

# Adaptivne radijacije u ekološkoj specijaciji

---

Krkanić, Lara

Undergraduate thesis / Završni rad

2023

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

Permanent link / Trajna poveznica: <https://um.nsk.hr/um:nbn:hr:217:649643>

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

Download date / Datum preuzimanja: **2025-02-06**



Repository / Repozitorij:

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



Sveučilište u Zagrebu  
Prirodoslovno-matematički fakultet  
Biološki odsjek

Lara Krkanić

# **Adaptivne radijacije u ekološkoj specijaciji**

Završni rad

Zagreb, 2023.

University of Zagreb  
Faculty of Science  
Department of Biology

Lara Krkanić

**Adaptive radiations in ecological speciation**

Bachelor thesis

Zagreb, 2023.

Ovaj završni rad je izrađen u sklopu studijskog programa Znanosti o okolišu na Zoologijskom zavodu Biološkog odsjeka Prirodoslovno-matematičkog fakulteta u Zagrebu, pod mentorstvom izv. prof. dr. sc. Anamarije Štambuk.

# TEMELJNA DOKUMENTACIJSKA KARTICA

---

Sveučilište u Zagrebu  
Prirodoslovno-matematički fakultet  
Biološki odsjek

Završni rad

## Adaptivne radijacije u ekološkoj specijaciji

Lara Krkanić

Rooseveltov trg 6, 10000 Zagreb, Hrvatska

Adaptivna radijacija jest proces u kojem organizmi iz zajedničkog pretka diversificiraju u mnoštvo novih oblika, a potaknuta je promjenom uvjeta u okolišu ili novim resursima koji populaciji postaju dostupni (primjer su Darwinove zebe s otočja Galapagos). Adaptivna radijacija posljedica je ekološke specijacije. To je pak proces nastanka novih vrsta koji proizlazi iz reproductivne izolacije do koje dolazi zbog nekog ekološkog čimbenika koji smanjuje ili eliminira protok gena između dviju populacija. Uz navedeno, i hibridizacija može biti uzrok adaptivnoj radijaciji. Ona je izvor nekih novih svojstava u primjeru porodice *Cichlidae* u trima istočnoafričkim jezerima. Sva tri jezera predstavljaju žarišta bioraznolikosti budući da se u evolucijski kratkom vremenu od nekoliko stotina tisuća godina (u jezeru Victoria i manje) tamo diversificiralo nekoliko stotina endemskih vrsta.

Ključne riječi: adaptivna radijacija, specijacija, Darwinove zebe, istočnoafrička jezera, porodica *Cichlidae*

Rad je pohranjen u Središnjoj biološkoj knjižnici

Mentor: izv. prof. dr. sc. Anamaria Štambuk

## BASIC DOCUMENTATION CARD

---

University of Zagreb  
Faculty of Science  
Department of Biology

Bachelor thesis

# Adaptive radiations in ecological speciation

Lara Krkanić

Rooseveltova trg 6, 10000 Zagreb, Croatia

Adaptive radiation is a process in which organisms diversify rapidly from an ancestral species into a multitude of new forms, particularly when there is a change in the environmental conditions or new resources become available to organisms (example: Darwin's finches on Galapagos Islands). Adaptive radiation is a consequence of ecological speciation. It is a process in which new species form due to reproductive isolation that occurs because of a certain ecological factor that reduces or eliminates gene flow between two populations. In addition, hybridization can also be the cause of adaptive radiation. It is the cause of some new characteristics in *Cichlidae* family which inhabits three East African lakes. These lakes represent hotspots of biodiversity, since a few hundred endemic species have diversified there in short period of time, in just several thousand years (in Lake Victoria even less).

Keywords: adaptive radiation, speciation, Darwin's finches, East African lakes, family *Cichlidae*

Thesis is deposited in Central Biological Library.

Mentor: Associate Professor Anamaria Štambuk, PhD.

