

UNIVERZITET U BEOGRADU
BIOLOŠKI FAKULTET

Sara D. Selaković

**Efekti pola i heterogenih uslova
svetlosti u populacijama dvodome vrste
Mercurialis perennis L. na diferencijalnu
herbivoriju**

doktorska disertacija

Beograd, 2018

UNIVERSITY OF BELGRADE
FACULTY OF BIOLOGY

Sara D. Selaković

**Effects of plant sex and heterogeneous
habitat light conditions in populations
of dioecious *Mercurialis perennis* L. on
differential herbivory**

Doctoral Dissertation

Belgrade, 2018

Mentori:

dr Dragana Cvetković, vanredni profesor

Univerzitet u Beogradu

Biološki fakultet

dr Nemanja Stanisavljević, naučni saradnik

Univerzitet u Beogradu

Institut za molekularnu genetiku i genetičko inženjerstvo

Članovi komisije:

dr Svetlana Radović, redovni profesor

Univerzitet u Beogradu

Biološki fakultet

dr Danijela Miljković, viši naučni saradnik

Univerzitet u Beogradu

Institut za biološka istraživanja „Siniša Stanković“

dr Anđeljko Petrović, vanredni profesor

Univerzitet u Beogradu

Biološki fakultet

Datum odbrane:

Ova disertacija urađena je u Institutu za zoologiju Biološkog fakulteta i u Institutu za genetiku i genetičko inženjerstvo.

Veliku zahvalnost dugujem:

Mentorima prof. dr Dragani Cvetković i dr Nemanji Satnisavljević na pruženoj prilici, ukazanom poverenju i smernicama tokom izrade ove disertacije.

Dr Danijeli Miljković koja je svojim istraživačkim iskustvom doprinela realizaciji ove disertacije. Prof. dr Svetlani Radović i prof. dr Anđeljku Petrović na konstruktivnim sugestijama koje su doprinele kvalitetu finalne verzije teksta.

Dr Vukici Vujić, koja je svojom nesebičnom pažnjom, znanjem i bezuslovnom podrškom bila uz mene tokom čitavog procesa izrade ove disertacije, na čemu ću joj uvek biti beskrajno zahvalna.

Kolegama i koleginicama Instituta za zoologiju za saradnju, a naročito Luki Rubinjoni za svu pomoć u domenu poboljšanja akademskih veština, za ustupljenu foto-dokumentaciju i opremu.

Prijateljima za strpljenje i razmevanje.

Najzad, svojoj porodici za svu ljubav, ukazano poverenje, logističku i moralnu podršku na putu školovanja i ostvarivanju ovog cilja. Milošu. Nadam se da cu uspeti da vam sve nadoknadim.

**Efekti pola i heterogenih uslova svetlosti u populacijama dvodome vrste
Mercurialis perennis L. na diferencijalnu herbivoriju**

Sažetak

U ovom istraživanju ispitivano je prisustvo polno-specifične i diferencijalne herbivorije u odnosu na svetlosne uslove staništa kod dvodome vrste *Mercurialis perennis* L. (Euphorbiaceae). Testirani su efekti pola, svetlosnih uslova staništa i ontogenetskog stadijuma na osobine veličine biljaka (visinu, ukupnu površinu listova) i listova (dužinu drške i centralnog nerva, širinu i površinu lisne ploče), nutritivne (sadržaj vode, ukupnih solubilnih proteina i nestrukturnih ugljenih hidrata) i defanzivne osobine listova (sadržaj fenola i kondenzovanih tanina), specifičnu lisnu površinu i razvojnu nestabilnost (procenjenu preko indeksa fluktuirajuće asimetrije – FA). Ispitivano je koje od analiziranih osobina biljaka imaju ulogu u interakcijama *M. perennis* sa herbivorima u zavisnosti od svetlosnih uslova staništa i ontogenetskog stadijuma. Analizom korelacionih odnosa istraživana je povezanost između stepena herbivorije, razvojne nestabilnosti i ispitivanih osobina biljaka u odnosu na pol i svetlosne uslove staništa.

Mercurialis perennis ili šumski prosinac je višegodišnja, zeljasta, dvodoma biljka koja je najčešće član biljnih zajednica prizemnog sprata nenarušenih šumskih ekosistema. Ređe se može naći na staništima sa otvorenim vegetacijskim sklopom. Kod dvodomih vrsta polovi se mogu razlikovati kako u vegetativnim osobinama tako i u stepenu oštećenja listova izazvanih aktivnošću herbivora. Iz navedenih razloga *M. perennis* predstavlja izuzetno pogodan model sistem za istovremeno proučavanje uticaja pola i svetlosnih uslova staništa na stepen herbivorije, osobine biljaka i razvojnu nestabilnost.

U ovo istraživanje uključene su populacije *M. perennis* sa lokaliteta Bele stene (Kopaonik) i Beograd. Na lokalitetu Bele stene biljke su uzorkovane tokom dve uzastopne godine sa dva susedna staniša. Jedno stanište je bilo izloženo punoj dnevnoj svetlosti u sastavu rudine, dok se drugo nalazilo pod vegetacijskom senkom unutar četinarske šume. Razlike u svetlosnim uslovima na staništu kvantifikovane su

merenjem razlika u pokrovnosti staništa korišćenjem hemisfernih fotografija. Na uzorku sa lokaliteta Bele stene iz 2015. godine testirani su efekti pola i svetlosnih uslova staništa na stepen herbivorije i analizirane osobine biljaka, dok su na uzorku 2016. godine, pored već navedenog, ispitivani i uticaji pomenutih faktora na osobine veličine lista i fluktuirajuću asimetriju kao pokazatelj razvojne nestabilnosti. Razvojna nestabilnost procenjena je preko indeksa fluktuirajuće asimetrije za četiri osobine lista: dužinu drške, dužinu centralnog nerva, širinu i površinu lisne ploče. Za opisivanje vrednosti fluktuirajuće asimetrije na nivou više osobina korišćen je multivarijantni indeks fluktuirajuće asimetrije. Biljke sa lokaliteta Beograd uzorkovane su dva puta u toku jedne vegetacijske sezone kako bi se proučio efekat ontogenetskog stadijuma (reproduktivnog i post-reproduktivnog) i pola na stepen herbivorije i analizirane osobine biljaka.

Rezultati ovog istraživanja su pokazali prisustvo diferencijalne herbivorije kod *M. perennis* u odnosu na svetlosne uslove staništa. Biljke na staništu izloženom punoj dnevnoj svetlosti su bile više oštećene aktivnošću herbivora, pri čemu su bile značajno manje (sa manjom visinom i ukupnom površinom listova), njihovi listovi imali nižu nutritivnu vrednost (manji sadržaj vode i solubilnih proteina) kao i manju specifičnu lisnu površinu. Na oba staništa stepen oštećenja je bio negativno povezan sa specifičnom lisnom površinom. Na staništu izloženom punoj dnevnoj svetlosti stepen herbivorije je bio negativno povezan sa sadržajem vode, a na staništu pod vegetacijskom senkom sa visinom biljaka i sadržajem solubilnih proteina. Navedeni rezultati ukazuju na prisustvo fenomena kompenzatorne ishrane tkivom nižeg nutritivnog kvaliteta.

Biljke u post-reproduktivnoj fazi bile su više oštećene u odnosu na biljke u reproduktivnoj fazi, pri čemu su njihovi listovi imali nižu nutritivnu vrednost (sa manjim sadržajem vode i solubilnih proteina) i niže nivoe odbrane (sa nižim sadržajem ukupnih fenola i kondenzovanih tanina). Zabeleženo smanjenje sadržaja defanzivnih sekundarnih metabolita u listovima *M. perennis* u post-reproduktivnoj fazi je u saglasnosti sa osnovnim pretpostavkama hipoteze optimalne odbrane. Na stepen oštećenja kod biljaka u reproduktivnoj fazi negativno je uticao sadržaj ukupnih nestrukturnih ugljenih hidrata, a kod biljaka u post-reproduktivnoj fazi sadržaj kondenzovanih tanina. U post-reproduktivnoj fazi stepen herbivorije je bio pozitivno

povezan sa veličinom biljaka (visinom i ukupnom površinom listova) što je u saglasnosti sa hipotezom biljne vitalnosti.

Konzistentne razlike u stepenu herbivorije između muških i ženskih biljaka *M. perennis* nisu pronađene. Polno-specifična herbivorija zabeležena je u uzorku sa lokaliteta Bele stene iz 2016. godine gde su muške biljke bile više oštećene. U uzorku sa lokaliteta Beograd u post-reproduktivnom stadijumu su takođe bile prisutne razlike između polova u stepenu herbivorije pri čemu su ženske biljke bile pod većim pritiskom herbivora. Navedeni rezultati ukazuju na varijabilne obrasce razlika između polova u stepenu oštećenja.

Svetlosni uslovi na staništu su značajno uticali na obrasce polnog dimorfizma u sadržaju solubilnih proteina, ukupnih fenola i kondenzovanih tanina, dok je ontogenetski stadijum imao efekat na prisustvo polnog dimorfizma u ukupnoj površini listova, sadržaju solubilnih proteina i ukupnih fenola. Opisani obrasci mogu biti interpretirani u kontekstu razlika između polova u fenologiji procesa reprodukcije kao i reproduktivnoj alokaciji.

Zabeležene su značajne razlike između staništa sa različitim svetlosnim uslovima u indeksu fluktuirajuće asimetrije lisne drške i kompozitnog indeksa, pri čemu su njihove vrednosti bile više na staništu izloženom punoj dnevnoj svetlosti. Ostali kvantifikovani indeksi nisu se razlikovali značajno između ispitivanih staništa. Ženske biljke *M. perennis* su imale duži centralni nerv lista, šire listove sa većom površinom lisne ploče, međutim razlike među polovima nisu bile zabeležene u vrednostima FA indeksa.

Uočeni obrasci korelacija između stepena herbivorije, indeksa fluktuirajuće asimetrije i analiziranih osobina biljaka značajno su se razlikovali između staništa, pri čemu je zabeleženo postojanje većeg broja značajnih korelacija na staništu pod vegetacijskom senkom. Indeksi fluktuirajuće asimetrije bili su značajno korelisani međusobno, međutim nisu bili povezani sa ukupnom površinom svih listova, nutritivnim i defanzivnim osobinama lista na oba staništa. Stepenu herbivorije bio je u negativnoj korelaciji sa indeksom fluktuirajuće asimetrije površine lisne ploče kod muških biljaka sa staništa izloženog punoj dnevnoj svetlosti, i u pozitivnoj korelaciji sa indeksom fluktuirajuće asimetrije dužine centralnog nerva kod muških biljaka sa

staništa pod vegetacijskom senkom, dok nije bio značajno povezan sa ostalim indeksima FA. Ovi nalazi se mogu protumačiti u kontekstu manjeg uticaja stresa na nivoe razvojne nestabilnosti analiziranih osobina *M. perennis*.

Ključne reči: interakcije između biljaka i herbivora, svetlosni uslovi staništa, dvodomost, ontogenija, odbrambene osobine biljaka, fenoli, tanini

Naučna oblast: Biologija

Uža naučna oblast: Evoluciona biologija

UDK broj: 581.522.5:[595.7+591.531.1](043.3)

Effects of plant sex and heterogeneous habitat light conditions in populations of dioecious *Mercurialis perennis* L. on differential herbivory

Abstract

This study investigated the presence of sex – biased and light differential herbivory in dioecious *Mercurialis perennis* L. (Euphorbiaceae). It was tested if plant sex, light conditions and the ontogenetic stage had significant effect on plant size (height, total leaf area) and leaf size (petiole and midvein length, width and leaf blade surface), leaf nutritional (water, total soluble protein and nonstructural carbohydrate content) and defensive traits (total phenolic and condensed tannin content), specific leaf area and developmental instability (estimated as fluctuating asymmetry). It was examined which of the analyzed plant traits mediated interactions between *M. perennis* and herbivores depending on habitat light conditions and plant ontogenetic stage. By using correlation analyses the connection between herbivory, developmental instability and analyzed plant traits was investigated in relation to habitat light conditions.

Mercurialis perennis or dogs' mercury is a perennial, dioecious herb that is a common member of the ground level communities of undisturbed forests. Rarely this species can be found in completely open field. In dioecious plants, the sexes can differ in vegetative traits as well as in herbivory rates. Therefore, *M. perennis* represents a suitable model system for exploring simultaneously the effects of plant sex and habitat light conditions on herbivory, plant traits and developmental instability.

This research included populations of *M. perennis* from two sites: Bele stene (Kopaonik) and Belgrade. At Bele stene site the plants were sampled during two consecutive years from two neighboring habitats. One habitat was exposed to full sunlight in an open field, while the other was inside of an evergreen forest. Differences in light conditions between the habitats (canopy openness) were quantified by means of hemispherical photography. The sample from 2015. was used to test the effects of plant sex and habitat light conditions on herbivory and analyzed plant traits, while the sample from 2016. apart from already stated, was also used to test the mentioned effects on leaf size traits and fluctuating asymmetry as an indicator of developmental instability. Four fluctuating asymmetry indices were quantified for leaf petiole length, midvein length,

leaf blade width and leaf blade surface area. To quantify developmental instability for multiple traits simultaneously, multivariate index of fluctuating asymmetry was used. At Belgrade site the plants were sampled twice in one year to investigate the effect of ontogenetic stage (reproductive and post-reproductive) and sex on herbivory and analyzed plant traits.

The results of this research showed presence of light differential herbivory in *M. perennis*. Plants at sun expose site were more damaged although they were smaller (lower and with smaller total leaf area), their leaves had lower nutritive value (lower water and soluble protein content) and smaller specific leaf area. At both habitats herbivory was negatively correlated with specific leaf area. At sun exposed habitat herbivory levels were negatively affected by leaf water content and in the shade by plant height and leaf soluble protein content. These results indicate presence of compensatory consumption of lower quality food.

Plants in post-reproductive stage were more damaged compared to the plants in reproductive stage, while their leaves had lower nutritional value (lower water and soluble protein content) and lower defense levels (lower total phenolic and condensed tannin content). The decline in defensive levels during post-reproductive stage is in concordance with basic assumptions of optimal defense hypothesis. Levels of damage were negatively affected by total nonstructural carbohydrate content in reproductive stage, while in post-reproductive stage by the total condensed tannin content. In post-reproductive stage plant size (height and total leaf area) positively affected herbivory rates, which is in accordance with plant vigor hypothesis.

No consistent sex bias in herbivory rates was found in *M. perennis*. In Bele stene sample form one year the males were more damaged, while in the Belgrade sample females were under higher herbivore pressure during post-reproductive stage. These results indicate variable pattern of sex bias of herbivory rates in *M. perennis*.

Habitat light conditions significantly affected patterns of sexual dimorphism in soluble protein, total phenolic and condensed tannin content, while ontogenetic stage had effect on presence of intersexual differences in total leaf area, soluble protein and total phenolic content. These patterns could be interpreted in context of intersexual differences in reproductive phenology and allocation.

Significant differences between habitats with different light conditions were recorded in fluctuating asymmetry index of petiole length and multivariate index, with FA values being higher at sun exposed habitat. Other quantified indices of fluctuating asymmetry did not differ significantly between examined habitats. Female plants had longer petioles and midveins, wider leaves with larger blade surface areas; however there were no significant intersexual differences in FA indices.

Correlation patterns between herbivory, fluctuating asymmetry indices and analyzed plant traits differed between the examined habitats, with higher number of statistically significant correlations being present in the sample from the shade habitat. Fluctuating asymmetry indices were mutually significantly correlated; however they were not related to total leaf area, nutritional or defensive leaf traits at either habitat. Herbivory levels were negatively correlated with index of fluctuating asymmetry of leaf blade surface area in male plants from the sun exposed habitat, and positively correlated with index of fluctuating asymmetry of leaf midvein length in male plants from the shade, while they were not significantly related to the rest of the quantified FA indices. These findings could be interpreted in context of lower impact of stress to levels of developmental instability of analyzed traits in *M. perennis*.

Key words: plant – herbivore interactions, habitat light conditions, dioecy, ontogeny, plant defensive traits, phenolics, tannins

Scientific field: Biology

Specific scientific subfield: Evolutionary biology

UDC number: 581.522.5:[595.7+591.531.1](043.3)

Sadržaj

1. Uvod	1
1.1. Interakcije između biljaka i herbivora	2
<i>Teorijski okviri interakcija između biljaka i herbivornih insekata</i>	3
1.2. Osobine biljaka koje utiču na interakcije između biljaka i herbivora	6
<i>Fizičke i nutritivne osobine biljaka</i>	7
<i>Hemijske defanzivne osobine biljaka</i>	9
1.3. Uticaj svetlosti na interakcije između biljaka i herbivora	11
1.4. Uticaj ontogenetskog stadijuma biljaka na interakcije između biljaka i herbivora	13
1.5. Polni dimorfizam	15
<i>Uticaj pola biljaka na interakcije sa herbivorima</i>	17
1.6. Razvojna nestabilnost i fluktuirajuća asimetrija	19
<i>Odnos fluktuirajuće asimetrije i stepena herbivorije</i>	20
2. Ciljevi istraživanja	22
3. Materijal i metode	24
3.1. Objekat istraživanja	25
3.2. Priprema i analiza materijala	33
<i>Hemijska analiza nutritivnih i defanzivnih osobina listova</i>	35
<i>Procena stepena herbivorije</i>	36
<i>Procena fluktuirajuće asimetrije</i>	36
3.3. Statistička obrada podataka	39
4. Rezultati	40
4.1. Uticaj svetlosnih uslova na staništu i pola na stepen herbivorije i analizirane osobine biljaka	41
4.2. Uticaj ontogenetskog stadijuma i pola na stepen herbivorije i analizirane osobine biljaka	42
4.3. Uticaj svetlosnih uslova na staništu i pola na fluktuirajuću asimetriju, stepen herbivorije i analizirane osobine listova i biljaka	43
4.4. Obrasci korelacionih odnosa između fluktuirajuće asimetrije, stepena	

herbivorije i analiziranih osobina muških i ženskih biljaka	44
5. Diskusija	65
5.1. Uticaj svetlosnih uslova na staništu	66
<i>Uticaj svetlosnih uslova na staništu na stepen herbivorije</i>	66
<i>Uticaj svetlosnih uslova na veličinu biljaka i listova, nutritivne i defanzivne osobine listova</i>	67
<i>Uticaj veličine biljaka, nutritivnih i defanzivnih osobina listova na stepen herbivorije pod različitim svetlosnim uslovima staništa</i>	69
<i>Polno-specifične razlike u stepenu herbivorije i analiziranim osobinama biljaka u odnosu na svetlosne uslove na staništu</i>	73
5.2. Uticaj ontogenetskog stadijuma	77
<i>Uticaj ontogenetskog stadijuma na stepen herbivorije i analizirane osobine biljaka</i>	77
<i>Uticaj veličine biljaka, nutritivnih i defanzivnih osobina listova na stepen herbivorije u različitim ontogenetskim stadijumima</i>	79
<i>Polno-specifične razlike u stepenu herbivorije i analiziranim osobinama biljaka u zavisnosti od ontogenetskog stadijuma</i>	81
5.3. Uticaj svetlosnih uslova na staništu na fluktuirajuću asimetriju kao pokazatelj razvojne nestabilnosti	84
<i>Odnos između fluktuirajuće asimetrije i stepena herbivorije pod različitim svetlosnim uslovima staništa</i>	86
<i>Polno specifične razlike u fluktuirajućoj asimetriji pod različitim svetlosnim uslovima staništa</i>	87
6. Zaključci	89
7. Literatura	92
8. Biografija autora	114
Prilog 1. Izjava o autorstvu.....	116
Prilog 2. Izjava o istovetnosti štampane i elektronske verzije doktorskog rada.....	117
Prilog 3. Izjava o korišćenju.....	118

1. Uvod

1.1. Interakcije između biljaka i herbivora

Herbivorija predstavlja osnovni put kojim energija nastala procesom fotosinteze ulazi u lance ishrane (Gong i Zhang 2013). Koevolucija velikog broja herbivora i biljaka traje oko 410 miliona godina (Johnson, 2011), a njihove međusobne interakcije predstavljaju jednu od klasičnih tema evolucione ekologije (Agrawal, 2011).

Začeci formiranja koevolucione teorije vezani su direktno za proučavanje odnosa između biljaka i herbivora (Ehrlich i Raven, 1964). Studije nastanka i održavanja odbrambenih mehanizama biljaka od herbivora predstavljaju osnovu koevolucionih i hemoekoloških istraživanja (Burkepile i Parker, 2017). Biljke su, kao sesilni organizmi pod konstantnim rizikom od napada herbivora, razvile izuzetno sofisticirane i raznovrsne odbrambene mehanizme (Endara i Coley, 2011; Johnson, 2011). Istraživanja ovih mehanizmima bila su usmerena ka postavljanju jedinstvenog teorijskog okvira o pravcima odvijanja koevolucione „trke u naoružanju“ između biljaka i herbivora (Endara i Coley, 2011). Fitofagni insekti specijalizovani da što efikasnije iskoriste svog domaćina, nanose oštećenja biljkama i na taj način dramatično narušavaju njihov potencijal za rast i uvećanje biomase (Züst i Agrawal, 2017). Međutim, usled postojanja selektivnog pritiska herbivora, kod biljaka dolazi do nastanka izuzetno širokog spektra fizičkih, hemijskih i fenoloških defanzivnih strategija (Agrawal, 2007).

Osnovni cilj u proučavanjima interakcija između biljaka i herbivora je analiziranje fenotipskog i genetičkog variranja defanzivnih osobina biljaka u prostoru i vremenu (Stamp, 2003; Cipolini i sar., 2014). Biljke su u prirodnim uslovima izložene veoma raznovrsnim grupama herbivora, međutim eksperimentalna istraživanja i formulisanje teorijskih okvira njihovih međusobnih interakcija sprovedena su uglavnom na model sistemima koji su uključivali fitofagne insekte. Do danas je formulisano više od deset hipoteza koje objašnjavaju obrasce ulaganja biljaka u odbranu od herbivora. Iako se u literaturi najčešće navodi nekoliko hipoteza čije su pretpostavke testirane u prirodnim i eksperimentalnim uslovima tokom dugog niza godina, nijedna hipoteza nije u potpunosti potvrđena ili odbačena (Koricheva, 2002). Jedinstvena teorija o mehanizmima odbrane od herbivora nije do sada formulisana, jer brojne postavljene hipoteze nisu međusobno isključive, a rezultati empirijskog testiranja često su kontradiktorni (Stamp, 2003).

Teorijski okviri interakcija između biljaka i herbivornih insekata

Prema teoriji o uočljivosti biljaka (*engl.* plant apparency theory – PAT), koju su formulisali Feeny (1976) i Rhoades i Cates (1976), dugoživeće biljne vrste su uočljivije kako herbivorima specijalistima tako i generalistima. Ove vrste ulažu resurse u sintezu veće količine sekundarnih metabolita (npr. tanina) koje im omogućavaju efikasnu zaštitu od obe grupe herbivora. Sa druge strane, kratkoživeće vrste ne predstavljaju tako „uočljiv“ izvor hrane, te je verovatnoća napada herbivora specijalista niska. Kratkoživeće vrste sintetišu male količine jedinjenja efikasnih u odbrani od herbivora generalista (npr. alkaloidi) (Feeny, 1976). Dakle, stepen ulaganja u odbranu biljaka determinisan je stepenom uočljivosti biljke fitofagnim insektima.

S obzirom na to da osnovne pretpostavke PAT nisu pružale objašnjenja za rezultate dobijene terenskim istraživanjima (Endara i Coley, 2011), deset godina kasnije formulisana je hipoteza dostupnosti resursa (*engl.* resource availability hypothesis – RAH) ili drugačije nazvana hipoteza stope rasta (*engl.* growth rate hypothesis) (Coley, 1985). Prema RAH rizik od napada herbivora nije direktno povezan sa uočljivošću vrste, već je jačina pritiska od strane herbivora karakteristika životne sredine ili staništa (Endara i Coley, 2011). U konkretnim uslovima staništa biljke raspolažu ograničenim resursima koji utiču na stopu rasta (Stamp, 2003; Hahn i Maroon, 2016). Ako je dostupnost resursa visoka, brzorastuće vrste sa visokim kapacitetom za kompenzatorni rast ulažu manje u konstitutivnu odbranu. U ovom slučaju, iako stepen herbivorije može biti visok, smanjenje adaptivne vrednosti neće biti veliko s obzirom na to da je biljka u stanju da gubitak tkiva nadoknadi kompenzatornim rastom (Cipolini i sar., 2014; Hahn i Maroon, 2016). Međutim, ukoliko je biljka spororastuća, u stresnim uslovima sredine gde je dostupnost resursa niska, ulaganje u proizvodnju konstitutivnih odbrambenih jedinjenja će biti veliko, a stepen herbivorije će biti relativno nizak. Dakle, prema RAH ulaganje u odbranu zavisi od odnosa između cene i koristi realokacije resursa iz rasta u odbranu (Endara i Coley, 2011). Iako je originalno formulisana sa ciljem opisivanja povezanosti nivoa odbrane i dostupnosti resursa na interspecijskom nivou, teorijski okvir RAH se primenjuje i u istraživanjima obrazaca intraspecijske rezistencije duž ekoloških gradijenata u zavisnosti od abiotičkih uslova (Hahn i Maroon, 2016).

Početakom devedesetih godina Price (1991) je formulisao hipotezu vitalnosti biljaka (*engl.* plant vigor hypothesis – PVH) koja podrazumeva da je vitalnost biljke

osobina koja posreduje u interakcijama biljaka i herbivora. Vitalnom se prema ovoj hipotezi smatra biljka ili njen deo (npr. list) koji imaju veću veličinu i višu stopu rasta u odnosu na očekivanu. Prema PVH herbivori će ispoljavati preferenciju ka vitalnijim biljnim populacijama, jedinkama i/ili listovima, koje će posledično biti više oštećene. Korelacija između vitalnosti biljke, odnosno njene veličine, i stepena herbivorije zavisi od preferencije i performanse herbivora. Preferencija prema vitalnijim, krupnijim biljkama prouzrokovana je višim performansama (npr. veća stopa rasta) i fitnessu fitofagnih insekata kada se hrane takvim biljkama. Najpre je PVH formulisana kao objašnjenje obrazaca interakcija između biljaka i insekata koj formiraju gale čije je larveno razviće usko povezano sa procesima razvića same biljke. Međutim, kasnije je ova hipoteza proširena da uključi i druge grupe insekata (Cornelissen i sar., 2008). Ovom hipotezom se ne navodi konkretan mehanizam preferencije herbivora, ali se naglašava da njenom postojanju mogu doprineti različite osobine biljaka, kao što su povećana količina i nutritivna vrednost tkiva kod krupnijih biljaka i/ili listova i/ili niži sadržaj defanzivnih jedinjenja (Price, 1991).

Po hipotezi stresa (*engl.* plant stress hypotheis – PSH) veća gustina herbivora prisutna je na biljkama koje su izložene stresnim uslovima (White, 1984). Stres se može definisati kao prisustvo nepovoljnih uslova koji utiču na nastanak promena metabolizma, rasta i razvića (Kranner i sar., 2010). Pod stresnim uslovima, dostupni resursi biljaka se više ulažu u procese koji osiguravaju preživljavanje, a manje u produkciju odbrambenih jedinjenja. Shodno tome, White (1984) smatra da biljke izložene stresnim uslovima predstavljaju kvalitetniji izvor hrane, jer njihova tkiva sadrže veću količinu nutrijenata, snižene nivoe defanzivnih jedinjenja i/ili promenjen odnos između nutrijenata i defanzivnih jedinjenja. Kod biljaka izloženih vodnom deficitu sadržaj slobodnih amino kiselina u listovima raste. S obzirom na to da je azot jedan od najpotrebnijih elemenata za funkcionisanje fitofagnih insekata, biljke koje su pretrpele veći stres bile bi više oštećene aktivnošću herbivora. Terenskim istraživanjima utvrđeno je da umeren stres na biljke može imati povoljan efekat po herbivore, jer je stepen herbivorije pozitivno korelisan sa nivoom stresa. Međutim, eksperimentalna istraživanja su dala oprečne rezultate (Cornelissen i sar, 2008) zbog čega je formulisana alternativna, hipoteza pulsirajućeg stresa (*engl.* pulsed plant stress hypotheis – PPSH). Prema PPSH umereni stres, sa periodima tokom kojih biljke mogu da se oporave, ima

pozitivan efekat na njihove herbivore, dok u kontinuitetu stresirane biljke ne predstavljaju odgovarajući izvor hrane herbivorima (Huberty i Denno, 2004).

Za razliku od već navedenih teorija i hipoteza koje se bave obrascima inter - ili intraspecijskih variranja odbrambenih mehanizama biljaka, hipoteza optimalne odbrane (*engl.* optimal defense hypothesis – ODH) predviđa obrasce variranja odbrane unutar vrste uključujući intra- i interindividualni nivo (McKey, 1974; Rhoades, 1979). Prema ODH sinteza defanzivnih jedinjenja je energetski skupa i zavisi od ulaganja resursa u ostale životne funkcije (rast i razmnožavanje), jer između njih postoji uzajamno ograničenje (*engl.* trade off). Shodno tome, resursi se alociraju za odbranu struktura i tkiva koja su ranjiva, izložena visokom riziku od napada herbivora i čije oštećenje bi dovelo do značajnog smanjenja fitnesa biljke. Delovi biljke koji su izloženi najvećem riziku od napada herbivora (npr. mladi listovi i reproduktive strukture – cvetovi i semena) bi trebalo da sadrže najviše koncentracije konstitutivnih defanzivnih jedinjenja. Pokazano je da su defanzivna jedinjenja na intraindividualnom nivou manje ili više konzistentno distribuirana prema obrascima koje predviđa ODH (Meldau i sar., 2012). Na interindividualnom nivou, u odsustvu herbivora, biljke koje manje ulažu u odbranu imaju veći fitnes, s obzirom da „višak“ resursa mogu da alociraju u reprodukciju. Međutim, ukoliko je selektivni pritisak herbivora jak, biljke sa visokim stepenom konstitutivne hemijske odbrane imaju selektivnu prednost zbog povišene rezistencije. Biljke koje su izložene sredinskom stresu, manje resursa ulažu u odbranu, tako da imaju snižene nivoe konstitutivnih defanzivnih jedinjenja (Rhoades, 1979; Stamp, 2003).

Hipoteza rasta i diferencijacije (*engl.* growth – diferentiation balance hypothesis – GDBH) koju su formulisali Herms i Mattson (1992) pruža objašnjenje kako dostupnost resursa utiče na usmeravanje energije u procese rasta i diferencijacije, i odbranu od herbivora u zavisnosti od nivoa stresa. Rast (formiranje novih ćelija, korena, stabla, novih listova) i diferencijacija (obrazovanje trihoma, učvrćivanje kutikule i produkcija sekundarnih metabolita) su međusobno u kompeticiji za energiju. Prema GDBH, raspoloživi resursi se najpre ulažu u rast, a zatim u diferencijaciju biljaka. Faktori stresa više utiču na smanjenje stope rasta, a manje na stopu fotosinteze. U optimalnim uslovima sredine, sa maksimalnom dostupnošću resursa, najveći deo energije se usmerava u rast, a manji u diferencijaciju, zbog čega se proizvodnja SM održava na

relativno niskom nivou. U ovakvim uslovima, biljke sa većom biomasom imaće niži nivo odbrane od herbivora. Ukoliko se biljke nalaze u uslovima umerenog stresa, energija dobijena fotosintezom se zadržava u listovima i usmerava na sintezu veće količine sekundarnih metabolita. Prema GDBH resursi unutar biljke neće biti distribuirani u produkciju novih listova, već će biti zadržani u starijim listovima i iskorišćeni za sintezu SM. Stoga biljke u uslovima umerenog stresa poseduju srednju biomasu i visoku koncentraciju SM. U uslovima pojačanog stresa usled nedostatka nutrijenata ili vode, ograničeni su rast i diferencijacija biljaka, te biljke imaju manju biomasu i nizak nivo sekundarnih metabolita (Stamp, 2003).

Većina do danas formulisanih hipoteza o obrascima variranja odbrane od herbivora zasniva se na pretpostavkama da je sinteza defanzivnih jedinjenja u energetskom smislu zahtevan proces i da je ograničen energetskim ulaganjima u ostale životne funkcije, rast i reprodukciju. Na intraindividualnom nivou, u tkiva čije oštećenje bi značajno snizilo fitnes biljke, ulaže se veća količina resursa za sintezu odbrambenih jedinjenja. Takođe, obrasci alokacije resursa determinisani su ne samo unutrašnjim već i sredinskim činiocima. Dostupnost resursa u životnoj sredini može da ograniči različite životne funkcije u različitoj meri. Sve navedene činjenice ukazuju da bi uzajamno ograničavanje moglo da bude prisutno i između različitih tipova odbrane od herbivora. Međutim, empirijska istraživanja o postojanju uzajamnih ograničenja između fizičkih i hemijskih odbrambenih osobina, rezistencije i tolerancije, indukovanih i konstitutivnih odbrana su dala oprečne rezultate. Danas se smatra da sinergističko dejstvo koordinisanih kompleksa osobina dovodi do formiranja efikasnih defanzivnih strategija (Agrawal i Fishbein, 2006; Moles i sar., 2013).

1.2. Osobine biljaka koje utiču na interakcije između biljaka i herbivora

Najpre su istraživanja mehanizmima odbrane biljaka od herbivora bila usmerena na proučavanje jedne ili manjeg broja defanzivnih osobina. Međutim, tokom poslednje decenije pokazano je da u odbrani biljaka učestvuju koadaptirani kompleksi osobina. Ove kombinacije osobina čine defanzivne strategije koje mogu da uključuju toleranciju na oštećenja, izbegavanje herbivora i rezistenciju (Agrawal i Fishbein, 2006). Tolerancija predstavlja potencijal biljke da smanji negativne efekte herbivorije na

adaptivnu vrednost (Stowe i sar., 2000) i najčešće uključuje indukovani kompenzatorni rast kako bi se nadoknadili oštećeni listovi, izdanci i delovi korena (Fornoni, 2010). Nasuprot tome, strategija izbegavanja uključuje smanjivanje verovatnoće da herbivori pronađu i napadnu biljku, obično kroz prilagođavanje vremena klijanja i fenoloških ciklusa biljke tako da se izbegnu ciklusi aktivnosti njihovih herbivora (Boege i Marquis, 2005).

Ipak, rezistencija, koja u najširem smislu podrazumeva smanjivanje stepena herbivorije (Liemu i Koricheva, 2006), je najduže i najintenzivnije proučavan aspekt odbrane biljaka od herbivora (Carmona i sar., 2011). Mehanizmi odbrane od herbivora mogu biti direktni i indirektni. U direktne odbrambene mehanizme su uključene različite fizičke osobine biljaka (npr. odbrambene strukture i građa listova) i defanzivna jedinjenja (npr. alkaloidi, fenoli). Međutim, iako nutritivne osobine (npr. sadržaj solubilnih proteina) biljaka nisu direktno povezane sa rezistencijom, one mogu uticati na preferenciju i performanse herbivora (Carmona i sar., 2011; Joern i sar., 2012). Pored direktnih, postoje i indirektni odbrambeni mehanizmi, npr. kada biljke proizvode isparljiva jedinjenja koja privlače predatore herbivora (Agrawal i Fishbein, 2006; Moles i sar., 2013).

Fizičke i nutritivne osobine biljaka

Fizičke osobine biljaka (morfološke ili anatomske) direktnim, fizičkim odbijanjem herbivora utiču na povećanje adaptivne vrednosti biljaka (Hanley i sar., 2007). Pokazano je da veličina biljke i listova može da utiče na rizik od napada herbivora (Price, 1991). Insekti sa raznovrsnim načinima ishrane mogu da pokazuju preferenciju ka višim biljkama sa većim listovima. Uobičajena objašnjenja postojanja ovakve preferencije podrazumevaju da bi krupnije biljke trebalo da predstavljaju kvalitetniji izvor hrane sa većom nutritivnom vrednošću ili nižim sadržajem defanzivnih jedinjenja (Cornelissen i sar., 2008).

Smatra da je specifična lisna površina (SLA), koja predstavlja odnos između površine i suve mase lista, još jedna od fizičkih osobina biljaka koja može značajno da utiče na stepen herbivorije (Gong i Zhang 2013). Osnovna pretpostavka je da su listovi sa nižim vrednostima SLA manje oštećeni (Hanley i sar., 2007), s obzirom da su čvršći i

manje privlačni za herbivore, zbog velike količine vlakana i male nutritivne vrednosti (Salgado-Luarte i Gianoli, 2010). Međutim, ispitivanja odnosa između SLA i stepena oštećenja listova pokazala su da je njihova međusobna povezanost kompleksna (Lusk i sar., 2010) i da može da zavisi i od drugih osobina lista kao što je npr. njegova nutritivna vrednost (Joern i sar., 2012).

Dakle, osim fizičkih osobina biljaka, na preferenciju i performanse herbivora može da utiče i sadržaj nutrijenata u listovima (Carmona i sar., 2011), s obzirom na to da je pokazano da usled ishrane tkivima niske nutritivne vrednosti može doći do redukcije stopa rasta i indirektno povećati mortalitet herbivora. Na ovaj način produžava se trajanje subadultnih faza u razviću fitofagnih insekata kao i period njihove izloženosti napadu predatora, parazita i parazitoida (Cornelissen i Stiling, 2006).

Sadržaj vode i azota u listovima utiče na performanse i preferencije u ishrani fitofagnih insekata (Coley i sar., 2006; Carmona i sar., 2011) u prirodi i u eksperimentalnim uslovima (Coley i sar., 2006). Nizak sadržaj azota dovodi do produžavanja vremena razvića (Awmack i Leather, 2002) i ishrane (Coley i sar., 2006), smanjenja fekunditeta, stope rasta i biomase kod fitofagnih insekata (Awmack i Leather 2002), i povećanja stepena herbivorije (Coley i sar., 2006). Naime, herbivori mogu kompenzovati nizak nutritivni kvalitet hrane konzumiranjem veće količine tkiva lošijeg kvaliteta (Coley i sar., 2006). Prilikom proučavanja osobina koje su značajne u interakcijama biljaka i herbivora, često se ispituje veza između sadržaja solubilnih proteina, kao glavnih izvora azota (Joern i sar., 2012) i stepena herbivorije (Agrawal i Weber, 2015).

