija apsorbovanog Cd je obično veća u listovima nego u korenovima i plodovima (Koeppe 1981).

#### 1.1.3. **B**iomonitoring

Upotreba živih organizama, pre svega biljaka, kao indikatora kvaliteta životne sredine predstavlja biomonitoring i on se u širem smislu javlja rano u ljudskoj civilizaciji, pre svega u formi korišćenja biljaka kao indikatora plodnosti zemljišta (Witting 1993).

U literaturi se izraz biondikator prvi put pojavljuje dvadesetih godina prošlog veka (Clements 1920), dok se početkom šezdesetih godina ovaj izraz učestalije koristi u literaturi engleskog govornog područja da bi osamdesetih postao univerzalni izraz.

Pojmovi-bioindikator i biomonitor su često korišćeni kao sinonimi, mada se može reći da je indikacija više spontana i aktivna, dok je monitoring kontinuiran i pasivan. "Biondikator je organizam (deo ili grupa organizama) koja nam daje informaciju o kvalitetu sredine, dok je biomonitor organizam (deo ili grupa organizama) koji kvantifikuje kvalitet sredine" (Witting 1993).

Prema drugoj klasifikaciji bioindikatori se mogu podeliti na biomonitore, biosenzore i biomarkere (Butterworth 2000). Biomonitor je ceo organizam koji reaguje na sredinske promene i kod koga su te reakcije lako detektabilne na različitim nivoima (metabolizam, ponašanje, genotip). Biomarkeri su subsistemi nekog organizma, a biosenzori biološki sistemi sa hemijskom ili fizičkom manifestacijom odgovora (detekcije) sredinskih promena.

Bioindikator treba da zadovolji nekoliko pretpostavki (Noss 1990):

- 1. da ima odgovarajuću osetljivost kako bi detektovao promene što ranije,
- 2. da je široko primenljiv,
- 3. da se može primeniti na različite vrste uticaja tj. stresa,
- 4. da je jednostavan i jeftin za primenu,
- 5. da se pomoću njega može detektovati jasan antropogeni uticaj i
- 6. da je povezan sa ekološki značajnim fenomenima.

Bez obzira na treminologiju jedna od najvažnijih karakteristika biomonitoringa je obezbeđivanje što većeg broja informacija o kvalitetu životne sredine na što jednostavniji način i sa što manje troškova (Butterworth i sar. 2000, Adedeji i sar. 2012).

#### 1.2. Stres

#### 1.2.1. **D**efinicija stresa

U inženjerstvu se stres definiše kroz koncept stresa i deformacije. Stres je količina eksterne sile koja deluje na neki objekat, a deformacija veličina promene objekta pri datom stresu (Shipley i Keddy 1988). Ova definicija se može primeniti i na druge oblasti, pa i na biologiju gde ne postoji konsenzus o definiciji stresa.

Stres se u biologiji može definisati kao dejstvo neke sile koja teži da inhibira normalne vidove funkcionisanja organizma (Jones i Jones 1989). Stres, kao nepovoljan skup uticaja, dovodi do fizioloških promena kod živih organizama, tj. do promena (ili blokiranja) metabolizma, rasta i razvića.

Prema poreklu on može biti sredinski ili genetički Sredinski stres se može podeliti na: biotički (patogeni, paraziti, herbivori) i abiotički (visoka i niska temperatura, vodni deficit i suficit, salinitet, radijacija), kao i na: stres indukovan prirodnim faktorima ili stres indukovan antropogenim faktorima (Ahmad i Prasad 2012). Genetički stres može nastati usled mutacija, smanjenja heterozigotnosti ili hibridizacije (Tomkins i Kotiaho 2001).

Stres može biti i akutni i hronični (Odum 1985, Freedman 1995). Kod akutnog stresa

efekti su odmah vidljivi, dok kod hroničnog stresa produžena izloženost nepovoljnim uticajima ne mora odmah biti vidljiva ni primetna. U oba slučaja do degradacije ekosistema npr. može doći kada se pređe prag tolerancije za dati ekosistem (Carpenter i Cottingham 1997, Bondavalli i sar. 2006).

U biologiji se pojam stresa često primenjuje i na uslove životne sredine koji su suboptimalni, a mogu biti u normalnom rasponu dnevno-sezonskih fluktuacija, no ova definicija je problematična utoliko što su uslovi retko zaista optimalni za datu vrstu ili populaciju. Štaviše, većina prirodnih sredina su kontinuirano suboptimalne za jedan ili više sredinskih faktora (Chapin III 1991).

H. Selye u svom delu *Stress in Health and desease* (1976), ovaj pojam povezuje sa "velikom raznovrsnošću suštinski različitih problema", tj. opisuje stres kao "nespecifičan odgovor organizma na ogromnu raznovrsnost stimulusa". Za razliku od Selye-a, B. G. Charlton (1992) smatra da stres kao opšti pojam uopšte ne treba da se upotrebljava jer je nespecifičan i nedovoljno precizan. Prema njemu, pošto postoje različiti tipovi stresa, nije ni potrebna jedna reč da ih sve objedini, već je neophodno precizno opisati dati stimulus i odgovor izučavanog organizma na taj stimulus. Većina istraživanja se i bavi specifičnim stresorima i odgovorima na njih (Osmond i sar. 1987). Faktori sredine, takođe, nisu nezavisni u svom dejstvu, naprotiv, naročito u prirodnoj sredini - *in vivo*. Tek precizno dizajnirani laboratorijski eksperimenti mogu razgraničiti desjtvo pojedinačnih faktora (Mittler 2006).

Stres nije samo atribut stresora (sredinske komponente) već i organizma koji je pod uticajem stresa (biološke komponente). Samim tim stres i nivo stresa se može definisati samo u relaciji sa organizmom ili populacijom koje su mu izložene (Bijlsma i Loeschcke 2005).

#### 1.2.2. Odgovor na stres kod biljaka

Biljke imaju mehanizme adaptacije na stres, mehanizme odbrane i sanacije posledica. To može dovesti do specifičnih promena na različitim strukturnim nivoima, fizičkih i fizioloških promena, promena biohemijskih puteva kao i do ekspresije stres-specifičnih gena (Shinozaki i Yamaguchi- Shinozaki 2007, Biswal i sar. 2011).

Iako su stresori raznovrsni, smatra se da postoji jedinstven centralni sistem za odgovor na stres koji omogućava biljkama da odgovore na bilo kakav negativan uticaj nezavisno od njegove prirode. Ovo se objašnjava time da različiti stresori pokreću svojim dejstvom iste lance prenosa signala u biljnom organizmu koji dovode do promene ćelijskog metabolizma (Beck i sar. 2007).

Biljni fiziolozi su zapazili da biljke na uticaj stresa reaguju promenom svog hormonskog balansa, najčešće produkcijom više abscisinske kiseline i smanjenjem produkcije citokinina (Chapin i sar. 1988), a ovakve hormonalne promene dovode do redukovanog rasta. Ovakvi zaključci se podudaraju sa ekološkim karakteristikama vrsta koje naseljavaju resursima siromašne sredine, a to su-usporeni rast, niska stopa fotosinteze, nizak kapacitet apsorpcije nutrijenata itd. (Parsons 1968, Grime 1977, Chapin 1980). Samim tim se i osetljivost biljnih vrsta na različite stresore može sagledati u odnosu na npr. stopu rasta. Grime (Grime 1974, 1977, 1979) pretpostavlja da postoji opšti trade-off između kapaciteta za visoku potencijalnu stopu rasta u optimalnim uslovima i stepena redukcije te stope u suboptimalnim uslovima (stress tolerance). Ako vrsta raste duž gradijenta koncentracije, ili 'intenziteta' resursa, njen relativni rast će pokazivati suboptimalni, optimalni i supraoptimalan odgovor, mada su u prirodnim uslovima supraoptimalni uslovi, (do nivoa toksičnosti), izuzetno retki (ponekad za mikroelemente kao što su Fe i Cu). Stresni uticaj sredine ovako opisan je u stvari veličina devijacije nivoa ograničavajućeg resursa od optimalne koncentracije (Shipley i Keddy 1988).

Osim fizioloških i biohemijskih promena stres kod biljaka dovodi i do anatomskih i promena u razviću. To su najčešće inhibicija elongacije ćelija, lokalizovana stimulacija ćelijske deobe i promene u diferencijaciji, što dovodi do promena pre svega u korenovom sistemu, sprovodnom sistemu (najčešće ksilemu) i listovima. Ove reakcije su takođe nespecifične i javljaju se kod dejstva različitih stresora (Ahmad i Prasad 2012). U stresnim sredinama slabe i regulatorni mehanizami stabilnosti razvića što dovodi do povećanja ontogenetske varijabilnosti (Schlichting 1989, Tucić i Avramov 1996, Avramov i sar. 2007).

Postoje tri teorije o poreklu morfoloških promena nastalih pod uticajem stresa kod biljaka. Prva pretpostavlja da su nastale promene pod kontrolom gradijenata signalnih molekula tzv. 'morfogena'. Uticaj stresa se 'prevodi' u specifičan raspored 'morfogena'

na nivou organizma, organa ili tkiva što dovodi do promena u ćelijskoj regulaciji (Prusinkiewicz i Rolland-Lagan 2006). Po drugoj teoriji, morfogeneza je proces kontrolisan primarno na nivou ćelija stepenom ćelijske deobe i ekspanzije (Sugimoto-Shirasu i Roberts 2003). Treća teorija obuhvata dve prethodne i po njoj odgovor nastaje kako na nivou organizma, tako i na nivou ćelija. Prema ovoj teoriji promene su kontrolisane putem gradijenata faktora rasta i putem signalnih molekula (Beemster i sar. 2003).

Do sada su izučavani uticaji različitih stresora, npr. klimatskih promena (He i sar. 1999, Dale i sar. 2001), invazije egzotičnih vrsta (Williamson 1999, Simberloff 2000, Robinson 2008), zagađenja vazduha (Likens i sar. 1996, Walker 1999), degradacije zemljišta (Foster i sar. 1998, Fuller i sar. 1998, Pejović 2012), temperature (Sørensen i sar. 2005), saliniteta (Cheeseman 1988) i predatora (Pauwels i sar. 2005).

#### 1.3. Stabilnost razvića

Homeostaza predstavlja sposobnost organizma da se prilagodi varijabilnim uslovima sredine, tj. tendenciju da unutrašnja sredina nekog organizma ostane konstantna (Møller i Swaddle 1997. Homeostaza se sastoji od dve komponente-razvojne stabilnosti i razvojne kanalisanosti. U prvom slučaju fenotipsku varijabilnost merimo u određenoj sredini, a u drugom između sredina (Van Dongen 2006). Razvojna kanalisanost je, dakle, sposobnost produkcije konzistentnih fenotipova pod dejstvom niza sredinskih i genetičkih uslova (Waddington 1942, Møller i Swaddle 1997). Ona se može i podeliti na sredinsku i genetičku kanalisanost (Nijhout i Davidowitz 2003).

Homeoreza predstavlja stabilizovani tok razvića duž razvojnog puta, a razvojna stabilnost se može definisati kao rezultat procesa koji se opiru promeni stabilizovanog toka razvića unutar određene sredine tj. promeni homeoreze (Waddington 1957, Zakharov 1992). Nasuprot tome, razvojna nestabilnost je rezultat procesa koji remete razvojni put (Palmer 1994).

Stabilnost razvića nekog organizma se ogleda u njegovoj sposobnosti da produkuje 'idealanu' formu, ('ciljni' fenotip), pod određenim setom sredinskih uslova (Zakharov

1992) i rezultat je procesa koji 'amortizuju' (eng. *buffer*-uju) odstupanja u razvojnoj trajektoriji unutar određene sredine (Palmer 1994). Razvojna stabilnost je prema tome "nedostatak 'šuma' (eng. *noise*) u razviću" (Waddington 1957). Optimalan ('ciljni') fenotip je fenotip koji bi nastao od date genetičke osnove, u datim sredinskim uslovima u potpunom odsustvu bilo kakve varijabilnosti i 'šuma' bilo koje vrste i on je svojstvo individue. U okviru vrste 'kapacitet amortizovanja' svrstava svaku individuu u određen 'tip'. Na neki način ovakva klasifikacija predstavlja pandan pre-Darvinovskom konceptu 'suštine' vrste (eng. *species essence*). Za svaku osobinu 'suština' se realizuje kroz 'prilagođavanje' razvojnih reakcija tako da daju jedan definitivan rezultat bez obzira na varijacije u uslovima tokom razvića (Waddington 1942). Nerešeno pitanje je da li su oba oblika homeostaze posledica istih ili različitih mehanizama. Kanalisanost se meri kao fenotipska varijabilnost (Vp i CV), a razvojna nestabilnost, kao fluktuirajuća asimetrija (FA) i radijalna asimetrija (RA). Ove vrednosti se mogu porediti za različite osobine (Rasmunson 2002).

Različiti sredinski faktori mogu imati uticaj na razvojnu stabilnost, pre svega u smeru njenog smanjenja i samim tim, povećanja nivoa fluktuirajuće asimetrije kod bilateralno simetričnih osobina tj. povećanja nivoa radijalne asimetrije kod radijalno simetričnih osobina (Graham i sar. 2010). To ne moraju biti negativni uticaji *per se*, već i sama promena seta sredinskih uslova, ili novi element u sredini mogu uzrokovati nestabilnost razvojnih procesa. Ako se organizam, ili populacija nadju u suboptimalnim sredinskim uslovima energetska efikasnost je redukovana i samim tim su poremećeni razvojni putevi, a ovo vodi povećanoj fenotipskoj varijabilnosti i produkciji asimetričnih fenotipova (Møller i Swaddle 1997).

#### 1.3.1. Simetrija

Simetrija je sveprisutna u živom svetu-bilateralna, radijalna, rotaciona, dihedralna i translaciona-u svim glavnim grupama organizama (Graham i sar. 2010).

Bilateralna simetrija predstavlja najrasprostranjeniji vid simetrije kod životinja i kod ovog tipa simetrije leva i desna strana su kao objekat i njegova slika u ogledalu. Ovaj vid simetrije se kod biljaka javlja kod listova i nekih cvetova (orhideja npr). Svojstvo

bilateralne simetrije je postojanje leve i desne strane tela. Kroz telo bilateralno (dvostruko ili dvobočno) simetričnih organizma je moguće povući tri ose, ali se samo kroz jednu od njih može postaviti ravan simetrije. Dve ose su heteropolne i to su : leđno-trbušna (sagitalna) i uzdužna (longitudinalna). Homopolna je poprečna (transferzalna) osa. Ravan koja prolazi po uzdužnoj i sagitalnoj osi (sagitalna ravan) deli telo na dve simetrične polovine – levu i desnu. Za razliku od bilateralno simetričnih organizama, kroz telo radijalno simetričnih organizama je moguće povući jednu heteropolnu osu i kroz nju postaviti bezbroj ravni simetrije (Beloussov 1998).

Ipak, sve simetrije u živom svetu su aproksimativne i tek se na nivou srednjih vrednosti velikih uzoraka približavaju vrednostima savršeno geometrijski simetričnih objekata. Aproksimativna simetrija je, dakle, široko rasprostranjena, a samim tim i odstupanja od nje-tehnički govoreći sve strukture će biti asimetrične na nekom nivou merenja (Graham i sar. 2010).

Leva i desna strana se nalaze u istom razvojnom polju kod jako malih organizama ili ranih stupnjeva razvića većih organizama. Većini živih bića su leva i desna strana razvojno nezavisne i perturbacije u razviću jedne strane ne utiču na razviće druge strane tela. Samim tim su razlike leve i desne strane uzrokovane diferencijalnim efektima sredine i variranjem razvojno-genetičkih procesa na dve strane tela nezavisno. Svaka polovina bilateralno simetričnog organizma, dakle, predstavlja posebnu razvojnu jedinicu u kojoj slučajni procesi nezavisno deluju od druge (Nijhout i Davidowitz 2003).

# 1.3.2. $\mathbf{F}$ enotipska varijabilnost

Fenotipska varijabilnost ima specifičnu razvojnu osnovu. Regulacija razvojnih procesa se zasniva prvenstveno na genetičkim kolima tj. mrežama aktivacije i represije gena koje rezultiraju u specifičnom razvojnom efektu. Ovi mehanizmi se sastoje od niza regulatornih gena koji produkuju regulatorne proteine-one lokalnog dejstva ili transkripcione regulatore koji mogu biti šire rasprostranjeni. Osim regulatornih gena na razvojne procese utiču i-difuzija, migracija ćelija, programirana ćelijska smrt i mnoštvo enzimskih reakcija. Svi pomenuti procesi su pod uticajem fizičkih faktora-temperature,

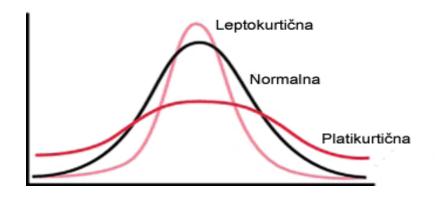
pH, prisustva nutrijenata, radijacije itd. Dakle, variranje bilo kog fizičkog faktora može dovesti do variranja hemijskog faktora, a to u sadejstvu sa promenama u regulaciji razvića dovodi do promena u fenotipu samog organizma (Nijhout i Davidowitz 2003). Fenotipska varijabilnost u populacijama može biti posledica genetičke varijabilnosti, zatim posledica odgovora na variranje životne sredine-makrosredinskih faktora (fenotipska plastičnost), posledica variranja mikrosredinskih uslova, a može biti i posledica variranja oko ciljnog (eng. target) fenotipa (Schlichting i Pigliucci 1998). Poslednje opisano variranje (variranje oko ciljnog fenotipa) u stvari predstavlja 'neuspeh' jedinke da se ciljni fenotip dostigne i u užem smislu predstavlja razvojnu nestabilnost (Schlichting i Pigliucci 1998, Palmer 1994). Ona može imati tri uzrokamože biti posledica nama nepoznatih faktora usled nepotpunog znanja o samom sistemu, posledica sredinski izazvane asimetrije i posledica slučajnih perturbacija u razviću. Prvi uzrok se odnosi na nemogućnost utvrđivanja svih opštih faktora koji utiču na razviće, sredinski izazvana asimetrija se odnosi na nepotpuno znanje o mikrosredinama u kojima se organizam razvija, a poremećaj u slučajnim razvojnim pocesima predstavlja razvojnu nestabilnost koja se najčešće meri nivoom fluktuirajuće i radijalne asimetrije. Pokazano je da je razvojna nestabilnost potpuno različit fenomen od ostalih tipova fenotipske varijabilnosti kao sto su odgovor na mikrosredinska variranja i fenotipska plastičnost (Tarasjev 1995 a i b)

Fenotipska plastičnost ne utiče na mere fluktuirajuće i radijalne asimetrije, ali to nije slučaj sa mikrosredinskim variranjima, na čije postojanje je neophodno obratiti pažnju, naročito kod sesilnih organizama, ne bi li se izabrali model organizmi i osobine koje najbolje reprezentuju razvojnu nestabilnost (Nijhout i Davidowitz 2003)

#### 1.3.3. ${f F}$ luktuirajuća i radijalna asimetrija

Fluktuirajuća asimetrija predstavlja mala, slučajna odstupanja od simetrije kod bilateralno simetričnih organizama (Palmer i Strobeck 2003, Ludwig 1932), tj. preostalu varijabilnost kada su svi direktni efekti, kako genotipa tako i sredine, na formiranje neke osobine isključeni (Mather 1953). Ovaj vid asimetrije se predstavlja razlikom desne i leve strane bilateralno simetričnog organizma čija je očekivana vrednost nula.

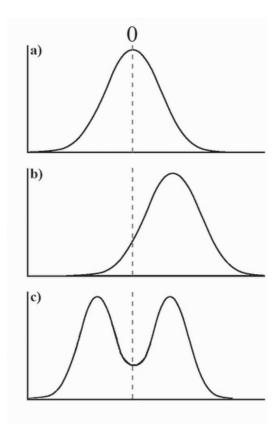
Varijabilnost razlike desne i leve strane je u populaciji normalno raspoređena oko nule, tačnije, približno normalno raspoređena, jer leptokurtične raspodele dominiraju u empirijskim primerima (ima više vrednosti oko nule tj. srednje vrednosti i na krajevima, 'repovima', distribucije, a manje nego što je očekivano na intermedijarnim nivoima) (Slika 1).



Slika 1. Normalna, leptokurtična i platikurtična raspodela

Ovakva raspodela je najverovatnije posledica individualnih razlika u kontroli razvića (samim tim distribucija za neku populaciju predstavlja u stvari 'kompozitnu' distribuciju njenih jedinki). Stepen odstupanja leptokurtične krive od očekivane normalne raspodele predstavlja direktnu procenu veličine individualnih razlika u razvojnoj stabilnosti u okviru populacije (Gangestad and Thornhill 1999).

Osim fluktuirajuće asimetrije raspodela frekvencija može pokazivati još i direkcionu simetriju i antisimetriju (Van Valen 1962, Palmer i Strobeck 1986, 1992, 2003) (Slika 2). Direkciona asimetrija je raspodela razlike desne i leve strane normalno rasporedjena oko vrednosti koja se razlikuje od nule, tj. poremećaj bilateralne simetrije gde je smer poremećaja kod individua u populaciji usmeren u istom pravcu. Antisimetrija je predstavljena raspodelom frekvencija pomenutih razlika oko nulte srednje vrednosti, ali ova distribucija odstupa oblikom od normalnosti u pravcu platikurtozisa ili bimodalnosti, tj predstavlja takvo odstupanje od bilateralne simetrije gde je populacija slučajna mešavina jedinki sa poremećajem simetrije usmerenim ili na levu ili na desnu stranu.



Slika 2. a) Normalna raspodela, b) Direkciona asimetrija, c) Antisimetrija

U poslednje vreme se fluktuirajuća asimetrija sve više koristi kao procena razvojne preciznosti-sposobnosti datog genotipa da produkuje isti krajnji fenotip na suprotnim stranama tela, ali treba imati u vidu da razvojna preciznost nije ograničena na bilateralno simetrične osobine, te se kao mera ove osobine kod drugih vrsta simetrije (radijalne npr) koristi recimo standardna devijacija (SD) ili koeficijent varijacije (CV) između homologih, (ili radijalno ponovljenih), delova neke individue, kao i između genetički identičnih jedinki gajenih pod identičnim uslovima (Palmer 1996, Møller i Swaddle 1997, Palmer i Strobeck 2003).

Na smanjenje razvojne preciznosti utiče povećanje razvojne nestabilnosti koje se sa druge strane može objasniti sadejstvom i međuodnosom razvojnog 'šuma' i razvojne stabilnosti tj njihovim ekvilibrijumom. Povećanje razvojne nestabilnosti može nastati kako zbog povećanja razvojnog 'šuma', tako i zbog smanjenja razvojne stabilnosti. U tom smislu je procena razvojne preciznosti u stvari i procena razvojne stabilnosti (Palmer 1996, Palmer i Strobeck 2003, Van Dongen 2006).

Razvojni šum sam po sebi predstavlja slučajne preturbacije u razviću kao što su promene u metaboličkim stopama, koncentraciji regulatornih molekula, difuziji, termalnom šumu, kao i promene u stopama ćelijske deobe, rasta i apoptoze. Razvojna stabilnost je kapacitet organizma da navedene perturbacije ispravi tj. kanališe. Postoji niz procesa koji na sistem razvića utiču po principu slučajnosti, to mogu biti problemi pri interpretaciji morfogenetičkog gradijenta pri ćelijskoj diferencijaciji kada nema precizno određenog praga za određeni morfogenetički signal. Zatim procesi koji regulišu gensku ekspresiju, npr. ako su transkripcioni faktori koji regilišu razvojni prekidač produkovani u niskim koncentracijama onda male promene u tim koncentracijama mogu dovesti do paljenja, ili gasenja prekidača, dok kod faktora koji se produkuju i deluju u većim količinama oscilacije tog obima ne bi imale uticaja. Opet, takozvana slučajna variranja mogu biti posledica haotičnih procesa koji se karakterišu visokom senzitivnošću na početne uslove, te male varijacije u početnim uslovima mogu značajno promeniti razvojne rezultate u različitim delovima organizma (Nijhout i Davidowitz 2003).

Fluktuirajuća i radijalna asimetrija kao odstupanja od simetrije ne bi trebalo da imaju nikakvu genetičku osnovu, samim tim, ne bi tebalo da se prenose sa generacije na generaciju (Palmer i Strobeck 1992). Postoji stav da ako je ovakva asimetrija u nekom slučaju heritabilna, onda se ona ne može korstiti kao mera razvojne stabilnosti, jer ima i genetičku osnovu (Leamy 1997, Leamy i Klingenberg 2005). Međutim, mnoga istraživanja su pokazala da fluktuirajuća asimetrija npr. često ima heritabilnu komponentu, doduše obično veoma nisku. Leamy (1997) je pokazao da ona iznosi h²=0.08, dok je Van Dongen-u (2000) detektovao h²=0.043, a Fuller i Houle (2003) h²=0.026. Sa druge strane, razvojna nestabilnost je značajna za genetičku strukturu i evolutivni potencijal populacije samo ako su zadovoljena dva preduslova. Prvi-da su razvojna nestabilnost i genotip povezani. Ova veza može uključivati alelske kombinacije na pojedinačnom lokusu, relativne nivoe genomske heterozigotnosti nasuprot homozigotnosti i koadaptaciju genskih kompleksa. Drugi-razlike u razvojnoj stabilnosti moraju biti povezane sa adaptivnom vrednošću (Van Dongen 2006).

Nezahvalno je određivati individualni nivo asimetrije neke jedinke puliranjem procenjenih asimetrija više osobina, jer uticaj koji dovodi do asimetrije ima vidljive efekte samo tokom 'prozora osetljivosti', te će se različiti rezultati dobiti kod osobina

koje se postepeno formiraju tokom dužeg vremenskog perioda u odnosu na one koje nastaju tokom kratkog vremenskog intervala, kao i kod onih koje se formiraju rano tj. kasno tokom individualnog razvića. Ovo objašnjava nedostatak podudarnosti između osobina u nekim studijama (Rasmunson 2002).

Analize radijalne i fluktuirajuće asimetrije pokazuju da ove vrednosti izražene kroz niz koeficijenata mogu da ne pokažu nikakve promene, ili da rastu pod uticajem sredinskog (spoljašnjeg) i genetičkog (unutrašnjeg) stresa. Sredinski stresori koji su ispitivani u ovom smislu su toplota i hladnoća, mali kvantitet ili kvalitet nutrijenata, svetlosni uslovi, povećano elektromagnetno i radioaktivno zračenje, parazitizam, pa čak i rizik od predatora. Niz genetičkih faktora je takođe u vezi sa povećanom razvojnom nestabilnošću-inbriding, mutacije, ponekad heterozigotnost i kvantitativne genetičke varijacije, kao i intenzivna selekcija (Møller i Swaddle 1997). Dakle faktori koji utiču na razvoj fenotipa obuhvataju kako sredinske uslove u kojima jedinka živi, tako i njenu genetičku konstituciju. Kod ljudi je povećana stopa fluktuirajuće asimetrije npr. uočena kod genetičkih oboljenja kao što je Daunov sindrom i fragilni X, zatim kod dece majki u poznijem životnom dobu ili majki koje puše tokom trudnoće (Thornhill i Møller 1997). Analiza razvojne stabilnosti ima primenu kako u konzervacionoj i evolucionoj biologiji, tako i u antropologiji, poljoprivredi i medicini (Graham i sar. 2010).

#### 1.3.4. Primena analize radijalne i fluktuirajuće asimetrije u biomonitoringu

Smanjenje razvojne stabilnosti kao posledica stresnog uticaja se može kvantifikovati analizama radijalne i fluktuirajuće asimetrije, te se ove analize mogu koristiti kao metode u biomonitoringu. Takođe, jedan od najtežih zadataka u konzervacionoj biologiji je identifikovanje populacija koje su pod stresom tj. negativnim uticajem nekog faktora, a pre nego što dođe do njihove nepovratne degradacije ("Konzervaciona biologija je naučna disciplina čiji je predmet istraživanja usmeren na prepoznavanje faktora i procesa koji utiču na gubitak biodiverziteta, ali istovremeno i na otkrivanje mehanizama koji omogućuju njegovu zaštitu i oporavak. Osnovni naučni cilj ove grane biologije je očuvanje i zaštita visoke specijske raznovrsnosti, odnosno biodiverziteta na nivou planete." (Radović 2005)). Jedino ovakav pristup omogućava primenu adekvatnih

i pravovremenih korektivnih mera. (Rapport i sar. 1985, Schindler 1987). Rano detekotovanje promena je moguće samo kroz kontinuirani biomonitoring (Jope 2001), ili kroz rekonstrukciju istorije ispitivanog ekosistema (Whillans 1979, Hilden i Rapport 1993, Bondavalli i sar. 2006).

Analize faktora životne istorije, kojima se najčešće procenjuje stanje neke populacije, kao i kovencionalno korišćenje molekularnih tehnika kako bi se identifikovale populacije sa sniženim nivoom genetičkog diverziteta, su izuzetno zahtevne i oduzimaju puno vremena te se moraju razmatrati alternativni metodi (Gilligan i sar. 2001). Jedan od njih je procena razvojne stabilnosti preko određivanja nivoa asimetrije (fluktuirajuće, radijalne, translacione, fraktalne itd). Stabilnost razvića se u krajnjoj liniji može i smatrati integralnom komponentom adaptivne vrednosti, ali sa tom razlikom da se do rezultata analiza fluktuirajuće i radijalne asimetrije npr. dolazi brže i lakše, te ova procena može biti primarna karika u u sistemu ranog upozorenja (Gangestad i Thornhill 2002, Van Dongen 2006).

Analize fluktuirajuće i radijalne asimetrije su kao alat za detekciju narušavanja životne sredine i ugroženosti populacija korišćene u mnogim studijama i to u slučaju kako genetičkog-unutrašnjeg, tako na sredinskog-spoljašnjeg stresa. Genetički stres može nastati usled mutacija, zatim usled smanjenja heterozigotnosti tj. genetičke varijabilnosti do čega dolazi u slučaju inbridinga pri čemu se povećava broj homozigotnih jedinki koje za razliku od heterozigotnih ne mogu da održe npr. adekvatne nivoe enzimske aktivnosti u različitim sredinama (Sherry i Lord 1996a). Takođe kao posledica hibridizacije kada se narušava genomska koadaptacija (međubalans gena unutar hromozoma) tj koadaptirani genski kompleksi (Graham i Felley 1985, Wilsey i sar. 1998, Tomkins i Kotiaho 2001).

Sredinski stres može nastati kao odgovor na prisustvo herbivora (Zvereva i sar. 1997b, Martel i sar. 1999), svetlosti (Roy i Stanton 1999), koncentracije CO<sub>2</sub> (Cornelissen i sar. 2004), parazita (Shykoff i Kaltz 1998), suše (Hódar 2002), nutrijenata (Otronen i Rosenlund 2001, Møller 1995), radijacije (Møller 1998), saliniteta (Anne i sar. 1998), kompeticije (Rettig i sar. 1997), zagađenja (Kozlov i sar. 1996, Eränen i sar. 2009), nadmorske visine (Wilsey i sar. 1998; Hagen i sar. 2008), vlage (Martel i sar. 1999), teških metala (Ambo-Rappe i sar. 2011), temperature (Valkama i Kozlov 2001). Međutim, postoje i suprotni dokazi gde asimetrija nije korelisana sa stresom (Anne i sar.

1998, Dobrin i Corkum 1999), kao ni sa adaptivnom vrednošću, ili je njihova relacija čak suprotna od očekivane (Heard i sar. 1999, Waldmann 2002), no to ne znači da treba odbaciti ceo metod kao takav, već da se mora obratiti pažnja na samu analizu i faktore koji dovode do neslaganja sa polaznim pretpostavkama (Lens i sar. 2002).

Fluktuirajuća i radijalna asimetrija se kao biomonitoring analize razlikuju se od drugih metoda iz dva razloga. Prvi je jer se analize mogu primeniti na sve taksone, od bakterija i virusa, preko biljaka do životinja, pa čak i na izumrle oblike života, a drugi jer ove analize ispituju već unapred poznat optimum tj. simetriju gde se zna očekivana vrednost idealnog fenotipa. Ove osobenosti omogućavaju i međusobna poređenja između najrazličitijih taksona (Møller i Manning 2003, Graham i sar. 2010), a takođe i ne samo kvalitativnu nego i kvantitativnu detekciju nivoa oštećenja nekog ekosistema. Populacije se mogu ispitivati tokom dužeg perioda, što omogućava detekciju vremenskih promena u nivou doživljenog stresa. Još jedna prednost je što procena fluktuirajuće i radijalne asimetrije omogućava uočavanje promena u na stres adaptiranim populacijama-onim koje su se već susretale sa nekim vidom negativnog uticaja (stresa) pa su i promene u njima mnogo manje nego u populacijama koje nisu bile pod uticajem stresa (Alados 2001).

Genetička osnova tolerancije na stres može biti ispitana samo ako se odvoje i pojedinačno ispitaju efekti gena i sredine, kao i njihove interakcije na ekspresiju tolerancije. Individue iz iste populacije, naročito u eksperimentima *in vivo*, mogu imati različite fenotipske odgovore, te je neophodno istraživanja proširiti i na monoklonalne linije kako bi uklonili genetičku varijabilnost (Van Dongen 1999, Pertoldi i sar. 2001).

Upoređenje razvojnih nestabilnosti različitih grupa (populacija) se može izvesti poređenjem (Pertoldi i sar. 2001):

- 1. Populacija koje su pod stresom i onih koje nisu izložene stresu,
- 2. populacija pod stresom i laboratorijskih kontrola,
- 3. sukcesivnih generacija iste populacije,
- 4. fosilnih ostataka sa savremenim populacijama,
- 5. nivoa fluktuirajuće i radijalne asimetrije populacije pod stresom i prosečne fluktuirajuće i radijalne asimetrije drugih populacija te vrste i
- 6. fluktuirajuće i radijalne asimetrije populacija ugrožene vrste i fluktuirajuće i radijalne asimetrije populacija srodnih vrsta.

Za sve zaključke zasnovane na primeni procene razvojne stabilnosti kao metoda važi zajedničko pravilo - "i male stvari se računaju" (Palmer i Strobeck 2003) - što se odnosi kako na relativnu veličinu posmatranog biološkog fenomena, tako i na pažnju koja se mora pokloniti samoj proceduri merenja, statističke obrade podataka, odabira osobina i tumačenja dobijenih rezultata.

### 2. Ciljevi istraživanja

Ciljevi ovog rada bili su ispitivanje fluktuirajuće i radijalne asimetrije kao pokazatelja stabilnosti razvića vegetativnih i reproduktivnih organa kod dve zeljaste monokotile (*Iris pumila* i *Iris germanica*) i jedne drvenaste dikotile (*Robinia pseudoacacia*) u uslovima nenarušene životne sredine i u uslovima antropogeno indukovanog stresa (zagađenja u industrijskim i urbanim zonama), kao i procena mogućnosti korišćenja analiza fluktuirajuće i radijalne asimetrije kao primarnog indikatora zagađenja u sredinama sa negativnim antropogenim uticajem kako bi se programi zaštite životne sredine mogli pokrenuti pre nego što efekti stresa postanu evidentni.

Pod uticajem antropogenog stresa različitog porekla dolazi do smanjenja stabilnosti razvića, a samim tim, do porasta asimetrije kako vegetativnih tako i reproduktivnih organa. Razvojna stabilnost organizama se može proceniti analizom asimetrije, kako fluktuirajuće, tako i radijalne.

#### Postavili smo sledeća pitanja:

- Da li se stabilnost razvića procenjena metodama analize fluktuirajuće asimetrije osobina lista *R. pseudoacacia* i fluktuirajuće i radijalne asimetrije osobina cveta *I. pumila* i *I. germanica*, razlikuju između nenarušenih životnih sredina i sredina u kojima postoji negativni antropogeni uticaj?
- Da li se detekcija značajnih razlika između sredina razlikuje u zavisnosti od metode procene fluktuirajuće i radijalne asimetrije?
- Da li se procene kvaliteta životne sredine na osnovu stabilnosti razvića razlikuju u zavisnosti od vrste koja se koristi?

- Da li stepen razvojne stabilnosti varira izmedju individua i osobina?
- Da li značajnost bilo kog efekta (lokalitet, individua, osobina) zavisi od interakcije sa drugim varijablama?
- Koje su prednosti i mane alternativnih metoda za procenu efekta antropogenog stresa – određivanja koncentracije teških metala, određivanja koncentracije fotosintetičkih pigmenata, kao i utvrđivanja morfoloških razlika u osobinama biljaka poreklom iz nenarušene životne sredine i lokaliteta pod antropogenim uticajem?
- Kolike su mogućnosti korišćenja analiza fluktuirajuće i radijalne asimetrije kao primarnih indikatora zagađenja u sredinama sa negativnim antropogenim uticajem, kao i koje su metode procene iz spektra njihovih analiza najpogodnije?

## 3. Materijal i metode

#### 3.1. Objekti istraživanja

U ovom radu smo izučavali osobine jedne drvenaste dikotile i dve zeljaste monokotile koje pripadaju familijama *Fabaceae* i *Iridaceae*.

#### 3.1.1. Familija Fabaceae

Fabaceae, mahunarke ili leptirnjače, su treća po veličini familija dikotiledonih biljaka posle *Orchidaceae* i *Asteraceae*. Ova familija obuhvata veliki broj domestifikovanih vrsta od velikog značaja za ishranu ljudi i životinja (Wojciechowski i sar. 2004). Ime im potiče od latinske reči *faba* što znači pasulj. Naziv mahunarke su dobile po plodumahuni, a leptirnjače zbog izgleda cveta. Pripadnici ove familije su široko rasprostranjeni svuda sem Antarktika i krajnjeg Arktika (Rundel 1989).

Familija *Fabaceae* se najčešće deli na tri subfamilije *Caesalpinioideae*, *Mimosoideae* i *Papilionoideae*, koje se po nekim podelama smatraju i odvojenim familijama. Bez obzira na klasifikaciju, novi dokazi idu u prilog tvrdnji da je ovo monofiletička familija (Lavin i Sandersen 2004, Wojciechowski i sar. 2000 i 2004, Lewis i sar. 2005)

To su jednogodišnje i višegodišnje zeljaste biljke, grmovi, drveće i lijane. Listovi su im spiralno raspoređeni, perasto ili prstasto složeni. Cvetovi su najčešće aktinomorfni do zigomorfni, sastavljeni od pet spojenih sepala i pet slobodnih petala, skupljeni u cvasti i entomofilni su. Ono što je zajedničko svim pripadnicima familije je vrsta ploda-mahuna (Martin i sar. 2007, http://tolweb.org/Fabaceae/21093).

Vrste ove familije se karakterišu prisustvom specifičnih aminokiselina i intenzivnim metabolizmom azota. Njihovi korenovi su često u simbiozi sa bakterijama koje vrše fiksaciju azota što se smatra adaptacijom na klimatski varijabilne habitate. Ova karakteristika je i razlog zašto najveću raznovrsnost pokazuju u semiaridnim i aridnim područjima (McKey 1994).

#### 3.1.1.1. Robinia pseudoacacia L.

Običan ili beli bagrem, pripada familiji *Fabaceae*. Iako široko rasprostranjen, bagrem je poreklom sa jugoistoka Severne Amerike (Barett i sar. 1990), odakle je još u sedamnaestom veku unesen u Evropu (Holzener 1982, http://www.bio.bg.ac.rs/herbar/145.html). Osim na starom kontinentu rasprostranjen je jos i u Aziji i juznoj Africi.



Slika 3. Organi R. pseudoacacia a) cvet, b) list, c) plod

Beli bagrem je listopadni žbun ili drvo do 25m visoko i do 50cm debelo. Dugi izdanci su šiboliki sa spiralno raspoređenim parovima oštrih trouglastih trnova. Listovi su neparno perasti, 10 do 30cm dugi, sastavljeni od 9 do 12 eliptičnih lisnih ploča koje se nalaze na lisnim drškama (Slika 3b).

Cvetovi formiraju grozdaste cvasti duge do 20cm i medonosni su (Slika 3a). Cveta od aprila do juna u zavisnosti od klimatskih uslova. Entomofilna je vrsta i oprašuju ga uglavnom pčele (Šilić 1990).

Plod je spljoštena do 10cm duga tamnosmeđa mahuna u kojoj se nalazi do 8 semenki (Slika 3c). Pošto semenke imaju izuzetno tvrdu semenjaču koju klica teško probija i neophodno ih je stratifikovati, bagrem se najčešće razmnožava vegetativno-izdancima, naročito ako je prethodno uklonjen vrh stabla (u prirodi kao posledica-požara, vetra ili seče) (Šilić 1990). Unutrasnja kora, korenski izdanci i uveli listovi sadrže fitotoksin *robin* i glukozid *robitin*. Oba jedinjenja su otrovna kako za stoku, tako i za ljude (Hardin 1966).

Bagrem je otporan na prisustvo soli i zagađenja i prilagođava se različitim zemljištima, kako sušnim tako i vlažnim, te se njime pošumljavaju brojni goli i devastirani tereni, područja podložna eroziji (Boring i Swank 1984a, Chang-Seok i sar. 2003, Kostić i sar. 2012), a naročito, površinski kopovi posle završetka eksploatacije (Zeleznik i Skousen 1996). Kao leguminozna biljka vraća azot zemljištu pomoću simbiontskih bakterija u korenskim čvorićima, te je kolonizacija ovakvih podneblja važan ekološki mehanizam za akumulaciju azota i organskih materija (Boring i Swank 1984b, DeGomez 2001).

#### 3.1.2. Familija Iridaceae

Familija irisa je široko rasprostranjena u umerenoj zoni severne polulopte, naseljava kako hladne, planinske predele, tako i travnate areale, močvare i rečne obale Evrope, Dalekog istoka, Azije, severne Afrike, kao i Severne Amerike.

Samo ime-*Iris*- ime najbrojnijeg roda ove familije predstavlja grčku reč za dugu. Irisi su se pojavili u jugoistočnim delovima Azije tokom tercijara (paleogen i neogen po novoj klasifikaciji) da bi se kasnije raširili širom severne hemisfere (Köhlein 1987).

To su višegodišnje zeljaste biljke koje se razvijaju kako iz rizoma, tako i iz lukovica, pre svega u sušnijim predelima. Cvetne stabljike su im uspravne i mogu biti pojedinačne ili se granati. Cvetovi se sastoje od šest delova-petala, kruničnih listića koji se na dnu spajaju u cvetnu tubu postavljenu iznad ovarijuma. Struktura cveta je takva da omogućava stranooplodnju, jer insekt pri ulasku u cvet u potrazi za nektarom na stigmi tučka ostavlja polen koji na sebi nosi, zatim dolazi u kontakt sa anterama cveta, na

njemu ostaje novi polen i pri izlasku dolazi u kontakt samo sa donjim delom žiga koji nije receptivan te se tako izbegava samooplođenje. Struktura na koju sleće insekt-oprašivač naziva se polinatorski tunel i sastoji se od fola sa donje strane i stigme i prašnika sa gornje (Slika 4). Svaki cvet sadrži tri ovakve polinatorske jedinice.



Slika 4. Polinatorski tunel

Pretpostavlja se da familija *Iridaceae* ima oko 300 vrsta. Ozbiljnije klasifikacije počinju sa knjigom W. R. Dykes-a iz 1913 godine koji je ovu familiju podelio na podgrupe-kasnije nazvane subfamilije-njih šest od kojih su pet rasprostranjene u starom svetu, dok je rasprostranjenje šeste holarktičko (*Limniris*).

Filogenetski odnosi vrsta roda *Iris* su veoma komplikovani zbog izrazite morfoekološke raznovrsnosti, širokog rasprostranjenja, brojnih hibridizacija i konvergentnih evolutivnih procesa, te kako kaže Mathew (1989): "Ima skoro onoliko različitih klasifikacija koliko i botaničara koji su ih izučavali".

#### 3.1.2.1. *Iris pumila* L.

Bradata patuljasta perunika (Slika 5), je višegodišnja monokotiledona biljka široko rasprostranjena u livadsko-stepskim zajednicama jugoistočne Evrope. Areal koji obuhvata prostire se od Austrije na zapadu, do planine Ural na istoku, tj. od južne Moravske na severu, do severne Anadolije na jugu (Randolph 1955). U Srbiji se prirodna staništa *I. pumila* nalaze se u njenom severnom i istočnom delu, pre svega na području Deliblatske peščare.

Pretpostavlja se da ova vrsta potiče od dve vrste irisa: *I. pseudopumila* Boissier & Heldreich i *I. attica* Tineo, čiji se areali se nalaze nesto južnije - *I. attica* je rasprostranjena u Južnoj Grčkoj, a *I. pseudopumila* na Siciliji, u južnoj Italiji i u Hrvatskoj Dalmaciji. Tipičan kariotip *I. pumila*-alotetraploid-se sastoji od 32 hromozoma (2n=16) i predstavlja kombinaciju genoma prethodne dve vrste koje imaju po 16 hromozoma (2n=16) (Mitra, 1956). Poreklo vrste *Iris pumila* posredno pokazuje da su pripadnici genusa *Iris* u proslosti bili mnogo šire rasprostranjeni, jer su predačke vrste morale biti simpatrične, dok danas to nisu.

Bradata perunika pripada životnoj formi efemeroidnih rizomatoznih geofita (Mousel i sar. 1956) i ime je dobila po izraženim obojenim "dlakama" duž centralnog nerva na folovima.

I. pumila je vrsta zaštićena Uredbom o zaštiti prirodnih retkosti i nalazise na Crvenoj listi i u Crvenoj knjizi zaštićenih biljnih vrsta (Stevanović 1999).



Slika 5. Iris pumila

Cvet joj je terminalan, krupan, dvopolan i aktinomorfan. Pupoljak je okružen sa dve spate koje su dugačke od 5 do 10 cm, spoljašnja je tamnije zelene boje od unutrašnje. Perijant je krunicolik i sastoji se od šest delova-tri standarda (unutrašnji krug perijanta) i tri fola (spoljašnji krug perijanta). Latice označene kao folovi su orijentisane na dole, dok su standardi orijentisani vertikalno na gore. Centralni krug sačinjavaju tri tučka sa žigom na vrhu, dok se iznad žiga nalaze tzv. kresta. Tučak i prašnik su okrenuti ka folu,

sa kojim formiraju polinatorski tunel (Slika 4). Sa unutrašnje strane fola pri osnovi je pričvršćen filament prašnika na kome se nalaze dve antere.

Listovi su naizmenično raspoređeni u dva reda, sabljasti, bifacijalni, sivkasto-zelene boje. Dugacki su oko 8–10 cm, a siroki 6–15 mm pre cvetanja, dok kasnije mogu dostići dužinu i do 15–20 cm. Novi listovi se pojavljuju isključivo u proleće, a životni vek završavaju u jesen.



Slika 6. Klonovi *Iris pumila* u Deliblatskoj peščari

*I. pumila* je stranooplodna, entomofilna vrsta specijalizovana za oprašivanje od strane bumbara (*Bombus sp.*), mada je oprašuju i druge vrste iz roda *Apis*. Osim polnim, razmnožava se i vegetativnim putem. Sezona cvetanja joj traje relativno kratko, 20-30 dana, u periodu od marta do maja.

Plod je lokulicidna čaura, jajolika, na vrhu šiljata. Sazreva za par meseci i sadrži nekoliko desetina semena. Seme je jajasto sa naboranom semenjačom, a rasejava se u neposrednoj blizini majke-biljke. Klijanci se pojavljuju u jesen i potrebno im je nekoliko godina da procvetaju. U već naseljenim staništima ipak preovladava vegetativno razmnožavanje putem podzemnih stabala – rizoma. Klonove *I. pumila* karakteriše radijalni rast od centra ka marginama. Segmenti rizoma ostaju povezani kroz duži niz godina, a prstenast oblik klonovi dobijaju usled izumiranja starijih segmenata u centru klona (Slika 6).

Populacije *I. pumila* su izrazito polimorfne u odnosu na boju cveta i svaki klon ima specifičnu boju (belu, žutu i nijanse plave i ljubičaste), što se može smatrati karakteristikom klona (genotipa) (Tucić i sar. 1988). Polimorfizam boja je fenotipska

ekspresija segregacije nekoliko genskih lokusa (Köhlein 1987). Korišćenje boje cveta kao genetičkog markera omogućava preciznu identifikaciju, mapiranje i merenje veličine različitih klonova (jedinki) *I. pumila* u prirodnim staništima (Tarasjev i sar. 2012).

### 3.1.2.2. Iris germanica L.

Nemački iris, pripada grupi bradatih irisa i predačka je vrsta većine savremenih bradatih irisa čiji se varijeteti gaje kao dekorativne biljke. Bez obzira na uobičajen naziv ova vrsta ne potiče sa područja Nemačke, rasprostranjena je u Srednjoj Evropi, Sredozemlju, Balkanskom poluostrvu i Maloj Aziji. Pripada mediteranskim flornim elementima (http://www.bio.bg.ac.rs/herbar/085.html).





Slika 7. *I. germanica* a) cvast, b) cvet

Dostiže visinu od 60-120cm, glavna stabljika je sa 1-2 izdanka, a na svakom cvast može imati 1-3 cveta (Slika 7a). Razmnožava se seksualno i slobodno granajućim rizomima. Ima tipične cvetove, svaki se sastoji od šest delova: tri spoljašnje latice-folovi i tri unutrašnje-standardi (Slika 7b). Između fola i standarda se nalaze stigma i prašnik.

Cvetovi mogu biti bele, žute, ljubičaste ili plave boje i pojavljuju se tokom maja meseca.

Sabljoliki listovi su bazalno postavljeni i mogu dostići visinu do oko 60cm (Stager 1917).

Kariotipske analize su pokazale da ova vrsta koja ima 44 hromozoma, najverovatnije potiče od hibridne kombinacije genotipova patuljastih irisa sa kariotipom od 40 hromozoma i genotipova vrsta sa visokim stabljikama koje imaju 48 hromozoma (Mitra 1956).





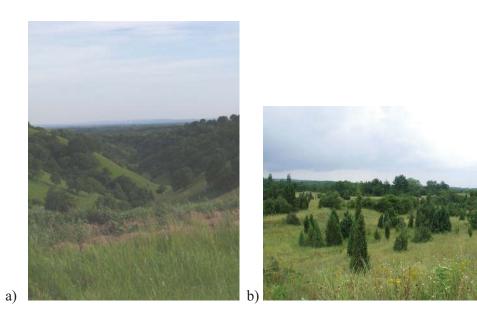
Slika 8 a i b. *I. germanica* u urbanoj sredini (Beograd)

*Iris germanica* se gaji kao dekorativna biljka po baštama, parkovima i drugim zelenim površinama (Slika 8 a i b), a koristi se i za učvršćivanje osulina (http://www.bio.bg.ac.rs/herbar/085.html).

# 3.2. Lokaliteti

### 3.2.1. Deliblatska peščara

Deliblatska peščara ili Banatski pesak (Slika 9 a i b) se nalazi u jugoistočnom delu Panonske nizije između Dunava i Karpata, dugačka je 35km i 20km široka te zauzima površinu od oko 300km². Dine žutog i sivog peska, sa maksimalnim visinskim kotama blizu 200 metara nadmorske visine, pravilnog su jugoistočno-severozapadnog pravca prostiranja, kako je usmeren i ceo kompleks peščare (Ducić i Milovanović 2004).



Slika 9 a i b. Deliblatska peščara

Deliblatska peščara je geomorfološka formacija eolskog porekla, nastala je tokom ledenog doba deluvijalnim procesom i pripada retkom prirodnom fenomenu, jedinstvenom u Evropi. Nevezani pesak je nekada bio veliki problem, jer se pod dejstvom košave razvejavao širokim prostorima Panonske nizije (Ducić i Milovanović 2004, Antić i sar. 1969).

Klima peščare je izmenjena kontinentalna klima panonskog tipa sa elementima stepske klime. Pripada subhumidnoj klimi suvljeg tipa. Srednje maksimalne temperature su niže za 0,7 - 1,1°C od prosečne srednje maksimalne temperature za područje Vojvodine. Apsolutni maksimum je +40°C, a apsolutni minimum -30°C.U pogledu padavina u toku

godine, juni ima maksimalne količine, dok su minimalne padavine u februaru i ponekad u martu mesecu. Najvlažniji meseci su decembar i januar, a najsuvlji april i septembar (Prostorni plan 2006).