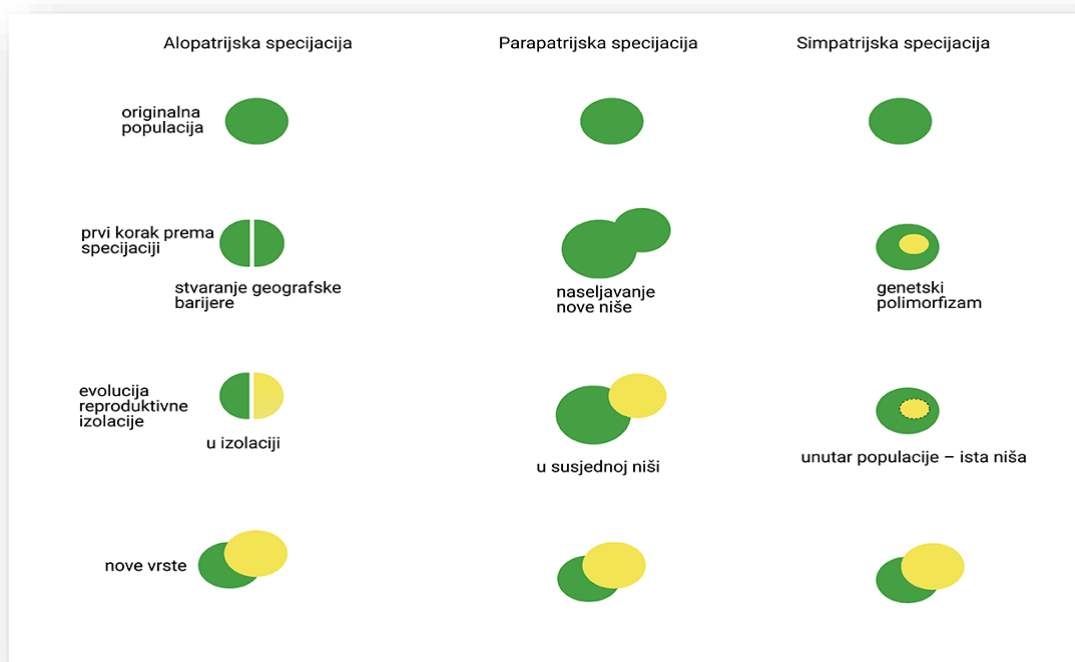
## Sadržaj

1. Uvod .....	1
2. Adaptivna radijacija .....	3
3. Darwinove zebe .....	4
3.1. Istraživanje zebe u novije vrijeme .....	5
4. Ciklidi .....	8
4.1. Zašto su tako brojni? .....	8
4.2. Jezero Victoria .....	9
4.2.1. Svadbena obojenost mužjaka.....	10
4.3. Jezero Malawi.....	12
4.3.1. Tri faze u adaptivnoj radijaciji ciklida.....	12
4.4. Jezero Tanganyika .....	14
4.4.1. Adaptacije glave i usta.....	14
5. Zaključak .....	16
6. Literatura .....	17

# 1. Uvod

Vrsta je najveća grupa jedinki koje dijele gensku zalihu. Ona je osnovna taksonomska jedinica koja obuhvaća grupu jedinki prirodne populacije morfološki sličnih karakteristika čije je osnovno svojstvo da se mogu međusobno pariti, a da su reproduktivno izolirane od ostalih takvih grupa, odnosno ostalih vrsta. Neke vrste uspješno koegzistiraju sa svojim okolišem, neke izumiru ili zbog prirodne selekcije ili zbog utjecaja čovjeka, a neke evoluiraju u nove reproduktivne grupe procesom specijacije (Mrežni udžbenik iz genetike, 2022). Najjednostavnije govoreći, specijacija je evolucijski proces kojim nastaju nove vrste. Ona se događa kada se skupina unutar vrste odvoji od ostalih članova i razvije vlastite jedinstvene karakteristike (Wiens, 2004).

Pojam ekološke specijacije definiran je kao ojačanje reproduktivne izolacije koja je izravna posljedica divergentne prirodne selekcije pod utjecajem okoliša (Rundle i Nosil, 2005). Ako se uzme u obzir geografska odvojenost, onda postoje tri glavne vrste specijacije (Mrežni udžbenik iz genetike, 2022) (Slika 1.).



Slika 1. Vrste specijacije

(Preuzeto iz Mrežni udžbenik iz genetike, 2022)



1. Alopatrijska specijacija: populacije su odvojene nekom fizičkom barijerom, poput planine, vode itd (Rundle i Nosil, 2005). Dakle, razvoj teče u dvjema prostornim izoliranim populacijama koje potječu od zajedničkog ishodišta, ali žive u različitim obitavalištima.

Ukoliko su dosta dugo odvojene, snagom djelovanja prirodne selekcije, genetičkog drifta stvorit će se nove alopatrijske vrste (Abbot i dr., 2013). Najpoznatiji primjer su zebe s otočja Galapagos koje su primjer adaptivne radijacije koja je u fokusu ovog seminarskog rada, a o kojoj će biti riječ dalje u radu.

2. Parapatrijska specijacija: populacija živi u okolini na koju se dobro prilagodila te se nakon nekog vremena počne širiti na prostor koji od nje zahtijeva drugačije prilagodbe. Stoga, na populaciju u novoj niši djeluju selektivni pritisci tako da se u njoj akumuliraju geni različiti od izvorne populacije te izvorna i nova populacija uglavnom ne mogu ulaziti u reproduktivne odnose. Ipak postoje tzv. hibridne zone u kojima se te dvije populacije i dalje mogu križati, ali je protok gena vrlo ograničen (Hollocher, 2013).