Sadržaj svih hidrosolubilnih jedinjenja usko je povezan sa sadržajem vode u tkivima, i smatra se da su biljke sa višim sadržajem vode podložnije napadu herbivora (Coley i sar., 2006). Pokazano je da su stopa rasta herbivornih insekata, kako generalista tako i specijalista, i brzina konverzije hrane u biomasu pozitivno povezane sa količinom vode i u njoj rastvorenih proteina (Henriksson i sar., 2003; Coley i sar., 2006). Shodno navedenom, smatra se da sadržaj vode može biti adekvatan indeks nutritivne vrednosti listova (Han i sar., 2014).

Uz vodu i proteine, među najznačajnijim nutrijentima za rast i razviće herbivora nalaze se i ugljeni hidrati (Coley i sar., 2006). Iako su proteini ključni gradivni elementi, energiju za biosintetske procese u telima herbivora obezbeđuju ugljeni hidrati.

Balansirani unos proteina i ugljenih hidrata kod insekata se postiže regulacijom tipa i količine konzumiranog biljnog tkiva (Roeder i Behmer 2014). Kao pokazatelj sadržaja ugljenih hidrata često se koristi apsolutni udeo ugljenika u biljnom tkivu. Međutim, njegova apsolutna količina nije informativna za energetske vrednosti tkiva, s obzirom na to da se ugljenik nalazi inkorporiran i u ugljenim hidratima koji imaju strukturnu ulogu, kao što su lignin i celuloza, koji su nesvarljivi za fitofagne insekte. Iz navedenih razloga često korišćen odnos između elementarnog ugljenika i azota (C/N odnos) nije adekvatan indikator energetske i nutritivne vrednosti biljnog tkiva. Shodno tome značajno je kvantifikovati koncentraciju nestrukturnih ugljenih hidrata po gramu suve materije koja je dostupna herbivorima i utvrditi njihovu ulogu u interakcijama sa herbivorima (Joern i sar., 2012).

Hemijske defanzivne osobine biljaka

Hemijska jedinjenja koja proizvode biljke se dele na: primarne i sekundarne metabolite. Primarni metaboliti regulišu procese razvika, rasta i reprodukcije, dok sekundarni metaboliti imaju važnu ulogu u disperziji semena, komunikaciji i kompeticiji između biljaka, i zaštiti biljaka od patogena i herbivora (Engelberth, 2006). Sekundarni metaboliti mogu imati repelentno ili toksično dejstvo na herbivore, i uticati na smanjenje nutritivne vrednosti tkiva biljaka (Fürstenberg-Hägg i sar., 2013). Iako je registrovan ogroman broj sekundarnih metabolita koji su na neki način uključeni u odbranu od herbivora, na molekularnom nivou još uvek nije u potpunosti razjašnjen tačan mehanizam delovanja ovih jedinjenja na herbivore. Na fiziološkom nivou, glavni mehanizmi njihove aktivnosti uglavnom uključuju disrupciju membrane, inhibiciju transporta i absorpcije nutrijenata, ometanje signalnih puteva transdukcije i inhibiranje metaboličkih i hormonski kontrolisanih fizioloških procesa (Mithöfer i Boland, 2012). Fitoanticipini, kao grupa sekundarnih metabolita, se sintetišu konstitutivno i deponuju u tkivima, dok je produkcija fitoalakesina indukovana napadom od strane herbivora ili mikroorganizama. Među najznačajnije fitoanticipine spadaju cijanogeni glukozidi, glukozinolati, izoflavonoidi, terpenoidi i alkaloidi, dok se u fitoaleksine svrstavaju: fenoli, tanini, proteinski inhibitori aktivnosti enzima i isparljiva organska jedinjenja.

Biohemijske aktivnosti svih pomenutih jedinjenja dovode do smanjivanja performansi i preživljavanja fitofagnih insekata (War i sar., 2012).

Najranije otkriveni i uspešno izolovani sekundarni metaboliti su alkaloidi (Roberts i Wink 1998). Oko 20% skrivenosemenica sintetiše u korenu više od 15 000 vrsta alkaloida koji se zatim transportuju u nadzemne delove biljaka (Fürstenberg-Hägg i sar., 2013). Količina alkaloida u biljnim tkivima je relativno niska (od 0.1 do 2% suve mase) (Roberts i Wink 1998). Smatra se da su evoluirali verovatno kao deo konstitutivne hemijske odbrane od herbivora. Većina alkaloida su fiziološki aktivna jedinjenja sa različitim nivoima toksičnih efekata, iako neki mogu imati ulogu atraktanata u procesima polinacije (Howe, 2008).

Takođe, smatra se da ulogu u odbrani od herbivora kod zeljastih biljaka mogu imati i fenoli (Barbehenn i Constabel 2011). Oko 10 000 do danas opisanih fenolnih jedinjenja predstavljaju derivate metaboličkih puteva šikiminske i malonske kiseline i funkcionišu kao repelenti fitofagnih insekata (Fürstenberg-Hägg i sar., 2013). Oksidacijom ovih jedinjenja nastaju hinoni koji su toksični za insekte. Hinoni grade komplekse sa proteinima koji se nalaze u listovima tako da oni postaju nesvarljivi za herbivore (War i sar., 2012). Fenoli se vezuju za digestivne enzime herbivora, čime inhibiraju njihovu aktivnost (Fürstenberg-Hägg i sar., 2013).

U fenolna jedinjenja spadaju i tanini čija sinteza može biti indukovana u slučaju napada herbivora. U tanine spadaju: kondenzovani tanini, galotanini i elagitanini, pri čemu prve dve grupe imaju izražen protein precipitacioni kapacitet (PPK) (Barbehenn i Constabel, 2011). Naročito intenzivnu precipitaciju proteaza insekata i proteina biljaka u središnjem delu crevnog trakta vrše kondenzovani tanini (War i sar., 2012) koji onemogućavaju varenje proteina i mikronutrijenata. Tradicionalno se smatralo da se anti-herbivorna aktivnost tanina zasniva isključivo na PPK, tako da su se hemoeколоška istraživanja bavila utvrđivanjem ili ukupne količine tanina u tkivu ili protein precipitacionim kapacitetom kondenzovanih tanina (Barbehenn i Constabel, 2011). Međutim, da bi se reakcija precipitacije uspešno odvijala, neophodno je da pH rastvora bude visoka. Digestivni trakt većine fitofagnih insekata je zapravo baznog karaktera i obložen surfaktantima čime su ovi herbivori dodatno zaštićeni od negativnog uticaja tanina koji su prisutni u biljnom tkivu. Dakle, u uslovima niskog pH reakcija precipitacije proteina aktivnošću tanina je inhibirana, omogućavajući insektima varenje

konzumiranog tkiva i apsorpciju nutrijenata bez obzira na prisustvo tanina u listovima. Međutim, u baznim uslovima tanini takođe podležu reakcijama oksidacije čiji produkti deluju izuzetno citotoksično na insekte formirajući lezije u središnjem delu njihovog digestivnog trakta. Dakle, dejstvo tanina na herbivore nije samo ispoljeno kroz PPK već i kroz oksidativne procese u lumenu digestivnog trakta (Salminen i Karonen, 2011). Međutim, pokazano je da u slučaju herbivora specijalista tanini mogu da funkcionišu kao fagostimulansi, i njihovo prisustvo čak i u visokim koncentracijama ne mora imati negativno dejstvo na performanse fitofagnih insekata. Utvrđivanje uloge tanina u odbrani biljaka i njihov uticaj na stepen herbivorije predstavlja aktuelnu temu u hemoekologiji i evolucionoj ekologiji (Barbehenn i Constabel, 2011).

1.3. Uticaj svetlosti na interakcije između biljaka i herbivora

Abiotički (fizički) uslovi životne sredine utiču na dostupnost i kvalitet različitih resursa koji mogu uticati na interakcije između biljaka i herbivora. Među abiotičkim faktorima, kvantitet i kvalitet svetlosti predstavlja jedan od najvažnijih za normalno razviće, rast i reprodukciju biljaka, kao i za obavljanje osnovnih metaboličkih funkcija (Salgado-Luarte i Gianoli, 2012). U prirodi, intenzitet i kvalitet sunčeve svetlosti variraju u vremenu (dnevno i sezonski) i prostoru (npr. između listova jedne biljke i između listova različitih biljaka) (Stoepler i Rehil, 2012).

Smanjen intenzitet svetlosti utiče na smanjenje intenziteta fotosinteze i fenotipsku ekspresiju osobina koje omogućavaju maksimalno iskorišćavanje dostupne svetlosti (Salgado-Luarte i Gianoli, 2012). Funkcionalni odgovori biljaka na smanjen intenzitet svetlosti podrazumevaju: 1) promene u obrascima alokacije resursa većim ulaganjem u izduživanje stabla i povećavanje ukupne površine svih listova; 2) promene u arhitekturi izdanaka, npr. kroz izduživanje internodija i lisnih drški; 3) povećavanje specifične lisne površine; i 4) promene na biohemijskom nivou (Salgado-Luarte i Gianoli, 2011). Smanjena dostupnost svetlosti indukuje promene u nutritivnoj vrednosti listova i defanzivnom kapacitetu biljaka koje mogu uticati na interakcije između biljaka i herbivora.

Sa jedne strane, kod heliofita, odnosno vrsta kod kojih su optimalna staništa ona koja su izložena većem intenzitetu svetlosti, oni listovi koji se razvijaju pod

vegetacijskom senkom („listovi senke“) su tanji, mekši (Salgado-Luarte i Gianoli, 2011), sa višim sadržajem vode i proteina. Smatra se da su „listovi senke“ privlačniji i nutritivno kvalitetniji izvor hrane herbivorima u poređenju sa listovima iste vrste koji su tokom razvića izloženi punoj dnevnoj svetlosti („listovi sunca“) (Roberts i Paul 2006; Valladares i Niinemets 2008; Muth i sar., 2008). Neka od istraživanja su pokazala da su „listovi sunca“, pod manjim pritiskom herbivora ne samo zbog niskog nutritivnog kvaliteta, već i usled postojanja višeg nivoa fizičke i hemijske rezistencije (veće koncentracije ugljovodoničnih sekundarnih metabolita npr. fenola i tanina) (Muth i sar., 2008; Takafumi i sar., 2010; Stoepler i Rehil, 2012). Herbivori koji se hrane „listovima sunca“ imaju niže stope preživljavanja, manju masu tela i duže vreme razvića, zbog čega bi bilo očekivano da su biljke sa staništa izloženog punoj dnevnoj svetlosti manje oštećene (Karolewski i sar., 2013). Međutim, u nekim od studija diferencijalne herbivorije u zavisnosti od svetlosnih uslova na staništu i karakteristika samog model sistema biljke pokazano je i suprotno: „listovi sunca“ su bili pod većim pritiskom herbivora u odnosu na „listove senke“ (Louda i Rodman, 1996).

Naime, u šumskim ekosistemima, u prizemnim spratovima svetlost predstavlja ograničavajući resurs. Na ovakvim staništima dominantne su zeljaste biljke tankih, nežnih listova, tolerantne na nizak intenzitet svetlosti. Ove vrste ograničene su na staništa u dubokoj senci usled fizioloških ograničenja koja im onemogućavaju opstanak na staništima izloženim punoj dnevnoj svetlosti (Niesenbaum i Kluger 2006; Salgado-Luarte i Gianoli, 2010). Međutim, pretpostavlja se da i diferencijalna herbivorija u odnosu na svetlosne uslove staništa može dovesti do odsustva vrsta tolerantnih na duboku senku sa staništa izloženih punoj dnevnoj svetlosti usled prisustva većeg pritiska herbivora (Louda i Rodman, 1996). Diferencijalna herbivorija u odnosu na svetlosne uslove istraživana je na različitim model sistemima, uglavnom na drvenastim (Baraza i sar., 2004; Guerra i sar., 2010; Sinimbu i sar., 2012; Stoepler i Rehill 2012) i žbunastim (Muth i sar., 2008; Mooney i sar., 2009; Mooney i Niesenbaum 2012; Karolewski i sar., 2013), a ređe na zeljastim vrstama koje naseljavaju prizemni sprat šumskih ekosistema (npr. Selaković i sar., 2018).

1.4. Uticaj ontogenetskog stadijuma biljaka na interakcije između biljaka i herbivora

Promene tokom ontogenije identifikovane su kao jedan od ključnih izvora varijabilnosti u odbrani biljaka od herbivora. Obrasci alokacije resursa u rast, odbranu i reprodukciju se menjaju tokom ontogenije, jer se potencijal za skladištenje i pristup vodi i nutrijentima uvećava; dok se stope rasta, fotosinteze i metabolizma smanjuju (Boege i Marquis, 2006). Pokazano je da se tokom razvića menjaju fizičke (npr. čvrstoća lista), konstitutivne (npr. alkaloidi) i indukovane hemijske defanzivne osobine (npr. isparljiva organska jedinjenja) (Barton i Koricheva, 2010).

Tokom ontogenije selektivni pritisak herbivora je promenljiv, što utiče na promene u defanzivnim strategijama biljaka (Wiggins i sar., 2016). Selektivni pritisak herbivora tokom određenog ontogenetskog stadijuma zavisi od većeg broja faktora: stepena sinhronizovanosti između fenologije biljaka, herbivora i njihovih predatora, i promena u „uočljivosti“ samih biljaka herbivorima. Takođe, i ključna osobina za efikasnu odbranu može da se menja tokom ontogenije. Smatra se da selekcija favorizuje određene kombinacije odbrambenih mehanizama i osobina i/ili njihovo sukcesivno smenjivanje tokom individualnog razvića (Boege i Marquis, 2005).

Oslanjajući se na principe hipoteze optimalne odbrane, kao i rasta i diferencijacije Boege i Marquis (2005) su predložili model promena defanzivnih osobina biljaka tokom ontogenije u zavisnosti od reproduktivne strategije vrste. Polazne osnove ODH i GDBH su suprotne, shodno tome i predviđeni obrasci ontogenetskih promena, nivoa i mehanizama odbrane biljaka su obrnuti.

Prema ODH, alokacija resursa u odbranu (formiranje određene strukture, sintezu SM itd.) određena je odnosom između koristi, u smislu povećanja fitnesa biljke, i cene proizvodnje konkretne defanzivne osobine. S obzirom na to da fenološke i ontogenetske promene utiču na fiziološke procese, a samim tim i na obrasce alokacije resursa u životne funkcije, odnos korist/cena će se menjati tokom ontogenije. Prirodna selekcija favorizuje postizanje maksimalne vrednosti odnosa korist/cena kroz povećan nivo odbrane tokom onih ontogenetskih stadijuma tokom kojih su biljke izložene povećanom riziku od napada herbivora. Međutim, ulaganje u odbranu može biti ograničeno u određenim ontogenetskim stadijumima, ako se u konkretnom stadijumu više ulaže u rast ili reprodukciju.

Dakle, prema ODH nivo odbrane biljaka od herbivora u određenom ontogenetskom stadijumu određen je balansom između koristi od odbrane i uzajamnog ograničenja između ulaganja u odbranu i drugih životnih funkcija koje imaju veliki uticaj na adaptivnu vrednost (Boege i Marquis, 2005). Negativan uticaj herbivorije je manji što se desi kasnije u toku života. Ove pretpostavke slažu se sa osnovnim principima ODH i objedinjene su u okviru hipoteze starosti biljke (*engl.* plant age hypothesis – PAH): tokom ranijih ontogenetskih stadijuma biljke su bolje branjene od herbivora, a nivoi hemijske odbrane opadaju tokom života biljke (Spiegel i Price, 1996).

Obrasci promena nivoa odbrane tokom ontogenije na osnovu GDBH hipoteze su suprotni u odnosu na ODH. Prema GDBH, mlade biljke tokom najranijih faza razvića crpe ograničene resurse iz semena i kotiledona i usmeravaju ih u rast, dok se ulaganje u odbranu održava na minimumu. Kako biljka raste, potencijal za apsorpciju i skladištenje resursa raste, tako da je moguća alokacija resursa u diferencijaciju, odnosno produkciju defanzivnih hemijskih jedinjenja. Dakle, prema GDBH nivo hemijske odbrane raste tokom ontogenije (Herms i Mattson, 1992).

Nakon dostizanja reproduktivne zrelosti, obrazac alokacije resursa u odbranu zavisi od reproduktivne strategije vrste. Ukoliko je vrsta iteroparna, nivo odbrane će i nakon završetka reprodukcije biti na visokom nivou, jer je važno da biljka ostane zaštićena kako bi bila u stanju da apsorbuje i skladišti dovoljno resursa za reprodukciju u narednoj sezoni. Sa druge strane, ukoliko se radi o semelparnoj vrsti, nakon završetka reprodukcije nivo odbrane će opadati (Boege i Marquis, 2005).

Osim promena defanzivnih mehanizama na nivou čitave biljke tokom razvića, pokazano je da organi biljaka, npr. listovi, mogu posedovati sopstvene ontogenetske trajektorije. Naime, kvalitativni sastav nutritivnih (sadržaj ugljenjnih hidrata, proteina i vode) (Lusk i sar., 2010; Maldonado-López i sar., 2014; Bisigato i sar., 2015) i defanzivnih hemijskih jedinjenja u listovima se menja tokom ontogenije (Wiggins i sar., 2016). Mladi listovi su mekši, sa višim sadržajima vode i proteina, te predstavljaju kvalitetniji izvor hrane (Heath i sar., 2014; Ochoa-López i sar., 2015; Godschalx i sar., 2016). Mladi fotosintetski aktivni listovi obezbeđuju biljkama energiju neophodnu za rast i reprodukciju, zbog čega bi njihovo oštećenje prouzrokovalo značajno smanjenje fitnesa čitave biljke. Shodno pretpostavkama ODH, mladi listovi poseduju više nivoa hemijske odbrane u poređenju sa zrelim listovima (Oliveira i sar., 2012; Meladau i sar.,

2012), što je meta-analiza i potvrdila (McCall i Fordyce, 2010). Starenjem listova, strategija ulaganja u sintezu zaštitnih sekundarnih metabolita se zamenjuje strategijom fizičke odbrane očvršćavanjem lisne ploče kroz lignifikaciju ćelijskih zidova (Wiggins i sar., 2016).

Istraživanja promena u defanzivnim osobinama tokom razvića biljaka dala su oprečne rezultate. Dok su neke od studija pokazale da tokom ontogenije može doći do povećanja nivoa odbrane, što je u saglasnosti sa pretpostavkama GDBH (Holeski i sar., 2012; Hoque i Avila – Sakar, 2015), neki istraživači su ustanovili da može doći do opadanja defanzivnih kapaciteta biljaka, shodno predviđanjima ODH (Qintero i Bowers, 2011; Gutbrodt i sar., 2012). Dosadašnjim istraživanjima su identifikovane ključne defanzivne osobine u jednom konkretnom ontogenetskom stadijumu, ili su poređene defanzivne strategije između dva ontogenetska stadijuma, najčešće pre-reproduktivnog (juvenilnog) i reproduktivnog (Thomas i sar., 2010). Manjim brojem studija je pokazano na koji način se kod zeljastih, višegodišnjih vrsta, nivoi odbrane menjaju nakon završetka reprodukcije. Međutim, da bi se u potpunosti razjasnili obrasci ontogenetskih trajektorija odbrambenih osobina kod biljaka, potrebna su dalja istraživanja u prirodnim uslovima na vrstama koje nisu klasični model sistemi (Barton i Boege, 2017).

1.5. Polni dimorfizam

Oko 90% vrsta skrivenosemenica poseduje dvopolne cvetove (Barrett i Hough, 2013). Međutim, kod cvetnica postoji čitav spektar kompleksnih i raznovrsnih polnih sistema, od kojih je jedan dvodomost (Avila-Sakar i Romanov, 2012). Populacije dvodomih vrsta sastoje se od muških i ženskih biljaka, odnosno biljaka ili sa muškim ili sa ženskim cvetovima (Ashman, 2002). Iako je dvodomost relativno retka (prisutna kod svega oko 6% vrsta skrivenosemenica) smatra se da je evoluirala od hemafroditizma oko 100 puta u toku evolucije skrivenosemenica i da je prisutna kod gotovo polovine familija cvetnica (Ashman, 2002; Avila – Sakar i Romanov, 2012).

Kod dvodomih biljaka polovi se mogu se razlikovati u primarnim (cvetovi) i sekundarnim polnim karakteristikama (različiti aspekti morfologije i fiziologije biljaka), kao i u osobinama životne istorije (*engl.* life history traits). Fenomen interseksualnih razlika u navedenim osobinama poznat je kao polni dimorfizam (Barrett i Hough, 2013).

Polni dimorfizam sekundarnih polnih karakteristika predstavlja posledicu postojanja razlika u energetskim zahtevima procesa reprodukcije kod muških i ženskih biljaka. Smatra se da ženske biljke više energije ulažu u reprodukciju u odnosu na muške biljke, jer se kod ženskih biljaka resursi ne ulažu samo u nastanak cvetova, već i u formiranje semena i plodova (Juvany i Munné – Bosch, 2015). Iako je veća reproduktivna alokacija (RA) češće zabeležena kod ženskih biljaka, meta-analiza rađena na osnovu 54 studije nije pokazala postojanje značajnih razlika između polova u RA (Cornelissen i Stiling, 2005a). U slučaju nekih anemofilnih vrsta kod kojih je neophodan nastanak velike količine azotom bogatog polena, energetski zahtevi reprodukcije kod muškog pola su gotovo slični ili viši u odnosu na ženski pol (Barrett i Hough, 2013).

Usled postojanja fizioloških uzajamnih ograničenja između osnovnih životnih funkcija, ženske biljke manju količinu energije i resursa ulažu u rast, što obično može da rezultuje nižim stopama rasta i manjom biomasom (Barrett i Hough, 2013; Juvany i Munné-Bosch, 2015). Ovaj fenomen poznat je i kao polni dimorfizam u veličini (Fairbairn i sar., 2007). Polovi dvodomih vrsta se mogu razlikovati i u efikasnosti metaboličkih procesa i toleranciji na abiotički stres (Juvany i Munné-Bosch, 2015). Pretpostavlja se da pol sa većom RA ima više stope mortaliteta u stresnijim uslovima spoljašnje sredine (Lloyd i Webb, 1977). Bilo bi očekivano da pod nepovoljnim uslovima staništa može doći do promene u brojčanom odnosu polova, pri čemu se povećava brojnost pola koji manje energije ulaže u reprodukciju, što je najčešće muški pol (Barrett i Hough, 2013). Posledično, duž gradijenata sredinskih uslova može doći do neslučajne distribucije polova u prostoru (Bierzychudek i Eckhart, 1988) i diferencijalnog prisustva ženskih biljaka u onim delovima staništa na kojima su uslovi sredine najoptimalniji (Obeso, 2002).

Iako je evolucija dvodomosti od hermafroditizma jedna od izuzetno aktuelnih i intenzivno proučavanih tema u evolucionoj ekologiji biljaka, ovo pitanje još uvek nije u potpunosti razjašnjeno (Barrett i Hough, 2013). Smatra se da je do nastanka dvodomosti došlo delovanjem prirodne selekcije na obrasce alokacije resursa u rast, reprodukciju i odbranu. Verovatno je kao rezultat razlika između polova u ulaganju u navedene životne funkcije došlo do pojave polnog dimorfizma vegetativnih osobina i osobina životne istorije. Iako je polni dimorfizam navedenih osobina proučavan na različitim model sistemima, kako u eksperimentalnim tako i u prirodnim uslovima, još uvek nema

konzistentnih zaključaka o opštim obrascima polnog dimorfizma kod dvodomih biljaka (Obeso, 2002; Conelissen i Stiling, 2005a). Takođe, manje pažnje je posvećeno istraživanjima kako dostupnost resursa, naročito svetlosti, može da utiče na obrasce polnog dimorfizma vegetativnih osobina u prirodnim populacijama zeljastih dvodomih biljaka.

Uticao pol biljaka na interakcije sa herbivorima

Razlike u obrascima alokacije resursa u reprodukciju i rast kod dvodomih vrsta su usko povezane sa razlikama u nivoima odbrane između muških i ženskih biljaka. Polni dimorfizam veličine, nivoa odbrane i nutritivnog kvaliteta biljaka može uticati na postojanje razlika u stepenu herbivorije kod muških i ženskih biljaka (Espírito-Santo i sar., 2012). Smatra se da prisustvo diferencijalne herbivorije u odnosu na pol (*engl.* sex – biased herbivory) predstavlja jedan od mogućih mehanizama koji je doveo do evolucije dvodomosti (Ashman, 2002; Avila-Sakar i Romanov, 2012).

Naime, usled alokacije nutrijenata iz listova u reproduktivne organe, pretpostavlja se da ženski pol obično ima niže stope rasta (Espírito-Santo i sar., 2012). S obzirom da bi ponovno formiranje tkiva nakon oštećenja prouzrokovanog aktivnošću herbivora trajalo duže nego kod muških biljaka, a cena po fitnes biljke bila viša, selekcija favorizuje posedovanje viših nivoa konstitutivne odbrane kod ženskih biljaka (Ågren i sar., 1999). Smatra se da ženske biljke sintetišu veće količine sekundarnih metabolita (SM) i da imaju listove manje nutritivne vrednosti, zbog čega su izložene manjem pritisku herbivora (Mooney i sar., 2010). Pretpostavlja se da više stope rasta, niži nivo odbrane, veći nutritivni kvalitet i veća uočljivost rezultuju višim stepenom herbivorije kod muških biljaka u odnosu na ženske. Smatralo se da je ovakav obrazac diferencijalne herbivorije, uočen meta-analizom, univerzalno prisutan kod dvodomih vrsta (Conelissen i Stiling, 2005a).

Međutim, iako su neka od istraživanja potvrdila hipotezu o višem stepenu herbivorije kod muških biljaka (Cepeda-Cornejo i Dirzo, 2010; Sánchez-Vilas i Pannell, 2011), pokazano je i suprotno: ženske biljke nekih dvodomih vrsta trpe viši pritisak od strane herbivora (Cibils i sar., 2003; Maldonado-López i sar., 2014). Postojanje višeg stepena herbivorije kod ženskog pola može biti posledica uzajamnog ograničenja

između reprodukcije i odbrane. Kod ženskih biljaka, koje više ulažu u reprodukciju, nivoi odbrane su niži, te je i stepen herbivorije viši (Obeso, 2002; Buckley i Avila-Sakar, 2013). Sa druge strane, u slučaju nekih dvodomih vrsta nisu zabeležene razlike između polova u stepenu herbivorije (McCall, 2007; Espírito-Santo i sar., 2012; Buckley i Avila-Sakar, 2013).

Hipoteza o višem stepenu herbivorije kod muškog pola usled nižih nivoa odbrane i viših stopa rasta koju su formulisali Conelissen i Stiling (2005a), dovedena je u pitanje oprečnim rezultatima istraživanja tokom poslednje decenije. Naime, smatra se da obično ženske biljke više ulažu u odbranu usled viših ulaganja u reprodukciju, međutim u slučaju nekih anemofilnih model sistema postoji mogućnost da je reproduktivna alokacija kao i ulaganje u odbranu veće kod muškog pola, što bi značilo da se muške biljke zapravo nalaze pod manjim pritiskom herbivora (Avila-Sakar i Romanov, 2012; Maldonado-López i sar., 2014). Takođe, retki su podaci o tome na koji način dostupnost resursa u prirodnim uslovima može da utiče na ispoljavanje i obrasce diferencijalne herbivorije kod muških i ženskih biljaka (Espírito-Santo i sar., 2012). Većina model sistema na kojima je ispitivana diferencijalna herbivorija u odnosu na pol pripada drvenastim vrstama, te je važno proučavanje polno-specifične herbivorije kod višegodišnjih zeljastih vrsta u prirodnim uslovima.

Ulaganje u tri osnovne životne funkcije se menja različitom dinamikom kod muških i ženskih biljaka tokom ontogenije (Ågren i sar., 1999; Sánchez-Vilas i Pannell, 2011). Razlike među polovima u reproduktivnoj fenologiji, tj. u vremenu formiranja reproduktivnih struktura u toku sezone, utiču na promene uzajamnih ograničenja tokom vremena. Kod ženskih biljaka ulaganje u reprodukciju nastavlja se i nakon završetka cvetanja, tokom perioda formiranja semena i plodova. Dakle, kod ženskog pola se kasnije u toku sezone preusmeravaju resursi i energija sa ostalih životnih funkcija na reprodukciju (Buckley i Avila-Sakar, 2013). Pretpostavlja se da je kod muških biljaka tokom reproduktivne faze usporen vegetativni rast, a da su nivoi odbrane viši, zbog čega je stepen herbivorije nizak. Kasnije tokom sezone, nakon završetka cvetanja, kada muške biljke raspolažu resursima za kompenzatorni rast i kada nivoi produkcije defanzivnih jedinjenja opadnu, moglo bi se očekivati da stepen herbivorije bude viši nego kod ženskih biljaka. Ženske biljke, zbog kasnijeg početka i dužeg trajanja reproduktivnog ulaganja, mogu biti pod većim rizikom od napada herbivora ranije u

toku sezone (Espírito-Santo i sar., 2012). S obzirom da između muških i ženskih biljaka mogu postojati razlike u fenologiji, prilikom istraživanja polno-specifične herbivorije u obzir se mora uzeti i reproduktivna dinamika tokom čitave sezone.

Prethodnim istraživanjima je opisana dinamika ontogenetskih promena defanzivnih osobina biljaka, obrasci korelacija pomenutih osobina sa stepenom herbivorije (Agrawal, 2011), kao i način na koji pol može da utiče na ove obrasce (Maldonado-López i sar., 2014). Međutim, do sada nije bilo sprovedeno istovremeno proučavanje efekata pola biljaka i promena defanzivnih osobina tokom ontogenije na obrasce herbivorije (Warner i Chusman, 2002; Ochoa-López i sar., 2015).

1.6. Razvojna nestabilnost i fluktuirajuća asimetrija

Tokom individualnog razvića, organizmi teže ka produkciji „idealnog“ oblika pod određenim kombinacijama uslova životne sredine (Palmer, 1994), odnosno ka održavanju stabilnosti razvića (*engl.* developmental stability) (Rao i sar., 2002; Cuevas-Reyes i sar., 2011). Međutim, tokom ontogenije različiti abiotički i biotički faktori mogu remetiti stabilnost razvića, usled čega može doći do ispoljavanja razvojne nestabilnosti (*engl.* developmental instability – DI) (Møller i Swaddle, 1997). Smatra se da ukupna fenotipska varijabilnost predstavlja posledicu genetičke i sredinske varijabilnosti (Falconer i Mackay, 1996). Međutim, značajnu komponentu fenotipske varijanse obuhvataju i mala odstupanja fenotipa od optimalnog koja su zapravo posledica razvojne nestabilnosti (Palmer, 1994; Schlichting i Pigliucci, 1998). Jedan od najpouzdanijih načina kvantifikovanja razvojne nestabilnosti je merenje odstupanja organa ili delova organa od savršene simetrije (Graham i sar., 2010).

Simetrija u biologiji se može definisati kao međusoban raspored organa ili delova organizama oko ose ili ravni simetrije (Mardia et al., 2000). Iako su u živom svetu prisutni različiti tipovi simetrije najrasprostranjenija je bilateralna simetrija (Graham i sar., 2010). Kod bilateralno simetričnih organizama sagitalna ravan simetrije deli organizam na dve identične polovine, pri čemu se mogu jasno razlikovati dva tipa simetrije: preklapajuća (*engl.* matching symmetry) i simetrija objekta (*engl.* object symmetry). Preklapajuća simetrija je prisutna kada osa ili ravan simetrije prolazi između dve strukture koje se međusobno odnose kao lik i njegov odraz u ogledalu. Simetrija

objekta uključuje postojanje ose simetrije koja prolazi kroz samu strukturu deleći je na dve identične polovine (Klingenberg, 2015).

Kod biljaka, s obzirom na prisustvo ponovljenih struktura kakve su listovi, cvetovi i njihovi delovi, moguće je proučavati gotovo sve pomenute tipove simetrije; listovi kao vegetativni organi ispoljavaju najčešće bilateralnu simetriju (Graham i sar., 2010). Imajući u vidu da biljke vode sesilan način života, njihovi listovi su često korišćeni kao model sistemi za praćenje uticaja sredinskog stresa na odstupanje od savršene bilateralne simetrije (Miljković, 2009).

Meru malih, slučajnih odstupanja od savršene bilateralne simetrije predstavlja fluktuirajuća asimetrija (FA) (Møller i Shykoff, 1999; Miljković, 2012; Kozlov i sar., 2017, Nikiforou i Manetas, 2017, Sandner i Mattheis, 2017; Zverev i sar., 2018). Fluktuirajuću asimetriju moguće je izraziti preko različitih indeksa FA koji mogu biti jednokomponentni ili višekomponentni. Na odabir odgovarajućeg indeksa FA u istraživanju u značajnoj meri mogu da utiču i greška merenja, veličina ispitivane osobine, osetljivost osobine na stres kao i konkretan tip stresa (Palmer, 1994; Leung, 2000; Palmer i Strobeck, 2003; Dongen, 2006).

Fluktuirajuća asimetrija, kao jednostavan i brz metod procene razvojne nestabilnosti, predstavlja pouzdan način monitoringa staništa (Palmer i Strobeck, 2003). Indeksi fluktuirajuće asimetrije listova su korišćeni za kvantifikovanje negativnih uticaja klimatskih promena, zagađenja, nedostatka nutrijenata, suše i niskog intenziteta svetlosti na biljke kako u prirodnim, tako i u eksperimentalnim uslovima (Graham i sar., 2010; Alves-Silva i Del-Claro, 2015). Navedeni suboptimalni sredinski uslovi mogu predstavljati faktor stresa za biljke (Cuevas-Reyes i sar., 2011; Ribeiro i sar., 2013) i uticati na ishod interakcija biljaka sa herbivorima (White, 1984).

Odnos fluktuirajuće asimetrije i stepena herbivorije

Istraživanjima uticaja nivoa sredinskog stresa na nivoe FA i njihove povezanosti sa stepenom herbivorije dobijeni su oprečni rezultati. Neke od studija su utvrdile postojanje pozitivnog odnosa između FA i stepena herbivorije (Cuevas-Reyes i sar., 2011; Cuevas-Reyes i sar., 2013; Ribeiro i sar., 2013; Santos i sar., 2013, Fernandes i sar., 2016), tj. pokazano je da herbivori češće napadaju asimetričnije listove

(Cornelissen i Stiling, 2005b). Povezujući osnovne pretpostavke hipoteze PSH (biljke koje su izložene povišenom stresu predstavljaju povoljniji izvor hrane) i FA kao indikatora sredinskog stresa, formulisana je hipoteza korelacija između FA i herbivorije (Møller, 1995). Naime, smatra se da biljke izložene višim nivoima stresa mogu posedovati veću nutritivnu vrednost, niže nivoe odbrane i više vrednosti indeksa fluktuirajuće asimetrije (Lempa i sar., 2000). Dakle, postoji mogućnost da je asimetričnost listova signal herbivorima prilikom potrage kvalitetnijeg izvora hrane (Cornelissen i Stiling, 2005b; Cornelissen i Stiling, 2011).

Međutim, iako su neke od studija potvrdile postojanje pozitivnog odnosa između FA i stepena herbivorije, u nekim istraživanjima ta povezanost nije uočena (Bañuelos i sar., 2004; Telhado i sar., 2010; Costa i sar., 2013). Shodno oprečnim rezultatima, formulisana je hipoteza – herbivorijom indukovana fluktuirajuća asimerija (*engl.* herbivory-induced hypothesis – HIH) (Santos et al. 2013). Prema HIH herbivorija predstavlja faktor stresa koji prouzrokuje razvojnu nestabilnost kod biljaka, odnosno utiče na povećanje stepena fluktuirajuće asimetrije listova (Zvereva et al. 1997). Pretpostavke navedene hipoteze skoro su potvrđene eksperimentalnim istraživanjem Alves-Silva i Del-Claro (2016), koji su pokazali da herbivorija u ranim fazama razvića listova može da utiče na povećanje FA.

Kod dvodomih biljaka, smatra se da su ženske biljke obično manje tolerantne na abiotički stres (Juvany i Munné-Bosch, 2015), zbog čega bi bilo očekivano da u prisustvu abiotičkog stresa na staništu ženske biljke imaju više vrednosti indeksa FA. Procena fluktuirajuće asimetrije na biljkama kao rezultat stresnog delovanja različitih heterogenih faktora sredine je predmet većeg broja objavljenih istraživanja (Miljković 2012; Klingenberg, 2015, Silva i sar., 2016; Kozlov i sar; 2017, Nikiforou i Manetas, 2017, Sandner i Mattheis, 2017). Međutim, istraživanja razlika između polova u razvojnoj nestabilnosti su veoma retka, a naročito je nedovoljno istraženo kako te razlike utiču na interakciju muških i ženskih biljaka sa herbivorima (Bañuelos i sar., 2004; Inbar i Kark, 2007).

2. Ciljevi istraživanja

U ovoj doktorskoj disertaciji su proučavani efekti pola i heterogenih uslova svetlosti na diferencijalnu herbivoriju u prirodnim populacijama dvodome vrste *Mercurialis perennis*.