Fizičke osobine peska u tlu uslovljavaju specifičnu hidrologiju i mezoklimu, tako da površinskih vodotokova nema, a vodonosni horizonti su na većim dubinama - bušeni bunari dubine od 100-400m, kao i tri stalne prirodne bare u manjim depresijama jugoistočnog dela. Peščaru karakterišu velike dnevno-noćne i letnje-zimske amplitude kolebanja temperature vazduha i površine tla, rani jesenji i pozni prolećni mrazevi, deficit vlage u tlu leti, uz intenzivnu sunčevu radijaciju, kao i izrazit sušni period tokom leta i jeseni. Košava je dominantni vetar, koji često duva uraganskim brzinama (do 180 km na sat) (Gajić 1983).

Umereno kontinentalna klima, odsustvo površinskih vodotokova i peščana zemljišta uslovila su osobene životne zajednice, koje su izdvojene u posebnu biljno-geografsku oblast *Deliblaticum*.

U jedinstvenom mozaiku ekosistema, nalaze se tipične vrste flore i faune od kojih su mnoge prirodne retkosti. Flora sa preko 900 vrsta, podvrsta i varijeteta obiluje raritetima, reliktima, endemima i subendemima, kao što su patuljasta perunika, stepski božur, pančićev pelen, peščarsko smilje i kleka – jedini samonikli četinar panonske nizije.

Prirodnu autohtonu šumsku vegetaciju predstvljaju šume bele lipe i krupnolisnog međunca. Osim autohtonih vrsta u Deliblatskoj peščari se nalaze i brojni zasadi drveća, pre svega, belog bora (*Pinus sylvestris*), crnog bora (*Pinus nigra*) i belog bagrema (*Robinia pseudoacacia*).

#### 3.2.2. Vršački breg

Vršačke planine ili Vršački breg (Slika 10) se uzdižu usred Panonske ravnice u jugozapadnom delu Banata. Pruža se u pravcu istok-zapad, u dužini od 19 kilometara, sa najvećom širinom od 8 km. Površina mu je 170 km², od čega je u Srbiji 122, a u Rumuniji 48km². Gudurički vrh, sa 641 m nadmorske visine, najviša je tačka ovih planina i cele Vojvodine. Vršačke planine spadaju, zajedno s Fruškom gorom, u ostrvske planine, jer su nekada bile ostrvo u Panonskom moru.

Klima je umereno-kontinentalna sa kontinentalnim uplivom sa istoka. Sušni period obuhvata avgust, septembar i oktobar. Srednja godišnja temperatura je 11.6°C, najtopliji meseci su jul i avgust, a najhladniji januar.



Slika 10. Vršački breg

Prosek padavina je 645 mm pri čemu najveća količina kiše padne u maju i junu. Preovladava jugoistočni vetar koji odnosi vlažnost iz ovog područja te su Vršačke planine region sa najnižom važnošću u Vojvodini (Pekanović 1991, Vučković 1991, Papp i Sabovljević 2010)

Ovo područje se nalazi na prelazu šumsko-stepske i šumske zone. Vaskularna flora obuhvata 1017 vrsta od kojih je 7 svrstano u Crvenu knjigu Srbije (Stevanović 1999). Među njima se nalaze endemične, reliktne i retke vrste. Od drvenastih biljaka najzastupljeniji su hrast, lipa i introdukovani bagrem (*R. pseudoacacia*).

Zbog jedinstvenog položaja Vršačkih planina u Banatu, raznovrsnosti flore i vegetacije, bogatih šumskih ekosistema, veći deo šumskog područja ove planine u Srbiji, zaštićen je 1982-ge godine kao Park prirode.

# 3.2.3. Stari Banovci, Novi Banovci i Belegiš

Stari Banovci, Novi Banovci i Belegiš (Slika 11) su naselja u opštini Stara Pazova u Sremskom okrugu na desnoj obali Dunava i udaljena su 12 kilometara od Beograda.

Nalaze se u južnom delu Panonske nizije na nadmorskoj visini od oko 80m (www.starapazova.eu).

Klima je u ovom području umereno kontinentalna, odlikuju je umerene zime, topla leta i kišovita proleća i jeseni sa količinom padavina od oko 600mm/m².

Pored Novih Banovaca prolazi autoput E-75 koji predstavlja glavnu vezu Novih Banovaca i Beograda, kao i vezu Novih Banovaca i Novog Sada koji je udaljen 60 km.



Slika 11. Stari Banovci

Ova mesta su uglavnom ruralna sa izuzetkom Novih Banovaca koji se smatraju seoskogradskim naseljem, bez razvijene industrije, a privreda je zasnovana na poljoprivredi i malim i srednjim preduzećima, kao i turizmu.

#### 3.2.4. Pančevo

Pančevo je grad u Banatu, sedište istoimene opštine i Južno-banatskog okruga, nalazi se 15 km severoistočno od Beograda, na ušću Tamiša u Dunav i zauzima površinu od oko 230 km<sup>2</sup>.

Opština Pančevo ima umereno kontinentalnu klimu koju karakterišu duga i topla leta i jeseni, blage zime i kratka proleća. Posebnu specifičnost predstavlja košava, jak i suv

vetar koji najčešće duva u rano proleće i poznu jesen, a dostiže brzinu do 100 km/h. U hladnom periodu javljaju se još i zimski severac i severozapadni vetar.

Aluvijalne ravni Dunava i Tamiša predstavljaju najniže oblasti nagnute u pravcu oticanja reka, dok lesne zaravni zauzimaju najveće površine i od izuzetnog su značaja za poljoprivredu. Teritorijom opštine Pančevo protiče reka Dunav u dužini od oko 30 km (www.vojvodinaonline.com).



Slika 12. Rafinerija nafte, Pančevo

Pančevo je poznato po svojoj industriji i industrijskim postrojenjima. Nakon prvog svetskog rata, pančevačka industrija postaje jedan od industrijskih giganata bivših Jugoslavija. Otvaraju se mnogobrojne fabrike, a neke od najvažnijih su:

- -Rafinerija nafte koja je pocela da radi 1968. god (Slika 12).
- -Azotara fabrika za proizvodnju veštačkog đubriva, počela je da radi 1962. god.
- -Petrohemija fabrika za preradu sirovog benzina i proizvodnju plastičnih masa, počela da radi 1977. god.

Na stanje životne sredine u Pančevu najvažniji uticaj imaju: velika koncentracija bazne i hemijske industrijske proizvodnje na jednom mestu, blizina industrijske zone u odnosu na naseljena mesta, izgradnja hemijskih postrojenja na pravcu dominantnih vetrova, zastarela tehnologija na postrojenjima koja su uglavnom stara dvadeset i više godina, kao i nepoštovanje zakonske regulative iz oblasti zaštite životne sredine i posledice NATO bombardovanja 1999. godine.

Osnovne zagađujuće materije su: sumpordioksid (SO<sub>2</sub>), azotdioksid (NO<sub>2</sub>), čađ, suspendovane čestice gde spadaju i toksični metali (Pb, Cd, Zn, Hg, As, Ni), zatim: amonijak (NH<sub>3</sub>), benzen, toluen, ksilen, merkaptani, vodonik sulfid (H<sub>2</sub>S), ugljendisulfid (CS<sub>2</sub>), kao i policiklični aromatični ugljovodonici (PAU) (Izveštaj o stanju životne sredine na teritoriji grada Pančeva 2008).

### 3.2.5. Obrenovac

Obrenovac je centralno mesto obrenovačke opštine koja se prostire središnjim delom donjokolubarskog basena i zauzima površinu od 409km². Najveći deo je izrazito ravničarski, dok su pojedini delovi brežuljkasti i blago brdoviti, naslonjeni na zapadnu podgorinu Avale na istoku i jugoistoku i pocerinu na zapadu.

Obrenovac se nalazi u središtu severnog umereno-toplog pojasa, sa klimom blažom od tipične panonske, kontinentalne. Prosečna godišnja temperatura u ovoj oblasti je oko 11° C, leti oko 22° C, a zimi oko -1° C, sa maksimalnim rasponom koji se kreće od -28° C do 40°C. U toku godine prosek padavina je oko 640 l/m².

Termoelektrana "Nikola Tesla" (Slika 13) je najveća elektrana u Srbiji i predstavlja preduzeće koje objedinjuje 4 pogona: "Nikola Tesla A" i "Nikola Tesla B" u Obrenovcu, termoelektranu "Kolubara" u Velikim Crljenima i "Morava" u Svilajncu.



Slika 13. TE Nikola Tesla, Obrenovac

Termoelektrane dovode do zagađenja vazduha, zemljišta, podzemnih voda i površinskih vodenih tokova kako emisijom čvrstih čestica, tako i emisijom dimnih gasova. Takođe do zagađenja životne sredine dolazi i kao posledica samog transporta energenata do termoelektrana.

Termoelektrana "Nikola Tesla" proizvodi 36% ukupne električne energije u Srbiji i najveći je proizvođač električne energije u jugoistočnoj Evropi. Termoelektrane u Obrenovcu se snabdevaju niskokaloričnim lignitom iz Kolubarskih površinskih kopova. Pruga Obrenovac-Vreoci više puta je dograđivana i danas ima 100 kilometara koloseka i dnevni dovoz od oko 100.000 tona uglja, što je čini najopterećenijom saobraćajnicom u Srbiji i jednom od najopterećenijih u Evropi (http://www.tent.rs/).

#### 3.2.6. Kostolac

Kostolac je sedište gradske opštine Kostolac koja se nalazi u sastavu grada Požarevca u Braničevskom okrugu. Od Požarevca je udaljen 11, a od Beograda 90 kilometara. Područje Kostolca, kao deo južnog oboda Panonskog basena, ima umerenokontinentalnu klimu u kojoj su naglašeni uticaji stepsko-kontinentalne klime susednog Banata. Odlikuju je relativno hladne zime i topla leta, kao i značajno dejstvo košave. Srednja godišnja temperatura iznosi 10,9°C. Najhladniji mesec je januar, sa prosečnom temperaturom od -0,1°C, a najtopliji mesec je jul sa prosečnom temperaturom 21,2°C. Srednja godišnja količina vodenog taloga iznosi 600 do 640mm. Najbogatiji padavinama je mesec jun, a najsiromašniji septembar (http://kostolac.info/o-kostolcu/). U neposrednoj okolini ovog grada se nalaze termoelektrane i rudnici uglja. Kostolački ugljeni basen se prostire na površini od oko 400km2. Na tom prostoru utvrđene su bogate rezerve lignita, mrkog i kamenog uglja (Slika 14). Prva organizovana eksploatacija na prostoru kostolačkog basena je započela 1870 god, 1943-će se otvara prvi površinski kop, a 1948-me prva termoelektrana. U sastavu Privrednog društva "Termoelektrane i kopovi Kostolac" se nalaze: površinski kop "Ćirikovac", površinski kop "Drmno", termoelektrana "Kostolac A" i termoelektrana "Kostolac B".

Površinski kopovi i termoelektrane dovode do zagađenja vazduha emisijom čvrstih čestica i emisijom dimnih gasova, kao i do zagađenja zemljišta razvejavanjem pepela sa deponija i vodenih tokova što uključuje i podzemne i površinske vode

Svake godine u termoelektranama, sagori se preko 7 miliona tona uglja, a kao produkt sagorevanja nastaje više od 1,6 miliona tona pepela i šljake, koji se deponuju na otvorenom odlagalištu ukupne površine 250 hektara, kao i preko 4.000.000 m³ dimnog gasa na sat.



Slika 14. Površinski kop, Kostolac

Otkrivka je glavni nusproizvod iskopavanja, odnosno površinski sloj zemljišta koji prekriva ugalj i koji se mora ukloniti da bi se došlo do uglja. Ona se ne smatra otpadom jer se može iskoristiti za rekultivaciju i revitalizaciju zemljišta (www.te-ko.rs).



Slika 15. Zaštitni pojas vegetacije, Kostolac

Rekultivacija se sastoji iz dva dela-ravnjanje površina na odlagalištima kopova, pre svega, jalovine i nanošenje humusno-akumulativnog sloja. Drugi deo rekultivacije je agrobiološki, koji ima zadatak da pripremi jalovinu za prevođenje u plodno zemljište. Na rekultivisanom zemljištu oko kostolačkih rudnika su posađene šume topole, belog bagrema i sibirskog bresta (Slika 15).

# 3.2.7. Autoput E-75 i put Beograd-Novi Sad

Autoput je put namenjen isključivo brzom motornom saobraćaju na kome vlada režim neprekinutih tokova. Put E75 je evropski put klase A, koji spaja krajnji sever (Norvešku) i jug (Grčku, tačnije ostrvo Krit) Evrope i najduži je evropski međunarodnih put koji prolazi kroz Srbiju (Slika 16). Vozila se njime kreću brzinom od najmanje 80 km/h, a najviše (u Srbiji) 120 km/h.



Slika 16. *I. pumila* na putu Beograd-Novi Sad

Transport je danas najveći izvor zagađenja, naročito u urbanim područjima. Uticaj puteva na životnu sredinu uključuje lokalne efekte kao što su buka, zagađenje vode i vazduha, kao i uništavanje staništa, dok šire posledice uključuju klimatske promene koje nastaju kao posledica emisije štetnih gasova. Štetni gasovi sadrže azotne okside,

isparljiva organska jedinjenja, ugljen monoksid i razne druge opasne zagađivače uključujući i benzen i teške metale.

Oticanje vode sa saobraćajnica (eng. *runoff*) je glavni izvor zagađenja okolnih voda. Kišnica i istopljeni sneg nose sa sobom goriva i motorna ulja, kao i teške metale i druge zagađivače koji sadrže nikl, bakar, cink, kadmijum, olovo i policiklične aromatične ugljovodonike, koji su nastali sagorevanjem nusprodukata benzina i drugih fosilnih goriva. Taloženje ovih materija u blizini puteva rezultuje u kontaminaciji površinskih i dubinskih slojeva zemljišta (Hamilton i Harrison 1991). Soli koje se upotrebljavaju u održavanju puteva (uglavnom hloridi natrijuma, kalcijuma ili magnezijuma) takođe mogu biti toksične za osetljive biljne i životinjske vrste.

### 3.2.8. Beograd

Beograd je glavni, a ujedno i najveći grad Srbije, nalazi se na ušću reke Save u Dunav, na spoju Panonske nizije sa Balkanskim poluostrvom. Prostire se na nadmorskoj visini od 116.75m i ima umereno kontinentalnu klimu. Prosečna godišnja temperatura vazduha je 11.7°C. Za područje grada karakteristična je i košava, jugoistočni i istočni vetar. Najčešće se javlja u toku jeseni i zime u intervalima od dva do tri dana i može dostići brzinu od 130km/h. Prosečna količina padavina u Beogradu je oko 670mm, a najvlažniji meseci su maj i jun.



Slika 17. Slobodna zona Beograd

Beograd je železničko i drumsko čvorište, kao i grad sa razvijenom metalskom, metaloprerađivačkom i telekomunikacionom industrijom (Slika 17, http://www.beograd.rs/). U Beogradu nema pravih industrijskih zona i mnoga postrojenja se nalaze u okviru ili u blizini stambenih zona. Osim saobraćaja i industrije na kvalitet životne sredine u Beogradu utiču i energenti koj su u upotrebi kao što su: drvo, ugalj, tečna goriva i gas (Anđelković 2002). Ukupan broj stanovnika prema popisu iz 2011-te godine iznosi preko 1.7 miliona (Republički zavod za statistiku 2011), te su i otpadne vode jedan od velikih zagađivača u gradskom području.

# 3.3. Uzorci



Slika 18. Ispitivani lokaliteti

# 3.3.1. Robinia pseudoacacia

# 3.3.1.1. Fluktuirajuća asimetrija i morfološke osobine lista

Listovi bagrema su uzimani sa sledećih lokaliteta (Slika 18) odakle su analizirani navedeni uzorci:

# Zagađena sredina:

- Kostolac (pepelište)-300 stabala
- Pančevo (okolina rafinerije) -148 stabala
- Autoput (Bubanj potok) -134 stabala
- Obrenovac (okolina termoelektrane) -113 stabala

# Nezagađena sredina:

- Deliblatska peščara-297 stabala
- Banovci (Stari i Novi Banovci) -197 stabala
- Vršački breg-300 stabala

# 3.3.2. Iris pumila

### 3.3.2.1. Ontogenija razvića cveta

Pupoljci *I. pumila* za prvi eksperiment-ispitivanje morfoloških faza razvića- su uzimani u lokalitetu Deliblatska peščara (Slika 18) i to sa:

- 47 klonova sa otvorenog staništa i
- 18 klonova sa zasenčenog staništa.

Uzimana su do dva pupoljka po stadijumu tj. klonu što je rezultiralo u ukupno 432 analizirana pupoljka.

Za drugi eksperiment-ispitivanje vremenskih faza razvića- pupoljci *Iris pumila* su uzimani u lokalitetu Deliblatska peščara i to sa:

- 30 klonova sa otvorenog staništa i
- 30 klonova sa zasenčenog staništa.

Uzimana su po tri rameta sa trideset klonova po fazi što je rezultiralo u ukupno 540 analiziranih pupoljaka.

### 3.3.2.2. Radijalna i fluktuirajuća asimetrija i morfološke osobine cveta

U Deliblatskoj peščari je postavljeno 197 kočića čime su obeleženi različiti, fizički razdvojeni klonovi patuljastog irisa, *I. pumila*. Klonovi su selektovani prema boji otvorenih cvetova.

Po dve replike svakog klona su zatim u jesen iste godine presađene na potez puta Beograd-Novi Sad (magistralni put M-22, odnosno E-75) ispod elasto-odbojne ograde srednjeg razdelnog pojasa (Slika 16).

Za analizu radijalne i fluktuirajuće asimetrije cveta, kao i za analizu morfoloških osobina, cvetovi *I. pumila* su uzimani sa sledećih lokaliteta (Slika 18) odakle su analizirani navedeni uzorci:

# Zagađena sredina:

Beograd-Novi Sad-55 klonova

### Nezagađena sredina:

Deliblatska peščara -149 klonova

# 3.3.3. Iris germanica

# 3.3.1. Radijalna i fluktuirajuća asimetrija i morfološke osobine cveta

Cvetovi *Iris germanica* su uzimani sa sledećih lokaliteta (Slika 18) odakle su analizirani navedeni uzorci:

### Zagađena sredina:

• Beograd- 133 klona

# Nezagađena sredina:

- Stari i Novi Banovci-103 klona
- Belegiš-34 klona

# 3.4. Analize osobina

Ispitivali smo stabilnosti razvića morfoloških osobina vegetativnih (list) i reproduktivnih (cvet) organa, kod dve zeljaste monokotile (*Iris pumila* i *Iris germanica*) i jedne drvenaste dikotile (*Robinia pseudoacacia*) putem procene stepena fluktuirajuće (list *R. pseudoacacia*, cvet *I. pumila* i *I. germanica*) i radijalne asimetrije (cvet *I pumila* i *I. germanica*), u uslovima nenarušene životne sredine i u uslovima antropogeno indukovanog stresa. Takođe smo ispitivali morfološke osobine kao i sadržaj teških

metala u listu *R. pseudoacacia* i morfološke osobine cveta i fiziološke osobine lista *I. pumila* (koncentracija fotosintetičkih pigmenata).

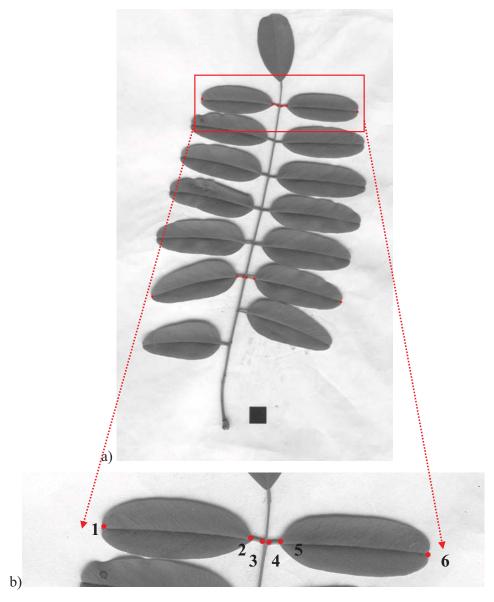
# 3.4.1. Analiza osobina lista Robinia pseudoacacia

Sa svakog stabla, sa oboda krošnje, su brana po dva potpuno razvijena složena lista. Listovi su birani po principu slučajnosti. Svaki pojedinačan list je zatim postavljan između dve staklene ploče i sniman na skeneru, (CanoScan 5200F, Canon), u rezoluciji od 200ppi (*pixel per inch*). Pored svakog lista skeniran je i kvadrat stranice dužine 1cm koja u rezoluciji 200ppi sadrži 79 piksela, što je i bila vrednost kojom je vršena kalibracija dobijenih linearnih dimenzija. Slike su obeležavane (tačkane) u programu tpsDIG 2.16 (Rohlf 2010) prema šemi prikazanoj na Slici 19. (tačke su stavljane na po dva para pojedinačnih listova u dva pršljena-na oba kraja lisnih ploča i na oba kraja lisnih drški, gde je tačka baze lisne ploče i kraja lisne drške zajednička). Parovi lisnih ploča u pršljenovima su birani tako da budu u pravilnoj opoziciji, a na suprotnim krajevima složenog lista-tj. u idealnom slučaju, prvi i poslednji par. Svaka tačka u stvari predstavlja koordinate njenog položaja na slici.

Obeležavane su po dve replike svakog lista. Slike su prvo randomizovane, a obrade pojedinačnih replika su bile vremenski razdvojene. Sve slike je obeležavala jedna osoba da bi se izbegla greška merenja eksperimentatora. Ovakav princip je primenjen i na ostalim merenjima vršenim u ovom eksperimentu.

U okviru jednog pršljena tj. nodusa su merene su sledeće osobine (od ukupno dva po listu, Slika 19b):

- dužina lisne ploče sa leve strane (1-2)
- dužina lisne drške sa leve strane (2-3)
- dužina lisne ploče sa desne strane (4-5)
- dužina lisne drške sa desne strane (5-6)



Slika 19. Merene osobine R. pseudoacacia a) lista, b) pojedinačnog nodusa

# 3.4.1.1. Morfološke osobine

Analizirane su merene osobine (Slika 19b) prvog i drugog pršljena složenog lista i upoređivane su njihove prosečne vrednosti između ispitivanih nezagađenih (Banovci, Vršački Breg, Deliblatska peščara) i zagađenih (Pančevo, Autoput, Kostolac i Obrenovac) lokaliteta.

#### 3.4.1.2. Fluktuirajuća asimetrija

Dobijeni nizovi koordinata su zatim pomoću programa TMorphGen6, (Sheets i Zelditch 2005), prevođeni u linearne dimenzije tj. dužine lisnih ploča i dužine lisnih drški. Svaka dužina je podeljena sa dužinom stranice kvadrata za kalibraciju čime smo dobili dimenzije u centimetrima.

Posle oduzimanja vrednosti osobina sa desne i leve strane dobijene su razlike:

- za prvi par- razlika dužina desne i leve lisne ploče i razlika dužina desne i leve lisne drške
- za drugi par- razlika dužina desne i leve lisne ploče i razlika dužina desne i leve lisne drške

Pošto su listovi bagrema bilateralno simetrični ove razlike predstavljaju vrednosti na osnovu kojih se izračunavaju indeksi fluktuirajuće asimetrije (videti odeljak 3.5.1.2.1.) obradu podataka) čije su vrednosti poređene između ispitivanih nezagađenih (Banovci, Vršački Breg, Deliblatska peščara) i zagađenih (Pančevo, Autoput, Kostolac i Obrenovac) lokaliteta.

### 3.4.1.3. Koncentracija teških metala

Sa svakog od sedam izučavanih lokaliteta je uzet uzorak od po pet listova. U listovima je određivana i koncentracija teških metala, As, Cd, Pb i Ni, primenom mikrotalasne digestije praćene ICP tehnikom. Analiza je rađena u Laboratoriji Instituta za zemljiste u Beogradu. Svaki list je prethodno opran četkicom u destilovanoj vodi ne bi li se utvrdila apsorbovana količina teških metala. Biljni materijal je prvo sušen u sušnici na 80°C 12h, a zatim samleven i digestovan u mikrotalasnom sistemu (CEM 39 MDS-2000), koristeći metod USEPA 3052 (USEPA 1996). Uzorci su zatim ponovo digestovani u mešavini12ml HNO3 i 4ml H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>. Koncentracije teških metala su merene pomoću spektrofotometra za atomsku apsorpciju (Pye Unicam SP9). Koncentracije su određivane kao slepe probe bez znanja o njihovom poreklu. Početno ispitivanje je obuhvatalo ukupno pet listova za svaki lokalitet (Pančevo, Kostolac, Obrenovac, Autoput, Banovci, Vršački Breg i Deliblatska peščara) i svaki ispitivani teški metal, ali

su po dve vrednosti-najmanja i najveća odstranjene ("trimovane") iz analize. Sve vrednosti su predstavljane u *ppm* (*parts per million*).

# 3.4.2. Analiza osobina cveta i lista Iris pumila

## 3.4.2.1. Analiza osobina cveta Iris pumila.

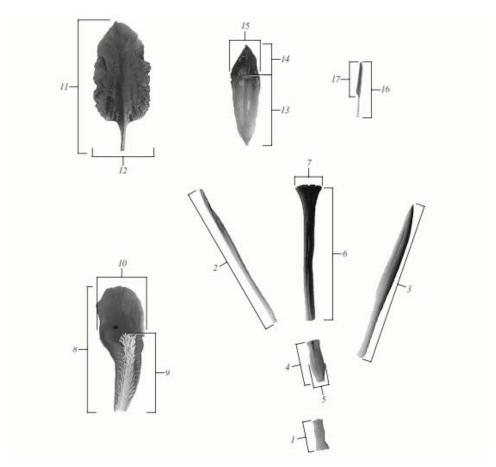
# 3.4.2.1.1. Stadijumi razvića cvetnog pupoljka

Stadijumi razvića cvetnog pupoljka kod patuljastog irisa su analizirani na dva načinakao pojedinačne morfološki distinktne faze (Barišić i sar. 2012a) i kao vremenski determinisane faze (Barišić i sar. 2012b). Ova dva eksperimenta predstavljaju preliminarna ispitivanja osobina cvetnog pupoljka tj. cveta na osnovu kojih smo vršili odabir osobina za dalje analize-pre svega, analize fluktuirajuće i radijalne asimetrije. U prvoj analizi smo uzorkovali pupoljke na tačno morfološki određenom stadijumu razvića (skriveni pupoljak (H), spate (S), obojeni pupoljak (C), finalni pupoljak (B) i otvoreni cvet (F)), dok smo u drugoj analizi uzorkovali pupoljke u određenim vremenskim intervalima (tri vremenske tačke razdvojene periodima od tri dana) pre potpunog otvaranja cveta i to sa dva ekološki različita staništa-otvorenog i zasenčenog. Na otvorenom staništu koje izloženo direktnoj sunčevoj svetlosti intenzitet zračenja je iznosio 666.1 µmol m<sup>-2</sup>s<sup>-1</sup>, a kvalitet svetlosti vrednovan odnosom crvene i dalekocrvene svetlosti (red/far red ratio (R/FR)) 1.16. Druga populacija je uzorkovana iz šumskog staništa-šume crnog bora Pinus nigra (nastala pošumljavanjem pre oko pedeset godina). Na ovom lokalitetu intenzitet zračenja je iznosio 170.9 µmol m<sup>-2</sup>s<sup>-</sup>1, a R/FR odnos 0.96. Mere intenziteta i kvaliteta svetlosti su dobijene korišćenjem LiCor 1000 (D) datalogger-a i Li190SA i Skye SKR110 senzora.

Ispitivane su sledeće osobine (Slika 20):

- 1. Dužina stabljike (*Steam length*, SL)
- 2. Dužina prve spate (Length of first spath, LIS)
- 3. Dužina druge spate (*Length of second spathe*, LIIS)
- 4. Dužina plodnika (*Ovary length*, OL)

- 5. Širina plodnika (Ovary width, OW)
- 6. Dužina stubića (Tube length, TL)
- 7. Obim stubića (*Tube radius*, TR)
- 8. Dužina fola (Fall length, FL)
- 9. Dužina brade (Beard length, BL)
- 10. Širina fola (Fall width, FW)
- 11. Dužina standarda (Standard length, SL)
- 12. Širina standarda (*Standard width*, SW)
- 13. Dužina žiga (*Stigma length*, SML)
- 14. Dužina kreste (*Crest length*, CL)
- 15. Širina kreste (*Crest width*, CW)
- 16. Dužina prašnika (Stamen length, STL)
- 17. Dužina antere (Anther length, AL)



Slika 20. Morfološke karakteristike merene na pupoljcima I. pumila

U prvom eksperimentu su merene sve osobine sem BL, dok su u drugom pridodate još i dužina (*Leaf length*, LL) i širina lista (*Leaf width*, LW). Sva merenja su vršena na svežem biljnom materijalu pomičnim merilom sa nonijusom (mm).

Pojedinačni pupoljci su brani u pet morfološki različitih stadijuma razvića tokom sezone cvetanja (Slika 21):

- 1. Skriveni pupoljak (*Hidden bud*, H)-nema vidljivih cvetnih delova, ali se sam pupoljak može napipati između listova
- 2. Spate (Spathe, S)- vrhovi dve spate se mogu uočiti između listova
- 3. Obojeni pupoljak (*Colored bud*, C)-obojeni vrh perijanta se može uočiti između spata
- 4. Finalni pupoljak (Final bud, B)-većina perijanta je izvan spata
- 5. Otvoreni cvet (*Open flower*, F)



Slika 21. Faze razvića cvetnog pupoljka

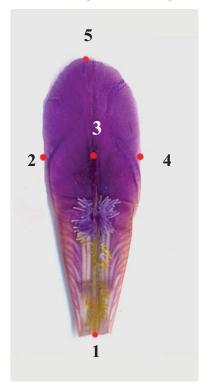
U drugom eksperimentu su analizirane morfološke osobine cveta u tri vremenske tačke (I, II i III), tj. tri datuma međusobno odvojena intervalima od po tri dana koji prethode otvaranju cvetnog pupoljka.

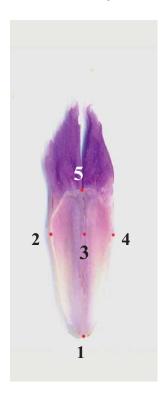
### 3.4.2.1.2. Osobine cveta I. pumila

Uzorkovana su po dva potpuno razvijena cveta sa svakog klona. Delovi cveta (fol, standard, stigma i prašnik) su disekovani pri osnovi perijanta i potom postavljeni na staklenu ploču i fiksirani glicerolom. Tako pripremljeni cvetovi su odmah zatim

snimljeni fotoaparatom (Nikon), kao i na skeneru (CanoScan 5200F, Canon) pri rezoluciji od 300ppi. Pored svakog uzorka skeniran je i lenjir zbog kalibracije. Delovi cveta su obeležavani (tačkani) korišćenjem programa tpsDIG 2.16 (Rohlf 2010). Dimenzije su zatim određivane pomoću programa TMorphGen6 (Sheets i Zelditch 2005).

Merena je leva i desna strana od tačke na sredini glavnog nerva mernog objekta, u najširem delu cvetnih organa fola i stigme, kao i dužine i širine fola i stigme.





Slika 22. Merene osobine I. pumila a) fol, b) stigma

Merene su sledeće osobine:

Osbine dužine cvetnih organa (Slika 22):

- Dužina fola (od mesta preseka do vrha) (1-5, Slika 22a)
- Dužina stigme (od mesta preseka do vrha stigme) (1-5, Slika 22b)

Osobine širine cvetnih organa:

- Širina fola (u najširem delu) (2-4, Slika 22a)
- Širina stigme (u najširem delu) (2-4, Slika 22b)

Bilateralno simetrične osobine:

- Širina leve i desne polovine fola u najširem delu od ivice do centralnog nerva (2-3 i 3-4, Slika 22a)
- Širina leve i desne polovine stigme u najširem delu od ivice do centralnog nerva
   (2-3 i 3-4, Slika 22b)

#### 3.4.2.1.2.1. Morfološke osobine

Analizirane su merene osobine dužine i širine fola i stigme (Slika 22) i upoređivane su njihove prosečne vrednosti između ispitivanih lokaliteta (Deliblatska peščara i Put Beograd-Novi Sad). Ove osobine su izabrane na osnovu rezultata preliminarnih eksperimenata na stadijumima razvića cvetnog pupoljka *I. pumila* (videti odeljak 3.4.2.1.1)

### 3.4.2.1.2.2. Radijalna i fluktuirajuća asimetrija cveta

Posle oduzimanja vrednosti osobina sa desne i leve strane (Slika 22) dobijene su razlike:

- za fol razlika dužina desne i leve polovine fola
- za stigmu razlika dužina desne i leve polovine stigme

Pošto su fol i stigma bilateralno simetrični ove razlike predstavljaju vrednosti na osnovu kojih su izračunavani indeksi fluktuirajuće asimetrije (videti odeljak 3.5.1.2.1). Indeksi radijalne asimetrije su procenjivani na osnovu osobina dužine i širine cvetnih organa (ponovljenih cvetnih delova) kao odstupanja pojedinačnih delova od prosečne vrednosti (videti odeljak 3.5.1.2.2). Vrednosti ovih indeksa su poređene između ispitivanih lokaliteta (Deliblatska peščara i Put Beograd-Novi Sad).

### 3.4.2.1.2.3. Analiza osobina listova Iris pumila

Na listovima *I. pumila* su proučavane fiziološke osobine-koncentracija hlorofila i karotenoida. Brana su po dva poslednja potpuno razvijena lista sa svakog klona i to sa

ukupno 143 klona sa lokaliteta Put Beograd-Novi Sad, tj. sa 141 klona sa lokaliteta Peščara.

#### Hlorofili i karotenoidi

Dimetilsulfoksid (DMSO) je rastvarač koji se u poslednje vreme sve više koristi za izolaciju hlorofila i karotenoida kako kod viših biljaka, (Hiscox i Israelstam 1978, Avramov i sar. 2007), tako i kod algi (Shoaf i Lium 1976) i mahovina (Alpert 1984). Ovakva izolacija ne zahteva usitnjavanje i dalju obradu biljnog materijala, a efikasnost ekstrakcije je ista ili čak i bolja nego u acetonskom rastvoru koji se najčešće koristio (Arnon 1949). Ovako izdvojen pigment je stabilan tokom dužeg vremenskog perioda, do 24h, ako se čuva u frižideru na teperaturi od 0-4 °C (Hiscox i Israelstam 1978). Negativna strana ovog postupka je to što DMSO rastvara i druge pigmente (npr. tanine) koji se u nalaze u biljnom materijalu, pa se ne može primeniti na sve vrste (Minocha i sar. 2009), ali kod *Iris pumila* nije došlo do ovog vida ekstrakcije i svi rastvori su bili čisto zelene boje.

Za naš eksperiment smo koristili modifikovani metod Minocha-e i saradnika (2009). Krugovi prečnika 0.5cm su isecani iz gornje trećine prvog potpuno razvijenog lista, zatim im je merena masa (na vagi Chyo JL-200) i odlagani su u mikrotube zapremine 2ml (Eppendorf Safe Lock) u zamrzivač (-17 °C) do dalje obrade. U svaku mikrotubu je usut 1.5ml DMSO-a, a zatim su uzorci stavljeni u termostat na 65 °C u periodu od 5h. Tokom ovog perioda doslo je do izdvajanja pigmenata što se videlo kao zeleno obojeni rastvor, dok su delovi listova obezbojeni što je i pokazatelj uspešne ekstrakcije.

Stalci sa uzorcima su ostavljeni na sobnoj temperaturi da se ohlade, a zatim je po 200µl mikropipetom sipano u *microplate*-ove za spektrofotometriju (Sarstedt 96/F wells) i to po dve replike za svaki uzorak plus kontrola koja se sastojala od 200 µl čistog DMSO rastvora. Optička gustina (predstavljena koeficijentima apsorpcije) kao mera količine ekstrahovanih pigmenata je određivana na spektrofotometru (Multiskan Spectrum v1.2, SkanIt Software 2.2) na 649, 665 i 480nm i iz ovih vrednosti su izračunavane koncentracije hlorofila a (Chla), hlorofila b (Chlb), ukupnog hlorofila i ukupnih karotenoida po sledećim formulama koje su u osnovi modifikovane formule po Arnon-u (1949), ali modifikovane od strane Minocha-e i sar. (2009) po Wellburn-u (1994):

 $C_a = 12.47 A_{665} - 3.62 A_{649}$ 

 $C_b = 25.06A_{649} - 6.5A_{665}$ 

 $C_{x+c} = (1000A_{480} - 1.29C_a - 53.78C_b)/220$ 

Ca-koncentracija hlorofila a

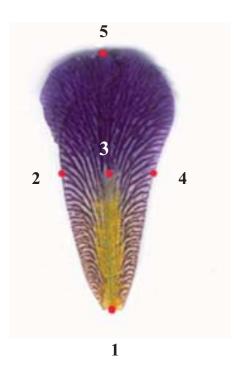
C<sub>b</sub>-koncentracija hlorofila b

 $C_{x+c}$  -koncentracija ksantofila i karotena

Koncentracije su na kraju izražene u mg/g sveže mase.

# 3.4.3. Analiza osobina cveta Iris germanica

Cvetovi su disekovani u osnovi perijanta i kasnije obrađivani isto kao cvetovi patuljaste perinike (*Iris pumila*) sa tom razlikom što su merene samo osobine fola-širina, dužina, kao i leva i desna strana od tačke na sredini glavnog nerva u najširem delu.



Slika 23. Merene osobine *I.germanica* 

Merene su sledeće osobine (Slika 23):

Osbine dužine cvetnih organa:

• Dužina fola (od mesta preseka do vrha) (1-5, Slika 23)

Osobine širine cvetnih organa:

• Širina fola (u nivou završetka brade) (2-4, Slika 23)

Bilateralno simetrične osobine:

• Širina leve i desne polovine fola u nivou završetka brade od ivice do centralnog nerva (2-3 i 3-4, Slika 23)

# 3.4.3.1. Morfološke osobine

Analizirane su merene osobine dužine i širine fola (Slika 23) i upoređivane su njihove prosečne vrednosti između ispitivanih zagađenih (Beograd) i nezagađenih (Banovci, Belegiš) lokaliteta.

### 3.4.3.2. Radijalna i fluktuirajuća asimetrija cveta

Posle oduzimanja vrednosti osobina sa desne i leve strane (Slika 23) dobijene su razlike:

• za fol- razlika dužina desne i leve polovine fola

Pošto je fol bilateralno simetričan ova razlika predstavlja vrednost na osnovu koje su izračunavani indeksi fluktuirajuće asimetrije (videti odeljak 3.5.1.2.1). Indeksi radijalne asimetrije su procenjivani na osnovu osobina dužine i širine kao odstupanja pojedinačnih delova od prosečne vrednosti (videti odeljak 3.5.1.2.2). Vrednosti ovih indeksa su poređene između ispitivanih zagađenih (Beograd) i nezagađenih (Banovci, Belegiš) lokaliteta.

# 3.5. Statistička obrada podataka

Statistička obrada podataka je urađena uz pomoć odgovarajućih procedura iz programskog paketa *SAS* 9.1 (*SAS* Insitute 2002), kao i programskog paketa *Statistica* 8.0 (StatSoft Inc 2007). Primenjene su sledeće procedure *SAS* programa: *PROC UNIVARIATE* opcija *NORMAL* (za definisanje normalnosti distribucije podataka), *PROC MEANS* (za određivanje srednjih vrednosti podataka), *PROC GLM* (za analizu varijanse), *MEANS* opcija *GLM* procedure (*Scheffe*-ov test) (Sokal i Rohlf 1995). Neophodne transformacije podataka su urađene pomoću *Box-Cox* transformacija (Box i Cox 1964) iz programskog paketa *Statistica*-e (Statistica 8.0).

# 3.5.1. Statistička analiza fluktuirajuće i radijalne asimetrije

Osnovni problem u ovoj analizi predstavlja detektovanje specifične razlike između grupa gde je sam biološki fenomen (radijalna tj. fluktuirajuća asimetrija) mali u odnosu na grešku. U najvećem broju studija razlika između desne i leve strane neke bilateralno simetrične karakteristike iznosi do 5%, pa čak i samo do 1% veličine osobine-te je neophodno obratiti posebnu pažnju na preciznost merenja (Palmer i Strobek 1986, Palmer i Strobek 1992, Palmer 1994, Palmer i Strobek 2003).

U našem eksperimentu obrada podataka je rađena prema preporukama Palmer-a i Strobeck-a (Palmer 1996, Palmer i Strobeck 2003), koji su ustanovili proceduru za utvrđivanje indeksa fluktuirajuće asimetrije i razlika između grupa u veličini tako procenjene asimetrije na svim nivoima.

# 3.5.1.1. Odabir osobina

Polazni korak u analizi je odabir samih osobina-one bi trebalo da budu takve da raspodela razlika desne i leve strane ne bude platikurtična ili bimodalna, kao i da ne pokazuje osobine direkcione asimetrije. Odabrane osobine trebalo bi da imaju visoku ponovljivost, malu fenotipsku plastičnost i da ne budu podložne trošenju i oštećenjima u

životnom ciklusu individue. Takođe, ako se radi o više osobina, poželjno je da one budu geometrijski i razvojno nezavisne jedne od drugih.

Preporuka je da što se tiče analize fluktuirajuće asimetrije odnos fluktuirajuće asimetrije svake osobine (predstavljene apsolutnom razlikom desne i leve strane) i greške merenja (apsolutna vrednost razlike dva merenja) bude veći od vrednosti dva (Palmer i Strobeck 2003).

Za studije procene razvojne stabilnosti se mogu koristiti kako metričke tako i merističke osobine.

# a) Merističke osobine

Merističke osobine često, mada ne i uvek, mogu biti merene sa velikom preciznošću, takoreći, bez greške merenja. Veoma često je njihov broj fiksiran u ranom razviću te ne varira sa godinama ili veličinom tela (Taning 1952, Leary i sar. 1985, Palmer 1994, Palmer 1996). Treba imati u vidu, da greške kod merističkih osobina nastaju pre svega jer greši sama osoba koja meri, tj. broji.

Razlike između strana su najčešće male, što u statističkoj obradi može dovesti do problema. Zato je neophodno izabrati osobine koje se lako prebrajaju, sa što manjom greškom, ali u isto vreme pokazuju i umerenu do veliku varijabilnost između strana.

# b) Metričke osobine

Metričke osobine pokazuju kontinuiranu varijabilnost te je od velike važnosti preciznost merenja, a greška merenja igra krucijalnu ulogu u daljim analizama kod ovakvih osobina (Palmer 1994, Palmer 1996).

Sve ispitivane osobine u našem eksperimentu su bile metričke.

# 3.5.1.2. Indeksi radijalne i fluktuirajuće asimetrije

### 3.5.1.2.1. Indeksi radijalne asimetrije

Indeksi radijalne asimetrije korišćeni u eksperimentu za radijalno simetrične osobine cveta *I. pumila* i *I. germanica*:

- **SD**=  $\sqrt{\sum (Xi \overline{X})^2}/N$ -standardna devijacija, tj odstupanje svakog pojedinačnog ponovljenog dela cveta od proseka za tu idividuu, gde je Xi vrednost osobine za svaki ispitivani deo, a  $\overline{X}$  prosečna vrednost te osobine za individuu
- $\mathbf{CV} = \mathbf{SD}/\overline{X}$  -koeficijent varijacije, tj. odnos standardne devijacije i aritmetičke sredine (proseka ispitivane osobine za individuu)
- MCSD= ∑SD/T -višekomponentni indeks predstavlja meru stabilnosti cveta procenjenu na osnovu proseka SD svih ispitivanih osobina gde je T broj osobina
- MCCV= ∑CV/T -višekomponentni indeks predstavlja meru stabilnosti cveta procenjenu na osnovu proseka CV svih ispitivanih osobina osobina gde je T broj osobina

#### 3.5.1.2.2. Indeksi fluktuirajuće asimetrije

Indeksi fluktuirajuće asimetrije su zasnovani na vrednostima razlika između desne i leve strane bilateralno simetričnih organa. Ova razlika se za izračunavanje indeksa koristi sa predznakom, kao apsolutna vrednost ili kao razlika logaritmovanih vrednosti. Takođe, koeficijenti mogu biti korigovani srednjom vrednošću kako pojedinačno tj. za svaku individuu, tako i na nivou uzorka čime se isključuje efekat veličine.

Ako se koristi apsolutna razlika desne i leve strane, tj. koeficijenti zasnovani na ovoj vrednosti, distribucija postaje asimetrična, takozvana *truncated* normalna distribucija. Za ovakvu raspodelu vrednost CV (CV= SD|R - L|/mean|R - L|) je konstanta i iznosi  $\sqrt{((\pi - 2)/2)} = 0.756$  (Houle 1997). Isto tako, srednja vrednost ovakve distribucije se razlikuje od očekivane standardne devijacije distribucije neapsolutnih vrednosti za

konstantu koja iznosi  $0.798 = \sqrt{(2/\pi)}$  (Kendall i Stuart 1951), te se srednja vrednost apsolutnih vrednosti može uzeti kao verodostojna procena SD(D-L), mada nešto manje statistički efikasna (87.6%, Kendall i Stuart 1951, Palmer i Strobeck 1992). Samim tim se i indeksi zasnovani na ove dve distribucije mogu direktno porediti.

Antisimetrija veštački povećava vrednosti svih indeksa, dok direkciona asimetrija ima isti efekat, ali samo na koeficijente koji za ulazne podatke imaju apsolutne razlike desne i leve strane.

Indeksi fluktuirajuće asimetrije korišćeni u eksperimentu za bilateralno simetrične osobine sve tri vrste:

- **FA1**= *mean*|*R-L*|, gde je |R-L| apsolutna razlika između desne i leve strane. Ovaj koeficijent je lak za računanje i razumevanje, ali je jako osetljiv na prisustvo direkcione asimetrije i antisimetrije, kao i na zavisnost fluktuirajuće asimetrije od veličine osobine.
- FA2 = mean[|R-L|/(R+L)/2], ovaj indeks je sličan indeksu FA1 sa tom razlikom što je izvršena korekcija za veličinu osobine. Preporučljivo je koristiti ga ako postoji zavisnost od veličine u okviru uzorka. FA1 i FA2 su u literaturi najpopularniji indeksi.
- **FA4a**= 0.798 √var(R-L), se izračunava na osnovu varijanse razlika desne i leve strane. Na ovaj indeks ne utiče toliko prisustvo eventualne DA, ali je veoma osetljiv na asimetriju i *outlier*-e, kao i na zavisnost od veličine osobine.
- FA8a= mean|lnR-lnL|, u ovom slučaju razlika između prirodnih logaritama je ekvivalentna razlici između strana podeljenoj sa srednjom vrednošću, te ovaj koeficijent opisuje fluktuirajuću asimetriju kao proporciju srednje vrednosti date osobine i omogućava poređenja fluktuirajućih asimetrija osobina različitih veličina. Ovo je naročito značajno kada se određuje fluktuirajuća asimetrija za više osobina po individui i čime se sa većom pouzdanošću može govoriti o razlikama u razvojnoj nestabilnosti između individua. Ako se procena razvojne nestabilnosti vrši samo na osnovu jedne osobine, onda je verodostojnost takvog

prikaza ograničena, preporučljivo je kombinovati podatke za više osobina gde svaka dodata osobina u stvari dodaje jedan stepen slobode proceni razvojne nestabilnosti (Palmer 1994).

- **FA10a**=0.798√2σ²<sub>i</sub>, gde je σ²<sub>i</sub> = (MSsj MS)/M procenjena varijansa razvojne nestabilnosti date strane, a MSsj je srednja vrednost kvadrata interakcije strana x individua. MSm je sredina kvadrata za grešku merenja, a M broj ponovljenih merenja po strani. Kada se mere dve replike jedne osobine onda se i jednačina pojednostavljuje na: 0.798 √ (MSsj MS). Sve vrednosti se dobijaju iz rezultata ANOVA-e individua x strana na nelogaritmovanim ulaznim podacima. Ovaj koeficijent imaju varijansu greške merenja izdvojenu od ukupne varijanse između strana i samim tim je uklonjen efekat greške. FA10a nije osetljiv na prisustvo DA, ali jeste na prisustvo antisimetrije i zavisnosti od veličine osobine.
- FA17= ∑ |ln(R)-ln(L)|/T predstavlja višekomponentni indeks tj. fluktuirajuća asimetrija jedinke kao prosek fluktuirajuće asimetrije za sve pojedinačne osobine, gde je T broj osobina.
- CFA8a= ∑FA8ai predstavlja kompozitni indeks koji nastaje zbirom apsolutnih vrednosti razlika logaritmovanih razlika desne i leve strane.

# 3.5.1.3. Analiza outlier-a

Pri analizi asimetrije kako radijalne, tako i fluktuirajuće, posebnu pažnju treba obratiti na greške koje rezultuju u pojavi *outlier-*a u podacima. To mogu biti greške uzorkovanja, greške merenja, greške u transkripciji podataka itd. Zato se podaci moraju prvo vizuelno ispitati:

- 1. Za analizu radijalne asimetrije na *scatterplot*-ovima:
  - zavisnosti vrednosti razlika ponovljenih merenja jedne osobine u odnosu na razliku ponovljenog merenja druge osobine,

- međusobnu zavisnost vrednosti osobina jednog ponovljenog dela cveta u odnosu na drugi i
- međusobnu zavisnost vrednosti radijalne asimetrije jedne osobine u odnosu na drugu.
- 2. Za analizu fluktuirajuće asimetrije na scatterplot-ovima:
  - ponovljenih merenja jedne osobine u odnosu na drugu,
  - vrednosti leve u odnosu na desnu stranu i
  - razlika između strana jedne u odnosu na drugu osobinu.

Sve međuodnosi se moraju utvrditi kako u okviru pojedinačnih grupa-u našem slučaju lokaliteta, tako i za sve grupe zajedno.

Sve tačke koje po vizuelnoj proceni odstupaju treba testirati Grubb-ovim testom i u zavisnosti od rezultata ostaviti u analizi, ponoviti merenje, ili isključiti iz analize (Palmer 1994). Grubb-ov test je predstavljen formulom  $t_G = (X_i - \overline{X})/SD$ , gde je  $X_i$  razlika između dva ponovljena merenja osobine,  $\overline{X}$  srednja vrednost za uzorak, a SD je standardna devijacija uzorka. Ukoliko je dobijena vrednost  $t_G$  veća od tablične vrednosti za datu veličinu uzorka onda se podatak odbacuje.

# 3.5.1.4. Greška merenja i ponovljivost

U analizama kao što su analize radijalne i fluktuirajuće asimetrije postoji mogućnost greške i to kako greške merenja (*measurment error* - ME), tako i greške uzorkovanja. Odstupanja od simetrije su uglavnom toliko mala da su po svojim vrednostima jako slična samoj grešci merenja (Palmer i Strobeck 1986). Da bi se sa sigurnošću moglo tvrditi da dobijene vrednosti razlika desne i leve strane predstavljaju meru razvojne nestabilnosti mora se testirati značajnost fluktuirajuće asimetrije u odnosu na grešku merenja, tj da li je asimetrija značajno veća od greške, što je prvi i osnovni test u ovakvoj analizi. Palmer i Strobeck (1986) su predložili *two-way ANOVA*-u individua x strana, gde je individua *random*, a strana *fixed* faktor (Palmer 1994, Palmer i Strobeck1986). U našem eksperimentu zbog dodatnog nivoa u hijerarhiji-nivoa lista koji se nalazi izmedju nivoa individue i nivoa strane, interakcija je u stvari bila: strana x

list(ind) kod listova *R. pseudoacacia*, tj zbog nivoa "deo" između nivoa individue i nivoa strane :strana x deo(ind) kod cvetova *I. pumila* i *I.germanica*. Rezultati dobijeni analizom ovih interakcija daju odgovor na pitanje-da li je varijabilnost između strana statistički značajno veća od greške merenja. Značajna interakcija pokazuje da razlika između strana varira više nego što bismo očekivali da je prisutna samo greška kao uzrok variranja, a to govori o prisustvu nedirekcione asimetrije koja uključuje. Rezultati ove analize takođe pokazuju i da li je značajan efekat strane-tj. da li se detektuje prisustvo direkcione asimetrije i da li je značajan efekat individue-da li postoje razlike između individua (genetički različitih jedinki) u veličini tj. obliku osobine. Iz vrednosti sredina kvadrata dobijenih iz ove *ANOVA*-e (na nelogaritmovanim podacima) izračunavaju se greška merenja ME5 i koeficijenti fluktuirajuće asimetrije FA4a i FA10a.