3. Simpatrijska specijacija: unutar istog staništa dolazi do reproduktivne izolacije dijela populacije. Dakle, iako jedinke dijele isti prostor, specijacija se pojavljuje zbog reproduktivne izoliranosti. Mehanizmi izolacije se dijele na morfološke (neusklađenosti spolnih organa), ekološke (razlike u ekološkim potrebama jedinki), vremenske (razlike u razdoblju i sezoni parenja) ili bihevioralne (različiti rituali udvaranja). Još jedan važan mehanizam izolacije je poliploidija u biljaka jer hibridizacijom različitih vrsta nastaje nova vrsta koja je reproduktivno izolirana od roditeljskih vrsta (Herrera i Garcia-Bertrand, 2023).

Cilj ovog seminarskog rada je objasniti adaptivnu radijaciju u ekološkoj specijaciji kroz dva najistaknutija primjera. Prvi i vjerojatno najpoznatiji primjer su Darwinove zebe roda *Geospiza* s otočja Galapagos, a drugi primjer su fascinantne ribe porodice *Cichlidae* u tri istočna afrička jezera.

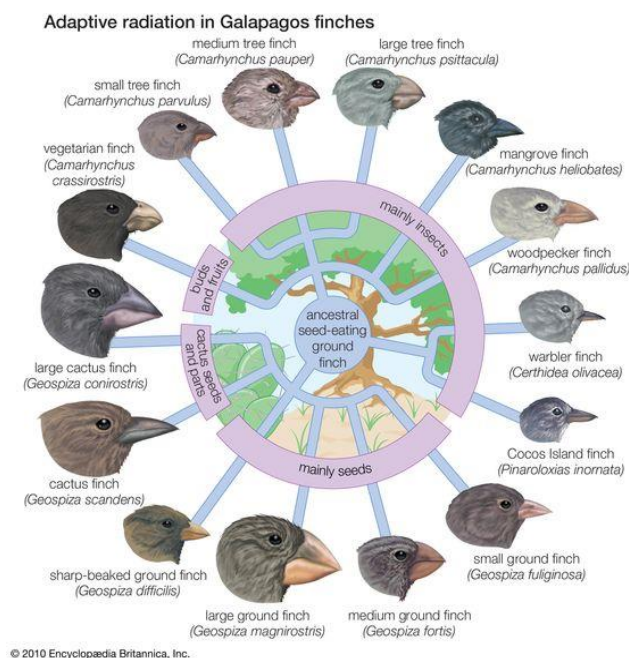
## 2. Adaptivna radijacija

Fascinantna raznolikost života na Zemlji predstavlja jedno od najintragantnijih i najviše istraživanih pitanja za biologe: kako i zašto nastaju varijacije između organizama? To pitanje vodi ka pojmu adaptivne radijacije. Pojam adaptivne radijacije i način na koji su ga biolozi od početka pa do novijih vremena definirali se razvijao i mijenjao. Prema Osbornu (1902.) adaptivna radijacija je diferencijacija nekih osobina u nekoliko smjerova iz primitivnog pretka. Kasnije, u 50.-im godinama prošlog stoljeća, George Gaylorde Simpson bio je smatran ocem modernog koncepta adaptivne radijacije. On je predlagao adaptivno zračenje kao glavni faktor bioraznolikosti iz paleontološke perspektive, budući da je bio stručnjak za izumrle sisavce i bavio se njihovim interkontinentskim migracijama (Moen i Morlon, 2014). Dakle, postavio je tvrdnju da velik dio raznolikosti organizama potječe od adaptivne radijacije - evolucijskog procesa kada manja grupa ancestralnih vrsta u kraćem vremenskom periodu diversificira u veliki broj novih vrsta. Prisutnost adaptacija među organizmima uzrokuje veću raširenost populacije, nego u slučaju kada tih adaptacija ne bi bilo. One se mogu javiti u mnoštvo oblika: na razini ponašanja koje utječe na mogućnost izbjegavanja predatora, na razini proteina gdje određeni proteini bolje reagiraju pri određenim temperaturama ili pak na anatomskoj razini gdje uz razvitak ili promjenu nekog dijela tijela mogu bolje iskoristavati resurse koji su im na raspolaganju ili pak u slučaju kompeticije za hranu, mogu prijeći na hranu koju dotad nisu konzumirali (Osborn, 1902). Među čimbenicima koji mogu potaknuti adaptivnu radijaciju, na prvom mjestu je vjerojatno ekološka mogućnost, u vidu nove ekološke niše. Ona se javlja kada se manjoj grupi neke vrste iznenada pruže resursi koje može iskoristavati, a obično je to hrana ili novi prostor, što omogućuje skupini da se brzo diversificira u vidu broja vrsta i fenotipskih karakteristika (Berta i dr., 2015). Od ostalih karakteristika, tu su i kompeticijske interakcije među srodnim taksonima kao i konvergentna evolucija. Ideja je zapravo jednostavna: iscrpljuju se zajednički resursi morfološki vrlo sličnih vrsta, što dovodi do pojavljivanja novih adaptivnih svojstava i brze diverzifikacije, što je primjer kod zeba s otočja Galapagos i njihovih kljunova. Dio grupe se svojim novim fenotipskim osobinama (oblikom kljuna) prilagodio na različitu prehranu, obzirom na onu koju su prije imale (Simpson, 1953). Jednostavnije govoreći, adaptivna radijacija je proces kada organizmi postignu neku vrlo povoljnu značajku koja im omogućuje prodor u nove, dotad neiskorištene životne prostore i uspješnu evoluciju (Schutler, 1996). Kao što je već spomenuto, najviše istraživani primjer adaptivne radijacije su porodica *Cichlidae* u afričkim jezerima te Darwinove zebe, a uz to se još mogu spomenuti primjer poput australskih