Testiran je uticaj pola biljaka, heterogenih uslova svetlosti i ontogenetskog stadijuma (reproduktivnog i post-reproduktivnog) na veličinu biljke (visina, ukupna površina listova) i listova (dužina drške i centralnog nerva, širina i površina lisne ploče), nutritivne (sadržaj vode, ukupnih solubilnih proteina i nestrukturnih ugljenih hidrata) i defanzivne osobine listova (specifična lisna površina, sadržaj fenola i kondenzovanih tanina), i razvojnu nestabilnost (procenjenu preko indeksa fluktuirajuće asimetrije) kako bi se utvrdilo:

- da li se stepen herbivorije i ispitivane osobine značajno razlikuju između staništa pod vegetacijskom senkom i staništa pune dnevne svetlosti,

- da li se stepen herbivorije i ispitivane osobine značajno razlikuju između reproduktivne i post-reproduktivne faze,

- da li je prisutna polno-specifična herbivorija,

- koje od ispitivanih osobina imaju ključnu ulogu u odnosu sa herbivorima na staništima sa heterogenim uslovima svetlosti,

- koje od ispitivanih osobina imaju ključnu ulogu u odnosu sa herbivorima tokom reproduktivne i post-reproduktivne faze,

- da li postoji polni dimorfizam u analiziranim osobinama u zavisnosti od heterogenih svetlosnih uslova na staništu i ontogenetskog stadijuma biljaka,

- da li su prisutne razlike u razvojnoj nestabilnosti procenjenoj preko indeksa fluktuirajuće asimetrije u zavisnosti od heterogenih uslova svetlosti na staništu i pola,

- da li postoje korelacioni odnosi između nivoa fluktuirajuće asimetrije, kao indikatora stabilnosti razvića, ispitivanih osobina i stepena herbivorije na staništima sa heterogenim uslovima svetlosti.

3. Materijal i metode

3.1. Objekat istraživanja

Mercurialis perennis L. (šumski prosinac) (Euphorbiaceae) je dvodoma, klonalna višegodišnja zeljasta biljka (Slika 1) sa Evroazijskim arealom rasprostranjenja. U Evropi šumski prosinac je prisutan na severu od Skandinavije, preko centralnog dela kontinenta do Mediterana na jugu, i od obale Atlantika na zapadu do krajnjeg istoka kontinenta (Jefferson, 2008) (Slika 2). Na teritoriji Republike Srbije *M. perennis* se nalazi na staništima na nadmorskoj visini od oko 200 – 1700 m (Cvetković i Jovanović, 2007; Cvetković i sar., 2011; Jovanović, 2012).



Slika 1. Izgled biljke *Mercurialis perennis*.

Šumski prosinac često predstavlja dominantnu biljnu vrstu u zeljastim zajednicama prizemnog sprata bukovih, hrastovih, jasenovih i grabovih šuma (Mukerji, 1936). Izdanci rastu u gustim grupama unutar starih, neuznemiranih šumskih sastojina, ali se retko mogu naći i unutar skorije nastalih šumskih ekosistema (Vandepitte i sar., 2009). Po životnoj formi *M. perennis* pripada skiofitama, veoma je tolerantan na nizak intenzitet svetlosti, i često se može pronaći u biljnim zajednicama na staništima sa zatvorenim vegetacijskim sklopom (Jefferson, 2008). Međutim, ređe *M. perennis* može nastaniti i staništa izložena većem svetlosnom intenzitetu, ali su tada klonovi znatno manji i međusobno udaljeniji. Smatra se da visok intenzitet svetlosti predstavlja stresni faktor za *M. perennis*, pošto je zabeleženo da biljke izložene visokom svetlosnom intenzitetu imaju značajno smanjenu biomasu i visinu izdanaka, broj listova i ukupnu površinu listova (Elemans, 2004).



Slika 2. Areal rasprostranjenja vrste *Mercurialis perennis* (Jefferson, 2008).

Svaki od nodusa razgranatih podzemih rizoma godišnje produkuje izdanak visine između 15 i 45 cm (Jovanović, 2012). Izdanci se pojavljuju na početku vegetacijske sezone, izdužujući se do olistavanja šume i potpunog zatvaranja vegetacijskog sklopa gornjih spratova. Rast listova se zaustavlja tokom perioda cvetanja (2 do 3 nedelje), nakon čega se u manjoj meri nastavlja. Internodije bliže podlozi su duže i nose manje, rudimentisane listove (Slika 1). Ostali listovi su spiralno raspoređeni duž izdanka, pri čemu se na nodusu svake od internodija nalazi po jedan par listova (Slika 1). Listovi su prosti, eliptični, pubescentni sa nazubljenom ivicom (Slika 1). Na oblik listova mogu da utiču i uslovi na staništu, u prvom redu svetlost (Jefferson, 2008; Vujić, 2016a). Listovi biljaka sa staništa izloženog punoj dnevnoj svetlosti su širi i kraći (Vujić, 2016b), tvrđi i sa izraženijom kutikulom (Jefferson, 2008).

Smatra se da su nadzemni delovi *M. perennis* otrovni po krupne kičmenjake (Cooper i Johnson, 1998). Fitohemijska istraživanja ekstrakata svežih nadzemnih delova biljke pokazala su dominantno prisustvo piperidinskog alkaloida hermidina, širokog spektra fenolnih jedinjenja, flavonoida, terpena, triacilglicerola i sterola (Lorenz i sar., 2010, 2012). Zabeleženo je više vrsta polifagnih insekata koji se hrane ovom biljkom u Evropi (Jefferson, 2008). Na osnovu višegodišnjeg terenskog istraživanja, zapaženo je da na teritoriji Srbije najveći deo oštećenja lisne ploče *M. perennis* potiče od vrsta iz reda Coleoptera (Slika 3).

Podzemni rizomi šumskog prosinca se svake godine izdužuju za 10 do 15 cm i formiraju podzemne rizomske mreže koje nemaju tendenciju da se mešaju sa susednim klonovima. U okviru svakog klona moguće je razlikovati fertilne i sterilne izdanke (Jefferson, 2008). Muški (Slika 4A) i ženski izdanci (Slika 4B) potiču iz različitih klonova (Vandepitte i sar., 2009). U literaturi postoje navodi da su muški izdanci brojniji u odnosu na ženske na staništima sa većim svetlosnim intenzitetom, odnosno da je prisutna neslučajna distribucija polova u prostoru (npr. Vandepitte i sar., 2009).



Slika 3. Herbivori koji se hrane listovima *Mercurialis perennis*.

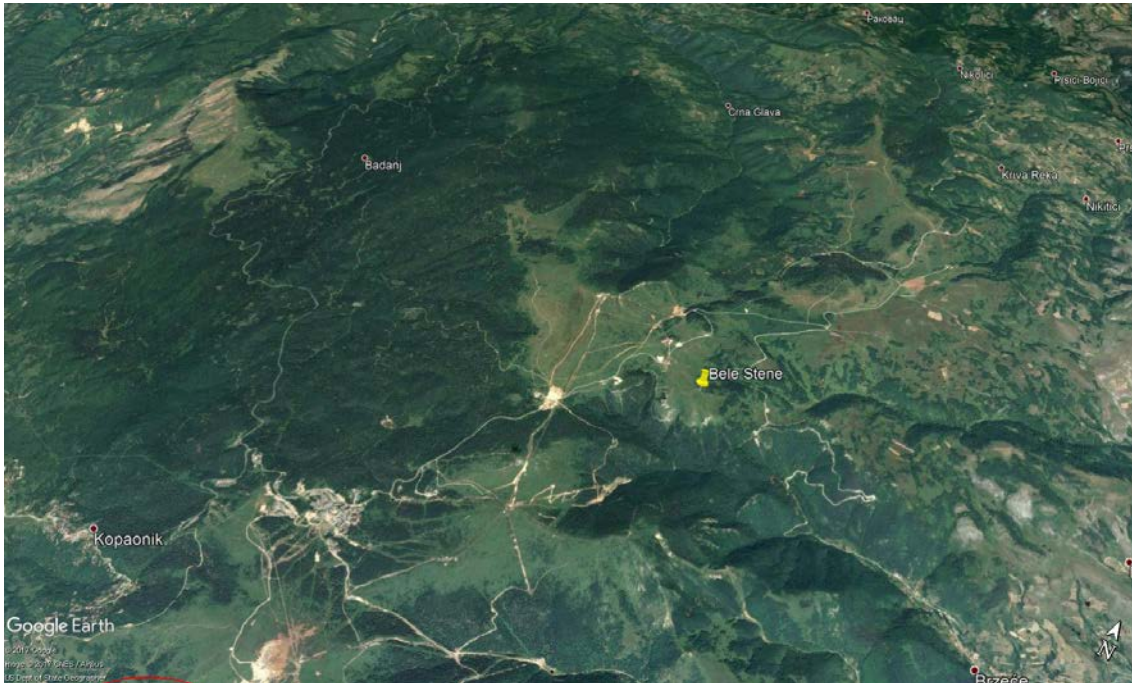


Slika 4. *Mercurialis perennis*: A – muški izdanak; B – ženski izdanak.

Mercurialis perennis se razmnožava vegetativno i polno. Dominantan način vegetativnog razmnožavanja je klonalno, fragmentacijom rizoma. Muške i ženske cvasti ove anemofilne vrste se formiraju u pazuhu gornjih parova listova, pri čemu su muške cvasti znatno duže u poređenju sa ženskim i poseduju veći broj cvetova koji proizvode velike količine polena (Slika 4A i 4B). Na ženskim izdancima se formiraju plodovi unutar kojih se nalaze krupna (3 mm) i teška (6 – 9 mg) semena čiji broj može da varira od 2 do 30 (Vandepitte i sar., 2009).

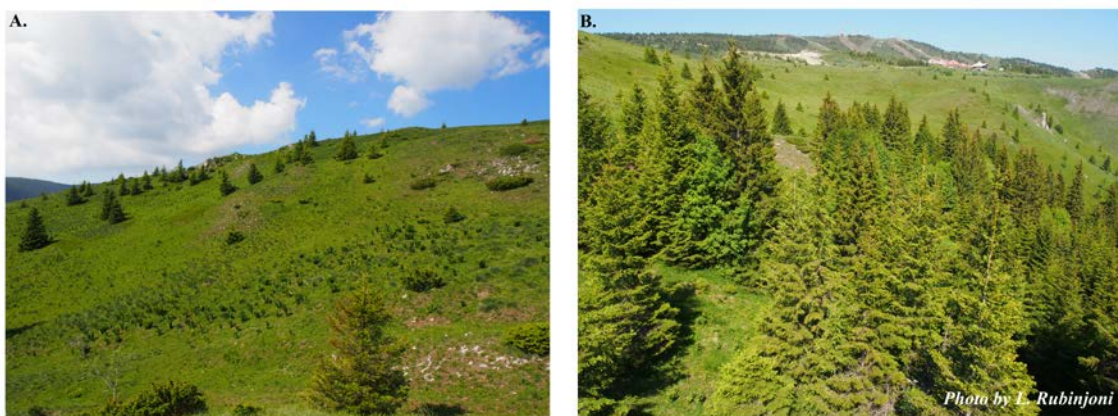
Istraživanje uticaja svetlosti na veličinu biljke (visinu i ukupnu površinu listova), nutritivne (sadržaj vode i solubilnih proteina) i defanzivne osobine listova (specifičnu lisnu površinu, ukupni sadržaj fenola i kondenzovanih tanina), stepen herbivorije, kao i prisustvo polnog dimorfizma u ovim osobinama sprovedeno je tokom 2015. i 2016. godine na biljkama *M. perennis* poreklom sa dva susedna staništa na lokalitetu Bele stene. Na istim staništima je tokom 2016. istraživana uticaj svetlosnih uslova na fluktuirajuću asimetriju (kao indikator razvojne nestabilnosti) i veličinu listova (dužinu drške, centralnog nerva, širinu i površinu lisne ploče) muških i ženskih biljaka *M. perennis*.

Lokalitet Bele stene nalazi se unutar Nacionalnog parka Kopaonik (N 43° 18'42"/E 20° 50'32"; prosečna nadmorska visina lokaliteta 1700 m) (Slika 5). Kopaonik je planina koja se prostire u zoni umereno-kontinentalne klime, pri čemu se od podnožja do vrha smenjuju nizijska, klima srednjih visina, subalpska i alpska klima. Prema višegodišnjim merenjima temperature vazduha, najtopliji mesec na većim nadmorskim visinama na Kopaoniku je avgust, dok je kao najhladni identifikovan januar (Šehovac, 2011), sa godišnjim temperaturnim prosekom u oblasti Ravnog Kopaonika od 3.7°C (<http://npkopaonik.com/priroda/prirodne-odlike/>). Prosečna godišnja suma padavina varira između 700 i 800 mm vodenog stuba, pri čemu su najkišovitiji meseci maj i jun (Šehovac, 2011).



Slika 5. Geografski položaj lokaliteta Bele stene.

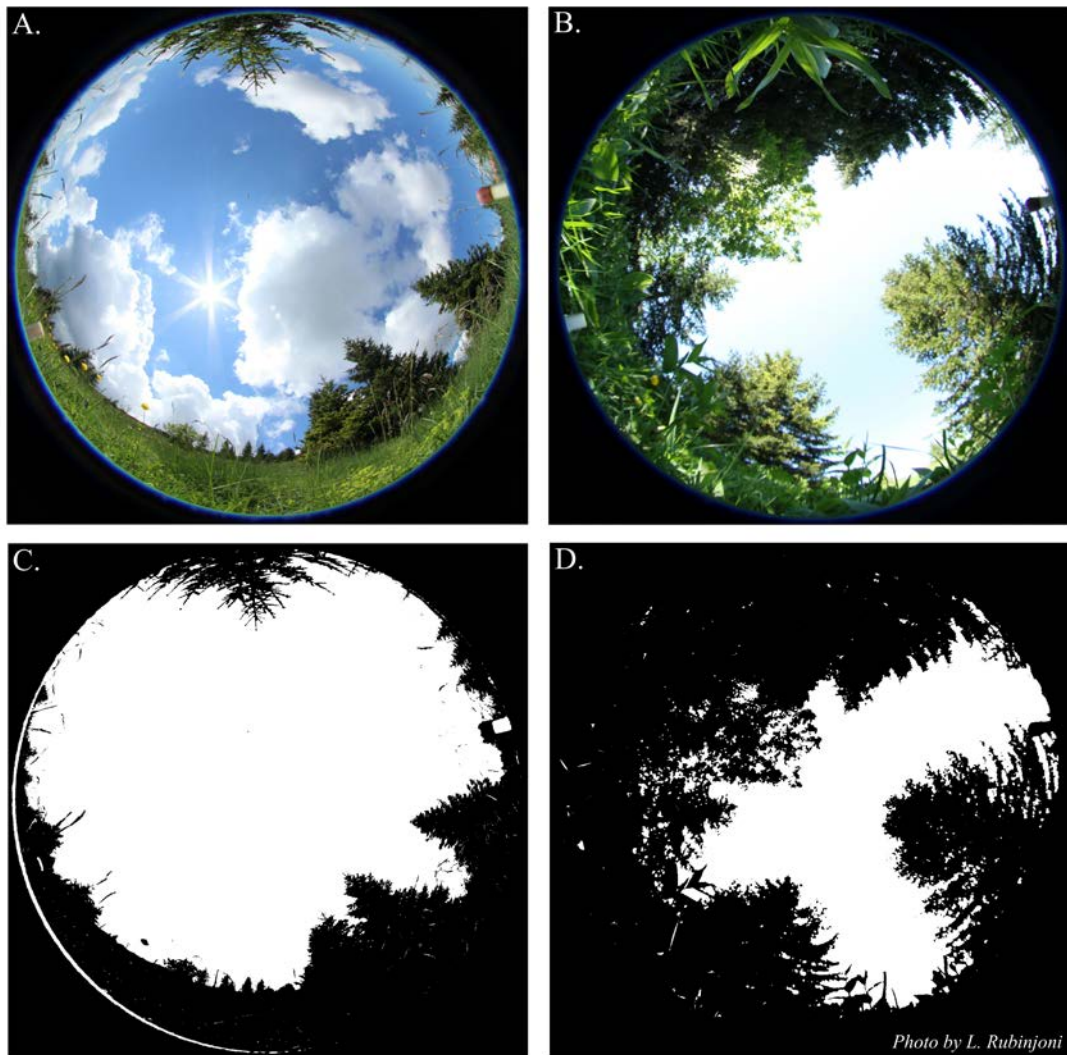
Tokom ovog istraživanja, uzorkovane su biljke sa dva susedna staništa izložena različitim svetlosnim uslovima. Stanište izloženo punoj dnevnoj svetlosti (Slika 6A) nalazi se u sastavu rudine, dok se stanište pod vegetacijskom senkom nalazi unutar četinarske smrčeve šume borealnog tipa, gde su biljke *M. perennis* zasenčene tokom čitave vegetacijske sezone (Selaković i sar., 2018) (Slika 6B).



Slika 6. Lokalitet Bele stene: A – stanište izloženo punoj dnevnoj svetlosti; B – stanište pod vegetacijskom senkom.

Svetlosni uslovi na lokalitetu Bele stene su kvantifikovani procenom pokrovnosti staništa, odnosno procentom otvorenog neba vidljivog sa podloge ispod krošnji drveća, uključujući i dodatno zasenčenje koje je rezultat nagiba terena (Frazer i sar., 1999). Pošto su biljke sakupljane sa livadskog staništa i staništa unutar zimzelene šume, pretpostavljeno je da se pokrovnost staništa ne menja značajno tokom vegetacijske sezone (Selaković i sar., 2018). Shodno tome, hemisferne fotografije staništa izloženog punoj dnevnoj svetlosti (Slika 6A) i staništa pod vegetacijskom senkom (Slika 6B) su slikane jednom, 2015 godine, duž dva transekta međusobno udaljena 10 m. Na svakih 5 m napravljene su fotografije korišćenjem hemisfernog objektiva (F2.8 EX DC circular fisheye, Sigma) koji je postavljen na digitalnu kameru (Rebel T3i/600 D, Cannon). Kamera je postavljena na visinu od 30 cm i orijentisana ka severu. Hemisferne fotografije su konvertovane u crno-bele (Slika 6C i 6D) korišćenjem automatizovanog algoritma integrisanog u Side Look program (Nobis i Huziker, 2005). Pokrovnost staništa je izračunata pomoću Gap Light Analyzer programa verzija 2.0 (Frazer i sar., 1999).

Takođe, istraživano je da li postoje razlike u veličini biljaka (visini i ukupnoj površini listova), nutritivnim (sadržaju vode, solubilnih proteina i ukupnih nestrukturanih ugljenih hidrata) i defanzivnim osobinama listova (specifičnoj lisnoj površini, ukupnom sadržaju fenola i kondenzovanih tanina), stepenu herbivorije, kao i prisustvo polnog dimorfizma u ovim osobinama u odnosu na ontogenetski stadijum (reproduktivni i post-reproduktivni) kod biljaka *M. perennis* poreklom sa lokaliteta Beograd.



Slika 7. Hemisferne fotografije pokrovnosti staništa na lokalitetu Bele stene: A – hemisferni snimak staništa izloženog punoj dnevnoj svetlosti; B – hemisferni snimak staništa pod vegetacijskom senkom; C – konvertovani crno – beli hemisferni snimak staništa izloženog punoj dnevnoj svetlosti; D – konvertovani crno – beli hemisferni snimak staništa pod vegetacijskom senkom.

Biljke su sakupljane tokom 2016. godine na teritoriji Beograda na dva staništa (N44°41'52"/E20°30'34" i N44°45'25,56"/E20°26'17,94", prosečna nadmorska visina 200-360m) (Slika 8), a sakupljeni uzorak je, nakon preliminarnih analiza, objedinjen i uključen u dalju analizu. Staništa su pozicionirana unutar mešovite listopadne šume (Slika 9), u zoni umereno-kontinentalne klime, gde je najtopliji mesec jul, a najhladniji januar.



Slika 8. Geografski položaj lokaliteta „Beograd“.



Slika 9. Lokalitet „Beograd“.

3.2. Priprema i analiza materijala

Sa lokaliteta Bele stene uzorkovano je po 120 biljaka tokom dve sezone, i to po 30 muških i 30 ženskih biljaka sa staništa pod vegetacijskom senkom i staništa izloženog punoj dnevnoj svetlosti (ukupno 240).

Uzorci sa lokaliteta „Beograd“ sakupljeni su tokom reproduktivne faze (početkom aprila 2016. godine) i post-reproduktivne faze (krajem maja 2016. godine). Tokom oba uzorkovanja sakupljeno je približno po 30 muških i ženskih biljaka sa svakog od lokaliteta (ukupno 232 biljke). Tokom prvog uzorkovanja biljke su bile u punom cvetu, dok je tokom drugog uzorkovanja pol biljaka još uvek bilo moguće identifikovati na osnovu ostataka cvasti i plodova. Mesta sa kojih su biljke sakupljene u reproduktivnoj fazi su bila jasno obeležena kako bi tokom drugog uzorkovanja izdanci bili sakupljeni iz istih klonova.

Biljke su nakon branja odmah stavljene u vodu. Nakon potpune rehidracije biljaka u mračnoj i hladnoj prostoriji tokom 6 h, listovi su odvojeni od stabla i izmerena je visina izdanka (*engl.* height – H). Listovi su postavljeni na skener (Hewlett-Packard ScanJet G4010) redom kojim su se nalazili na stablu i skenirani u rezoluciji 600dpi. Listovi svake biljke skenirani su zajedno sa lenjirom zbog kalibracije slika, koja je neophodna prilikom merenja listova. Sabiranjem površina svih listova jednog izdanka u programu ImageJ (Abràmoff i sar., 2004) utvrđena je ukupna površina listova (*engl.* total leaf area – TLA) izražena u cm². Svi skenirani listovi svake biljke korišćeni su prilikom procene stepena fluktuirajuće asimetrije i stepena herbivorije.

Za potrebe sprovođenja hemijskih analiza celokupan biljni materijal (listovi, stabla, cvasti) je osušen na temperaturi od 65°C tokom 48 sati.

Prvi par potpuno razvijenih listova bez ili sa minimalnim oštećenjima izmeren je svež, odmah nakon skeniranja a zatim ponovo nakon sušenja. Na osnovu ovih merenja, deljenjem površine lista sa suvom masom utvrđena je specifična lisna površina (*engl.* specific leaf area – SLA) izražena u mm² mg⁻¹.

Reproduktivna alokacija (*engl.* reproductive allocation – RA) je izračunata za biljke sakupljene na lokalitetu „Beograd“ u reproduktivnoj fazi deljenjem suve mase cvasti sa suvom masom vegetativnih organa (listova i stabla).

Nakon sušenja, listovi su samlevani u tečnom azotu korišćenjem avana i na taj način pripremljeni za hemijske analize defanzivnih i nutritivnih osobina listova.

Hemijska analiza nutritivnih i defanzivnih osobina listova

Sadržaj vode u listovima (*engl.* leaf water content – LWC), izražen kao procenat sveže mase lista (%), određen je upotrebom listova koji su korišćeni za utvrđivanje SLA.

Ukupan sadržaj solubilnih proteina (*engl.* total soluble protein content – TSPC) utvrđen je metodom koju je razvio Bradford (1975) i izražen je u mg po gramu suve materije listova (mg g^{-1}). Homogenizovani biljni materijal je ekstrahovan u 150 mM fosfatnom puferu, pH 7,8 uz dodatak proteinaznog inhibitora PMSF. Odnos suve mase homogenizovanog uzorka i pufera je bio 1:10, a ekstrakcija je obavljena na $+4^{\circ}\text{C}$ uz konstantno mešanje na orbitalnoj mešalici u trajanju od 3 h. Po završetku ekstrakcije supernatant je izdvojen centrifugiranjem 10 min na 1300 rpm i korišćen kao proteinski ekstrakt. Dobijeni ekstrakt u zapremini od 20 μL izmešan sa 780 μL destilovane vode i 200 μL Bradford reagensa i inkubiran je 15 min na sobnoj temperaturi nakon čega je izmerena apsorbanca na 595 nm pomoću spektrofotometra Ultrospec 3200 pro (GE Healthcare). Koncentracija proteina u ekstraktu je određena pomoću standardne krive BSA (goveđeg albumin seruma), opsega linearnosti 0,5-15 mg BSA /mL, ($R^2 = 0,989$) (Stanisavljević, 2015).

Sadržaj ukupnih nestrukturnih ugljenih hidrata (*engl.* total nonstructural carbohydrate content – TNCC) određen je kolorimetrijski prema proceduri koju je razvio Dreywood (1946), a rezultati su izraženi u mg po gramu suve materije listova (mg g^{-1}). Količina od 50 mg suvog uzorka je pomešana je sa 2,5 mL koncentrovane sumporne kiseline i hidrolizovana 3 h na 100°C u ključalom vodenom kupatilu. Potom je uzorak neutralisan dodatkom natrijum karbonata, zapremina je dopunjena do 100 mL destilovanom vodom a zatim je uzorak centrifugiran 5 min na 1000 rpm. U odmerenih 1 mL supernatanta dodato je 4 mL antronskog reagensa (0.2% rastvora antrona u koncentrovanoj sumpornoj kiselini) i inkubirano 5 min na sobnoj temperaturi, nakon čega je merena apsorbanca na 630 nm. Koncentracija nestrukturnih ugljenih hidrata je izračunata na osnovu standardne krive glukoze opsega linearnosti 20-100 $\mu\text{g /mL}$, ($R^2 = 0,991$).

Količina od 50 mg suvog samlevenog uzorka listova je ekstrahovana pomoću 2 mL 80% rastvora acetona sa 1% sirćetne kiseline tokom 12 h na $+4^{\circ}\text{C}$ u mraku uz

korišćenje orbitalne mešalice. Po završetku ekstrakcije supernatant je izdvojen centrifugiranjem 10 min na 1300 rpm. Ovako pripremljen acetonski ekstrakt je korišćen za određivanje sadržaja ukupnih solubilnih fenola i kondenzovanih tanina.

Ukupan sadržaj fenola (*engl.* total phenolic content – TPhC) određen je metodom Singleton i Rosi (1965) uz korišćenje Folin-Ciocalteu (FC) reagensa i galne kiseline (GA) kao standarda. Sadržaj fenola izražen je u ekvivalentima GA kao mg GAE po gramu suve mase listova (mgGAE g⁻¹) korišćenjem standardne krive (opseg linearnosti 50-1000 µg GA/mL, R₂ = 0,993). Reakciona smeša se sastojala od 20 µL ekstrakta koji je pomešan sa po 1580µL destilovane vode, 100 µL FC reagensa i 300 µL 20% natrijum karbonata. Nakon inkubacije tokom 2 h na sobnoj temperaturi, merena je apsorbanca na 765 nm (Stanisavljević, 2015).

Sadržaj ukupnih kondenzovanih tanina (*engl.* total condensed tannin content – TCT) utvrđen je po protokolu Broadhurst i Jones (1978), modifikovanom prema Xu i Chang (2007). Rezultati su izraženi u jedinicama apsorbancije na 500 nm po g suve mase (A_{500nm}). Ekstrakt suvih listova zapremine 50 µL sjedinjen je sa 3 mL 4% rastvora vanilina u metanolu i 1,5 mL koncentrovane hlorovodonične kiseline. Tokom 15 min mešavina je inkubirana na sobnoj temperaturi, a zatim je apsorbanca merena na 500 nm (Stanisavljević, 2015).

Procena stepena herbivorije

Procena stepena oštećenja listova *M. perennis* izazvanog aktivnošću herbivora, u daljem tekstu označen kao stepen herbivorije, rađena je na skeniranim listovima u ImageJ programu (Abràmoff i sar., 2004). Najpre su fotografije skeniranih listova konvertovane automatskim algoritmom u binarne, crno-bele slike. Stepen herbivorije izračunat je za svaki list kao: (nedostajuća površina lista/ukupna površina lista) × 100, a nakon toga izračunata je prosečna vrednost stepena herbivorije za svaki izdanak (*engl.* leaf area removed – LAR).

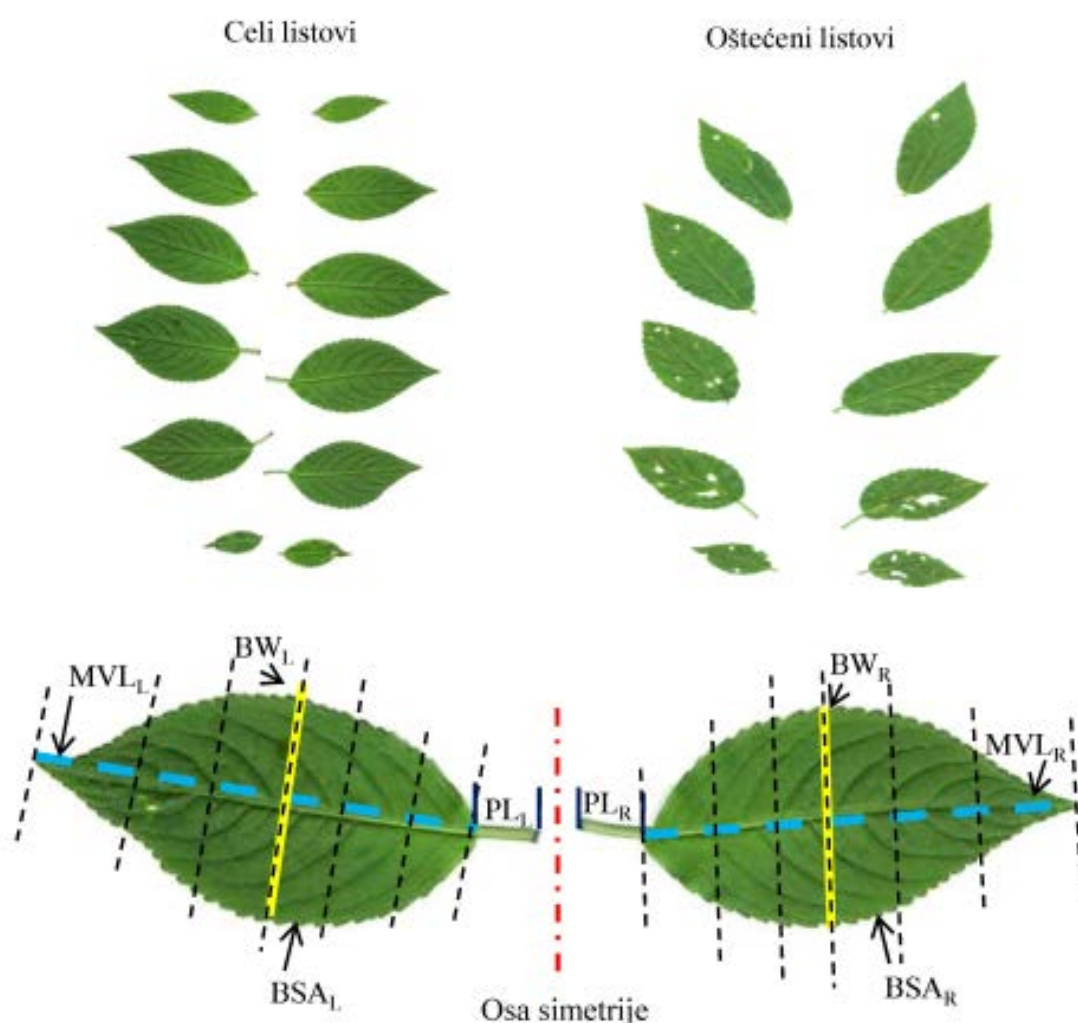
Procena fluktuirajuće asimetrije

Za parove listova istog nodusa merene su četiri osobine: dužina drške (*engl.* petiole length – PL), dužina centralnog nerva (*engl.* midvein length – MVL), širina lisne

ploče (*engl.* leaf blade width – BW) i površina lisne ploče (*engl.* leaf blade surface area – BSA) na „levom“ (*engl.* left – L) i „desnom“ (*engl.* right – R) listu (PL_L, MVL_L, BW_L, BSA_L i PL_R, MVL_R, BW_R, BSA_R) (Slika 10) u ImageJ programu (Abràmoff i sar., 2004). Radi preciznosti i konzistentnosti merenja, na svaki list je postavljena mreža korišćenjem specifičnih tačaka (*engl.* landmark) na vrhu i u osnovi lisne ploče. Mreža sastavljena od 8 jednako razmaknutih paralelnih linija konstruisana je u programu MakeFan IMP programskog paketa (Sheets, 2003). Širina lisne ploče merena je duž četvrte linije mreže idući od osnove lista ka vrhu (Slika 10). Apsolutna asimetrija je izračunata kao apsolutna razlika između vrednosti osobina „levog“ i „desnog“ lista. S obzirom da apsolutna asimetrija može biti zavisna od veličine proučavane strukture (Cuevas – Reyes i sar., 2013), korišćen je skalirani indeks fluktuirajuće asimetrije koji se računa prema formuli: $|R_j - L_j| / (R_j + L_j) / 2$, pri čemu R_j i L_j predstavljaju vrednosti osobine j za „desni“ i „levi“ list. Utvrđeni su indeksi fluktuirajuće asimetrije za četiri osobine: dužine drške (FA_{PL}), dužine centralnog nerva (FA_{MVL}), širine lisne ploče (FA_{BW}) i površine lisne ploče (FA_{BSA}). Istovremenim procenjivanjem više indeksa fluktuirajuće asimetrije može se povećati verovatnoća detektovanja efekata stresa na stepen fluktuirajuće asimetrije (Leung i sar., 2000; Miljković, 2009). Shodno navedenom, za opisivanje vrednosti fluktuirajuće asimetrije na nivou individue korišćen je multivarijantni (kompozitni) indeks fluktuirajuće asimetrije – FA_{IND}, koji predstavlja odstupanje od savršene simetrije istovremeno za sve ispitivane osobine listova (Palmer i Strobeck, 2003). Pomenuti indeks izračunat je prema formuli: $\sum |\ln(R_j) - \ln(L_j)| / T$ pri čemu je T broj osobina lista koje su ispitivane (Miljković, 2009).

Uočena odstupanja od savršene bilateralne simetrije mogu biti posledica greške merenja (*engl.* measurement error – ME). Pošto odstupanje od bilateralne simetrije (vrednosti indeksa fluktuirajuće asimetrije) može biti vrlo malo i slično vrednostima ME, da bi se sa sigurnošću tvrdilo da su zabeležene razlike između vrednosti ispitivanih osobina „levog“ i „desnog“ lista posledica razvojne nestabilnosti, a ne jednostavne greške prilikom merenja, bilo je nužno testirati značajnost FA u odnosu na ME (Miljković, 2009). U ovom istraživanju kvantifikovana je ME, za čiji je proračun bilo neophodno izvršiti ponovo merenja određenog broja listova. Drugi put je izmereno 480 listova sa 80 nasumično odabranih jedinki iz celokupnog uzorka.

Ugnežđenom analizom varijanse (*engl.* Nested ANOVA) je testirano da li se razlike između vrednosti osobina „levog“ i „desnog“ lista statistički značajno razlikuju između dva merenja. Kao izvori varijabilnosti korišćeni su jedinka i ponovljena merenja ugnježđena u jedinke. Iz rezultata primenjenog modela analize varijanse kvantifikovan je i indeks ponovljivosti merenja (ME4) pomoću formule: $(MS_{IND} - MS_{ERR}) / [MS_{IND} + (n - 1)MS_{ERR}]$, gde MS_{IND} predstavlja varijansu između individua a MS_{ERR} varijansu ponovljenih merenja (Palmer i Strobeck 2003; Miljković, 2009).



Slika 10. Prikaz analiziranih osobina listova *Mercurialis perennis* korišćenih za procenu indeksa fluktuirajuće asimetrije: dužine drške (PL), dužine centralnog nerva (MVL), širine lisne ploče (BW) i površine lisne ploče (BSA) na „levom“ (L) i „desnom“ (R) listu. (modifikovano prema Miljković i sar. 2018).

3.3. Statistička obrada podataka

Vrednosti proučavanih osobina koje nisu imale normalnu distribuciju, matematički su transformisane (log transformacija, arc sin kvadratni koren, kvadratna transformacija, inverzija, kvadratni koren) kako bi se mogli primeniti parametarski statistički testovi. Korišćena je ugnežđena analiza varijanse (*engl.* nested ANOVA) kako bi se utvrdili efekti svetlosnih uslova na staništu i pola biljke na stepen herbivorije i ispitivane osobine biljke i lista (H, TLA, SLA, LWC, TSPC, TPhC, TCT, PL, MVL, BW, BSA) kao i na indekse fluktuirajuće asimetrije (FA_{PL}, FA_{MVL}, FA_{BW}, FA_{BSA}, FA_{IND}). Ista analiza je korišćena da bi se utvrdili uticaji efekta ontogenetskog stadijuma i pola biljke na stepen herbivorije i ispitivane osobine biljke (H, TLA, SLA, LWC, TSPC, TNCC, TPhC, TCT). U analize su kao izvori fenotipskog variranja bili uključeni svetlosni uslovi na staništu i pol biljke unutar staništa, odnosno ontogenetski stadijum i pol biljke unutar stadijuma, kao fiksni faktori.

Za *post hoc* poređenja korišćen je LSM test (*engl.* least square means - LSM) iz paketa LSmeans R-programa verzija 3.02 (R Development Core Team, 2013).

Odnos između stepena herbivorije kao zavisne varijable i veličine biljke (visine izdanka i ukupne površine svih listova), nutritivnih (sadržaja vode, sadržaja solubilnih proteina i ukupnih nestrukturnih ugljenih hidrata) i defanzivnih osobina listova (specifične lisne površine, ukupnog sadržaja fenola i tanina) kao prediktorskih varijabli, proučen je upotrebom linearnih regresija za svako stanište i ontogenetski stadijum pojedinačno. Izračunati su i koeficijenti korelacije kako bi se proučili međusobni odnosi ispitivanih osobina biljaka, indeksa fluktuirajuće asimetrije i stepena herbivorije.

U slučaju da nakon transformacije vrednosti osobina biljaka, iste nisu pokazivale normalnu distribuciju, korišćen je neparametarski Kruskal-Wallis test koji je analogan parametarskom ANOVA testu. Istim testom proučavan je efekat staništa i pola na RA biljaka.