Greška merenja može biti prestavljena na nekoliko načina (Palmer i Strobeck 1986, Palmer i Strobeck 2003):

- ME1= ∑(|M<sub>2</sub>-M<sub>I</sub>|)\N gde su M<sub>1</sub> i M<sub>2</sub> ponovljena merenja jedne osobine, a sama greška predstavlja prosek njihovih razlika. Greška ME1 se prikazuje u jedinicama mere za ispitivanu osobinu.
- ME1\*=0.798\*sqrt(Mserr)) greška merenja ME1 dobijena iz rezultata ANOVAe individua x strana
- ME3=100 x (MS<sub>ERR</sub>/MS<sub>SIDE\*IND</sub>)-predstavlja prosečnu razliku između ponovljenih merenja kao procenat prosečne razlike između strana i izražava se u procentima (%).
- **ME5**=(*MS* <sub>SIDE\*IND</sub> *MS*<sub>ERR</sub>)/[ *MS* <sub>SIDE\*IND</sub> +((n-1) x *MS*<sub>ERR</sub>)] predstavlja meru ponovljivosti tj. varijabilnost fluktuirajuće asimetrije kao proporciju ukupne varijabilnosti između strana koja uključuje i ME. Što je ponovljivost veća, to je manja greška u odnosu na fluktuirajuću asimetriju. Greška ME5 se predstavlja bez jedinica mere.

.

Sledeći test koji je neophodno uraditi u analizi je testiranje razlika između grešaka merenja između grupa i osobina i to *Levene*-ovim testom.

Levene-ov test je test homogenosti varijanse (Levene 1960) i on testira pretpostavku da svaka grupa ima istu varijansu. Nulta hipoteza  $H_0$  je da su varijanse uzoraka jednake :  $H_0$   $\sigma^2_1 = \sigma^2_2 = \sigma^2_3$ ...... =  $\sigma^2_k$  (gde je  $\sigma^2$  - varijansa uzorka, a k - broj uzoraka). Alternativna hipoteza  $H_a$  je da su varijanse različite ( $\sigma^2_i \neq \sigma^2_j$ ) bar za jedan par poređenja. Ukoliko je Levene-ov test značajan na nivou  $\alpha$ =0.05 ili  $\alpha$ <0.05 odbacuje se nulta hipoteza da grupe imaju iste varjanse. U ovom testu se koriste apsolutne vrednosti razlika analiziranih varijabli.

U slučaju grešaka ulazni podaci su apsolutne greške (kao razlike dva ponovljena merenja). Pošto vrednosti ME, a samim tim i razlike u ME između grupa, utiču na veličinu radijalne i fluktuirajuće asimetrije, tj. razliku u RA i FA među grupama, poželjno je da se greške merenja među njima ne razlikuju značajno. U suprotnom, se rezultati analiza moraju uzeti sa ogradom u odnosu na postojeće razlike.

Takođe smo testirali i razliku u greškama merenja između osobina, kao i izmedju lokaliteta za sve osobine zajedno.

## 3.5.1.5. Odstupanja od normalne raspodele

#### 3.5.1.5.1. Kurtosis i skewness

Prema Palmeru i Strobecku (1992) određivanje ova dva parametra, zajedno sa vizuelnim ispitivanjem distribucije frekvencija razlika između strana, predstavlja najbolji način za testiranje odstupanja raspodele fluktuirajuće asimetrije od normalne raspodele.

#### Kurtosis

*Kurtosis* (koeficijent izduženosti krive normalne distribucije) predstavlja takvo odstupanje od normalne raspodele gde ona ostaje simetrična oko nule kao srednje vrednosti, ali ima tendenciju ili ka bimodalnosti tj. platikurtosisu ako je negativna, ili ka leptokurtosisu ako je pozitivna. Leptokurtična raspodela ima više vrednosti oko nule tj. srednje vrednosti i na krajevima, 'repovima', distribucije, a manje nego što je očekivano na intermedijarnim nivoima (Gangestad i Thronhill 1999).

Kurtosis se izračunava prema sledećoj formuli:

$$k(X) = [(\sum (X_i - \overline{X})^4)/(N*SD^4)] - 3$$

 $X_i$  je vrednost osobine za individuu

 $\overline{X}$  srednja vrednost osobine za uzorak,

N veličina uzorka

SD je standardna devijacija uzorka.

Vrednost *kurtosis*-a može iznositi od -2 do  $+\infty$ , tj. od ekstremne platikurtičnosti do ekstremne leptokurtičnosti (Darlington 1970).

Leptokurtična raspodela može nastati zbog *outlier*-a, zatim zbog prisustva dve grupe jedinki koje se razlikuju u greškama merenja, u slučaju gde jedna grupa jedinki pokazuje idealnu normalnu raspodelu, a druga antisimetriju, i na kraju, kao posledica zavisnosti fluktuirajuće asimetrije unutar uzorka od veličine osobine. Naravno, do ovakve raspodele može doći i zbog heterogenosti fluktuirajuće asimetrije unutar uzorka koji je posledica stvarne varijabilnosti u razvojnoj stabilnosti među individuama.

Platikurtozis nastaje kao posledica prisustva antisimetrije.

#### Skewness

Skewness (koeficijent asimetričnosti krive normalne distribucije) predstavlja takvo odstupanje od normalne raspodele gde dolazi do asimetričnosti pružanja krive oko srednje vrednosti i može imati vrednosti od  $-\infty$  do  $+\infty$ , tj može imati produženi "rep" na levu ili desnu stranu. Kada je raspodela normalna vrednost *skewness*-a je nula (Sokal i Rohlf 1995).

$$s(X)=(\sum (X_i-\overline{X})^3)/(N*SD^3)$$

Parametri u formuli su isti kao i gore navedeni za k(X).

Uzroci pojave ovakvog odstupanja od normalnosti mogu biti različiti-jedna ili više individua mogu biti oštećene na istoj strani, ili samo imati takve vrednosti zbog greške merenja, uzorak se može sastojati od mešavine individua od kojih jedne ispoljavaju

idealnu normalnu raspodelu, a druge slabo prisustvo direkcione asimetrije tj. jedne pokazuju antisimetriju, a druge direkcionu asimetriju (Palmer i Strobeck 1992).

Odstupanja vrednosti *skewness-*a i *kurtosis-*a od nule se testiraju t testom u slučaju velikih uzoraka koji broje više od 30 jedinki. U suprotnom se može koristiti Kolmogorov-Smirnov test.

## 3.5.1.5.2. Direkciona asimetrija

Osobine kod kojih je jedna strana uvek veća od druge imaju raspodelu razlika između strana koja pokazuje osobine direkcione asimetrije (DA). Kod ovakvih osobina interpretacija vrednosti fluktuirajuće asimetrije je komplikovana iz više razloga-direkciona asimetrija povećeva vrednosti svih koeficijenata koji su zasnovani na apsolutnim razlikama desne i leve strane, a takođe, prisustvo direkcione asimetrije uvek sa sobom nosi i direkcionu genetičku komponentu koja ostaje i kada se ova asimetrija statistički odstrani iz analize (Palmer i Strobeck 1992, Palmer 1994).

Testovi za DA se vrše na nekoliko nivoa-u okviru *ANOVA*-e ind x strana kao značajnost efekta strane i pomoću t testa za razliku proseka vrednosti razlike između strana od nule (Swaddle i sar. 1994).

Smatra se da ako je direkciona asimetrija predstavljena kao srednja vrednost razlike desne i leve strane manja od indeksa fluktuirajuće asimetrije FA4a onda je predispozicija ka jednoj strani manja nego prosečna devijacija oko srednje vrednosti razlike između strana, te se direkciona asimetrija u ovom slučaju može zanemariti. U suprotnom ovakve osobine bi trebalo korigovati tako što se vrednostima strane koja ima veći prosek oduzme, a vrednostima strane koja ima manji prosek doda srednja vrednost za datu osobinu (Palmer 1996).

## 3.5.1.6. Zavisnost fluktuirajuće asimetrije od veličine osobine

Ako fluktuirajuća asimetrija (predstavljena kao apsolutna razlika između strana), varira u zavisnosti od veličine osobine, a prosečna veličina te osobine se razlikuje između izučavanih populacija onda dobijene razlike u fluktuirajućoj asimetriji, a samim tim i u razvojnoj stabilnosti, između populacija mogu biti poremećene tj. uveličane ili

umanjene, Uzorci koji imaju veću prosečnu veličinu pokazivaće i veću fluktuirajuću asimetriju (Palmer i Strobeck 1986).

Ako fluktuirajuća asimetrija varira unutar populacije tj. uzorka tada prosečna fluktuirajuća asimetrija kojom je ta populacija predstavljena u stvari govori ne samo o razvojnoj nestabilnosti nego i o razlici u asimetriji zavisnoj od veličine osobine (uzorci koji imaju veći raspon veličina će pokazivati i veću FA). Ovo ima isti efekat kao kombinovanje više grupa jedinki sa različitim varijansama, tj. ukupna raspodela je leptokurtična, ali se kao takva ne može uzeti kao dokaz varijabilnosti razvojne nestabilnosti unutar uzorka jer leptokurtozis može nestati kao posledica niza uzroka (Palmer i Strobeck 1992).

Zbog svega navedenog se radi test kojim se određuje stepen povezanosti fluktuirajuće asimetrije i veličine osobine, tj. određuje se koeficijent korelacije izmedju asimetrije i veličine osobine koja se predstavlja prosečnom vrednošću (aritmetička sredina leve i desne strane). Koriste se najčešće parametarski *Pearson*-ov i neparametarski *Spearman*-ov i *Kendall*-ov koeficijenti regresije. Sva tri koeficijenta se izračunavaju jer parametarski test može biti osetljiv na odstupajuće vrednosti tj neke ekstremne opservacije, dok neparametarski testovi to nisu (Palmer 1994).

Ako postoji značajna korelacija fluktuirajuće asimetrije i srednje vrednosti osobine vrše se korekcije za veličinu i to na nekoliko načina-logaritmovanjem podataka ili izražavanjem fluktuirajuće asimetrije kao proporcije veličine osobine gde se dobijena apsolutna razlika desne i leve strane podeli sa veličinom osobine |R-L|/[(R+L)/2]|.

Ovde postoji i dodatni problem a to je što razlike u veličini između uzoraka mogu reflektovati stvarne razlike u uslovima života. Ako je fluktuirajuća asimetrija korelisana sa ispitivanim faktorom, zagađenjem npr, a detektovana je zavisnosti fluktuirajuće asimetrije od veličine osobine između uzoraka, onda je potrebno posvetiti veću pažnju analizi i ne eliminisati efekat veličine u svakom slučaju.

## 3.5.2. Razlike između grupa

Razlike između lokaliteta i osobina za greške merenja kao i razlike između lokaliteta za indekse radijalne i fluktuirajuće asimetrije, se određuju pomoću *one-way ANOVA-*e za

efekat lokaliteta tj. osobine. Kao *post-hock* testovi za utvrđivanje pojedinačnih razlika su korišćeni *Scheffe*-ov i *Fisher*-ov *LSD* (*Least Significance Difference*) test. *Scheffe*-ovim testom se vrše multipna poređenja srednjih vrednosti pojedinačnih osobina koje su pod uticajem dva ili više nivoa jednog faktora. *Scheffe*-ov test kontroliše grešku tipa I pri svakom poređenju kako bi bila zadržana na izabranom nivou poverenja od 0.05 (Day i Quinn 1989).

Fisher-ov LSD test je u stvari set individualnih t testova gde se standardna devijacija ne izračunava iz dve po dve pulirane grupe koje se upoređuju nego iz svih ispitivanih grupa. Ovim testom se određuje najmanja značajna razlika između srednjih vrednosti grupa, a svaka razlika koja ima veću vrednost se smatra značajnom (Williams i Abdi 2010).

Za detektovanje razlika između FA10a indeksa između grupa koristi se F-test (Zar 1984). F-vrednost testa je dobijena deljenjem veće sa manjom varijansom za ispitivani uzorak. Stepen slobode je određen na osnovu veličine upoređivanih uzoraka ( $V_1$ =  $n_1$ -1;  $V_2$ =  $n_2$ -1).

# 3.5.2.1. Test razlika za multipne osobine

Kompozitni i multikomponentni indeksi imaju smisla ako su osobine podjednako osetljive na stres, u suprotnom je za testiranje razlika u radijalnoj i fluktuirajućoj asimetriji između uzoraka najpogodniji *Levene*-ov test kojim se sagledavaju razlike na svim nivoima-između individua, osobina ili grupa (Levene 1960). Ulazni podaci za ovu analizu su apsolutne vrednosti, samim tim, srednja vrednost apsolutnih devijacija može dati procenu standardne devijacije netransformisane normalne distribucije.

Takvi podaci se uključuju u *two-way ANOVA*-u osobina x individua, ili grupa x osobina gde je grupa fiksiran, a osobina random faktor. U ovoj analizi se mere osobina jedne individue smatraju ponovljenim merenjima za tu individuu. Pretpostavlja se da je set osobina koje se mere u stvari slučajan uzorak od svih mogućih osobina, a fiksni tretman je korigovan za varijabilnost između osobina. Ako je broj merenih osobina mali, ili se uzorak osobina ne može smatrati slučajnim onda se osobina može tretirati kao fiksni faktor (Karvonen i sar. 2003, Van Dongen 2005)

#### a) Test razlika za multipne osobine-između individua

Za ovaj test se koristi *two-way ANOVA*, tj. *Levene-*ov test, urađen na replikama apsolutnih vrednosti razlika logaritmovanih dužina desne i leve strane (|ln(R)-ln(L)|). I osobina i individua su random faktori. Osobine se analiziraju zajedno što daje bolju procena razvojne nestabilnosti jer svaka osobina dodaje jedan stepen slobode. Ispituju se sledeći faktori variranja:

- individua-da li radijalna i fluktuirajuća asimetrija variraju između individua
- osobina- da li radijalna i fluktuirajuća asimetrija variraju između osobina
- individua x osobina-da li razlike u radijalnoj i fluktuirajućoj asimetriji između osobina zavise od individue

## b) Test razlika za multipne osobine-između lokaliteta

Za ovaj test se koristi *mixed two-way ANOVA*, tj. *Levene*-ov test, za srednju vrednost replika apsolutnih vrednosti razlika logaritmovanih dužina desne i leve strane (|ln(R)-ln(L)|). Lokalitet je *fixed*, a osobina *random* faktor. Ispituju se sledeći faktori variranja:

- grupa (lokalitet, zagađenje)-da li radijalna i fluktuirajuća asimetrija variraju između grupa
- osobina- da li radijalna i fluktuirajuća asimetrija variraju između osobina
- grupa x osobina- da li razlike u radijalnoj i fluktuirajućoj asimetriji između grupa zavise od osobine

## 4. Rezultati

# 4.1. Analiza osobina lista *robinia pseudoacacia*

Posle vizuelnog ispitivanja *scatterplot*-ova, tj. grafički predstavljenih međuzavisnosti ponovljenih merenja jedne osobine u odnosu na drugu, vrednosti leve u odnosu na desnu stranu i razlika između strana jedne u odnosu na drugu osobinu, kako u okviru staništa, tako i za sve grupe zajedno, urađen je i *Grubb*-ov test za one vrednosti koje su odstupale (vizuelne *outlier*-e). Iz analize je odstranjeno 45 *outlier*-a nakon čega je u analizi ostalo 1489 jedinki i to:

## Zagađena sredina:

- Kostolac-300 stabala
- Pančevo-148 stabala
- Autoput -134 stabala
- Obrenovac-113 stabala

#### Nezagađena sredina:

- Deliblatska peščara-297 stabala
- Banovci-197 stabala
- Vršački breg-300 stabala

# 4.1.1. Morfološke osobine

Srednje vrednosti osobina po lokalitetima, njihove standardne greške kao i rezultati *ANOVA*-e za efekat lokaliteta se mogu videti u Tabeli 2. gde se uočava značajnost ovog efekta za sve osobine, tj. srednje vrednosti merenih osobina se značajno razlikuju između lokaliteta.

Na Slici 24. (a-d) su grafički prikazane srednje vrednosti osobina po lokalitetima kao i rezultati *Scheffe*-ovog testa. U sva četiri slučaja Peščara i Banovci pokazuju najveće prosečne vrednosti pri čemu se jedino Peščara značajno izdvaja od većine drugih lokaliteta. Peščara pokazuje značajno veće vrednosti od svih lokaliteta sem od Banovaca osim u slučaju dužine prve lisne drške gde se Peščara ne razlikuju značajno od Obrenovca (Slika 24b). Biljke poreklom sa lokaliteta Banovci imaju značajno veće vrednosti osobina od svih lokaliteta sem Peščare za dužinu prve lisne ploče (Slika 24a), tj. od svih lokaliteta sem Peščare, Obrenovca i Autoputa za dužinu prve i druge lisne drške (Slike 24b. i 24d) i od svih sem Peščare i Autoputa za dužinu druge lisne ploče (Slika 24c). Za dužinu prve lisne ploče su još uzorci iz Vršca i sa Autoputa značajno veći od onih iz Kostolca i Pančeva (Slika 24a). Za dužinu prve lisne drške, Obrenovac i Autoput su značajno različiti (i veći) od Vršca i Pančeva (Slika 24b). Što se tiče dužine dužinu lisne drške na drugom nodusu Vršac je značajno manjih vrednosti od Obrenovca i Autoputa (Slika 24d).

Kontrast između vrednosti merenih osobina za nezagađene i zagađene sredine je bio značajan za sve osobine, srednje vrednosti osobina u nezagađenoj sredini su u proseku bile veće od onih u zagađenoj (Tabela 2, Slika 25).

## 4.1.2. Fluktuirajuća asimetrija

Odnos veličine fluktuirajuće asimetrije i greške merenja za svaku osobinu i svaki lokalitet je prikazan u Tabeli 1. iz koje se može videti da uslov da ovaj količnik bude veći od dva zadovoljavaju samo dužine lisnih ploča (vrednosti u rasponu od 9.144 za Pančevo, do 17.639 za Vršac), dok to nije slučaj sa dužinama lisnih drški (od 1.039 za Autoput, do 1.550 za Kostolac). Količnik veći od dva je prema Palmer-u i Strobeck-u (2003) pokazatelj za odabir osobina pogodnih za analizu fluktuirajuće asimetrije.

Rezultati *two-way ANOVA*-e strana x list(ind), su predstavljeni u Tabeli 3. Za sve lokalitete, oba nodusa po listu i sve osobine po nodusu varijabilnost između strana je bila statistički značajno veća od greške merenja, čak i posle *Bonfferoni*-jeve korekcije (za sve osobine i sve lokalitete P<0.0001). Isto važi i za efekat individue što govori o tome da se individue (genotipovi) međusobno značajno razlikuju u vrednostima merenih

osobina po lokalitetu. Ova značajnost ostaje izražena i nakon *Bonfferoni*-jeve korekcije (za sve osobine i sve lokalitete P<0.0001).

Što se tiče efekta strane, koji govori o statistički značajno većoj prosečnoj razlici između strana od očekivane (nedirekcione asimetrije), tj. o prisustvu direkcione asimetrije, on je značajan za pojedine osobine u svim lokalitetima sem Obrenovca. Značajnost je konstatovana za dužinu lisne drške kod prvog para listića za Autoput i Banovce, za dužinu lisne drške kod drugog para listića za Peščaru i Pančevo, tj kod obe lisne drške u slučaju Kostolca i kod prve lisne ploče i druge lisne drške u slučaju Vršca.

Greške merenja su prikazane u Tabeli 4. i to ME1, kao i ME1\*, ME3 i ME5, kao i ME1 kao procenat indeksa FA4a (za sve formule pogledati Materijal i Metode). Što se tiče prosečne razlike između ponovljenih merenja kao procenta prosečne razlike između strana tj. ME3 (Tabela 4), može se uočiti da u zavisnosti od veličine osobine greška predstavlja od 20.93% do 42.72% za dužinu lisne drške, tj. od 0.16% do 0.56% za dužinu lisne ploče (uključujući oba nodusa).

Ponovljivost, tj. greška merenja ME5 (varijabilnost fluktuirajuće asimetrije kao proporcija ukupne varijabilnosti između strana), je bila veća za dužinu lisne ploče nego za dužinu lisne drške i to kod oba para listova. Najveću ponovljivost je pokazala dužina lisne ploče na drugom nodusu u staništu Vršac (ME5=0.997), a najmanju dužina lisne drške u prvom nodusu za stanište Pančevo (ME5=0.401). Što je ponovljivost veća, to je manja greška u odnosu na fluktuirajuću asimetriju.

Analiza varijanse za efekat lokaliteta za grešku ME1, (*Levene*-ov test, Levene 1960), je pokazala značajnu razliku između lokaliteta za svaku pojedinačnu osobinu (Tabela 5, Slika 26). U slučaju prve lisne ploče značajno manja greška je bila u lokalitetu Vršac u odnosu na sve ostale lokalitete. Za prvi par lisnih drški značajno veća ME1 je detektovana u Peščari u odnosu na Banovce i Vršac, a značajno manja ME1 u lokalitetu Vršac u odnosu na sve ostale lokalitete. Što se drugog para lisnih ploča tiče, Peščara je imala značajno veću ME1 od Banovaca, Kostolca i Vršca, a Vršac značajno manju ME1 od svih ostalih lokaliteta. Kod dužine lisne drške na drugom nodusu Peščara je imala značajno veću ME1 od Kostolca i Vršca, a Vršac, opet, značajno manju ME1 od svih lokaliteta.

Za sve osobine zajedno *Levene*-ov test je pokazao značajan efekat osobine i lokaliteta tj. lokaliteti i osobine su se značajno razlikovali za grešku merenja (Tabela 5, za lokalitet F=75.05 i P<0.0001, za osobinu F=6.080 i P=0.0004). *Scheffe*-ov test u slučaju efekta lokaliteta pokazao je da je greška merenja bila značajno veća u lokalitetu Peščara, tj. značajno manja u lokalitetu Vršac od svih ostalih staništa (Slika 27). U slučaju efekta osobine, greške za dužine lisnih ploča i greške za dužine lisnih drški su se međusobno značajno razlikovale, pri čemu su vrednosti ME1 za dužinu lisnih drški bile značajno veće od vrednosti ME1 za dužinu lisnih ploča (Slika 28).

Odstupanja raspodele frekvencija razlike desne i leve strane svake osobine od normalne raspodele su prikazana u Tabeli 6. preko vrednosti koeficijenata *skewness-*a i *kurtosis-*a i njihove statističke značajnosti. Posle *Bonfferoni-*jeve korekcije značajan pozitivan *kurtosis* su imale dužine lisne ploče u prvom nodusu za sve lokalitete, zatim, dužine lisnih drški u prvom nodusu kod lokaliteta Autoput, Kostolac i Vršac, dužine lisne ploče u drugom nodusu za Autoput, Banovce, Kostolac i Peščaru, i dužine lisnih drški u drugom nodusu za Kostolac i Peščaru. Ove vrednosti su bile pozitivne i u rasponu od k(x)=1.761, P<0.001 (dužina lisne drške u prvom nodusu Autoput), do k(x)=0.633, P=0.002 (dužina lisne drške u drugom nodusu Kostolac). Pozitivna vrednost *kurtosis-*a znači da je raspodela za tu osobinu leptokurtična. Platikurtičnih i bimodalnih raspodela tj. statistički značajnih negativnih vrednosti *kurtosis-*a nije bilo, a samim tim nije detektovana antisimetrija. Raspodele su simetrične oko nule, ali imaju više vrednosti oko nule tj. srednje vrednosti i na krajevima, 'repovima', distribucije, a manje nego što je očekivano na intermedijarnim nivoima (Gangestad i Thronhill 1999).

Što se koeficijenta *skewness*-a tiče, on je bio statistički značajan u slučaju dužine lisne drške na prvom nodusu kod Kostolca (s(x)=0.316, P=0.002) i u slučaju dužine lisne drške na drugom nodusu kod Vršca (-0.347, P=0.001). Pozitivna vrednost koeficijenta govori o pozitivno asimetričnoj, a negativna o negativno asimetričnoj raspodeli, tj. o krivi distribucije asimetričnoj na levu tj. desnu stranu (Sokal i Rohlf 1995).

Rezultati T testa koji pokazuje odstupanje srednjih vrednosti osobina (u ovom slučaju odstupanje prosečne vrednosti razlika desne i leve strane) od nule a samim tim govori o prisustvu direkcione asimetrije je predstavljen u Tabeli 7. Statistički značajno

odstupanje od nule se javlja kod dužine lisne ploče na prvom nodusu kod lokaliteta Vršac, dužine lisne drške na prvom nodusu u lokalitetima Autoput, Banovci i Kostolac, zatim kod dužine lisne drške na drugom nodusu kod Kostolca, Peščare, Pančeva i Vršca. I pored gorenavedenih značajnih odstupanja, upoređenje vrednosti FA4a i srednjih vrednosti svih osobina pokazuje da je za sve osobine i sve lokalitete srednja vrednost manja od vrednosti FA4a (Tabela 7). Ovo znači da je predispozicija ka jednoj strani (postojanju DA) manja nego prosečna devijacija oko srednje vrednosti razlike desne i leve strane, te se na osnovu ovog testa prisustvo DA može zanemariti (Palmer i Strobeck 2003).

Test kojim se određuje stepen povezanosti fluktuirajuće asimetrije (izražene kao apsolutna vrednost razlike desne i leve strane) i veličine osobine (Izražene kao prosek vrednosti desne i leve strane), tj. koeficijent korelacije izmedju fluktuirajuće asimetrije i veličine osobine koja se predstavlja prosečnom vrednošću, (aritmetička sredina leve i desne strane), je prikazan u Tabeli 8. Predstavljene su vrednosti *Pearson*-ovog, *Spearman*-ovog i *Kendall*-ovog koeficijenta korelacije, kao i njihove značajnosti posle *Bonferroni*-jeve korekcije za svaki lokalitet posebno. Značajne su korelacije za dužinu lisne ploče u prvom (*Spearman* i *Kendall*) i drugom nodusu (svi koeficijenti) samo za lokalitet Vršac. Što se dužine lisne drške na prvom nodusu tiče, značajne sve tri korelacije su detektovane za Banovce, Peščaru, Pančevo i Vršac, tj značajan samo *Pearson*-ov koeficijent za Kostolac. Sva tri koeficijenta su značajna u lokalitetu Vršac za dužinu lisne ploče na drugom nodusu, tj, za dužinu lisne drške na drugom nodusu za Banovce i Kostolac.

Značajna korelacija govori o međuzavisnosti fluktuirajuće asimetrije i veličine osobine te je neophodno izvršiti korekciju za veličinu, tj. koristiti indekse fluktuirajuće asimetrije koji imaju ovu korekciju radi dobijanja najverodostojnijih poređenja između grupa.

Indeksi fluktuirajuće asimetrije FA1, FA2, FA8a, FA10a, FA17 i CFA8a su sa svojim standardnim greškama prikazani u Tabeli 9. Efekat lokaliteta i rezultati analize kontrasta između zagađenih i nezagađenih lokaliteta za su predstavljeni u Tabeli 10. Rezultati *ANOVA*-e su pokazali statistički značajne razlike između lokaliteta za sve indekse (FA1,

FA2, FA8a, FA17 i CFA8a), za sve osobine na oba nodusa, dok su kontrasti između zagađenih i nezagađenih lokaliteta bili značajni za dužinu obe lisne drške kod FA1 indeksa, tj. za dužinu lisne ploče prvog nodusa i obe osobine drugog za indekse FA2 i FA8a. Značajan kontrast je detektovan i za FA17 i CFA8a indeks. Što se tiče indeksa FA10a, razlike između lokaliteta su prikazane rezultatima F testa u Tabeli 11.

Prosečne vrednosti indeksa FA1, kod koga nije izvršena korekcija za veličinu, su predstavljene na Slici 29. (a-d). U slučaju dužine prve lisne ploče najveću vrednost FA1 su pokazale jedinke iz Peščare i Kostolca koje se značajno razlikuju od Banovaca, dok se Pescara značajno razlikuje i od Pančeva (Slika 29a). Za dužinu lisne drške prvog nodusa najveća vrednost FA1 je bila u Kostolcu, a značajno se razlikovala od Vršca. Statistički značajna razlika je uočena i između Vršca u odnosu na Peščaru i Banovce, gde Vršac ima manju vrednost FA1 (Slika 29b). Ove razlike u vrednosti FA1 u odnosu na Vršac moraju se uzeti sa ogradom jer je ME za Vršac značajno manja od ME za ostale lokalitete, a to utiče na vrednost indeksa FA1 te može dovesti do pojave značajnih razlika u FA1 tamo gde ih realno nema. Za dužinu lisne ploče drugog nodusa najveću vrednost ima FA1 za Peščaru koji se značajno razlikuje od vrednosti ovog indeksa za Banovce što odgovara smeru razlika u ME te se i ovaj rezultat mora uzeti sa ogradom kao i prethodni (Slika 29c). Za dužinu lisne drške na drugom nodusu najveću vrednost indeksa ima Kostolac i to značajno veću od Banovaca i Vršca. Od Vršca su takođe značajno veći indeksi za Pančevo, Peščaru i Autoput. Vršac u slučaju ove osobine, kao i dužine lisne drške na prvom nodusu ima najnižu vrednost, a statistički se razlikuje od drugih navedenih lokaliteta te se mora uzeti sa ogradom iz gore-navedenih razloga (Slika 29d).

Za indeks FA1 smo uradili i analizu kontrasta zagađenih u odnosu na nezagađene sredine za svaku osobinu (Tabela 10). Kontrast je bo značajan za dužinu lisne drške u oba nodusa (t=4.745 P<0.0001, tj, t=4.812 P<0.0001).

Što se indeksa FA2 tiče, efekat lokaliteta je bio visoko značajan tj. staništa su se međusobno značajno razlikovala u vrednosti ovog indeksa (Tabela 10, Slika 30. a-d). Za dužinu prve lisne ploče i prve lisne drške Kostolac je pokazao najveće odstupanje i značajno se razlikovao od Vršca i Banovaca za prvu osobinu, tj. od svih lokaliteta sem Pančeva i Peščare za drugu (Slika 30. a i b). Što se tiče osobina na drugom nodusu,

Kostolac je zajedno sa Pančevom imao veće vrednosti i značajno se razlikovao od Banovaca za dužinu lisne ploče (Slika 30c), tj. od Peščare, Banovaca i Vršca za dužinu lisne drške. Pančevo je pokazalo statistički značajno veće vrednosti od Banovaca i Vršca za dužinu lisne drške drugog nodusa, takođe (Slika 30d). Pošto se ostali lokaliteti u više slučajeva za FA2 razlikuju od Vršca neophodno je ove rezultate uzeti sa ogradom zbog smera značajnosti razlika u greškama merenja.

Što se kontrasta između zagađene i nezagađene sredine tiče, značajan efekat je uočen kod svih osobina sem kod dužine lisne drške na prvom nodusu (Tabela 10).

Sledeći indeks koji smo ispitivali je FA8a koji se izračunava kao apsolutna vrednost razlike logaritmovanih vrednosti što ujedno predstavlja i korekciju za veličinu (Slika 31. a-d). I kod ovog indeksa se Kostolac javlja kod svih osobina kao lokalitet koji značajno odstupa i ima veće vrednosti od Vršca i Banovaca za dužinu prve lisne ploče (Slika 31a), od svih sem Peščare i Pančeva za dužinu prve lisne drške (Slika 31b), zajedno sa Pančevom od Banovaca za dužinu druge lisne ploče (Slika 31c) i od Peščare, Banovaca i Vršca za dužinu druge lisne drške (Slika 31d). Pančevo se takođe za ovu osobinu značajno razlikuje od Vršca i Banovaca. Što se razlike u greškama merenja tiče pažnju je opet potebno obratiti na razlike između svih lokaliteta i Vršca. Kontrasti za FA8a su iste značajnosti kao i za FA2 tj značajan efekat je uočen kod svih osobina sem kod dužine lisne drške na prvom nodusu (Tabela 10).

FA10a je indeks fluktuirajuće asimetrije kod koga je izuzeta greška merenja (Palmer 1994, Palmer i Strobeck 2003). Značajnost razlika između lokaliteta je utvrđivana F testom na pojedinačnim parovima (Tabela 11). Za dužinu prvog para lisnih ploča značajne razlike u detektovane između Peščare i Kostolca u odnosu na ostale lokalitete, za dužinu prvog para lisnih drški između Kostolca, Peščare i Banovaca u odnosu na Pančevo i Vršac, pri čemu se Kostolac značajno razlikuje i od Autoputa i Obrenovca, a Peščara od Autoputa. Za dužinu drugog para lisnih ploča detektovane su značajne razlike između Peščare i Kostolca u odnosu na Banovce i Vršac, a za dužinu dugog para lisnih drški između Kostolca u odnosu na Banovce i Obrenovac i Vršca u odnosu na sve ostale lokalitete. Na Slici 32. a-d se može uočiti trend odstupanja za Kostolac i Peščaru za prve tri osobine, gde su za dužinu lisne ploče na prvom nodusu oba navedena

lokaliteta značajno veća od svih ostalih (Slika 32a), za dužinu prve lisne drške Kostolac ima veće vrednosti od Autoputa, Obrenovca, Pančeva i Vršca, a Peščara od Vršca, Autoputa i Pančeva (Slika 32b). U slučaju dužine druge lisne ploče oba ova lokaliteta značajno odstupaju od Banovaca i Vršca (Slika 32c). Za drugu lisnu dršku odstupa samo Kostolac koji je značajno veći od Banovaca, Obrenovca i Vršca. Za ovu osobinu lokalitet Vršac ima značajno manje vrednosti od svih ostalih lokaliteta (Slika 32d).

Za indeks FA17 gde su uključene sve merene osobine Kostolac pokazuje značajno veće vrednosti od svih sem Pančeva i Obrenovca, loalitet Pančevo je sledeća po veličini i značajno se razlikuje od Banovaca i Vršca. Najveće vrednosti imaju zagađene sredine-Kostolac, Autoput i Pančevo, a najmanje Banovci i Vršac (Slika 33). Kontrast između zagađenih i nezagađenih sredina za ovaj indeks je značajan (Tabela 10, t=5.854, P<0.0001).

U slučaju kompozitnog indeksa CFA8a Kostolac se značajno razlikuje od Peščare, Vršca, Banovaca i Autoputa, a Pančevo od Banovaca i Vršca. Kostolac i kod ovog indeksa pokazuje najveću vrednost fluktuirajuće asimetrije (Slika 34). Kontrast između zagađenih i nezagađenih sredina za ovaj indeks je takođe bio značajan (Tabela 10).

Rezultati *ANOVA*-e za multipne osobine na podacima sa replikama su prikazani u Tabeli 12. Značajan efekat je uočen za sve faktore (individua, osobina i individua x osobina) i sve lokalitete. Značajan efekat osobine govori o tome da se one međusobno razlikuju u nivou fluktuirajuće asimetrije u svakom lokalitetu, kao i same individue. Značajna interakcija znači da razlike u fluktuirajućoj asimetriji između osobina zavise od individue.

Za multiple osobine je rađen i test sa faktorima lokalitet i osobina, ali na podacima sa srednjom vrednošću replika gde je takođe detektovana značajnost za sve faktore: lokalite, osobina i lokalitet x osobina (Tabela 13). Ovaj rezultat govori o značajnim razlikama u fluktuirajućoj asimetriji između lokaliteta i osobina, a značajna interakcija o tome da razlike u fluktuirajućoj asimetriji između staništa zavise od osobine. *Scheffe*-ov test prikazan na Slici 35a, gde su predstavljene razlike između lokaliteta za sve osobine

zajedno, je pokazao značajno veće vrednosti fluktuirajuće asimetrije za Kostolac u odnosu na sve lokalitete sem Pančeva, kao i Pančeva u odnosu na Banovce, Vršac i Obrenovac. Na trećem mestu je bila Peščara koja je imala značajno veće vrednosti od Banovaca. Pošto je prethodno pokazano je da je greška merenja za sve osobine zajedno kod Vršca značajno manja, a kod Pančeva značajno veća od ostalih (Slika 26) u skladu sa tim se moraju i gledati gorenavedeni rezultati.

Fluktuirajuće asimetrije pojedinačnih osobina za sve lokalitete zajedno su se takođe značajno međusobno razlikovale i to svaka od svake (Slika 35b). Najveće vrednosti fluktuirajuće asimetrije je pokazala dužina lisne ploče na drugom nodusu, zatim dužina lisne drške, takođe na drugom nodusa, pa dužina dužina lisne drške prvog nodusa i na kraju dužina lisne ploče prvog nodusa.

Što se tiče razlika između lokaliteta za svaku osobinu, za dužinu lisne ploče prvog nodusa, Kostolac je bio značajno veći od Autoputa, Vršca, Obrenovca i Banovaca, a Peščara samo od Banovaca (Slika 35c). Za dužinu lisne drške prvog nodusa Kostolac je imao značajno veće vrednosti od svih lokaliteta (Slika 35c). Za dužinu druge lisne ploče, Pančevo i Kostolac su imali značajno veće vrednosti fluktuirajuće asimetrije od Banovaca, dok je za dužinu druge lisne drške Kostolac je imao značajno veće vrednosti od Banovaca, Vršca i Peščare, a Pančevo samo od Banovaca i Vršca. Autoput je takođe bio značajno veći od Vršca za ovu osobinu (Slika 35d).

Urađene su i *Person*-ove korelacije između indeksa FA8a pojedinačnih osobina za sve lokalitete zajedno (Tabela 14). Većina korelacionih koeficijenata su iako niskih vrednosti, bili pozitivni i statistički značajni sem za odnos dužine lisne drške prvog nodusa i dužine lisne ploče drugog nodusa.

## 4.1.3. Koncentracija teških metala

Srednje vrednosti sadržaja As, Cd, Ni i Pb u listovima bagrema i njihove standardne greške, kao i rezultati analize varijanse su prikazani u Tabeli 15. Takođe, u istoj tabeli su predstavljeni i rezultati kontrastne analize koja detektuje razlike između lokaliteta koji spadaju u zagađenu sredinu (Pančevo, Obrenovac, Kostolac i Autoput), u odnosu

na lokalitete koji se svrstavaju u nezagađenu sredinu (Banovci, Vršac i Peščara), kao i između lokaliteta Autoput u odnosu na ostale lokalitete.

Srednje vrednosti koncentracija As, Cd, Ni i Pb sa rezultatima *Scheffe*-ovog testa su prikazane na Slici 36. a-d.

Najviše vrednosti As se nalaze u listovima biljaka poreklom iz Obrenovca i Kostolca i one se značajno razlikuju od sadržaja As u listovima iz Banovaca, dok u ostalim lokalitetima ovaj metal nije detektovan (Slika 36a). Kontrast zagađenih u odnosu na nezagađene lokalitete tj Obrenovca i Kostolca u odnosu na Banovce u ovom slučaju je značajan (Tabela 15).

Što se Cd tiče, najveće vrednosti su detektovane za Banovce, zatim Vršac, Autoput i Pančevo, ali se one međusobno statistički značajno ne razlikuju (Slika 36b). Kontrast nije značajan kada se uporede pomenute dve nezagađene i dve zagađene sredine, kao ni u slučaju poređenja sdaržaja Cd u listovima poreklom sa lokaliteta Autoput u odnosu na ostale lokalitete (Tabela 15).

Ni je detektovan u listovima poreklom sa svih lokaliteta i to najviše u listovima sa Autoputa i iz Vršca u kojima se sadržaj ovog teškog metala značajno razlikuje od ostalih lokaliteta među kojima nisu pronađene statistički značajne razlike (Slika 36c). Što se kontrasta tiče, značajna je razlika sadržaja Ni u biljkama sa Autoputa u odnosu na ostale lokalitete, kao i između zagađenih i nezagađenih sredina (Tabela 15).

Ovi kontrasti su značajni i za Pb gde najveće vrednosti imaju listovi poreklom sa Autoputa i iz Pančeva, a najmanje oni poreklom iz Kostolca i Banovaca (Tabela 15). I pored značajnog efekta lokaliteta u *ANOVA*-i *Scheffe*-ov test nije detektovao nikakve razlike između lokaliteta (Slika 36d), ali zato je *Fisher*-ov LSD test (za objašnjenje testa videti Materijal i Metode) pokazao značajnu razliku Autoputa u odnosu na Peščaru, Kostolac i Banovce (F=0.008 za Peščaru, F= 0.009 za Kostolac i F= 0.026 za Banovce, P<0.05), tj. Pančeva u odnosu na Peščaru i Kostolac (F=0.021 za Peščaru i F=0.023 za Kostolac, P<0.05).

## 4.2. Analiza osobina cveta i lista *iris pumila*

# 4.2.1. Stadijumi razvića cvetnog pupoljka

#### 4.2.1.1. Morfološke faze razvića

Rezultati analize varijanse za efekat faze i staništa na osobine perijantna (FL, FW, SL, SW, CL, CW, SML,STL, AL, LIS, LIIS, OL, OW, TL, TR i LS) su predstavljeni u Tabeli 16, kao i na Slici 37. Sa grafika se može videti da se veći deo razvića odigrao u ranijim stadijumima ontogeneze cveta. Za sve osobine i oba staništa nije uočena razlika između faza B i F, dok je značajna razlika između C i B faza detektovana samo za dužinu stabla (LS) i stubića (TL), oba na otvorenom staništu. Za razliku od pomenutih, veliki broj značajnih razlika je uočen između faza C i F, i to za dužinu plodnika i stubića, obim stubića, dužinu stabljike, dužinu kreste, širinu fola i standarda kod oba lokaliteta, tj. širinu plodnika u zasenčenom staništu i dužinu fola u otvorenom. Najveći broj statistički značajnih razlika detektovan je između faza H i S, za sve osobine i oba staništa sa izuzetkom dužine stabla. Jedanaest od šesnaest merenih osobina su pokazale značajnu razliku između S i C faze, dok su dužine prve i druge spate, kao i dužina antera završile razviće u fazi S.

Razlike između staništa u prvoj fazi (H) su bile značajne samo kod dužina stabla i plodnika. Broj osobina koje pokazuju ovu razliku se postepeno povećava u kasnijim fazama razvića. Pet osobina pokazuju značajnu razliku između staništa za fazu S, osam za faze C i B i dvanaest za poslednju F fazu. CW, SML i STL se nisu značajno razlikovale između staništa ni u jednoj fazi.

#### 4.2.1.2. Vremenske faze razvića

Rezultati analize morfometrije osobina u tri vremenske faze su prikazani u Tabeli 17, kao i na Slici 38. Petnaest od devetnaest osobina je pokazalo statistički značajnu razliku između lokaliteta. Osobine kod kojih ovo nije slučaj su LW, OL, OW i TL. Skoro sve

razlike su posledica većih vrednosti osobina na otvorenom staništu sa izuzetkom dužine stabljike. Ovakav smer razlika je u suprotnosti sa rezultatima dobijenim analizom morfometrije otvorenog cveta gde se veće vrednosti javljaju u slučaju jedinki poreklom sa zasenčenog staništa.

Što se tiče razlika u odnosu na vreme njihove pojave-većina osobina pokazuje divergenciju tek u kasnijim intervalima merenja (LL, LIS, LIIS, FL, STL, CL, CW, SML i AL), dok se za LS, FW i SW razlika može uočiti u sve tri vremenske tačke.

Na osnovu rezultata dobijenih u ova dva eksperimenta, a takođe i na osnovu podobnosti za analizu fluktuirajuće asimetrije (postojanje precizno merljive leve i desne strane mernog objekta) izabrali smo dužinu i širinu fola (FL i FW) tj. širinu leve i desne polovine fola u najširem delu ovog organa, kao reprezentativni primer osobina perijanta, dok smo dužinu i širinu stigme, kao i širinu leve i desne strane stigme u najširem delu (što odgovara osobinama dužine stigme SML i širine kreste CW), odabrali kao primer za osobine polnih organa.

Fol je deo cvetnog perijanta koji na sebi ima karakterističnu bradu na centralnoj osi na koju se nastavlja centralni nerv ovog cvetnog dela razdvajajući ga tako na levu i desnu polovinu. Slična situacija je i kod žiga, gde se takođe uočava jasna bilateralna simetrija. Osim ovih podobnosti bitno je i to što FL i FW pokazuju specifične paterne razvića kako u morfološkim, tako i u vremenskim fazama pupoljka. Razviće FL se završava u fazi C (kao i STL i CW npr), dok FW pokazuje značajan porast između B i F faze. Za razliku od osobina fola gde se značajne razlike između staništa javljaju u S tj. C fazi kod osobina stigme ovih razlika nema. Što se tiče vremenskih faza drugog pilot eksperimenta sve četiri osobine pokazuju porast između prve i druge faze-ako posmatramo populacije poreklom sa otvorenog staništa, taj trend se nastavlja i između druge i treće faze sem za CW za koju se može uočiti stagnacija, pa čak i blago opadanje u ovom intervalu. FL i SML pokazuju razliku između staništa tek u trećoj fazi, CW u drugoj a FW u sve tri.

## 4.2.2. Analiza osobina cveta Iris pumila

Nakon analize *outlier*-a su iz dalje obrade odstranjene individue za koje je dokazano da se i statistički značajno razlikuju od srednje vrednosti grupe, ukupno njih 45. Nakon ovih korekcija u analizi su ostala 204 klona i to:

## Zagađena sredina:

Put Beograd-Novi Sad-55 klonova

## Nezagađena sredina:

Deliblatska peščara-149 klonova

# 4.2.2.1. Morfološke osobine

Srednje vrednosti osobina – dužine i širine fola, i dužine i širine stigme u oba lokaliteta (Put Beograd-Novi Sad i Peščara), njihove standardne greške, kao i greška ME1 su prikazane u Tabeli 18. Rezultati *ANOVA*-e za efekat lokaliteta su takođe prikazani u Tabeli 18, gde se uočava značajnost ovog efekta za sve osobine sem za širinu stigme. Srednje vrednosti i rezultati *Scheffe*-ovog testa su prikazani grafički na Slici 39, gde se može uočiti da su značajno veće vrednosti osobina biljaka poreklom iz Deliblatske peščare, sem u slučaju širine stigme, ali ova razlika nije bila statistički značajna.

## 4.2.2.2. Radijalna i fluktuirajuća asimetrija cveta

#### 4.2.2.2.1. Analiza radijalne asimetrije

Analiza varijanse za efekat lokaliteta za grešku ME1, (*Levene*-ov test), nije pokazala statistički značajne razlike između vrednosti grešaka merenja (Tabela 19). Grafički prikaz razlika u ME1 između lokaliteta, po osobini, sa rezultatima *Scheffe*-ovog testa je dat na Slici 40.

Efekat lokaliteta, takođe, nije bio značajan za grešku merenja svih osobina zajedno (Tabela 19, Slika 41), dok je efekat osobine pokazao značajnost (Tabela 19, Slika 42).

Sve osobine su se međusobno značajno razlikovale jedne od drugih za sve lokalitete zajedno. Najveća greška ME1 je detektovana za dužinu fola, zatim za dužinu stigme, širinu fola, i na kraju, širinu stigme (Slika 42).

Vrednosti radijalne asimetrije tj. prosečnog odstupanja osobina cvetnih delova od srednje vrednosti kao i njihove standardne greške su predstavljene kako standardnom devijacijom (SD) tako i koeficijentom varijacije (CV) za svaku osobinu fola i stigme posebno, kao i multikomponentnim indeksima-prosecima vrednosti SD i CV svih osobina po individui (MCSD i MCCV) u Tabeli 20. Efekat lokaliteta na sve indekse radijalne asimetrije je prikazan u Tabeli 21.

Za SD efekat lokaliteta je bio značajan za sve osobine sem za dužinu stigme, dok je za CV ovaj efekat značajan za sve osobine. Grafički prikaz kao i prikaz rezultata *Scheffe*ovog testa za značajnost razlike pojedinačnih koeficijenata između dva lokaliteta dat je na Slici 43. Sve značajne razlike su posledica većih vrednosti indeksa u lokalitetu Put Beograd-Novi Sad.

Što se multikomponentnih indeksa tiče efekat lokaliteta je značajan i za MCSD i za MCCV (Tabela 21), pri čemu su indeksi radijalne asimetrije za osobine biljaka poreklom sa Puta Beograd-Novi Sad značajno veći od onih za osobine biljaka poreklom iz Deliblatske peščare u oba slučaja što se može videti iz grafičkog prikaza i rezultata *Scheffe*-ovog testa na Slici 44.

Rezultati *ANOVA*-e za multipne osobine na podacima sa replikama su prikazani u Tabeli 22. Značajan efekat je uočen za sve faktore (individua, osobina i individua x osobina) i oba lokaliteta (Put Beograd-Novi Sad i Peščara).

Test sa faktorima lokalitet i osobina na podacima sa srednjom vrednošću replika je, takođe, detektovao značajnost za sve faktore (lokalitet, osobina i lokalitet x osobina) (Tabela 23). Efekat osobine za sve lokalitete zajedno za SD i CV je prikazan na Slici 45. Za SD indeks značajno su se razlikovale dužina fola i širina stigme kako međusobno, tako i od ostale dve osobine. Radijalna asimetrija dužine fola je pokazala najveće

vrednosti. Kod CV indeksa značajno su se razlikovale dužine oba cvetna dela od njihovih širina, pri čemu su širine kako fola tako i stigme imale veću procenjenu radijalnu asimetriju.

Urađene su i *Person*-ove korelacije između indeksa radijalne asimetrije za sve lokalitete zajedno i to za SD (rezultati iznad dijagonale Tabela 24) i CV (rezultati ispod dijagonale Tabela 24). Obe matrice su pokazale prisustvo pozitivnih značajnih korelacija i to nešto više u slučaju indeksa CV gde su sve bile značajne nego u slučaju SD gde nije bila značajna korelacija dužine i širine fola.

## 4.2.2.2. Analiza fluktuirajuće asimetrije

Odnos veličine fluktuirajuće asimetrije i greške merenja za obe osobine i oba lokaliteta je prikazan u Tabeli 25. Sve vrednosti se kreću u rasponu od 0.978 (stigma, Peščara) do 1.828 (fol, put Beograd-Novi Sad). Ni jedan količnik nije veći od vrednosti dva (Palmer i Strobeck 2003).

Rezultati *two-way ANOVA*-e strana x deo(ind), su predstavljeni u Tabeli 26. Za oba lokaliteta i obe osobine varijabilnost između strana je bila statistički značajno veća od greške merenja (P<0.0001 za sve osobine i sve lokalitete). Isto važi i za efekat individue te se individue (genotipovi) međusobno značajno razlikuju u vrednostima merenih osobina po lokalitetu (P<0.0001 za sve osobine i sve lokalitete). Što se tiče efekta strane, tj. prisustva direkcione asimetrije, on je značajan za širinu fola i to u oba lokaliteta (P<0.0001 za lokalitet Peščara, tj. P=0.016 za lokalitet Put Beograd-Novi Sad).

Greške su prikazane u Tabeli 27. (ME1, ME1\*, ME3 i ME5), kao i ME1 kao procenat indeksa FA4a . Što se tiče prosečne razlike između ponovljenih merenja kao procenta prosečne razlike između strana tj. greške ME3, može se uočiti da greška predstavlja od 12.073% za širinu stigme na Putu Beograd-Novi Sad, do 17.928% za širinu stigme u Peščari.

Ponovljivost, tj. ME5, je bila najveća (ME5= 0.785) za širinu stigme na Putu Beograd-Novi Sad, a najmanja za širinu stigme u Peščari (ME5= 0.696). Efekat lokaliteta za grešku ME1, (*Levene*-ov test), je prikazan u Tabeli 28. i nije značajan ni za jednu osobinu, te se greške ne razlikuju u različitim lokalitetima. *Scheffe*-ov test i srednje vrednosti greške ME1 prikazane su na Slici 46.

Za sve osobine zajedno *Levene*-ov test nije pokazao značajan efekat lokaliteta tj. lokaliteti su se nisu značajno razlikovali za grešku merenja, dok je efekat osobine bio značajan(Tabela 28). *Scheffe*-ov test i grafički prikazi srednjih vrednosti za efekte lokaliteta i osobine su dati na Slikama 47 i 48. Greška merenja za fol je bila statistički značajno veća od greške merenja za stigmu.

Koeficijenati *skewness*-a i *kurtosis*-a i njihove statističke značajnosti su prikazane u Tabeli 29. Značajan pozitivan *kurtosis* su imale i širina fola i širina stigme u lokalitetu Peščara što znači da je raspodela za tu osobinu leptokurtična. Platikurtičnih i bimodalnih raspodela tj. statistički značajnih negativnih vrednosti *kurtosis*-a nije bilo, a samim tim nije detektovana antisimetrija. Raspodele su simetrične oko nule, ali imaju više vrednosti oko nule tj. srednje vrednosti i na krajevima, 'repovima', distribucije, a manje nego što je očekivano na intermedijarnim nivoima (Gangestad i Thronhill 1999). Što se koeficijenta *skewness*-a tiče, on je bio pozitivan i statistički značajan u slučaju širine stigme u lokalitetu Peščara, što govori o pozitivno asimetričnoj raspodeli, tj. kriva raspodele se asimetrično pruža na desnu stranu (Sokal i Rohlf 1995).