tobolčara, trobodljastih priljepaka, zmije porodice *Pseudoxyrhopiidae* na Madagaskaru, biljke roda *Argyroxiphium* s Havaja (Simpson, 1953).

### 3. Darwinove zebe

Charles Darwin bio je istaknuti prirodoslovac. Poznat je po svojoj teoriji evolucije. Evolucija se, prema Darwinu, ostvaruje na temelju triju faktora: varijaciji, nasljeđivanju i prirodnoj selekciji (Hrvatska enciklopedija, 2021). 1831. godine pridružio se ekspediciji koja je na jedrenjaku kraljevske mornarice Beagle trebala obaviti kartografska mjerenja Južne Amerike i Tihog oceana. To putovanje ostavilo je neizbrisiv trag u Darwinovom životu (Lotzof, 2016). Jedna od najvažnijih lokacija koje su posjetili tijekom ekspedicije bilo je pacifičko otočje Galapagos koje se sastoji od 30-ak otoka i otočića. Tamo je došao do značajnog otkrića, zahvaljujući zebama - pticama čije su se strukture tijela i kljuna i prehrambene navike razlikovale od otoka do otoka (Hrvatska enciklopedija, 2021). Dok je mapirao otočje Galapagos, Darwin je napravio opažanja koja su kasnije iznjedrila njegovu teoriju evolucije (Lotzof, 2016). Naime, Darwin je prikupio i sačuvao različite vrste zeba. Kad se vratio u Ujedinjeno Kraljevstvo, zajedno s ornitologom Johnom Gouldom pregledao je i determinirao svaku jedinku. Primijetili su sličnosti između tih zeba i jedne vrste u Južnoj Americi što je sugeriralo da su te kopnene zebe izvorno kolonizirale otok. Međutim, sve su se galapagoške zebe razlikovale od izvorne kopnene vrste, a također su se razlikovale i međusobno. Zaključili su da su zebe tijekom vremena evoluirale od izvorne kopnene vrste kako bi odgovarale uvjetima na svakom pojedinom otoku. Sveukupno, 14 ptica koje je Darwin donio određene su kao potpuno nove vrste, sve slične jedna drugoj, ali s određenim varijacijama od njihovog zajedničkog pretka. Darwin je predložio da su varijacije koje se vide i unutar i između vrsta zeba nastale slučajno. Varijacije koje su davale komparativnu prednost bilo kojoj zebi učinile su ih vjerojatnijim da će one preživjeti i reproducirati se, za razliku od onih s manje povoljnim karakteristikama (Grant i Grant, 2002).



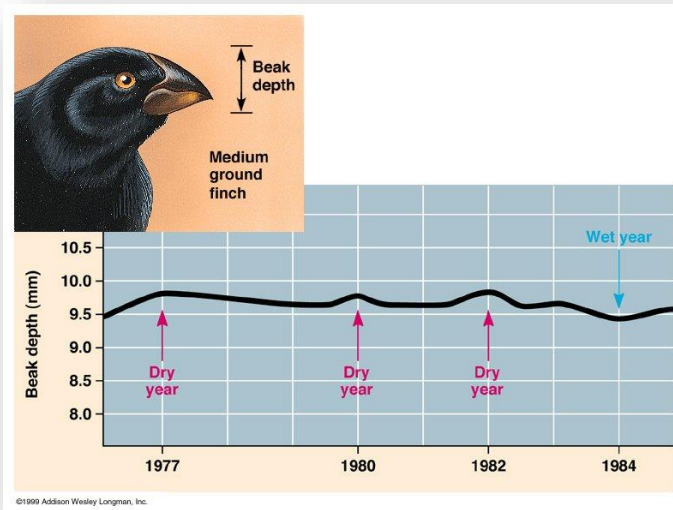
Slika 2. Oblik kljuna u zeba povezano s prehranom

(Preuzeto iz Rafferty, 2020)