Statističke analize su rađene su u R programu verzija 3.02 (R Development Core Team, 2013; korišćene procedure: aov, LSM, lme, kruskal.test) i u SAS programu (SAS Institute, Inc. 2011; korišćene procedure: GLM, MEANS, UNIVARIATE, TTEST, CORR).

4. Rezultati

4.1. Uticaj svetlosnih uslova na staništu i pola na stepen herbivorije i analizirane osobine biljaka

Svetlosni uslovi su se značajno razlikovali između ispitivanih staništa u 2015. godini (t-test, $t = -7,32$, $df = 18$, $P < 0,0001$). Stepenu pokrovnosti staništa pod vegetacijskom senkom je bio značajno veći – $43,60 \pm 9,28\%$, dok je na staništu izloženom punoj dnevnoj svetlosti iznosio $66,89 \pm 3,87\%$.

Biljke na staništima sa kontrastnim svetlosnim uslovima u 2015. godini značajno su se razlikovale po stepenu oštećenja listova izazvanih aktivnošću herbivora (u daljem tekstu označen kao stepen herbivorije) (Tabela 1), pri čemu su biljke sa staništa izloženog punoj dnevnoj svetlosti bile više oštećene (Tabela 2, Slika 11). U istoj godini su takođe, zabeležene statistički značajne razlike između staništa u svim ispitivanim osobinama biljaka i listova (H, TLA, SLA, LWC, TSPC i TCT) osim u sadržaju ukupnih fenola (Tabela 1). Biljke na staništu pod vegetacijskom senkom (z – „zatvoreno“, stanište sa zatvorenim vegetacijskim sklopom) u poređenju sa biljkama sa staništa izloženog punoj dnevnoj svetlosti (o – „otvoreno“ stanište), su bile više, sa većom ukupnom površinom listova, višim vrednostima SLA, većim sadržajem vode, solubilnih proteina i kondenzovanih tanina (Tabela 2, Slika 11).

Sadržaj solubilnih proteina i kondenzovanih tanina bili su značajno različiti između polova na staništima koja su bila izložena kontrastnim svetlosnim uslovima (Tabela 1). *Post hoc* testom je pokazano da su pomenute razlike u sadržaju solubilnih proteina bile značajne na staništu izloženom punoj dnevnoj svetlosti, gde su ženske biljke imale više TSPC. Takođe, prema rezultatima *a posteriori* poređenja vrednosti TCT su se značajno razlikovale između polova na staništu pod vegetacijskom senkom, gde su ženske biljke posedovale viši sadržaj kondenzovanih tanina (Tabela 2, Slika 11). U 2015. godini polovi se međusobno nisu značajno razlikovali u stepenu herbivorije kao ni u preostalim ispitivanim osobinama biljaka i listova (H, TLA, SLA, LWC, TPhC) (Tabele 1 i 2, Slika 11).

U zavisnosti od svetlosnih uslova na staništu utvrđeno je da su različite osobine biljaka i listova bile značajno povezane sa stepenom herbivorije kod *M. perennis*. Na oba staništa kod biljaka sa višim vrednostima SLA utvrđen je niži stepen herbivorije ($R^2_o = 0,24$, $P_o < 0,0001$; $R^2_z = 0,05$, $P_z = 0,0441$) (Slika 12). Na staništu izloženom

punoj dnevnoj svetlosti biljke sa manjim sadržajem vode bile su više oštećene ($R^2_o = 0,07$, $P_o = 0,0206$; $R^2_z = 0,01$, $P_z = 0,5503$) (Slika 12). Na staništu pod vegetacijskom senkom biljke sa većom visinom bile su manje oštećene aktivnošću herbivora ($R^2_o = 0,03$, $P_o = 0,0831$; $R^2_z = 0,08$, $P_z = 0,0178$). Na ovom staništu stepen herbivorije je bio takođe negativno povezan sa sadržajem ukupnih solubilnih proteina ($R^2_o = 0,05$, $P_o = 0,0505$; $R^2_z = 0,06$, $P_z = 0,0386$) (Slika 12). Ni na jednom staništu nije uočeno postojanje statistički značajne povezanosti stepena herbivorije i ukupne površine listova, sadržaja fenola i kondenzovanih tanina (Slika 12).

4.2. Uticaj ontogenetskog stadijuma i pola na stepen herbivorije i analizirane osobine biljaka

Stepen herbivorije značajno se razlikovao između biljaka u reproduktivnom (r) i post-reproduktivnom (pr) stadijumu (Tabela 3), pri čemu su biljke u post-reproduktivnom stadijumu pretrpele veća oštećenja (Tabela 4, Slika 13). Takođe, sadržaj vode, ukupnih solubilnih proteina, nestrukturnih ugljenih hidrata, ukupnih fenola i tanina su se statistički značajno razlikovali između ispitivanih ontogenetskih stadijuma. Listovi biljaka u reproduktivnoj fazi su posedovali manji sadržaj vode, veći sadržaj ukupnih solubilnih proteina, nestrukturnih ugljenih hidrata, ukupnih fenola i kondenzovanih tanina (Tabela 4, Slika 13). Značajne razlike između ispitivanih ontogenetskih stadijuma nisu uočene u visini, ukupnoj površini listova i vrednostima SLA (Tabele 3 i 4, Slika 13). Reproductivna alokacija je bila značajno različita između polova, pri čemu su ženske biljke imale više vrednosti ($LSM_F = 0,10$, $LSM_M = 0,02$; $P < 0,001$).

Utvrđeno je da su se polovi razlikovali po sadržaju ukupnih solubilnih proteina (Tabela 3). Međutim, *post hoc* testom je pokazano da su interseksualne razlike bile značajne u reproduktivnoj fazi, gde su muške biljke imale više TSPC vrednosti. Istom analizom pokazano je da su takođe u reproduktivnoj fazi ženske biljke imale značajno više TPhC (Tabela 4, Slika 13). Prema rezultatima *a posteriori* poređenja muške biljke u post-reproduktivnoj fazi su bile manje oštećene aktivnošću herbivora pri čemu su posedovale veću ukupnu površinu listova (Tabela 4, Slika 13). Razlike između polova u visini, specifičnoj lisnoj površini, sadržaju vode, ukupnih nestrukturnih ugljenih hidrata

i ukupnih kondenzovanih tanina nisu zabeležene ni u jednom od ispitivanih stadijuma (Tabele 3 i 4, Slika 13).

Različite osobine biljaka imale su značajan uticaj na stepen herbivorije u zavisnosti od ontogenetskog stadijuma. Stepem herbivorije u reproduktivnoj fazi zavisio je od sadržaja ukupnih nestrukturnih ugljenih hidrata, pri čemu su biljke sa većim sadržajem TNCC bile manje oštećene ($R^2_r = 0,06$, $P_r = 0,0209$; $R^2_{pr} = 0,03$, $P_{pr} = 0,1115$) (Slika 14). U post-reproduktivnoj fazi veći stepen herbivorije bio je prisutan kod biljaka sa većom visinom ($R^2_r = 0,01$, $P_r = 0,6233$; $R^2_{pr} = 0,04$, $P_{pr} = 0,0414$) i ukupnom površinom listova ($R^2_r = 0,02$, $P_r = 0,9517$; $R^2_{pr} = 0,06$, $P_{pr} = 0,0171$). Takođe u post-reproduktivnoj fazi biljke sa većim sadržajem tanina su bile manje oštećene ($R^2_r = 0,01$, $P_r = 0,6242$; $R^2_{pr} = 0,05$, $p_{pr} = 0,0302$) (Slika 14). Ni u reproduktivnoj ni u post-reproduktivnoj fazi nije uočena povezanost između stepena herbivorije i specifične lisne površine, sadržaja vode, ukupnih solubilnih proteina i fenola (Slika 14).

4.3. Uticaj svetlosnih uslova na staništu i pola na fluktuirajuću asimetriju, stepen herbivorije i analizirane osobine listova i biljaka

Vrednosti ispitivanih osobina lista dobijene u dva vremenski nezavisna merenja, nisu bile statistički značajno različite (sve $P > 0,05$). Indeks ponovljivosti merenja (ME4) za sve ispitivane osobine lista varirao je u opsegu od 0,494 do 0,646. Od ispitivanih indeksa fluktuirajuće asimetrije, FA_{PL} i multivarijatni FA_{IND} su se razlikovali između staništa sa kontrastnim svetlosnim uslovima, pri čemu su vrednosti pomenutih indeksa bile više na staništu izloženom punoj dnevnoj svetlosti (Tabela 5, Slika 15). Izračunati FA indeksi nisu bili statistički značajno različiti između polova ni u jednom slučaju (Tabela 5, Slika 15).

Stepen herbivorije se značajno razlikovao između staništa sa kontrastnim svetlosnim uslovima u 2016. godini (Tabela 6), pri čemu su biljke na staništu izloženom punoj dnevnoj svetlosti bile više oštećene aktivnošću herbivora (Tabela 7, Slika 16). Takođe, utvrđen je značajan efekat pola na stepen herbivorije (Tabela 6), međutim *post hoc* testom je pokazano da su interseksualne razlike bile statistički značajne na staništu izloženom punoj dnevnoj svetlosti gde su muške biljke bile više oštećene (Tabela 7, Slika 16).

Između staništa sa kontrastnim svetlosnim uslovima u 2016. godini biljke su se značajno razlikovale u veličini (visini, TLA), nutritivnim (LWC i TSPC), defanzivnim (SLA) (Tabela 7) i osobinama veličine lista (dužini drške i centralnog nerva, širini i površini lisne ploče) (Tabela 8). Na staništu izloženom punoj dnevnoj svetlosti biljke su bile niže, sa manjom ukupnom površinom listova, nižim vrednostima SLA, manjim sadržajem vode i ukupnih solubilnih proteina (Tabela 7, Slika 16), kraćim lisnim drškama, užom i manjom lisnom pločom (Tabela 9, Slika 17). Nije utvrđeno postojanje razlika u sadržajima ukupnih fenola i kondenzovanih tanina između ispitivanih staništa u 2016. godini (Tabele 6 i 7, Slika 16).

Ukupna površina listova, sadržaj solubilnih proteina, fenola i kondenzovanih tanina bile su statistički značajno različite između muških i ženskih biljaka u 2016. godini (Tabele 6 i 7). Međutim rezultati *post hoc* testa su pokazali da su razlike između polova u ukupnoj površini svih listova i sadržaju solubilnih proteina bile značajne samo na staništu pod vegetacijskom senkom gde su ženske biljke posedovale više vrednosti osobina (Tabela 7, Slika 16). Na oba ispitivana staništa ženske biljke su imale značajno veći sadržaj ukupnih fenola i kondenzovanih tanina (Tabela 7, Slika 16). Osobine veličine lista (PL, MVL, BS i BSA) su se značajno razlikovale između polova (Tabela 8). Ženske biljke u poređenju sa muškim, na oba staništa imale su duži centralni nerv lista, šire listove sa većom površinom lisne ploče (Tabela 9, Slika 17). Prema rezultatima *post hoc* testa razlike u dužini lisne drške bile su pristune samo na staništu pod vegetacijskom senkom gde su ženske biljke posedovale više vrednosti PL (Tabela 9, Slika 17). Muške i ženske biljke nisu se značajno razlikovale u visini, specifičnoj lisnoj površini i sadržaju vode ni na jednom od ispitivanih staništa u 2016. godini (Tabele 6 i 7, Slika 16).

4.4. Obrasci korelacionih odnosa između fluktuirajuće asimetrije, stepena herbivorije i analiziranih osobina muških i ženskih biljaka

Uočeni obrasci korelacija značajno su se razlikovali između staništa pri čemu je zabeleženo postojanje većeg broja značajnih korelacija na staništu pod vegetacijskom senkom (Slika 18). Visina biljaka i ukupna površina svih listova bile su pozitivno korelisane. Takođe su zabeležene pozitivne korelacije između sadržaja vode i SLA, kao

i između sadržaja ukupnih fenola i kondenzovanih tanina na oba staništa (Slika 18).

Indeksi fluktuirajuće asimetrije bili su značajno korelisani međusobno (Slika 18). Na staništu pod vegetacijskom senkom indeksi fluktuirajuće asimetrije, FA_{MVL} i FA_{BSA} bili su negativno korelisani sa visinom kod muških biljaka (Slika 18). Indeksi FA nisu bili povezani sa ukupnom površinom svih listova, nutritivnim i defanzivnim osobinama lista na oba staništa (Slika 18).

Stepen herbivorije nije bio u korelaciji sa većinom indeksa fluktuirajuće asimetrije, izuzev prisustva negativne korelacije sa FA_{BSA} kod muških biljaka sa staništa izloženog punoj dnevnoj svetlosti kao i pozitivne korelacije između LAR i FA_{MVL} kod muških biljaka sa staništa pod vegetacijskom senkom. Specifična lisna površina bila je negativno korelisana sa stepenom herbivorije kod ženskih biljaka na oba staništa. Pokazano je i da je LAR u negativnoj korelaciji sa sadržajem vode kod ženskih biljaka na staništu pod vegetacijskom senkom. Nisu utvrđene statistički značajne povezanosti između veličine biljaka, ukupnog sadržaja rastvornih proteina kao i defanzivnih osobina listova (TPhC, TCT) sa jedne strane i stepena herbivorije sa druge strane (Slika 18).

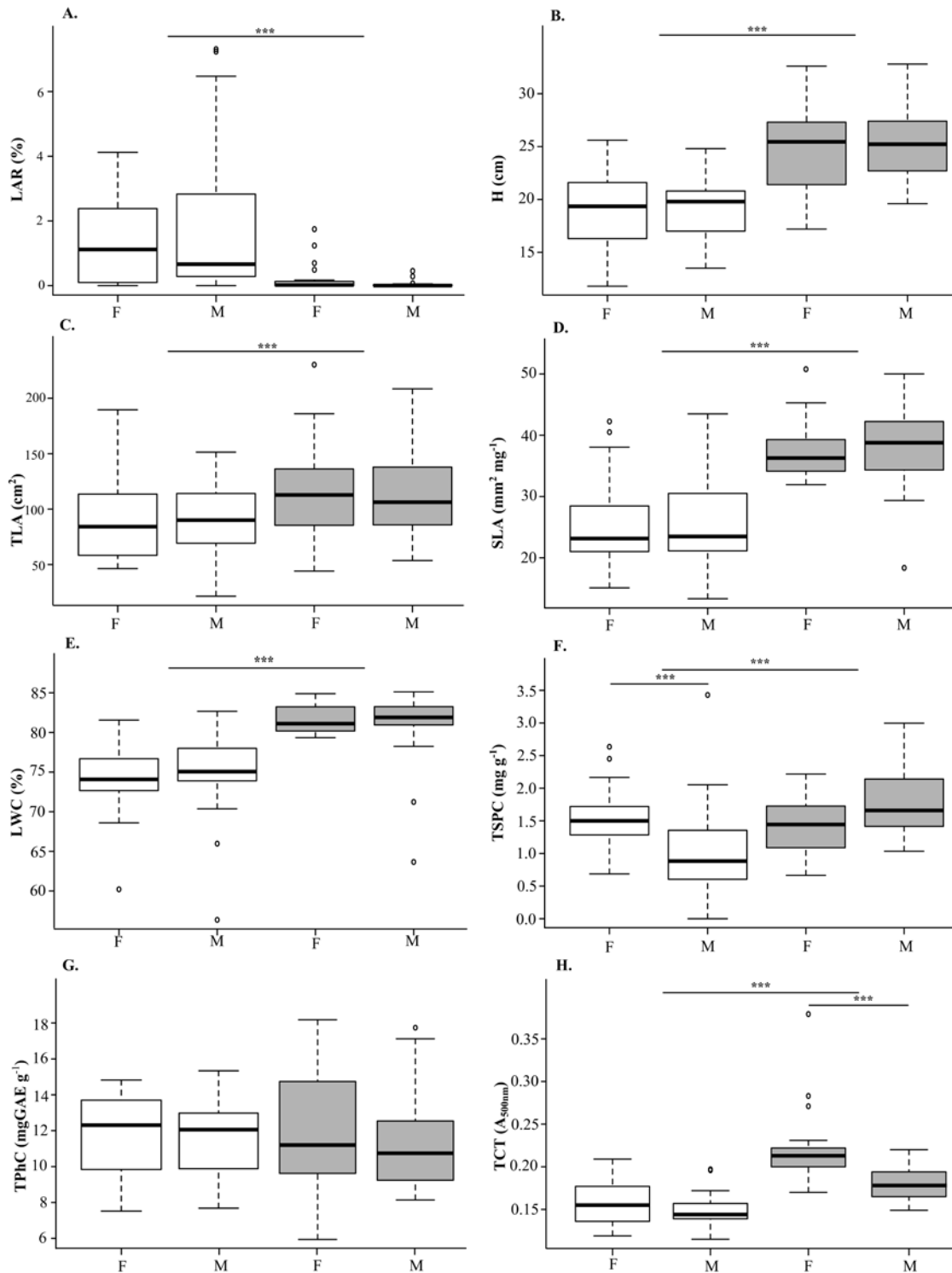
Tabela 1. Rezultati analize varijanse (nested ANOVA) za stepen herbivorije (LAR), visinu biljaka (H), ukupnu površinu listova (TLA), specifičnu lisnu površinu (SLA), sadržaj vode (LWC), ukupni sadržaj solubilnih proteina (TSPC), ukupni sadržaj fenola (TPhC) i ukupni sadržaj kondenzovanih tanina (TCT) sa staništa izloženog punoj dnevnoj svetlosti i staništa pod vegetacijskom senkom u 2015. godini u odnosu na izvore varijabilnosti – stanište i pol unutar staništa (bold - statistički značajne razlike).

Izvor varijabilnosti	LAR (%)				H (cm)				TLA (cm ²)				SLA (mm ² g ⁻¹)			
	df	MS	F	P	df	MS x10 ²	F	P	df	MS x10 ²	F	P	df	MS	F	P
Stanište	1	24,78	84,83	<0,0001	1	1030,19	83,02	<0,0001	1	169,29	12,91	<0,0001	1	4243,00	100,81	<0,0001
Pol (Stanište)	2	0,23	0,78	0,4600	2	0,98	0,08	0,9240	2	0,16	0,01	0,9878	2	10,00	0,23	0,7970
Greška	116	0,29			116	12,41			116	13,11			116	42,00		

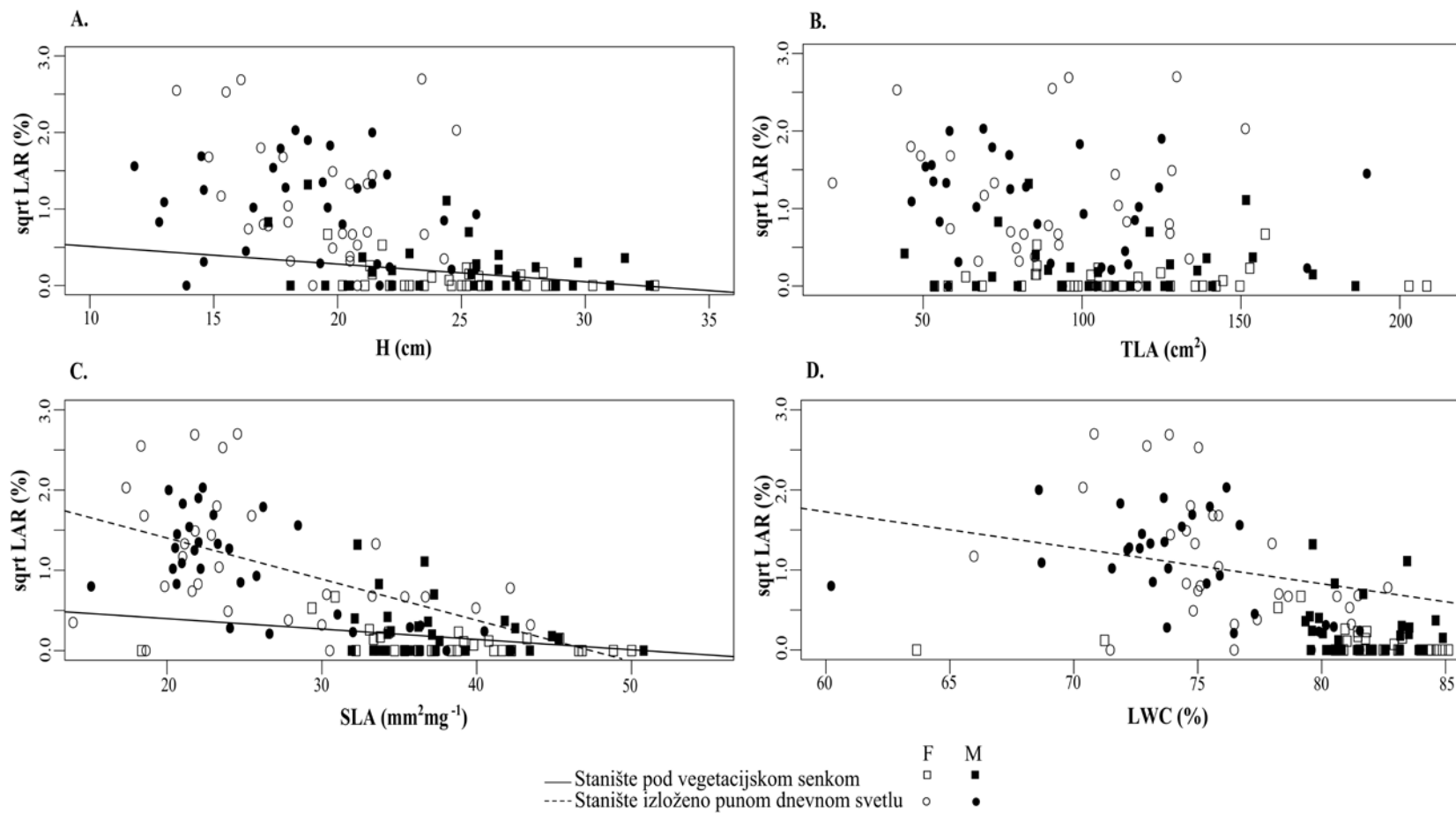
Izvor varijabilnosti	LWC (%)				TSPC (mg g ⁻¹)				TPhC (mgGAE g ⁻¹)				TCT (A ₅₀₀ g ⁻¹)			
	df	MS	F	P	df	MS	F	P	df	MS	F	P	df	MS	F	P
Stanište	1	1304,10	79,69	<0,0001	1	1,01	17,15	<0,0001	1	0,01	0,07	0,7890	1	73,77	115,06	<0,0001
Pol (Stanište)	2	3,30	0,19	0,8200	2	0,79	13,52	<0,0001	2	0,04	0,33	0,7230	2	7,76	11,96	<0,0001
Greška	116	16,40			116	0,06			116	0,14			116	0,64		

Tabela 2. Srednje vrednosti (LSM) stepena herbivorije (LAR), visine biljaka (H), ukupne površine listova (TLA), specifične lisne površine (SLA), sadržaja vode (LWC), ukupnog sadržaja solubilnih proteina (TSPC), ukupnog sadržaja fenola (TPhC) i ukupnog sadržaja kondenzovanih tanina (TCT) ženskih (F) i muških (M) biljaka sa staništa izloženog punoj dnevnoj svetlosti i staništa pod vegetacijskom senkom u 2015. godini.

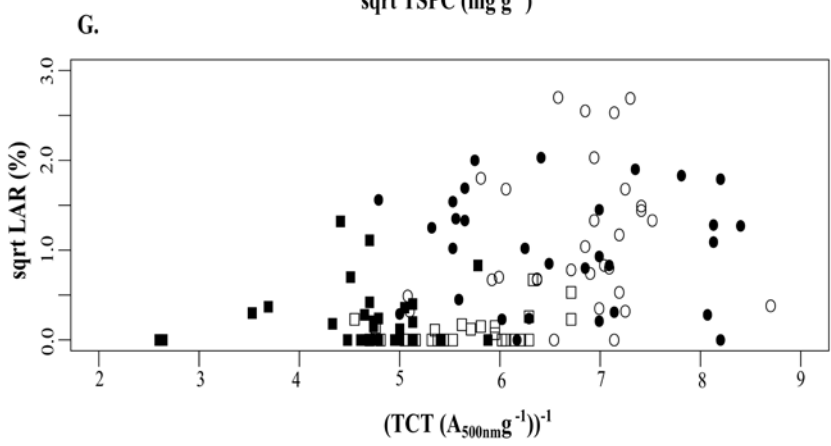
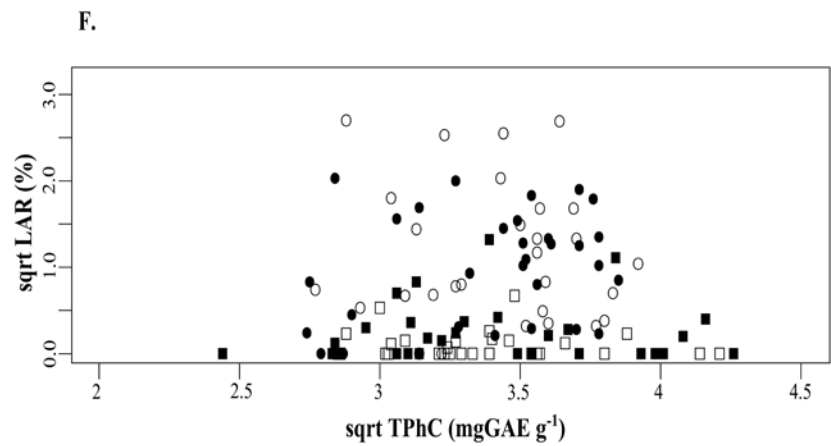
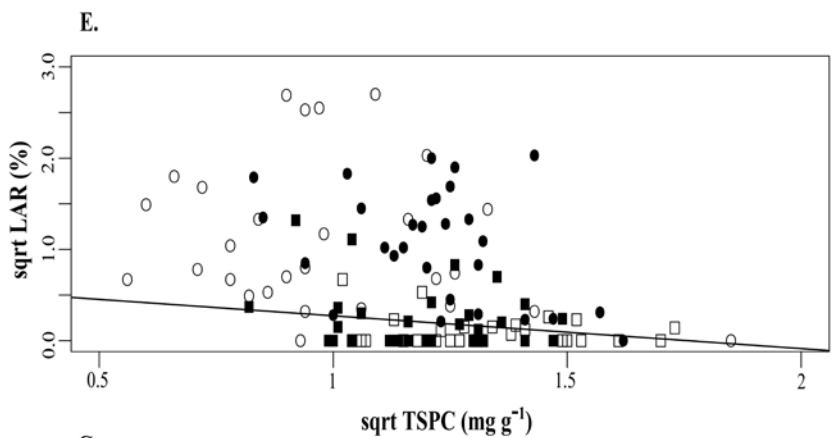
Stanište	izloženo punoj dnevnoj svetlosti		pod vegetacijskom senkom	
	F	M	F	M
LAR (%)	1,03	1,12	0,24	0,09
H (cm)	18,92	19,23	24,84	25,02
TLA (cm²)	89,82	90,18	114,47	113,04
SLA (mm² mg⁻¹)	25,77	26,18	37,34	38,39
LWC (%)	74,59	75,13	81,64	81,27
TSPC (mg g⁻¹)	1,22	0,92	1,19	1,32
TPhC (mgGAE g⁻¹)	11,62	11,64	11,87	11,26
TCT (A₅₀₀ g⁻¹)	0,15	0,14	0,22	0,18



Slika 11. Razlike između biljaka sa staništa izloženog punoj dnevnoj svetlosti (beli pravougaonici) i staništa pod vegetacijskom senkom (sivi pravougaonici) i razlike između polova (F – ženski, M – muški) unutar staništa u: A. stepenu herbivorije (LAR), B. visini biljaka (H), C. ukupnoj površini listova (TLA), D. specifičnoj lisnoj površini (SLA), E. sadržaju vode (LWC), F. ukupnom sadržaju solubilnih proteina (TSPC), G. ukupnom sadržaju fenola (TPhC) i H. ukupnom sadržaju kondenzovanih tanina (TCT) u 2015. godini (medijana, prvi i treći kvartil, opseg variranja i netipične vrednosti; *** $P < 0,0001$).



Slika 12. Rezultati regresione analize odnosa stepena herbivorije (LAR) i A. visine biljaka (H), B. ukupne površine listova (TLA), C. specifične lisne površine (SLA), D. sadržaja vode (LWC) na staništima sa različitim svetlosnim uslovima u 2015 godini.



— Stanište pod vegetacijskom senkom F M
 ---- Stanište izloženo punom dnevnom svetlu □ ●

Nastavak slike 12. Rezultati regresione analize odnosa stepena herbivorije (LAR) i E. ukupnog sadržaja solubilnih proteina (TSPC), F. ukupnog sadržaja fenola (TPhC) i G ukupnog sadržaja kondenzovanih tanina (TCT) na staništima sa različitim svetlosnim uslovima u 2015 godini.

Tabela 3. Rezultati analize varijanse (nested ANOVA) za stepen herbivorije (LAR), visinu biljaka (H), ukupnu površinu listova (TLA), specifičnu lisnu površinu (SLA), sadržaj vode (LWC), ukupni sadržaj solubilnih proteina (TSPC), sadržaj ukupnih nestrukturnih ugljenih hidrata (TNCC), ukupni sadržaj fenola (TPhC) i ukupni sadržaj kondenzovanih tanina (TCT) biljaka u reproduktivnom i post-reproduktivnom stadijumu u odnosu na izvore varijabilnosti – ontogenetski stadijum i pol unutar ontogenetskog stadijuma (bold - statistički značajne razlike).

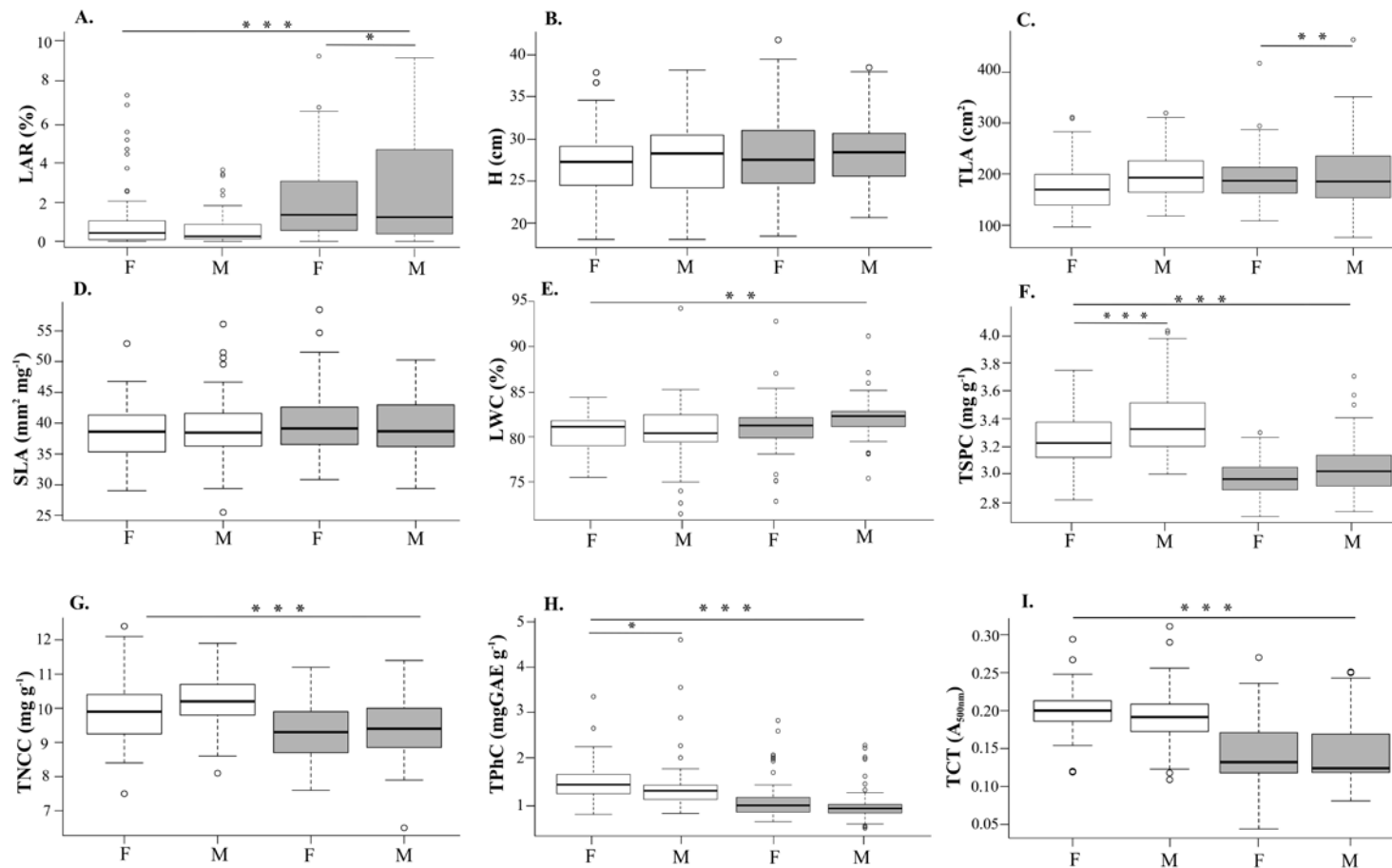
Izvor varijabilnosti	LAR (%)				H(cm)				TLA (cm ²)			
	df	MS	F	P	df	MS	F	P	df	MS	F	P
Ontogenetski stadijum	1	1,60	21,44	<0,0001	1	3026,00	1,45	0,2300	1	0,01	0,18	0,6720
Pol (Ontogenetski stadijum)	2	0,16	2,20	0,4600	2	102,70	0,05	0,9520	2	0,03	2,98	0,0530
Greška	228	0,07			228	2089,60			228	0,01		

Izvor varijabilnosti	SLA (mm ² g ⁻¹)				LWC (%)				TSPC (mg g ⁻¹)			
	df	MS	F	P	df	MS	F	P	df	MS	F	P
Ontogenetski stadijum	1	76,60	3,02	0,0839	1	10937,66	8,18	0,0046	1	204,89	120,58	<0,0001
Pol (Ontogenetski stadijum)	2	7,34	0,29	0,7493	2	2588,61	1,94	0,1466	2	14,37	8,46	0,0003
Greška	228	25,41			228	1336,96			228	1,70		

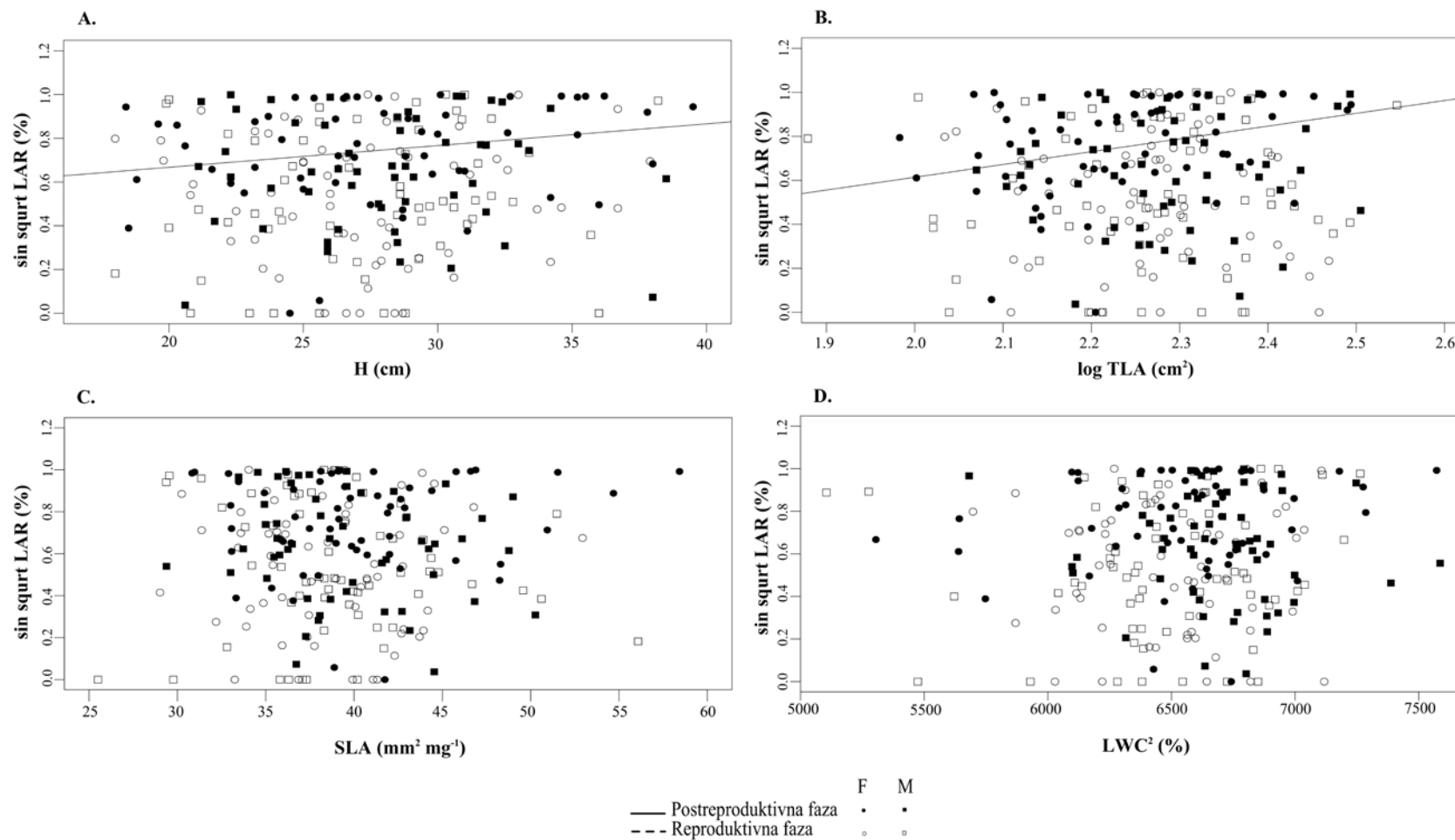
Izvor varijabilnosti	TNCC (mg g ⁻¹)				TPhC (mgGAE g ⁻¹)			
	df	MS	F	P	df	MS	F	P
Ontogenetski stadijum	1	34,36	49,53	<0,0001	1	0,32	57,46	<0,0001
Pol (Ontogenetski stadijum)	2	0,98	1,41	0,2460	2	0,01	2,80	0,0628
Greška	228	0,69			228	0,01		

Tabela 4. Srednje vrednosti (LSM) stepena herbivorije (LAR), visine biljaka (H), ukupne površine listova (TLA), specifične lisne površine (SLA), sadržaja vode (LWC), ukupnog sadržaja rastvornih proteina (TSPC), ukupnog sadržaja fenola (TPhC) i ukupnog sadržaja kondenzovanih tanina (TCT) ženskih (F) i muških (M) biljaka u reproduktivnom i post-reproduktivnom ontogenetskom stadijumu.