Koeficijenti *skewness*-a i *kurtosis*-a za obe osobine za lokalitet Put Beograd-Novi Sad nisu bili značajni ni za jednu osobinu.

T test, odstupanje srednjih vrednosti osobina od nule, tj. test za prisustvo direkcione asimetrije je predstavljen u Tabeli 30. Statistički značajno odstupanje od nule se javlja u oba lokaliteta za širinu fola, dok za širinu stigme nema značajnih odstupanja.

Upoređenje vrednosti FA4a i srednjih vrednosti fluktuirajuće asimetrije pokazuje da je za širinu stigme u oba lokaliteta kao i za širinu fola u lokalitetu Put Beograd-Novi Sad srednja vrednost fluktuirajuće asimetrije manja od vrednosti FA4a, dok je za širinu fola u lokalitetu Peščara ovaj odnos obrnut (Tabela 30), te se u tom slučaju direkciona asimetrija ne može zanemariti, tj. predispozicija ka jednoj strani (postojanju DA) je veća nego prosečna devijacija oko srednje vrednosti razlike desne i leve strane (Palmer i Strobeck 2003). U slučaju širine fola se pre izračunavanja indeksa fluktuirajuće asimetrije stoga mora izvršiti korekcija za direkcionu asimetriju i to oduzimanjem

prosečne vrednosti osobine od strane sa većom prosečnom vrednošću i dodavanjem iste vrednosti strani sa manjim prosekom.

Koeficijenti korelacije izmedju fluktuirajuće asimetrije i veličine osobine su prikazan u Tabeli 31. Predstavljene su vrednosti *Pearson*-ovog, *Spearman*-ovog i *Kendall*-ovog koeficijenta, kao i njihove značajnosti za svaki lokalitet posebno. Značajna je jedino *Pearson*-ova korelacija za širinu stigme za Put Beograd-Novi Sad (r=-0.35, P=0.037), dok ostale vrednosti nisu pokazale značajnost.

Indeksi fluktuirajuće asimetrije FA1, FA2, FA8a, FA10a, FA17 i CFA8a su sa svojim standardnim greškama prikazani u Tabeli 32. Efekat lokaliteta za ove indekse je predstavljen rezultatima *ANOVA*-e za FA1, FA2, FA8a, FA17 i CFA8a, tj. rezultatima F testa za FA10a indeks u Tabeli 33. Efekat lokaliteta je statistički značajan za obe osobine i za sve indekse, takođe je i F test detektovao značajnu razliku između dva staništa za indeks FA10a.

Srednje vrednosti indeksa kao i rezultati *Scheffe*-ovih testova su prikazani na Slici 49. (a-d) za indekse na pojedinačnim osobinama. Značajno veće vrednosti svih pomenutih indeksa, (kako proseka apsolutnih razlika između strana predstavljenog putem FA1 i korigovanih FA vrednosti za veličinu osobine, FA2 i FA8a, tako i FA vrednosti bez greške merenja-FA10a), kod obe osobine su imale biljke poreklom sa Puta Beograd-Novi Sad u odnosu na one poreklom iz Peščare.

Što se tiče višekomponentnog indeksa (FA17) i kompozitnog indeksa (CFA8a) značajno veće vrednosti su detektovane takođe kod biljaka poreklom sa Puta Beograd-Novi Sad (Slika 50. i Slika 51).

Rezultati *ANOVA*-e za multipne osobine na podacima sa replikama su prikazani u Tabeli 34. Značajan efekat je uočen za sve faktore-individuu, osobinu i interakciju individue i osobine i za oba lokaliteta. Osobine se stoga međusobno razlikuju u nivou fluktuirajuće asimetrije kao i same individue, takođe, razlike u fluktuirajućoj asimetriji između osobina zavise od individue.

Test sa faktorima lokalitet i osobina, ali na podacima sa srednjom vrednošću replika je detektovao značajnost za faktore lokalitet i osobina dok efekat interakcije nije značajan (Tabela 35). Stoga razlike u fluktuirajućoj asimetriji između staništa ne zavise od osobine. *Scheffe*-ov test prikazan na Slici 52. je pokazao značajno veće vrednosti fluktuirajuće asimetrije za Put Beograd-Novi Sad u odnosu na Peščaru. Što se razlika u fluktuirajućoj asimetriji između osobina za sve lokalitete zajedno tiče, ova analiza je pokazala značajno veće vrednosti fluktuirajuće asimetrije fola u odnosu na stigmu (Slika 53).

*Person*-ov koeficijent korelacije između indeksa FA8a za fol i stigmu iznosi r=0.395 i značajan je (P<0.05).

## 4.2.3. Analiza osobina lista Iris pumila

#### 4.2.3.1. Hlorofili i karotenoidi

Uzorci listova su sakupljeni sa 143 klona sa lokaliteta Put Beograd-Novi Sad tj. sa 141og klona sa lokaliteta Deliblatska peščara.

Srednje vrednosti koncentracija hlorofila a, hlorofila b, ukupnog hlorofila, karotenoida i odnosa hlorofila a i hlorofila b i odnosa hlorofila a i karotenoida, kao i njihove standardne greške u oba lokaliteta-Put Beograd-Novi Sad i Peščara su predstavljene u Tabeli 36.

Takođe, rezultati analize varijanse za efekat lokaliteta, individue i interakcije lokaliteta i individue su prikazani u Tabeli 36. Efekat lokaliteta je bio značajan za sve merene vrste hlorofila, kao i za karotenoide i odnos hlorofila a i hlorofila b i odnos hlorofila a i karotenoida.

Grafički prikaz vrednosti kao i rezultati *Scheffe*-ovog testa su prikazani na Slici 54. Za hlorofil a, hlorofil b, ukupni hlorofil kao i za karotenoide i odnos hlorofila a i karotenoida, veće vrednosti su poreklom iz listova biljaka iz Peščare, dok je kod odnosa hlorofila a i hlorofila b obrnuto, tj. ova vrednost je značajno veća za Put Beograd-Novi Sad.

## 4.3. Analiza osobina cveta *iris germanica*

Nakon analize *outlier*-a je iz dalje obrade je odstranjeno 8 klonova te je u analizi su ostalo njih 270, i to:

### Zagađena sredina:

• Beograd- 133 klona

#### Nezagađena sredina:

- Belegiš-34 klona
- Banovci-103 klona

## 4.3.1. Morfološke osobine

Srednje vrednosti osobina – dužine i širine fola u oba zagađenja i u svim lokalitetima, kao i njihove standardne greške i greška merenja ME1 su prikazane u Tabeli 37. Takođe su prikazani i rezultati *ANOVA*-e za efekat zagađenja i lokaliteta gde su oba efekta značajna za obe osobine. Srednje vrednosti i rezultati *Scheffe*-ovog testa su prikazani grafički na Slikama 55. a i b, gde se može uočiti da su značajno veće vrednosti osobina biljaka poreklom iz zagađene sredine (Slika 55a) tj. iz lokaliteta Beograd u odnosu na Belegiš i Banovce (Slika 55b).

## 4.3.2. Analiza radijalne i fluktuirajuće asimetrije

### 4.3.2.1. Analiza radijalne asimetrije

Analiza varijanse za efekat zagađenja i lokaliteta za grešku ME1 pojedinačnih osobina, (*Levene*-ov test), je pokazala statistički značajne razlike između vrednosti grešaka merenja kako u slučaju zagađenja, tako i u slučaju lokaliteta Tabela 38. Grafički prikaz sa rezultatima *Scheffe*-ovog testa je dat na Slici 56a. gde se može uočiti da je greška merenja veća za biljke poreklom iz nezagađenog područja i to za obe osobine. Što se tiče efekta lokaliteta, iako značajan za dužinu fola zbog niske vrednosti ove značajnosti *Scheffe*-ov test nije detektovao razlike među lokalitetima. U slučaju širine fola, razlike u ME1 su detektovane između Banovaca i Beograda (Slika 56b).

Efekat zagađenja i lokaliteta, kao i efekat osobine su takođe bili značajani za greške merenja obe osobine zajedno Tabela 38. Vrednosti greške su bile značajno veće kod biljaka poreklom sa nezagađenog područja što se efekta zagađenja tiče (Slika 57a), tj značajno veće u lokalitetima Banovci i Belegiš u odnosu na Beograd, što se efekta lokaliteta tiče (Slika 57b).

Efekat osobine je bio značajan i značajno veće vrednosti greške ME1 su detektovane za dužinu nego za širinu fola gledajući sve lokalitete zajedno (Slika 58).

Vrednosti radijalne asimetrije su predstavljene kako standardnom devijacijom (SD) tako i koeficijentom varijacije (CV) za dužinu i širinu fola posebno, kao i multikomponentnim indeksima (MCSD I MCCV) za obe osobine zajedno. Vrednosti ovih indeksa kao i njihove standardne greške su prikazane u Tabeli 39.

Efekat zagađenja i lokaliteta, tj rezultati analize varijanse se mogu videti u Tabeli 40. Za SD efekti zagađenja i lokaliteta su bili značajni za obe osobine, dok je za CV efekat zagađenja značajan samo za dužinu fola, a efekat lokaliteta za obe osobine. Grafički prikaz kao i prikaz rezultata *Scheffe*-ovog testa za značajnost razlike pojedinačnih koeficijenata između zagađenja (zagađenog i nezagađenog) dat je na Slici 59a. Sve značajne razlike između zagađene i nezagađene sredine su posledica većih vrednosti indeksa zagađenoj sredini. Za efekat lokaliteta za SD širine i dužine kao i CV širine fola najveću i značajno različitu vrednost imaju biljke poreklom sa lokaliteta Beograd, dok se ovi indeksi za Beograd i Belegiš ne razlikuju značajno međusobno. Što se tiče CV za širinu fola, značajno se razlikuju Banovci i Belegiš, pri čemu Belegiš ima najveću vrednost ovog indeksa (Slika 59b).

Što se multikomponentnih indeksa tiče, efekat i zagađenja i lokaliteta je značajan i za MCSD i za MCCV (Tabela 40). Indeksi radijalne asimetrije za osobine biljaka poreklom sa zagađenog staništa su značajno veći od onih za osobine biljaka poreklom iz nezagađenog staništa kako za MCSD tako i za MCCV (Slika 60a). Takođe, ova dva indeksa za lokalitet Banovci su značajno manja od indeksa lokaliteta Belegiš i Beograd koji se međusobno značajno ne razlikuju (Slika 60b).

Rezultati *ANOVA*-e za multipne osobine na podacima sa replikama su prikazani u Tabeli 41. Značajan efekat je uočen za sve faktore (individua, osobina i individua x osobina) u oba zagađenja i sva tri lokaliteta.

Test sa faktorima zagađenje i osobina tj. lokalitet i osobina na podacima sa srednjom vrednošću replika je detektovao značajnost za efekat osobine i lokaliteta kako za SD tako i za CV, dok je efekat zagađenja bio značajan samo kod SD indeksa

Vrednosti SD indeksa su bile značajno veće u zagađenoj sredini u odnosu na nezagađenu (Slika 61).

Radijalna asimetrija širine fola je bila značajno veća od dužine fola i za SD i za CV indeks (Slika 62).

Efekat interakcije lokaliteta i osobine je bio značajan samo za CV indeks. Za osobinu dužina fola značajno se razlikuju Banovci i Beograd pri čemu veće vrednosti radijalne asimetrije dužine fola ima Beograd. Za osobinu širina fola najveću i značajno različitu vrednost CV indeksa pokazuje Belegiš u odnosu na Banovce i Beograd (Slika 63). Efekat interakcije zagađenja i osobine nije bio značajan ni za jedan indeks (Tabela 42).

Urađene su i *Person*-ove korelacije između indeksa radijalnih asimetrija pojedinačnih osobina za sve lokalitete zajedno i to za SD i CV (za dužinu i širinu). Detektovane su pozitivne korelacije, ali statistički značajan koeficijent je bio samo za korelaciju između SD dužine i SD širine fola (r= 0.15).

#### 4.3.2.2. Analiza fluktuirajuće asimetrije

Odnos veličine fluktuirajuće asimetrije i greške merenja za širinu fola u obe sredine i sva tri lokaliteta je prikazan u Tabeli 43. Vrednosti se kreću u rasponu od 1.443 (lokalitet Banovci) do 1.938 (lokalitet Belegiš). Ni jedan količnik nije veći od vrednosti dva-što je prema Palmer-u i Strobeck-u (2003) pokazatelj za odabir osobina pogodnih za analizu fluktuirajuće asimetrije.

Rezultati *two-way ANOVA*-e strana x deo(ind), su predstavljeni u Tabeli 44. Za obe sredine i sve lokalitete strana x deo(ind) interakcija je značajna (P<0.0001, za sve osobine i sve lokalitete). Isto važi i za efekat individue te se individue (genotipovi)

međusobno značajno razlikuju u vrednostima merenih osobina po lokalitetu (P<0.0001 za sve osobine i sve lokalitete). Što se tiče efekta strane, tj. prisustva direkcione asimetrije, on nije značajan ni u jednom slučaju.

Greške merenja (ME1, ME1\*, ME3 i ME5) kao i ME1 kao procenat FA4a su prikazane u Tabeli 45 (za formule i objašnjenja pogledati Materijal i Metode). Ponovljivost, tj. ME5, je bila najveća (ME5= 0.737) u zagađenoj sredini tj lokalitetu Beograd, a najmanja u lokalitetu Banovci (ME5= 0.592). Što se tiče prosečne razlike između ponovljenih merenja kao procenta prosečne razlike između strana ME3 može se uočiti da greška predstavlja od 15.151% u zagađenoj sredini tj. lokalitetu Beograd do maksimalnih 25.602% u lokalitetu Banovci (Tabela 45).

Efekat zagađenja i lokaliteta za grešku ME1, (*Levene*-ov test), je prikazan u Tabeli 46. i nije značajan ni za efekat zagađenja, ni za efekat lokaliteta, te se greške ne razlikuju u različitim zagađenjima tj. lokalitetima. *Scheffe*-ov test i srednje vrednosti greške ME1 prikazani su na Slici 64. a i b.

Koeficijenti *skewness*-a i *kurtosis*-a i njihove statističke značajnosti su prikazane u Tabeli 47. Značajan pozitivan *kurtosis* je detektovan kod svih raspodela sem za lokalitet Belegiš gde je koeficijent takođe pozitivan, ali ne i statistički značajan. Platikurtičnih i bimodalnih raspodela, tj. statistički značajnih negativnih vrednosti *kurtosis*-a nije bilo, a samim tim nije detektovana antisimetrija. Raspodele koje imaju značajan pozitivan *kurtosis* su simetrične oko nule, ali imaju više vrednosti oko nule tj. srednje vrednosti i na krajevima, 'repovima', distribucije, a manje nego što je očekivano na intermedijarnim nivoima (Gangestad i Thronhill 1999).

Što se koeficijenta *skewness*-a tiče, on je bio negativan i statistički značajan u slučaju lokaliteta Banovci, dok kod ostalih zagađenja i lokaliteta značajnost nije prelazila granicu od P<0.05. Značajan *skewness* govori o asimetričnosti pružanja krive oko srednje vrednosti i u slučaju negativnih značajnih vrednosti kriva se asimetrično pruža na levu stranu (Sokal i Rohlf 1995).

T test, odstupanje srednjih vrednosti osobina od nule, tj. test za prisustvo direkcione asimetrije je predstavljen u Tabeli 48. Statistički značajno odstupanje od nule se nije detektovano ni u jednom slučaju, sve vrednosti koeficijenta t su bile neznačajne.

Upoređenje vrednosti FA4a i srednjih vrednosti fluktuirajuće asimetrije takođe pokazuje da za oba zagađenja i sva tri lokaliteta FA4a ima veće vrednosti od srednjih vrednosti. Ovo znači da je predispozicija ka jednoj strani (postojanju DA) manja nego prosečna devijacija oko srednje vrednosti razlike desne i leve strane, te se i na osnovu ovog testa prisustvo DA isključuje (Palmer i Strobeck 2003).

Koeficijenti korelacije izmedju fluktuirajuće asimetrije i veličine osobine su prikazani u Tabeli 49. Vrednosti *Pearson*-ovog, *Spearman*-ovog i *Kendall*-ovog koeficijenta su bile statistički značajne u svim slučajevima sem za lokalitet Belegiš.

Indeksi fluktuirajuće asimetrije FA1, FA2, FA8a, FA10a su sa svojim standardnim greškama prikazani u Tabeli 50. Efekat lokaliteta za ove indekse je predstavljen rezultatima *ANOVA*-e za FA1, FA2, FA8a, tj. rezultatima F testa za FA10a indeks u Tabeli 51. Efekat lokaliteta je statistički značajan za za sve indekse, dok se FA10a indeks ne razlikuje značajno između lokaliteta. Efekat zagađenja i razlika u vrednosti indeksa FA10a između zagađene i nezagađene sredine nisu bili statistički značajni. Srednje vrednosti indeksa kao i rezultati *Scheffe*-ovih testova su prikazani na Slikama 65 i 66.

Što se tiče indeksa FA1 (Slike 65a. i 66a) veće vrednosti su detektovane u zagađenoj sredini, mada ne statistički značajno različite, i u lokalitetima Belegiš i Beograd u odnosu na Banovce gde je značajnost veća od P<0.05.

Kontrast između lokaliteta Beograd na jednoj strani i lokaliteta Banovci i Belegiš, na drugoj je predstavljen u Tabeli 51. i nije statistički značajan.

Indeksi FA2 (Slike 65b. i 66b) i FA8a (Slike 65c. i 66c) su imali najveće i statistički značajno različite vrednosti u lokalitetu Belegiš u odnosu na Banovce i Beograd koji se međusobno nisu značajno razlikovali. Kontrast za lokalitet Beograd u odnosu na Banovce i Belegiš je značajan u slučaju indeksa FA2 (Tabela 51).

Što se tiče koeficijenta FA10a kod koga je odstranjena greška merenja nisu detektovane značajne razlike kako između zagađenja, tako ni između lokaliteta (Slike 65d. i 66d).

# 5. Diskusija

Biomonitoring predstavlja skup metoda za procenu kvaliteta životne sredine, jedna od njih je i analiza razvojne stabilnosti kojom se na neagresivan i jednostavan način može proceniti sposobnost individua da sačuvaju stabilan razvoj pod datim sredinskim uslovima (Parsons 1990, Møller i Swaddle 1997, Van Dongen 2006). Ako je kapacitet individue da 'amortizuje' tok razvića, uprkos slučajnim procesima, visok, ispitivana osobina će minimalno odstupati od optimalnog fenotipa, ako je ovaj kapacitet nizak, unutarindividualna fenotipska varijabilnost će biti veća (Van Dongen i Lens 2002). Mere poremećaja u razviću određenih fenotipova koji karakterišu individue i grupe individua (kao što su populacije i vrste) se mogu smatrati merom nesposobnosti mehanizama kontrole razvića da se odupru efektima unutrašnje i spoljašnje sredine (Møller i Pagel 1998, Nijhout i Davidowitz 2003, Van Dongen 2006).

Jedan od najvažnijih, ali i najtežih izazova u konzervacionoj biologiji je identifikacija populacija koje su izložene stresu pre nego što dođe do degradacije same populacije (Clarke 1995, Palmer 1996, Gilligan 2000, Teder i sar. 2007). Razvojna stabilnost organizama se može proceniti analizom asimetrije, kako fluktuirajuće, tako i radijalne, translacione, fraktalne itd. (Palmer i Strobeck 1986, Polak i Trivers 1994, Graham i sar. 2010), i smatra se brzom, jednostavnom i jeftinom metodom što može biti od velikog značaja za zemlje u razvoju gde je finansijski momenat često glavni ograničavajući faktor (Gilligan 2000).

Studije razvojne stabilnosti su se u početku više oslanjale na proučavanje primera iz životinjskog sveta, ali biljke ipak predstavljaju bolje model organizme, kako zbog svog sesilnog načina života, modularnog neprekidnog rasta. tako i zbog lakšeg razdvajanja genetičke i sredinske varijanse (Pertoldi i sar. 2001). Povećanje vrednosti fluktuirajuće asimetrije tj. razvojne nestabilnosti indukovane stresom, je detektovano u više studija i kod različitih vrsta, kako zeljastih tako i drvenastih biljaka (Acer, Robinia, Convolvulus, Aegopodium, Epilobium i Fucus (Freeman i sar. 1993), Robinia pseudoacacia, Sorbus aucuparia i Matricaria perforata (Møller 1998), Betula pendula i Betula pubescens

(Kozlov i sar. 1996, Eränen i sar. 2009), *Populus euramericana* (Rettig 1997), *Salix borealis* (Zvereva i sar. 1997a i 1997b), *Quercus ilex* (Puerta-Pinero i sar. 2008), *Quercus pyrenaica* (Puerta-Pinero i sar. 2009), *Iris pumila* (Miljković 2009, Tucić i Miljković 2010, Miljković 2012).

Da bi došlo do odstupanja od simetrije mora se na neki način poremetiti razviće organizma. Mehanizmi koji dovode do poremećaja razvojne stabilnosti tj. do morfoloških asimetrija kod inače simetričnih organizama nisu u potpunosti poznati. Pretpostavlja se da u njihovoj regulaciji učestvuju kako procesi unutar ćelije tako i oni na višim nivoima organizacije koji uključujući i hormonsku kontrolu (Levin i Palmer 2007).

# 5.1. Osobine lista *Robinia pseudoacacia* u uslovima nenarušene životne sredine i u uslovima antropogeno indukovanog stresa

List i organi nastali od lista su morfološki najraznovrsniji delovi biljnog organizma (Poething 1997). Većina listova se sastoji od lisne baze, lisne drške (petiole ili rahisa) i lisne ploče (lamine). Mogu biti prosti i složeni - prosti se sastoje od jednog seta pomenutih delova, dok se složeni listovi (kakav je i list belog bagrema), sastoje od lisne drške na kojoj je je na određen način raspoređeno više lisnih ploča, sa ili bez peteljki. Listovi su najčešće dorzo-ventralno spljošteni i imaju ograničen rast (Bharathan i Sinha 2001).

Listovi se formiraju u pravilnim intervalima (*plastohronima*), i pravilno su raspoređeni oko apikalnog meristema izdanka. Tipična morfogeneza lista dikotila podeljena je u tri faze-inicijacija primordije traje 24-48h kada se formira štapoliki organ na kome dolazi do formiranje abaksijalnih i adaksijalnih domena (Ekker i sar. 2005, Reinhardt i sar. 2005). Zatim sledi faza primarne morfogeneze kada dolazi do lateralne i distalne ekspanzije spljoštene lamine. Finalna faza je sekundarna morfogeneza kada dolazi do ekspanzije ćelija sa limitiranim mitotičkim deobama (Hagemann i Gleissberg 1996, Dengler i Tsukaya 2001, Efroni i sar. 2008). Dakle, tokom ranog razvoja lisne primordije ona zadobija dorzoventralnu, centrolateralnu i proksimodistalne domene. Duž proksimodistalne ose list se može podeliti na distalni region koji produkuje relativno široku laminu, i proksimalni (region petiole) gde lamine nema ili je

redukovana i bazalni region koji se proteže oko stabla u manjoj ili većoj meri (Harper i Freeling 1996, Sylvester i sar. 1996).

Hemijski modeli inicijacije razvića lista pretpostavljaju dejstvo inducera i inhibitora (Meinhardt 1984). Sama priroda ovih signalnih faktora nije u potpunosti utvrđena ali se pretpostavlja da tu spadaju citokinini (Grayburn i sar. 1982, Deikman i Ulrich 1995), ili auksini i citokinini (Skoog i Miller 1957), kao aktivatori morfogeneze. Osim hemijskih faktora, na morfogenezu utiču i fizički faktori tj fizičke promene u rasporedu celuloznih mikrovlakana u apikalnom meristemu koji po mogu inicirati formiranje lisne primordije stvaranjem ispupčenja tj deformacije na površini meristema (Green 1999).

U procesu morfogeneze lista važnu ulogu imaju tzv. KNOX1 geni, čija supresija dovodi do formiranja lista (Long i sar. 1996, Wang i sar. 2008). Kod složenih listova takođe dolazi do supresije ovih gena u početnoj lisnoj primordiji, ali i do njihove reaktivacije u kasnijim etapama razvića (Kim i sar. 2003).

Beli bagrem je višegodišnja drvenasta dikotila i na nju značajno mogu uticati, pre svega, dugotrajni ili repetibilni stresori. Ovakvi uticaji zbog dugog perioda rasta i razvoja same biljke mogu imati trajne efekte (Osakabe i sar. 2012)

Morfološke osobine (dužine lisne ploče i lisne drške na dva nodusa složenog lista) pokazale su trend većih vrednosti kod biljaka poreklom iz nezagađenih sredina tj. sredina gde se pretpostavlja da su jedinke izložene manjem stresu. Ovo se odnosi pre svega na lokalitete Banovci i Peščara. Analiza kontrasta između zagađenih (Autoput, Obrenovac, Pančevo, Kostolac) i nezagađenih sredina (Vršac, Banovci i Peščara) pokazuje da su vrednosti svih osobina značajno veće u nezagađenim nego u zagađenim sredinama. Ovakav patern je uobičajen za organizme izložene stresu čije su osobine (kako vegetativne tako i reproduktivne) obično manjih dimenzija u odnosu na organizme koji nisu pod stresnim uslovima (Bijlsma i Loeschcke 1997, Hoffman i Parsons 1997, Baraza i sar. 2004, Bijlsma i Loeschcke 2005).

# 5.1.1. ${f F}$ luktuirajuća asimetrija lista *Robinia pseudoacacia*

Procena stabilnosti razvića osobina lista kod belog bagrema varirala je u zavisnosti od ispitivane osobine i indeksa kojim je stabilnost kvantifikovana.

Što se tiče FA1 indeksa razlike u razvojnoj stabilnosti osobina lista između sredina nisu jednoznačne. Za sve četiri osobine vrednosti FA1 su bile najveće u zagađenom lokalitetu (Kostolac), ali je sledeća po veličini razvojna nestabilnost detektovana u jednoj nezagađenoj sredini (Peščara). Kontrast zagađene u odnosu na nezagađenu sredinu za indeks FA1 je pokazao značajne vrednosti samo za dužine lisnih drški, te je jedino u tom slučaju jednoznačno utvrđena značajna razlika između uticaja zagađenih i nezagađenih sredina.

Kod indeksa FA10a Kostolac i Peščara i dalje pokazuju najveći nivo razvojne nestabilnosti ali su razlike između lokaliteta nešto jasnije. Za dužinu prvog lista Kostolac i Peščara se značajno razlikuju od svih ostalih lokaliteta što je velika promena u odnosu na FA1 gde su se značajno razlikovali samo od Banovaca. I za ostale osobine *Scheffe*-ov test detektuje dodatne značajne razlike između Kostolca i Peščare u odnosu na ostale lokalitete.

Indeks FA1 i indeks FA10a pokazuju slične rezultate što se tiče trenda izdvajanja lokaliteta Kostolac i Peščara od svih ostalih, ali jednoznačni rezultati nisu dobijeni, sem u kod kontrasta za FA1 indeks i to samo za dužine peteljki. Dakle, u slučaju indeksa FA1 i FA10a Kostolac kao zagađena sredina je pokazao najveće vrednosti razvojne nestabilnosti. Deliblatska peščara, iako okarakterisana u ovom radu kao nezagađena sredina, je pokazala samo očekivano visoke srednje vrednosti merenih osobina, dok na nivou razvojne stabilnosti, procenjene indeksima FA1 i FA10a, ne samo da se nije razlikovala od zagađenih sredina, već je imala i viši nivo razvojne nestabilnosti kako od drugih nezagađenih sredina, tako i od zagađenih.

Rezultati na standardizovanim podacima-indeksi FA2 i FA8a pokazuju međusobno sličan patern razlika. Značajnosti razlika između lokaliteta ova dva indeksa su skoro identične i pokazuju ponovo odstupanje lokaliteta Kostolac, ali ne i Peščare od većine ostalih staništa, u prvom redu nezagađenih -Vršca i Banovaca. Takođe Vršac i Banovci imaju najmanje i značajno različite vrednosti fluktuirajuće asimetrije. Kontrasti za FA2 i za FA8a pokazuju značajne razlike za sve osobine osim dužine prve peteljke, te se i u slučaju ovih indeksa samo kontrastnom analizom dobijaju jednoznačni rezultati.

Može se zaključiti da se detekcija uticaja zagađenja na razvojnu stabilnost u slučaju indeksa za pojedinačne osobine na ovoj vrsti i u datim sredinama sa najvećom sigurnošću može utvrditi pomoću analize kontrasta. Razlike između pojedinačnih

lokaliteta u fluktuirajućoj asimetriji su detektovale razlike između zagađenih i nezagađenih sredina samo za one lokalitete sa najvećom i najnižom vrednošću fluktuirajuće asimetrije, dok suptilnije razlike između razvojnih stabilnosti nisu bile dovoljno precizno detektovane da bi se na osnovu rezultata značajnosti moglo sa sigurnošću tvrditi koje su od izučavanih populacija pod stresom, ili koje su pod značajno većim stresom od ostalih. Slične rezultate su dobili Jari i Kozlov (2001) koji takođe nisu detektovali značajne razlike u fluktuirajućoj asimetriji lista *Betula pubescens* ssp. *czerepanovii* duž gradijenta zagađenja vazduha.

Asimetrija koja se meri samo na jednoj osobini pa samim tim i razlike u asimetrijama posmatrajući pojedinačne osobine, nam mogu dati samo ograničenu količinu informacija o stvarnoj razvojnoj nestabilnosti tj o njenom nivou. Procena razvojne stabilnosti merenjem asimetrije samo jedne osobine je u stvari pokušaj da se proceni varijansa putem samo jedne vrednosti po individui (Van Dongen i sar. 1999, Tucić i Miljković 2010). Posledica ovakve procene je slaba povezanost fluktuirajuće asimetrije i razvojne stabilnosti. Takođe, što se samog izbora osobina za analizu tiče, dokazano je da neke osobine mogu biti stabilnije u reakciji na stres jer su direktno povezane sa fitnesom, te mogu biti neadekvatne kao indikatori stresnog uticaja (Karvonen i sar. 2003).

Nešto drugačija je slika predstavljena višekomponentnim i kompozitnim indeksima. Takođe, u slučaju indeksa FA17 logaritamska transformacija uklanja efekat veličine i omogućava predstavljanje razlike između strana kao proporciju veličine date osobine (Palmer i Strobeck 2003). Kod višekomponentnog indeksa FA17, najveću razvojnu stabilnost pokazuju kao i u prethodnim primerima nezagađene sredine (Banovci i Vršac). Sva tri nezagađena lokaliteta se značajno razlikuju od Kostolca, a Kostolac i Pančevo kao zagađene sredine, imaju najveće vrednosti fluktuirajuće asimetrije. Dakle i u ovom slučaju se Kostolac izdvaja kao lokalitet sa najvećom razvojnom nestabilnošću, a indeks FA17 detektuje i jasnu razliku između Kostolca i Peščare (Vršca i Banovaca), kao i između Pančeva i Vršca i Banovaca. Kontrast između nezagađenih i zagađenih sredina je za ovaj indeks značajan.

Što se kompozitnog indeksa CFA8a tiče, najmanje vrednosti razvojne nestabilnosti imaju tri nezagađene sredine, sve tri se značajno razlikuju od Kostolca, a Vršac i Banovci od Pančeva, što je isti međuodnos kao u prethodnom indeksu. Jedina bitna

razlika je u tome što se na skali veličine fluktuirajuće asimetrije izdvajaju nezagađene i zagađene sredine što je potvrđeno i značajnim kontrastom između njih.

ANOVA za multipne osobine tj Levene-ov test (Levene 1960) je detektovala značajne razlike u nivou fluktuirajuće asimetrije između osobina i individua tj. genotipova u svim lokalitetima, kao i da razlike u fluktuirajućoj asimetriji između osobina zavise od individue. Ovakav rezultat, uz pretpostavku da su mikrosredinska variranja u pojedinačnom lokalitetu slučajna, ukazuje da najverovatnije postoji nasledna razlika u varijabilnosti razvojne nestabilnosti između individua (Leamy 1997, Van Dongen 2000, Fuller i Houle 2003). U slučaju neznačajne interakcije dalje analize heritabilnosti razvojne nestabilnosti, ili korelacije izmeđi razvojne nestabilnosti i fitnesa nisu potrebne. Značajan efekat kao i značajan leptokurtozis reflektuje heterogenost u merama razvojne nestabilnosti između individua tj predstavlja kombinaciju više normalnih distribucija sa istom srednjom vrednošću (Van Dongen 1999, Van Dongen 2006).

Multivarijantnom analizom su takođe detektovane značajne razlike u fluktuirajućoj asimetriji između lokaliteta i osobina za sve lokalitete zajedno, kao i značajna interakcija što govori o tome da razlike u fluktuirajućoj asimetriji između staništa zavise od osobine. Što se efekta lokaliteta tiče, Kostolac je i u ovom slučaju pokazao značajno veće vrednosti fluktuirajuće asimetrije u odnosu na sve lokalitete (sem Pančeva). Osobine su se značajno razlikovale u nivou fluktuirajuće asimetrije gde su osobine merene na drugom nodusu svakog lista pokazale veću razvojnu nestabilnost, međutim, korelacije između njih su pozitivne i značajne. Ako stepen razvojne stabilnosti predstavlja meru opšteg (sredinskog ili genetičkog stresa), asimetrije različitih osobina bi trebalo da su pozitivno korelisane. U većini studija osobine su u korelaciju između karakteristika lista ili karakteristika cveta (Sakai i Shimamoto 1965, Ellstrand 1983, Bagchi i sar. 1989), ali nekorelisane između ove dve grupe osobina (Evans i Marshall 1996). Razlike između vrednosti indeksa asimetrije među različitim osobinama individue su detektovane u nizu studija-kod cvetova i listova Nicotiana tabacum (Sakai i Shimamoto 1965) i Clarkia tembloriensis (Sherry i Lord 1996 a i b), ali i kod listova Lythrum salicaria i Penthorum sedoides (Milligan i Krebs 2008) i cvetova I. pumila (Tucić i Miljković 2010, Miljković 2012). Prema tome, samo razvojno povezane osobine u najvećem broju slučajeva imaju i slične stepene razvojne stabilnosti.

Stabilnost svake strukture zavisi od selekcionog pritiska koji na nju deluje (Mather 1953). Izbor osobina za analize razvojne stabilnosti stoga zavisi od poznavanja biologije same vrste koja se izučava (Freeman i sar. 2005), ali i od vrste samog stresora jer su različite osobine različito osetljive na tipove samog izučavanog uticaja (Roy i Stanton 1999)

U slučaju vrste *Robinia pseudoacacia* i upoređenja većeg broja lokaliteta sa različitim nivoima antropogeno indukovanog stresa analiza monokomponentnih indeksa fluktuirajuće asimetrije se nije pokazala kao pouzdan metod kojim bi se vršila detekcija uticaja zagađenja, tj postojanja pomaka ka povećanju razvojne nestabilnosti u uslovima narušene životne sredine. Međuodnos i povezanost između efekta sredine i razvojne stabilnosti postoji-indeksi fluktuirajuće asimetrije za pojedinačne osobine su značajno različiti između lokaliteta, ali ova povezanost nije dovoljno snažna da bi se jednoznačno i sa sigurnošću mogla koristiti kao metod detekcije.

Multivarijantna analiza tj *Levene*-ov test daje verodostojniji prikaz razlika, a pokazala je i značajan efekat osobine čime se može objasniti zašto su u ovoj analizi bolju moć detekcije pokazali multikomponentni i kompozitni indeksi kao i kontrastna analiza kao što je više puta i dokazano u drugim eksperimentima (Leung i sar. 2000). Naši rezultati ukazuju na to da fluktuirajuća asimetrija jedne osobine ne može odražavati stepen nestabilnosti razvića celog organizma (Polak i Stillabower 2004, Tucić i Miljković 2010). Analize koje kobinuju informacije dobijene merenjem više osobina imaju veću snagu detekcije veze između razvojne stabilnosti, fitnesa i stresa (Leary i Allendorf 1989).

## 5.1.2. Koncentracija teških metala u listu Robinia pseudoacacia

Jedan od načina merenja sredinskog stresa je i direktna kvantifikacija prisutnih zagađivača. U mnogim studijama je pokazano da listovi viših biljaka mogu služiti kao akumulativni monitori za mnoge teške metale. Najveća koncentracija metala se zadržava na površini lista-u kutikuli. Beli bagrem se može smatrati toksitolerantnom

vrstom i kao takav je prisutan u arealima sa visokim zagađenjem vazduha, industrijskim područjima i pored saobraćajnica (Markert 1993).

U ovoj analizi različiti teški metali su nađeni u različitim sredinama i značajne razlike su detektovane između zagađenih i nezagađenih sredina. Tako su najveće koncentracije As, Ni i Pb detektovane u zagađenim lokalitetima. Za Cd nisu detektovane značajne razlike među lokalitetima.

Arsenik se obično u industriji koristi za stabilizaciju legura bakra i olova, kao i u proizvodnji herbicida, pesticida i insekticida, takođe se može naći i na deponijama pepela (Markert 1993). Arsenik je u značajno većoj koncentraciji detektovan u zagađenim lokalitetima-Obrenovcu i Kostolcu, nego u Banovcima, što je i očekivano. U ostalim lokalitetima nije nađen. Ovakvi rezultati se u pitanjima detekcije stresnih uslova sredine za datu vrstu poklapaju sa rezultatima analiza fluktuirajuće asimetrije gde se Kostolac izdvaja kao lokalitet sa najvećom razvojnom nestabilnošću, mada je uopšte povezanost nivoa fluktuirajuće asimetrije i prisustva As je predmet kontroverzi (Polak i sar. 2002). Prisustvo As je detektovano i na mahovinama u okolini Obrenovca (Sabovljević 2005), a u pepelištima na ovom lokalitetu su izmerene povećane koncentracije As za 23-34 puta u odnosu na kontrolu (Kostić i sar. 2012).

Nikl u zemljištu potiče iz raznih izvora-otpadnih voda, industrije, atmosferskih emisija, iz rafinerija i livnica (Hutchinson 1981). U našoj analizi koncentracija ovog elementa je bila najveća u zagađenoj sredini-na Autoputu i značajno se razlikovala od svih ostalih (analiza kontrasta). Slične rezultate je dobila i Pejović (2012) koja je detektovala značajno veće koncentracije Ni u odnosu na ostale ispitivane metale na različitim mernim mestima u Beogradu. Povećanje fluktuirajuće asimetrije kao posledica prisustva Ni u okolini topionica je dokazano za vrste *Betula pubescens* i *Betula pendula* (Kozlov i sar. 1996).

Što se olova tiče, jedan od najvećih izvora jeste upravo saobraćaj tj. sagorevanje fosilnih goriva (Zimdahl i Hasset 1977, Xiong 1998). Osim ovih efekata Pb utiče i na povećanje razvojne nestabilnosti kao što je pokazano na vrsti *Lythrum salicaria* (gde ipak nije detektovan linearni odgovor, Mai i sar. 2002), kao i kod *Drosophila melanogaster* 

(Graham i sar. 1993). I za olovo kao i za nikl najveće i značajno različite (analiza kontrasta) vrednosti u našoj analizi je pokazao lokalitet Autoput.

Koncentracije teških metala-Pb, Cd, ( kao i Zn i Cu)-su se značajno razlikovale između zagađenih i nezagađenih lokaliteta i u analizi listova *R. pseudoacacia* (Aksoy i sar. 2000), kao i kod listova *Elaeagnus angustifolia* (Pb, Cd i Zn) (Aksoy i Sahin 1999). U obe analize su najveće koncentracije teških metala nađene na industrijskim lokalitetima. Slična analiza je rađena i na *I. pumila*-i gde je ispitivan sadržaj Ni i Pb, gde su značajno veće koncentracije nađene u zagađenom lokalitetu (Živković i sar. 2011).

Cd je generalno redak element, ali je zastupljen kako u neorganskim jedinjenjima tako i u otpadnim vodama (Koeppe 1981, Hirt i Shinozaki 2003). Iako detektovan kako u zagađenim (Autoputu i Pančevu), tako i u nezagađenim sredinama (Banovcima i Vršcu) značajne razlike između lokaliteta za ovaj metal nisu pronađene.

Iz navedenih rezultata se može zaključiti da se koncentracija teških metala u značajno većoj količini nalazi u pojedinim zagađenim sredinama što je i očekivano. No ovakav rezultat je dobijen pre svega analizom kontrasta dok *Scheffe*-ov test kao i *Fisher* LSD test nisu dali tako jasne rezultate. Naravno, ovde treba imati u vidu i sinergistički efekat, jer većina zagađenja teškim metalima je multikomponentna te su i njihovi efekti kompleksni.

Analiza koncentracije teških metala pokazuje jasnu diskriminaciju između sredina pod antropogenim uticajem i onih koje to nisu, ali ova analiza zahteva specifične laboratorijske uslove i vreme, kao i finansijska sredstva što može predstavljati ograničavajuću okolnost naročito u svetlu realnog značaja jer je veoma diskutabilno koliko merena koncentracija teških metala pokazuje nivo stresa koji percipiraju same biljke. Takođe, nijedna hemijska analiza ne može pedvideti ni obuhvatiti sve polutante koji mogu imati uticaj na izučavanu populaciju (Butterworth 2000).

# 5.2. Osobine cveta i lista *Iris pumila* u uslovima nenarušene životne sredine i u uslovima antropogeno indukovanog stresa

### 5.2.1. Analiza osobina cveta Iris pumila.

Cvetovi su reproduktivne strukture kod skrivenosemenica i sastoje se od četiri vrste organa-čašice, krunice, prašnika i tučka koji su obično raspoređeni u četiri koncentrična prstena. Ovi organi nastaju od cvetnog meristema, a on nastaje transformacijom apikalnog meristema izdanka. Osnovna razlika između ova dva meristemska tkiva je u tome što je kod cvetnog meristema razvoj konačan i završava se formiranjem cveta, dok apikalni meristem zadržava stem ćelije i produkuje organe tokom života biljke. Osobine cveta su kvantitativne prirode tj pod uticajem većeg broja gena (Conner 2002).

Kod *I. pumila* folovi i standardi predstavljaju tepale (krunične i čaične listiće koji nisu jasno diferencirani) i raspoređeni su u spoljašnji i unutrašnji krug (Tucić i Miljković 2010, Miljković 2012). Morfogeneza ovih cvetnih delova počinje fazom ćelijskih deoba, a zatim sledi faza elongacije. Za izduživanje po glavnoj osi zadužene su apikalne i subapikalne ćelije, a za lateralni rast marginalne i submarginalne. Tučak nastaje savijanjem karpele, tako da se njeni obodi približavaju i uzdužno (adaksijalno) srastaju. (Martin i Gerats 1993, Laitinen i sar. 2007)

Delovi i celina floralne strukture su povezani te arhitektura cveta kao celine može imati uticaj na oblik pojedinih cvetnih organa i *vice-versa*, kako zbog međusobnog uticaja cvetnih organa sa jedne strane, tako i istorijski kroz efekat evolutivnih ograničenja (zarad harmoničnog rasporeda delova u okviru cveta) (Endress 2008).

Smatra se da razvojna nestabilnost može biti povezana sa fitnesom tj prirodnom selekcijom, kao i sa seksualnom selekcijom (Bjorksten i sar. 2000, Clarke 2003, Tomkins 2001, Polak i Stillabower 2004), kao i da je različita od fenotipske plastičnosti (Tarasjev 1995 a i b). Kod biljaka je više puta je dokazano da insekti preferiraju veće i simetričnije cvetove (kod pčela čak više radijalno simetrične nego bilateralno) (Horridge and Zhang 1995, Møller 1995, Giurfa i sar. 1996, Møller i Sorci 1998, Wingall i sar. 2006), što im omogućava da izbegnu cvetove u fazi uvenuća npr. (uz

simultanu detekciju opadanja boje i mirisa cveta). Oblik, veličina i boja cveta su osobine koje su evoluirale kao rezultat interakcija biljke i polinatora (Darwin 1862). Preferencija ka simetričnim cvetovima potencijalno dovodi do seksualne selekcije kod biljaka u slučaju da pojedine biljke pokazuju asortativnu fertilizaciju u zavisnosti od nivoa svoje simetrije (Møller 1995), ali je pitanje da li insekti uopšte mogu detektovati suptilne razlike u simetriji kao što su promene u fluktuirajućoj asimetriji (Wingall i sar. 2006). Neke analize su pokazale da je stepen fluktuirajuće asimetrije kod cvetova koje su oprašivači preferirali manji, a količina nektara veća nego kod susednih cvetova za koje je preferencija bila manja (Møller i Eriksson 1995).

Pretpostavlja se da fluktuirajuća asimetrija kod sekundarnih seksualnih karakteristika životinja predstavlja izuzetno osetljiv indikator jer su ove osobine ornamentalne i nisu uključene u funkcionalne troškove koje sa sobom nosi asimetrija kod drugih vrsta osobina. One su najčešće bile izložene skoroj direkcionoj simetriji koja uglavnom remeti genetičke modifikacije koje u normalnim okolnostima služe za očuvanje simetrije (tj remeti razvojnu homeostazu), a takođe, su osetljive na sredinske uslove te se promene u sredini najpre odraze na njih. Konstatovana je negativna korelacija između stepena fluktuirajuće asimetrije ovih osobina kod životinja i veličine same osobine (Tomkins 2001).

Izbor "partnera" i seksualna selekcija su daleko komplikovaniji u slučaju biljaka koje su sedentarni organizmi i zavise od oprašivača. Cvetovi su takođe pod uticajem snažne direkcione selekcije i što dovodi do redukcije regulatornih mehanizama, a ovo opet može dovesti do povećane fluktuirajuće asimetrije (Møller 1995). Cvetni organi treba da privuku polinatore i cena njihove produkcije i održavanja je velika pre svega u svetlu količine potrebnog tkiva i vremena neophodnog za morfogenezu. Pretpostavlja se da je ovo manje opterećenje za individue "visokog kvaliteta" (Willson 1991, Moller 2000), te će samo "visokokvalitetne" individue biti u stanju da produkuju kako cvetove krupnih cvetnih delova, tako i simetrične (Møller i Pomiankowski 1994). Ovim odnosom se objašnjava negativan međuodnos stepena fluktuirajuće asimetrije i veličine cveta (Møller i Eriksson 1995).

Veći broj autora je takođe detektovao razliku u asimetriji floralnih u odnosu na vegetativne organe gde su cvetni delovi pokazali veću razvojnu stabilnost tj. manju

osetljivost na stres (Jennions 1996, Evans i Marshall 1996, Møller i Shykoff 1999, Alados i sar. 2001, Brock i Weining 2007).

Razvojna stabilnost cveta se može proceniti analizom asimetrije, kako fluktuirajuće, tako i radijalne. (Graham i sar. 2010).

Vrednosti morfološkihosobina (dužine i širine fola, kao i dužine stigme) su bile značajno veće u nezagađenoj sredini (Peščari). Ovakav rezultat odgovara pretpostavci da biljke u uslovima stresa produkuju manje cvetove (Bijlsma i Loeschcke 1997, Hoffman i Parsons 1997, Bijlsma i Loeschcke 2005) i zapažen je na istoj vrsti kod Tucić i Miljković (2010), gde su veće vrednosti merenih osobina detektovane u manje stresnoj sredini (zasenčenom habitatu). Osim sredinskih uslova na veličinu cvetnih organa može uticati i stepen percepcije cveta od strane polinatora. Od veličine cveta zavisi maksimalna udaljenost sa koje polinator uočava dati cvet, što je cvet veći, veća je i distanca (Menzel i sar. 1997, Ne'eman i Kevin 2001).

### 5.2.1.1. Radijalna asimetrija cveta Iris pumila

Svi koeficijenti za pojedinačne osobine (SD i CV) kojima smo procenjivali razvojnu stabilnost cveta su pokazali isti patern razlika između sredina- procenjena asimetrija bila je veća kod biljaka u antropogeno degradiranoj sredini (Put Beograd-Novi Sad, za sve osobine sem SD dužine stigme). Dakle i osobine fola-kao strukture perijanta i osobine stigme-kao dela tučka, su se poklapale u odgovoru na zagađenje.

Višekomponentni indeksi daju još jasniju sliku i takođe pokazuju značajno veće vrednosti u zagađenoj sredini kako za MCSD, tako i za MCCV.

Analize varijanse na multipnim osobinama detektuju značajne razlike između klonova, kao i razliku u razvojnoj stabilnosti između osobina. Najveću radijalnu asimetriju za SD indeks pokazuju dužine cvetnih delova, a za CV indeks širine. I pored ovih razlika korelacije između radijalne asimetrije za većinu osobina su pozitivne i značajne. Ova analiza je otkrila i razliku između osobina u zavisnosti od individue, i osobina u zavisnosti od lokaliteta. Pošto ekspresija razlika u radijalnoj asimetriji između ispitivanih osobina zavisi od klona tj. individue najverovatnije postoji heritabilna razlika u varijabilnosti razvojne nestabilnosti između individua (Leamy 1997, Van Dongen

2000, Fuller i Houle 2003). Takođe, druga interakcija govori o tome da razlika između lokaliteta zavisi od osobine.

#### 5.2.1.2. Fluktuirajuća asimetrija cveta *Iris pumila*

Slično kao i kod procene radijalne asimetrije, fluktuirajuća asimetrija kvantifikovana kako indeksima za pojedinačne osobine (FA1, FA2, FA8a i FA10a), tako i multikomponentnim (FA17) i kompozitnim indeksima (CFA8a) pokazuje isti paternznačajno veće vrednosti razvojne nestabilnosti isključivo u zagađenoj sredini.

Za razliku od naše analize-kod Tucić i Miljković (2010) indeksi FA1 i FA8a nisu pokazali značajnu razliku između habitata (otvorenog i zasenčenog), dok je FA17 detektovao veću razvojnu nestabilnost za su biljke sa otvorenog staništa u odnosu na zasenčeno stanište. Takođe, fluktuirajuća asimetrija stigme je bila veća od fluktuirajuće asimetrije fola i standarda za indeks FA8a. U našoj analizi ovaj smer razlika je obrnut za FA8a, ali pošto je greška merenja kod fola značajno veća od one kod stigme, kod indeksa FA10a gde je greška uklonjena fluktuirajuća asimetrija stigme postaje veća od fluktuirajuće asimetrije fola. Ovakve razlike u razvojnoj nestabilnosti između osobina cveta se mogu objasniti različitim oblicima selekcionih pritisaka koji deluju na svaku od ovih osobina (Galen 1989, Møller i Sorci 1998, Møller 2000, Wingal i sar. 2006).

Analize varijanse na multipnim osobinama detektuju značajne razlike između klonova, razliku u razvojnoj stabilnosti između osobina, kao i razliku između osobina u zavisnosti od individue, ali ne i razliku u osobinama u zavisnosti od lokaliteta. Isto kao i kod radijalne asimetrije i ovde najverovatnije postoji heritabilna razlika u varijabilnosti razvojne nestabilnosti između individua (Leamy 1997, Van Dongen 2000, Fuller i Houle 2003). Fluktuirajuća asimetrija fola je bila značajno veća od fluktuirajuće asimetrije stigme, ali korelacija između indeksa FA8a ovih osobina je značajna i pozitivna. Razlike između između osobina u razvojnoj stabilnosti kao i klon x osobina interakcija su detektovane u studijama na istoj vrsti kod Tucić i Miljković(2010).

### 5.2.2. Analiza osobina lista Iris pumila

#### 5.2.2.1. Koncentracija fotosintetičkih pigmenata

Proces fotosinteze se može smatrati globalnim senzorom sredinskog stresa koji dovodi do ćelijskog energetskog disbalansa što se manifestuje u promenama reakcija koje se odvijaju na tilakoidnim membranama hloroplasta. Uticaj stresa se detektuje promenama u koncentraciji pigmenata, strukturnoj organizaciji, fotohemijskim reakcijama i fiksaciji ugljen dioksida (Allakhverdiev i sar. 2008, Lawlor 2009, Wakao i sar. 2009), pri čemu se fotosistem I smatra manje osetljivim od fotosistema II (Biswal i sar. 2011).

Glavni fotosintetički pigment je hlorofil a dok su ostali pomoćni fotosintetički pigmenti. U uslovima pune osvetljenosti koncentracija hlorofila a je veća od hlorofila b dok se u senci ovaj odnos menja. Pri stresu dolazi do kvantitativnog smanjenja fotosintetičkih pigmenata, diferencijalnih promena hlorofila a i hlorofila b, kao i karotenoida i ksantofila (Biswal i sar. 2011). Koncentracija hlorofila više opada nego koncentracija karotenoida, a hlorofila b više nego hlorofila a pa zato odnos ova dva hlorofila raste u stresnoj sredini (Ricks i Williams 1975).