### 3.1. Istraživanje zeba u novije vrijeme

Peter i Rosemary Grant su evlucijski biolozi koji su svojom izvanrednom i dugotrajnom studijom potkrijepili, potvrdili i proširili Darwinovu hipotezu analizirajući temeljne mehanizme evolucije (Grant i Grant, 2005). Krenuvši od 1973. godine, proveli su svake godine po šest mjeseci na otoku Daphne Major. Taj otok je bio idealno mjesto za takvo istraživanje i proučavanje promjena kod zeba budući da je izoliran i nenaseljen. Shodno tome, sve promjene koje su se događale u okolišu, a samim time i na zebama, bile su posljedica prirodnih sila bez ljudskog faktora (Singer, 2016). Još jedan faktor koji je tome pogodovao bili su ekstremni vremenski uvjeti: od sezone El Niña i obilnih padalina do sezone suše. S tim promjenama u okolišu, došlo je i do promjene u vrsti hrane koja je dostupna pticama.

Zebe imaju različite izvore prehrane: nektar iz biljaka, voće, dijelovi kaktusa (*Geospiza scandens*), insekti (*Geospiza difficilis*), dok se preostale hrane različitim sjemenkama. Grantsi su u fokus svog istraživanja ponajviše stavili vrstu *Geospiza fortis* s otočića Daphne Major (Achenbach, 2014).



Slika 3. Povezanost veličine kljuna i veličine sjemena kod zeba u sezonama suše i El Nina

(Preuzeto iz Carr, 2021)

Već je 1947. godine, posjetivši Galapagos, David Lack u svom radu povezoao razlike u veličini i obliku kljuna s razlikama u njihovim prehranbenim nišama, a to istraživanje su nastavili i produbili P. i R. Grant. *Geospiza magnirostris* (eng. the large ground finch) hrani se velikim sjemenkama, *Geospiza fuliginosa* (eng. the small ground finch) jede najmanje sjemenke, a *Geospiza fortis* (eng. the medium ground finch) jede sjemenke srednje veličine i upravo su kod *G. fortis* najviše pratili promjene za vrijeme ekstremnih vremenskih uvjeta (Lack, 1947). Godine 1977. suša je spriječila rast većine biljaka koje daju sjeme, stoga je brojnost populacije *G. fortis* smanjena. Ptice koje su imale manji kljun nestale su iz populacije brže od ptica velikog kljuna. Što je razlog tome? Naime, nakon što su se iscrpile zalihe malih sjemenki, ptice su ovisile o preostalim sjemenkama koje su bile veće. Ptice s većim kljunom su, naravno, lakše su mogle razbiti veće sjemenke, dok su ptice s manjim kljunom imale poteškoća (Boag i Grant, 1981). Ovo je jasan primjer prirodne selekcije koja je dovela do evolucije u idućoj generaciji. Zbog toga, potomstvo preživjelih imalo je u prosjeku duže kljunove nego prethodna populacija (Bell, 2015). Obrat se dogodio 6 godina kasnije. Naime, tijekom 1982. i 1983. godine El Niño je donio čak osam mjeseci kiše što je za to područje bilo neobično. Dakako, sve te padaline donijele su promjene u vegetaciji koja raste na otoku. Od onih velikih, tvrdih sjemenki, sada su na otoku preostale različite vrste manjih i mekših sjemenki što je u tom trenutku dalo prednost pticama s manjim kljunom jer su obzirom na

morfologiju svog kljuna lakše iskorištavale taj resurs (Achenbach, 2014). Činjenice koje su proizašle iz njihovog istraživanja su:

1. Prirodnoj selekciji ne trebaju milijuni godina, već se rezultati mogu vidjeti unutar dvije godine. Značajke ovih populacija na Galapagosu mogu se promijeniti u relativno kratkom roku (Zimmer i Douglas, 2013).

2. Koristeći varijacije u mitohondrijskoj DNA i mikrosatelitskim regijama jezgrine DNA, pokazali su kako je 14 vrsta zeba doista evoluiralo od jednog zajedničkog pretka koji je kolonizirao Galapagos prije otprilike 2,5 milijuna godina. Isto tako, identificirali su gen Bmp4 koji utječe na razvoj oblika kljuna i odigrao je važnu ulogu u evoluciji zeba (Weiner, 1995).