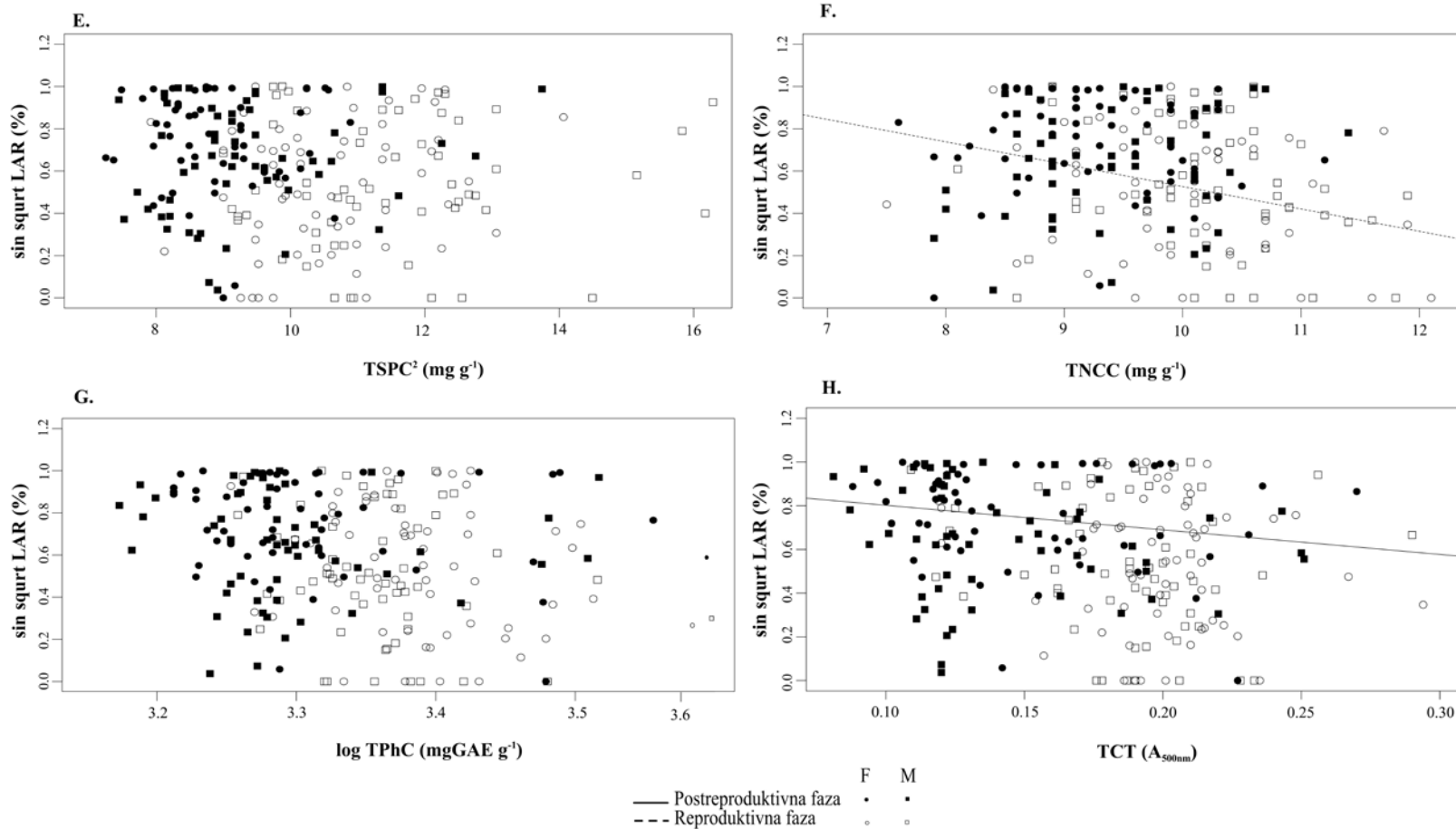
Ontogenetski stadijum	reproduktivni		post-reproduktivni	
	F	M	F	M
LAR (%)	0,48	0,31	0,72	0,32
H (cm)	27,28	27,38	28,17	27,93
TLA (cm ²)	184,92	182,15	170,40	192,31
SLA (mm ² mg ⁻¹)	38,57	38,98	40,21	39,63
LWC (%)	80,56	80,46	80,95	81,78
TSPC (mg g ⁻¹)	3,25	3,38	3,04	3,05
TNCC (mg g ⁻¹)	9,94	10,19	9,26	9,32
TPhC (mgGAE g ⁻¹)	2,47	2,32	2,05	1,97
TCT (A ₅₀₀ g ⁻¹)	0,20	0,19	0,15	0,14



Slika 13. Razlike između biljaka u reproduktivnoj (beli pravougaonici) i post-reproduktivnoj fazi (sivi pravougaonici) i razlike između polova (F – ženski, M – muški) u: A. stepenu herbivorije (LAR), B. visini biljaka (H), C. ukupnoj površini listova (TLA), D. specifičnoj lisnoj površini (SLA), E. sadržaju vode (LWC), F. ukupnom sadržaju solubilnih proteina (TSPC), G. sadržaju ukupnih nestrukturanih ugljenih hidrata (TNCC), H. ukupnom sadržaju fenola (TPhC) i I. ukupnom sadržaju kondenzovanih tanina (TCT) (medijana, prvi i treći kvartil, opseg variranja i netipične vrednosti; *** $P < 0,0001$, ** $P < 0,0005$, * $P < 0,05$).



Slika 14. Rezultati regresione analize odnosa stepena herbivorije (LAR) i A. visine biljaka (H), B. ukupne površine listova (TLA), C. specifične lisne površine (SLA), D. sadržaja vode (LWC) u reprodukativnoj i post-reprodukativnoj fazi.



Nastavak slike 14. Rezultati regresione analize odnosa stepena herbivorije (LAR) i E. ukupnog sadržaja solubilnih proteina (TSPC), F. sadržaja ukupnih nestrukturnih ugljenih hidrata (TNCC), G. sadržaja fenola (TPhC) i H. ukupnog sadržaja kondenzovanih tanina (TCT) u reproduktivnoj i post-reproduktivnoj fazi.

Tabela 5. Rezultati analize varijanse (nested ANOVA) za univarijantne indekse fluktuirajuće asimetrije: dužine drške (FA_{PL}), dužine centralnog nerva (FA_{MVL}), širine lisne ploče (FA_{BW}), površine lisne ploče (FA_{BSA}), kao i multivarijantni indeks (FA_{IND}), sa staništa izloženog punoj dnevnoj svetlosti i staništa od vegetacijskom senkom u odnosu na izvore varijabilnosti – stanište, pol unutar staništa i individua unutar pola i staništa (bold - statistički značajne razlike).

Izvor varijabilnosti	FA _{PL}				FA _{MVL}				FA _{BW}			
	df	MS	F	P	df	MS	F	P	df	MS	F	P
Stanište	1	0,85	4,35	0,0383	1	0,01	0,66	0,4161	1	0,00	0,27	0,6026
Pol (Stanište)	2	0,24	1,28	0,2815	2	0,04	2,37	0,0976	2	0,00	0,54	0,5848
Individua (Pol (Stanište))	116	0,19	0,85	0,8583	116	0,02	0,91	0,7361	115	0,01	0,76	0,9688
Greška	755	0,22			815	0,02			807	0,01		

Izvor varijabilnosti	FA _{BSA}				FA _{IND}			
	df	MS	F	P	df	MS	F	P
Stanište	1	0,01	0,18	0,6712	1	0,18	7,66	0,0062
Pol (Stanište)	2	0,04	1,27	0,2835	2	0,02	0,67	0,5135
Individua (Pol (Stanište))	115	0,03	0,64	0,9985	115	0,02	0,85	0,8630
Greška	807	0,04			749	0,03		

Tabela 6. Rezultati analize varijanse (nested ANOVA) za stepen herbivorije (LAR), visinu biljaka (H), ukupnu površinu listova (TLA), specifičnu lisnu površinu (SLA), sadržaj vode (LWC), ukupni sadržaj solubilnih proteina (TSPC), ukupni sadržaj fenola (TPhC) i ukupni sadržaj kondenzovanih tanina (TCT) sa staništa izloženog punoj dnevnoj svetlosti i staništa pod vegetacijskom senkom u 2016. godini u odnosu na izvore varijabilnosti – stanište i pol unutar staništa (bold - statistički značajne razlike).

Izvor varijabilnosti	LAR (%)				H (cm)				TLA (cm ²)				SLA (mm ² g ⁻¹)			
	df	MS	F	P	df	MS	F	P	df	MS	F	P	df	MS	F	P
Stanište	1	1,79	60,67	<0,0001	1	19,86	104,67	<0,0001	1	11,69	110,31	<0,0001	1	5,45	137,80	<0,0001
Pol (Stanište)	2	0,37	12,53	0,0009	2	0,05	0,24	0,7898	2	0,43	4,03	0,0202	2	0,02	0,58	0,5609
Greška	116	0,03			116	0,19			116	0,11			116	0,04		

Izvor varijabilnosti	LWC (%)				TSPC (mg g ⁻¹)				TPhC (mgGAE g ⁻¹)				TCT (A ₅₀₀ g ⁻¹)			
	df	MSx10 ²	F	P	df	MS	F	P	df	MS	F	P	df	MS	F	P
Stanište	1	36,48	233,94	<0,0001	1	2,70	41,79	<0,0001	1	0,01	0,00	0,9769	1	0,04	0,58	0,4460
Pol (Stanište)	2	0,32	2,05	0,1336	2	0,32	5,01	0,0082	2	231,03	13,38	<0,0001	2	0,89	14,59	<0,0001
Greška	116	0,16			116	0,07			116	14,26			116	0,06		

Tabela 7. Srednje vrednosti (LSM) stepena herbivorije (LAR), visine biljaka (H), ukupne površine listova (TLA), specifične lisne površine (SLA), sadržaja vode (LWC), ukupnog sadržaja solubilnih proteina (TSPC), ukupnog sadržaja fenola (TPhC) i ukupnog sadržaja kondenzovanih tanina (TCT) ženskih (F) i muških (M) biljaka sa staništa izloženog punoj dnevnoj svetlosti i staništa pod vegetacijskom senkom u 2016.

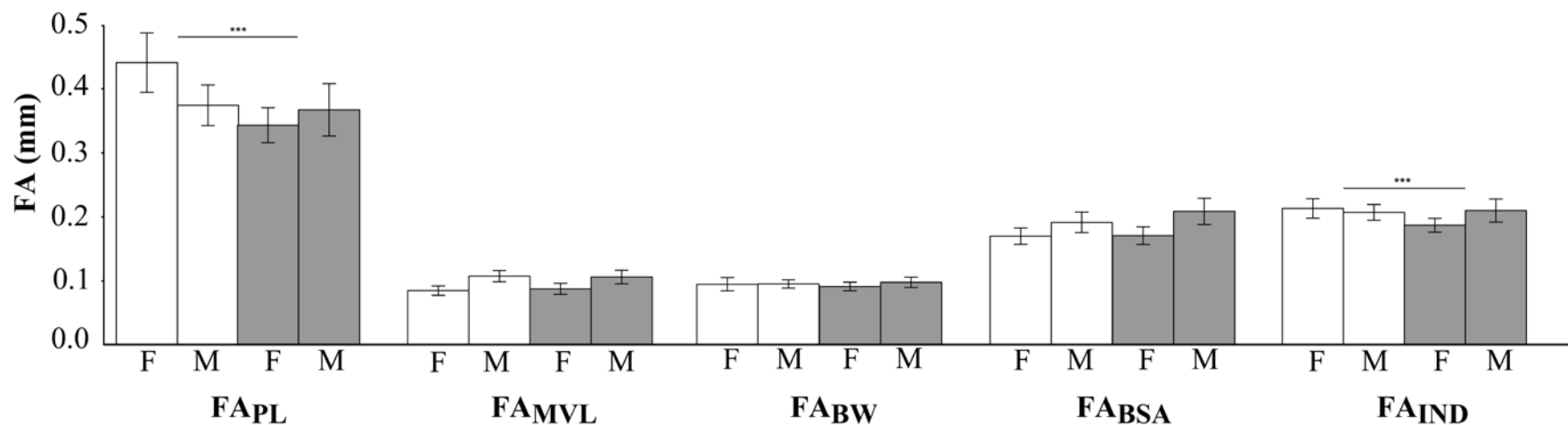
Stanište	izloženo punoj dnevnoj svetlosti		pod vegetacijskom senkom	
	F	M	F	M
LAR (%)	2,19	3,85	0,68	0,48
H (cm)	19,50	18,82	27,01	26,66
TLA (cm²)	77,79	64,64	43,67	120,58
SLA (mm² mg⁻¹)	20,78	21,52	33,05	32,35
LWC (%)	71,89	73,24	79,86	79,52
TSPC (mg g⁻¹)	1,47	1,23	2,39	1,88
TPhC (mgGAE g⁻¹)	19,15	15,59	19,74	15,22
TCT (A₅₀₀ g⁻¹)	0,19	0,15	0,20	0,16

Tabela 8. Rezultati analize varijanse (nested ANOVA) za dužinu drške (PL), dužinu centralnog nerva (MVL), širinu lisne ploče (BW) i površinu lisne ploče (BSA) sa staništa izloženog punoj dnevnoj svetlosti i staništa od vegetacijskom senkom u odnosu na izvore varijabilnosti – stanište, pol unutar staništa i individua unutar pola i staništa (bold - statistički značajne razlike).

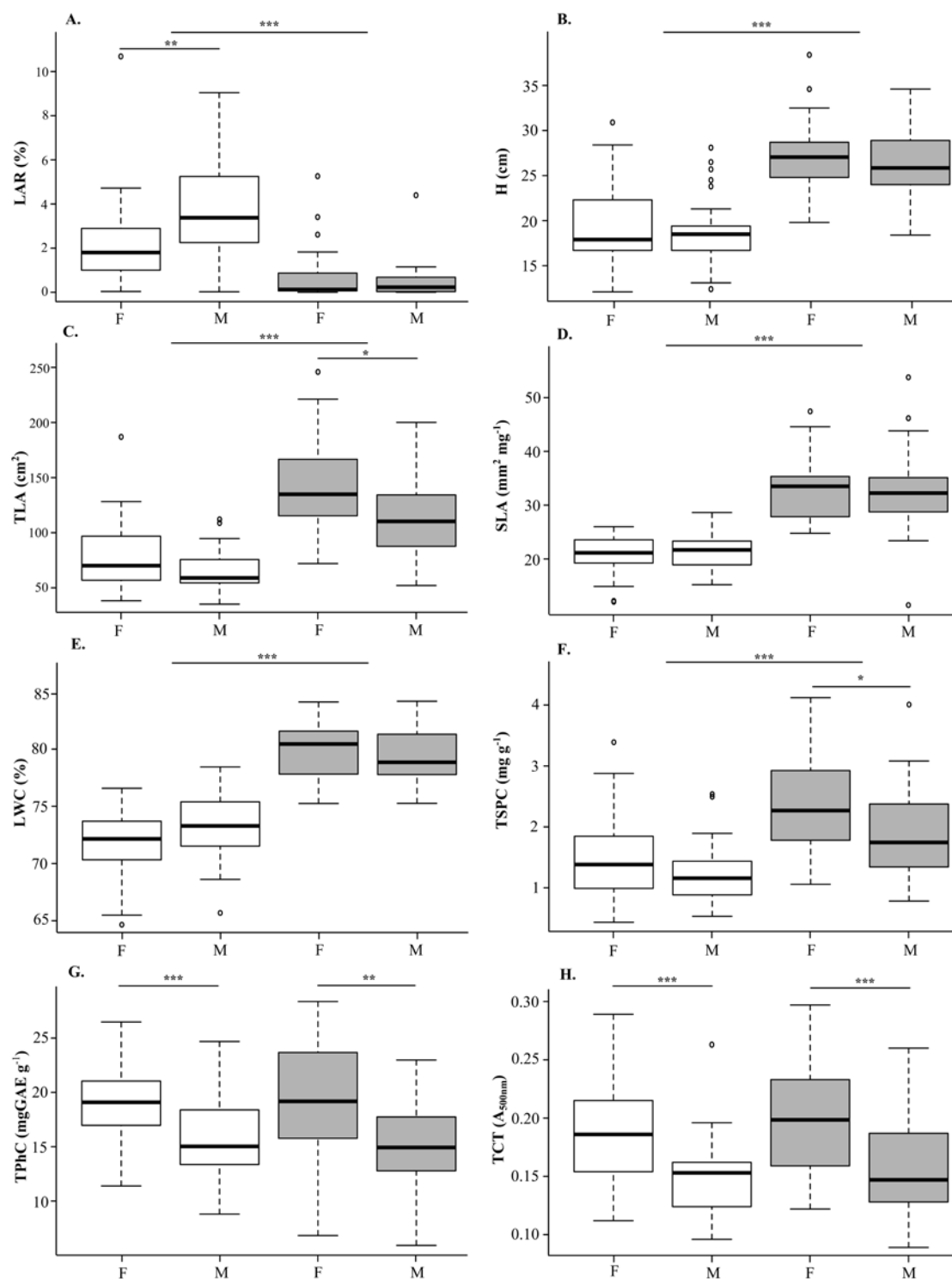
Izvor varijabilnosti	PL (cm)				MVL (cm)				BW (cm)				BSA (cm ²)			
	df	MS	F	P	df	MS	F	P	df	MS	F	P	df	MS	F	P
Stanište	1	78,64	61,37	<0,0001	1	24,54	103,44	<0,0001	1	38,45	34,82	<0,0001	1	45,39	60,65	<0,0001
Pol (Stanište)	2	6,54	5,07	0,0077	2	1,82	7,62	<0,0001	2	6,96	6,27	0,0026	2	5,59	7,44	<0,0001
Individua (Pol (Stanište))	116	1,32	2,42	<0,0001	116	0,24	3,01	<0,0001	116	1,13	2,82	<0,0001	116	0,77	2,30	<0,0001
Greška	1033	0,55			1112	0,08			1112	0,40			1112	0,33		

Tabela 9. Srednje vrednosti (LSM) dužine drške (PL), dužine centralnog nerva (MVL), širine lisne ploče (BW) i površine lisne ploče (BSA) sa staništa izloženog punoj dnevnoj svetlosti i staništa pod vegetacijskom senkom.

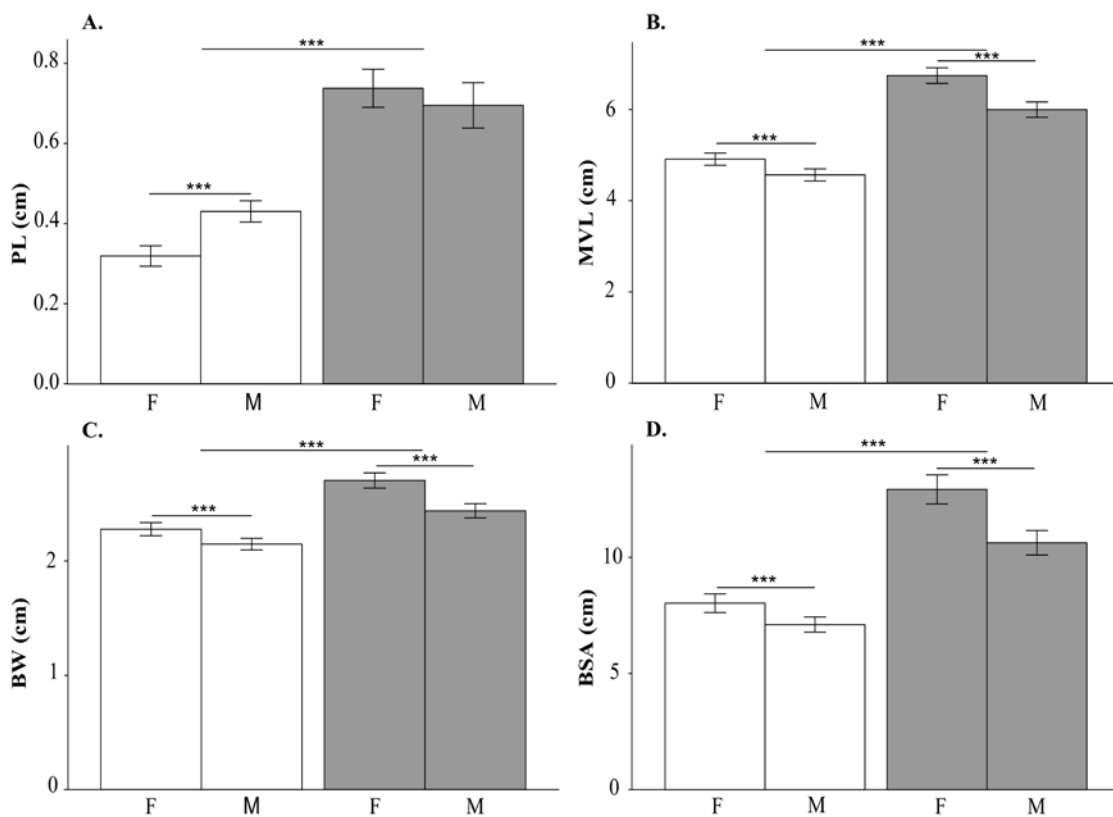
Stanište	izloženo punoj dnevnoj svetlosti		pod vegetacijskom senkom	
	F	M	F	M
PL(cm)	0,69	0,73	0,43	0,32
MVL(cm)	5,99	6,75	4,57	4,91
BW(cm)	2,44	2,70	2,16	2,28
BSA(cm)	8,03	7,12	12,92	10,63



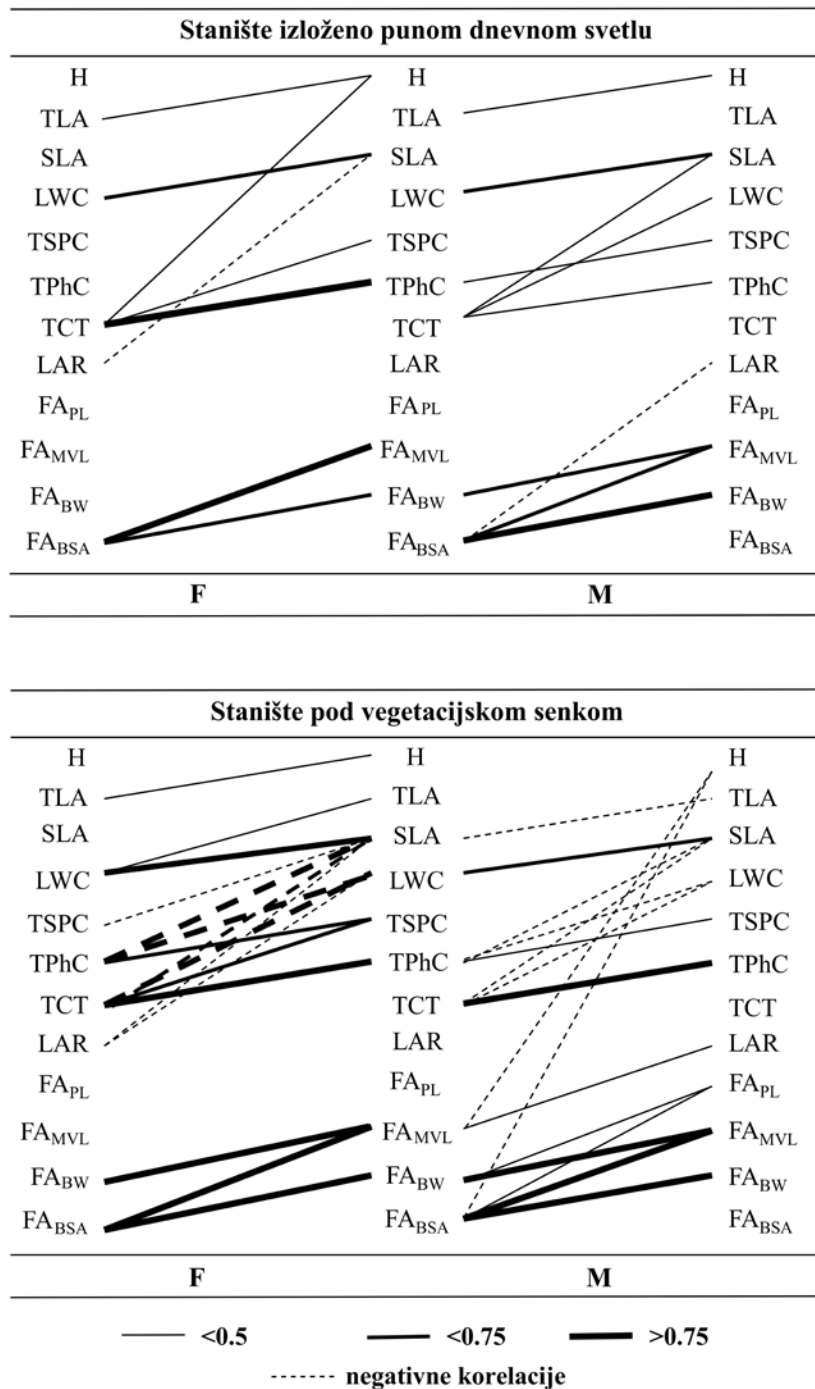
Slika 15. Razlike u indeksima fluktuirajuće asimetrije za dužinu drške (PL), dužinu centralnog nerva (MVL), širinu lisne ploče (BW), površinu lisne ploče (BSA) i multivarijantnom indeksu (IND) između biljaka sa staništa izloženog punoj dnevnoj svetlosti (beli stubići) i staništa pod vegetacijskom senkom (sivi stubići), i između polova (F – ženski, M – muški) unutar staništa (srednja vrednost, standardna greška; *** $P < 0,0001$).



Slika 16. Razlike između biljaka sa staništa izloženog punoj dnevnoj svetlosti (beli kvadrati) i staništa pod vegetacijskom senkom (sivi kvadrati) i razlike između polova (F – ženski, M – muški) unutar oba staništa u: A. stepenu herbivorije (LAR), B. visini biljaka (H), C. ukupnoj površini listova (TLA), D. specifičnoj lisnoj površini (SLA), E. sadržaju vode (LWC), F. ukupnom sadržaju solubilnih proteina (TSPC), G. ukupnom sadržaju fenola (TPhC) i H. ukupnom sadržaju kondenzovanih tanina (TCT) u 2016. godini (medijana, prvi i treći kvartil, opseg variranja i netipične vrednosti; *** $P < 0,0001$, ** $P < 0,0005$, * $P < 0,05$).



Slika 17. Razlike između biljaka sa staništa izloženog punoj dnevnoj svetlosti (beli stubići) i staništa pod vegetacijskom senkom (sivi stubići) i razlike između polova (F – ženski, M – muški) unutar staništa u: A. dužini drške (PL), B. dužini centralnog nerva (MVL), C. širini lisne ploče (BW), D površini lisne ploče (BSA) (srednja vrednost, standardna greška; *** $P < 0,0001$).



Slika 18. Koeficijenti korelacija (Spearman) između osobina veličine biljaka (visina – H, ukupna površina listova – TLA), nutritivnih (sadržaja vode – LWC i ukupnog sadržaja solubilnih proteina – TSPC) i defanzivnih osobina listova (specifična lisna površina – SLA, ukupni sadržaj fenola – TPhC i kondenzovanih tanina – TCT), indeksa fluktuirajuće asimetrije listova (u dužini drške – FA_{PL}, lisnog nerva – FA_{MVL}, širini – FA_{BW} i površini lisne ploče – FA_{BSA}) i stepena herbivorije (LAR) za muške (M) i ženske (F) biljke *M. perennis* sa staništa izloženog punoj dnevnoj svetlosti i staništa pod vegetacijskom senkom. Isprekidane linije označavaju negativne, a pune pozitivne korelacije među osobinama. Debljina linija prikazuje jačinu korelacija. (modifikovano prema Miljković i sar. 2018).

5. Diskusija

5.1. Uticaj svetlosnih uslova na staništu

Uticaj svetlosnih uslova na staništu na stepen herbivorije

Svetlosni uslovi na staništu utiču na varijabilnost različitih morfoloških i biohemijskih osobina biljaka koje posreduju u njihovim interakcijama sa herbivorima (Salgado-Luarte i Gianoli, 2012). Biljke koje naseljavaju staništa u dubokoj senci obično poseduju listove koji su tanji, mekši sa većom količinom vode i azota, dok su „listovi sunca“ čvršći, sa manjim vrednostima SLA i višim sadržajem ugljovodoničnih defanzivnih jedinjenja (Barbehenn i Constable, 2011). Smatra se da navedene osobine, koje predstavljaju deo adaptivnog odgovora biljaka na staništima pod vegetacijskom senkom, mogu da povećaju i rizik za napad od strane herbivora (Roberts i Paul, 2006). Veći stepen herbivorije u senci zabeležen je u istraživanjima na različitim model sistemima (Niesenbaum i Kluger, 2006; Muth i sar., 2008; Guerra i sar., 2010; Karolewski i sar., 2013), međutim u nekim slučajevima biljke izložene punoj dnevnoj svetlosti su bile više oštećene aktinošću herbivora (Louda i Rodman, 1996; Takafumi i sar., 2010; Salgado-Luarte i Gianoli, 2011). Značajno je istaći da je do sada relativno slabo proučeno postojanje diferencijalne herbivorije u odnosu na svetlosne uslove staništa kod višegodišnjih zeljastih vrsta. Iako je uticaj svetlosti na stepen herbivorije intenzivno ispitivan na drvenastim i žbunastim vrstama, znatno manje pažnje je posvećeno istraživanju pomenutih efekata na herbivoriju kod zeljastih vrsta, koje predstavljaju ključne elemente zajednica prizemnog sprata šumskih ekosistema.

Našim istraživanjem utvrđeno je da su biljke *M. perennis* na staništu izloženom punoj dnevnoj svetlosti u obe godine istraživanja bile više oštećene aktivnošću herbivora. Diferencijalna herbivorija u odnosu na svetlosne uslove najčešće je objašnjavana razlikama u nutritivnim i defanzivnim osobinama biljaka. Međutim, kod *M. perennis* „listovi sunca“ su se nalazili pod većim pritiskom herbivora iako su imali manju nutritivnu vrednost (niži sadržaj vode i solubilnih proteina u listovima) i manje vrednosti SLA. Ovaj nalaz je u saglasnosti sa rezultatima do kojih su došli Louda i Rodman (1996) istražujući diferencijalnu herbivoriju kod skiofite *Cardamine cordifolia*. Kod pomenute vrste takođe je zabeleženo da su „listovi sunca“ uprkos manjem sadržaju

vode i većoj čvrstoći bili više oštećeni aktivnošću herbivora. Smatra se da fiziološka ograničenja kod skiofita, koja su posledica optimizovanja stope fotosinteze u uslovima smanjenog intenziteta svetlosti, otežavaju njihov opstanak na staništima sa visokim svetlosnim intenzitetom (Valladares i Niinemets 2008). Međutim, kako su predložili Louda i Rodman (1996), ukoliko je izraženiji pritisak herbivora na staništima koja su izložena većem svetlosnom intenzitetu, to takođe može da doprinese ograničenju distribucije skiofita na staništa pod vegetacijskom senkom.

Postoji mogućnost da su na variranje stepena herbivorije kod *M. perennis* između staništa izloženih različitim svetlosnim uslovima u izvesnoj meri uticale razlike u abiotičkim (npr. temperaturne razlike, sastav zemljišta) i biotičkim (npr. sastav i brojnost zajednica herbivora) faktorima između proučavanih staništa. Međutim, eksperimentalno je pokazano da na odabir hrane kod insekata značajno više utiču razlike u osobinama „listova sunca“ i „listova senke“, nego razlike u abiotičkim uslovima, npr. temperaturi (Niesenbaum i Kluger, 2006). Iako brojnost insekata može biti jedan od faktora koji utiču na prisustvo diferencijalne herbivorije (Takafumi i sar., 2010), u nekim slučajevima gde nisu zabeležene razlike u brojnosti herbivora zabeležene su razlike u stepenu oštećenja između staništa sa različitim svetlosnim uslovima (Muth i sar., 2008; Guerra i sar., 2010; Suárez-Piña i sar., 2016). Budućim istraživanjima na *M. perennis* trebalo bi utvrditi da li i u kojoj meri sastav zajednica herbivora i njihova brojnost doprinosi većem stepenu oštećenja listova na staništu izloženom punoj dnevnoj svetlosti.

Uticao svetlosnih uslova na veličinu biljaka i listova, nutritivne i defanzivne osobine listova

Fizičke i biohemijske osobine na nivou cele biljke, kao i osobine lista (veličina i oblik) nalaze se pod snažnim sredinskim uticajima (Cuevas-Reyes i sar., 2011). Ovim istraživanjem je utvrđeno da su svetlosni uslovi na staništu uticali na veličinu biljaka i listova, nutritivne i defanzivne osobine listova kod *M. perennis*.

Izduživanje stabla i povećavanje fotosintetski aktivne površine listova na staništu pod vegetacijskom senkom predstavljaju adaptivne odgovore biljaka na smanjen intenzitet svetlosti (Barbehen i Constable, 2011). Na staništu izloženom punoj dnevnoj

svetlosti biljke *M. perennis* su u obe godine istraživanja bile značajno niže i sa manjom ukupnom površinom listova. Ovaj nalaz je u skladu sa prethodnim istraživanjima na *M. perennis* kojima je pokazan negativan uticaj povećanog intenziteta svetlosti na biomasu biljaka (Mukerji, 1936; Wade, 1981; Jefferson, 2008). Svetlosni uslovi na staništu uticali i na morfologiju listova *M. perennis* koji su na staništu izloženom punoj dnevnoj svetlosti bili manji, što je u skladu sa prethodnim nalazima Eliáš and Masarovièová (1986). Pored toga, lisne drške su bile duže na staništu pod vegetacijskom senkom, što je u saglasnosti sa rezultatima koji su prethodno dobijeni kod vrsta tolerantnih na duboku senku. Celokupna fiziognomija biljaka *M. perennis* na staništu pod vegetacijskom senkom predstavlja manifestaciju sindroma izbegavanja senke (*engl.* shade avoidance syndrome). Ovaj fenomen koji je često opisivan u literaturi, posledica je delovanja prirodne selekcije na fiziognomiju biljaka čime se postiže optimalno odvijanje procesa fotosinteze u senci (Weijschedé 2006).

Svetlosni uslovi na staništu uticali su i na varijabilnost u nutritivnim i defanzivnim osobinama listova. „Listovi senke“ posedovali su veći sadržaj vode i ukupnih solubilnih proteina u obe godine istraživanja. Ovaj nalaz je u skladu sa opštim obrascima prilagođavanja biljaka na uslove smanjenog intenziteta svetlosti (Mooney i Niesenbaum, 2012) koji su prethodno opisani na različitim biljnim vrstama (Muth i sar., 2008; Barber i Marquis, 2011; Stoepler i Rehill, 2012; Karolewski i sar., 2013). Još jedna od adaptacija skiofita na smanjen intenzitet svetlosti jeste i relativno povećavanje površine lista u odnosu na suhu masu, odnosno povećavanje vrednosti SLA (Lusk i sar., 2010). Listovi biljaka *M. perennis* na staništu pod vegetacijskom senkom imali su više vrednosti SLA tokom obe godine ispitivanja, što je u skladu sa rezultatima dobijenim istraživanjima na različitim žbunastim vrstama (Mooney i Niesenbaum, 2012; Karolewski i sar., 2013) i izdancima drvenastih vrsta (Barber i Marquis, 2011; Salgado-Luarte i Gianoli, 2012), koje su kao članovi zajednica prizemnog sprata šumskih ekosistema tolerantne na nizak intenzitet svetlosti. Pored svega navedenog, svetlosni uslovi na staništu mogu da utiču i na sintezu ugljovodoničnih defanzivnih sekundarnih metabolita (Sinimbu i sar., 2011). Do sada je u većini istraživanja na različitim biljnim vrstama pokazano da biljke sa staništa izloženih većem intenzitetu svetlosti poseduju viši sadržaj fenola (Guerra i sar., 2010; Takafumi i sar., 2010; Mooney i Niesenbaum, 2012). Međutim, zabeleženi su i slučajevi da listovi biljaka pod vegetacijskom senkom

poseduju više vrednosti TPhC (Yan i sar., 2014). Ovim istraživanjem je utvrđeno da su „listovi senke“ imali viši sadržaj kondenzovanih tanina tokom 2015. godine. Međutim, razlike između „listova senke“ i „listova sunca“ u sadržaju fenola u obe godine istraživanja, kao i razlike u sadržaju kondenzovanih tanina u 2016. godini nisu utvrđene.