Koncentracija hlorofila a, hlorofila b, ukupnog hlorofila, karotenoida, kao i odnos hlorofila a i karotenoida u listu *I. pumila* je bio značajno manji u uslovima antropogeno indukovanog stresa tj. u zagađenoj sredini, dok je odnos hlorofila a i hlorofila b u ovoj sredini veći, kao što je i očekivano.

Karotenoidi su fotoprotektivni pigmenti te se odnos hlorofila a i karotenoida menja u korist poslednjih u uslovima stresa. Koncentracija hlorofila a se smanjuje, kao i odnos hlorofila a i karotenoida, a koncentracija karotenoida povećava npr. pri tretmanu sulfosatom na biljkama kukuruza (Nikolić i sar. 2005). Takođe i kod vrsta *Picea abies*, *Hordeum distichon, Medicago sativa* i *Beta vulgaris* dolazi do smanjenja koncentracije hlorofila pod uslovima zagađenja vazduha (Rabe i Kreeb 1980), kao i kod listova vrsta *Tamarix tentandra, Populus alba, Robinia pseudoacacia* i *Amorpha fruticosa* na pepelištima u okolini termoelektrana gde se obrazac promene koncentracija razlikuje između vrsta (Kostić i sar. 2012).

Međutim indikacija stresnog uticaja putem analize sadržaja fotosintetičkih pigmenata nije uvek indikativna jer opadanje vlažnosti zemljišta (Yan i sar. 2011) kao i prisustvo As npr. može dovesti do povećanja koncentracija hlorofila (Paivoke i Simola 2001). Takođe, promene u fotosintezi opisuju neposredne promene u sredini tj. one koje su se desile u kratkom vremenskom intervalu i moguće samo u neposrednoj okolini biljke koja se izučava (Freeman i sar. 2004b)

# 5.3. Osobine cveta *Iris germanica* u uslovima nenarušene životne sredine i u uslovima antropogeno indukovanog stresa

"Cvet je konačna, kompresovana, biseksualna, reproduktivna osa sastavljana od megasporangija (karpela), mikrosporangija (prašnika) i sterilnog perijanta sastavljenog od makar jednog organa" (Theissen i Melzer 2007).

Građa cveta *I. germanica* je komplementarna građi cveta *I. pumila*-folovi i standardi predstavljaju tepale (nedefinisane krunične i čašične listiće) i raspoređeni su u spoljašnji i unutrašnji krug perijanta. Svaki cvet se sastoji od tri polinatorske jedinice sastavljene od od fola sa donje strane i stigme i prašnika sa gornje. Sistem genetičke kontrole morfogeneze cveta je sličan za monokotile i dikotile (Prunet i sar. 2009) i predstavljaju ga četiri klase regulatornih gena koji determinišu proizvodnju regulacionih faktora-tzv. ABC model ili model floralnog kvarteta. Klasa E determiniše identitet svih ograna cveta, krunični i čašični listići su pod kontrolom A i B klase, prašnika B i C, dok je formiranje tučka pod kontrolom C klase regulatornih gena (Krizek i Fletcher 2005, Laitinen i sar. 2007, Theissen i Melzer 2007). Ovakva kontrola razvića se može ekstrapolirati i na druge vrste, jedino uloga klase A gena ostaje pod znakom pitanja (Ferrario i sar. 2004).

Za razliku od *I. pumila* vrednosti morfoloških osobina, (dužine i širine fola), kod *I. germanica* su pokazale suprotan smer odnosa veličina u zavisnosti od zagađenja, tačnije, značajno veće vrednosti osobina su imale biljke poreklom sa zagađenog lokaliteta (Beograd).

#### 5.3.1. Radijalna asimetrija cveta Iris germanica

Indeksi radijalne asimetrije za pojedinačne osobine - u slučaju diskriminacije između nezagađenih sredina i zagađene sredine - su u detektovali veću razvojnu nestabilnost u zagađenoj sredini (za sve indekse sem za CV širine fola). Ali kada smo posmatrali pojedinačne lokalitete diskriminacija je bila nešto slabija, imala je isti patern, ali značajnost samo u slučaju SD i CV širine fola.

Kod višekomponentnih indeksa (MCSD i MCCV) gde značajno veća razvojna nestabilnost detektuje u zagađenoj sredini u odnosu na nezagađene, ali ne i u lokalitetu Beograd kada se uporedi pojedinačno sa druga dva nezagađena lokaliteta (ovde se značajna razlika javlja samo između Beograda i Banovaca).

Analize multipnih osobina pokazuju da su se individue i osobine međusobno razlikovale nezavisno od lokaliteta, kao i da razlika u osobinama zavisi od individue. Pošto i u slučaju ove vrste ekspresija razlika u radijalnoj asimetriji između ispitivanih osobina zavisi od individue i ovde najverovatnije postoji heritabilna razlika u varijabilnosti razvojne nestabilnosti između individua (Leamy 1997, Van Dongen 2000, Fuller i Houle 2003). Širina fola je pokazala značajno veće vrednosti radijalne asimetrije u odnosu na dužinu za oba indeksa, ali su ove dve osobine bile i značajno pozitivno korelisane. Prema tome i kod ove vrste i razvojna stabilnost izučavanih osobina cveta predstavlja meru opšteg stresa. Efekat zagađenja je bio značajan samo u slučaju SD indeksa, gde je veća razvojna nestabilnost bila u zagađenoj sredini, dok su se lokaliteti razlikovali u zavisnosti od osobine samo za CV indeks.

U ovoj analizi treba imati u vidu da su merene osobine jednog dela cveta tj cvetnog organa i da je njihova morfogeneza kao takva povezana pa je samim tim i diskriminacija putem samo ove dve osobine ograničene osetljivosti.

### 5.3.2. Fluktuirajuća asimetrija cveta Iris germanica

Ni jedan od indeksa fluktuirajuće asimetrije za pojedinačne osobine nije uspeo da detektuje razlike između zagađene i nezagađenih sredina ako se one posmatraju zajedno. Isto tako, upoređenje pojedinačnih lokaliteta nije ni u jednom slučaju detektovalo značajno veću razvojnu nestabilnost u lokalitetu Beograd.

Kod vrste *I. germanica* veću osetljivost na sredinski stres pokazuje radijalna asimetrija cveta u odnosu na fluktuirajuću asimetriju cvetnih delova. Jedna od pretpostavki može biti peferencija oprašivača ka simetričnijim polinatorskim jedinicama, pre nego ka simetričnom cvetu u celini. Ova preferencija inače zavisi kako od polinatora, tako i od biljne vrste. Razvojna stabilnost cveta je od izuzetne važnosti za biljke jer direktno utiče na fitnes individue (Alados i sar. 2001, Aldos i sar. 2002).

# 5.4. Odgovor različitih biljnih vrsta na antropogeno uzrokovani stres (zagađenje u industrijskim i urbanim zonama)

Stabilnost razvića osobina lista R. pseudoacacia, kao i osobina cveta I. pumila i I. germanica, kvantifikovana u uslovima nenarušene sredine i uslovima antropogeno izazvanog stresa se razlikovala kako u zavisnosti od vrste, individue (klona), metode procene nestabilnosti, tako i u zavisnosti od osobine i samog efekta izučavane sredine. Kod sve tri vrste abiotički uslovi staništa su uticali na stabilnost razvića, ali u različitoj meri. Kao vrsta najpogodnija za detekciju antropogeno uzrokovanog stresa (zagađenja u industrijskim i urbanim zonama) putem analize stepena razvojne stabilnosti se pokazala vrsta *I. pumila* u odnosu na drugu vrsti istog roda, *I. germanica*, kao i u odnosu na R. pseudocacia-u. Kod patuljastog irisa su sve merene osobine pokazale veći nivo razvojne nestabilnosti kako kod radijalne, tako i kod fluktuirajuće asimetrije. Beli bagrem je vrsta koja se i inače koristi za pošumljavanje devastiranih i na različite načine degradiranih područja (Zeleznik i Skousen 1996, Chang-Seok i sar. 2003), te kao takva najverovatnije ima stabilnije razviće u uslovima zagađene sredine nego što bi to bio slučaj sa nekom drugom manje prilagodljivom vrstom, pa se možda i iz tog razloga nije u ovoj analizi pokazala kao dobar bioindikator. Kako populacije postaju adaptirane na određeni stres, asimetrija kao odgovor na taj stres postepeno nestaje (Clarke i McKenzie 1987, McKenzie i O'Farrell 1994) i simetrija se vraća u normalu. Te neki stresori ne utiču na stabilnost razvića iako utiču na rast (Anne i sar. 1998).

antropogenim uticajem u slučaju detekcije putem analize radijalne i fluktuirajuće asimetrije ispitivanih osobina. Nevezano za tip analize, značajno veća razvojna nestabilnost je detektovana u zagađenoj sredini. Za razliku od ove vrste osobine cveta I. germanica su pokazale značajan odgovor na uslove antropogenog stresa samo u slučaju radijalne asimetrije. Jedna sveobuhvatna analiza 21 rada na insekatskoj familiji Diopsidae pokazala je da je jedna trećina analiza potvrdila povezanost (porast) fluktuirajuće asimetrije sa porastom stresa, jedna trećina isto povećanje, ali specifično za merenu osobinu i dati stres dok preostala trećina nije detektovala nikakvu povezanost (Bjorksten i sar. 2000). Objašnjenja ovakvih rezultata su veoma oskudna. Jedna od pretpostavki je da određene grupe osobina i organizama pokazuju veću povezanost asimetrije i stresa, ili asimetrije i fitnesa nego druge. Ovo se generalno odnosi na osobine podložne seksualnoj selekciji u odnosu na one koje to nisu (Møller 1993, Manning i Chamberlain 1994, Hill 1995, Bjorksten i sar. 2000, Clarke 2003), osobine bitne za perfomanse organizma u odnosu na one koje to nisu (Palmer 1994), ili pojkiloterme u odnosu na homeoterme kod životinja (Wooten i Smith 1986, Novak i sar. 1993).

Takođe se pretpostavlja da kod nekih vrsta i populacija jedinke podložne promenama u razvojnoj stabilnosti (dakle one kod kojih dolazi do promena u simetriji) bivaju eliminisane iz populacije (Møller 1997). Ako jedinke sa većim stepenom nestabilnosti nestanu iz populacije-paterni razvojne stabilnosti će biti izmenjeni što je i potvrđeno u eksperimentu Polaka i sar. (2002) o uticaju As na fluktuirajuću asimetriju i fitnes kod *D. melanogaster*. Ovo može biti i objašnjenje zašto se u nekim slučajevima kod realnih i ekstremnih stresnih uslova razlike u fluktuirajućoj asimetriji između stresnih i optimalnih sredina ne detektuju (Van Dongen i sar. 2001, Stige i sar. 2004).

Što se karakteristika samih ispitivanih lokaliteta tiče, moramo imati u vidu da kada govorimo o antropogeno degradiranim sredinama u odnosu na one koje, u načelu, to nisu, u stvari, govorimo o skupu različitih faktora (Rasmunson 2002). Svaki od ovih faktora nema jednak i uniforman uticaj na razvojnu stabilnost. Polak i sar. (2004) su npr. pokazali da kod zajedničkog uticaja prisustva Pb i nepovoljne temperature postoji značajna interakcija pri čemu su povećane koncentracije Pb umanjile efekat suboptimalnih temperatura. Takođe kod *Quercus pyrenaica* (Puerta-Pinero i sar. 2009), klijanci koji su bili izloženi svetlosnom stresu su u isto vreme bili podložniji stresu zbog

efekta herbivora, dok to nije bio slučaj kod jedinki koje nisu bile pod svetlosnim stresom. Rezultati ovog teze se poklapaju sa teorijom da su organizmi pod uticajem jednog stresa u isto vreme podložniji uticaju drugih vrsta stresa (Hoffmann i Parsons 1994). Prema tome, komponente kompleksnih stresnih uslova utiču na fluktuirajuću asimetriju na nepredvidiv i neaditivan način. Prema Mittler-u (2006) kombinacija dva ili više tipova stresa nije suma njihovih individualnih efekata, već novi oblik abiotičkog stresa koji uzrokuje jedinstveni molekularni i metabolički odgovor, što se, pre svega, odnosi na eksperimente kao što je naš gde se merenja vrše na organizmima u nekontrolisanim sredinskim uslovima. Ovo može biti jedno od objašnjenja zašto u slučaju fluktuirajuće asimetrije lista *R. pseudoacacia*, kao i cveta *I. germanica* nismo detektovali očekivane razlike u uticaju sredina sa različitim stepenom zagađenja na razvojnu stabilnost. Ovaj deo problematike može biti rešen korišćenjem drugačijih eksperimentalnih pristupa gde se razvojna stabilnost jedinki neke vrste u prirodnim uslovima sredine, upoređuje sa individuama iste vrste pod kontrolisanim (laboratorijskim) uslovima (Pertoldi i sar. 2001).

Što se tiče značajnih razlika između osobina u nivou fluktuirajuće asimetrije koje su detektovane kod sve tri vrste najpreporučljivije je koristiti multikomponentne i kompozitne indekse koji obuhvataju više osobina i mogu bolje detektovati razlike na nivou individue ti populacije od onih koji se odnose na pojedinačne osobine. Najpreciznija procena razvojne stabilnosti se, dakle, dobija puliranjem mera fluktuirajuće asimetrije za veći broj osobina po individui, ali ove osobine moraju imati sličnu funkciju jer na različite osobine mogu delovati različiti selekcioni pritisci te se tada ne mora detektovati pozitivna korelacija između njihovih fluktuirajućih asimetrija (Tomkins 2001). Neke osobine mogu biti više 'amortizovane' u reakciji na stres jer su direktno povezane sa adaptivnom vrednošću. Smatra se da će se resursi nekog organizma u uslovima stresa usmeriti prvo na očuvanje stabilnosti funkcionalno važnih osobina (Karvonen i sar. 2003). Razlike između osobina koje se razvijaju u različito vreme takođe mogu nastati kao posledica različitih uticaja u tim vremenskim intervalima. Kompozitni i multikomponentni indeksi imaju smisla ako su osobine podjednako osetljive na stres, u suprotnom, sigurnije je koristiti mixed model ANOVA-e gde se mere osobina jedne individue smatraju ponovljenim merenjima za tu individuu (Karvonen i sar. 2003, Van Dongen 2005). Dakle, fluktuirajuća i radijalna asimetrija jedne osobine ne može precizno odražavati stepen nestabilnosti razvića celog organizma (Polak i Stillabower 2004). Takođe, fluktuirajuća asimetrija je kod nekih vrsta više korelisana sa osobinama vegetativnih organa (Jennions 1996, Evans i Marshall 1996, Moller i Shykoff 1999, Aldos i sar. 2001, Brock i Weining 2007), dok kod drugih nema razlike (Hochwender i Fritz 1999, Perfectti i Camacho 1999, Pelabon i sar. 2004). Pre svake analize neophodno je izučiti model sistem i razvojne stabilnosti njegovih vegetativnih i reproduktivnih osobina kako bi se izabrala vrsta i osobine te vrste koje najbolje mogu detektovati razlike. Fluktuirajuća asimetrija i stres su kod nekih vrsta i osobina međusobno povezani, dok kod drugih to nije slučaj

Prirodne populacije se sastoje od velikog broja genetički različitih jedinki koje naseljavaju sredine koje su opet prostorno i vremenski heterogene (Stearns 1992). Jedinke iz iste populacije mogu imati različite nivoe razvojne nestabilnosti (Van Dongen 1999). U našem eksperimentu smo i detektovali značajne razlike između individua tj. klonova za sve tri vrste. Ove razlike mogu biti problem u detekciji razlika između lokaliteta tj. detekciji intenziteta stresnog uticaja koje biljke percipiraju. Problem se može rešiti drugačijim metodama monitoringa kao što je sukcesivno praćenje razvojne stabilnosti jedinki neke vrste na istom lokalitetu tj. kontinuiranim monitoringom, kao i korišćenjem genetički identičnih jedinki tj. monoklonalnih linija kako bi se uklonila genetička varijabilnost (Pertoldi i sar. 2001). Neophodno je odvojiti i kvantifikovati efekte kako gena tako i sredine, kao i njihove interakcije za odgovor na stres. Prema tome, nedostaci merenja fluktuirajuće asimetrije kao mere stresa mogu biti umanjeni korišćenjem monoklonalnih linija i uklanjanjem genetičke varijabilnosti (Whitlock i Fowler 1997). Prema tome-najbolje sagledavanje sredinskih promena a samim tim i stresa preko fenotipskih promena tj fluktuirajuće asimetrije je kada iz fenotipske varijabilnosti koju detektujemo isključimo genetičku komponentu i to kako međuindividualnu tj genetičku varijabilnost u fluktuirajućoj asimetriji među jedinkama, tako i unutarindividualnu tj heritabilnost fluktuirajuće asimetrije (Van Dongen 1999).

Postavlja se takođe pitanje praga tj. koliki treba da bude uticaj određenog faktora da bi doveo do promene koja se može detektovati metodama analize fluktuirajuće i radijalne asimetrije, kao i kolike te promene treba da budu da bi se moglo tvrditi da se populacija nalazi pod značajnim stresom (Palmer 1996).

Stres utiče na razvoj bilateralnih osobina na dva načina povećanjem razvojnog šuma i smanjenjem nivoa razvojne stabilnosti (Klingenberg i Nijhout 1999, Klingenberg 2001). Pošto su osnove oba ova procesa za sada nepotpuno razjašnjene, nejasno je i da li isti ili različiti tipovi stresa utiču na jedan ili drugi tip kontrole (Palmer 1996). Nivoi razvojne buke i razvojne stabilnosti kao dva različita procesa se posmatraju zajedno u analizama fluktuirajuće asimetrije. Pri dejstvu nekog stresa smanjuje se sposobnost razvojnog programa da se odupre promenama ili sposobnost da se oporavi od već nastalih promena (Freeman i sar. 2005). Protein koji ima značajnu ulogu u ekspresiji razvojne nestabilnosti organizma je HSP90 (heat shock protein). Od ovog proteina zavisi kapacitet morfološke varijacije (Rutherford i Lindquist 1998). Kod vrste Arabidopsis razvojna nestabilnost se povećava kada je ovaj protein blokiran (Queitsch i sar. 2002), dok kod Drosophila-e veza između HSP90 i razvojne stabilnosti nije nađena (Milton i sar. 2003). Kod I. pumila su zapažene značajne promene u HSP90 kao i HSP70 u zavisnosti od abiotičkog stresa. HSP70 je imao značajno više koncentracije kod biljaka sa otvorenih (stresnih ) staništa, dok je situacija sa HSP90 bila obrnuta (Manitašević i sar. 2007).

Možemo zaključiti da iako je povezanost asimetrije, fitnesa, razvojne stabilnosti i stresa neosporna, fluktuirajuća asimetrija ne detektuje uvek ove odnose, tj. uzročno-posledični efekat na svim vrstama i svim osobinama, konzistentno bilo zato što je ova povezanost realno slaba i nejednoznačna, bilo zbog drugih navedenih razloga (Lens i sar. 2001, Polak i sar. 2002). U odnosu na druge testove procena razvojne nestabilnosti ima sledeće negativne karakteristike-nisku ponovljivost i veliku varijabilnost u odgovorima unutar populacija i između eksperimenata (Woods 1999). Povezanost fluktuirajuće asimetrije i niza abiotičkih, biotičkih i genetičkih stresora varira u svojoj jačini i između vrsta, osobina, individua, kao i u zavisnosti od tipa samog stresa (Leary i Allendorf 1989, Palmer i Strobeck 1992, Parsons 1990, 1992, Polak i Trivers 1994). Dodatni problem je nepoznavanje samih mehanizama, tj uzroka razvojne stabilnosti (Polak 2003, Klingenberg 2003), kao i prisustvo razvojne selekcije što u nekim slučajevima maskira odnos asimetrije i stresa (Polak i sar. 2002). Takođe, svi uzorci sa pojedinačnih lokaliteta kod sve tri vrste su sakupljani u pojedinačnim godinama. Analize fluktuirajuće asimetrije koje prate neku populaciju tokom većeg broja godina imaju više

šanse da detektuju značajne razlike jer se faktori uticaja na izučavane populacije (kako poznati tako i nepoznati) menjaju (Freeman i sar. 2004a).

Budući eksperimenti bi trebalo da uključe više funkcionalno povezanih osobina na vrstama gde su u preliminarnim istraživanjima detektovane jasne uzročno-posledične veze između izučavanog stresa i efekta tj povećanja nivoa fluktuirajuće (tj radijalne asimetrije) asimetrije.

## 6. Zaključci

U ovom radu smo ispitivali mogućnosti korišćenja analiza fluktuirajuće i radijalne asimetrije kao pokazatelja stabilnosti razvića vegetativnih i reproduktivnih organa kod dve zeljaste monokotile (*Iris pumila* i *Iris germanica*) i jedne drvenaste dikotile (*Robinia pseudoacacia*), u uslovima nenarušene životne sredine i u uslovima antropogeno uzrokovanog stresa (zagađenja u industrijskim i urbanim zonama). Takođe smo analizirali mogućnosti korišćenja ovih analiza kao primarnih indikatora zagađenja u sredinama sa negativnim antropogenim uticajem, kao i prednosti i mane ovog i nekih konvencionalnih metoda detekcije zagađenja.

Na osnovu rezultata istraživanja došli smo do sledećih zaključaka:

Veličina i obrazac stabilnosti razvića procenjenih putem analize asimetrije (fluktuirajuće i radijalne) se razlikuju između izučavanih sredina u slučaju sve tri vrste. Kod R. pseudoacacia efekat lokaliteta je bio značajan za sve indekse, a kao sredina sa najvećim stepenom razvojne nestabilnosti se izdvojio Kostolac, mada razlike između zagađenih (Pančevo, Kostolac, Obrenovac, Autoput) i nezagađenih (Vršac, Banovci, Peščara) sredina nisu bile jednoznačne kod svih indeksa. Kod vrste I. pumila značajna je bila razlika između zagađene i nezagađene sredine (Puta Beograd-Novi Sad i Peščare), gde su biljke poreklom iz sredine pod antropogenim uticajem pokazale veću razvojnu nestabilnost kako u slučaju fluktuirajuće asimetrije, tako i u slučaju radijalne asimetrije. Kod I. germanica situacija je bila nešto drugačija-detektovane su značajne razlike kako između zagađenja (grupa zagađenih i nezagađenih lokaliteta), tako i između samih pojedinačnih lokaliteta, ali samo u slučaju indeksa radijalne asimetrije su biljke poreklom sa zagađenog staništa (Beograd) pokazale značajno veću razvojnu nestabilnost od biljaka poreklom sa oba nezagađena staništa (Banovci i Belegiš).

- Detekcija razlika između sredina je zavisila od primenjenog indeksa kojim se vršila procena razvojne stabilnosti. Kod listova R. pseudoacacia razlika između zagađenih i nezagađenih lokaliteta u razvojnoj stabilnosti u slučaju indeksa za pojedinačne osobine (FA1, FA2, FA8a i FA10a) sa najvećom sigurnošću se može utvrditi jedino pomoću analize kontrasta dok su indeksi za pojedinačne osobine detektovali razlike samo za one lokalitete sa najvećom i najnižom vrednošću fluktuirajuće asimetrije. Kod ove vrste su se bolji u detekciji razlika između alternativnih sredina pokazali multikomponentni i kompozitni indeksi (FA17 i CFA8a) kao i multivarijantna analiza. Kod cveta *I pumila* svi analizirani indeksi kako za pojedinačne osobine tako i višekomponentni i kompozitni indeksi, pa i multivarijantna analiza i u slučaju radijalne i u slučaju fluktuirajuće su pokazali isti obrazac-značajne razlike, tj. veću procenjenu asimetrije razvojnu nestabilnost u zagađenoj sredini. Kod cveta I. germanica, indeksi radijalne asimetrije za pojedinačne osobine-u slučaju diskriminacije između nezagađenih sredina i zagađene sredine-detektuju značajno veću razvojnu nestabilnost u zagađenoj sredini. Što se tiče fluktuirajuće asimetrije nijedan od indeksa za pojedinačne osobine nije detektovao razliku između zagađene i nezagađenih sredina, kao ni značajno veću razvojnu nestabilnost u zagađenom lokalitetu (Beograd) u odnosu na preostala dva nezagađena lokaliteta (Banovce i Belegiš).
- U našem eksperimentu u analizama za multipne osobine kod sve tri vrste su
  detektovane značajne razlike između izučavanih individua i osobina u nivou
  razvojne stabilnosti. Ali iako se osobine značajno razlikuju u razvojnoj
  stabilnosti njihove međusobne korelacije kod sve tri vrste su u većini slučajeva
  značajne i pozitivne.
- Kod sve tri vrste je utvrđena i značajna interakcija individue i osobine, tj da ekspresija razlika u fluktuirajućoj i radijalnoj asimetriji između ispitivanih osobina zavisi od klona tj. individue. Slično je i za interakciju lokaliteta i osobine koja je bila značajna u slučaju analize fluktuirajuće asimetrije kod R.

pseudoacacia, analize radijalne asimetrije kod *I. pumila* i kod *I. germanica* (alli samo u slučaju CV), dok interakcija zagađenja i osobine kod *I. germanica* nije bila značajna. Ovo znači da su se različite osobine sve tri vrste razlikovale u stepenu detekcije razlika između lokaliteta.

- Prosečne vrednosti morfoloških osobina se značajno razlikuju između lokaliteta kod sve tri vrste pri čemu su kod R. pseudoacacia i I. pumila veće vrednosti detektovane u nezagađenim lokalitetima, dok je kod I. germanica situacija obrnuta.
- Koncentracija hlorofila a, hlorofila b, ukupnog hlorofila, karotenoida, kao i odnos hlorofila a i karotenoida u listu *I. pumila* je bio značajno manji u uslovima antropogeno indukovanog stresa tj. u zagađenoj sredini (lokalitet Beograd), dok je odnos hlorofila a i hlorofila b u ovoj sredini bio veći u odnosu na nezagađenu sredinu (lokalitet Peščara).
- Što se tiče analize koncentracije teških metala u listu *R. pseudoacacia*, različiti teški metali su nađeni u različitim sredinama i značajne razlike su detektovane između zagađenih i nezagađenih sredina. Arsenik je u značajno većoj koncentraciji detektovan u zagađenim lokalitetima-Obrenovcu i Kostolcu, a olovo i nikl na lokalitetu Autoput, dok za Cd nisu detektovane značajne razlike.
- Analiza koncentracije teških metala pokazuje jasnu diskriminaciju između sredina pod antropogenim uticajem i onih koje to nisu ali, ova analiza zahteva specifične laboratorijske uslove i vreme, kao i finansijska sredstva što može predstavljati ograničavajuću okolnost naročito u svetlu realnog značaja jer je veoma diskutabilno koliko samo merena koncentracija teških metala pokazuje nivo stresa koji percipiraju same biljke. Što se tiče određivanja koncentracije fotosintetičkih pigmenata njihova analiza takođe zahteva ili određene laboratorijske uslove, ili specifične merne aparate. Sem toga za koncentracije pigmenata se smatra da odražavaju mikrosredinska variranja, kao i promene u kraćim vremenskim intervalima. Sa druge strane analiza razvojne stabilnosti se

razlikuje se od drugih metoda jer se može jednostavno primeniti na sve taksone, ne zahteva posebne laboratorijske i druge preduslove i ispituje već unapred poznat optimum tj. simetriju kao takvu, ali u isto vreme stepen diskriminacije koji daje ova metoda zavisi od niza faktora (vrste, osobine, tipa ispitivanog stresa, metoda kvantifikacije itd.) te je pre njene primene neophodno poznavati kako biologiju vrste, tako i karakteristike izučavanog stresnog uticaja.

- Možemo zaključiti da iako je povezanost asimetrije, razvojne stabilnosti i stresa neosporna, analize radijalne i fluktuirajuće asimetrije ne detektuju uvek ove odnose, tj. uzročno-posledični efekat na svim vrstama i svim osobinama, jednoznačno, da bi se na osnovu ovih razlika moglo sa sigurnošću tvrditi da li je izučavana populacija pod stresom ili ne. Najpreciznije su se pokazale analize radijalne i fluktuirajuće asimetrije koje su uključivale više osobina tj. multikomponentni i kompozitni indeksi, kao i multivarijantne analize koji mogu bolje detektovati razlike na nivou individue tj populacije. Sve analize koje se zasnivaju samo na jednoj osobini su ograničene osetljivosti.
- Kod sve tri vrste abiotički uslovi staništa su uticali na stabilnost razvića, ali u različitoj meri. Kao vrsta najpogodnija za detekciju antropogeno uzrokovanog stresa (zagađenja u industrijskim i urbanim zonama), putem analize stepena razvojne stabilnosti se pokazala vrsta *I. pumila* u odnosu na drugu vrstu istog roda, *I. germanica*, kao i u odnosu na vrstu *R. pseudocacia*.

### 7. Literatura

- Adedeji O. B., P. O. Okerentugba and I. O. Okonko. 2012. Use of Molecular, biochemical and Cellular Biomarkers in Monitoring Environmental and Aquatic Pollution. Nature and Science. 10(9): 83-104
- Ahmad. P and M. N. V. Prasad. 2012. Abiotic stress responses in plants. Springer
- Aksoy A. and U. Fahin. 1999. *Elaeagnus angustifolia* L. as a biomonitor of heavy metal pollution. Tr. J. of Botany. 23: 83-87
- Aksoy A., U. Sahn and F. Duman. 2000. *Robinia pseudoacacia* L. as a Posssible Biomonitor of Heavy Metal Pollution in Kayseri Turk. J Bot. 2: 279-284
- Alados C. L., T. Navarro, J. Esco, B. Cabezudo and J. M. Emlen. 2001. Translational and Fluctuating Asymmetry as Tools to Detect Stress in Stress-adapted and Sonadapted Plants. International Journal of Plant Sciences. 162: 67-616
- Alados C. L., M. L. Giner, L. Dehesa, J. Escós, F. G. Barroso, J. M. Emlen and D. C. Freeman. 2002. Developmental Instability and Fitness in *Periploca laevigata* Experiencing Grazing Disturbance. International Journal of Plant Sciences.163(6): 969-978
- Allakhverdiev S. I., V. D. Kreslavski, V. V. Klimov, D. A. Los, R. Carpentier and P. Mohanty. 2008. Heat stress: an overview of molecular responses in photosynthesis. Photosynth. Res. 98: 541–550
- Alpert P. 1984. Analysis of Chlorophyll Content in Mosses through Extraction in DMSO. The Bryologist. 87(4): 363-365
- Ambo-Rappe R., D. L. Lajus and M. J. Schreider. 2011. Heavy metal impact on growth and leaf asymmetry of seagrass, *Halophila ovalis*. Journal of Environmental Chemistry and Ecotoxicology. 3(6): 149-159
- Anne, P., F. Mawri, S. Gladstone, D. C. Freeman. 1998. Is fluctuating asymmetry a reliable biomonitor of stress? A test using life history parameters in soybean. International Journal of Plant Sciences. 159:559–565
- Anđelković G. 2002. Antropogena emisija toplote u atmosferu Beograda. Bulletin of the Sebian Geographical Society. 82(2): 55-67

- Antić M., V. Avdalović i N. Jović. 1969. Evolucija, genetička povezanost i ekološka vrednost pojedinih vrsta peskova Deliblatske peščare. Zbornik radova I "Deliblatski pesak", JPŠC Beograd i ŠIK Pančevo
- Arnon D. I. 1949. Copper Enzymes in Isolated Chloroplasts. Polyphenoloxidase in *Beta vulgaris*. Plant Physiology. 24(1): 1-15
- Auty R. M. 1997. Pollution Patterns during the Industrial Transition. 77th Geographical Journal. 163(2): 206-215
- Avramov S., D. Pemac and B.Tucić. 2007. Phenotypic plasticity in response to an irradiance gradient in *Iris pumila*: adaptive value and evolutionary constraints. Plant Ecology 190(2): 275-290
- Bagchi, S. K., V. T. Sharma and P. K. Gupta. 1989. Developmental instability in leaves of *Tectona grandis*. Silvae Genet. 38: 1-6
- Baker A. J. M. 1987. Metal Tolerance. New Phytologist. 106(1): 93-111
- Baraza E., J.M. Gomez, J.A. Hodar and R. Zamora. 2004. Herbivory has a greater impact in shade than in sun: response of *Quercus pyrenaica* seedlings to multifactorial environmental variation. Can. J. Bot. 82:357–364
- Barišić Klisarić N., S. Avramov, D. Miljković, U. Živković and A. Tarasjev. 2012a. Stages of Flower Bud Development in Iris Pumila and Between-Habitat Morphological Differences. Arch. Biol. Sci. 6(1): 77-83
- Barišić Klisarić N., S. Avramov, D. Miljković, U. Živković and A. Tarasjev. 2012b. Ontogeny of flower parts on naturally growing Iris pumila clones: Implications for population differentiation and phenotypic plasticity studies. R. Journal of Genetics. 48(4): 468-472
- Barrett R. P., T. Mebrahtu and J. W. Hanover. 1990. Black Locust: A multi-purpose tree species for temperate climates. In: J. Janick and J.E. Simon (eds.): Advances in new crops. Timber Press, Portland, pp: 278-283
- Beck E. H., S. Fettig, C. Knake., K. Hartig and T. Bhattarai. 2007. Specific and unspecific responses of plants to cold and drought stress. J. Biosci. 32(3): 501–510
- Beemster G. T. S., F. Fiorani and D. Inzé. 2003. Cell cycle: the key to plant growth control? Trends in Plant Science. 8: 154-158

- Beloussov L.V. 1998. The Dynamic Architecture of a Developing Organism. Kluwer: Dordrecht, The Netherlands
- Bharathan G. and Sinha N. R. 2001. The Regulation of Compound Leaf Development. Plant Physiology. 127: 1533–1538
- Bijlsma K. i V. Loeschcke (eds.). 1997. Environmental stress adaptation and evolution. Birkhauser. Verlag, Basel, Switzerland
- Bijlsma K. i V. Loeschcke. 2005. Environmental stress, adaptation and evolution: an overview. J. Evol. Biol. 18: 744-749
- Bingham F. T. and A. C. Chang. 1981. Cadmium . In: N.W. Lepp (ed.): Effect of heavy metal pollution on plants. Applied science publishers. London and New Jersey. pp 77-109
- Biswal B., P. N. Joshi, M. K. Raval and U. C. Biswal. 2011. Photosynthesis, a global sensor of environmental stress in green plants: stress signalling and adaptation. Current Science. 101(1): 47-56
- Bjorksten T., P. David, A. Pomiankowski and K. Fowler. 2000. Fluctuating asymmetry of sexual and nonsexual traits in stalk-eyed flies: a poor indicator of developmental stress and genetic quality. Journal of Evolutionary Biology. 13: 89–97
- Bondavalli C., A. Bodini, G. Rossetti and S. Allesina. 2006. Detecting Stress at the Whole-Ecosystem Level: The Case of a Mountain Lake (Lake Santo, Italy). Ecosystems. 9: 768-787
- Boring L. R. and W. T. Swank. 1984a. The role of Black Locust (*Robinia pseudoacacia* L.) in forest succession. Journal of Ecology. 72: 749-766
- Boring L. R. and W. T. Swank. 1984b. Symbiotic Nitrogen Fixation in Regenerating Black Locust (*Robinia pseudoacacia* L.) Stands. Forest Science. 30: 528-537
- Box G. E. P. and D. R. Cox. 1964. An analysis of transformations. J. Roy. Statist. Soc. B.36 (211)
- Bradshaw A.D. 1965. Evolutionary significance of phenotypic plasticity in plants. Adv Genet. 13:115–155
- Brock M. T. and C. Weinig. 2007. Plasticity and environment-specific covariances: An investigation of floral-vegetative and within flower correlations. Evolution. 61(12): 2913-2924

- Butterworth F. M., R. Villabos-Pietrini and M. Gonsebaj (eds.). 2000. Biomonitors and Biomarkers as Indicators of Environmental Change. Springer
- Carpenter S.R. and K. L. Cottingham. 1997. Resilience and restoration of lakes. Conserv. Ecol. 1(1): 2
- Chang-Seok L., C. Hyon-Je and Y. Hoonbok. 2003. Stand dynamics of introduced Black Locust (*Robinia pseudoacacia* L.) plantation under different disturbance regimes in Korea. For. Ecol. Manage. 189: 281-293
- Chapin, F. S. III. 1980. The mineral nutrition of wild plants. Annu. Rev. Ecol. Syst. 11: 233-260
- Chapin III F. S. 1991. Integrated Responses of Plants to Stress. BioScience. 41(1): 29-36
- Chapin, F. S. III, D. T. Clarkson, J. R. Lenton and C. H. S. Walter. 1988. Effect of nitro gen stress and abscisic acid on nitrate absorption and transport in barley and tomato. Planta. 173: 340-351
- Charlton B. G. 1992. Stress. Medical Ethics. 18(3): 156-159
- Cheeseman J. M. 1988. Mechanisms of Salinity Tolerance in Plants. Plant Physiol. 87: 547-550
- Clarke G. M. 1995. Relationships between developmental stability and fitness: application for conservation biology. Conserv.Biol. 9: 18–24
- Clarke G. M. 2003. Developmental stability fitness relationships in animals: some theoretical considerations. In: M. Polak (ed.): Developmental Instability: Causes and Consequences. Oxford University Press, Oxford. pp. 187–195
- Clarke G. M., J. A. McKenzie. 1987. Developmental stability of insecticide resistant phenotypes in blowfly: a result of canalizing natural selection. Nature 325:345-346.
- Clements F. E. (ed.). 1920. Plant indicators. The relation of plant communities to process and practice. Carnegie institute, Washington, DC
- Conner J. K. 2002. Genetic mechanisms of floral trait correlations in a natural population. Nature. 420: 407-410
- Cornelissen T., P. Stiling and B. Drake. 2004. Elevated CO2 decreases leaf fluctuating asymmetry and herbivory by leaf miners on two oak species. Global Change Biology. 10: 27-36.

- Dale V. H., L. Joyce, S. McNulty, R. P. Neilson, M. P. Ayres, M. D. Flannigan, P. J. Hanson, L. C. Irland and others. 2001. Climate change and forest disturbances. BioScience. 51(9): 723-734
- Darlington R. B. 1970. Is kurtosis really peakedness? American Statistician 24: 19-22
- Darwin C. 1862. On the various contrivances by which orchids are fertilized by insects. Murray, London
- Day R. W. and G. P. Quinn. 1989. Comparisons of treatments after analysis of variance in ecology. Ecol Monogr. 59:433–463
- DeGomez T. and M. R Wagner. 2001. Culture and use of Black Locust. HortTechnology. 11: 279-288
- Deikman J. and M. Ulrich. 1995. A novel cytokinin-resistant mutant of *Arabidopsis* with abbreviated shoot development. Planta. 195: 440-449
- Dengler N. G. and H. Tsukaya. 2001. Leaf morphogenesis in dicotyledons: Current issues. Int. J. Plant Sci. 162(3): 459–464
- Dobrin M., L. D. Corkum. 1999. Can fluctuating asymmetry in adult burrowing mayflies (*Hexagenia rigida*, *Ephemeroptera*) be used as a measure of contaminant stress? J. Gt. Lakes. Res. 25: 339–346
- Ducić V. and B. Milovanović. 2004. Termičke specifičnosti Deliblatske (Banatske) Peščare. Zbornik radova Geografskog fakulteta. 52: 1-12
- Dykes W. R. 1913. The Genus Iris. Cambridge University Press
- Efroni I., E. Blum, A. Goldshmidt and Y. Eshed. 2008. A Protracted and Dynamic Maturation Schedule Underlies *Arabidopsis* Leaf Development. The Plant Cell. 20: 2293-2306
- Ellis E.C. and N. Ramankutty. 2008. Putting people in the map: anthropogenic biomes of the world. Front. Ecol. Environ. 6: 439–447
- Ellstrand N. C. 1983. Flolal formula inconstancy wilhin and among plants and populations of *Ipomopsis aggregata* (*Ploemoniaccae*). Bot. Gaz. 144: 119-123
- Endress P. K. 2008. The Whole and the Parts: Relationships between Floral Architecture and Floral Organ Shape and Their Repercussions on the Interpretation of Fragmentary Floral Fossils. Annals of the Missouri Botanical Garden. 95: 101-120

- Eränen J., J. Nilsen, V. Zverev and M. Kozlov. 2009. Mountain birch under multiple stressors—heavy metal resistant populations co-resistant to biotic stress but maladapted to abiotic stress. Journal of Evol. Biol. 22:840-851
- Evans A. and S. M. Marshall. 1996. Developmental instability in *Brassica* campestris (*Cruciferae*): fluctuating asymmetry of foliar and floral traits. Journal of Evol. Biol. 9: 717-736
- Ferrario S., M. Immink Fornari and G. C. Angenent. 2004. Conservation and diversity in flower land. Curr. Opin. Plant. Biol. 7: 84-91
- Forey E., B. Chapelet, Y. Vitasse, M. Tilquin, B. Touzard and R. Michalet. 2008. The Relative Importance of Disturbance and Environmental Stress at Local and Regional Scales in French Coastal Sand Dunes. Jour. of Veg. Sci. 19(4): 493-502
- Foster D. R., G. Motzkin and B. Slater. 1998. Land-use history as long term broad-scale disturbance: regional forest dynamics in central New England. Ecosystems. 1: 96-119
- Freedman B. 1995. Environmental ecology: the ecological effects of pollutants, disturbance and other stresses. New York: Academic Press, pp 318-23
- Freeman, D. C., J. H. Graham and J. M. Emlen. 1993. Developmental stability in plants: symmetries, stress and epigenesis. Genetica. 89: 97-119
- Freeman D. C., M. L. Brown, J. J. Duda, J. H. Graham, J. M. Emlen, A. J. Krzysik, H. Balbach, D. A. Kovacic and J. C. Zak. 2004a. Developmental instability in *Rhus copallinum* L.: multiple stressors, years, and responses. Int. J. Plant Sci. 165(1): 53-63
- Freeman D. C., M. L. Brown, J. J. Duda, J. H. Graham, J. M. Emlen, A. J. Krzysik, H. Balbach, D. A. Kovacic and J. C. Zak. 2004b. Photosynthesis and fluctuating asymmetry as indicators of plant response to soil disturbance in the fall-line sandhills of Georgia: a case study using *Rhus copallinum* and *Ipomoea pandurata*. Int. J. Plant Sci. 165(5): 805–816
- Freeman D. C., M. L. Brown, J. J. Duda, J. H. Graham, J. M. Emlen, A. J. Krzysik, H. Balbach, D. A. Kovacic and J. C. Zak. 2005. Leaf fluctuating asymmetry, soil disturbance and plant stress: A multiple year comparison using two herbs, *Ipomoea pandurata* and *Cnidoscolus stimulosus*. Ecol.Indic. 5: 85-95
- Fried J. J. 1975. Groundwater pollution. Elsevier

- Fuller J. L., D. R. Foster, J. S. McLachlan and N. Drake. 1998. Impact of human activity on regional forest composition and dynamics in central New England. Ecosystems 1:76-95
- Fuller R.C. and D. Houle. 2003. Inheritance of developmental instability. In: M. Polak (ed): Developmental Instability: Causes and Consequences. Oxford University Press, Oxford. pp. 157–186
- Gajić M. 1983. Flora Deliblatske peščare .Prirodno matematički fakultet OOUR Institut za biologiju, Novi sad
- Galen C. 1989. Measuring Pollinator-Mediated Selection on Morphometric Floral Traits: Bumblebees and the Alpine Sky Pilot, *Polemonium viscosum*. Evolution. 43(4): 882-890
- Gangestad S.W. and R. Thornhill. 1999. Individual differences in developmental precision and fluctuating asymmetry: a model and its implications. Journal of evolutionary Biology. 12: 402–416
- Gangestad, S.W. and R. Thornhill. 2002. Fluctuating asymmetry, developmental instability, and fitness: toward model-based interpretation. In: Polak M. (ed.): Developmental Instability. Oxford University Press, New York
- Gilligan D. M., L. M. Woodworth, M. E. Montgomery, R. K. Nurthen, D. A. Briscoe and R. Frankham. 2001. Can fluctuating asymmetry be used to detect inbreeding loss of genetic diversity in endangered populations? Int. J. Plant Sci. 162(3): 607–616
- Giurfa M, B. Eichmann and R. Menzel. 1996. Symmetry perception in an insect. Nature 382: 458-461
- Godbold D. L. and A. Huttermann. 1985. Effect of zinc, cadmium and mercury on root elongation of *Picea abies* (Karst.) seedlings, and the significance of these metals to forest die-back. Environmental Pollution. 38: 375–381
- Gonzales H. 1991. Heavy metal surveys in sediments of five important Cuban Bays. Biogeochemistry in the Humid Tropics. 14: 113-128
- Graham J. H. and J. D. Felley. 1985. Genomic coadaptation and developmental stability within introgressed populations of *Enneacanthus gloriosus* and *E. obesus* (*Pisces*, *Centrarchidae*). Evolution 39: 104-114

- Graham J. H., K. Roe and T. West. 1993. Effects of lead and benzene on developmental stability of *Drosophila melanogaster*. Ecotoxicology. 2: 175–184
- Graham J. H., S. Raz, S. H. Hel-Or and E. Nevo. 2010. Fluctuating Asymmetry: Methods, Theory, and Applications. Symmetry. 2: 466-540
- Grayburn W.S., P. B. Green and G. Stuchek. 1982. Bud induction with cytokinin: A local response to local application. Plant Physiol. 69: 682-6864
- Green P. B. 1985. Surface of the shoot apex: a reinforcement-field theory for phyllotaxis. J Cell Sci Suppl. 2:181–201
- Grime J. P. 1974. Vegetation classification by reference to strategies. Nature. 250: 26-31
- Grime J. P. 1977. Evidence for the existence of three primary strategies in plants and its relevance to ecological and evolutionary theory. Am. Nat. 111: 1169-1194
- Grime J. P. 1979. Plant Strategies and Vegetation Processes. Wiley, Chichester
- Haberl H., K. H. Erb, F. Krausmann, V. Gaube, S. Gingrich and C. Plutzar. 2010. Development and Climate Change. Background Note Quantification of the intesity of global human use of ecosystems for biomass production. Institute of Social Ecology, Alpen-Adria Universität Klagenfurt–Graz–Wien, Austria
- Hagemann, W. and S. Gleissberg. 1996. Organogenetic capacity of leaves: The significance of marginal blastozones in angiosperms. Plant Syst. Evol. 199: 121-152
- Hamilton R. S. and R. M. Harrison.1991. Highway pollution. Elsevier science publishing company inc
- Hagen, S., R. Ims, N. Yoccoz and O. Sørlibråten. 2008. Fluctuating asymmetry as an indicator of elevation stress and distribution limits in mountain birch (*Betula pubescens*). Plant Ecology 195: 157-163
- Hardin J. W. 1966. Stock-Poisoning Plants of North Carolina. Agricultural Experimental Station North Carolina State University of Raleigh. Bulletin 414
- Harper L., and M. Freeling. 1996. Interactions of liguleless1 and liguleless2 function during ligule induction in maize. Genetics 144: 1871-1882
- He H. S., D. J. Mladenoff and T. R. Crow. 1999. Linking an ecosystem model and a landscape model to study forest species response to climate warming. Ecol Model 114: 213-33

- Heard S. B., M. A. Campbell, M. L. Bonine, S. D. Hendrix. 1999 Developmental instability in fragmented populations of prairie phlox (*Phlox pilosa* L.): a cautionary tale. Conserv Biol 13: 274–281
- Hilden M. and D. J. Rapport. 1993. Four centuries of cumulative impacts on a Finnish river and its estuary: an ecosystem health approach. J. Aquat. Ecosyst. Health. 2: 261-75
- Hill G. E. 1995. Ornamental traits as indicators of environmental health. BioScience. 45: 25–31
- Hill M. K. 2010 (ed.). Understanding environmental pollution. Cambridge University Press, Cambridge, UK
- Hirt H. and K. Shinozaki (Eds.). 2004. Plant Responses to Abiotic Stress. Springer
- Hiscox J. D. and G. F.M. Isrealstom. 1979. A method for the extraction of chlorophyll from leaf tissue without maceration. Canadian Journal of Botany. 57: 1332-1334
- Hobbs R. J., E. Higgs and J. A. Harris. 2009. Novel ecosystems: implications for conservation and restoration. Trends in Ecology and Evolution. 24 (11)
- Hochwender C. G. and R. S. Fritz. 1999. Fluctuating asymmetry in *Salix* hybrid system: The importence of genetic versus environmental causes. Evol. 53:408-416
- Hódar, J. A. 2002. Leaf fluctuating asymmetry of holm oak in response to drought under contrasting climatic conditions. Journal of Arid Environments. 52: 233-243.
- Hoffmann A. A. and P. A. Parsons. 1994. Evolutionary genetics and environmental stress. Oxford Science, Oxford
- Hoffman A. A. and P. A. Parsons. 1997. Extreme Environmental Change and Evolution. Cambridge University Press, UK
- Hoffmann A. A. and C. M. Sgrò. 2011. Climate change and evolutionary adaptation. Nature. 470: 479–485
- Holzener W. 1982. Concepts, categories and characteristics of weeds. In: W. Holzner and M. Numata(eds.): Biology and Ecology of Weeds, Dr. W. Junk Publishers, Boston, USA
- Horridge G. A. and S. W. Zhang. 1995. Pattern vision in honeybees (*Apis mellifera*): flower-like patterns with no predominant orientation. J. Insect. Physiol. 41: 681-688
- Houle D. 1997. Comment on "A meta-analysis of the heritability of developmental stability" by Møller and Thornhill. Journal of Evolutionary Biology 10: 17-20

- Hutchinson T. C. 1981. Nickel. In: N. W. Lepp (ed.): Effect of heavy metal pollution on plants. Applied science publishers, London and New Jersey. pp 171-211
- Izveštaj o stanju životne sredine na teritoriji grada Pančeva. 2008. Sekretarijat za zaštitu životne sredine, Odeljenje za održivi razvoj i zaštitu životne sredine. Broj VII-23-501-85. Pančevo
- Jari V. and M. V. Kozlov. 2001. Impact of climatic factors on the developmental stability of mountain birch growing in a contaminated area. Journal. of Applied Ecology. 38(3): 665–673
- Jennions M. D. 1996. The allometry of fluctuating asymmetry in southern african plants: Flowers and leaves. Biological Journal of the Linnean Society. 59: 127-142
- Jones R.H. and N.C. Jones. 1989. Mammalian cAMP-responsive element can activate transcription in yeast and binds a yeast factor(s) that resembles the mammalian transcription factor ANF. Proc. Natl Acad. Sc. 86: 2176-2180
- Jope K. L. 2001. An approach to identify "vital signs" of ecosys tem health. In: Harmon D (ed.): Crossing boundaries in park management. Hancock (MI): George Wright Society. pp 399-406.
- Karvonen E., J. Merila and S. Van Dongen. 2003. Geography of fluctuating asymmetry in the Greenfinch (*Carduelis chloris*). Oikos 100: 507–516
- Kendall M. G. and A. Stuart. 1951. The Advanced Theory of Statistics. Hafner, London
- Kim M., T. Pham, A. Hamidi, S. McCormick, R. K. Kuzoff and N. Sinha. 2003. Reduced leaf complexity in tomato wiry mutants suggests a role for PHAN and KNOX genes in generating compound leaves. Development 130: 4405-4415
- Klingenberg C. P. 2003. A developmental perspective on developmental instability: theory, models and mechanisms pp. 14-34; Developmental instability as a research tool: using patterns of fluctuating asymmetry to infer the developthe origins of morphological integration. pp. 427–442. In: M. Polak (ed.) Kluwer Academic IPlenum Publishers, New York
- Klingenberg C. P. and H. Nijhout. 1999. Genetics of fluctuating asymmetry: a developmental model of developmental instability. Evolution. 53: 358–375
- Koeppe D. E. 1981. Lead: Understanding the minimal toxicity of lead in plants. In:N.W. Lepp (ed.): Effect of heavy metal pollution on plants. Applied science publishers, London and New Jersey. pp 55-76