## 4. Ciklidi

U bogatoj svjetskoj fauni, trenutno je opisano oko 57 tisuća recentnih vrsta kralježnjaka. Čak više od polovice tog broja vrsta čine ribe, uglavnom razreda Actinopterygii. Preciznije procjene neće nikada biti moguće jer neke vrste izumiru brže nego li su neke druge otkrivene u malo zabačenijim područjima. Razlog tomu su prirodni faktori, od interpecijske i intraspecijske kompeticije, ali i ljudski faktori, poput uništavanja prirodnih staništa i onečišćenja (Grande, 1998). U smislu evolucijskog uspjeha, jedna porodica riba je posebno uspješna što je razlog mnogim studijama provedenim na njima, a to je porodica *Cichlidae*. To je najraznovrsnija porodica kralježnjaka s oko 3 000 opisanih vrsta (Meyer, 2015). Ciklidi su postali model za proučavanje u raznim područjima znanosti, kao što su genetika, ekologija, evolucija, fiziologija, razvojna biologija i biologija ponašanja. Fenotipski se jako razlikuju jedni od drugih i mogu se lako uzgajati u laboratoriju što znanstvenicima veoma olakšava posao. Zbog svoje razigrane obojanosti, oblika tijela, zanimljive su i širem stanovništvu, odnosno mnogi ih drže u akvarijima kao kućne ljubimce. No, ipak njihovo prirodno stanište su slatkovodna jezera i rijeke. Točnije, nastanjuju rijeke i jezera Indije, Afrike te Srednje i Južne Amerike. Sva istraživanja usredotočena su na ciklide istočnoafričkih jezera Malawi, Victoria i Tanganyka jer ona predstavljaju žarišta bioraznolikosti (Santos i dr., 2023).

### 4.1. Zašto su tako brojni?

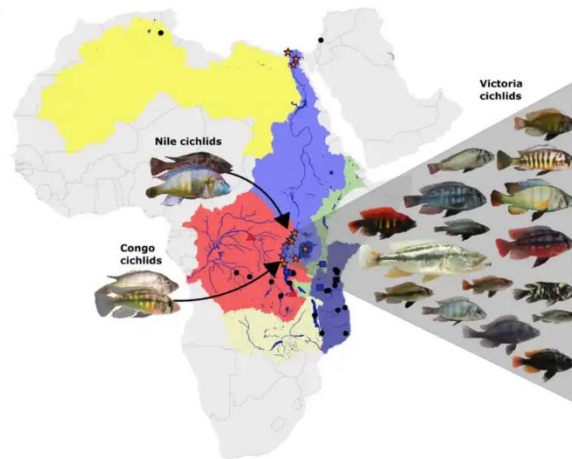
Jedno od središnjih pitanja, na koja su znanstvenici desetljećima dolazili do odgovora, jest zašto postoji toliko puno vrsta ciklida i zašto su upravo oni toliko diversificirali, budući da dijele stanište i s ostalim porodicama riba (McGee i dr., 2020). Prvo, skoro svaka riba ima duplo više gena u svom genomu nego, na primjer, ljudi. Općenito govoreći, duplikacija, kao jedna od kromosomskih aberacija, jako je važna u evoluciji novih gena. Dakle, što je više gena prisutno u organizmu, to su veće mogućnosti za promjene. Duplikacije omogućuju dodatni materijal za evoluciju novih gena, čak i cijelih porodica gena. Kada postoji više kopija nekog gena, stara kopija vrši svoju uobičajenu funkciju, a nova kopija je slobodna za akumuliranje mutacija i nastanak novih alela koji kontroliraju nova svojstva (Mrežni udžbenik iz genetike, 2022). Tako da duplikacija gena povećava količinu genetskog materijala koji bi zatim mogao doprinijeti povećanju genotipske i fenotipske složenosti organizama tijekom evolucije. Drugo, govoreći o afričkim ciklidima, ono što je bilo odgovorno kao izvor novih svojstava jest hibridizacija. To je proces spajanja dviju visoko srodnih vrsta pri čemu nastaju nove genetičke varijante, a do njih ne bi bilo moguće doći parenjem unutar populacije iste

vrste. Dolazi do nastanka novih osobina koje jedinkama omogućavaju bolju prilagodbu na dani okoliš (Seehausen, 2004). Doista, vrste koje su evoluirale pokazuju zanimljivu kombinaciju boja koja nije slučajna, prilagođena su različitim staništima; od bistrih plićaka do mutnih dubina, od stjenovitih obala do pješčanih dna. Ovisno o vrsti, ciklidi se mogu hraniti planktonom, ličinkama, mogu strugati alge sa stijena, otvarati školjke, a čak loviti i druge ribe ili njihova jajašca (Seehausen i dr., 2017). Dakle, kombinacijom specijacije, hibridizacije i adaptivne radijacije, tri istočnoafrička jezera postala su bogatija za otprilike 700 novih vrsta ciklida u, evolucijski gledano, kratkom vremenskom periodu (Abbot i dr., 2013).