Uticao veličine biljaka, nutritivnih i defanzivnih osobina listova na stepen herbivorije pod različitim svetlosnim uslovima staništa

Različite osobine biljaka uticale su na stepen oštećenja listova izazvanog aktivnošću herbivora u zavisnosti od svetlosnih uslova na staništu. Veličina biljaka *M. perennis* (visina i ukupna površina listova) nije uticala na stepen herbivorije na staništu izloženom punoj dnevnoj svetlosti, dok su na staništu pod vegetacijskom senkom niže biljke bile više oštećene. Istraživanje na vrsti *Miconia prasina* pokazalo je da fitofagni insekti pokazuju preferenciju ka manjim listovima (Santos i sar., 2011). Ovi rezultati nisu u skladu sa osnovnim pretpostavkama PVH hipoteze, prema kojoj biljke koje su veće, sa krupnijim listovima i brže rastu predstavljaju kvalitetniji izvor hrane (Price, 1991). Iako su meta-analizom Cornelissen i saradnici (2008) utvrdili pozitivan odnos između herbivorije i vitalnosti biljaka, autori su skrenuli pažnju da jačina korelacije između pomenutih osobina zavisi i od načina ishrane herbivora. Kod endofagnih herbivora čije razviće direktno zavisi od fenologije biljke, kao što je to slučaj sa npr. herbivorima koji formiraju mine i gale, prisutna je snažna preferencija prema biljkama koje su krupnije, dok je kod fitofagnih insekata koji se hrane lisnom pločom ova preferencija slabije izražena.

Ovim istraživanjem je pokazano da su kod *M. perennis* „listovi sunca“ pretrpeli veća oštećenja aktivnošću herbivora uprkos nižim sadržajima vode i solubilnih proteina. Barber i Marquis (2011) su takođe pokazali da su listovi *Quercus alba* sa staništa izloženog punoj dnevnoj svetlosti bili više oštećeni iako su posedovali manji procenat vode i azota. Regresiona analiza je pokazala postojanje negativnog odnosa između stepena herbivorije i sadržaja vode u listovima *M. perennis*. Odnos je bio statistički značajan samo na staništu izloženom punoj dnevnoj svetlosti gde su biljke sa nižim sadržajem vode bile više oštećene. Eksperimentalnim istraživanjima na *Larrea divaricata* i *Prosopis alpacato* je pokazano da herbivori koji se hrane lisnom pločom

pokazuju preferenciju prema listovima biljaka sa manjim sadržajem vode (Bisigato i sar., 2015). Ovi nalazi su u saglasnosti sa PSH hipotezom, po kojoj biljke koje se nalaze pod delovanjem faktora stresa bivaju češće napadnute od strane herbivora (White, 1961). Meyer i sar. (2006) su pokazali da biljke izložene vodnom deficitu poseduju veće koncentracije osmolita, šećera i amino kiselina, te stoga predstavljaju kvalitetniji izvor hrane i očekuje da su privlačniji izvor hrane herbivorima.

Prema PSH bilo bi očekivano da listovi tipične skiofite *M. perennis* na staništu izloženom punoj dnevnoj svetlosti poseduju veću nutritivnu vrednost i viši stepen oštećenja. U vezi sa navedenom hipotezom, naši rezultati su pokazali da su „listovi sunca“ bili više oštećeni. Međutim, regresiona analiza je pokazala da unutar staništa izloženog punoj dnevnoj svetlosti sadržaj solubilnih proteina nije uticao na stepen herbivorije. Odsustvo povezanosti između sadržaja solubilnih proteina i stepena herbivorije na staništu izloženom punoj dnevnoj svetlosti je u saglasnosti sa rezultatima meta-analize Huberty i Denno-a (2004) koji su pokazali da stresom indukovane promene u sadržaju azota u listovima ne utiču značajno na preferenciju insekata koji se hrane lisnom pločom. Statistički značajan odnos između TSPC i LAR zabeležen je samo na staništu pod vegetacijskom senkom, gde su biljke sa manjim sadržajem proteina bile više oštećene. Postojanje negativnog odnosa između stepena herbivorije i TSPC može biti objašnjeno kompenzatornom ishranom herbivora. Naime, postoji mogućnost da herbivori konzumiraju veću količinu biljnog tkiva nižeg nutritivnog kvaliteta kako bi zadovoljili svoje energetske potrebe (Cornelisen i Stiling 2005; Lusk i sar. 2010; Stoepler i Rehill, 2012). Ipak, trebalo bi napomenuti da je u ovom istraživanju mali procenat ukupne varijabilnosti u stepenu herbivorije kod *M. perennis* bilo moguće objasniti varijabilnošću u sadržaju solubilnih proteina.

Stepen herbivorije kod *M. perennis* bio je negativno povezan sa vrednostima SLA na oba staništa, što takođe može biti objašnjeno fenomenom kompenzatorne ishrane. Iako je češće zabeleženo da su listovi koji su tanji više oštećeni, u manjem broju istraživanja zabeleženo je da su čvršći listovi, sa manjim vrednostima SLA pod većim pritiskom herbivora (Lusk i sar., 2010; Bisigato i sar., 2015). Lusk i saradnici (2010) su istakli da se ishranom listovima sa višim vrednostima SLA, ostvaruje manja energetska dobit u odnosu na uloženu tokom konzumacije.

Još od objavljivanja pionirskih radova Feeney-a (1976) se smatralo da

ugljovodonični sekundarni metaboliti, kao što su fenoli i kondenzovani tanini, imaju značajnu ulogu u odbrani biljaka od širokog spektra herbivora (Carmona i sar., 2011). Shodno navedenom, bilo bi očekivano da povećani sadržaj kondenzovanih tanina kod biljaka na staništu izloženom punoj dnevnoj svetlosti bude negativno povezan sa stepenom herbivorije. Najpre se smatralo da fenolna jedinjenja u velikim količinama sintetišu uglavnom drvenaste vrste (Feeny, 1976), dok zeljaste vrste proizvode uglavnom male količine toksičnih supstanci. Međutim, novija istraživanja su pokazala da postoje i zeljaste vrste sa relativno visokim koncentracijama fenolnih jedinjenja (Barbehenn i Constabel, 2011). Ovom studijom je pokazano da, iako se u listovima *M. perennis* nalazi relativno visoka količina fenola i tanina, ova jedinjenja nisu značajno uticala na stepen oštećenja listova. Navedeni rezultat je u skladu sa nalazima Magalhães i sar. (2012), Moctezuma i sar. (2014) i Bisigato i sar. (2015) koji takođe nisu utvrdili postojanje značajne korelacije između stepena herbivorije i sadržaja ukupnih fenola. U brojnim studijama na raznovrsnim model sistemima, dobijeni su oprečni rezultati o povezanosti sadržaja ukupnih fenola, a naročito kondenzovanih tanina, sa stepenom oštećenja (Muth i sar., 2009; Ballhorn i sar., 2011). Čak je zabeleženo da su kod nekih model sistema listovi sa većim sadržajem fenola (Mooney i Niesenbaum, 2012) i tanina (Barbehenn i Constabel 2011) bili više oštećeni.

Skorašnjim istraživanjima o ulogama fenola i tanina u odbrani od herbivora pokazano je da mehanizam delovanja pomenutih sekundarnih metabolita, naročito tanina, ne uključuje striktno precipitaciju proteina i smanjenje nutritivne vrednosti hrane u crevnom traktu herbivora, kao što se ranije smatralo (Barbehenn i Constabel 2011). Naime, uspešna reakcija precipitacije zahteva niske vrednosti pH, dok digestivni trakt insekata predstavlja izuzetno baznu sredinu sa pH vrednostima višim od 9. Takođe, unutrašnja površina sistema za varenje fitofagnih insekata obložena je surfaktantima koji ih štite od negativnog uticaja tanina. Iz navedenih razloga, osporeno je mišljenje da se anti-herbivorna aktivnost kondenzovanih tanina zasniva isključivo na PPK i predložen je alternativni mehanizam delovanja. Naime, u baznim uslovima tanini podležu reakcijama oksidacije, kada nastaju produkti koji mogu imati snažno pro-oksidativno i citotoksično dejstvo (Salminen i Karonen, 2011). Barbehenn i Constabel (2011) su skrenuli pažnju na činjenicu da je stepen oksidacije tanina proučavan na svega nekoliko vrsta fitofagnih insekata, a rezultati su zavisili od relativnog udela različitih

grupa tanina u biljnom tkivu kojim su se hranili herbivori. Autori su istakli da bi studije povezanosti između stepena herbivorije i sadržaja fenolnih jedinjenja trebalo da budu više usmerene ka identifikovanju konkretnih grupa fenola i njihovu relativnu zastupljenost u listovima biljaka.

Meta-analizom Moles-a i sar. (2011) pokazano je da samo prisustvo pomenutih sekundarnih metabolita ne mora obavezno ukazivati na njihovu anti-herbivornu aktivnost, niti SM nužno moraju biti adekvatni prediktori stepena oštećenja listova. Navedene činjenice ističu potrebu za reevaluacijom uloge fenola i tanina u zaštiti biljaka od herbivora (Carmona i sar., 2011). Rezultati našeg istraživanja na višegodišnjoj zeljastoj vrsti govore u prilog ovoj pretpostavci, s obzirom da nismo utvrdili negativan uticaj sadržaja TPhC i TCT na stepen herbivorije. Postoji mogućnost da kod šumskog prosinca ulogu u odbrani od herbivora ima alkaloid hermidin, koji je prisutan u nadzemnim delovima *M. perennis* (Lorenz i sar., 2010). Iako njegova funkcija nije dovoljno istražena, predpostavlja se da bi hermidin mogao imati anti-herbivornu aktivnost (Sanches-Vilas i Pannell, 2011). Osim anti-herbivorne aktivnosti, fenoli i tanini mogu učestvovati i u zaštiti biljaka od foto-oštećenja prilikom izlaganja većem intenzitetu svetlosti (Close i McArthur, 2002). U procesu fotosinteze biljke iskoriste najveći deo apsorbovane svetlosti, dok se višak energije neutralizuje aktivnošću ksantofila. Međutim, smatra se da nakon pomenute neutralizacije ipak preostaje između 2 i 8% viška energije koji može da dovede do produkcije reaktivnih kiseoničnih jedinjenja čija aktivnost dovodi do oksidativnog stresa i foto-oštećenja. Close i McArthur (2002) su predložili hipotezu po kojoj fenolna jedinjenja svojom antioksidativnom aktivnošću mogu da smanje negativan uticaj visokog intenziteta svetlosti, što je istraživanje na žbunastoj vrsti prizemnog sprata šumskih ekosistema *Lindera benzoin* i potvrdilo (Mooney i Niesenbaum, 2012). Međutim, u našem istraživanju nije zabeležen značajno veći sadržaj fenolnih jedinjenja u „listovima sunca“, čime hipoteza o foto-protektivnoj ulozi fenola kod *M. perennis* nije potvrđena.

Rezultati ovog istraživanja pokazali su da je na stepen herbivorije najviše uticala specifična lisna površina biljaka i to na oba staništa, dok je nutritivna vrednost listova uticala u manjoj meri. Za razliku od pomenutih osobina sadržaji sekundarnih metabolita nisu imali značajnog efekta na stepen herbivorije. Ovi rezultati se slažu sa rezultatima studije Guerra i saradnika (2010) koji ukazuju da na stepen herbivorije kod *Aristotelia*

chilensis izloženih različitom svetlosnom intenzitetu, najviše utiču debljina i tvrdoća listova. Kao što je skorašnjom meta-analizom pokazano (Carmona i sar., 2011), postoji mogućnost da fizičke osobine i morfološke karakteristike biljaka u većoj meri posreduju u interakcijama biljaka sa herbivorima, nego što je to slučaj sa sekundarnim metabolitima. Rezultati našeg istraživanja su u skladu sa rezultatima Hakes i Cronin-a (2011) da sadržaji sekundarnih metabolita ne utiču u velikoj meri na rizik za napad od herbivora.

Polno-specifične razlike u stepenu herbivorije i analiziranim osobinama biljaka u odnosu na svetlosne uslove na staništu

Smatra se da polno-specifična herbivorija predstavlja jedan od selektivnih faktora koji je doveo do evolucije dvodomosti kod cvetnica (Ashman, 2002). Postojanje razlika između polova u stepenu herbivorije intenzivno je istraživano, međutim rezultati ovih studija su bili različiti i često suprotni.

U ovom istraživanju, razlike u stepenu herbivorije među polovima *M. perennis* na staništima sa različitim svetlosnim uslovima pronađene su u 2016. godini na staništu izloženom punoj dnevnoj svetlosti, gde su muške biljke bile više oštećene. Veći stepen herbivorije kod muških biljaka zabeležen je i u studiji na vrsti iz istog roda, *Mercurialis annua* (Barrett i Hough, 2013), što je bilo objašnjeno prisustvom nižeg sadržaja defanzivnih SM kod muškog pola. Međutim, iako se smatralo da je muški pol najčešće pod većim pritiskom herbivora (Cornelissen i Stilling, 2005a), neka od istraživanja su pokazala da razlike između polova u stepenu oštećenja ne postoje (Espírito-Santo i sar. 2012; Buckley i Avila-Sakar, 2013).

Jedno od objašnjenja prisustva većeg stepena oštećenja kod muških biljaka zasniva se na pretpostavkama PVH hipoteze na osnovu koje krupnije, vitalnije muške biljke predstavljaju uočljiviji izvor hrane herbivorima (Cornelissen i Stilling, 2005a). Međutim, kod *M. perennis* generalno nisu zabeležene razlike među polovima u veličini biljaka na staništima sa kontrastnim svetlosnim uslovima u obe godine istraživanja. Takođe povezanost između visine biljaka i ukupne površine listova sa jedne strane i stepena herbivorije sa druge strane je bila slabo izražena. Dakle, naša istraživanja nisu potvrdila hipotezu Cornelissen i Stilling-a (2005a) o uticaju razlika među polovima u

veličini na stepen herbivorije.

Smatra se da razlike između polova u veličini biljaka, nutritivnim vrednostima listova i nivoima odbrane predstavljaju posledice različitih obrazaca alokacije resursa (Fairbairn i sar., 2007). Ukoliko ženske biljke više ulažu u reprodukciju, usled postojanja uzajamnih ograničenja između stope rasta i reprodukcije, posedovaće manju biomasu, manje izdanke i listove u poređenju sa muškim biljkama, što će usloviti nastanak polnog dimorfizma u veličini (*engl.* sexual size dimorphism – SSD) (Barrett i Hough, 2013). Ovim istraživanjem utvrđeno je da ženske biljke *M. perennis* ulažu više u produkciju cvetova i plodova (Selaković i sar., 2017). Ranijim istraživanjima zabeležen je SSD u populacijama *M. perennis* na nižim nadmorskim visinama gde su muške biljke bile više (Cvetković i Jovanović, 2007; Jovanović, 2012; Vujić i sar., 2016). Međutim, veličina razlika između polova u visini izdanaka je pokazivala tendenciju smanjivanja sa povećanjem nadmorske visine (Cvetković i Jovanović, 2007). Naše istraživanje potvrdilo je ovaj nalaz, s obzirom da na gornjoj visinskoj granici rasprostranjenja vrste *M. perennis*, gde je sprovedeno ovo ispitivanje, razlike u visini biljaka nisu zabeležene u obe godine istraživanja. Skorašnjim istraživanjima na *Populus tremula* je takođe utvrđeno da razlike između polova u visini opadaju sa porastom nadmorske visine (Strømme i sar., 2018). Tokom prve godine istraživanja nisu zabeležene značajne razlike među polovima u ukupnoj površini listova, dok su u 2016. godini ženske biljke posedovale statistički značajno veće vrednosti TLA na staništu pod vegetacijskom senkom. Iako se smatra da razlike u reproduktivnom ulaganju obično dovode do pojave SSD u populacijama dvodomih vrsta, ovakav obrazac razlika između polova nije uvek prisutan (Juvany i Munné-Bosch, 2015). U uslovima povećanog stresa na staništima sa velikom nadmorskom visinom, gde je kraća vegetacijska sezona i niža srednja godišnja temperatura, razlike među polovima u veličini biljaka kod *M. perennis* nisu bile izražene. Pretpostavlja se da pod delovanjem sredinskog stresa evolucija teče u pravcu smanjivanja interseksualnih razlika u alokaciji resursa u vegetativne strukture, što je i potvrđeno radovima Sakai i sar. (2006) i Labouche i Pannell (2016), koji su proučavali promene u obrascima SSD u odnosu na svetlosne uslove na staništu i duž gradijenata nadmorske visine.

Međutim, istraživanjima na *M. perennis* tokom 2016. godine je pokazano da su ženske biljke na staništu pod vegetacijskom senkom imale značajno veću ukupnu

površinu listova, dok su na oba staništa listovi ženskih biljaka bili širi, sa većom lisnom površinom i dužim centralnim nervom. Ovaj rezultat je u saglasnosti sa nalazima na *Spondias purpurea*, vrste kod koje je takođe utvrđeno da ženski pol, koji ima veću reproduktivnu alokaciju, ulaže više u biomasu (Maldonado-López i sar., 2014).

Razlike između polova u reproduktivnoj alokaciji mogu uticati na pojavu ne samo razlika u veličini već i razlika u nutritivnim i defanzivnim osobinama listova. Smatra se da pol koji poseduje manju biomasu i niže stope rasta poseduje više nivoe biohemijske odbrane od herbivora i/ili tkiva niže nutritivne vrednosti (Cornelissen i Stilling, 2005a). Pokazano je da listovi ženskih biljaka kod vrste alpske vrbe *Salix glauca*, naročito u stresnim uslovima spoljašnje sredine, imaju manji sadržaj vode (Dudley i Galen, 2007). Suprotno navedenom, kod ženskih biljaka *Spondias purpurea* zabeležen je veći sadržaj vode i istovremeno veći stepen oštećenja izazvanog aktivnošću herbivora (Maldonado-López i sar., 2014). U našem istraživanju, sadržaj vode nije se razlikovao između polova ni na jednom od posmatranih staništa. Do sličnih rezultata su došli i Oñate i saradnici (2011), koji su pokazali da muške i ženske biljke vrste *Urtica dioica* imaju približno isti sadržaj vode, kako u uslovima stresa, tako i pod optimalnim uslovima sredine.

Polovi se takođe razlikuju i po tipu jedinjenja koja se ulažu u reprodukciju. Kod anemofilnih dvodomih vrsta, produkcija velike količine polena kod muških biljaka zahteva značajno ulaganje azota u reproduktivne strukture, dok ženske biljke alociraju više ugljovodoničnih metabolita u formiranje semena i plodova (Juvany i Munné-Bosch, 2015). Sadržaj azota u listovima usko je povezan sa sadržajem ukupnih hidrosolubilnih proteina, koji može doprineti povećanom riziku za napad herbivora (Ballhorn i sar., 2011). Kod *M. perennis* sadržaj ukupnih solubilnih proteina se razlikovao između polova, pri čemu su ženske biljke posedovale više vrednosti osobine. Sličan rezultat zabeležen je i kod *Salix repens* (Ruuhola i sar., 2013) i *Rhamnus alpinus* (Bañuelos i Obeso, 2004). Ovakav obrazac razlika između polova u TSPC je moguće objasniti vremenskom dinamikom ulaganja u reprodukciju (Wright i Dorken, 2014). Naime, produkcija polena kod muških biljaka se završava pre nego što ženske biljke otpočnu formiranje semena i plodova (Harris i Pannell, 2008), te je tokom tog vremena azot iz listova preusmeren u reproduktivne strukture muških biljaka. Nakon završetka oprašivanja, ženske biljke nastavljaju da ulažu resurse u formiranje plodova (Sanchez-Vilas i Panell, 2011). Biljke *M. perennis* su uzorkovane na staništima sa kontrastnim

svetlosnim uslovima tokom reproduktivne faze, kada je disperzija polena bila okončana a kod ženskih biljaka otpočelo je formiranje plodova. Shodno pretpostavkama o uticaju vremenske dinamike ulaganja u reprodukciju, muške biljke *M. perennis* u trenutku uzorkovanja posedovale su manje sadržaje proteina, što je u saglasnosti sa prethodnim nalazima na vrsti iz istog roda *M. annua* (Harris i Pannell, 2008; Sanchez-Vilas i Panell, 2011).

Dobijene razlike među polovima u stepenu herbivorije na staništu izloženom punoj dnevnoj svetlosti u 2016. godini, mogu biti objašnjene razlikama u nivoima odbrane kod muških i ženskih biljaka. Naime, smatra se da onaj pol koji više ulaže u reprodukciju, usled uzajamnih ograničenja, više ulaže u odbranu (Obeso, 2002). Iako u slučaju *M. perennis* nismo pronašli razlike između polova u specifičnoj lisnoj površini, odnosno tvrdoći listova, zabeležene su razlike u sadržajima ukupnih fenola i kondenzovanih tanina.

Rezultati istraživanja na drvenastoj vrsti *Acer negundo* su pokazali da postoje razlike između polova u vrednostima SLA, pri čemu su muške biljke, čiji su listovi bili tanji, više oštećene (Jing i Coley, 1990). Međutim, zabeleženi su slučajevi da ženske biljke imaju tanje listove sa višim vrednostima SLA, npr. kod žbunaste vrste *Hippophae rhamnoides* (Li i sar., 2007). Naši rezultati su u skladu sa rezultatima na višegodišnjoj zeljastoj vrsti *Honckenya peploides* (Sanchez-Vilas i Retuerto, 2009) i na dvodomim drvensatim vrstama *Juniperus communis* i *Taxus baccata* (Novak-Dyjeta i sar., 2017) kod kojih nisu pronađene razlike među polovima u vrednostima SLA. Iako se polovi *M. perennis* nisu razlikovali u nivoima fizičke rezistencije, zabeleženo je da su ženske biljke generalno posedovale veći sadržaj ukupnih fenola i kondenzovanih tanina. Sličan obrazac variranja sadržaja defanzivnih sekundarnih metabolita između polova zabeležen je kod nekoliko vrsta palmi (Cepeda-Cornejo i Dirzo, 2010), kao i kod drvenastih vrsta *Pistacia chinensis* (Zhang i sar., 2016) i *Populus tremula* (Strømme i sar., 2018). Ovaj rezultat je u skladu sa pretpostavkom da pol koji više ulaže u reprodukciju, usled smanjenih stopa rasta, više ulaže u odbranu (Barrett i Hough, 2013).

5.2. Uticaj ontogenetskog stadijuma

Uticaj ontogenetskog stadijuma na stepen herbivorije i analizirane osobine biljaka

Tokom životnog ciklusa biljke su u različitim ontogenetskim stadijumima izložene različitim nivoima rizika za napad herbivora (Wiggins i sar., 2016). U nekim slučajevima stepen herbivorije može da bude viši tokom ranijih ontogenetskih stadijuma, usled smanjene fizičke rezistencije i veće nutritivne vrednosti listova (Oliveira i sar., 2012; Fei i sar., 2017). Međutim, kod nekih model sistema stepen herbivorije može da bude viši tokom kasnijih ontogenetskih stadijuma, kada su biljke krupnije, uočljivije herbivorima i kada poseduju niže nivoe hemijske odbrane (Santos i Fernandes, 2010; Moreira i sar., 2017). Tokom vremena menjaju se obrasci alokacije resursa u osnovne životne funkcije, zbog čega se u različitim fazama razvića biljaka nutritivna vrednost tkiva i nivoi odbrane menjaju (Boege i Marquis, 2005). Tokom proučavanja dinamike ontogenetskih promena u nivoima odbrane biljaka opisana su dva opšta, međusobno suprotna obrasca (Barton i Koricheva, 2010). Odbrambeni kapaciteti biljaka tokom razvića mogu da rastu, što je u skladu sa pretpostavkama hipoteze rasta i diferencijacije (Hoque i Avila-Sakar, 2015), ili da opadaju, kao što predviđa hipoteza optimalne odbrane (Godschalx i sar., 2016; Ishizaki i sar., 2016). U nekim od studija pokazano je da se kod istog model sistema ontogenetske promene u vrednostima pojedinih osobina menjaju u skladu sa pretpostavkama GDBH hipoteze, dok se vrednosti ostalih defanzivnih karakteristika menjaju prema premisama ODH hipoteze (Heath i sar., 2014; Ochoa-López i sar., 2015).

Kako bi istražili ontogenetske promene u veličini biljaka, nutritivnim i defanzivnim osobinama listova kod *M. perennis* upoređivane su vrednosti navedenih karakteristika između reproduktivne i post-reproduktivne faze. Biljke *M. perennis* u post-reproduktivnoj fazi bile su više oštećene, a njihovi listovi su imali nižu nutritivnu vrednost (manji sadržaj LWC, TSPC, TNCC) i manji sadržaj defanzivnih SM (TPhC i TCT). Takođe, biljke između ispitivanih ontogenetskih stadijuma se nisu međusobno razlikovale u veličini (H, TLA) niti u vrednostima (SLA), što je u skladu sa prethodnim navodima da kod *M. perennis* nakon potpunog zatvaranja vegetacijskog sklopa ne dolazi do formiranja novih listova i da se stope rasta smanjuju (Jefferson, 2008). Iako bi

bilo očekivano da se vrednosti SLA menjaju tokom sezone, jer listovi tokom vremena postaju čvršći (Lusk i sar., 2010), u našem istraživanju vremenski razmak između dva uzorkovanja bio je previše kratak da bi se registrovala značajna promena u specifičnoj lisnoj površini. Zaključeno je da su više vrednosti LAR kod biljaka u post-reproduktivnoj fazi rezultat kumulativnog oštećenja.

Sa druge strane, kod *M. perennis* listovi biljaka u post-reproduktivnoj fazi su posedovali značajno manje ukupnih nestrukturnih ugljenih hidrata i solubilnih proteina zbog čega su bili lošiji izvor hrane. Smanjenje sadržaja TNCC i TSPC nakon reprodukcije obično je posledica alokacije ugljenika i azota iz listova u semena i plodove (Schulz i sar., 2013). Do sličnog rezultata došli su i Fei i sar. (2017) koji su pokazali da kod zeljaste vrste *Sinapis arvensis* biljke koje se nalaze u reproduktivnoj fazi poseduju listove čiji su sadržaji šećera i amino kiselina viši u odnosu na listove biljaka u post-reproduktivnoj fazi. Kod višegodišnjih biljaka transport metabolita iz listova u druge organe se odvija pri kraju vegetacijske sezone (Orians i sar., 2011). Međutim, uzorkovanje biljaka *M. perennis* koje su korišćene u ovom istraživanju obavljeno je krajem maja i početkom juna, tako da zabeleženo smanjenje sadržaja TNCC i TSPC verovatno nije posledica fenoloških procesa. Smatra se da napadi herbivora takođe mogu da utiču na obrasce alokacije resursa iz listova u druge organe. Naime, u uslovima povećanog pritiska od strane herbivora, produkti fotosinteze se transportuju iz listova u druge organe (Orians i sar., 2011), što može biti deo defanzivne strategije biljaka, s obzirom na to da se smanjenjem nutritivne vrednosti listova može smanjiti verovatnoća napada herbivora (Schultz i sar., 2013).

Naši rezultati nisu u skladu sa modelom Boege i Marquis (2005) prema kome su kod višegodišnjih vrsta, prisutni visoki nivoi odbrane nakon završetka reprodukcije. Kod *M. perennis* sadržaj defanzivnih sekundarnih metabolita (ukupnih fenola i kondenzovanih tanina) bio je niži u listovima biljaka u post-reproduktivnoj fazi, što je u skladu sa pretpostavkama modela Boege i Marquis (2005) koji se odnosi na jednogodišnje vrste. Skorijom meta-analizom pokazano je da kod zeljastih vrsta zaista postoji opšta tendencija smanjivanja nivoa odbrane tokom adultnog stadijuma razvića (Barton i Koricheva, 2010). Rezultati našeg istraživanja su u saglasnosti sa zaključkom do kog je došao Massad (2013), da su zeljaste vrste biljaka u fazi cvetanja i plodonošenja bolje zaštićene od herbivora u odnosu na kasnije faze u razviću. U

studijama na drugim životnim formama (Lawrence i sar., 2003; Boege, 2005; Goodger i sar., 2013; Karolewski i sar., 2013; Zhang i sar., 2016) zabeleženo je da se obrasci ulaganja u sintezu odbrambenih jedinjenja menjaju u toku ontogenije u skladu sa pretpostavkama hipoteze optimalne odbrane, što naši nalazi podržavaju. Smatra se da oštećenje listova tokom ranijih ontogenetskih stadijuma značajno utiče na smanjenje fitnesa biljaka, pa bi bilo očekivano da nivoi odbrane budu viši tokom mlađih ontogenetskih stadijuma. Skorašnjom meta-analizom potvrđeno je da se nivo defanzivnih jedinjenja u listovima smanjuje tokom starenja (McCall i Fordyce, 2010), naročito kada su u pitanju sadržaj ukupnih fenola i kondenzovanih tanina (Brunt i sar., 2006; Boege i Marquis, 2006; Bixenmann i sar., 2013).

Uticao veličine biljaka, nutritivnih i defanzivnih osobina listova na stepen herbivorije u različitim ontogenetskim stadijumima

U našem istraživanju, različite osobine biljaka su uticale na stepen herbivorije u različitim ontogenetskim stadijumima. U reproduktivnom stadijumu nivo oštećenja je značajno bio povezan samo sa sadržajem ukupnih nestrukturnih ugljenih hidrata, dok su u post-reproduktivnoj fazi na LAR uticale osobine veličine biljaka i sadržaj kondenzovanih tanina.

Listovi biljaka *M. perennis* u reproduktivnoj fazi sa nižim sadržajem ukupnih nestrukturnih ugljenih hidrata bili su više oštećeni. Kao što je već navedeno, ovakav obrazac korelacija između stepena herbivorije i nutritivne vrednosti listova može biti objašnjen kompenzatornim konzumiranjem veće količine tkiva lošijeg kvaliteta (Cornelisen i Stiling, 2005; Lusk i sar., 2010). Osim sadržaja ugljenih hidrata, smatra se da sadržaj azota i vode u listovima takođe može da utiče na stepen herbivorije (White, 2008; Agrawal i Weber, 2015). Međutim, kod *M. perennis* sadržaj vode i ukupnih solubilnih proteina nisu bili povezani sa stepenom herbivorije. Odsustvo efekta LWC i TSPC na stepen oštećenja listova ukazuje na činjenicu da herbivori ne konzumiraju veliku količinu tkiva sa višim sadržajem proteina, već prilagođavaju svoju ishranu putem izbalansiranog unosa ugljenih hidrata i azota (Raubenheimer i sar., 2009).

U našem istraživanju sadržaj sekundarnih metabolita u listovima *M. perennis* uglavnom nije uticao na stepen oštećenja. Međutim, u post-reproduktivnoj fazi sadržaj

kondenzovanih tanina u listovima *M. perennis* bio je negativno povezan sa stepenom oštećenja listova. Postojanje negativnih korelacija između stepena herbivorije i sadržaja kondenzovanih tanina zabeležene su kod mnogih vrsta (Salminen i Karonen, 2011). Iako su kod *M. perennis* tokom reproduktivne faze vrednosti TCT bile više u odnosu na post-reproduktivnu, nije utvrđeno postojanje povezanosti između TCT i stepena herbivorije. Jedno od objašnjenja opisanih obrazaca povezanosti TCT i stepena herbivorije tokom dva ispitivana ontogenetska stadijuma može biti vezano za sastav zajednica herbivora. Postoji mogućnost da su ranije tokom sezone na staništu više prisutni herbivori specijalisti na koje sadržaj kondenzovanih tanina ima slab efekat, dok se kasnije sastav zajednice menja tako da su na starijim biljkama brojniji herbivori generalisti (Ochoa-López et al., 2015) na koje TCT može imati veći uticaj. Međutim, Joern i saradnici (2012) su pokazali da je uočeni sastav zajednica herbivora u većoj meri povezan sa biomasom biljaka nego sa njihovim nutritivnim i defanzivnim osobinama.

Kod *M. perennis* u post-reproduktivnoj fazi zabeležen je pozitivan odnos između veličine biljaka (visine i ukupne površine listova) i stepena herbivorije, što je u saglasnosti sa pretpostavkama PVH hipoteze (Price, 1991) i rezultatima dobijenim na drugim model sistemima (Santos et al., 2010; Santos and Fernandes, 2013; Espírito-Santo et al., 2012). Međutim, u našem istraživanju nije utvrđeno postojanje značajnog odnosa između stepena herbivorije i veličine biljaka u reproduktivnoj fazi. Kod *Anacardium occidentale* zabeležena je pozitivna korelacija između veličine biljaka i listova, i stepena herbivorije samo kod adultnih stadijuma u razviću, dok kod mlađih ontogenetskih faza ovaj odnos nije uočen (Santos i Fernandes, 2010). Autori su kao objašnjenje opisanog obrasca korelacija između stepena herbivorije i veličine biljaka u različitim ontogenetskim stadijumima ponudili jednu od pretpostavki PVH hipoteze. Naime, tokom ontogenije menja se i veličina biljaka, pri čemu starije i krupnije biljke vremenom postaju uočljiviji izbor hrane herbivorima. Međutim, veličina biljaka *M. perennis* se nije razlikovala između reproduktivne i post-reproduktivne faze, tako da navedeno objašnjenje nije moguće primeniti na *M. perennis*. Postoji mogućnost da tokom trajanja reproduktivne faze, na interakcije sa herbivorima utiču osobine nutritivnog kvaliteta listova (ukupnim sadržajem nestrukturnih ugljenih hidrata), dok tokom post-reproduktivne faze na interakciju herbivora utiče veličina biljaka.

Polno-specifične razlike u stepenu herbivorije i analiziranim osobinama biljaka u zavisnosti od ontogenetskog stadijuma

Obrasci polnog dimorfizma u stepenu herbivorije i ispitivanim osobinama biljaka i listova razlikovali se se između biljaka u reproduktivnoj i post-reproduktivnoj fazi. U reproduktivnoj fazi nutritivni kvalitet listova (TSPC) i sadržaj defanzivnih jedinjenja (TPhC) značajno su se razlikovali između polova, dok interseksualne razlike u stepenu oštećenja nisu uočene. Nasuprot tome, u post-reproduktivnoj fazi polovi su se nalazili pod različitim pritiscima herbivora pri čemu je ukupna površina listova bila jedina osobina u kojoj je bio prisutan polni dimorfizam.

Kao što je već istaknuto, češće su zabeleženi slučajevi u kojima su muške biljke bile više oštećene aktivnošću herbivora (Cornelissen i Stiling, 2005a), međutim, iako ređe, kod nekih model sistema ženske biljke su zbog veće nutritivne vrednosti i/ili nižih defanzivnih nivoa bile pod višim pritiskom herbivora (Peterson i sar., 2009; Kabir i sar., 2014; Maldonado-López i sar., 2014). Listovi ženskih biljaka *M. perennis* u post-reproduktivnom stadijumu su bili više oštećeni, međutim u ovoj fazi nisu zabeležene razlike među polovima u nutritivnim i defanzivnim osobinama listova. Postoji mogućnost da je koncentracija nekih drugih defanzivnih SM, koji nisu bili ispitivani u ovom istraživanju (npr. alkaloida), bila niža u listovima ženskih biljaka, što je moglo da utiče na povećan stepen herbivorije kod ženskog pola. Iako se smatra da je, usled postojanja uzajamnih ograničenja, ženski pol obično bolje zaštićen od napada herbivora, jer poseduje veće sadržaje defanzivnih jedinjenja, u nekim od istraživanja zabeleženo je i suprotno. Tako su npr. Bañuelos i sar. (2004) pokazali da je sadržaj antrakinona kao defanzivnog SM u listovima muških biljaka *Rhamnus alpinus* bio značajno viši.

Smatra se da, kod dvodomih vrsta biljaka, pol koji više resursa ulaže u proces reprodukcije ima smanjenu stopu rasta, odnosno manju biomasu (Obeso, 2002). Kod *M. perennis* je u post-reproduktivnoj fazi utvrđeno prisustvo polnog dimorfizma u ukupnoj površini listova kada su ženske biljke posedovale manji TLA, međutim u reproduktivnoj fazi ove razlike nisu zabeležene. Postoji mogućnost da kod ženskih biljaka dolazi do redukcije stope rasta usled nižeg sadržaja proteina, odnosno nižeg fotosintetskog kapaciteta, tokom ranijih ontogenetskih stadijuma (Obeso, 2002; Obeso i Retuerto, 2002). Navedeni faktori bi mogli da rezultuju manjom ukupnom površinom listova kod

ženskih biljaka u post-reproduktivnoj fazi, što je i zabeleženo kod *M. perennis*. Višegodišnja istraživanja na vrsti *Rumex hastatulus* su takođe pokazala da se obrasci polnog dimorfizma u osobinama veličine biljaka takođe mogu menjati tokom vremena (Teitel i sar., 2016). Autori su promene u razlikama između polova u visini povezali sa vremenskom dinamikom ulaganja u reprodukciju i biomasu (Pickup i Barrett, 2012). Sveobuhvatnija skorašnja istraživanja na ovom model sistemu su pokazala da se promene u obrascima SSD tokom razvića manifestuju ne samo u visini, već i u ukupnoj biomasi biljaka. Naime, tokom reprodukcije resursi su usmereni u produkciju polena, semena i plodova, dok se manje energije i metabolita alocira u vegetativni rast. Kod vrsta koje se oprašuju vetrom, cvetanje muških biljaka se odvija ranije u toku sezone. Tokom cvetanja alokacija resursa u nadzemni vegetativni rast je smanjena, tako da tokom pojavljivanja prvih cvetova nisu uočljive razlike između polova u nadzemnoj biomasi. Međutim, kasnije u toku sezone ženske biljke nastavljaju da ulažu resurse u formiranje semena i plodova, pri čemu se manje alocira u rast vegetativnih organa. Opisanim razlikama u dinamici ulaganja u reprodukciju moguće je objasniti i zabeležene promene u obrascima polnog dimorfizma u veličini kod *M. perennis*. Ženske biljke usled dugotrajnijeg i većeg ulaganja u reprodukciju verovatno imaju smanjenu stopu rasta tokom reproduktivne faze, što bi dovelo do manifestovanja razlika između polova u TLA tek kasnije u toku sezone.