- Köhlein F. 1987. Iris, transl. M. C. Peters. Portland
- Kostic O., M. Mitrovic, M. Knezevic, S.Jaric, G. Gajic, L. Djurdjevic and P. Pavlovic. 2012. The Potential of Four Woody Species for the Revegetation of Fly Ash Deposits From the 'Nikola Tesla A' Thermoelectric Plant (Obrenovac, Serbia). Arch. Biol. Sci., Belgrade. 64 (1): 145-158
- Kozlov M. V., B. J. Wisley, J. Koricheva and E. Haukioja. 1996. Fluctuating asymmetry of birch leaves increases under pollution impact. Journal of Applied Ecology. 33: 1489-1495
- Kozlov M. V. 2003. Are Fast Growing Birch Leaves More Asymmetrical? Oikos. 101(3): 654-658
- Krizek, B. A. and Fletcher J. C. 2005. Molecular mechanism of flower development: An armchair guide. Nature. 6: 688-698
- Laitinen, R. A. E., T. H. Pollanen, P. Elomaa, M. Kotilainen. 2007. Transcriptional analysis of petal organogenesis in *Gerbera hybrida*. Planta. 226: 347-360.
- Larcher W. 2001. Physiological Plant ecology. Springer
- Lavin M. and M. J. Sanderson. 2004. A phylogeny of legumes (*Leguminosae*) based on analysis of the plastid *matK*gene resolves many well-supported subclades within the family. American Journal of Botany. 91(11): 1846–1862
- Lawlor D. W. 2009. Musings about the effects of environment on photosynthesis. Ann. Bot. 103: 543–549
- Leamy L. J. 1997. Is developmental stability heritable? J. Evol.Biol. 10: 21–29
- Leamy L. J. and C. P. Klingenberg. 2005. The genetics and evolution of fluctuating asymmetry. Annu. Rev. Ecol. Syst. 36: 1–21
- Leary R. F., F. W. Allendorf and R. L. Knudson. 1985. Developmental instability and high meristic counts in interspecific hybrids of salmonid fishes. Evolution 39: 1318-1326
- Leary R. F. and F. W. Allendorf. 1989. Fluctuating asymmetry as an indicator of stress: implications for conservation biology. Trends in Ecology and Evolution. 4: 214–217
- Lens L., S. Van Dongen, S. Kark and E. Matthysen. 2002. Fluctuating asymmetry as an indicator of fitness: can we bridge the gap between studies? Biological

- reviews. 77: 27-38
- Leung B., M. R. Forbes and D. Houle. 2000. Fluctuating asymmetry as a bioindicator of stress: Comparing efficacy of analyses involving multiple traits. American Naturalist. 155: 101-115
- Levene H. 1960. Robust tests for equality of variances. In I. Olkin (ed.): Contributions to Probability an Statistics. Stanford Univ. Press, Stanford. pp. 278-292
- Levin, M. and A. R. Palmer. 2007. Left-right patterning from the inside out: widespread evidence for intracellular control. BioEssays. 29: 271-287
- Lewis, G., B. Schrire, B. MacKinder and M. Lock (eds). 2005. Legumes of the world. Royal Botanical Gardens, Kew, UK
- Li Z., S.Wakao, B. B. Fischer and K. K. Niyogi. 2009. Sensing and responding to excess light. Annu. Rev. Plant Biol. 60: 239–260
- Likens G. E., C. T. Driscoll and D. C. Buso. 1996. Long-Term Effects of Acid Rain: Response and Recovery of a Forest Ecosystem. Science. 272: 244-246
- Long J.A., Moan E.l., Medford J.I., Barton M.K. 1996. A member of the KNOTTED class of homeodomain proteins encoded by the STM gene of *Arabidopsis*. Nature 379: 66-69
- Ludwig W. 1932. Das Rechts-Links Problem im Teirreich und beim Menschen. Springer, Berlin
- Mal T. K., J. L. Uveges and K. W. Turk. 2002. Fluctuating asymmetry as an ecological indicator of heavy metal stress in *Lythrum salicaria*. Ecological Indicators. 1: 189–195
- Malakoff D. 2010. Taking the Sting Out of Acid Rain. Science. 330: 910-911
- Manitašević S., J. Dunđerski, G. Matić and B. Tucić. 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. 12:479–492
- Manning J. T. and A. T. Chamberlain. 1994. Fluctuating asymmetry in gorilla canines: a sensitive indicator of environmental stress. Proceedings of the Royal Society (London). 255: 189–193
- Markert B (ed.). 1993. Plants as Biomonitors. Wiley VCH

- Martel J., K. Lempa and E. Haukioja. 1999. Effects of stress and rapid growth on fluctuating asymmetry and insect damage in birch leaves. Oikos 86: 208-216
- Martin C. and T. Gerats. 1993. Control of pigment biosynthesis genes during petal development. Plant Cell. 5(10): 1253–1264
- Mather K. 1953. Genetical control of stability in development. Heredity. 7: 297-336
- Mathew B. 1989. The Iris. London. Batsford
- McKenzie J. A. and K. O'Farrell. 1994. Modification of developmental instability and fitness: malathion resistance in the Australian sheep blowfly, *Lucilia cuprina*. In: T.A Markow (ed.), Developmental stability: Its Origins and Evolutionary Implications. Kluwer, Dordrecht. pp. 69-78
- McKey D. 1994. Legumes and nitrogen: the evolutionary ecology of a nitrogendemanding lifestyle. In J. I. Sprent and D. McKey (eds.): Advances in legume systematics 5, the nitrogen factor, Royal Botanic Gardens, Kew. pp. 211–228
- Meinhardt H. 1984. Models of pattern formation and their application to plant development. In: P.W. Barlow and D.J. Carr (eds): In Positional Controls in Plant Development. Cambridge. UK: Cambridge University Press. pp. 1-32
- Menzel R., A. Gumbert, J. Kunze, A. Shmida and M Vorobyev. 1997. Pollinator's strategies in finding flowers. Isr. J. Plant. Sci. 41:141–156
- Miljković D. 2009. Uticaj abiotičkih stresora na stabilnost razvića i morfološku varijabilnost Iris pumila u prirodnim i eksperimentalnim populacijama. Doktorska disertacija. Univerzitet u Beogradu. Biološki fakultet
- Miljkovic D. 2012. Developmental stability of *Iris pumila* flower traits: A common garden experiment. Arch. Biol. Sci. 64(1): 123-133
- Milligan J. R. and R. A. Krebs. 2008. Separating developmental and environmental effects on fluctuating asymmetry in *Lythrum salicaria* and *Penthorum sedoides*. International Journal of Plant Sciences. 169(5): 625-630
- Milton C.C., B. Huynh, P. Batterman, S.L. Rutherford and A.A. Hoffmann. 2003. Quantitative trait symmetry independent of Hsp90 buffering: distinct modes of genetic canalization and developmental stability. PNAS 100: 13396–13401
- Minocha R., G. Martinez, B. Lyons and S. Long. 2009. Development of a standardized methodology for quantifying total chlorophyll and carotenoids from foliage of

- hardwood and conifer tree species. Canadian Journal of Forest Research. 39 (4): 849-861
- Mitra J. 1956. Karyotype analysis of bearded iris. Bot. Gaz. 117: 265-293
- Mittler R. 2006. Abiotic stress, the field environment and stress combination. Trends in Plant Science. 11: 15–19.
- Møller A. P. 1993. Developmental stability, sexual selection, and speciation. Journal of Evolution Biology. 6: 493–509
- Møller A. P. 1995. Bumblebee preference for symmetric flowers. Proceedings of the National Academy of Sciences of USA. 92: 2288-2292
- Møller A.P. 1997. Developmental selection against developmentally unstable offspring and sexual selection. J. Theor. Biol. 185: 415–422
- Møller A. P. 1998. Developmental instability of plants and radiation from Chernobyl. Oikos 81: 444-448
- Møller A. P. 2000. Developmental Stability and Pollination. Oecologia. 123(2): 149-157
- Møller A. P. and A. Pomiankowski. 1993. Fluctuating asymmetry and sexual selection. Genetica 89:267-279
- Møller A. P. and M. Eriksson. 1995. Pollinator preference for symmetrical flowers and sexual selection in plants. Oikos 73: 15-22
- Møller, A. P. and J. P. Swaddle. 1997. Asymmetry, Developmental Stability and Evolution. Oxford University Press, Oxford
- Møller A. P. and M. Pagel. 1998. Developmental stability and signalling among cells. J Theor Biol . 193: 497-506
- Møller A. P. and G. Sorci. 1998. Insect preference for symmetrical artificial flowers. Oecologia. 114(1): 37-42
- Møller A.P. and Shykoff P. 1999. Morphological developmental stability in plants: patterns and causes. International Journal of Plant Sciences. 160: 135-146
- Møller A. P. and J. Manning. 2003. Growth and developmental instability. The Veterinary Journal. 166: 19-27
- Mousel H., Jager E. und Weinert E. 1956. Vergleichende chorologie der zentraleuropaischen flora. VEB Gustav Fischer Verlag, Jena

- Ne'eman G. and P. G. Kevan. 2001. The effect of shape parameters on maximal detection distance of model targets by honeybee workers. J. Comp. Physiol. A. 187: 653-660
- Neves N. R., M. A.Oliva, D. da Cruz Centeno, A. C. Costa, R. F.Ribas and E. G. Pereira. 2009. Photosynthesis and oxidative stress in the restinga plant species *Eugenia uniflora* L. exposed to simulated acidrain and iron ore dust deposition: Potential use in environmental risk assessment. Science of The Total Environment. 407(12): 3740-3745
- Nieboer E. and D. H. S. Richardson.1980. The replacement of the nondescript term 'heavy metal' by a biologically significant and chemically significant classification of metal ions. Environmental Pollution. B1: 3–26
- Nies D.H. 1999. Microbial heavy-metal resistance. Applied Microbiology Biotechnology. 51: 730–750
- Nijhout H. F. and G. Davidowitz. 2003. Developmental perspectives on phenotypic variation: canalization, and fluctuating asymmetry. In: M. Polak (ed.): Developmental Instability: Causes and Consequences, Oxford University Press,Oxford. pp. 3–13
- Nikolić B., G. Drinić, V. Janjić, Lj. Šantrić i V. Jovanović. 2005. Primena metode fluorescencije hlorofila u herbologiji i ispitivanju dejstva herbicida 1. uticaj različitih faktora na dejstvo herbicida sulfosata. Acta biologica iugoslavica serija G: Acta herbologica. 14(2): 57-64
- Noss R. F. 1990. Indicators for Monitoring Biodiversity: A Hierarchical Approach. Conservation Biology. 4(4): 355-364
- Novak J. M., O. E. Rhodes, M. H. Smith and R. K. Chesser. 1993. Morphological asymmetry in mammals: Genetics and homeostasis reconsidered. Acta Theriologica 38: 7–18
- Odum E. P. 1985. Trends expected in stressed ecosystems. BioScience. 164:419-422
- Osakabe Y., A. Kawaoka, N. Nishikubo and K. Osakabe. 2012. Responses to environmental stresses in woody plants: key to survive and longevity. Journal of Plant Research. 125 (1): 1-10

- Osmond C. B, M. P. Austin, J. A. Berry, W. D. Billings, J. S. Boyer, J. W. H. Dacey, P. S. Nobel, S. D. Smith and W. E. Winner. 1987. Stress Physiology and the Distribution of Plants. BioScience. 37(1): 38-48
- Otronen M., and H. M. Rosenlund. 2001. Morphological asymmetry and chlorophyll fluorescence in scots pine (*Pinus sylvestris*): Responses to variation in soil moisture, nutrients and defoliation. Annales Botanici Fennici. 38: 285-294
- Paivoke A. and L. K. Simola. 2001. Arsenate toxicity to *Pisum sativum*: mineral nutrients, chlorophyll content, and phytase activity. Ecotox. Environ. Safe. 49: 111–121
- Palmer A. R. 1994. Fluctuating asymmetry analyses: a primer. In: T.A Markow (Ed.), Developmental stability: Its Origins and Evolutionary Implications. Kluwer, Dordrecht. pp. 335-364
- Palmer A. R. 1996. Waltzing with asymmetry. BioScience. 46: 518-532
- Palmer A. R. and C. Strobeck. 1986. Fluctuating asymmetry: measurement, analysis, patterns. Syst. 17: 391-421
- Palmer A. R. and C. Strobeck. 1992. Fluctuating asymmetry as a measure of developmental stability: Implications of non-normal distributions and power of statistical tests. Acta Zool. Fenn. 191: 57-72
- Palmer A. R. and C. Strobeck. 2003. Fluctuating asymmetry analysis revisited, In: M.Polak (ed.): Developmental Instability: Causes and Consequences, Oxford University Press, Oxford, pp. 279-319.
- Papp B. and M. Sabovljević. 2010. Contribution to the *Bryophyte* flora of the Vršačke Planine Mts., Serbia. Botanica Sebica. 34 (2): 107-110
- Parsons P. A. 1990. Fluctuating asymmetry: an epigenetic measure of stress. Biol. Rev. 65: 131-145
- Parsons P. A. 1992. Fluctuating asymmetry: a biological monitor of environmental and genomic stress. Heredity. 68: 361–364
- Parsons R. F. 1968. The significance of growth-rate comparisons for plant ecology. Am. Nat. 102: 595-597
- Pauwels K., R. Stoks and L. de Meester. 2005. Coping with predator stress: interclonal differences in induction of heat shock proteins in the water flea Daphnia magna. J. Evol. Biol. 18: 867–872

- Pejovic S. 2012. Procena zagađenosti zemljišta na teritoriji Beograda Materia Medica. 28 (1)
- Pekanović V. 1991. Šumska vegetacija Vršačkih planina. Matica Srpska, Novi Sad
- Pelabon C., T. F. Hensen, M. L. Crlson and W. S. Ambruster. 2004. Variational and genetic properties of developmental stability in *Delachampia scandens*. Evol. 58: 50-514
- Perfectti F. and J. P. M. Camacho. 1999. Analisys of genotypic differences in developmental stability in *Annona cherimola*. Evol. 53(5): 1396-1405
- Pertoldi C., T. N. Kristensen and V. Loeschcke. 2001. A New Method for Estimating Environmental Variability for Clonal Organisms, and the Use of Fluctuating symmetry as an Indicator of Developmental Instability. J. theor. Biol. 210: 407-410
- Phipps D. A. 1981. Chemistry and Biochemistry of trace metals in biological systems. In: N.W. Lepp (ed.): Effect of heavy metal pollution on plants. Applied science publishers, London and New Jersey. pp1-55
- Pincebourde S. S., J. J. Casas and B. B. Helmuth. 2012. Temporal coincidence of environmental stress events modulates predation rates. Ecol Lett. 15(7): 6 80-8
- Poethig R. S. 1997. Leaf Morphogenesis in Flowering Plants. The Plant Cell. 9: 1077-1087
- Polak M. 2003. Developmental Instability: Causes and Consequences. Oxford University Press, Oxford
- Polak M. and R. Trivers. 1994. The science of symmetry in biology. Trends in Ecology and Evolution. 9: 122–124
- Polak M., R. Opoka and I.L. Cartwright. 2002a. Response of fluctuating symmetry to arsenic toxicity: support for the developmental selection hypothesis. Environmental pollution.118: 19–28
- Polak, M., A. P. Møller, D. E. Kroeger, S. W. Gangestad, J. T. Manning and R. Thornhill. 2002b. Statistical covariance in fluctuating asymmetry among traits? A meta-analysis. In: Polak M. (ed.): Developmental Instability. Oxford University Press, New York
- Polak M. and E. M. Stillabower. 2004. The relationship between genotype, developmental stability and mating performance: disentangling the epigenetic causes. Proc. R. Soc. London Series B . 271: 1815–1821

- Polak M., D.E. Kroeger, I.L. Cartwright;, C. Ponce deLeon. 2004. Genotype-specific responses of fluctuating asymmetry and of preadult survival to the effects of lead and temperature stress in Drosophila melanogaster. Environ. Pollut. 127: 145-155
- Polle A. and A. Schützendübel. 2003. Heavy metal signalling in plants: linking cellular and organismic responses. In: H. Hirt and K. Shinozaki (eds.): Plant Responses To Abiotic Stress. Springer-Verlag Berlin Heidelberg. pp. 187-215
- Prostorni plan područja posebne namene specijalnog rezervata prirode Deliblatska peščara. 2006. Pokrajinski sekretarijat za arhitekturu, urbanizam i graditeljstvo. Novi Sad
- Prunet N., P. Morel, I. Negrutiu and C. Trehin. 2009. Time to Stop: Flower Meristem Termination. Plant Physiology. 150: 1764-1772
- Prusinkiewicz P. and A. Rolland-Lagan. 2006. Modeling plant morphogenesis. Current Opinion in Plant Biology. 9: 83–88
- Puerta-Pinero C., J. M. Gomez, J. A. Hodar. 2008. Shade and herbivory induce fluctuating asymmetry in a Mediterranean oak. International Journal of Plant Sciences. 169(5): 631-635
- Queitsch C., T.A. Sangster and S.Lindquist. 2002. Hsp90 as a capacitator of phenotypic variation. Nature. 417: 618–624
- Rabe R. and K. H. Kreeb. 1980. Bioindication of Air Pollution by Chlorophyll Destruction in Plant Leaves. Oikos. 34(2): 163-167
- Radović I. 2005. Development of the Idea regarding Importance and Conservation of Biodiversity. In: Marko Anđelkovic (Ed): Biodiversity at the Onset of the New Milennium. SANU. Belgrade
- Randolph L. F. 1955. The geographic distribution of European and eastern Mediterranean species of bearded iris. The Iris Yearbook: 35-46
- Randolph L. F. and J. Mitra. 1959. Reviewed work(s): Source: American Journal of Botany. 46(2)
- Rapport D. J., H.A. Reiger and H. T. Hutchinson. 1985. Ecosystem behavior under stress. Am Nat 125:617-40
- Rasmunson M. 2002. Fluctuating asymmetry—indicator of what? Hereditas.136: 177–183

- Reinhardt D., M. Frenz, T. Mandel and C. Kuhlemeier. 2005. Microsurgical and laser ablation analysis of leaf positioning and dorsoventral patterning in tomato. Development. 132: 15-26
- Republički zavod za statistiku. 2011. Popis stanovništva, domaćinstava i stanova u Republici Srbiji 2011, Prvi rezultati. Bilten 540. Beograd
- Rettig J. E., R.C. Fuller, A.L. Corbett and T. Getty. 1997. Fluctuating asymmetry indicates levels of competition in an even-aged poplar clone. Oikos 80:123-127.
- Ricks G. R. and R. J. H. Williams. 1975. Effects of athmospheric pollution on deciduous woodland. Part 3: Effects on photosynthetic pigments of leaves of *Quercus petraea* (Matuschka). Leibl. Environ. Pollut. 8: 97-106
- Robinson R. 2008. Human activity, not ecosystem characters, drives potential species invasions. PLoS Biol. 6 (196)
- Roy B. A. and M. L. Stanton. 1999. Asymmetry in wild mustard, *Sinapis arvensis* (*Brassicaceae*), in response to severe physiological stresses. Journal of Evolutionary Biology. 12: 440–449
- Rundel R. W. 1989. Ecological success in relation to plant form and function in the woody legumes. In C. H. Stirton and J. L. Zarucchi (eds.): Advances in legume biology, Monographs in Systematic Botany from the Missouri Botanical Garden 29: 377–398.
- Rutherford S. L. and S.Lindquist. 1998. Hsp90 as a capacitator for morphological variation. Nature. 396: 336–342
- Ružičić L. N., Lj. M.Kostadinović, J. Bošković, S.Milenković, M. V. Oljača and K.Gligorević. 2012. Trendovi zaštite životne sredine na početku trećeg milenijuma. Zbornik radova prvog naučnog skupa "Zaštita životne sredine". Sremska Kamenica
- Sabovljević M., V.Vukojević, N. Mihajlović, G. Dražić and Ž. Vučinić .2005. Determination of heavy metal deposition in the county of Obrenovac (Serbia) using mosses as bioindicators. I. Aluminum (Al), arsenic (As), and boron (B). Arch. Biol. Sci. (Belgrade). 57 (3): 205-212
- Sakai K. I. Y. Shimamoto. 1965. Developmental instability in leaves and flowers of *Nicotiana tabacum*. Genetics. 51:801-813
- SAS/STAT user's guide, version 9.1.3. 2002. SAS Institute Inc., Cary, N.C.

- Schindler D. W. 1987. Detecting ecosystem responses to anthro pogenic stress. Can J Fish Aquat Sei. 44: 6-25
- Schindler D.W. and J.R. Vallentyne. 2008. The algal bowl: overfertilization of the world's freshwaters & estuaries. LAVOISIER S.A.S.
- Schlichting C. D. 1989. Phenotypic integration and evolutionary change. BioScience 39: 460-464.
- Schlichting C. D. and M. Pigliucci. 1998. Phenotypic evolution: a reaction norm perspective. Sinauer Associates, Sunderland, MA.
- Schutzendubel A. and A. Polle. 2002. Plant responses to abiotic stresses: heavy metal-induced oxidative stress and protection by mycorrhization. Journal of Experimental Botany. 53 (372): 1351-1365
- Selye H. Stress in health and disease. 1976. London: Butterworth
- Sheets H. D. and M. L. Zelditch. 2005. IMP: TMorphGen6- Traditional Morphometrics Variables Generation Utility Part of IMP- Integrated Morphometrics Package (http://www.canisius.edu/~sheets/morphsoft.html)
- Sherry R. A. and E. M. Lord. 1996a. Developmental stability in leaves of *Clarkia tembloriensis* (*Onagraceae*) as related to population outcrossing rates and heterozygosity. Evolution 50: 80-91
- Sherry R. A., and Lord E. M. 1996b. Developmental stability in flowers of *Clarkia tembloriensis* (*Onagraceae*). Journal of Evolutionary Biology. 9: 911-930.
- Shinozaki K. and K.Yamaguchi-Shinozaki. 2007. Gene networks involved in drought stress response and tolerance. J. Exp. Bot. 58: 221–227
- Shipley B. and P. A. Keddy. 1988. The relationship between relative growth rate and sensitivity to nutrient stress in twenty-eight species of emergent macrophytes. Journal of Ecology. 76: 110 1 -1110
- Shoaf W. and B. W. Lium. 1976. Improved extraction of chlorophyll a and b from algae using dimethyl sulfoxide. Limnology and Oceanography. 21: 926-928
- Shykoff J.A. and O. Kaltz. 1998. Phenotypic changes in host plants diseased by *Microbotryum violaceum*: parasite manipulation, side effects, and tradeoffs. International Journal of Plant Science .159: 236–243
- Simberloff D. 2000. Global climate change and introduced species in United States forests. Sei Total Environ . 262: 253-61

- Skoog F. and C.O. Miller. 1957. Chemical regulation of growth and organ formation in plant tissues in vitro. Symp. SOC. Exp. Biol. 11: 118-131
- Sokal R. R. and F. J. Rohlf. 1995. Biometry. Freeman Press, San Francisco
- Sørensen J.G., F. M. Norry, A. C. Scannapieco and V. Loeschcke. 2005. Altitudinal variation for stress resistance traits and thermal adaptation in adult *Drosophila buzzatii* from the New World. J. Evol. Biol. 18: 829–837
- Srdjevic B., J. Josipovic and Z. Jandric. 1998. Modeliranje i analize uticaja puteva u generisanju i transportu zagađivača kroz podzemne vode. Jugoslovenski naucnostrucni skup "Put i zivotna sredina", Zabljak. pp. 231-237
- Stager W. 1917. Tall Bearded Iris. Applewood books. Bedford Massachusetts
- Statistica (data analysis software system), version 8.0. 2007. StatSoft, Inc
- Stearns S. S. 1992. The evolution of life Histories. Oxford: Oxford University Press
- Stevanović V. 1999. Crvena knjiga flore Srbije: 1. Iščezli i krajnje ugroženi taksoni. Ministarstvo za životnu sredinu Republike Srbije, Biološki fakultet Univerziteta u Beogradu, Zavod za zaštitu prirode Republike Srbije, Beograd
- Stige L.C., D. O. Hessen and L. A. Vøllestad. 2004. Severe food stress has no detectable impact on developmental instability in *Daphnia magna*. Oikos 107: 519–530
- Sugimoto-Shirasu K. and K. Roberts. 2003. "Big it up": endoreduplication and cell-size control in plants. Current Opinion in Plant Biology. 6: 544–553
- Swaddle, J. P., M. S. Witter and I. C. Cuthill. 1994. The analysis of Fuctuating asymmetry. Anim. Behav. 48: 986-989
- Sylvester A. W., L. Smith and M. Freeling. 1996. Acquisition of identity in the developing leaf. Annu. Rev. Cell Dev. Biol. 12: 257-304
- Šilić Č. 1990. Ukrasno drveće i grmlje. "Svjetlost" OOUR Zavod za udžbenike i nastavna sredstva, Sarajevo-Zavod za udžbenike i nastavna sredstva, Beograd
- Taning A. 1952. Experimental study of meristic characters in fishes. Biol. Rev. 27: 169-193
- Tarasjev A. 1995a. Relationship between phenotipic plasticity and developmental instability in *Iris pumila* L. Genetika. 31: 1655-1663
- Tarasjev A. 1995b. Fenotipska plastičnost u prirodnim populacijama *Iris pumila* Doktorska disertacija. Univerzitet u Beogradu. Biološki fakultet

- Tarasjev A., S. Avramov and D. Miljkovic. 2012. Evolutionary biology studies on the Iris pumila clonal plant: Advantages of a good model system, main findings and directions for further research. Arch. Biol. Sci., Belgrad. 64 (1): 159-174
- Teder T., M. Moora, E. Roosaluste, K. Zobel, M. Partel, U. Koljalg and M. Zobel. 2007.
  Monitoring of Biological Diversity: a Common-Ground Approach. Conservation Biology. 21(2): 313–317
- Theissen G. and R. Melzer. 2007. Molecular Mechanisms Underlying Origin and Diversification of the Angiosperm Flower. Annals of Botany 100: 603–619
- Thornhill R. and A. P. Møller. 1997. Developmental stability, disease and medicine. Biol. Rev. Cambridge. 72: 497–548
- Tomkins J. L. and J. S. Kotiaho. 2001. Fluctuating Asymmetry. Encyclopedia of Life Sciences, Macmillan Publishers Ltd, Nature Publishing Group
- Tucic B. and D. Miljkovic. 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., S. Milojković, S. Vujcić and A. Tarasjev. 1988. Clonal diversity and dispersion in *Iris pumila*. Acta Oecologica. Oecologica plantarunm 9: 211-219
- Tucić, B. and S. Avramov. 1996. Maternal effects on early juvenile traits in *Iris* pumila (*Iridaceae*). Plant Systematics and Evolution. 201:179-197
- US Environmental Protection Agency (USEPA). 1996. Microwave Assisted Acid Digestion of Siliceous and Organically Based Matrices 3052 (A 20), SW-846 Ch 3.2, method code 10136206. USEPA, Washington, DC.
- Valkama J. and M. Kozlov. 2001. Impact of climatic factors on the developmental stability of mountain birch growing in a contaminated area. Journal of Applied Ecology. 38: 665-673
- Van Dongen S. 1999. Accurancy and power in the statistical analysis of fluctuating asymmetry: efects of between individual heterogeneity in developmental instability. Ann. Zool. Fenn. 36: 45-52
- Van Dongen S. 2000. The heritability of fluctuating asymmetry: a Bayesian hierarchical model. Ann. Zool. Fennici. 37: 15–24

- Van Dongen S. 2006. Fluctuating asymmetry and developmental instability in evolutionary biology: past, present and future. Journal of Evolutionary Biology 19: 1727–1743
- Van Dongen S., Lens L. and Molenberghs G. 1999. Mixture analysis of asymmetry: modelling directional asymmetry, antisymmetry and heterogeneity in fluctuating asymmetry. Ecology Letters. 2(6): 387-396
- Van Dongen S., E. Sprengers and C. Lofstedt. 2001. Lack of evolutionary potential of developmental stability in the Indian meal moth Plodia interpunctella. Belgian J. Zool. 131: 75–82
- Van Dongen S. and L. Lens. 2000. The evolutionary potential of developmental instability. J. Evol. Biol. 13: 326–335
- Van Dongen S., W. Talloen and L. Lens. 2005. High variation in developmental instability under non-normal developmental error: a Bayesian perspective. J. Theor. Biol. 236: 263–275
- Van Valen L. 1962. A study of fluctuating asymmetry. Evolution. 16: 125-142
- Vitousek P. M., A. H. Mooney, J. Lubchenco and J. M. Melillo. 1997. Human Domination of Earth's Ecosystems. Science. 277
- Vučković M. 1991. Livdaska i livadsko-stepska vegetacijaVršačkih planina. Matica Srpska, Novi Sad
- Vukojević V., M. Sabovljević, A. Sabovljević, N. Mihajlović, G. Dražić and Ž. Vučinić. 2009. Determination of heavy metal deposition in the county of Obrenovac (Serbia) using mosses as bioindicators. IV. Manganese (mn), Molybdenum (Mo), and Nickel (Ni). Arch. Biol. Sci., Belgrade. 61 (4): 835-845
- Waddington C. H. 1942. Canalization of development and the inheritance of acquired characters. Nature.150: 563–565
- Waddington C. H. 1957. The strategy of genes. Allen and Unwin, London.
- Waldmann P. 2002. Fluctuating asymmetry in *Scabiosa canescens* and *Scabiosa columbaria*: association with genetic variation andpopulation size. Int J Plant Sci. 163: 329–334.
- Walker L. R. 1999. Ecosystems of disturbed ground. Ecosys tems of the world. 16.

  Amsterdam: Elsevier

- Wang H., J. Chen, J. Wen, M. Tadege, G. Li, Y. Liu, K. S. Mysore, P. Ratet and R. Chen. 2008. Control of Compound Leaf Development by LORICAULA/LEAFY Ortholog SINGLE LEAFLET1 in *Medicago truncatula*. Plant Physiology. 146 (4): 1759-1772
- Weast R. C. 1984. CRC Handbook of chemistry and physics, 64th edn. Boca Raton, CRC Press
- Wellburn A. R. 1994. The Spectral Determination of Chlorophylls a and b, as well as Total Carotenoids Using Various Solvents with Spectrophotometers of Different resolution. J. Plant. Physiol. 144: 307-313
- Whillans T. H. 1979. Historic transformations of fish commu nities in three Great Lakes' bays. J Great Lakes Res. 5: 195 215
- Whitlock M. C. and K. Fowler. 1997. The instability of studies of instability. J. Evol. Biol. 10: 33-67
- Williams L. J. and H. Abdi. 2010. Fisher's Least Significant Difference (LSD) Test. In: Neil Salkind (Ed.): Encyclopedia of Research Design. Thousand Oaks, CA
- Williamson M. 1999. Invasions. Ecography 22:5-12.
- Willson M. F. 1991. Sexual selection in plants and animals. Trends Ecol Evol 5:210-214
- Wilsey B. J., E. Haukioja, J. Koricheva, and M. Sulkinoja. 1998. Leaf fluctuating asymmetry increases with hybridization and elevation in tree-line birches. Ecology 79: 2092-2099
- Wingall A. E., A. M. Heiling, K. Cheng and M. E Herberstein. 2006. Flower Symmetry Preferences in Honeybees and their Crab Spider Predators. Issue Ethology. 112(5): 510-518
- Witting R. 1993. General aspects of Biomonitoring Heavy Metals by Plants. Bernd Markert (Editor). Plants as Biomonitors. Wiley VCH
- Wojciechowski M. F., M. J. Sanderson, K. P. Steele and A. Liston. 2000. Molecular phylogeny of the "temperate herbaceous tribes" of papilionoid legumes: a supertree approach. In: P. S. Herendeen and A. Bruneau (eds.): Advances in legume systematics, part 9, Royal Botanic Garden, Kew, UK. pp. 277–298
- Wojciechowski M., M. Latvin and M. Sanderson. 2004. A philogeny of legumes (*Leguminosae*) based on analysis of the plastid MATK gene resolves many well-

- supported subclades within family. American Journal of Botany. 91(11): 1846–1862
- Woods R. E., C. M. Sgrò, M. J. Hercus and A. A. Hoffman. 1999. The association between fluctuating asymmetry, trait variability, trait heritability and stress: a multiply- replicated experiment on combined stresses in *Drosophiila melanogaster*. Evolution. 53:493-505
- Wooten M. C. and M. H. Smith. 1986. Fluctuating asymmetry and genetic variability in a natural population of *Mus musculus*. Journal of Mammalogy. 67: 725–732
- Xiong Z. T. 1998. Lead uptake and effects on seed germination and plant growth in a Pb hyperaccumulator *Brassica pekinensis*. Rupr. Bull. Environ. Contam. Toxicol. 60: 285–291
- Yan S.Y., Z.Y. Zhou, L.N. Zou and Y. Qin. 2011. Effect of Drought Stress on Physiological and Biochemical Properties of *Amorpha fruticosa* Seedlings. Arid Zone Res. 28 (1)
- Zakharov V. M. 1992. Population phenogenetics: analysis of developmental stability in natural populations. Acta Zoologica Fennica. 191: 7-30
- Zar J. H. 1984. Biostatistical Analysis, 2nd ed. Prentice-H, Inc., Englewood Cliffs
- Zeleznik J.D. and J.G. Skousen. 1996. Land reclamation: survival of three tree species on oldreclaimed surface mines in Ohio. Journal of Environmental Quality. 25: 1429-1435
- Zimdahl R. L. and J. J. Hassett. 1977. Led in soil. In: WR Boggess (ed.): Lead in the environment. National Science foundation, Washington DC. pp. 93-98
- Zvereva E. L., M. V Kozlov and E. Haukioja. 1997a. Stress response of *Salix borealis* to pollution and defoliation. J. App. Ecol. 34: 1387–1396
- Zvereva E. L., M. V. Kozlov and E. Haukioja. 1997b. Delayed induced resistance and increase in leaf fluctuating asymmetry as responses of *Salix borealis* to insect herbivory. Oecologia 109: 368–373
- Živković U., N. Barišić Klisarić, S. Avramov, D. Miljković, M. Kostić, I.Kecojević and A. Tarasjev. 2011. Analyses of *Iris sp.* from localities and populations in polluted and unpolluted environments. XIX DFBS Symposium

# WEB STRANE:

http://kostolac.info/o-kostolcu/

http://life.bio.sunysb.edu/morph/soft-dataacq.html

http://life.bio.sunysb.edu/morph/soft-dataacq.html (Rohlf F. J. 2010. TpsDIG 2.16.)

http://tolweb.org/Fabaceae/21093 (Martin F., M. F. Wojciechowski, J. Mahn and B.

Jones. 2007. Fabaceae webpages. Tree of Life Web Project. US National Science

Foundation (Arlington, VA))

http://www.beograd.rs/

http://www.bio.bg.ac.rs/herbar/085.html

http://www.bio.bg.ac.rs/herbar/145.html

http://www.canisius.edu/~sheets/morphsoft.html

http://www.starapazova.eu

http://www.te-ko.rs/

http://www.tenikolatesla.com/

http://www.vojvodinaonline.com/

7. Prilozi

# 7.1. PRILOG 1 - TABELE

**Tabela 1.**Veličina uzorka N, greška merenja ME1(cm), indeks fluktuirajuće asimetrije FA1(cm) i odnos fluktuirajuće asimetrije i greške merenja (FA1/ME1) četiri osobine lista (dužine lisne ploče i dužine lisne drške na dva nodusa složenog lista) *R. pseudoacacia* za četiri zagađena (Pančevo, Kostolac, Obrenovac, Autoput) i tri nezagađena (Vršac, Banovci, Peščara) lokaliteta.

(**bold**-odnosi FA1/ME>2)

	_	prvi	i par	drug	ri par
Lokaliteti		dužina lisne ploče	dužina lisne drške	dužina lisne ploče	dužina lisne drške
	N	148	148	145	145
Pančevo	ME1	0.016	0.017	0.016	0.017
	FA1	0.144	0.018	0.228	0.025
	FA1/ME1	9.144	1.063	13.876	1.474
	N	113	113	104	104
Obrenovac	ME1	0.016	0.016	0.015	0.016
	FA1	0.152	0.019	0.219	0.021
	FA1/ME1	9.374	1.168	14.342	1.369
	N	134	134	133	133
Autoput	ME1	0.016	0.017	0.016	0.017
•	FA1	0.157	0.018	0.223	0.024
	FA1/ME1	9.771	1.039	13.962	1.428
	N	300	300	278	278
Kostolac	ME1	0.016	0.017	0.016	0.017
	FA1	0.186	0.022	0.244	0.026
	FA1/ME	11.952	1.337	15.618	1.550
Peščara	N	297	297	280	280
	ME	0.017	0.018	0.018	0.019
	FA1	0.190	0.022	0.254	0.025
	FA1/ME1	10.993	1.194	14.335	1.329
	N	300	300	300	300
Vršac	ME1	0.013	0.013	0.012	0.013
	FA1	0.164	0.016	0.214	0.017
	FA1/ME	13.074	1.256	17.639	1.381
	N	197	197	194	194
Banovci	ME	0.016	0.016	0.015	0.017
	FA1	0.144	0.020	0.206	0.021
	FA1/ME1	9.244	1.318	13.364	1.278

**Tabela 2.** Veličina uzorka N, srednja vrednost  $\overline{X}$  (cm) i standardna greška SE, rezultati *ANOVA*-e za efekat lokaliteta i rezultati analize kontrasta (t testa) između zagađenih (Pančevo, Kostolac, Obrenovac, Autoput) i nezagađenih (Vršac, Banovci, Peščara) lokaliteta za četiri osobine lista *R. pseudoacacia*. (**bold**-statistički značajan efekat, P<0.05)

		prvi	par	drug	ri par
		dužina lisne	dužina lisne	dužina lisne	dužina lisne
Lokaliteti		ploče	drške	ploče	drške
	N	148	148	145	145
Pančevo	$\overline{\mathbf{X}}$	2.978	0.252	2.496	0.276
	SE	0.053	0.004	0.059	0.005
	N	113	113	104	104
Obrenovac	$\overline{\mathbf{X}}$	3.218	0.288	2.596	0.286
	SE	0.065	0.005	0.074	0.006
	N	134	134	133	133
Autoput	$\overline{\mathbf{X}}$	3.299	0.278	2.810	0.288
	SE	0.060	0.005	0.060	0.005
	N	300	300	278	278
Kostolac	$\overline{\mathbf{X}}$	3.021	0.262	2.599	0.279
	SE	0.043	0.003	0.050	0.004
	N	297	297	280	280
Peščara	$\overline{\mathbf{X}}$	3.667	0.301	3.323	0.324
	SE	0.047	0.004	0.060	0.004
	N	300	300	300	300
Vršac	$\overline{\mathbf{X}}$	3.312	0.253	2.552	0.262
	SE	0.037	0.002	0.039	0.002
	N	197	197	194	194
Banovci	$\overline{\mathbf{X}}$	3.560	0.298	3.094	0.308
	SE	0.049	0.004	0.061	0.005
Efekat					
	MS	15.417	0.099	23.448	0.117
lokalitet	df	6	6	6	6
	F	30.140	35.000	35.420	31.700
	P	<0.0001	<0.0001	<0.0001	< 0.0001
greška	MS	0.512	0.003	0.662	0.004
	df	1482	1482	1427	1427
Kontrast					
	t	-8.247	-2.294	-5.627	-2.023
	P	<0.0001	0.0220	<0.0001	0.0432

Dvofaktorska *ANOVA* (gde je strana fiksni, a individua random faktor) na dužinama desne (R) i leve (L) strane četiri osobine lista *R. pseudoacacia* poreklom sa četiri zagađena (Pančevo, Kostolac, Obrenovac, Autoput) i tri nezagađena (Vršac, Banovci, Peščara) lokaliteta. (bold-statistički značajan efekat posle *Bonfferoni-*jeve korekcije)

					prvipar							prvi par			
			duž	dužina lisne ploče	loče	duži	dužina lisne drške	rške		duž	dužina lisne ploče	loče	duži	dužina lisne drške	rške
Lokaliteti	Efekat	df	SW	F	Р	SW	F	Ь	df	SM	F	Ь	SW	F	Ь
	individua	147	3.1068	86.286	<0.0001	0.0160	30.151	<0.0001	147	3.8133	44.053	<0.0001	0.0250	27.369	<0.0001
Pančevo	strana		0.0050	0.140	0.7090	0.0047	8.879	0.0031	1	0.0669	0.773	0.3799	0.0148	16.214	0.0001
	strana x list(ind)	287	0.0360	0.0360 180.935 <0.0001	<0.0001	0.0005	2.341	<0.0001	284	0.0866	408.302	<0.0001	0.0000	3.857	<0.0001
	greška	576	0.0002			0.0002			570	0.0002			0.0002		
	individua	113	3.4764	84.293	<0.0001	0.0197	35.359	<0.0001	112	4.2627	51.804	<0.0001	0.0249	32.763	<0.0001
Obrenovac	strana	$\leftarrow$	0.0384	0.930	0.3359	0.0039	6.961	0.0000	1	0.0198	0.241	0.6239	0.0002	0.243	0.6223
	strana x list(ind)	208	0.0412	197.330	<0.0001	900000	2.691	<0.0001	199	0.0823	405.345	<0.0001	0.0008	3.519	<0.0001
	greška	418	0.0002			0.0002			400	0.0002			0.0002		
	individua	134	3.6476	85.492	<0.0001	0.0246	43.604	<0.0001	134	4.0395	44.869	<0.0001	0.0304	32.440	<0.0001
Autoput	strana	$\vdash$	0.1028	2.408	0.1219	0.0065	11.437	0.0008	1	0.0003	0.003	0.9559	0.0076	8.083	0.0048
	strana x list(ind)	256	0.0427	209.147 <0.0001	<0.0001	900000	2.344	<0.0001	255	0.0900	420.696	<0.0001	0.0009	4.197	<0.0001
	greška	514	0.0002			0.0002			512	0.0002			0.0002		
	individua	299	4.4411	71.757	<0.0001	0.0260	33.576	<0.0001	298	5.2160	48.573	<0.0001	0.0325	30.239	<0.0001
Kostolac	strana	-	0.0025	0.041	0.8397	0.0221	28.616	<0.0001	1	0.1347	1.254	0.2632	0.0323	30.036	<0.0001
	strana x list(ind)	591	0.0619	312.581	<0.0001	0.0008	3.390	<0.0001	268	0.1074	531.604	<0.0001	0.0011	4.778	<0.0001
	greška	1184	0.0002			0.0002			1138	0.0002			0.0002		

148

<0.0001 < 0.0001 < 0.0001 <0.0001 < 0.0001 < 0.0001 < 0.0001 < 0.0001 0.0163 21.872 20.650 40.068 59.251 56.226 3.710 3.276 5.823 3.152 0.0007 0.0010 0.0563 0.0003 0.0106 0.0100 0.0005 0.0408 0.0042 0.0002 0.0001 0.0381 <0.0001 0.8225 < 0.0001 <0.0001 <0.0001 <0.0001 0.9882 < 0.0001 0.1137 411.070 373.592 620.607 68.646 72.611 0.0002 0.050 45.771 2.509 0.00002 3.4655 7.7036 0.0057 0.1122 0.0003 0.1900 0.0757 5.4525 0.0751 0.0002 0.0001 1160 1120 559 579 379 299 198 09/  $\overline{\phantom{a}}$ < 0.0001 <0.0001 <0.0001 <0.0001 0.0005 < 0.0001 <0.0001 0.12680.0109 19.674 48.920 12.329 39.271 2.735 2.338 3.064 3.420 6.527 0.0007 0.0050 0.0008 0.0085 0.0010 0.0300 0.0003 0.0004 0.0001 0.0323 0.0081 0.0002 < 0.0001 < 0.0001 < 0.0001 0.0095 < 0.0001 <0.0001 0.5846 < 0.0001 0.0004248.916 102.608 352.724 178.245 83.223 65.994 12.683 6.762 0.299 0.0356 0.4225 0.0625 0.0448 3.6579 0.0107 2.9563 0.5682 5.1996 0.0003 0.0001 0.0002 1156 1160 579 382 992 577 299 1 297 1 198 strana x list(ind) strana x list(ind) strana x list(ind) individua individua individua greška greška strana greška strana strana Banovci Peščara Vršac

Nastavak Tabele 3.

**Tabela 4**. Greške merenja ME1(cm), ME1\*(cm), ME3(%) i ME5 kao i ME1 kao procenat FA4a (za formule videti Materijal i Metode) za četiri osobine lista *R. pseudoacacia* poreklom sa četiri zagađena (Pančevo, Kostolac, Obrenovac, Autoput) i tri nezagađena (Vršac, Banovci, Peščara) lokaliteta.

		prv	ri par	drug	ri par
Lokaliteti		dužina lisne ploče	dužina lisne drške	dužina lisne ploče	dužina lisne drške
	ME1	0.016	0.017	0.016	0.017
Pančevo	ME1*	0.011	0.012	0.012	0.012
	ME3	0.553	42.722	0.245	25.930
	ME5	0.989	0.401	0.995	0.588
	ME1kao%FA4a	7.434	65.362	4.949	50.921
	ME1	0.016	0.016	0.015	0.016
Obrenovac	ME1*	0.012	0.011	0.011	0.012
	ME3	0.507	37.163	0.247	28.421
	ME5	0.990	0.458	0.995	0.557
	ME1kao%FA4a	7.119	60.962	4.967	53.311
	ME1	0.016	0.017	0.016	0.017
Autoput	ME1*	0.011	0.012	0.012	0.012
	ME3	0.478	42.655	0.238	23.825
	ME5	0.990	0.402	0.995	0.615
	ME1kao%FA4a	6.915	65.311	4.875	48.811
	ME1	0.016	0.017	0.016	0.017
Kostolac	ME1*	0.011	0.012	0.011	0.012
	ME3	0.320	29.495	0.188	20.930
	ME5	0.994	0.544	0.996	0.654
	ME1kao%FA4a	5.656	54.310	4.337	45.750
	ME1	0.017	0.018	0.018	0.019
Peščara	ME1*	0.013	0.013	0.013	0.014
	ME3	0.402	36.566	0.243	30.526
	ME5	0.992	0.464	0.995	0.532
	ME1kao%FA4a	6.338	60.470	4.932	55.251
	ME1	0.013	0.013	0.012	0.013
Vršac	ME1*	0.009	0.009	0.009	0.009
	ME3	0.284	32.639	0.161	26.955
	ME5	0.994	0.508	0.997	0.575
	ME1kao%FA4a	5.325	57.130	4.014	51.918
	ME1	0.016	0.016	0.015	0.017
Banovci	ME1*	0.011	0.011	0.011	0.012
	ME3	0.561	29.242	0.268	31.724
	ME5	0.989	0.547	0.995	0.518
	ME1kao%FA4a	7.490	54.076	5.174	56.324

Tabela 5.

(Pančevo, Kostolac, Obrenovac, Autoput) i tri nezagađena (Vršac, Banovci, Peščara) lokaliteta, kao i rezultati ANOVA-e za efekat lokaliteta i Rezultati ANOVA-e za efekat lokaliteta (Levene-ov test) na grešku merenja ME1 četiri osobine lista R. pseudoacacia poreklom sa četiri zagađena osobine na grešku merenja ME1 za sve osobine lista zajedno. (**bold**-statistički značajan efekat, P<0.05)

				D	rvi par					dru	drugi par		
		duži	dužina lisne ploče	ıloče	дп	dužina lisne drške	rške	du	dužina lisne ploče	rloče	du.	dužina lisne drške	·ške
Efekat	ф	SW	F	Ь	SW	F	$\boldsymbol{P}$	SW	F	P	SM	F	P
za pojedinačne osobine													
lokalitet	9	0.002	15.260 <0.0001	<0.0001	0.003	17.940	17.940 <0.0001	0.003	21.210	0.003 21.210 <0.0001	0.004	21.910	<0.0001
greška	9	0.0002			0.0002			0.0002			0.0002		
			, c			9		Ţ	4				

Efekat	df	MS	F	Ь
za sve osobine zajedno				
osobina	3	0.001	080.9	0.0004
lokalitet	9	0.012	75.050	< 0.0001
greška	22858	0.0002		

**Tabela 6.**Koeficijenti asimetričnosti krive (*Skewness* i *Kurtosis*) distribucije razlike desne i leve strane (R-L) četiri osobine lista *R. pseudoacacia* poreklom iz četiri zagađena (Pančevo, Kostolac, Obrenovac, Autoput) i tri nezagađena (Vršac, Banovci, Peščara) lokaliteta. (U tabeli su predstavljeni koeficijenti i njihove značajnosti posle *Bonfferoni*-jeve korekcije: \*\*\* P<0.001, \*\* P<0.01 i \* P<0.05)

		prvi	par	drug	ri par
Lokaliteti	_	dužina lisne ploče	dužina lisne drške	dužina lisne ploče	dužina lisne drške
	N	288	288	285	285
Pančevo	Skewness	-0.126	0.058	-0.221	-0.158
	Kurtosis	1.267***	0.482	0.362	0.381
	N	209	209	200	200
Obrenovac	Skewness	0.029	-0.243	0.004	0.191
	Kurtosis	1.622***	0.626	0.786	0.623
	N	257	257	256	256
Autoput	Skewness	-0.027	0.044	0.008	0.243
	Kurtosis	1.147***	1.761***	1.612***	0.701
	N	592	592	569	569
Kostolac	Skewness	0.220	0.316**	0.145	0.265
	Kurtosis	1.330***	0.710***	1.660***	0.633***
	N	578	578	560	560
Peščara	Skewness	-0.075	0.140	0.131	-0.009
	Kurtosis	1.300***	0.146	0.754***	1.436***
	N	580	580	580	580
Vršac	Skewness	-0.031	-0.314	-0.284	-0.347*
	Kurtosis	0.882***	0.646**	0.495	0.489
	N	383	383	380	380
Banovci	Skewness	-0.227	-0.062	-0.360	0.025
	Kurtosis	0.937**	0.329	1.616***	0.274

Tabela 7. Veličina uzorka (N), prosečna vrednost razlike desne i leve strane  $(\overline{\mathbf{X}})$ , standardna greška (SE), indeks fluktuirajuće asimetrije (FA4a) i rezultati t testa za odstupanje distribucije razlike desne i leve strane (R-L) od nule za četiri osobine lista R. pseudoacacia poreklom sa četiri zagađena (Pančevo, Kostolac, Obrenovac, Autoput) i tri nezagađena (Vršac, Banovci, Peščara) lokaliteta.

(**bold**-statistički značajan efekat posle *Bonfferoni*-jeve korekcije)

		prv	i par	drug	ri par
		dužina lisne	dužina lisne	dužina lisne	dužina lisne
Lokaliteti		ploče	drške	ploče	drške
	N	288	288	285	285
	$\overline{\mathbf{X}}$	-0.004	0.004	-0.015	0.007
Pančevo	SE	0.011	0.001	0.017	0.002
	t	-0.371	2.975	-0.883	4.021
	P	0.711	0.003	0.378	< 0.0001
	FA4a	0.151	0.018	0.235	0.024
	N	209	209	200	200
	$\overline{\mathbf{X}}$	-0.014	0.004	-0.010	0.001
Obrenovac	SE	0.014	0.002	0.020	0.002
	t	-0.968	2.636	-0.490	0.496
	P	0.334	0.009	0.624	0.621
	FA4a	0.162	0.019	0.229	0.022
	N	257	257	256	256
	$\overline{\mathbf{X}}$	0.020	0.005	-0.001	0.005
Autoput	SE	0.013	0.001	0.019	0.002
Autoput	T	1.549	3.379	-0.050	2.839
	P	0.123	0.001	0.960	0.005
	FA4a	0.165	0.019	0.239	0.024
	N	592	592	569	569
	$\overline{\mathbf{X}}$	-0.002	0.006	-0.015	0.008
Kostolac	SE	0.010	0.001	0.014	0.001
	t	-0.194	5.351	-1.120	5.478
	P	0.846	< 0.0001	0.263	< 0.0001
	FA4a	0.199	0.022	0.262	0.026

### Nastavak Tabele 7.

	N	578	578	560	560
	$\overline{\mathbf{X}}$	-0.027	0.003	0.003	0.010
Peščara	SE	0.010	0.001	0.014	0.001
	t	-2.596	2.546	0.225	7.699
	P	0.010	0.011	0.822	< 0.0001
	FA4a	0.199	0.022	0.267	0.025
	N	580	580	580	580
	$\overline{\mathbf{X}}$	-0.031	-0.001	-0.018	-0.004
Vršac	SE	0.009	0.001	0.011	0.001
	t	-3.554	-1.519	-1.582	-4.532
	P	<0.0001	0.129	0.114	< 0.0001
	FA4a	0.169	0.017	0.220	0.018
	N	383	383	380	380
	$\overline{\mathbf{X}}$	-0.005	0.005	0.000	0.003
Banovci	SE	0.010	0.001	0.014	0.001
	t	-0.549	3.494	0.013	2.410
	P	0.583	0.001	0.990	0.016
	FA4a	0.151	0.021	0.219	0.021

Tabela 8.