#### 4.2. Jezero Victoria

Jezero Viktoria najveće je jezero u Africi i najveće tropsko jezero na svijetu. Površina mu iznosi oko 69 000 km<sup>2</sup> s maksimalnom dubinom od oko 80 metara. Obzirom na ostala jezera (Malawi i Tanganyika) relativno je plitko i dosta mutno. Formirano je prije 400 000 godina, no zbog klimatskih uvjeta presušilo je prije 17 300 godina, da bi prije 14 700 godina ponovno započelo njegovo formiranje (Miriti, 2023). Jezero je tijekom svoje povijesti nekoliko puta presušilo, no zadnje se desilo prije 17 300 godina i od tada je postojano te su se u tako kratkom periodu u jezeru Viktoria pojavile nove endemske vrste ciklida. Čak njih 500 vrsta nastanilo je to područje. Posebnu genetsku raznolikost i sposobnost prilagodbe ciklida Viktorijinog jezera pokazuje činjenica da se više od 40 drugih vrsta riba koje su u isto vrijeme naselile jezero jedva promijenilo od tada. Upravo je tamo najveća stopa specijacije kod svih kralježnjaka (McGee i dr., 2020). Znanstvenici koji su provodili studije o ciklidima u Viktorijinom jezeru, otkrili su da je proces hibridizacije dviju vrsta započeo prije 150 000 godina. U tom periodu vladala je vlažna sezona te su pritoci jezeru bili gornji Nil i rijeka Kongo, a svaka od njih imala je svoje predstavnike ciklida koji su se susreli u jezeru. Dakle, ciklidi u jezeru Viktorija nisu potekli od jednog pretka (Slika 4.), već od dva pretka u dalekom srodstvu (Seehausen i dr., 2017). Iznenadujuće, unatoč 10 puta manjoj raznolikosti mitohondrijske DNA, fenotipska raznolikost među ciklidima Viktorijinog jezera slična je onoj u nekoliko milijuna godina starom jezeru Malawi (Joyce i dr., 2005). Budući da je u tako kratkom roku nastalo toliko vrsta koje su koegzistirale na istom području, morale su se nekako prilagoditi, razlikovati jedne od drugih kako ne bi došlo do međusobne kompeticije.





Slika 4. Adaptivna radijacija u jezeru Victoria

(Preuzeto iz Seehausen i dr., 2017)

#### 4.2.1. Svadbena obojenost mužjaka

Kada se vrste prvo počinju razilaziti, identitet svake od novonastalih vrsta održava se reproduktivnom izolacijom kroz zaustavljanje protoka gena. Reprodiktivna izolacija ide u dva smjera; kao pred- i postzigotna. Jedan od mehanizama koji prethodi predzigotnoj reproduktivnoj izolaciji među simpatričnim vrstama je izbor partnera. Izbor partnera na temelju uzoraka boja dobro je proučen i dokazano je da je vrlo važan u održavanju simpatričkih vrsta, međutim danas se vrlo malo zna o molekularnim mehanizmima (Coyne, 1992). U vodi, gdje je prijenos svjetlosti slabiji nego na kopnu, postoji znatna heterogenost u svjetlosnim uvjetima, posredovana dubinom i prozirnošću vode. Kao rezultat toga, varijacije u vizualnim svojstvima su velike među vodenim kralježnjacima, u usporedbi s drugim skupinama (Bowmaker i dr., 1994). S obzirom da je jezero Victoria poprilično mutno i s najslabijom vidljivošću od sva 3 jezera, ciklidi nastanjuju heterogena fotička okruženja i pokazuju veliku raznolikost u svojstvima vidnog sustava među vrstama (Carleton i Yourick, 2020). Voda je gusti medij koji stvara vrlo heterogena svjetlosna okruženja na koja ribe moraju prilagoditi svoje vizualne sustave i takvi svjetlosni uvjeti u jezeru Victoria doveli su do diversifikacijske selekcije na gen opsin, povezano s dubinom na kojoj žive ribe. Svadbena obojenost mužjaka jedno je od vizualno najzanimljivije promjenjivih fenotipskih obilježja među ciklidima jezera Victoria. Vidni pigmenti u fotoreceptorskim stanicama mrežnice sastoje se od komponente koja apsorbira svjetlost - kromofora - i proteinskog dijela, opsina

(Shichida, 1999). Kod haplokrominskih ciklida pronađeno je osam različitih opsina (Carleton i Yourick, 2020). Najvarijabilnije među vrstama su one koje apsorbiraju na krajnjih dijelovima spektra: opsin osjetljiv na kratke valne duljine i opsin osjetljiv na duge valne duljine (LWS) (Seehausen i dr., 2005). Istraživanje, koje je pokazalo da je divergencija u genu za opsin potaknula seksualnu selekciju jer percepcija boja utječe na preferenciju ženki za obojenost mužjaka, provedeno je na dvije vrste: *Pundamilia pundamilia* i *Pundamilia nyererei* (Seehausen i dr., 1997). *P. pundamilia*, čiji mužjaci imaju plavkastu svadbenu obojenost, raspoređeni su u plićej vodi koja obiluje plavim svjetlom, a mužjaci *P. nyererei* imaju crvenu svadbenu obojenost i raspoređeni su u dubljoj vodi koja obiluje crvenom bojom. Svaka vrsta prilagođava svoje LWS alele na takva svjetlosna okruženja. Shodno tome, ženke vrste *P. pundamilia*, koje imaju LWS alel pomaknut ka plavoj boji, za parenje bira mužjaka plavkastog obojenja, dok s druge strane, ženke vrste *P. nyererei*, koje imaju LWS alel pomaknut ka crvenoj boji, biraju mužjaka crvenog obojenja jer ta boja stimulira vidni sustav ženke više nego neka druga boja (Seehausen i dr., 2008).