U ovom istraživanju nije ustanovljeno postojanje statistički značajnih razlika među polovima u sadržaju ukupnih nestrukturnih ugljenih hidrata ni u jednom od ispitivanih ontogenetskih stadijuma. S obzirom da biljke tokom reprodukcije ulažu veću količinu ugljovodoničnih jedinjenja u formiranje semena i plodova, bilo bi očekivano da će alokacija pomenutih metabolita iz listova u reproduktivne strukture dovesti do pojave polnog dimorfizma u sadržaju TNCC. Međutim, opisani obrazac nije zabeležen kod *M. perennis*. Slični rezultati su zabeleženi na drugim model sistemima (DeSoto i sar., 2016; Novak-Dyjeta i sar., 2017). Ovi autori su nepostojanje razlika između polova u TNCC objasnili višim stopama razmene gasova i fotosinteze kod ženskih biljaka kojim ovaj pol nadomešćuje veće potrebe za ugljovodoničnim jedinjenjima.

Pokazano da ženske biljke *M. perennis* više ulažu u formiranje reproduktivnih struktura i da poseduju veći sadržaj ukupnih fenola kao defanzivnih jedinjenja u reproduktivnoj fazi. Sličan obrazac razlika između polova u TPhC opisan je i kod

drugih dvodomih vrsta (Cepeda-Cornejo i Dirzo, 2010; Zhang i sar., 2016). Međutim, polni dimorfizam u sadržaju kondenzovanih tanina nije zabeležen ni u jednom od ispitivanih ontogenetskih stadijuma kod *M. perennis*, što je u skladu sa rezultatima dobijenim istraživanjima na *Populus tremula* (Robinson i sar., 2014).

Listovi muških biljaka *M. perennis* u reproduktivnoj fazi imali su veći sadržaj ukupnih solubilnih proteina u odnosu na ženske biljke, dok je kod druge vrste istog roda, *M. annua*, dobijen obrnut obrazac razlika (Sanchez-Vilas i Panell, 2011). Postoji mogućnost da je azot iz listova ženskih biljaka *M. perennis* u trenutku uzorkovanja bio alociran u formiranje plodova. Istraživanjima na *Rhamnus alpines* je pokazano da listovi ženskih biljaka tokom obrazovanja plodova imaju niži sadržaj azota u listovima u odnosu na muške biljke (Bañuelos i Obeso, 2004). Slično navedenom skorašnja studija na zeljastoj, višegodišnjoj vrsti *Honckenya peploides* je pokazala da ženske biljke tokom čitave sezone, a naročito tokom trajanja reproduktivne faze, alociraju veće količine azota u reproduktivne strukture u odnosu na muške biljke (Retuerto i sar. 2017). Moguće je da se azot iz listova koristi za sintezu azotom bogatih defanzivnih jedinjenja kao što su alkaloidi koji su prisutni u nadzemnim delovima *M. perennis* (Lorenz i sar., 2010).

Međutim, u post-reproduktivnoj fazi razlike između polova u sadržaju solubilnih proteina i ukupnih fenola nisu zabeležene. Sličan rezultat dobijen je u eksperimentalnoj studiji na vrsti iz istog roda *M. annua*. Naime, kod *M. annua* uočene su razlike u sadržaju azota ranije u toku sezone, dok su tokom kasnijih faza u razviću ove razlike nestale, verovatno usled ograničenih resursa u eksperimentalnim uslovima (Sanchez-Vilas i Panell, 2011). Međutim, u slučaju *M. perennis*, biljke su sakupljane iz prirode, te odsustvo razlika između polova u sadržaju solubilnih proteina tokom post-reproduktivne faze verovatno ne predstavlja posledicu ograničenosti resursa u pomenutoj fazi. Obimna istraživanja na *Populus trichocarpa* i *Populus balsamifera* koja su uključivala 34 vegetativne osobine biljaka, su ukazala na odsustvo polnog dimorfizma u strukturama koje ne učestvuju direktno u procesu reprodukcije (McKown, i sar., 2017). Dakle, postoji mogućnost da se nakon završetka procesa reprodukcije, kada dolazi do promena u obrascima alokacije resursa, sadržaji metabolita u listovima muških i ženskih biljaka *M. perennis* izjednačavaju.

Polni dimorfizam u vegetativnim i biohemijskim karakteristikama biljaka je

intenzivno proučavan fenomen (Barett i Hough, 2013). Međutim, znatno ređe je istraživano na koji se način obrasci polnog dimorfizma mogu menjati u zavisnosti od ontogenetskog stadijuma biljaka (Teitel i sar., 2016; Retuerto i sar. (2017)). Polni dimorfizam u vegetativnim osobinama predstavlja posledicu postojanja razlika u obrascima reproduktivne alokacije (Obeso, 2002). Međutim, tokom razvića polovi alociraju različite tipove metabolita u reproduktivne strukture. Posledično, obrasci polnog dimorfizma u različitim tipovima jedinjenja se mogu menjati tokom ontogenije (Teitel i sar., 2016). Retuerto i saradnici (2017) su istakli da je prilikom proučavanja obrazaca polnog dimorfizma od izuzetne važnosti u obzir uzeti i vremensku dimenziju, odnosno ontogenetski stadijum u kom se proučavane biljke nalaze, što je naše istraživanje na šumskom prosincu i potvrdilo.

5.3. Uticaj svetlosnih uslova na staništu na fluktuirajuću asimetriju kao pokazatelj razvojne nestabilnosti

Iako je uticaj različitih faktora stresa na nivoe fluktuirajuće asimetrije, kao indikatora razvojne nestabilnosti, intenzivno proučavan, uticaj suboptimalnih uslova svetlosti na FA biljnih organa je do skoro bio slabo istražen (Miljković, 2012; Venácio i sar, 2016; Moura i sar., 2017). Pokazano je da razvojnu nestabilnost listova može da prouzrokuje kako smanjen (Puerta-Piñero i sar., 2008; Freeman i sar., 2003) tako i povećan intenzitet svetlosti (Alves-Silva i Del-Claro, 2013). Međutim, zabeleženi su i slučajevi u kojima svetlosni uslovi nisu uticali na razvojnu nestabilnost listova. Tako su npr. Sander i Mattheis (2017) studijom na zeljastoj višegodišnjoj biljci *Silene vulgaris* pokazali da eksperimentalna manipulacija intenziteta svetlosti ne dovodi do značajnih promena u vrednostima fluktuirajuće asimetrije listova.

U našem istraživanju svetlosni uslovi staništa nisu u velikoj meri uticali na nivoe fluktuirajuće asimetrije *M. perennis* što je u skladu sa zaključkom Sander-a i Mattheis-a (2017) da stresni uslovi ne moraju nužno prouzrokovati promene u nivoima fluktuirajuće asimetrije. Venácio i sar. (2016) su skrenuli pažnju na to da bi, prilikom proučavanja efekata stresa na razvojnu nestabilnost listova, trebalo imati u vidu i koja su staništa optimalna za konkretnu biljnu vrstu.

Naša osnovna hipoteza je bila da izlaganje visokom intenzitetu svetlosti dovodi do

razvojne nestabilnosti listova kod vrste *M. perennis* koja je tipična skiofita. Međutim, naši rezultati nisu potvrdili postojanje značajnog uticaja visokog intenziteta svetlosti na vrednosti FA. Osim za vrednosti FA_{PL} i kompozitnog indeksa FA_{IND} koje su se statistički značajno razlikovali između ispitivanih staništa kontrasnog svetlosnog intenziteta. Vrednosti pomenutih indeksa FA su bile više na staništu izloženom punoj dnevnoj svetlosti u odnosu na stanište sa vegetacijskom senkom. Dobijeni rezultati se podudaraju sa studijama koje pokazuju da negativan uticaj raznovrsnih sredinskih faktora ne mora nužno uticati na razvojnu nestabilnost listova biljaka (Graham i sar., 2010; Zverev i sar., 2018).

Skorašnjim istraživanjima utvrđeno je postojanje slabog efekta sredinskog stresa na FA, čak i kada su biljake izlagane snažnom stresu u eksperimentalnim uslovima (Costa i sar., 2013; Wadhwa i sar., 2017; Zverev i sar., 2018). Slab efekat stresa na FA može biti objašnjen adaptiranjem biljaka na dugoročno izlaganje određenom tipu stresa (Anne i sar., 1998). Međutim, ukoliko sredinski stres ne utiče značajno na smanjenje fitnesa biljaka, onda se njegov negativan uticaj ne mora odraziti ni na nivoe FA (Beasley i sar., 2013). Slab efekat svetlosnih uslova na vrednosti FA indeksa, može biti objašnjen i činjenicom da je razviće listova iz istog nodusa međusobno manje zavisno u odnosu na razviće leve i desne polovine istog lista (Sandner i Mattheis, 2017).

Smatra se da je prilikom proučavanja razvojne nestabilnosti adekvatnije korišćenje kompozitnih indeksa fluktuirajuće asimetrije, nego indeksa izračunatih na osnovu vrednosti pojedinačnih osobina (Dongen, 2006; Miljković, 2012). Istovremenim ispitivanjem većeg broja osobina i izračunavanjem višekomponentnih indeksa FA povećava se verovatnoća za utvrđivanje efekata stresa na razvojnu nestabilnost organa ili individue (Leung i sar., 2000). Rezultati na *M. perennis* su u skladu sa ovom tvrdnjom s obzirom na to da su svetlosni uslovi na staništu značajno uticali na vrednosti kompozitnog indeksa FA_{IND}, dok je efekat svetlosnih uslova na indekse fluktuirajuće asimetrije pojedinačnih osobina bio slabije izražen. Biljke na staništu izloženom punoj dnevnoj svetlosti posedovale su više vrednosti FA_{IND} čime je potvrđena inicijalna hipoteza o većoj razvojnoj nestabilnosti na staništu izloženom punoj dnevnoj svetlosti koje je stresno za skiofitu kao što je *Mercurialis perennis*. Slični rezultati, tj. veće vrednosti višekomponentnog indeksa FA na stresnijem staništu, dobijeni su i kod višegodišnje zeljaste vrste *Iris pumila* (Miljković, 2012).

Pokazano je u nekim slučajevima da čak i visok intenzitet stresa, koji može da prouzrokuje smanjenje biomase biljke za 60%, ne mora imati značajan efekat na vrednosti FA (Sandner i Mattheis, 2017). U našem istraživanju, biljke na staništu izloženom punoj dnevnoj svetlosti imale su manju visinu izdanaka i manju ukupnu površinu listova, čime je pokazano da visok intenzitet svetlosti zaista predstavlja faktor stresa za biljke *M. perennis*.

Tokom razvića lisne ploče dolazi do njenog prilagođavanja na uslove spoljašnje sredine, usled čega se može očekivati da se vrednosti FA održavaju na relativno niskom nivou. Pokazano je da se simetričnost listova može povećavati tokom vegetacijske sezone (Freeman i sar., 2003), pa je moguće da se sa starenjem listova nivoi FA smanjuju. Postoji mogućnost da iz navedenih razloga kod *M. perennis* nije pronađen jak efekat svetlosnih uslova na nivoe FA. Sa druge strane, postojanje razlika u FA vrednostima dužine drške i nepostojanje razlika u nivoima FA ostalih ispitivanih osobina listova između staništa izloženih različitim svetlosnim uslovima, može biti objašnjeno činjenicom da su osobine listova u različitoj meri osetljive na uticaj sredinskog stresa (Ivanov i sar., 2015).

Odnos između fluktuirajuće asimetrije i stepena herbivorije pod različitim svetlosnim uslovima staništa

Indeksi fluktuirajuće asimetrije se obično smatraju dobrim indikatorima nivoa sredinskog stresa, a ujedno i razvojne nestabilnosti (Graham, 2010). Ukoliko biljke izložene stresu predstavljaju kvalitetniji izvor hrane herbivorima (Cornelissen i Stiling, 2005b), bilo bi očekivano da su biljke sa višim nivoima FA pod većim pritiskom herbivora (Lempa i sar., 2000). Osnovna hipoteza u ovom istraživanju je bila da se biljke *M. perennis* na staništu izloženom punoj dnevnoj svetlosti nalaze pod većim stresom i da poseduju više vrednosti FA indeksa. Prema pretpostavkama PSH hipoteze, biljke sa pomenutog staništa nalazile bi se pod većim pritiskom herbivora. Na staništu izloženom punoj dnevnoj svetlosti listovi *M. perennis* su bili više oštećeni aktivnošću herbivora, pri čemu su neki od merenih indeksa FA bili viši (FA_{PL} i FA_{IND}). Kod muških biljaka FA_{BSA} (na staništu izloženom punoj dnevnoj svetlosti) i FA_{MVL} (na staništu pod vegetacijskom senkom) su bili statistički značajno korelisani sa stepenom

herbivorije, međutim indeks korelacija bio nizak. Osim navedenih, nije ustanovljeno prisustvo značajnih korelacija između ostalih FA indeksa i stepena herbivorije.

Odnos između razvojne nestabilnosti kvantifikovane indeksima flutuirajuće asimetrije i stepena herbivorije je intenzivno proučavan, međutim dobijeni su oprečni rezultati (Cornelissen i Stiling, 2011). Neke od studija pokazale su postojanje pozitivnog odnosa između FA i stepena herbivorije (Cuevas – Reyes i sar., 2011; Cornelissen i Stiling, 2011; Ribeiro i sar., 2013; Santos i sar., 2013; Cuevas – Reyes i sar., 2013; Fernandes i sar., 2016), dok u slučaju nekih model sistema pomenute korelacije nisu zabeležene (Auslander i sar., 2003; Hagen i sar., 2008; Costa i sar., 2013). Rezultati našeg istraživanja su u saglasnosti sa rezultatima istraživanja na vrstama *Rhamnus alpinus* (Bañuelos i sar., 2004) i *Coccoloba cereifera* (Telhado i sar., 2010) u kojima nije utvrđeno prisustvo značajnog odnosa između FA i stepena herbivorije.

Bitno je naglasiti da je pozitivna korelacija između vrednosti FA indeksa i stepena herbivorije najčešće zabeležena kod biljnih vrsta kojima se herbivori endogeno hrane (npr. insekti koji formiraju gale) (Cornelissen i Stiling, 2011). Smatra se da listovi biljaka koje su izložene stresu poseduju veće količine azota i manje saržaje defanzivnih sekundarnih metabolita (Lempa i sar., 2000). U slučaju biljnih vrsta kojima se herbivori hrane egzogeno (npr. insekti koji konzumiraju lisnu ploču), moguće je da nivoi FA nisu pouzdan indikator nutritivne vrednosti i sadržaja defanzivnih jedinjenja u listovima. Meta-analizom je pokazano da određene grupe herbivora izbegavaju biljke koje su izložene stresu, iako su one zaista povoljniji izvor hrane, jer povišen sadržaj azota u njihovim listovima može biti praćen smanjenjem sadržajem vode, čime je insektima otežan pristup azotu (Huberty i Denno, 2004). Slično nalazima Bañuelos i saradnika (2004) koji nisu pronašli statistički značajnu povezanost sadržaja defanzivnog sekundarnog metabolita antrakinona u listovima i FA, ni mi nismo utvrdili postojanje korelacija između vrednosti FA indeksa i vrednosti nutritivnih i defanzivnih osobina listova *M. perennis*.

Polno specifične razlike u flutuirajućoj asimetriji pod različitim svetlosnim uslovima staništa

Uticaj sredinskog stresa na razlike između polova u performansama dvodomih vrsta

biljaka (npr. biomasi, visini izdanaka, fotosintetskoj aktivnosti, stopi rasta) predstavljaju fokus mnogih istraživanja u oblasti evolucione ekologije (Retuerto i sar., 2018). Iako se smatralo da je ženski pol manje tolerantan na povišene nivoe stresa, usled postojanja uzajamnih ograničenja, Simancas i sar. (2018) su u dobili rezultate kojima se potvrđuje da su ženske biljke višegodišnje zeljaste vrste *Urtica dioica* tolerantnije na abiotički stres u odnosu na muške biljke. Međutim, polovi mogu biti jednako osetljivi na negativan uticaj abiotičkog i biotičkog stresa (Juvany i Munné-Bosch, 2015). Pošto su neka od ranijih istraživanja na *M. perennis* ukazala na to da su ženske biljke osetljivije na povećanje intenziteta svetlosti na staništu (Vandepitte i sar., 2009), u ovoj studiji istraživano je potencijalno prisustvo razlika između polova u nivoima FA, kao pokazatelja razvojne nestabilnosti, u odnosu na svetlosne uslove na staništu. Iako je bilo očekivano da vrednosti FA indeksa budu više kod ženskog pola, nisu zabeležene značajne razlike između polova u nivoima fluktuirajuće asimetrije, što se podudara sa rezultatima studije Juvany i Munné-Bosch, (2015) da polovi mogu biti jednako osetljivi na negativan uticaj stresa.

Do danas je sproveden manji broj studija (Bañuelos i sar., 2004; Inbar i Kark, 2007) kojima je proučavan efekat pola biljaka istovremeno na stepen herbivorije i na nivo razvojne nestabilnosti listova, koji je kvantifikovan pomoću indeksa fluktuirajuće asimetrije. Inbar i Kark (2007) su pored efekta pola, proučavali i efekat sredinskih uslova na stepen herbivorije i nivoe razvojne nestabilnosti listova. Nije utvrđeno postojanje polno-specifičnih razlika u vrednostima FA indeksa kod *M. perennis*, u uslovima pune dnevne svetlosti i vegetacijske senke, što je u saglasnosti sa rezultatima do kojih su došli Bañuelos i sar. (2004) na dvodomoj žbunastoj vrsti *Rhamnus alpinus*. Istraživanje na *M. perennis* pruža značajan doprinos proširivanju saznanja o tome na koji način na korelacije između herbivorije i FA mogu da utiču istovremeno svetlosni uslovi na staništu i pol biljaka kod višegodišnjih, dvodomyh zeljastih vrsta.

6. Zaključci

- Biljke *Mercurialis perennis* na staništu izloženom punoj dnevnoj svetlosti pretrpele su veći stepen oštećenja izazvanog aktivnošću herbivora, iako su bile značajno manje (niže i sa manjom ukupnom površinom listova), posedovale listove sa manjim vrednostima SLA i niže nutritivne vrednosti (sa manjim sadržajem vode i solubilnih proteina) u poređenju sa biljkama sa staništa pod vegetacijskom senkom. Pomenuti nalazi su u skladu sa postojećim tumačenjem o kompenzatornom konzumiranju tkiva niže nutritivne vrednosti. Rezultati ove studije ukazuju na prisustvo diferencijalne herbivorije kod *M. perennis* u odnosu na svetlosne uslove staništa.

- Različite osobine biljaka su uticale na stepen herbivorije u zavisnosti od svetlosnih uslova staništa. Na oba ispitivana staništa, listovi sa nižim vrednostima specifične lisne površine su bili više oštećeni. Iako bi bilo očekivano suprotno, smatra se da u ovom slučaju korist po herbivore, u energetsom smislu, može biti veća. Na staništu izloženom punoj dnevnoj svetlosti stepen herbivorije je bio negativno povezan sa sadržajem vode u listovima, a na staništu pod vegetacijskom senkom sa visinom biljaka i sadržajem solubilnih proteina. Ovim istraživanjem pokazano je da značajniju ulogu u interakcijama između *M. perennis* i herbivora imaju morfološke osobine biljaka u odnosu na sadržaj ispitivanih defanzivnih sekundarnih metabolita. Navedeni rezultati potvrđuju nova saznanja o izuzetnoj kompleksnosti odnosa između sekundarnih metabolita i stepena herbivorije.

- Istraživanje promena u stepenu herbivorije tokom ontogenije pokazala su da su biljke u post-reproduktivnoj fazi bile više oštećene aktivnošću herbivora, iako su njihovi listovi posedovali nižu nutritivnu vrednost (sa manjim sadržajem vode i solubilnih proteina) i niže nivoe odbrane (sa nižim sadržajem ukupnih fenola i kondenzovanih tanina). Zabeleženo smanjenje sadržaja defanzivnih sekundarnih metabolita kod *M. perennis* u post-reproduktivnoj fazi je u skladu sa osnovnim pretpostavkama hipoteze optimalne odbrane.

- U zavisnosti od ontogenetskog stadijuma različite osobine biljaka su uticale na stepen herbivorije. Kod biljaka u reproduktivnoj fazi sadržaj ukupnih nestrukturanih ugljenih hidrata bio je negativno povezan sa stepenom herbivorije, što može biti objašnjeno fenomenom kompenzatorne ishrane. U post-reproduktivnoj fazi veličina biljke (odnosno visina i ukupna površina listova) je pozitivno uticala na stepen herbivorije, što je u saglasnosti sa pretpostavkama hipoteze biljne vitalnosti, dok je

sadržaj kondenzovanih tanina bio negativno povezan sa stepenom herbivorije. Postoji mogućnost da tokom reproduktivne faze na interakcije između biljaka i herbivora u većoj mjeri utiče nutritivna vrednost tkiva, međutim, kasnije u toku sezone na stepen herbivorije značajnije utiče vitalnost biljaka.

- Konzistentne razlike u stepenu herbivorije između muških i ženskih biljaka *M. perennis* nisu pronađene. Značajne razlike u stepenu oštećenja izazvanog aktivnošću herbivora su utvrđene na staništu izloženom punoj dnevnoj svetlosti u uzorku iz 2016. godine gde su muške biljke bile više oštećene. U analizi uticaja ontogenetskog stadijuma na stepen herbivorije, polovi su se razlikovali u post-reproduktivnoj fazi, kada su ženske biljke pretrpele veći stepen oštećenja. Navedeni rezultati ukazuju na varijabilne obrasce razlika između polova u stepenu oštećenja.

- Svetlosni uslovi na staništu su uticali na obrasce polnog dimorfizma u sadržaju solubilnih proteina, ukupnih fenola i kondenzovanih tanina. Tokom ontogenije, razlike između polova su bile prisutne u sadržaju solubilnih proteina i fenola samo u reproduktivnoj fazi, a u post-reproduktivnoj fazi u ukupnoj površini listova. Navedeni rezultati mogu biti interpretirani u kontekstu fenologije procesa reprodukcije, kao i razlika između polova u reproduktivnoj alokaciji i tipovima metabolita koji se ulažu u formiranje cvetova i plodova.

- Indeksi fluktuirajuće asimetrije FA_{PL} i FA_{IND} bili su značajno viši na staništu izloženom punoj dnevnoj svetlosti, dok se vrednosti ostalih FA indeksa nisu značajno razlikovale između staništa sa različitim svetlosnim uslovima. Ovaj rezultat ukazuje na to da su kompozitni indeksi fluktuirajuće asimetrije pouzdaniji indikatori razvojne nestabilnosti na nivou čitave individue, kao i da nisu sve osobine biljaka jednako podložne uticaju faktora stresa. Bilo bi očekivano da izlaganje visokom intenzitetu svetlosti predstavlja faktor stresa po tipičnu skiofitu, kakav je šumski prosinac, te da bi se biljke na tom staništu nalazile pod većim pritiskom herbivora. Ova hipoteza delimično je potvrđena s obzirom na to da je pokazano da stepen herbivorije jeste bio viši na staništu izloženom punoj dnevnoj svetlosti. Kod muških biljaka FA_{BSA} (na staništu izloženom punoj dnevnoj svetlosti) i FA_{MVL} (na staništu pod vegetacijskom senkom) bili su značajno korelisani sa stepenom herbivorije, dok kod ostalih indeksa to nije bio slučaj. Navedeni rezultati ukazuju na mogući manji uticaj stresa na nivoe razvojne nestabilnosti analiziranih osobina *M. perennis*.

7. Literatura

- Abràmoff, M. D., Magalhães P. J., and Ram, S. J. 2004. Image processing with ImageJ. *Biophotonics international.*, 11: 36–42.
- Agrawal, A. A., and Fishbein, M. 2006. Plant defense syndromes. *Ecology.*, 87: 132–149.
- Agrawal, A. A. 2007. Macroevolution of plant defense strategies. *Trends Ecol Evol.*, 22: 103–109.
- Agrawal, A. A. 2011. Current trends in the evolutionary ecology of plant defense. *Funct Ecol.*, 25: 420–432.
- Agrawal, A. A., and Weber, M. G. 2015. On the study of plant defence and herbivory using comparative approaches: how important are secondary plant compounds. *Ecol Let.*, 18: 85–991.
- Ågren, J., Danell, K., Elmqvist, T., Ericson, L., and Hjältén, J. (Eds.) 1999. *Sexual dimorphism and biotic interactions*. Gender and sexual dimorphism in flowering plants. Heidelberg: Springer Berlin, 217–246.
- Alves-Silva, E., and Del-Claro, K. 2016. Herbivory-induced stress: Leaf developmental instability is caused by herbivore damage in early stages of leaf development. *Ecol Ind.*, 61: 359–365.
- Anne, P. F., Mawri, S., and Gladstone, D. C. 1998. Is fluctuating asymmetry a reliable biomonitor of stress? A test using life history parameters in soybean. *Int J Pl Sci.*, 159: 559–565.
- Ashman, T. L. 2002. The role of herbivores in the evolution of separate sexes from hermaphroditism. *Ecology.*, 83: 1175–1184.
- Auslander, M., Nevo, E., and Inbar, M. 2003. The effects of slope orientation on plant growth, developmental instability and susceptibility to herbivores. *J Arid Environ.*, 55: 405–416.
- Avila-Sakar, G., and Romanow, C. A. 2012. Divergence in defence against herbivores between males and females of dioecious plant species. *Int J Evol Biol.*, 2012.
- Awmack, C. S., and Leather, S. R. 2002. Host plant quality and fecundity in

- herbivorous insects. *Ann Rev Entom.*, 47: 817–844.
- Ballhorn, D. J., Kautz, S., Jensen, M., Schmitt, I., Heil, M., and Hegeman, A. D. 2011. Genetic and environmental interactions determine plant defences against herbivores. *J Ecol.*, 99: 313–326.
- Bañuelos, M. J., and Obeso, J. R. 2004. Resource allocation in the dioecious shrub *Rhamnus alpinus*: the hidden costs of reproduction. *Evol Ecol Res.*, 6: 397–413.
- Baraza, E., Gómez, J. M., Hódar, J. A., and Zamora, R. 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.
- Barbehenn, R.V., and Constabel, C. P. 2011. Tannins in plant-herbivore interactions. *Phytochem.*, 72: 1551–1565.
- Barber, N. A., and Marquis, R. J. 2011. Light environment and the impacts of foliage quality on herbivorous insect attack and bird predation. *Oecologia.*, 166: 401–409.
- Barrett, S. C. and Hough, J. 2013. Sexual dimorphism in flowering plants. *J Exp Bot.*, 64: 67–82.
- Barton, K. E., and Boege, K. 2017. Future directions in the ontogeny of plant defence: understanding the evolutionary causes and consequences. *Ecol Lett.*, 20: 403–411.
- Barton, K. E., and Koricheva, J. 2010. The ontogeny of plant defense and herbivory: Characterizing general patterns using meta-analysis. *Am Nat.*, 175: 481–493.
- Beasley, D. A., Bonisoli-Alquati, A., and Mousseau T. A. 2013. The use of fluctuating asymmetry as a measure of environmentally induced developmental instability: A meta-analysis. *Ecol Indic.*, 30: 218–226.
- Bisigato, A. J., Saín C. L, Campanella, M. V., and Cheli, G. H. 2015. Leaf traits, water stress, and insect herbivory: Is food selection a hierarchical process? *Arthropod-Plant Inte.*, 9: 477–485.
- Bierzychudek, P., and Eckhart, V. 1988. Spatial segregation of the sexes of dioecious plants. *Am Nat.*, 132: 34–43.

- Bixenmann, R. J., Coley, P. D., and Kursar, T. A. 2013. Developmental changes in direct and indirect defenses in the young leaves of the neotropical tree genus *Inga* (Fabaceae). *Biotropica.*, 45: 175–184.
- Boege, K. 2005. Herbivore attack in *Casearia nitida* influenced by plant ontogenetic variation in foliage quality and plant architecture. *Oecologia.*, 143: 117–125.
- Boege, K. and Marquis, R. J., 2005. Facing herbivory as you grow up: the ontogeny of resistance in plants. *Trends Ecol Evol.* 20: 441–448.
- Boege, K., and Marquis, R. J. 2006. Plant quality and predation risk mediated by plant ontogeny: consequences for herbivores and plants. *Oikos.*, 115: 559–572.
- Bradford, M. M. 1976. A rapid and sensitive method for the quantitation of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein-dye binding. *Anal Biochem.*, 72: 248–254.
- Broadhurst, R. B., and Jones, W. T. 1978. Analysis of condensed tannins using acidified vanillin. *J Sci Food Agr.*, 29: 788–794.
- Brunt, C., Read, J., and Sanson, G. D. 2006. Changes in resource concentration and defense during leaf development in a tough-leaved (*Nothofagus moorei*) and soft-leaved (*Toona ciliata*) species. *Oecologia.*, 148: 583–592.
- Buckley, N. E., and Avila-Sakar, G. 2013. Reproduction, growth, and defense trade-offs vary with gender and reproductive allocation in *Ilex glabra* (Aquifoliaceae). *Am J Bot.*, 100: 357–364.
- Burkpile, D. E., and Parker, J. D. 2017. Recent advances in plant-herbivore interactions. *F1000Research.*, 6: 119.
- Carmona, D., Lajeunesse, M. J., and Johnson, M. T. 2011. Plant traits that predict resistance to herbivores. *Funct Ecol.*, 25: 358–367.
- Cepeda-Cornejo, V., and Dirzo, R. 2010. Sex-related differences in reproductive allocation, growth, defense and herbivory in three dioecious neotropical palms. *PloS one.*, 5: e9824.
- Cibils, A. F., Swift, D. M., and Hart, R. H. 2003. Female-biased herbivory in fourwing saltbush browsed by cattle. *J Range Manage.*, 56: 47–51.

- Cipollini, D., Walters, D., and Voelckel, C. 2014. Costs of resistance in plants: from theory to evidence. *Ann Pl Rev.*, 2014.
- Close, D. C., and McArthur, C. 2002. Rethinking the role of many plant phenolics—protection from photodamage not herbivores?. *Oikos.*, 99: 166–172.
- Cooper, M. R., and Johnson, A. W. 1998. *Poisonous Plants and Fungi in Britain: Animal and Human Poisoning*. London: The Stationery Office.
- Coley, P. D., Bryant, J. P. and Chapin III, F. S. 1985. Resource availability and plant antiherbivore defense. *Science.*, 230: 895–899
- Coley, P. D, Bateman, M. L., and Kursar, T. A. 2006. The effects of plant quality on caterpillar growth and defense against natural enemies. *Oikos.*, 115: 219–228.
- Cornelissen, T., and Stiling, P. 2005a. Sex-biased herbivory: a meta-analysis of the effects of gender on plant-herbivore interactions. *Oikos.*, 111: 488–500.
- Cornelissen, T., and Stiling, P. 2005b. Perfect is best: low leaf fluctuating asymmetry reduces herbivory by leaf miners. *Oecologia.*, 142: 46–56.
- Cornelissen, T., and Stiling, P. 2006. Responses of different herbivore guilds to nutrient addition and natural enemy exclusion. *Ecoscience.*, 13: 66–74.
- Cornelissen, T., and Stiling, P. 2011. Similar responses of insect herbivores to leaf fluctuating asymmetry. *Arthropod-Plant Inte.*, 5: 59–69.
- Cornelissen, T., Wilson Fernandes, G., and Vasconcellos-Neto, J. 2008. Size does matter: variation in herbivory between and within plants and the plant vigor hypothesis. *Oikos.*, 117: 1121–1130.
- Costa, F. V. D., Pinheiro de Azevedo, I. F., Braga, L. D. L., Perillo, L. N., Neves, F. D. S., Leite, L. O., ... and Cuevas-Reyes, P. 2013. Fluctuating asymmetry and herbivory in two ontogenetical stages of *Chamaecrista semaphora* in restored and natural environments. *J Pl Inte.*, 8: 179–186.
- Cuevas-Reyes, P., Oyama, K., González-Rodríguez, A., Fernandes, G. W., and Mendoza-Cuenca, L. 2011. Contrasting herbivory patterns and leaf fluctuating asymmetry in *Heliocarpus pallidus* between different habitat types within a Mexican tropical dry forest. *J Trop Ecol.*, 27: 383–391.

- Cuevas-Reyes, P., Gilberti, L., González-Rodríguez, A., and Fernandes, G. W. 2013. Patterns of herbivory and fluctuating asymmetry in *Solanum lycocarpum* St. Hill (Solanaceae) along an urban gradient in Brazil. *Ecol Indic.*, 24: 557–561.
- Cvetković, D., and Jovanović, V. 2007. Altitudinal variation of the sex ratio and segregation by gender in the dioecious plant *Mercurialis perennis* L. (Euphorbiaceae) in Serbia. *Arch Biol Sci.*, 59: 193–198.
- Cvetković, D., Jovanović, V., Blagojević, J. 2011. Genome size variation along the altitudinal gradient in *Mercurialis perennis* L. 13th Congress of the European Society for Evolutionary Biology, Tübingen, 20–25.8.2011., p 292.
- DeSoto, L., Olano, J. M., and Rozas, V. 2016. Secondary growth and carbohydrate storage patterns differ between sexes in *Juniperus thurifera*. *Front Pl Sci.*, 7: 723.
- Dongen, S. V. 2006. Fluctuating asymmetry and developmental instability in evolutionary biology: past, present and future. *J Evol Biol.*, 19: 1727–1743.
- Dreywood, R. 1946. Qualitative test for carbohydrate material. *Industrial & Engineering Chemistry Analytical Edition.*, 18: 499–499.
- Dudley, L. S., and Galen, C. 2007. Stage-dependent patterns of drought tolerance and gas exchange vary between sexes in the alpine willow, *Salix glauca*. *Oecologia.*, 153: 1–9.
- Ehrlich, P., and Raven P. 1964. Butterflies and plants: A study in coevolution. *Evolution.*, 18: 586–608.
- Elemans, M. 2004. Light, nutrients and the growth of herbaceous forest species. *Acta Oecol.*, 26: 197–202.
- Eliš, P. and Masarovičová, E. 1986 Seasonal changes in leaf chlorophyll content of *Mercurialis perennis* growing in deciduous and coniferous forests. *Photosynthetica.*, 20: 181–186.
- Engelberth, J. 2006. Secondary Metabolites and Plant Defense. In: Taiz, L., Zeiger, E. eds. *Plant Physiology*. Sunderland: Sinauer Associates, 315–344.
- Endara, M. J., and Coley, P. D. 2011. The resource availability hypothesis revisited: a

- meta-analysis. *Funct Ecol.*, 25: 389–398.
- Espírito-Santo, M. M., Neves, F. S., Fernandes, G. W., and Silva, J. O. 2012. Plant phenology and absence of sex-biased gall attack on three species of *Baccharis*. *PloS One.*, 7: e46896.
- Fairbairn, D. J., Blanckenhorn W. U., and Székely, T. (Eds.) 2007. Sex, size, and gender roles: evolutionary studies of sexual size dimorphism. Oxford: Oxford University Press.
- Falconer, D. S., Mackay, T. F., and Frankham, R. 1996. Introduction to quantitative genetics (4th edn). *Trends in Genetics*. 12: 280.
- Feeny, P. 1976. Plant apparency and chemical defense. *Biochemical interaction between plants and insects.*, 1–40.
- Fei, M., Harvey, J. A., Yin, Y., and Gols, R. 2017. Oviposition preference for young plants by the large cabbage butterfly (*Pieris brassicae*) does not strongly correlate with caterpillar performance. *J Chem Ecol.*, 43: 617–629.
- Fernandes, G. W., de Oliveira, S. C. S., Campos, I. R., Barbosa, M., Soares, L. A., and Cuevas-Reyes, P. 2016. Leaf fluctuating asymmetry and herbivory of *Tibouchina heteromalla* in restored and natural environments. *Neotrop Entomol.*, 45: 44–49.
- Fornoni, J. 2011. Ecological and evolutionary implications of plant tolerance to herbivory. *Funct Ecol.*, 25: 399–407.
- Frazer, G. W., Canham, C. D. and Lertzman, K. P. 1999. Gap Light Analyzer (GLA), Version 2.0: Imaging software to extract canopy structure and gap light transmission indices from true-colour fisheye photographs, users manual and program documentation. New York: Simon Fraser University, Burnaby, British Columbia, and the Institute of Ecosystem Studies, Millbrook.
- Freeman, D. C., Brown, M. L., Dobson, M., Jordan, Y., Kizy, A., Micallef, C., and Emlen, J. M. 2003. Developmental instability: measures of resistance and resilience using pumpkin (*Cucurbita pepo* L.). *Biol J Linn Soc.*, 78: 27–41.
- Fürstenberg-Hägg, J., Zagrobelny, M., and Bak, S. 2013. Plant defense against insect

- herbivores. *Int J Mol Sci.*, 14: 10242–10297.
- Godschalx, A. L., Stady, L., Watzig, B., and Ballhorn, D. J. 2016. Is protection against florivory consistent with the optimal defense hypothesis? *BMC Plant Biol.*, 16: 1–9.
- Gong B., and Zhang, G. 2014. Interactions between plants and herbivores: A review of plant defense. *Acta Ecol Sinica.*, 34: 325–336.
- Goodger, J. Q., Heskes, A. M., and Woodrow, I. E., 2013. Contrasting ontogenetic trajectories for phenolic and terpenoid defenses in *Eucalyptus froggattii*. *Ann Bot Lond.*, 112: 651–659.
- Graham, J. H., Raz, S., Hel-Or, H., and Nevo, E. 2010. Fluctuating asymmetry: methods, theory, and applications. *Symmetry.*, 2: 466–540.
- Guerra P. C., Becerra, J., and Gianoli, E. 2010. Explaining differential herbivory in sun and shade: the case of *Aristotelia chilensis* saplings. *Arthropod-Plant Inte.*, 4: 229–235.
- Gutbrodt, B., Dorn, S., Unsicker, S. B. and Mody, K. 2012. Species-specific responses of herbivores to within-plant and environmentally mediated between-plant variability in plant chemistry. *Chemoecol.*, 22: 101–111.
- Hagen, S. B., Ims, R. A., Yoccoz, N. G., and Sørlibråten, O. 2008. Fluctuating asymmetry as an indicator of elevation stress and distribution limits in mountain birch (*Betula pubescens*). *Pl Ecol.*, 195: 157–163.
- Han, P., Lavoit, A. V., Le Bot, J., Amiens-Desneux, E., and Desneux, N. 2014. Nitrogen and water availability to tomato plants triggers bottom-up effects on the leafminer *Tuta absoluta*. *Sci Rep.*, 4.
- Hahn, P. G., and Maron, J. L. 2016. A framework for predicting intraspecific variation in plant defense. *Trends Ecol Evol.*, 31: 646–656.
- Hakes, A. S., and Cronin, J. T. 2011. Environmental heterogeneity and spatiotemporal variability in plant defense traits. *Oikos.*, 120:452–462.
- Hanley, M. E., Lamont, B. B., Fairbanks, M. M., and Rafferty, C. M. 2007. Plant structural traits and their role in anti-herbivore defence. *Perspect Plant Ecol.*, 8:

157–178.