Rezultati testova značajnosti koeficijenata korelacija (*Spearman*-ovog, *Kendall*-ovog i *Pearson*-ovog) između dobijene apsolutne fluktuirajuće asimetrije |R-L| i veličine osobine (R+L)/2 z a četiri osobine lista *R. pseudoacacia* poreklom sa četiri zagađena (Pančevo, Kostolac, Obrenovac, Autoput) i tri nezagađena (Vršac, Banovci, Peščara) lokaliteta.

(U tabeli su predstavljeni korelacioni koeficijenti i njihove značajnosti posle *Bonfferoni*jeve korekcije: \*\*\* P<0.001, \*\* P<0.01 i \* P<0.05)

		prvi p	par	drugi	par
Lokalitet		dužina lisne ploče	dužina lisne drške	dužina lisne ploče	dužina lisne drške
	Spearman	-0.037	0.184**	-0.066	-0.040
Pančevo	Kendall	-0.026	0.125**	-0.044	-0.025
	Pearson	0.004	0.236***	-0.069	-0.056
	Spearman	0.113	0.123	0.151	0.158
Obrenovac	Kendall	0.075	0.081	0.097	0.110
	Pearson	0.101	0.170	0.207	0.124
	Spearman	-0.007	0.131	-0.035	0.051
Autoput	Kendall	-0.007	0.092	-0.024	0.037
_	Pearson	-0.032	0.177	-0.028	0.074
	Spearman	0.113	0.123	0.071	0.129**
Kostolac	Kendall	0.077	0.082	0.047	0.088**
	Pearson	0.098	0.186***	0.059	0.180***
Peščara	Spearman	0.107	0.153***	0.061	0.064
	Kendall	0.072	0.103***	0.042	0.042
	Pearson	0.091	0.194***	0.021	0.076
	Spearman	0.126**	0.142**	0.129**	0.050
Vršac	Kendall	0.086**	0.095**	0.087**	0.033
	Pearson	0.122	0.142**	0.154***	0.073
	Spearman	0.052	0.185***	0.118	0.253***
Banovci	Kendall	0.037	0.125***	0.077	0.171***
	Pearson	0.040	0.202***	0.119	0.256***

**Tabela 9.**Indeksi fluktuirajuće asimetrije FA1, FA2, FA8a, FA10a i FA17 i njihove standardne greške za četiri osobine lista *R. pseudoacacia* poreklom sa četiri zagađena (Pančevo, Kostolac, Obrenovac, Autoput) i tri nezagađena (Vršac, Banovci, Peščara) lokaliteta.

		prvi	i par	drug	ri par
Lokaliteti	indeksi	dužina lisne ploče	dužina lisne drške	dužina lisne ploče	dužina lisne drške
	FA1	0.144±0.007	0.018±0.001	0.228±0.011	0.025±0.001
	FA2	$0.052 \pm 0.003$	$0.072 \pm 0.003$	$0.108\pm0.007$	$0.097 \pm 0.005$
Pančevo	FA8a	$0.053 \pm 0.003$	$0.072 \pm 0.003$	$0.109\pm0.007$	$0.098 \pm 0.005$
	FA10a	0.151±0.011	$0.014 \pm 0.001$	0.234±0.017	$0.021 \pm 0.002$
	FA17		0.082=	±0.003	
	CFA8a		0.324=	±0.011	_
	FA1	$0.152\pm0.009$	$0.019\pm0.001$	0.219±0.013	0.021±0.001
	FA2	$0.050\pm0.003$	$0.066 \pm 0.004$	$0.092 \pm 0.006$	$0.078 \pm 0.005$
Obrenovac	FA8a	$0.050\pm0.003$	$0.066 \pm 0.004$	$0.092 \pm 0.006$	$0.078 \pm 0.005$
	FA10a	$0.162\pm0.014$	$0.015\pm0.001$	$0.229\pm0.020$	$0.019\pm0.002$
	FA17		0.070=	±0.003	
	CFA8a		0.293=	±0.020	
	FA1	0.223±0.013	$0.024 \pm 0.001$		
	FA2	$0.051 \pm 0.003$	$0.066 \pm 0.004$	$0.089\pm0.006$	$0.088 \pm 0.005$
Autoput	FA8a	$0.051 \pm 0.003$	$0.066 \pm 0.004$	$0.090\pm0.006$	$0.088 \pm 0.005$
	FA10a	$0.164\pm0.013$	$0.014 \pm 0.001$	0.239±0.019	$0.021 \pm 0.002$
	FA17	$0.074 \pm 0.003$			
	CFA8a		0.289=	±0.010	
	FA1	$0.186 \pm 0.007$	$0.022 \pm 0.001$	0.244±0.009	0.026±0.001
	FA2	$0.066 \pm 0.003$	$0.087 \pm 0.003$	0.105±0.004	$0.096 \pm 0.003$
Kostolac	FA8a	$0.066 \pm 0.003$	$0.087 \pm 0.003$	0.105±0.004	$0.096 \pm 0.003$
	FA10a	$0.198 \pm 0.010$	$0.019\pm0.001$	0.261±0.014	$0.023 \pm 0.001$
	FA17		0.087=	±0.002	
	CFA8a		0.340=	±0.008	

### Nastavak Tabele 9.

	FA1	0.190±0.007	0.022±0.001	0.254±0.009	0.025±0.001		
	FA2	$0.055 \pm 0.002$	$0.074 \pm 0.002$	$0.087 \pm 0.004$	$0.080 \pm 0.003$		
Peščara	FA8a	$0.055 \pm 0.002$	$0.074 \pm 0.002$	$0.088 \pm 0.004$	$0.080 \pm 0.003$		
	FA10a	$0.199\pm0.010$	$0.018 \pm 0.001$	0.267±0.014	$0.021\pm0.001$		
	FA17		0.073=	±0.002			
	CFA8a		0.287=	$\pm 0.007$			
	FA1	$0.164 \pm 0.006$	$0.016 \pm 0.001$	0.214±0.007	$0.017 \pm 0.001$		
	FA2	$0.051 \pm 0.002$	$0.065 \pm 0.002$	$0.088 \pm 0.003$	$0.068 \pm 0.002$		
Vršac	FA8a	$0.051 \pm 0.002$	$0.065 \pm 0.002$	$0.089\pm0.003$	$0.068 \pm 0.002$		
	FA10a	$0.169\pm0.009$	$0.014 \pm 0.001$	0.219±0.011	$0.015\pm0.001$		
	FA17		0.068=	±0.001			
	CFA8a	0.2750.005					
	FA1	$0.144 \pm 0.006$	$0.020 \pm 0.001$	0.206±0.009	$0.021 \pm 0.001$		
	FA2	$0.043 \pm 0.002$	$0.070 \pm 0.003$	$0.073\pm0.004$	$0.071 \pm 0.003$		
Banovci	FA8a	$0.043 \pm 0.002$	$0.070 \pm 0.003$	$0.074\pm0.004$	$0.071 \pm 0.003$		
	FA10a	$0.150\pm0.010$	$0.017 \pm 0.001$	0.218±0.014	$0.018 \pm 0.001$		
	FA17		0.064=	±0.002			
	CFA8a		0.254	±0.007			

Tabela 10.

Rezultati ANOVA-e za efekat lokaliteta, kao i rezultati analize kontrasta (t testa, za razliku između zagađenih i nezagađenih lokaliteta) za indekse fluktuirajuće asimetrije FA1, FA2, FA8a, FA17 i CFA8a, četiri osobine lista R. pseudoacacia poreklom sa četiri zagađena (Pančevo, Kostolac, Obrenovac, Autoput) i tri nezagađena (Vršac, Banovci, Peščara) lokaliteta. (bold-statistički značajan efekat, P<0.05)

				prvi par	par					drugi par	r		
	'	duž	dužina lisne ploče	Joče	duž	dužina lisne drške	drške	duži	dužina lisne ploče	že	duž	dužina lisne drške	ške
Efekat lokaliteta	df	SW.	$\boldsymbol{F}$	Ь	SW	F	Ь	SW	F	Ь	MS	F	Ь
FA1	9	0.082	6.63	<0.0001	0.001	8.23	<0.0001	0.076	3.37	0.0026	0.002	11.72	<0.0001
FA2	9	0.011	09.9	<0.0001	0.014	7.33	<0.0001	0.022	5.26	<0.0001	0.028	11.40	<0.0001
FA8a	9	0.012	6.61	<0.0001	0.015	7.52	<0.0001	0.028	5.66	<0.0001	0.030	11.60	<0.0001
					Efeka	Efekat lokaliteta	a df	SM	F	$\boldsymbol{p}$			
						FA17	9	0.013	13.530	<0.0001			
						CFA8a	9	0.200	12.280	<0.0001			
Kontrast													
zagađeno/nezagađeno			t	Ь		t	Ь		t	Ь		t	Ь
FA1			-0.396	-0.396 0.692172		4.745	<0.0001		0.591	0.554301		4.812	<0.0001
FA2			-2.691	0.007200		-1.384	0.166448		-3.378	0.000749		-6.631	<0.0001
FA8a			2.691	0.007200		1.384	0.166448		3.378	0.000749		6.631	<0.0001
					Kontrast	ast							
					zagad	zagađeno/nezagađeno	rađeno	t	Ь				
						FA17		5.854	<0.0001				
						CFA8a		5.541	<0.0001	ı			

Tabela 11.
Rezultati F testa za razliku indeksa FA10a za četiri osobine lista *R. pseudoacacia* između parova lokaliteta-četiri zagađena (Pančevo, Kostolac, Obrenovac, Autoput) i tri nezagađena (Vršac, Banovci, Peščara). (bold-statistički značajan efekat, P<0.05)

		prvi par	par			drug	drugi par	
-	dužina lisne ploče	ne ploče	dužina lis	dužina lisne drške	dužina li	dužina lisne ploče	dužina li	dužina lisne drške
Parovi lokaliteta	F	Ь	F	P	F	Ь	F	Ь
Autoput/Banovci	1.0945	0.2121	1.2006	0.0570	1.0951	0.2112	1.2002	0.0540
Autoput/Kostolac	1.2054	0.0420	1.2970	0.0082	1.0924	0.2089	1.0919	0.2102
Autoput/Obrenovac	1.0173	0.4467	1.0393	0.3833	1.0460	0.3706	1.1448	0.1583
Autoput/Peščara	1.2106	0.0391	1.2222	0.0322	1.1164	0.1564	1.0394	0.3537
Autoput/Pančevo	1.0890	0.2410	1.0341	0.3906	1.0199	0.4351	1.0262	0.4151
Autoput/Vršac	1.0257	0.4112	1.0552	0.3011	1.0900	0.2036	1.4172	0.0004
Banovci/Kostolac	1.3192	0.0016	1.0803	0.2054	1.1963	0.0293	1.3104	0.0022
Banovci/Obrenovac	1.0759	0.2697	1.1551	0.1227	1.0469	0.3506	1.0483	0.3466
Banovci/Peščara	1.3249	0.0015	1.0180	0.4266	1.2226	0.0173	1.1547	0.0650
Banovci/Pančevo	0.9950	0.5160	1.2415	0.0262	1.0738	0.2588	1.1695	0.0779
Banovci/Vršac	1.1225	0.1098	1.2668	0.0052	1.0047	0.4827	1.1808	0.0364
Kostolac/Obrenovac	1.2262	0.0410	1.2479	0.0296	1.1427	0.1328	1.2500	0.0314
Kostolac/Peščara	1.0043	0.4791	1.0611	0.2369	1.0220	0.3981	1.1348	0.0668
Kostolac/Pančevo	1.3126	0.0045	1.3411	0.0024	1.1141	0.1508	1.1205	0.1384
Kostolac/Vršac	1.1752	0.0256	1.3685	0.0001	1.1908	0.0184	1.5474	<0.0001
Obrenovacen/Peščara	1.2315	0.0383	1.1759	0.0838	1.1678	0.0980	1.1015	0.2112
Obrenovacen/Pančevo	1.0705	0.2959	1.0748	0.2853	1.0257	0.4263	1.1156	0.2047
Obrenovacen/Vršac	1.0434	0.3625	1.0967	0.2031	1.0420	0.3541	1.2379	0.0297
Peščara/Pančevo	1.3183	0.0041	1.2639	0.0123	1.1386	0.1077	1.0128	0.4465
Peščara/Vršac	1.1803	0.0233	1.2897	0.0011	1.2169	0.0096	1.3635	0.0001
Pančevo/Vršac	1.1169	0.1437	1.0204	0.4170	1.0688	0.2537	1.3810	0.0007

**Tabela 12.**Rezultati *ANOVA*-e za efekte individue, osobine i interakcije individue i osobine, za indeks fluktuirajuće asimetrije (|ln(D)-ln(L)|) multipnih osobina lista *R. pseudoacacia* u četiri zagađena (Pančevo, Kostolac, Obrenovac, Autoput) i tri nezagađena (Vršac, Banovci, Peščara) lokaliteta.

(\*\*\* P<0.001, \*\* P<0.01 i \* P<0.05)

			ln(D	)-ln(L)	
Lokalitet	Efekat	df	MS	$\boldsymbol{\mathit{F}}$	P
	individua	147	0.020	3.700	<0.0001
Pančevo	osobina	3	0.372	70.420	< 0.0001
	ind x osobina	441	0.011	2.070	< 0.0001
	greška	1700	0.005		
	individua	113	0.013	3.900	< 0.0001
Obrenovac	osobina	3	0.131	40.000	< 0.0001
	ind x osobina	337	0.007	2.050	< 0.0001
	greška	1182	0.003		
	individua	134	0.017	3.840	<0.0001
Autoput	osobina	3	0.205	46.460	< 0.0001
	ind x osobina	402	0.008	1.810	< 0.0001
	greška	1512	0.004		
	individua	299	0.018	3.610	< 0.0001
Kostolac	osobina	3	0.419	81.820	< 0.0001
	ind x osobina	895	0.011	2.200	< 0.0001
	greška	3446	0.005		
	individua	297	0.013	3.340	< 0.0001
Peščara	osobina	3	0.306	77.040	< 0.0001
	ind x osobina	885	0.009	2.330	< 0.0001
	greška	3366	0.004		
	individua	299	0.007	2.790	< 0.0001
Vršac	osobina	3	0.287	107.390	< 0.0001
	ind x osobina	897	0.006	2.220	< 0.0001
	greška	3440	0.003		
	individua	198	0.009	3.210	<0.0001
Banovci	osobina	3	0.223	80.160	<0.0001
	ind x osobina	594	0.006	2.140	<0.0001
	greška	2256	0.003		

#### Tabela 13.

Rezultati ANOVA-e za efekte lokaliteta, osobine i interakcije lokaliteta i osobine za indeks fluktuirajuće asimetrije (|ln(D)-ln(L)|) multipnih osobina lista R. pseudoacacia za sve lokalitete zajedno.

(**bold**-statistički značajan efekat, P<0.05)

		ln(D)	-ln(L)	
Efekat	df	MS	$\boldsymbol{\mathit{F}}$	P
lokalitet	6	0.131	10.550	<0.0001
osobina	3	0.708	61.610	< 0.0001
lokalitet x osobina	18	0.012	2.570	< 0.0001
greška	11406	0.005		

**Tabela 14.**Koeficijenti linearnih korelacija između FA8a indeksa pojedinačnih osobina za sve lokalitete zajedno (N=1434).

(**bold**-statistički značajan efekat, P<0.05)

		pr	vi par	dr	ugi par
		dužina lista	dužina peteljke	dužina lista	dužina peteljke
prvi par	dužina lista	1.000	0.089	0.218	0.116
	dužina peteljke		1.000	-0.001	0.068
drugi	dužina lista			1.000	0.341
par	dužina notoliko				1.000
	dužina peteljke				

Tabela 15. Veličina uzorka N, srednja vrednost  $\overline{X}$  (ppm) i standardna greška (SE) za koncentracija četiri teška metala (As, Cd, Ni i Pb) u listu *R. pseudoacacia* za četiri zagađena (Pančevo, Kostolac, Obrenovac, Autoput) i tri nezagađena (Vršac, Banovci, Peščara) lokaliteta. ). Rezultati ANOVA-e za efekat lokaliteta i rezultati analize kontrasta (t testa). (**bold**-statistički značajan efekat, P<0.05)

Lokaliteti		As	Cd	Ni	Pb
	N	3	3	3	3
Pančevo	$\overline{\mathbf{X}}$	0	0.003	1.223	1.855
	SE	0	0.002	0.085	0.490
	N	3	3	3	3
Obrenovac	$\overline{\mathbf{X}}$	0.277	0	1.138	1.403
	SE	0.020	0	0.131	0.606
	N	3	3	3	3
Autoput	$\overline{\mathbf{X}}$	0	0.008	6.700	2.067
	SE	0	0.008	0.104	0.116
	N	3	3	3	3
Kostolac	$\overline{\mathbf{X}}$	0.293	0	3.318	0.730
	SE	0.052	0	0.650	0.107
	N	3	3	3	3
Peščara	$\overline{\mathbf{X}}$	0	0	1.290	0.707
	SE	0	0	0.138	0.102
	N	3	3	3	3
Vršac	$\overline{\mathbf{X}}$	0	0.017	5.895	1.530
	SE	0	0.014	2.142	0.183
	N	3	3	3	3
Banovci	$\overline{\mathbf{X}}$	0.030	0.022	3.640	0.970
	SE	0.030	0.008	0.714	0.065
Efekat					
	MS	0.014	0.0002	15.716	0.875
lokalitet	df	6	6	6	6
iokanici	F	43.99	1.66	6.58	3.00
	P	<0.0001	0.204	0.002	0.042
Kontrast					
zagađeno/nezagađeno	F	43.988	1.658	6.576	2.989
_	P	<0.0001	0.204	0.002	0.043
autoput/ostali	F	4.658	-0.207	-4.096	-2.577
	P	0.0004	0.839	0.001	0.022

Upoređenje 16 morfometrijskih osobina (videti Materijal i Metode) pupoljaka vrste I. pumila koji naseljavaju alternativna staništa (otvoreno i zasenčeno), u pet morfoloških faza razvića (H-skriveni pupoljak, S-spate, C-obojeni pupoljak, B-finalni pupoljak, F-otvoreni cvet). Predstavljene su srednje vrednosti po staništu i značajnosti razlika između staništa iz ANOVA-e. Tabela 16.

(bold-statistički značajan efekat posle Bonfferoni-jeve korekcije)

	Р	0.0001	0.0001	0.0001	0.0001	0.0018	0.0001	0.0001	0.0001	0.0001	0.0005	0.0001	0.9156	0.0032	0.0523	0.2672	0.011
H	Zasenčeno stanište	89.56	80.04	53.88	19.46	4.67	83.54	8.49	58.63	17.29	58.29	21.54	27.98	13.33	10.26	24.06	15.36
	Otvoreno stanište	70.2	67.52	19.33	14.23	4.08	60.36	66.9	45.65	14.33	52.69	17.73	28.06	11.57	9.53	23.32	14.07
	Ь	0.0002	0.0215	0.0001	0.0025	0.6886	0.0004	0.0196	0.0003	0.0105	0.0619	0.0535	0.8415	0.0543	0.1296	0.1016	0.0247
В	Zasenčeno stanište	90.22	78.13	57.31	15.04	4.06	60.61	7.33	49.72	13.95	50.24	16.49	26.49	11.43	9.54	24.62	16.26
	Otvoreno stanište	72.14	67.29	20.59	12.97	3.94	48.34	69.9	38.34	12.42	46.48	14.52	26.31	10.35	8.86	23.3	14.88
	Ь	0.0001	0.0002	0.0001	0.0134	0.8929	0.0001	0.0002	0.0001	0.0228	0.0014	0.0041	0.2145	0.0047	0.0794	0.0528	0.0121
C	Zasenčeno stanište	86.18	75.27	50.07	12.54	3.73	44.8	6.78	42.63	12.26	43.83	14.14	23.96	10.09	8.76	22.96	15.54
	Otvoreno stanište	8.79	62.41	15.1	11.23	3.72	30.7	5.99	29.93	11.06	38.14	11.88	22.83	8.35	8.06	21.68	14.25
	Р	0.001	0.025	0.0001	0.3007	0.6502	0.0968	0.022	0.0003	0.61	0.8396	0.3647	0.6296	0.4036	0.5861	0.6652	0.0222
S	Zasenčeno stanište	80.58	69.2	35.66	10.06	3.3	20.11	5.54	28.64	9.47	27.33	9.26	14.89	6.49	6.28	18.22	15.94
	Otvoreno stanište	66.75	29.67	14	9.52	3.37	17.44	4.98	19.1	9.31	27.27	8.79	15.73	6.12	90.9	17.94	14.5
	Ь	0.2916	0.5992	0.0001	0.0166	0.4277	0.303	0.9467	0.0989	0.9524	0.9108	0.7483	0.7242	0.2681	0.6265	0.2848	0.2427
Н	Zasenčeno stanište	46.04	35.57	23.25	7.14	2.64	7.39	3.64	12.14	6.18	13.68	4.43	6.36	2.86			
	Otvoreno stanište	41.08	33.04	10.8	5.76	2.54	6.54	3.62	9.18	6.21	14.05	4.7	68.9	5.66	2.97	12.49	12.2
	Osobina	LIS	TIIS	LS	10	MO	TL	TR	FL	FW	SF	SW	SMIL	CL	CW	STL	AL

(otvoreno i zasenčeno), u tri vremenske tačke (1, 2 i 3) razdvojene periodom od tri dana. Predstavljene su srednje vrednosti po staništu i značajnosti razlika između staništa iz ANOVA-e. (**bold**-statistički značajan efekat posle *Bonfferoni*-jeve korekcije) Upoređenje 19 morfometrijskih osobina osobina (videti Materijal i Metode) pupoljaka vrste I. pumila koji naseljavaju alternativna staništa Tabela 17.

		I			2			33	
Osobina	Otvoreno stanište	Zasenčeno stanište	Ь	Otvoreno stanište	Zasenčeno stanište	Ь	Otvoreno stanište	Zasenčeno stanište	Ь
TT	41.36	32.95	0.0477	50.54	32.2	0.0001	54.47	31.44	0.0002
LW	6.49	5.71	0.0759	68.9	5.93	0.0098	6.94	5.87	0.0493
LIS	21.49	13.31	0.0046	30.56	12.44	0.0003	33.03	12.6	0.0004
TIIS	16.82	9.31	0.0039	24.99	8.48	0.0006	27.27	8.73	0.0007
LS	7.93	14.34	0.0001	7.92	13.41	0.0001	8.7	14.31	0.0001
OF	3.66	3.31	0.291	4.56	3.71	0.0366	5.13	3.87	0.038
OW	1.85	1.96	0.3006	1.87	1.86	0.7383	2.06	1.8	0.0677
TL	3.68	2.46	0.0186	5.53	2.37	0.0546	6.92	2.66	0.0264
TR	2.75	2.39	0.0221	3.07	2.34	0.0107	3.35	2.37	0.001
FL	9.23	6.18	0.0061	12.25	5.94	900.0	14.18	6.05	0.003
BL	4.48	3.19	0.0186	6.16	3.13	0.0238	7.5	3.04	0.0066
FW	4.25	2.78	0.0002	5.25	3.03	0.0008	5.81	2.94	0.0002
SL	8.03	6.01	0.0215	10.87	5.82	0.0062	13.03	5.67	0.0024
SW	2.74	1.78	0.0012	3.68	1.87	0.0015	4.49	1.81	0.0003
SML	3.29	2	0.0089	5.35	1.82	0.0155	6.36	2.09	0.0026
$C\Gamma$	1.59	0.76	0.0014	2.62	98.0	0.0044	3.06	0.89	0.0064
CW	1.73	1.1	0.0048	2.46	1.26	0.0019	2.45	1.18	0.0006
STL	9.11	7.01	0.0056	10.47	6.9	0.0003	11.43	92.9	0.0004
AL	9.11	7.01	0.0056	10.47	6.9	0.0003	10.93	92.9	0.0003

Tabela 18.

Veličina uzorka N, srednja vrednost  $\overline{X}$  (cm), standardna greška (SE) i greška mrenja ME1(cm), kao i rezultati ANOVA-e za efekat lokaliteta za četiri osobine cveta I. pumila poreklom iz jednog zagađenog (Put BG-NS) i jednog nezagađenog (Peščara) lokaliteta (**bold**-statistički značajan efekat, P<0.05)

		fol	r	sti	gma
Lokaliteti		dužina	širina	dužina	širina
	N	55	55	51	51
<b>Put BG-NS</b>	$\overline{\mathbf{X}}$	4.373	1.564	2.430	1.084
	SE	0.052	0.050	0.041	0.057
	ME1	0.047	0.022	0.026	0.013
	N	149	149	148	148
Peščara	$\overline{\mathbf{X}}$	5.076	1.617	2.803	1.046
	SE	0.033	0.014	0.018	0.007
	ME1	0.049	0.019	0.029	0.014
Efekat					
	MS	19.830	0.002	5.284	0.000002
lokalitet	df	1	1	1	1
ionuntet	F	123.96	6.94	92.04	0.49
	P	< 0.0001	0.009	0.0001	0.487

Tabela 19.

Rezultati *ANOVA-*e za efekat lokaliteta (Levene-ov test) na grešku merenja ME1 četiri osobine cveta *I. pumila*, kao i rezultati *ANOVA-*e za efekat osobine i lokaliteta na grešku merenja ME1 za sve osobine zajedno.

(bold-statistički značajan efekat, P<0.05)

				fol						Sti	stigma			
			dužina		Š	širina			dı	dužina		Š	širina	
Efekat	df	MS	F	Ь	MS	F	Ь	fр	MS	F	Ь	MS	F	$\boldsymbol{P}$
za pojedinačne osobine														
lokalitet	1	0.0001	0.17	0.679	0.0003	2.51 0.115	0.115	_	0.0004	1.80	0.181	0.0004 1.80 0.181 0.00003 0.45 0.505	0.45	0.505
greška	202	0.0007			0.0001			197	0.0002			0.0001		
				Efekat		df	. WS	F	Ь					
				za sve o	za sve osobine zajedno	6								
				osobina	1	3	0.046	175.33	175.33 <0.0001					
				lokalitet	يد		0.0001	0.33	0.568					

0.0003

801

greška

### Tabela 20.

Vrednosti indeksa radijalne asimetrije (SD i CV) za četiri osobine cveta *I. pumila* kao i vrednosti kompozitnih indeksa radijalne asimetrije (MCSD i MCCV) i njihove standardne greške za sve osobine zajedno u jednom zagađenom (Put BG-NS) i jednom nezagađenom (Peščara) lokalitetu.

		fe	ol	stig	ma
Lokaliteti	indeksi	dužina	širina	dužina	širina
	SD	0.110±0.010	$0.026 \pm 0.002$	$0.052 \pm 0.006$	$0.022 \pm 0.003$
<b>Put BG-NS</b>	CV	0.057±0.005	$0.038 \pm 0.003$	$0.040 \pm 0.004$	$0.040 \pm 0.004$
	MCSD		0.067=	<b>±</b> 0.004	
	MCCV		0.031=	<b>±</b> 0.002	
	SD	0.082±0.005	$0.016 \pm 0.001$	$0.046 \pm 0.003$	$0.017 \pm 0.001$
Peščara	CV	0.033±0.002	$0.020 \pm 0.001$	$0.021\pm0.001$	$0.020\pm0.001$
	MCSD		0.045=	<b>±0.002</b>	
	MCCV		0.018=	<b>±0.001</b>	

Tabela 21.

Rezultati ANOVA-e za efekat lokaliteta na indekse radijalne asimetrije (SD i CV) za četiri osobine cveta I. pumila kao i na kompozitne indekse radijalne asimetrije (MCSD i MCCV) za sve osobine zajedno. (bold-statistički značajan efekat, P<0.05)

Tabela 22.

Rezultati ANOVA-e za efekte individue, osobine i interakcije individue i osobine za indekse radijalne asimetrije (SD i CV) multipnih osobina cveta I. pumila poreklom iz jednog zagađenog (Put BG-NS) i jednog nezagađenog (Peščara) lokaliteta (**bold**-statistički značajan efekat, P<0.05)

		,		QS			CV	
Lokaliteti	Efekat	df	NS.	F	Ь	SW	F	Ь
	individua	54	0.001	33.33	<0.0001	0.0007	29.86	<0.0001
Put BG-NS	osobina	3	0.001	58.12	<0.0001	0.009	391.31	< 0.0001
	ind x osobina	124	0.0003	17.89	<0.0001	0.0004	17.74	<0.0001
	greška	182	0.00002			0.00002		
	individua	148	0.0001	19.19	<0.0001	0.0001	13.62	<0.0001
Peščara	osobina	3	0.001	129.64	<0.0001	0.012	1795.72	< 0.0001
	ind x osobina	436	0.0001	15.35	<0.0001	0.0001	12.24	<0.0001
	greška	588	0.00001			0.00001		

**Tabela 23.**Rezultati *ANOVA*-e za efekte lokaliteta, osobine i interakcije lokaliteta i osobine za indekse radijalne asimetrije (SD i CV) multipnih osobina cveta *I. pumila* za sve lokalitete zajedno.

(**bold**-statistički značajan efekat, P<0.05)

			SD			CV	
Efekat	df	MS	$\boldsymbol{\mathit{F}}$	P	MS	$\boldsymbol{\mathit{F}}$	P
lokalitet	1	0.024	46.19	< 0.0001	0.016	99.77	<0.0001
osobina	3	0.048	92.15	< 0.0001	0.003	17.89	< 0.0001
lokalitet x osobina	3	0.001	2.74	0.0422	0.001	5.83	0.0006
greška	798	0.0005			0.0002		

#### Tabela 24.

Koeficijenti linearnih korelacija između indeksa radijalne asimetrije (SD i CV) pojedinačnih osobina osobina cveta *I. pumila* za sve lokalitete zajedno. Korelacije između SD indeksa su predstavljene vrednostima iznad dijagonale, a korelacije između CD indeksa su predstavljene vrednostima ispod dijagonale (**bold**-statistički značajan efekat, P<0.05)

		fol	!	stigma		
		dužina	širina	dužina	širina	
fol	dužina	1.00	0.25	0.33	0.13	
	širina	0.340	1.00	0.23	0.43	
stigma	dužina	0.396	0.310	1.00	0.22	
	širina	0.165	0.467	0.296	1.00	

#### Tabela 25.

Veličina uzorka N, greška merenja ME1(cm), indeks fluktuirajuće asimetrije FA1(cm) i odnos fluktuirajuće asimetrije i greške merenja (FA1/ME1) dve osobine cveta (širine desne i leve polovine fola i širine desne i leve polovine stigme) *I. pumila* poreklom iz jednog zagađenog (Put BG-NS) i jednog nezagađenog (Peščara) lokaliteta. (**bold**-odnosi FA1/ME>2)

Lokaliteti		fol	stigma
	N	55	51
<b>Put BG-NS</b>	ME1	0.024	0.014
	FA1	0.043	0.024
	FA1/ME	1.828	1.748
	N	149	148
Peščara	ME1	0.024	0.014
	FA1	0.029	0.014
	FA1/ME	1.207	0.978

Tabela 26.

Dvofaktorska *ANOVA* (gde je strana fiksni a individua random faktor) na dužinama desne (R) i leve (L) strane dve osobine cveta *I. pumila* poreklom iz jednog zagađenog (Put BG-NS) i jednog nezagađenog (Peščara) lokaliteta (**bold**-statistički značajan efekat, P<0.05)

				lof			stigma	na	
Lokaliteti	Efekat	df	SW	F	P	fp	SW	F	$\boldsymbol{P}$
	individua	54	0.0302	33.99	<0.0001	50	0.044	21.00	<0.0001
Put BG-NS	strana		0.005	5.94	0.016		0.001	0.30	0.584
	strana x deo(ind)	159	0.001	8.01	<0.0001	142	0.002	8.29	<0.0001
	greška	320	0.0001			286	0.0003		
	individua	148	0.023	89.23	<0.0001	147	0.035	4,	<0.0001
Peščara	strana	-	0.033	127.16	<0.0001	1	0.000001	0.00	0.969
	strana x deo(ind)	444	0.0003	009.9	<0.0001	442	9000.0	5.56	< 0.0001
	greška	890	0.00004			988	0.0001		

**Tabela 27.** Greške merenja ME1(cm), ME1\*(cm), ME3(%) i ME5 kao i ME1 kao procenat FA4a (za formule videti Materijal i Metode) za dve osobine cveta *I. pumila* poreklom iz jednog zagađenog (Put BG-NS) i jednog nezagađenog (Peščara) lokaliteta

Lokaliteti		fol	stigma
Put BG-NS	ME1	0.024	0.014
	ME1*	0.008	0.013
	ME3	12.486	12.073
	ME5	0.778	0.785
	ME1kao%FA4a	35.335	34.746
Peščara	ME1	0.024	0.014
	ME1*	0.005	0.009
	ME3	15.118	17.925
	ME5	0.737	0.696
	ME1kao%FA4a	38.881	42.337

## Tabela 28.

Rezultati *ANOVA*-e za efekat lokaliteta na grešku merenja ME1 dve osobine cveta *I. pumila* poreklom iz jednog zagađenog (Put BG-NS) i jednog nezagađenog (Peščara) lokaliteta, kao i rezultati *ANOVA*-e za efekat lokaliteta i osobine na grešku merenja ME1 za obe osobine zajedno.

				fol				
		dužina	!				širina	
Efekat	df	MS	$\boldsymbol{\mathit{F}}$	P	df	MS	F	P
za pojedinačne osobine								
lokalitet	1	0.00000	0.00	0.980	1	0.000	0.86	0.354
greška	202	0.00004			197	0.000	01	
	Efekat		df	MS		F	P	
	za sve os	sobine zajedno						
	osobina		1	0.009	35	52.12	< 0.0001	
	lokalite	t	1	0.0000	1 (	).23	0.634	
	greška		400	0.0000	3			

**Tabela 29.** Koeficijenti asimetričnosti krive (*Skewness* i *Kurtosis*) distribucije razlike desne i leve strane (R-L) dve osobine cveta *I. pumila* poreklom iz jednog zagađenog (Put BG-NS) i jednog nezagađenog (Peščara) lokaliteta. (**bold**-statistički značajan efekat, P<0.05)

Lokaliteti		fol	stigma
	N	159	142
	Skewness	0.356	0.092
<b>Put BG-NS</b>	P	0.064	0.653
	Kurtosis	0.090	0.709
	P	0.815	0.079
	N	445	443
	Skewness	-0.185	0.229
Peščara	P	0.109	0.049
	Kurtosis	0.926	0.932
	P	< 0.0001	< 0.0001

#### Tabela 30.

Veličina uzorka N, prosečna vrednost razlike desne i leve strane  $\overline{\mathbf{X}}$  (cm), standardna greška (SE), indeks fluktuirajuće asimetrije (FA4a) i rezultati t testa za odstupanje distribucije razlike desne i leve strane (R-L) od nule za dve osobine cveta *I. pumila* poreklom iz jednog zagađenog (Put BG-NS) i jednog nezagađenog (Peščara) lokaliteta. (**bold**-statistički značajan efekat, P<0.05)

Lokaliteti		fol	stigma
	N	159	142
	$\overline{\mathbf{X}}$	0.011	0.0003
<b>Put BG-NS</b>	SE	0.005	0.003
	T	2.428	0.123
	P	0.016	0.902
	FA4a	0.024	0.036
	N	445	443
	$\overline{\mathbf{X}}$	0.017	-0.001
Peščara	SE	0.002	0.001
	T	10.948	-1.624
	P	<0.0001	0.105
	FA4a	0.013	0.020

**Tabela 31.**Rezultati korelacionih analiza (*Spearman*-ove, *Kendall*-ove i *Parson*-ove) između apsolutne fluktuirajuće asimetrije |R-L| i veličine osobine (R+L)/2, z a dve osobine cveta *I. pumila* poreklom iz jednog zagađenog (Put BG-NS) i jednog nezagađenog (Peščara) lokaliteta

Lokaliteti			fol	stigma
	Spearman	r	0.036	-0.069
	_	P	0.803	0.667
<b>Put BG-NS</b>	Kendall	r	0.027	-0.051
		P	0.783	0.637
	Pearson	r	-0.281	-0.350
		P	0.097	0.037
	Spearman	r	0.109	0.011
		P	0.190	0.896
Peščara	Kendall	r	0.074	0.010
		P	0.183	0.858
	Pearson	r	0.120	-0.061
		P	0.150	0.466

**Tabela 32.** Indeksi fluktuirajuće asimetrije FA1, FA2, FA8a, FA10a, FA17 i CFA8a i njihove standardne greške za dve osobine cveta *I. pumila* poreklom iz jednog zagađenog (Put BG-NS) i jednog nezagađenog (Peščara) lokaliteta.

Lokaliteti	indeksi	fol	stigma
	FA1	0.043±0.003	0.024±0.002
	FA2	0.058±0.004	$0.048 \pm 0.004$
<b>Put BG-NS</b>	FA8a	0.058±0.004	$0.048 \pm 0.004$
	FA10a	0.022±0.004	$0.034\pm0.006$
	FA17	0.054=	±0.003
	CFA8a	0.090=	±0.006
	FA1	0.029±0.001	0.014±0.001
	FA2	0.036±0.002	0.027±0.001
Peščara	FA8a	0.036±0.002	0.027±0.001
	FA10a	0.012±0.001	$0.018\pm0.002$
	FA17	0.032=	±0.001
	CFA8a	0.062=	±0.002

**Tabela 33.**Rezultati A*NOVA*-e za efekat lokaliteta na indekse fluktuirajuće asimetrije FA1, FA2, FA8a, FA17 i CFA8a, kao i rezultati F testa za indeks FA10a, za dve osobine cveta *I. pumila* poreklom iz jednog zagađenog (Put BG-NS) i jednog nezagađenog (Peščara) lokaliteta. (**bold**-statistički značajan efekat, P<0.05)

				fol			stigm	а
indeks	Efekat	df	MS	$\boldsymbol{\mathit{F}}$	P	MS	$\boldsymbol{\mathit{F}}$	P
FA1		1	0.008	26.26	<0.0001	0.003	41.39	<0.0001
FA2		1	0.018	35.23	< 0.0001	0.014	41.49	< 0.0001
FA8a	lokalitet	1	0.018	35.28	< 0.0001	0.014	41.52	< 0.0001
FA10a	lokantet	1		1.88	0.002		1.87	0.002
<b>FA17</b>		1	0.021	64.27	< 0.0001			
CFA8a		1	0.031	27.71	< 0.0001			

**Tabela 34.** Rezultati *ANOVA*-e za efekte individue, osobine i interakcije individue i osobine za indeks fluktuirajuće asimetrije ( $|\ln(D)-\ln(L)|$ ) multipnih osobina cveta *I. pumila* poreklom iz jednog zagađenog (Put BG-NS) i jednog nezagađenog (Peščara) lokaliteta **(bold**-statistički značajan efekat, P<0.05)

			ln(D)	)-ln(L)	
Lokaliteti	Efekat	df	MS	$\boldsymbol{\mathit{F}}$	P
	individua	54	0.001	3.27	<0.0001
<b>Put BG-NS</b>	osobina	1	0.002	5.14	0.026
	ind x osobina	35	0.0009	2.23	0.001
	greška	91	0.0004		
	individua	148	0.0005	3.18	< 0.0001
Peščara	osobina	1	0.014	88.12	< 0.0001
	ind x osobina	144	0.000	2.81	< 0.0001
	greška	294	0.0002		

#### Tabela 35.

Rezultati ANOVA-e za efekte lokaliteta, osobine i interakcije lokaliteta i osobine za indeks fluktuirajuće asimetrije (|ln(D)-ln(L)|) multipnih osobina cveta I. pumila za sve lokalitete zajedno.

			ln(D)-ln(L)	
Efekat	df	MS	$oldsymbol{F}$	P
lokalitet	1	0.032	74.35	<0.0001
osobina	1	0.006	12.91	0.0004
lokalitet x osobina	1	0.00002	0.05	0.816
greška	381	0.0004		

Tabela 36.

Veličina uzorka N, srednja vrednost  $\overline{X}$  (mg/g) i standardna greška (SE) koncentracija fotosintetičkih pigmenata (Chla, Chlb, ukupni Chl i karotenoidi) i njihovih odnosa (Chla/Chlb i Chla/karotenoidi) u listu *I. pumila* poreklom sa jednog zagađenog (Put BG-NS) i jednog nezagađenog (Peščara) lokaliteta, kao i rezultati ANOVA-e za efekat lokaliteta na koncentracije fotosintetičkih pigmenata i njihove odnose u

listu *I. pumila.* (**bold**-statistički značajan efekat, P<0.05)

Lokaliteti		chla	chlb	ukupni chl	karotenoidi	chla/chlb	ukupni chl karotenoidi chla/chlb chla/karotenoidi
	Z	143	143	143	143	143	143
Put BG-NS		1.709	0.574	2.283	0.434	3.024	3.918
	SE	0.029	0.011	0.038	900.0	0.032	0.034
		;	;	;	;	:	;
	Z	141	141	141	141	141	141
Peščara	×	1.957	0.711	2.668	0.476	2.790	4.102
	SE	0.038	0.016	0.052	0.008	0.024	0.029
Efekat							
	MS	4.608	1.466	11.274	0.139	0.185	2.885
lokalitet	df	1	_	1	1		1
	Έ.	23.96	63.77	34.82	15.70	16.46	28.16
	Ь	<0.0001	<0.0001	<0.0001	0.0002	0.0001	<0.0001
			•				

Tabela 37. Veličina uzoraka N, srednja vrednost  $\overline{X}$  (cm), standardna greška (SE) i greška merenja ME1(cm) dve osobine cveta *I. germanica* poreklom iz jednog zagađenog (Beograd) i dva nezagađena (Banovci i Belegiš) lokaliteta. Rezultati *ANOVA*-e za efekat zagađenja i lokaliteta .

Lokaliteti		dužina	širina
	N	133	133
Zagađeno	$\overline{\mathbf{X}}$	7.454	3.287
_	SE	0.057	0.048
	ME1	0.090	0.058
	N	137	136
Nezagađeno	$\overline{\mathbf{X}}$	6.848	2.765
	SE	0.057	0.033
	ME1	0.114	0.082
	N	103	102
Banovci	$\overline{\mathbf{X}}$	6.897	2.748
	SE	0.070	0.039
	ME1	0.112	0.080
	N	34	34
Belegiš	$\overline{\mathbf{X}}$	6.700	2.816
	SE	0.088	0.059
	ME1	0.119	0.086
	N	133	133
Beograd	$\overline{\mathbf{X}}$	7.454	3.287
J	SE	0.057	0.048
	ME1	0.119	0.086
Efekat			
	MS	25.004	18.296
zagađenje	df	1	1
	F	57.140	80.520
	P	<0.0001	< 0.0001
greška	MS	0.438	0.227
	df	267.000	266.000
	MS	12.972	9.209
lokalitet	df	2	2
	F	30	40
	P	<0.0001	<0.0001
greška	MS	0.436	0.228
	df	266	265

Tabela 38.

Rezultati *ANOVA*-e za efekat zagađenja i lokaliteta na grešku merenja (ME1) dve osobine cveta *I. germanica* poreklom iz jednog zagađenog (Beograd) i dva nezagađena (Banovci i Belegiš) lokaliteta, kao i rezultati *ANOVA*-e za efekat zagađenja i osobine, tj lokaliteta i osobine na grešku merenja (ME1) obe osobine zajedno.

(bold-statistički značajan efekat, P<0.05)

-		du	dužina				širina	na	
Efekat	df	MS	F	$\boldsymbol{P}$		df	MS	F	$\boldsymbol{P}$
za pojedinačne osobine									
zagađenje	1	0.040	080.9	0.0143	£	2	0.037	10.180	0.0016
greška	268	9900.0				267	0.0036		
lokalitet	2	0.021	3.120	0.0458	82	2	0.019	5.180	0.0062
greška	267	9900.0				266	0.0036		
	Efekat	at		df	MS	F	P		
	as 22	za sve osobine zajedno	ajedno						
	osobina	ina		1	0.136	0.136 26.900	<0.0001	11	
	zaga	zagađenje		П	9/0.0	15.070	0.0001	1	
	greška	ка		536	0.005				
	osobina	ina		1	0.136	0.136 26.880	<0.0001	11	

0.0005

7.710

0.039

lokalitet greška

2 535

**Tabela 39.**Vrednosti indeksa radijalne asimetrije (SD i CV) i njihove standardne greške za dve osobine cveta *I. germanica* kao i vrednosti kompozitnih indeksa radijalne asimetrije (MCSD i MCCV) i njihove standardne greške za obe osobine zajedno u dva zagađenja (zagađeno i nezagađeno) i svakom lokalitetu (Banovci, Belegiš, Beograd)

Lokaliteti	indeks	dužina	širina	
	SD	0.173±0.010	0.139±0.007	
Zagađeno	CV	0.023±0.001	0.042±0.002	
	MCSD	0.156=	±0.006	
	MCCV	0.033=	±0.001	
	SD	0.125±0.007	0.107±0.006	
Nezagađeno	CV	0.018±0.001	0.039±0.002	
	MCSD	0.115=	±0.005	
	MCCV	0.028=	±0.001	
	SD	0.117±0.007	0.097±0.006	
Banovci	CV	0.017±0.001	0.035±0.002	
	MCSD	0.107=	±0.004	
	MCCV	0.026±0.001		
	SD	0.149±0.017	0.135±0.015	
Belegiš	CV	0.022±0.003	0.048±0.005	
	MCSD	0.142=	±0.013	
	MCCV	0.035=	±0.003	
	SD	0.173±0.010	0.139±0.007	
Beograd	CV	0.023±0.001	0.042±0.002	
	MCSD	0.156=	±0.006	
	MCCV	0.033=	±0.001	

**Tabela 40.**Rezultati *ANOVA*-e za efekat zagađenja i lokaliteta na dve osobine cveta *I. germanica* poreklom iz jednog zagađenog (Beograd) i dva nezagađena (Banovci i Belegiš) lokaliteta

				dužino	а		širina	
Indeks	Efekat	df	MS	$\boldsymbol{\mathit{F}}$	P	MS	$\boldsymbol{\mathit{F}}$	P
SD		1	0.019	15.31	0.0001	0.015	14.20	0.0002
CV	zagađenje	1	0.001	8.57	0.004	0.001	1.75	0.187
MCSD	zagadenje	1	0.109	26.39	<0.0001			
MCCV		1	0.001	6.48	0.012			
SD		2	0.011	9.12	0.0001	0.011	10.54	< 0.0001
CV	lokalitet	2	0.001	6.17	0.002	0.003	5.03	0.007
MCSD	1011111100	2	0.070	17.38	<0.0001			
MCCV		2	0.002	9.09	0.0002			

**Tabela 41.**Rezultati *ANOVA*-e za efekte individue, osobine i interakcije individue i osobine za indekse radijalne asimetrije (SD i CV) multipnih osobina cveta *I. germanica* poreklom iz jednog zagađenog (Beograd) i dva nezagađena (Banovci i Belegiš) lokaliteta. (**bold**-statistički značajan efekat, P<0.05)

				SD			CV	
Lokaliteti	Efekat	df	MS	F	P	MS	$\boldsymbol{\mathit{F}}$	P
	individua	127	0.001	9.10	< 0.0001	0.0007	9.01	<0.0001
nezagađeno	osobina	1	0.052	669.94	< 0.0001	0.111	1515.44	< 0.0001
	indxosobina	127	0.0006	8.17	< 0.0001	0.0006	8.65	< 0.0001
	greška	256	0.0001			0.0001		
	individua	132	0.001	9.38	< 0.0001	0.0005	7.88	< 0.0001
zagađeno	osobina	1	0.049	585.40	< 0.0001	0.085	1416.51	< 0.0001
	indxosobina	132	0.001	8.75	< 0.0001	0.0005	7.86	< 0.0001
	greška	266	0.0001			0.016		
	individua	96	0.0004	5.55	<0.0001	0.0004	4.79	<0.0001
Banovci	osobina	1	0.030	389.47	< 0.0001	0.067	852.53	< 0.0001
	indxosobina	96	0.001	6.83	< 0.0001	0.0004	5.45	< 0.0001
	greška	194	0.0001			0.0001		
	individua	30	0.001	16.47	< 0.0001	0.001	22.90	< 0.0001
Belegiš	osobina	1	0.024	311.92	< 0.0001	0.049	840.07	< 0.0001
	indxosobina	30	0.001	11.60	< 0.0001	0.001	20.39	< 0.0001
	greška	62	0.0001			0.0001		
	individua	132	0.001	9.38	< 0.0001	0.0005	7.88	< 0.0001
Beograd	osobina	1	0.049	585.40	<0.0001	0.085	1416.51	< 0.0001
	indxosobina	132	0.001	8.75	< 0.0001	0.0005	7.86	< 0.0001
	greška	266	0.0001			0.0001		

**Tabela 42.**Rezultati *ANOVA*-e za efekte lokaliteta, osobine i interakcije lokaliteta i osobine za indekse radijalne asimetrije (SD i CV) multipnih osobina cveta *I. germanica* za oba zagađenja i sve lokalitete zajedno.
(**bold**-statistički značajan efekat, P<0.05)

			SD			CV	
Efekti	df	MS	F	P	MS	F	P
zagađenje	1	0.002	6.66	0.010	0.00001	0.03	0.864
osobina	1	0.050	141.14	< 0.0001	0.097529	350.15	< 0.0001
zagađenje x osobina	1	0.00003	0.08	0.777	0.0006	2.11	0.147
greška	518	0.0004			0.0003		
lokalitet	2	0.004	10.52	< 0.0001	0.002	7.67	0.001
osobina	1	0.042	120.98	<0.0001	0.097	363.49	<0.0001
lokalitet x osobina	2	0.001	1.88	0.154	0.001	5.01	0.007
greška	516	0.0003			0.0003		

**Tabela 43.**Veličina uzorka N, greška merenja ME1(cm), indeks fluktuirajuće asimetrije FA1(cm) i odnos fluktuirajuće asimetrije i greške merenja (FA1/ME) širine fola (širine desne i leve polovine fola) cveta *I. germanica* poreklom iz jednog zagađenog (Beograd) i dva nezagađena (Banovci i Belegiš) lokaliteta.

Lokaliteti		širina fola
	N	137
Nezagađeno	ME	0.059
	FA	0.092
	FA/ME	1.570
	N	133
Zagađeno	ME	0.054
	FA	0.103
	FA/ME	1.892
	N	103
Banovci	ME	0.058
Banovci	FA	0.084
	FA/ME	1.443
	N	34
Belegiš	ME	0.061
	FA	0.118
	FA/ME	1.938
	N	133
Beograd	ME	0.054
	FA	0.103
	FA/ME	1.892

**Tabela 44.**Dvofaktorska *ANOVA* (gde je strana fiksirani a individua random faktor) na dužinama desne (R) i leve (L) strane širine fola cveta *I. germanica* poreklom iz jednog zagađenog (Beograd) i dva nezagađena (Banovci i Belegiš) lokalitet

Lokaliteti	Efekat	df	MS	$\boldsymbol{\mathit{F}}$	P
	individua	136	0.016	28.800	<0.0001
Nezagađeno	strana	1	0.001	1.180	0.279
	strana x deo(ind)	401	0.001	4.630	< 0.0001
	greška	804	0.0001		
	individua	132	0.024	49.200	<0.0001
Zagađeno	strana	1	0.001	2.280	0.132
	deo(ind)xstrana	398	0.0005	6.610	< 0.0001
	greška	798	0.0001		
	individua	102	0.017	36.290	< 0.0001
Banovci	strana	1	0.001	2.090	0.1497
	strana x deo(ind)	302	0.000	3.910	< 0.0001
	greška	606	0.0001		
	individua	33	0.016	17.490	< 0.0001
Belegiš	strana	1	0.000	0.000	0.9545
	strana x deo(ind)	98	0.001	6.430	<0.0001
	greška	198	0.0001		
	individua	132	0.024	49.200	< 0.0001
Beograd	strana	1	0.001	2.280	0.132
	strana x deo(ind)	398	0.0005	6.610	< 0.0001
	greška	798	0.0001		

Tabela 45. Greške merenja ME1(cm), ME1\*(cm), ME3 (%)i ME5 kao i ME1 kao procenat FA4a (za formule videti Materijal i Metode) za širinu fola cveta *I. germanica* poreklom iz jednog zagađenog (Beograd) i dva nezagađena (Banovci i Belegiš) lokaliteta.

Lokaliteti	ME1	ME1*	ME3	ME5	ME1kao%FA4a
Nezagađeno	0.059	0.009	21.541	0.646	46.412
Zagađeno	0.054	0.007	15.151	0.737	38.924
Banovci	0.058	0.009	25.602	0.592	50.598
Belegiš	0.060	0.010	15.551	0.731	39.434
Beograd	0.054	0.007	15.151	0.737	38.924

Tabela 46.

Rezultati *ANOVA*-e za efekat zagađenja i lokaliteta na grešku merenja ME1 širine fola cveta *I. germanica* poreklom iz jednog zagađenog (Beograd) i dva nezagađena (Banovci i Belegiš) lokaliteta

Efekat	df	MS	F	P
zagađenje	1	0.008	3.080	0.080
greška	1600	0.003		
lokalitet	2	0.005	1.660	0.191
greška	1599	0.003		

**Tabela 47**Koeficijenti asimetričnosti krive (*Skewness* i *Kurtosis*) distribucije razlike desne i leve strane (R-L) širine fola cveta *I. germanica* poreklom iz jednog zagađenog (Beograd) i dva nezagađena (Banovci i Belegiš) lokaliteta.

Lokaliteti	N	Skewness	P	Kurtosis	P
Nezagađeno	402	-0.181	0.136	1.200	<0.0001
Zagađeno	399	0.104	0.394	1.317	<0.0001
Banovci	303	-0.508	0.00028	1.225	<0.0001
Belegiš	99	0.146	0.547	0.456	0.343
Beograd	399	0.104	0.394	1.317	<0.0001

Tabela 48.

Veličina uzoraka N, prosečna vrednost razlike desne i leve strane  $\overline{\mathbf{X}}$ , standardna greška (SE), indeks fluktuirajuće asimetrije (FA4a) i rezultati t testa za odstupanje distribucije razlike desne i leve strane (R-L) od nule za širinu fola cveta *I. germanica*.

Lokaliteti	N	$\overline{\mathbf{X}}$	SE	Т	P	FA4a
Nezagađeno	402	-0.008	0.006	-1.383	0.167	0.019
Zagađeno	399	0.006	0.007	0.906	0.366	0.017
Banovci	303	-0.011	0.006	-1.661	0.098	0.017
Belegiš	99	-0.002	0.015	-0.132	0.895	0.024
Beograd	399	0.006	0.007	0.906	0.366	0.017

## Tabela 49.

Rezultati korelacionih analiza (*Spearman*-ove, *Kendall*-ove i *Pearson*-ove) između apsolutne fluktuirajuće asimetrije |R-L| i veličine osobine (R+L)/2, širine fola cveta *I. germanica* poreklom iz jednog zagađenog (Beograd) i dva nezagađena (Banovci i Belegiš) lokaliteta.

Lokaliteti		r	P
	Spearman	0.124	0.013
Nezagađeno	Kendall	0.083	0.013
	Pearson	0.173	0.0005
	Spearman	0.181	0.0003
Zagađeno	Kendall	0.122	0.0003
	Pearson	0.174	0.0005
	Spearman	0.123	0.033
Banovci	Kendall	0.081	0.036
	Pearson	0.219	0.0001
	Spearman	0.039	0.698
Belegiš	Kendall	0.033	0.626
	Pearson	0.034	0.742
	Spearman	0.181	0.0003
Beograd	Kendall	0.122	0.0003
	Pearson	0.030	0.0005

**Tabela 50.** Indeksi fluktuirajuće asimetrije FA1, FA2, FA8a, FA10a za širinu fola cveta *I. germanica* poreklom iz jednog zagađenog (Beograd) i dva nezagađena (Banovci i Belegiš) lokaliteta

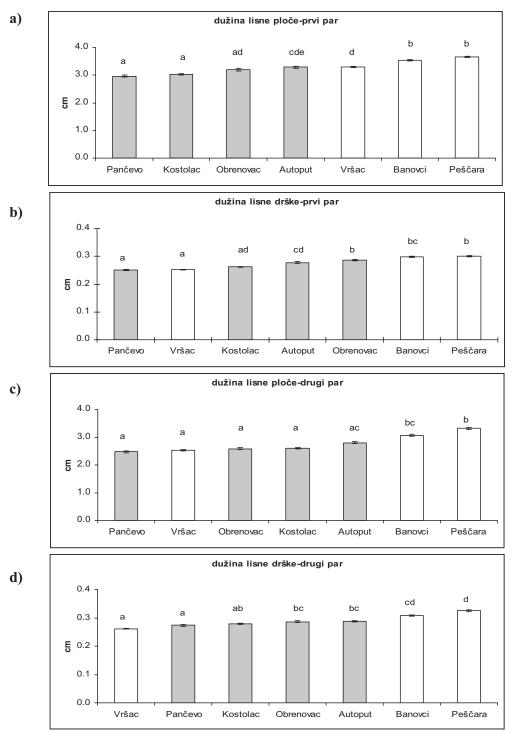
Lokaliteti	indeksi	širina fola		
Nezagađeno	FA1	0.092±0.004		
	FA2	0.067±0.003		
	FA8a	0.067±0.004		
	FA10a	0.017±0.002		
Zagađeno	FA1	0.103±0.004		
	FA2	0.063±0.003		
	FA8a	$0.065 \pm 0.004$		
	FA10a	0.016±0.002		
Banovci	FA1	$0.084 \pm 0.004$		
	FA2	0.061±0.003		
	FA8a	0.061±0.003		
	FA10a	0.015±0.002		
Belegiš	FA1	$0.118\pm0.009$		
	FA2	0.087±0.007		
	FA8a	0.085±0.010		
	FA10a	0.022±0.005		
Beograd	FA1	0.103±0.004		
	FA2	0.063±0.003		
	FA8a	0.065±0.004		
	FA10a	$0.016\pm0.002$		

Tabela 51.

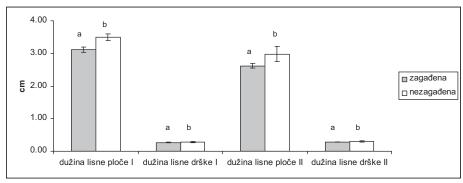
Rezultati ANOVA-e za efekat zagađenja i lokaliteta na indekse fluktuirajuće asimetrije FA1, FA2, FA8a, kao i rezultati F testa za indeks FA10a za širinu fola cveta *I. germanica* poreklom iz jednog zagađenog (Beograd) i dva nezagađena (Banovci i Belegiš) lokaliteta. Rezultati analize kontrasta (t testa) za indekse fluktuirajuće asimetrije FA1, FA2 i FA8a između zagađenih(Beograd) i nezagađenih (Banovci i Belegiš) lokaliteta.

indeksi	Efekat	df	MS	F	P
FA1		1	0.007	2.840	0.093
FA2	Zagađenje	1	0.001	1.140	0.288
FA8a		1	0.0003	0.160	0.689
FA1		2	0.018	7.510	0.0007
FA2	Lokalitet	2	0.009	9.180	0.0001
FA8a		2	0.009	9.180	0.0001
indeksi	F test		t	P	
FA10a	zagađeno/nezagađeno		1.051	0.387	
	Banovci/Belegiš		1.517	0.059	
	Banovci/Beograd		1.092	0.322	
	Belegiš/Beograd		1.389	0.100	
indeksi	Kontrast		t	P	
FA1	zagađeno/nezagađeno		-0.278	0.781	
FA2			-2.643	0.009	
FA8a			1.486	0.139	

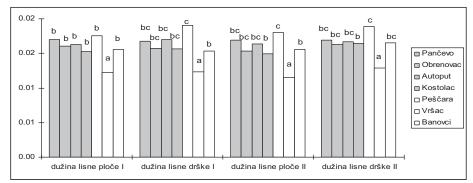
# 7.2. Prilog 2 - Slike



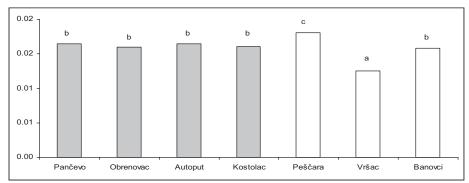
Slika 24. Srednje vrednosti (cm) i standardne greške četiri osobine (a) dužina lisne ploče-prvi par, b) dužina lisne drške-prvi par, c) dužina lisne ploče-drugi par, d) dužina lisne drške-drugi par) lista *R. pseudoacacia* u sedam lokaliteta sa rezultatima *Scheffe*-ovog testa gde različita slova iznad *bar*-ova predstavljaju statistički značajne razlike (P<0.05). Beli stubići predstavljaju srednje vrednosti osobina za biljke poreklom sa nezagađenih staništa (Vršac, Banovci, Peščara), dok sivi stubići predstavljaju srednje vrednosti osobina za biljke poreklom sa zagađenih staništa (Pančevo, Kostolac, Obrenovac, Autoput).



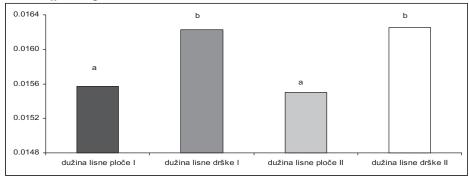
**Slika 25.** Srednje vrednosti (cm) i standardne greške četiri osobine lista *R. pseudoacacia* kao proseka za zagađena i nezagađena staništa. Rezultati analize kontrasta su predstavljeni slovima iznad stubića gde različita slova predstavljaju statistički značajne razlike (P<0.05).



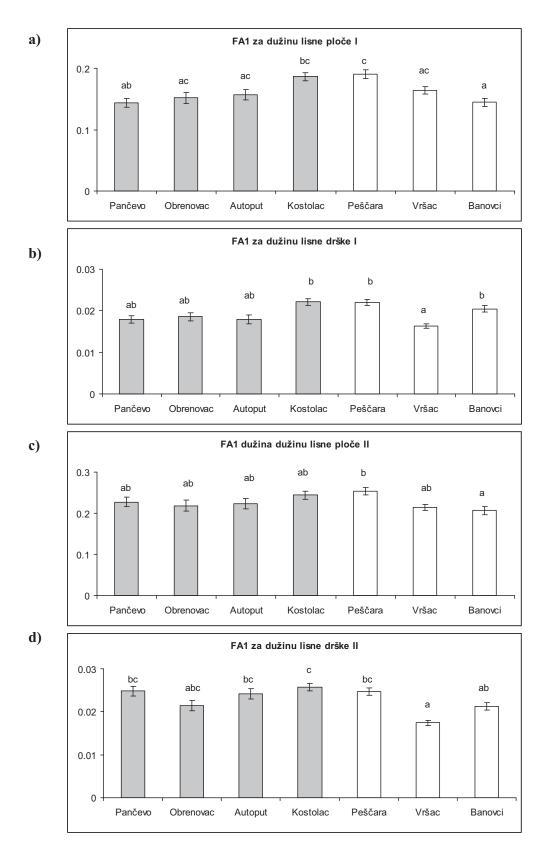
**Slika 26.** Srednje vrednosti grešaka merenja (ME1) za svaki lokalitet po osobini sa rezultatima *Scheffe*-ovog testa.



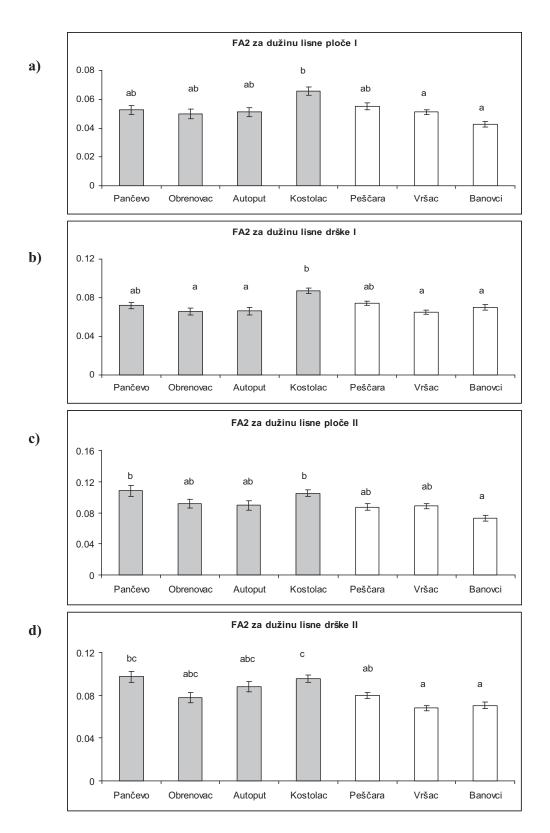
**Slika 27.** Srednje vrednosti grešaka merenja (ME1) za sve osobine zajedno po lokalitetu sa rezultatima *Scheffe*-ovog testa.



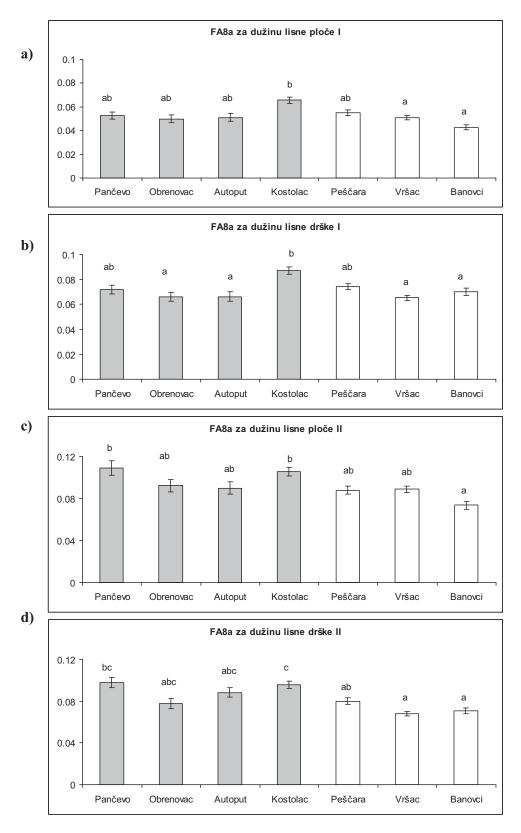
**Slika 28.** Srednje vrednosti grešaka merenja (ME1) za sve lokalitete zajedno po osobini sa rezultatima *Scheffe*-ovog testa.



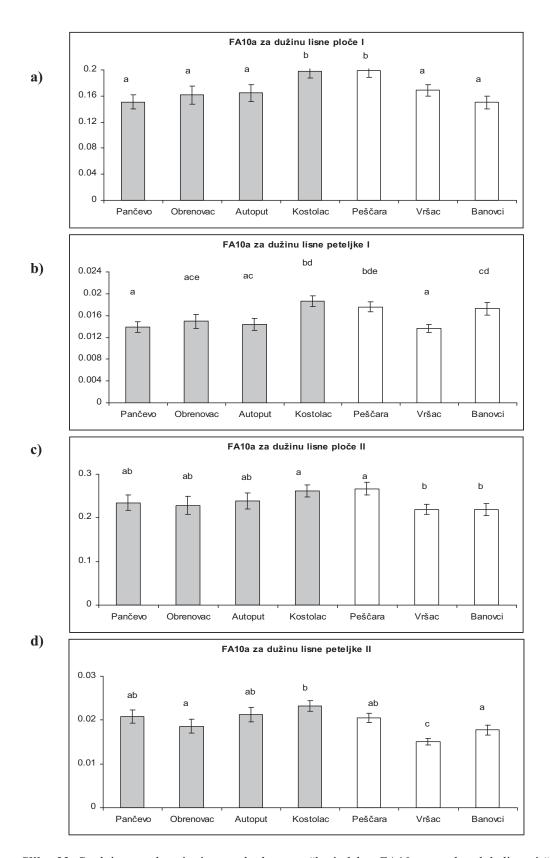
**Slika 29.** Srednje vrednosti i standardne greške indeksa FA1 (cm) za sedam lokaliteta i četiri osobine lista (a-d) *R. pseudoacacia* sa rezultatima *Scheffe*-ovog testa gde različita slova iznad *bar*-ova predstavljaju statistički značajne razlike (P<0.05).



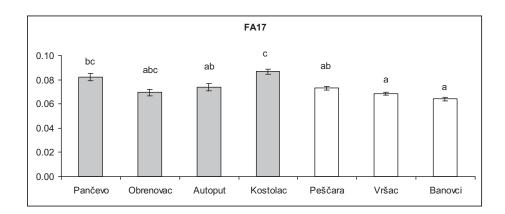
**Slika 30.** Srednje vrednosti i standardne greške indeksa FA2 (cm) za sedam lokaliteta i četiri osobine lista (a-d) *R. pseudoacacia* sa rezultatima *Scheffe*-ovog testa gde različita slova iznad *bar*-ova predstavljaju statistički značajne razlike (P<0.05).



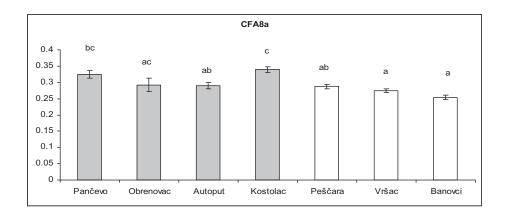
**Slika 31.** Srednje vrednosti i standardne greške indeksa FA8a za sedam lokaliteta i četiri osobine lista (a-d) *R. pseudoacacia* sa rezultatima *Scheffe*-ovog testa gde različita slova iznad *bar*-ova predstavljaju statistički značajne razlike (P<0.05).



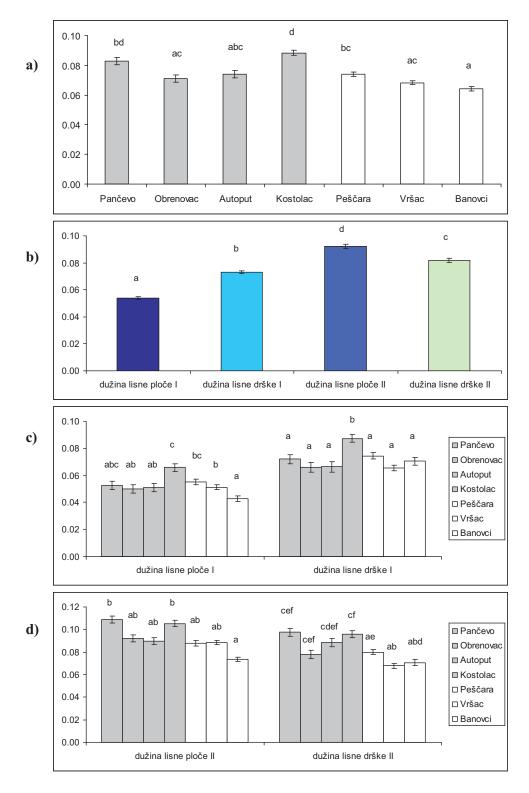
**Slika 32.** Srednje vrednosti i standardne greške indeksa FA10a za sedam lokaliteta i četiri osobine (a-d) lista *R. pseudoacacia* sa rezultatima *Scheffe*-ovog testa gde različita slova iznad *bar*-ova predstavljaju statistički značajne razlike (P<0.05).



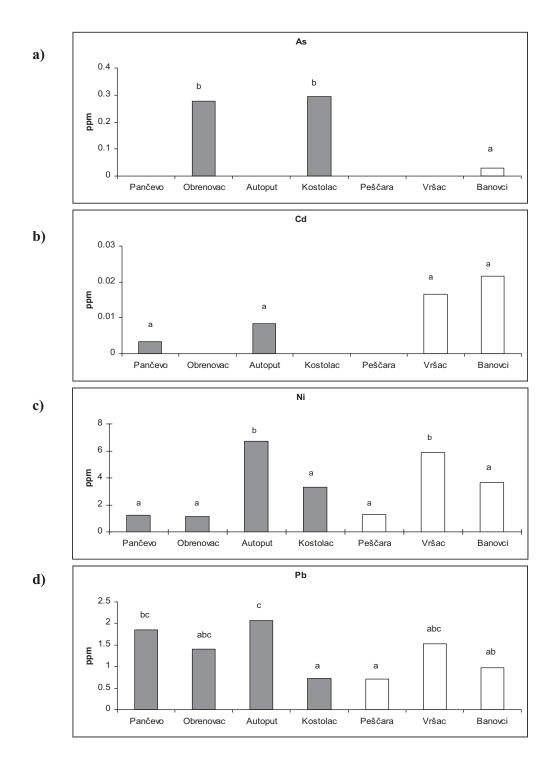
**Slika 33.** Srednje vrednosti i standardne greške indeksa FA17 za sedam lokaliteta sa rezultatima *Scheffe*-ovog testa gde različita slova iznad *bar*-ova predstavljaju statistički značajne razlike (P<0.05).



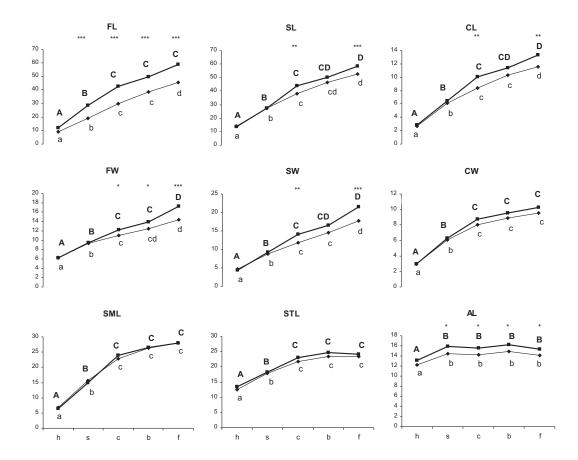
**Slika 34.** Srednje vrednosti i standardne greške indeksa CFA8a za sedam lokaliteta sa rezultatima *Scheffe*-ovog testa gde različita slova iznad *bar*-ova predstavljaju statistički značajne razlike (P<0.05).



**Slika 35.** Srednje vrednosti i standardne greške indeksa |ln(D)-ln(L)|za multipne osobine sa rezultatima *Scheffe*-ovog testa gde različita slova iznad *bar*-ova predstavljaju statistički značajne razlike (P<0.05) a) za sedam izučavanih lokaliteta, b) za pojedinačne osobine svih lokaliteta zajedno, c) za sedam lokaliteta i dužinu lisne ploče i dužinu lisne drške na prvom nodusu, d)za sedam lokaliteta i dužinu lisne ploče i dužinu lisne drške na drugom nodusu.

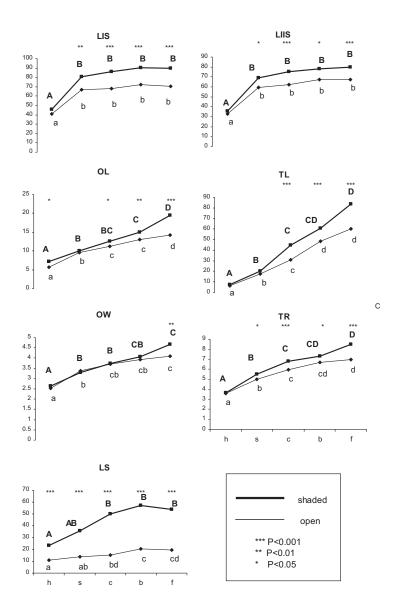


**Slika 36.** Srednje vrednosti koncentracija teških metala (ppm) As (a), Cd (b) i Ni (c) u listu *R. pseudoacacia* sa rezultatima *Scheffe*-ovog testa, kao i srednje vrednosti koncentracije Pb (d) sa rezultatima *Fisher*-ovog LSD testa, gde različita slova iznad *bar*-ova predstavljaju statistički značajne razlike (P<0.05) (za objasnjenje testova videti Materijal i Metode). Beli stubići predstavljaju vrednosti koncentracije teških metala za biljke poreklom sa nezagađenih staništa (Vršac, Banovci, Peščara), dok sivi stubići predstavljaju koncentracije teških metala za biljke poreklom sa zagađenih staništa (Pančevo, Kostolac, Obrenovac, Autoput).

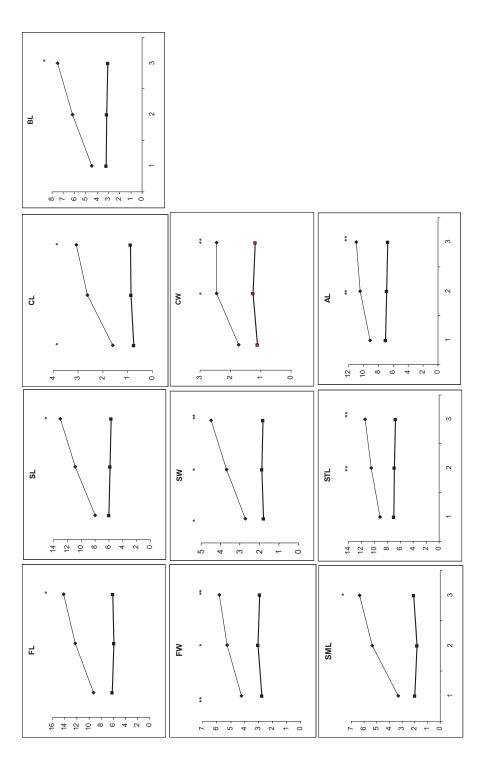


Slika 37. Srednje vrednosti osobina organa cveta *I. pumila* u dva staništa (otvorenom-*open* i zasenčenom-*shaded*) i pet faza razvića (h-skriveni pupoljak, s-spate, c-obojeni pupoljak, b-finalni pupoljak i f-otvoreni cvet), sa rezultatima *Scheffe*-ovog testa gde različita slova predstavljaju statistički značajne razlike između faza i to velika slova za zasenčeni a mala za otvoreno stanište (P<0.05). Značajne razlike između staništa za svaku fazu su označene zvezdicama. Na Slici 14. su predstavljene sledeće osobine: širina fola-dužina fola-FL, dužina standarda-SL, dužina kreste-CL, širina fola-FW, širina standarda-SW, širina kreste-CW, dužina žiga-SML, dužina prašnika-STL i dužina antere-AL, kao i Dužina prve spate-LIS, dužina druge spate-LIIS, dužina plodnika-OL, dužina stubića-TL, širina

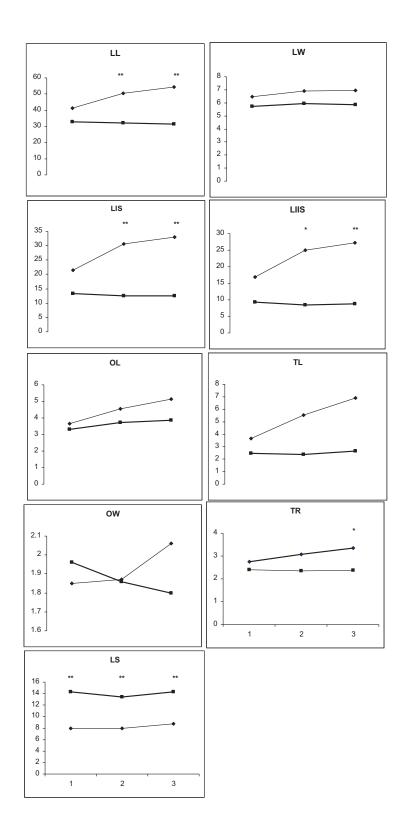
plodnika-OW, obim stubića-TR i dužina stabljike-LS



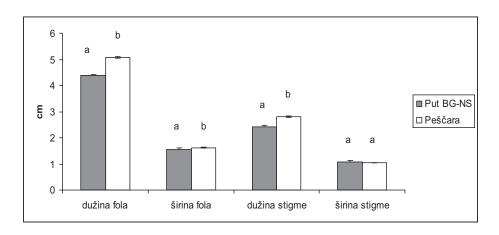
Slika 37. nastavak



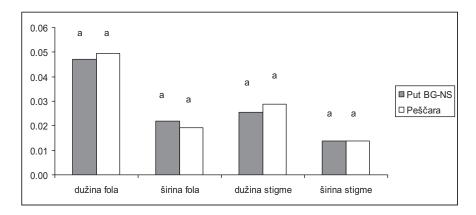
Slika 38. Srednje vrednosti osobina organa cveta I. pumila u dva staništa (otvorenom-open i zasenčenom-shaded) i tri vremenske faze razvića (1, 2, 3-faze razvića koje prethode otvaranju cveta međusobno odvojene periodima od tri dana). Značajne razlike između staništa za svaku fazu su označene zvezdicama. Na Slici 15 su predstavljene sledeće osobine: širina fola-dužina fola-FL, dužina standarda-SL, dužina kreste-CL, dužina brade-BL, širina fola-FW, širina standarda-SW, širina kreste-CW, dužina žiga-SML, dužina prašnika-STL i dužina antere-AL, kao i dužina lista-LL, širina lista LW, dužina prve spate-LIS, dužina druge spate-LIIS, dužina plodnika-OL, dužina stubića-TL, širina plodnika-OW, obim stubića-TR i dužina stabljike-L



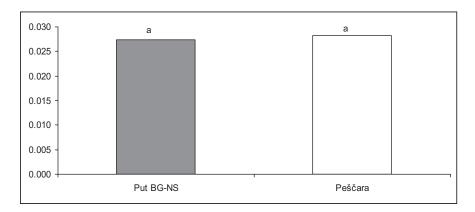
Slika 38. nastavak



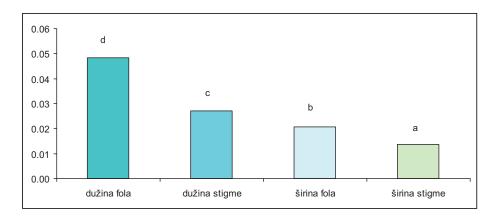
**Slika 39.** Srednje vrednosti (cm) i standardne greške četiri osobine cveta *I. pumila* poreklom sa dva lokaliteta sa rezultatima *Scheffe*-ovog testa gde različita slova iznad *bar*-ova predstavljaju statistički značajne razlike (P<0.05). Beli stubići predstavljaju srednje vrednosti osobina za biljke poreklom iz Peščare, dok sivi stubići predstavljaju srednje vrednosti osobina za biljke poreklom sa puta BG-NS.



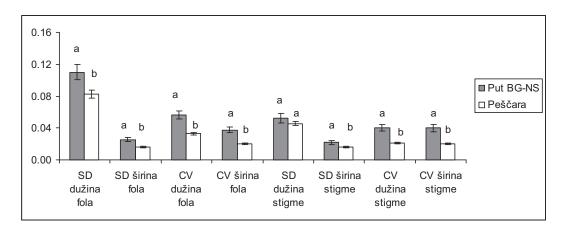
**Slika 40.** Srednje vrednosti grešaka merenja (ME1) za svaki lokalitet po osobini sa rezultatima *Scheffe*-ovog testa gde različita slova iznad *bar*-ova predstavljaju statistički značajne razlike između lokaliteta u grešci merenja (P<0.05).



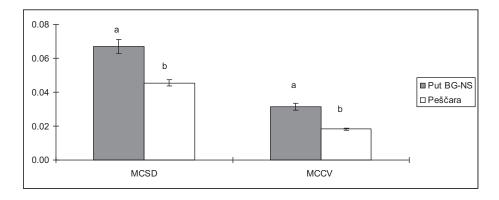
**Slika 41.** Srednje vrednosti grešaka merenja (ME1) za sve osobine zajedno po lokalitetu sa rezultatima *Scheffe*-ovog testa gde različita slova iznad *bar*-ova predstavljaju statistički značajne razlike između lokaliteta u grešci merenja (P<0.05).



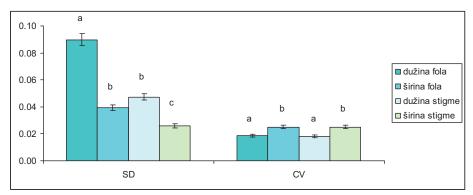
**Slika 42.** Srednje vrednosti grešaka merenja (ME1) za sve lokalitete zajedno po osobini sa rezultatima *Scheffe*-ovog testa gde različita slova iznad *bar*-ova predstavljaju statistički značajne razlike između osobina u grešci merenja (P<0.05).



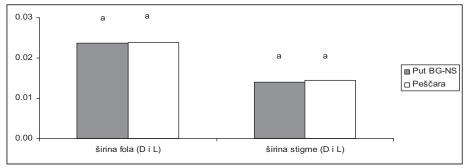
**Slika 43.** Srednje vrednosti i standardne greške indeksa radijalne asimetrije SD (standardna devijacija) i CV (koeficijent varijacije) za oba lokaliteta i četiri osobine cveta *I. pumila* sa rezultatima *Scheffe*-ovog testa gde različita slova iznad *bar*-ova predstavljaju statistički značajne razlike (P<0.05).



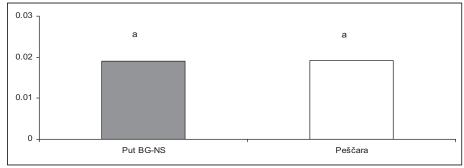
**Slika 44.** Srednje vrednosti i standardne greške višekomponentnih indeksa radijalne asimetrije (MCSD i MCCV) za dva lokaliteta sa rezultatima *Scheffe*-ovog testa gde različita slova iznad *bar*-ova predstavljaju statistički značajne razlike između lokaliteta u grešci merenja (P<0.05).



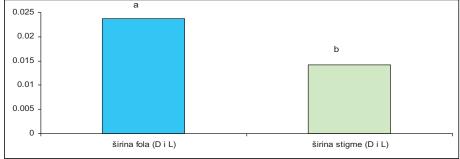
**Slika 45.** Srednje vrednosti i standardne greške indeksa SD i CV za multipne osobine za sve lokalitete zajedno po osobini sa rezultatima *Scheffe*-ovog testa.



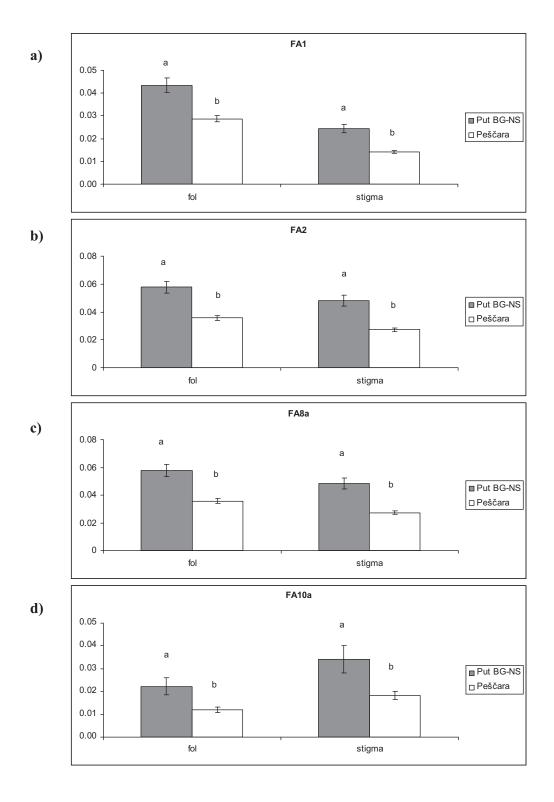
**Slika 46.** Srednje vrednosti grešaka merenja (ME1) za svaki lokalitet po osobini (širine desne i leve polovine fola i širine desne i leve polovine stigme) sa rezultatima *Scheffe*-ovog testa.



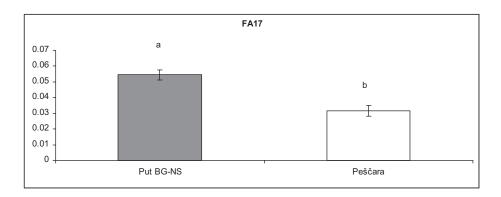
**Slika 47.** Srednje vrednosti grešaka merenja (ME1) za obe osobine zajedno zajedno po lokalitetu sa rezultatima *Scheffe*-ovog testa.



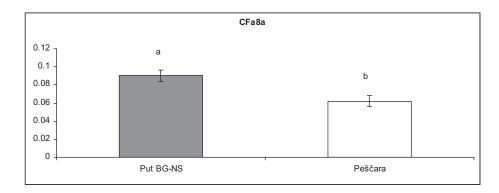
**Slika 48.** Srednje vrednosti grešaka merenja (ME1) za sve lokalitete zajedno po osobini sa rezultatima *Scheffe*-ovog testa.



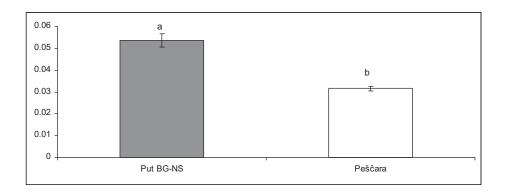
**Slika 49.** Srednje vrednosti i standardne greške indeksa FA1 (a), FA2 (b), FA8a (c) i FA 10a (d) za dva lokaliteta i dve osobine cveta *I. pumila* sa rezultatima *Scheffe*-ovog testa gde različita slova iznad *bar*-ova predstavljaju statistički značajne razlike (P<0.05).



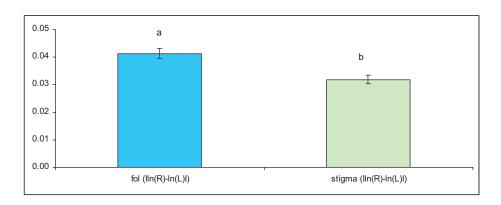
**Slika 50.** Srednje vrednosti i standardne greške višekomponentnog indeksa FA17 za dva lokaliteta sa rezultatima *Scheffe*-ovog testa gde različita slova iznad *bar*-ova predstavljaju statistički značajne razlike (P<0.05).



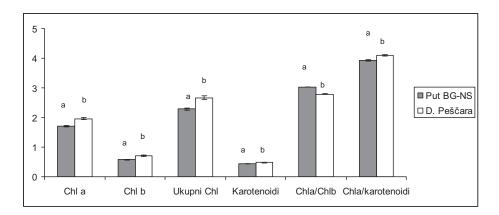
**Slika 51.** Srednje vrednosti i standardne greške kompozitnog indeksa CFA8a za dva lokaliteta sa rezultatima *Scheffe*-ovog testa gde različita slova iznad *bar*-ova predstavljaju statistički značajne razlike (P<0.05).



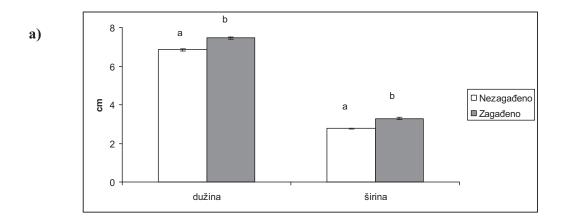
**Slika 52.** Srednje vrednosti i standardne greške fluktuirajuće asimetrije (|ln(D)-ln(L)|) za multipne osobine za sve osobine zajedno po lokalitetu sa rezultatima *Scheffe*-ovog testa gde različita slova iznad *bar*-ova predstavljaju statistički značajne razlike (P<0.05).

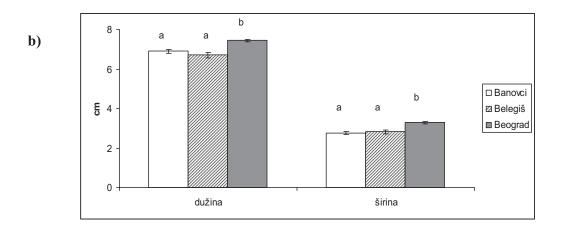


**Slika 53.** Srednje vrednosti i standardne greške fluktuirajuće asimetrije ( $|\ln(D)-\ln(L)|$ ) za multipne osobine oba lokaliteta zajedno po osobini sa rezultatima *Scheffe*-ovog testa gde različita slova iznad *bar*-ova predstavljaju statistički značajne razlike (P<0.05).

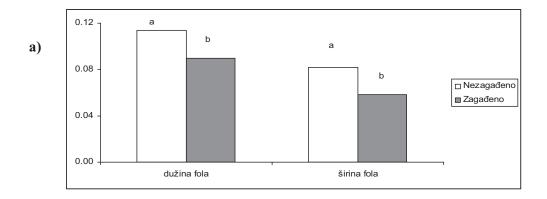


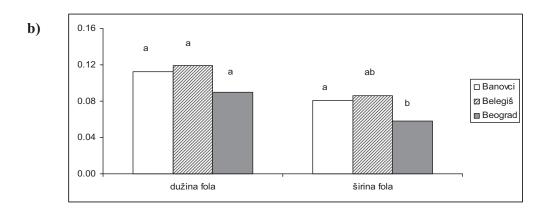
**Slika 54.** Prosečne vrednosti (mg/g) i standardne greške koncentracije fotosintetičkih pigmenata (Chla, Chlb, karotenoidi) i odnosa fotosintetičkih pigmenata (Chla/Chlb i Chla/karotenoidi) u listu *I. pumila* poreklom sa dva lokaliteta. Beli stubići predstavljaju srednje vrednosti indeksa za biljke poreklom iz Peščare, dok sivi stubići predstavljaju srednje vrednosti indeksa za biljke poreklom sa puta BG-NS



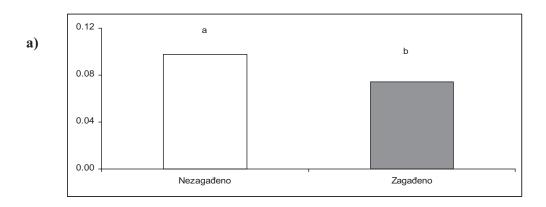


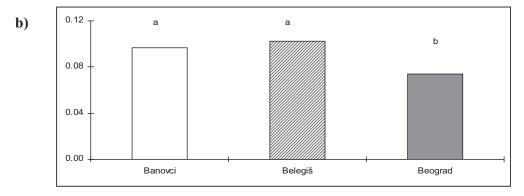
**Slika 55.** Srednje vrednosti (cm) i standardne greške dve osobine cveta *I. germanica* sa rezultatima *Scheffe*-ovog testa gde različita slova iznad *bar*-ova predstavljaju statistički značajne razlike (P<0.05): a) u nezagađenoj i zagađenoj sredini, b) u tri lokaliteta. Beli stubići predstavljaju srednje vrednosti osobina za biljke poreklom iz nezagađene sredine, dok sivi stubići predstavljaju srednje vrednosti osobina za biljke poreklom iz zagađene sredine.



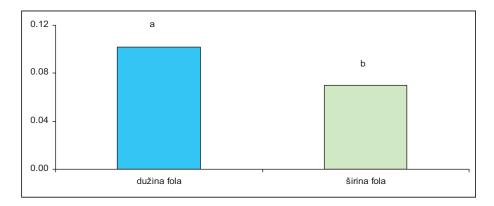


**Slika 56.** Srednje vrednosti grešaka merenja (ME1) sa rezultatima *Scheffe*-ovog testa gde različita slova iznad *bar*-ova predstavljaju statistički značajne razlike (P<0.05): a)za dva zagađenja po osobini, b) za svaki lokalitet po osobini.

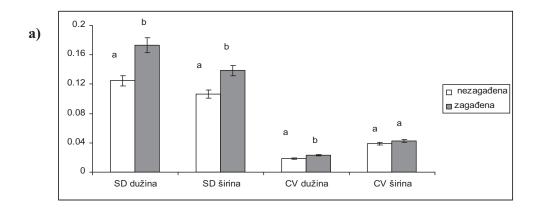


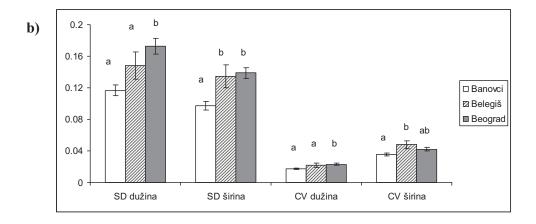


**Slika 57.** Srednje vrednosti grešaka merenja (ME1) za sve osobine zajedno sa rezultatima *Scheffe*-ovog testa gde različita slova iznad *bar*-ova predstavljaju statistički značajne razlike između lokaliteta u grešci merenja (P<0.05): a)po zagađenju, b) po lokalitetu.

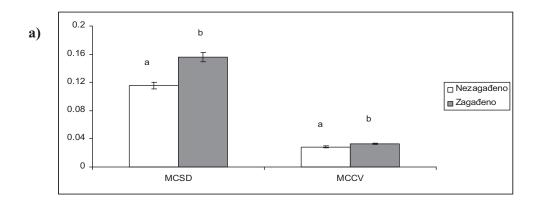


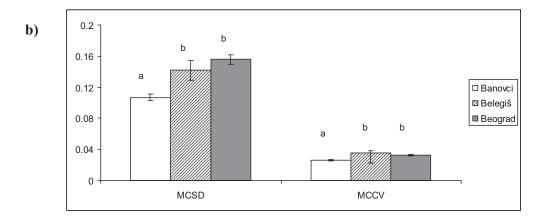
**Slika 58.** Srednje vrednosti grešaka merenja (ME1) za sve lokalitete zajedno po osobini sa rezultatima *Scheffe*-ovog testa gde različita slova iznad *bar*-ova predstavljaju statistički značajne razlike između osobina u grešci merenja (P<0.05).



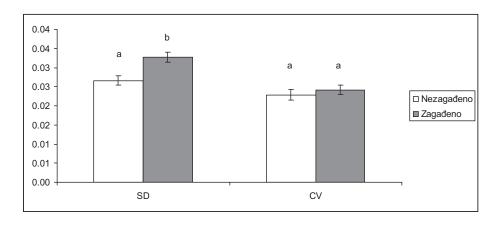


**Slika 59.** Srednje vrednosti i standardne greške indeksa radijalne asimetrije SD (standardna devijacija) i CV (koeficijent varijacije) za zagađenu i nezagađenu sredinu (a) i tri lokaliteta (b), za dve osobine cveta *I. germanica* sa rezultatima *Scheffe*-ovog testa.

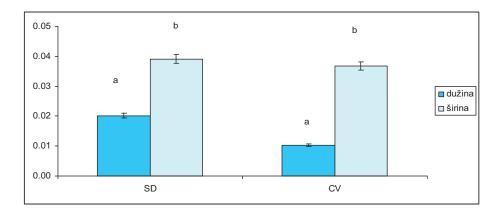




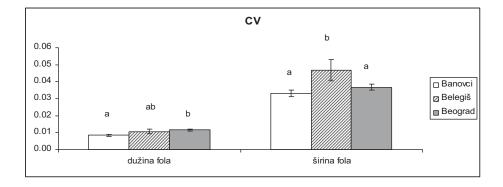
**Slika 60.** Srednje vrednosti i standardne greške višekomponentnih indeksa radijalne asimetrije MCSD i MCCV za zagađenu i nezagađenu sredinu (a) i tri lokaliteta (b) sa rezultatima *Scheffe*ovog testa gde različita slova iznad *bar*-ova predstavljaju statistički značajne razlike (P<0.05).



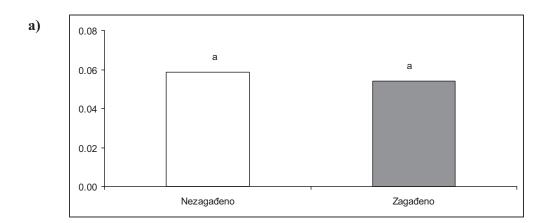
**Slika 61.** Srednje vrednosti i standardne greške indeksa SD i CV za multipne osobine za dva zagađenja i sve osobine zajedno sa rezultatima *Scheffe*-ovog testa

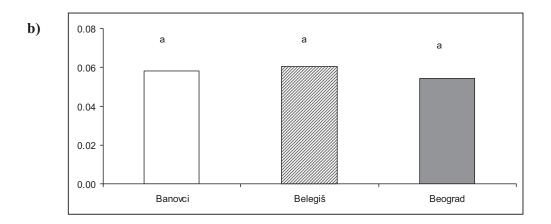


**Slika 62.** Srednje vrednosti i standardne greške indeksa SD i CV za multipne osobine za sve lokalitete zajedno, po osobini, sa rezultatima *Scheffe*-ovog testa gde različita slova iznad *bar*-ova predstavljaju statistički značajne razlike (P<0.05).

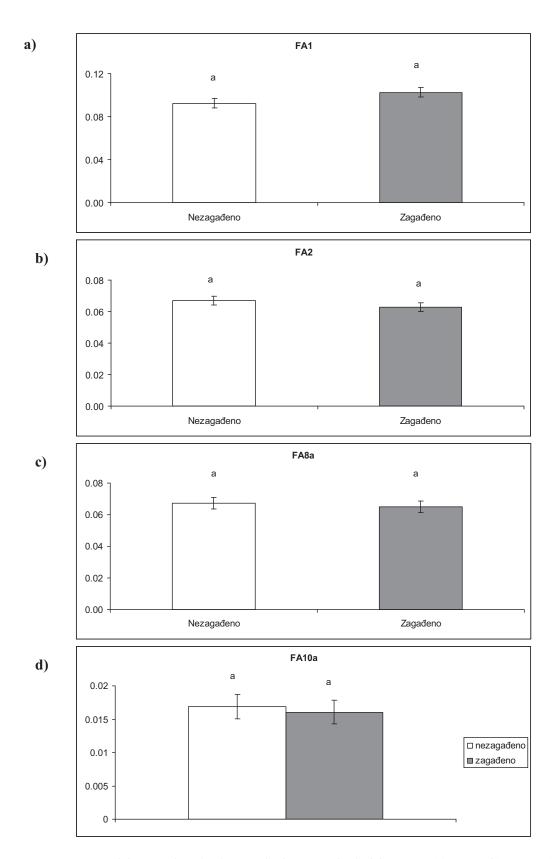


**Slika 63.** Srednje vrednosti i standardne greške indeksa CV za multipne osobine za tri lokaliteta i obe osobine sa rezultatima *Scheffe*-ovog testa gde različita slova iznad *bar*-ova predstavljaju statistički značajne razlike između osobina (P<0.05).

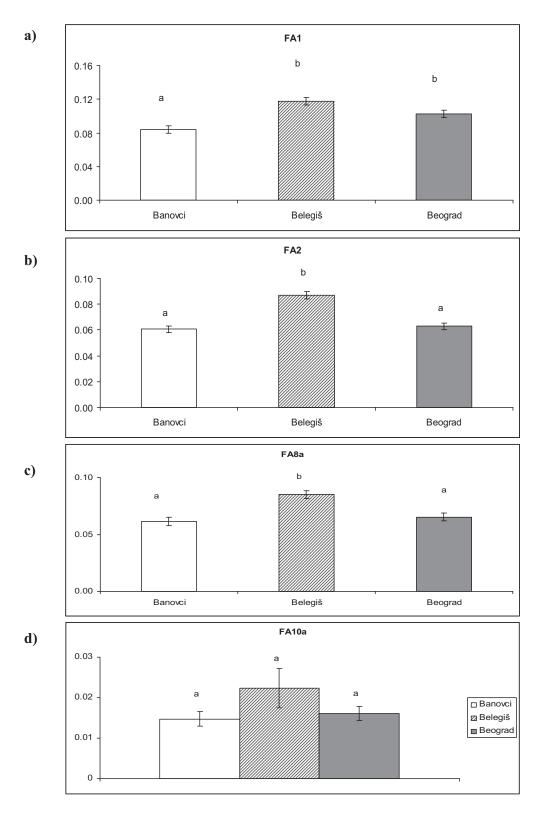




**Slika 64.** Srednje vrednosti grešaka merenja (ME1) za dva zagađenja (a) i tri lokaliteta (b) osobine cveta *I. germanica* (širine desne i leve polovine fola) sa rezultatima *Scheffe*-ovog testa gde različita slova iznad *bar*-ova predstavljaju statistički značajne razlike između lokaliteta u grešci merenja (P<0.05).



**Slika 65.** Srednje vrednosti i standardne greške indeksa FA1 (a), FA2 (b), FA8a (c) i FA10a (d) za dva zagađenja sa rezultatima *Scheffe*-ovog testa gde različita slova iznad *bar*-ova predstavljaju statistički značajne razlike (P<0.05).



**Slika 66.** Srednje vrednosti i standardne greške indeksa FA1 (a), FA2 (b), FA8a (c) i FA10a (d) za tri lokaliteta sa rezultatima *Scheffe*-ovog testa gde različita slova iznad *bar*-ova predstavljaju statistički značajne razlike (P<0.05).

# Biografija autora

Mr Nataša Barišić Klisarić rođena je 14.12.1973. godine u Zemunu. Biološki fakultet Univerziteta u Beogradu upisala je 1992. a diplomirala 1998. godine na smeru Genetika. Poslediplomske studije na smeru Genetika Biološkog fakulteta Univerziteta u Beogradu upisala je 2000. godine kada je postala i stipendista Ministarstva prosvete, nauke i tehnološkog razvoja Republike Srbije. Od 2002-2011 godine je bila angažovana na projektima "Evolucija u heterogenim sredinama" (br. 1725 i br. 143040), a od 2011. na projektu "Evolucija u heterogenim sredinama: mehanizmi adaptacija, biomonitoring i konzervacija biodiverziteta" (br. 173025). Na Biološkom fakultetu Univerziteta u Beogradu 23.10.2003. odbranila je magistarsku tezu pod naslovom "Fenotipska plastičnost kod tri vrste roda *Lamium*: uticaj svetlosti i gustine". Od 2002. zaposlena je na Odeljenju za evolucionu biologiju Instituta za biološka istraživanja "Siniša Stanković" gde radi kao istraživač saradnik.