- Harris, M. S., and Pannell, J. R. 2008. Roots, shoots and reproduction: sexual dimorphism in size and costs of reproductive allocation in an annual herb. *Proc R Soc B: Biol Sci.*, 275: 2595–2602.
- Heath, J. J., Kessler, A., Woebbe, E., Cipollini, D., and Stireman, J. O. 2014. Exploring plant defense theory in tall goldenrod, *Solidago altissima*. *New Phytol.*, 202: 1357–1370.
- Henriksson, J., Haukioja, E., Ossipov, V., Ossipova, S., Sillanpää, S., Kapari, L., and Pihlaja, K. 2003. Effects of host shading on consumption and growth of the geometrid *Epirrita autumnata*: interactive roles of water, primary and secondary compounds. *Oikos.*, 103: 3–16.
- Hermes, D. A., and Mattson, W. J. 1992. The dilemma of plants: to grow or defend. *The quarterly review of biology*, 67: 283–335.
- Holeski, L. M., Hillstrom, M. L., Whitham, T. G., and Lindroth, R. L. 2012. Relative importance of genetic, ontogenetic, induction, and seasonal variation in producing a multivariate defense phenotype in a foundation tree species. *Oecologia.*, 170: 695–707.
- Hoque, S. and Avila-Sakar, G. 2015. Trade-offs and ontogenetic changes in resistance and tolerance to insect herbivory in *Arabidopsis*. *Int J P Sci.*, 176: 150–158.
- Howe, G. A., and Jander, G. 2008. Plant immunity to insect herbivores. *Ann Rev Plant Biol.*, 59: 41–66.
- Huberty, A. F., and Denno, R. F. 2004. Plant water stress and its consequences for herbivorous insects: a new synthesis. *Ecology.*, 85: 1383–1398.
- Inbar, M. and Kark, S. 2007. Gender-Related developmental instability and herbivory of *Pistacia atlantica* across a steep environmental gradient. *Folia Geobot.*, 42: 401–410.
- Ishizaki, S., Shiojiri, K., Karban, R., and Ohara, M. 2016. Seasonal variation of responses to herbivory and volatile communication in sagebrush (*Artemisia tridentata*) (Asteraceae). *J Pl Res.*, 129: 659–666.

- Ivanov, V. P., Ivanov, Y. V., Marchenko, S. I., and Kuznetsov, V. V. 2015. Application of fluctuating asymmetry indexes of silver birch leaves for diagnostics of plant communities under technogenic pollution. *Russ J PL Physiol.*, 62: 340–348.
- Jefferson, R. G. 2008. Biological Flora of the British Isles: *Mercurialis perennis* L. *J Ecol.*, 96: 386–412.
- Jing, S. W., and Coley, P. D. 1990. Dioecy and herbivory: the effect of growth rate on plant defense in *Acer negundo*. *Oikos*.58: 369–377.
- Joern, A., Provin, T., and Behmer, S. T. 2012. Not just the usual suspects: insect herbivore populations and communities are associated with multiple plant nutrients. *Ecology.*, 93: 1002–1015.
- Johnson, M. T. 2011. Evolutionary ecology of plant defences against herbivores. *Funct Ecol.*, 25: 305–311.
- Jovanović, V. 2012. Variranje odnosa polova, polnog dimorfizma i komponenti adaptivne vrednosti u populacijama *Mercurialis perennis* L. (Euphorbiaceae) duž gradijenta nadmorske visine. Doktorska disertacija. Biološki fakultet, Univerzitet u Beogradu, Srbija.
- Juvany, M. and Munné-Bosch, S. 2015. Sex-related differences in stress tolerance in dioecious plants: a critical appraisal in a physiological context. *J Exp Bot.*, 66: 6083–6092.
- Kabir, M., Moritz, K. K., and Stenberg, J. A. 2014. Plant-sex-biased tritrophic interactions on dioecious willow. *Ecosphere.*, 5: 1–9.
- Karolewski, P., Giertych, M. J., Żmuda, M., Jagodziński, A. M., and Oleksyn, J. 2013. Season and light affect constitutive defenses of understory shrub species against folivorous insects. *Acta Oecol.*, 53: 19–32.
- Koricheva, J. 2002. The carbon-nutrient balance hypothesis is dead; long live the carbon-nutrient balance hypothesis? *Oikos.*, 98: 537–539.
- Kozlov, M. V., Cornelissen, T., Gavrikov, E. D., Kunavin, M. A., Lama, A. D., Milligan, J. R., Zverev, V., and Zvereva, E. L. 2017. Reproducibility of fluctuating asymmetry measurements in plants: Sources of variation and

- implications for study design. *Ecol Indic.*, 73: 733–740.
- Klingenberg, C. P. 2015. Analyzing fluctuating asymmetry with geometric morphometrics: concepts, methods, and applications. *Symmetry.*, 7: 843–934.
- Kranner, I., Minibayeva, F. V., Beckett, R. P., and Seal, C. E. 2010. What is stress? Concepts, definitions and applications in seed science. *New Phytol.*, 188: 655–673.
- Labouche, A. M., and Pannell, J. R. 2016. A test of the size-constraint hypothesis for a limit to sexual dimorphism in plants. *Oecologia.*, 181: 873–884.
- Lawrence, R., Potts, B. M., and Whitham, T. G., 2003. Relative importance of plant ontogeny, host genetic variation, and leaf age for a common herbivore. *Ecology.*, 84: 1171–1178.
- Leimu, R., and Koricheva, J. 2006. A meta-analysis of tradeoffs between plant tolerance and resistance to herbivores: combining the evidence from ecological and agricultural studies. *Oikos.*, 112: 1–9.
- Lempa, K., Martel, J., Koricheva, J., Haukioja, E., Ossipov, V., Ossipova, S., and Pihlaja, K. 2000. Covariation of fluctuating asymmetry, herbivory and chemistry during birch leaf expansion. *Oecologia.*, 122: 354–360.
- Leung, B., Forbes, M. R., and Houle, D. 2000. Fluctuating asymmetry as a bioindicator of stress: comparing efficacy of analyses involving multiple traits. *Am Nat.*, 155: 101–115.
- Li, C., Xu, G., Zang, R., Korpelainen, H., Berninger, F. 2007. Sex-related differences in leaf morphological and physiological responses in *Hippophae rhamnoides* along an altitudinal gradient. *Tree Physiol.*, 27: 399–406.
- Lorenz, P., Hradecky, M., Berger, M., Bertrams, J., Meyer, U., and Stintzing, F. C. 2010. Lipophilic constituents from aerial and root parts of *Mercurialis perennis* L. *Phytochem Analysis.*, 21: 234–245.
- Lorenz, P., Conrad, J., Bertrams, J., Berger, M., Duckstein, S., Meyer, U., and Stintzing, F. C. 2012. Investigations into the Phenolic Constituents of Dog's Mercury (*Mercurialis perennis* L.) by LC-MS/MS and GC-MS analyses. *Phytochem*

Analysis., 23: 60–71.

- Louda, S. M., and Rodman, J. E. 1996. Insect herbivory as a major factor in the shade distribution of a native crucifer (*Cardamine cordifolia* A. Gray, bittercress). *J Ecol.*, 84: 229–237.
- Lloyd, D. G., and Webb, C. J. 1977. Secondary sex characters in plants. *Bot Rev.*, 43: 177–216.
- Lusk, C. H., Onoda, Y., Kooyman, R., and Gutiérrez-Girón, A. 2010. Reconciling species-level vs plastic responses of evergreen leaf structure to light gradients: shade leaves punch above their weight. *New Phyt.*, 86: 429–438.
- Massad, T. J. 2013. Ontogenetic differences of herbivory on woody and herbaceous plants: a meta-analysis demonstrating unique effects of herbivory on the young and the old, the slow and the fast. *Oecologia.*, 172: 1–10.
- Maldonado-López, Y., Cuevas-Reyes, P., Sánchez-Montoya, G., Oyama, K., and Quesada, M. 2014. Growth, plant quality and leaf damage patterns in a dioecious tree species: is gender important? *Arthropod-Plant Inte.*, 8: 241–251.
- Magalhães, N., Ferreira, L. B., Leitão, G., and Mantovani, A. 2012. Effects of leaf herbivory on the bromeliad *Aechmea blanchetiana*: a study of selective feeding by the scraper *Acentroptera pulchella*. *Acta Bot Bras.*, 26: 944–952.
- Mardia, K. V., Bookstein, F. L., and Moreton, I. J. 2000. Statistical assessment of bilateral symmetry of shapes. *Biometrika.*, 87: 285–300.
- McCall, A. C. 2007. Leaf damage and gender but not flower damage affect female fitness in *Nemophila menziesii* (Hydrophyllaceae). *Am J Bot.*, 94: 445–450.
- McCall, A. C., and Fordyce, J. A. 2010. Can optimal defence theory be used to predict the distribution of plant chemical defences? *J Ecol.*, 98: 985–992.
- McKey, D. 1974. Adaptive patterns in alkaloid physiology. *Am Nat.*, 108: 305–320.
- McKown, A. D., Klápště, J., Guy, R. D., Soolanayakanahally, R. Y., Mantia, J., Porth, I., ... and Hamelin, R. C. 2017. Sexual homomorphism in dioecious trees: extensive tests fail to detect sexual dimorphism in *Populus*. *Sci Rep UK.*, 7: 1831.

- Meldau, S., Erb, M., and Baldwin, I. T. 2012. Defence on demand: mechanisms behind optimal defence patterns. *Ann Bot.*, 110: 1503–1514.
- Meyer, S. T., Roces, F., and Wirth, R. 2006. Selecting the drought stressed: effects of plant stress on intraspecific and within-plant herbivory patterns of the leaf-cutting ant *Atta colombica*. *Funct Ecol.*, 20: 973–981.
- Miljković, D. 2009. Uticaj abiotičkih stresora na stabilnost razvića i morfološku varijabilnost *Iris pumila* u prirodnim i eksperimentalnim populacijama. Doktorska disertacija. Biološki fakultet, Univerzitet u Beogradu, Srbija.
- Miljković, D. 2012. Developmental stability of *Iris pumila* flower traits: A common garden experiment. *Arch Biol Sci.*, 64: 123–133.
- Miljković, D., Selaković, S., Vujić, V., Stanisavljević, N., Radović, S., and Cvetković, D. 2018. Patterns of herbivore damage, developmental stability, morphological and biochemical traits in female and male *Mercurialis perennis* in contrasting light habitats. (*submitted to Alpine Botany*).
- Mithöfer, A., and Boland, W. 2012. Plant defense against herbivores: chemical aspects. *Ann Rev Plant Biol.*, 63: 431–450.
- Moctezuma, C., Hammerbacher, A., Heil, M., Gershenson, J., Méndez-Alonzo, R., and Oyama, K. 2014. Specific polyphenols and tannins are associated with defense against insect herbivores in the tropical oak *Quercus oleoides*. *J Chem Ecol.*, 40: 458–467.
- Mooney, E. H., and Niesenbaum, R. A. 2012. Population-specific responses to light influence herbivory in the understory shrub *Lindera benzoin*. *Ecology.*, 93: 2683–2692.
- Mooney, E. H., Tiedeken, E. J., Muth, N. Z., and Niesenbaum, R. A. 2009. Differential induced response to generalist and specialist herbivores by *Lindera benzoin* (Lauraceae) in sun and shade. *Oikos.*, 118: 1181–1189.
- Moles, A. T., Peco, B., Wallis, I. R., Foley, W. J., Poore, A. G., Seabloom, E. W., ... and Cohen, P. S. 2013. Correlations between physical and chemical defences in plants: tradeoffs, syndromes, or just many different ways to skin a herbivorous cat?. *New Phytol.*, 198: 252–263.

- Møller, A. P., and Shykoff, J. A. 1999. Morphological developmental stability in plants: patterns and causes. *Int J Pl Sci.*, 160: S135–S146.
- Møller, A. P., and Swaddle, J. P. 1997. *Asymmetry, developmental stability and evolution*. Oxford: Oxford University Press.
- Møller, A. P. 1995. Leaf-mining insects and fluctuating asymmetry in elm *Ulmus glabra* leaves. *J Anim Ecol.*, 697–707.
- Moreira, X., Glauser, G., and Abdala-Roberts, L. 2017. Interactive effects of plant neighbourhood and ontogeny on insect herbivory and plant defensive traits. *Sci Rep.*, 7: 4047.
- Moura R. F., Alves-Silva E., and Del-Claro K. 2017. Patterns of growth, development and herbivory of *Palicourea rigida* are affected more by sun/shade conditions than by Cerrado phytophysiognomy. *Act Bot Bras.*, 31: 286–94.
- Muth, N. Z., Kluger, E. C., Levy, J. H., Edwards, M. J., and Niesenbaum, R. A. 2008. Increased per capita herbivory in the shade: necessity, feedback, or luxury consumption. *Ecoscience.*, 15: 182–188.
- Mukerji, S. K. 1936. Contributions to the autecology of *Mercurialis perennis* L. *J Ecol.*, 24: 38–81.
- Niesenbaum, R. A., and Kluger, E. C. 2006. When studying the effects of light on herbivory, should one consider temperature? The case of *Epimecis hortaria* F. (Lepidoptera: Geometridae) feeding on *Lindera benzoin* L.(Lauraceae). *Environ Entomol.*, 35: 600–606.
- Nikiforou, C., and Manetas, Y. 2017. Ecological stress memory: Evidence in two out of seven species through the examination of the relationship between leaf fluctuating asymmetry and photosynthesis. *Ecol Indic.*, 74: 530–534.
- Nobis, M., and Hunziker, U. 2005. Automatic thresholding for hemispherical canopy-photographs based on edge detection. *Agr Forest Meteorol.*, 128: 243–250.
- Nowak-Dyjeta, K., Giertych, M. J., Thomas, P., and Iszkuło, G. 2017. Males and females of *Juniperus communis* L. and *Taxus baccata* L. show different seasonal patterns of nitrogen and carbon content in needles. *Act Physiol Pl.*, 39: 191.

- Obeso, J. R. 2002. The costs of reproduction in plants. *New Phytol.*, 155: 321–348.
- Obeso, J. R., Retuerto, R., 2002. Sexual dimorphism in holly *Ilex aquifolium*: cost of reproduction, sexual selection or physiological differentiation? *Rev Chil Hist Nat.*, 75: 67–77.
- Ochoa-López, S., Villamil, N., Zedillo-Avelleyra, P., and Boege, K. 2015. Plant defence as a complex and changing phenotype throughout ontogeny. *Ann Bot*, 116: 797–806.
- Oliveira, K. N., Espírito-Santo, M. M., Silva, J. O., and Melo, G. A. 2012. Ontogenetic and temporal variations in herbivory and defense of *Handroanthus spongiosus* (Bignoniaceae) in a Brazilian tropical dry forest. *Environ Entomol.* 41: 541–550.
- Oñate, M., Blanc, J., and Munné-Bosch, S. 2011. Influence of stress history on the response of the dioecious plant *Urtica dioica* L. to abiotic stress. *Pl Ecol Div.*, 4: 45–54.
- Orians, C. M., Thorn, A., and Gómez, S. 2011. Herbivore-induced resource sequestration in plants: why bother?. *Oecologia.*, 167: 1.
- Palmer, A. R. 1994. Fluctuating asymmetry analyses: a primer. In: Markov. T. A. (Eds.) *Developmental instability: its origins and evolutionary implications*. Dordrecht: Springer, 335–364.
- Palmer, A. R., and Strobeck, C. 2003. CH 17. Fluctuating asymmetry analyses revisited. *Developmental Instability: Causes and Consequences*. Oxford: Oxford University Press, 279–319.
- Petterson, V., Gardfjell, H., Witzell, J., Ericson, L., Giles, B.E. 2009. Sex-biased herbivory in *Silene dioica*. Which sex is the better resource? In: Petterson, V. (Eds.) *Interactions between natural enemies and the dioecious herb Silene dioica*. Diss. Department of Ecology and Environmental Science, Umeå Universitet, Umeå.
- Pickup, M., and Barrett, S. C. 2012. Reversal of height dimorphism promotes pollen and seed dispersal in a wind-pollinated dioecious plant. *Biol Lett.*, 8: 245–248.
- Price, P. W. 1991. The plant vigor hypothesis and herbivore attack. *Oikos.*, 62: 244–251.

- Puerta-Piñero C., Gómez J. M., Hódar J. A. 2008. Shade and herbivory induce fluctuating asymmetry in a Mediterranean oak. *Int J Pl Sci.*, 169: 631–635.
- Quintero, C., and Bowers, M. D. 2011. Plant induced defenses depend more on plant age than previous history of damage: implications for plant-herbivore interactions. *J Chem Ecol.*, 37: 992–1001.
- R Core Team. 2013. R: a language and environment for statistical computing. Vienna: R Foundation for Statistical Computing. <http://www.R-project.org>
- Rao, G., Y., Andersson, S., and Widén, B. 2002. Flower and cotyledon asymmetry in *Brassica cretica*: genetic variation and relationships with fitness. *Evolution.*, 56: 690–698.
- Raubenheimer, D., Simpson, S. J., and Mayntz, D. 2009. Nutrition, ecology and nutritional ecology: toward an integrated framework. *Funct Ecol.*, 23: 4–16.
- Retuerto, R., Vilas, J. S., and Varga, S. 2017. Sexual dimorphism in response to stress. *Environ Exp Bot.*, 146: 1–4.
- Ribeiro, V. A., Silva, R. N. D., Sousa-Souto, L., and Neves, F. D. S. 2013. Fluctuating asymmetry of and herbivory on *Poincianella pyramidalis* (Tul.) LP Queiroz (Fabaceae) in pasture and secondary tropical dry forest. *Acta Bot Bras.*, 27: 21–25.
- Rhoades, D. F. 1979. Evolution of plant chemical defense against herbivores. *Herbivores: their interaction with secondary plant metabolites*, 3–54.
- Rhoades, D. F., and Cates, R. G. 1976. Toward a general theory of plant antiherbivore chemistry. In: *Biochemical interaction between plants and insects*, 168–213.
- Roberts, M. F., and Wink, M.. 1998. Biochemistry, ecology, and medicinal applications. In: Roberts, M. F., Wink, M. (Eds). *Alkaloids*. New York: Plenum Press, 1–7.
- Roberts, M. R., and Paul, N. D. 2006. Seduced by the dark side: integrating molecular and ecological perspectives on the influence of light on plant defense against pests and pathogens. *New Phytol.*, 170: 677–699.
- Robinson, K. M., Delhomme, N., Mähler, N., Schiffthaler, B., Önskog, J., Albrechtsen, B. R., Ingvarsson, P. K., Hvidsten, T. R., Jansson, S., Street, N. R. 2014.

- Populus tremula* (European aspen) shows no evidence of sexual dimorphism. *BMC Plant Biol.*, 14: 1–14.
- Roeder, K. A., and Behmer, S. T. 2014. Lifetime consequences of food protein-carbohydrate content for an insect herbivore. *Funct Ecol.*, 28: 1135–1143.
- Ruuhola, T., Nybakken, L., and Julkunen-Tiitto, R. 2013. Sex-related differences of two ecologically divergent *Salix* species in the responses of enzyme activities to atmospheric CO₂ enrichment. *Biol Pl.*, 57: 732–738.
- Sakai, A., Sasa, A., and Sakai, S. 2006. Do sexual dimorphisms in reproductive allocation and new shoot biomass increase with an increase of altitude? A case of the shrub willow *Salix reinii* (Salicaceae). *Am J Bot.*, 93: 988–992.
- Salgado-Luarte, C., and Gianoli, E. 2010. Herbivory on temperate rainforest seedlings in sun and shade: resistance, tolerance and habitat distribution. *PLoS One.*, 5: e11460.
- Salgado-Luarte, C., and Gianoli, E. 2011. Herbivory may modify functional responses to shade in seedlings of a light-demanding tree species. *Funct Ecol.*, 25: 492–499.
- Salgado-Luarte, C., and Gianoli, E. 2012. Herbivores modify selection on plant functional traits in a temperate rainforest understory. *Am Nat.*, 180: E42–E53.
- Salminen, J-P., and Karonen, M. 2011. Chemical ecology of tannins and other phenolics: we need a change in approach. *Funct Ecol.*, 25: 325–338.
- Sandner T. M., and Matthies D. 2017. Fluctuating asymmetry of leaves is a poor indicator of environmental stress and genetic stress by inbreeding in *Silene vulgaris*. *Ecol Indic.*, 79: 247–253.
- Santos, J. C., and Fernandes, G. W. 2010. Mediation of herbivore attack and induced resistance by plant vigor and ontogeny. *Act Oecol.*, 36: 617–625.
- Santos, J. C., Tavares, C. B., and Almeida-Cortez, J. S. 2011. Plant vigor hypothesis refuted: preference-performance linkage of a gall-inducing weevil on small-sized host plant resources. *Bras J Biol.*, 71: 65–69.

- Santos, J. C., Alves-Silva, E., Cornelissen, T. G., and Fernandes, G. W. 2013. The effect of fluctuating asymmetry and leaf nutrients on gall abundance and survivorship. *Basic Appl Ecol.*, 14: 489–495.
- Sánchez-Vilas, J., and Pannell, J. R. 2011. Sex-differential herbivory in androdioecious *Mercurialis annua*. *PLoS One.*, 6: e22083.
- Sánchez-Vilas, J., and Retuerto, R. 2009. Sex-specific physiological, allocation and growth responses to water availability in the subdioecious plant *Honckenya peploides*. *Pl Biol.*, 11: 243–254.
- SAS Institute Inc., SAS/STAT User's Guide, version 9.1.3, Cary, N. C., SAS Institute Inc. 011.
- Schlichting, C. D., and Pigliucci, M. 1998. Phenotypic evolution: a reaction norm perspective. Sunderland: Sinauer Associates Incorporated.
- Schultz, J. C., Appel, H. M., Ferrieri, A., and Arnold, T. M. 2013. Flexible resource allocation during plant defense responses. *Front Pl Sci.*, 4: 324.
- Selaković, S., Vujić, V., Stanisavljević, N., Jovanović, Ž., Radović, S., and Cvetković, D. 2017. Ontogenetic stage, plant vigor and sex mediate herbivory loads in a dioecious understory herb. *Acta Oecol.*, 85: 184–190.
- Selaković, S., Stanisavljević, N., Vujić, V., Rubinjoni, L., Jovanović, Ž., Radović, S., and Cvetković, D. 2018. Light and sex interplay: differential herbivore damage in sun and shade in dioecious *Mercurialis perennis*. *Arch Biol Sci*, <https://doi.org/10.2298/ABS171207007S>.
- Silva, H. V., Alves-Silva, E., and Santos, J. C. 2016. On the relationship between fluctuating asymmetry, sunlight exposure, leaf damage and flower set in *Miconia fallax* (Melastomataceae). *Trop Ecol.*, 57: 419–427.
- Simancas, B., Cotado, A., Müller, M., and Munné-Bosch, S. 2018. Phosphate starvation during the transition phase increases the sex ratio and 12-oxo-phytodienoic acid contents in females of *Urtica dioica*. *Environ Exp Bot.*, 145: 39–46.
- Singleton, V. L., and Rossi, J. A. 1965. Colorimetry of total phenolics with phosphomolybdic-phosphotungstic acid reagents. *Am J Enol Viticult.*, 16: 144–

- Sinimbu, G., Coley, P. D., Lemes, M. R., Lokvam, J., and Kursar, T. A. 2012. Do the antiherbivore traits of expanding leaves in the Neotropical tree *Inga paraensis* (Fabaceae) vary with light availability? *Oecologia.*, 170: 669–676.
- Sheets, H. D. 2003. IMP-Integrated Morphometrics Package. Buffalo: Department of physics, Canisius College. <http://www3.canisius.edu/~sheets/morphsoft.html>
- Spiegel, L. H., and Price, P. W. 1996. Plant aging and the distribution of *Rhyacionia neomexicana* (Lepidoptera: Tortricidae). *Environ Entomol.*, 25: 359–365.
- Stamp, N. 2003. Theory of plant defensive level: example of process and pitfalls in development of ecological theory. *Oikos.*, 102: 672–678.
- Stanisavljević, N. 2015. Karakterizacija i in vitro biološke aktivnosti fenolnih jedinjenja graška (*Pisum sativum* L). Doktorska disertacija. Biološki fakultet, Univerzitet u Beogradu, Srbija.
- Stoepler, T. M., and Rehill, B. 2012. Forest habitat, not leaf phenotype, predicts late-season folivory of *Quercus alba* saplings. *Funct Ecol.*, 26: 1205–1213.
- Stowe, K. A., Marquis, R. J., Hochwender, C. G., and Simms, E. L. 2000. The evolutionary ecology of tolerance to consumer damage. *Annu Rev Ecol Syst.*, 31: 565–595.
- Strømme, C. B., Julkunen-Tiitto, R., Olsen, J. E., and Nybakken, L. 2018. The dioecious *Populus tremula* displays interactive effects of temperature and ultraviolet-B along a natural gradient. *Environ Exp Bot.*, 146: 13–26.
- Suárez-Piña, J., Rueda-Almazán, J. E., Ayestarán L. M., and Alcalá R. E. 2016. Effect of light environment on intra-specific variation in herbivory in the carnivorous plant *Pinguicula moranensis* (Lentibulariaceae). *J Pl Inte.*, 11: 146–151.
- Takafumi, H., Kawase, S., Nakamura, M., and Hiura, T. 2010. Herbivory in canopy gaps created by a typhoon varies by understory plant leaf phenology. *Ecol Entomol.*, 35: 576–585.
- Teitel, Z., Pickup, M., Field, D. L., and Barrett, S. C. H. 2016. The dynamics of resource allocation and costs of reproduction in a sexually dimorphic,

- wind-pollinated dioecious plant. *Pl Biol.*, 18: 98–103.
- Telhado, C., Esteves, D., Cornelissen, T., Fernandes, G. W., and Carneiro, M. A. A. 2010. Insect herbivores of *Coccoloba cereifera* do not select asymmetric plants. *Environ Entomol.*, 39: 849–855.
- Thomas, S. C., Sztaba, A. J., and Smith, S. M. 2010. Herbivory patterns in mature sugar maple: variation with vertical canopy strata and tree ontogeny. *Ecol Entomol.*, 35: 1–8.
- Valladares, F., and Niinemets, Ü. 2008. Shade tolerance, a key plant feature of complex nature and consequences. *Annu Rev Ecol Evol Syst.*, 39: 237–257.
- Vandepitte, K., Roldán-Ruiz, I., Leus, L., Jacquemyn, H., and Honnay, O. 2009. Canopy closure shapes clonal diversity and fine-scale genetic structure in the dioecious understorey perennial *Mercurialis perennis*. *J Ecol.* 97: 404–414.
- Venâncio, H., Alves-Silva, E., and Santos, J. C. 2016. Leaf phenotypic variation and developmental instability in relation to different light regimes. *Act Bot Bras.*, 30: 296–303.
- Vujić, V. 2016a. Inter- i intrapopulaciona varijabilnost oblika lista *Mercurialis perennis* L. i delova cveta *Iris pumila* L.: uticaj heterogenih uslova svetlosti i antropogeno indukovanog stresa. Doktorska disertacija. Biološki fakultet, Univerzitet u Beogradu, Srbija.
- Vujić, V., Rubinjoni, L., Selaković, S., and Cvetković, D. 2016b. Small-scale variations in leaf shape under anthropogenic disturbance in dioecious forest forb *Mercurialis perennis*: A geometric morphometric examination. *Arch Biol Sci.*, 68: 705–713.
- Wade, K. M. 1981. Experimental studies on the distribution of the sexes of *Mercurialis perennis* L. II. Transplanted populations under different canopies in the field. *New Phytol.*, 87: 439–446.
- Wadhwa S., Gallagher F. J., Rodriguez-Saona C., and Holzappel C. 2017. Exposure to heavy metal stress does not increase fluctuating asymmetry in populations of isopod and hardwood trees. *Ecol Indic.*, 76: 42–51.

- War, A. R., Paulraj, M. G., Ahmad, T., Buhroo, A. A., Hussain, B., Ignacimuthu, S., and Sharma, H. C. 2012. Mechanisms of plant defense against insect herbivores. *Plant signaling & behavior.*, 7: 1306–1320.
- Warner, P. J., and Cushman, H. J. 2002. Influence of herbivores on a perennial plant: variation with life history stage and herbivore species. *Oecologia.*, 132: 77–85.
- Weijschedé, J., Martínková, J., De Kroon, H., and Huber, H. 2006. Shade avoidance in *Trifolium repens*: costs and benefits of plasticity in petiole length and leaf size. *New Phytol.*, 172: 655–666.
- White, T. T. 1984. The abundance of invertebrate herbivores in relation to the availability of nitrogen in stressed food plants. *Oecologia.*, 63: 90–105.
- Wiggins, N. L., Forrister, D. L., Endara, M. J., Coley, P. D., and Kursar, T. A. 2016. Quantitative and qualitative shifts in defensive metabolites define chemical defense investment during leaf development in *Inga*, a genus of tropical trees. *Ecol Evol.*, 6: 478–492.
- Wright, V. L., and Dorken, M. E. 2014. Sexual dimorphism in leaf nitrogen content but not photosynthetic rates in *Sagittaria latifolia* (Alismataceae). *Botany.*, 92: 109–112.
- Xu, B. J., and Chang, S. K. C. 2007. A comparative study on phenolic profiles and antioxidant activities of legumes as affected by extraction solvents. *J Food Sci.*, 72: S159–S166.
- Yan, J. X., Lu, Y. F., and Yan, S. C. 2014. The effects of irradiance on the production of phenolic compounds and condensed tannins in *Larix gmelinii* needles. *Biol Pl.*, 58: 159–163.
- Zhang, L., Yang, M., Gao, J., Jin, S., Wu, Z., Wu, L., and Zhang, X. 2016. Seasonal variation and gender pattern of phenolic and flavonoid contents in *Pistacia chinensis* Bunge inflorescences and leaves. *J Pl Physiol.*, 191: 36–44.
- Zvereva, E. L., Kozlov, M., Niemelä, V. P., and Haukioja, E. 1997. Delayed induced resistance and increase in leaf fluctuating asymmetry as responses of *Salix borealis* to insect herbivory. *Oecologia.*, 109: 368–373.

Zverev, V., Lama, A. D., and Kozlov, M. V. 2018. Fluctuating asymmetry of birch leaves did not increase with pollution and drought stress in a controlled experiment. *Ecol Indic.*, 84: 283–289.

Züst, T., and Agrawal, A. A. 2017. Trade-Offs Between Plant Growth and Defense Against Insect Herbivory: An Emerging Mechanistic Synthesis. *Ann Rev Pl Biol.*, 68: 513–534.

Šehovac, E. 2011. Studija zaštite Nacionalni park Kopaonik. Studija, Zavod za zaštitu prirode Srbije, Beograd.

<http://npkopaonik.com/priroda/prirodne-odlike/>

8. Biografija autora

Sara D. Selaković rođena je 6.7.1988. godine u Čačku, gde je i završila osnovnu školu i gimnaziju. Osnovne akademske studije na Biološkom fakultetu Univerziteta u Beogradu upisala je školske 2007/2008. godine, studijska grupa Ekologija i zaštita životne sredine. Diplomirala je 2010. godine kada je upisala master akademske studije, smer Ekologija. Odbranila je master tezu 2012. godine, a školske 2012/2013. godine upisala je doktorske studije na smeru Biologija, modul Evolucionarna biologija, na istom fakultetu. Bila je stipendista Ministarstva prosvete i sporta Republike Srbije u periodu od 2008. i 2009. godine, i Fonda za mlade talente 2011. godine. Od januara 2013. godine radi kao asistent na Katedri za genetiku i evoluciju Biološkog fakulteta Univerziteta u Beogradu.

Прилог 1.

Изјава о ауторству

Име и презиме аутора Сара Д. Селаковић
Број индекса Б3013/2012

Изјављујем

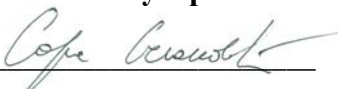
да је докторска дисертација под насловом

Ефекти пола и хетерогених услова светлости у популацијама дводоме врсте
Mercurialis perennis L. на диференцијалну хербиворију

- резултат сопственог истраживачког рада;
- да дисертација у целини ни у деловима није била предложена за стицање друге дипломе према студијским програмима других високошколских установа;
- да су резултати коректно наведени и
- да нисам кршио/ла ауторска права и користио/ла интелектуалну својину других лица.

У Београду,

Потпис аутора



Прилог 2.

Изјава о истоветности штампане и електронске верзије докторског рада

Име и презиме аутора Сара Д. Селаковић

Број индекса Б3013/2012

Студијски програм Еволуциона биологија

Наслов рада Ефекти пола и хетерогених услова светлости у популацијама дводоме
врсте *Mercurialis perennis* L. на диференцијалну хербиворију

Ментори др Драгана Цветковић и др Немања Станисављевић

Изјављујем да је штампана верзија мог докторског рада истоветна електронској верзији коју сам предао/ла ради похрањена у **Дигиталном репозиторијуму Универзитета у Београду**.

Дозвољавам да се објаве моји лични подаци везани за добијање академског назива доктора наука, као што су име и презиме, година и место рођења и датум одбране рада.

Ови лични подаци могу се објавити на мрежним страницама дигиталне библиотеке, у електронском каталогу и у публикацијама Универзитета у Београду.

Потпис аутора



У Београду,

Прилог 3.

Изјава о коришћењу

Овлашћујем Универзитетску библиотеку „Светозар Марковић“ да у Дигитални репозиторијум Универзитета у Београду унесе моју докторску дисертацију под насловом:

Ефекти пола и хетерогених услова светлости у популацијама дводоме врсте *Mercurialis perennis* L. на диференцијалну хербиворију

која је моје ауторско дело.

Дисертацију са свим прилозима предао/ла сам у електронском формату погодном за трајно архивирање.

Моју докторску дисертацију похрањену у Дигиталном репозиторијуму Универзитета у Београду и доступну у отвореном приступу могу да користе сви који поштују одредбе садржане у одабраном типу лиценце Креативне заједнице (Creative Commons) за коју сам се одлучио/ла.

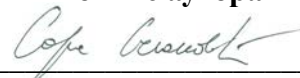
1. Ауторство (CC BY)
2. Ауторство – некомерцијално (CC BY-NC)
3. Ауторство – некомерцијално – без прерада (CC BY-NC-ND)
4. Ауторство – некомерцијално – делити под истим условима (CC BY-NC-SA)
5. Ауторство – без прерада (CC BY-ND)
6. Ауторство – делити под истим условима (CC BY-SA)

(Молимо да заокружите само једну од шест понуђених лиценци.

Кратак опис лиценци је саставни део ове изјаве).

У Београду,

Потпис аутора



1. **Ауторство.** Дозвољаваате умножавање, дистрибуцију и јавно саопштавање дела, и прераде, ако се наведе име аутора на начин одређен од стране аутора или даваоца лиценце, чак и у комерцијалне сврхе. Ово је најслободнија од свих лиценци.
2. **Ауторство – некомерцијално.** Дозвољаваате умножавање, дистрибуцију и јавно саопштавање дела, и прераде, ако се наведе име аутора на начин одређен од стране аутора или даваоца лиценце. Ова лиценца не дозвољава комерцијалну употребу дела.
3. **Ауторство – некомерцијално – без прерада.** Дозвољаваате умножавање, дистрибуцију и јавно саопштавање дела, без промена, преобликовања или употребе дела у свом делу, ако се наведе име аутора на начин одређен од стране аутора или даваоца лиценце. Ова лиценца не дозвољава комерцијалну употребу дела. У односу на све остале лиценце, овом лиценцом се ограничава највећи обим права коришћења дела.
4. **Ауторство – некомерцијално – делити под истим условима.** Дозвољаваате умножавање, дистрибуцију и јавно саопштавање дела, и прераде, ако се наведе име аутора на начин одређен од стране аутора или даваоца лиценце и ако се прерада дистрибуира под истом или сличном лиценцом. Ова лиценца не дозвољава комерцијалну употребу дела и прерада.
5. **Ауторство – без прерада.** Дозвољаваате умножавање, дистрибуцију и јавно саопштавање дела, без промена, преобликовања или употребе дела у свом делу, ако се наведе име аутора на начин одређен од стране аутора или даваоца лиценце. Ова лиценца дозвољава комерцијалну употребу дела.
6. **Ауторство – делити под истим условима.** Дозвољаваате умножавање, дистрибуцију и јавно саопштавање дела, и прераде, ако се наведе име аутора на начин одређен од стране аутора или даваоца лиценце и ако се прерада дистрибуира под истом или сличном лиценцом. Ова лиценца дозвољава комерцијалну употребу дела и прерада. Слична је софтверским лиценцама, односно лиценцама отвореног кода.