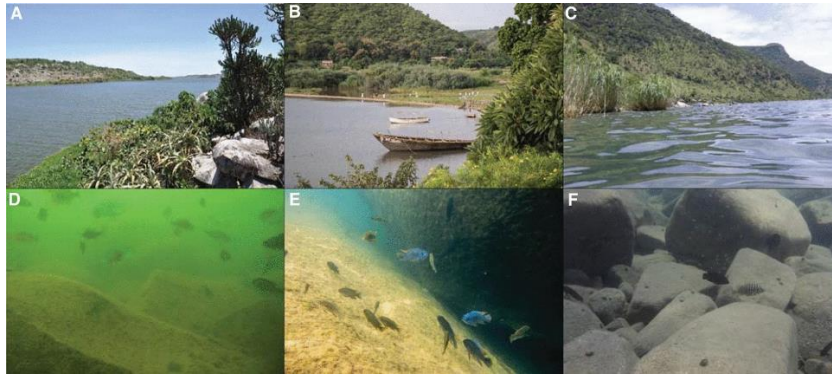
Slika 5. *P. pundamilia* (lijevo) i *P. nyererei* (desno)

(Preuzeto iz Wikipedia, 2023)

Upravo ta raznolikost nijansi i uzoraka boja jedna je od najupečatljivijih osobina ciklida i razlog zašto ih mnogi ljudi drže u akvarijima u svojim kućanstvima. Osobine koje su najintenzivnije proučavane su vodoravne i okomite (većina vrsta) pruge, mrlje na tijelu, morfološke i fiziološke promjene boje, kao i već spomenuta svadbena obojenost spolno dimorfnih vrsta (Alphen, 1999).

#### 4.3. Jezero Malawi

Jezero Malawi drugo je po veličini jezero u Africi s površinom od oko 30 000 km<sup>2</sup>. Kao i Victoria i Tangaynika, također je dio skupine jezera u istočnoafričkom riftu koji se počeo formirati prije 20 milijuna godina (Ring i dr., 2018). Budući da ga nastanjuju stotine vrsta šarolikih riba, jezero Malawi više podsjeća na koraljni greben nego na slatkovodno jezero. Tome pridonosi i čista i relativno duboka voda (Slika 5., E i F).



Slika 6. Staništa ciklida u jezeru Victoria (A, D-mutne i turbiditne vode), Malawi (B, E-čista voda) i Tanganyika (C, F-čista voda)

(Preuzeto iz Santos i dr., 2023)

U jezeru Malawi broj vrsta se procjenjuje između 500 i 800 vrsta koje su diverzificirale u posljednjih 800 000 godina (Malinsky i dr., 2018).

##### 4.3.1. Tri faze u adaptivnoj radijaciji ciklida

Postoje tri kladogenetska evolucijska događaja kojima se može okarakterizirati adaptivna radijacija u jezeru Malawi. U svakom su dominirali različiti selektivni pritisci.

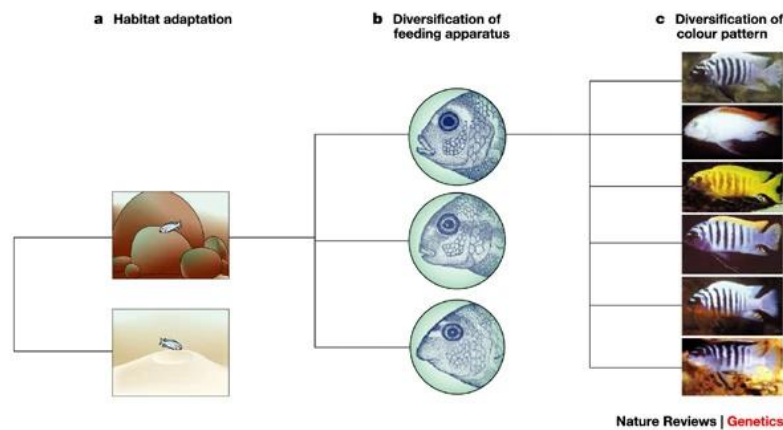
Prva faza predstavljena je adaptacijom na staništa. Jezero je prvotno kolonizirao ciklid koji se divergirao na dvije glavne klade: skupina koja živi i hrani se na stijenama (rock-dwelling *mbuna*) i skupina koja živi i hrani se u pijesku (sand-dwelling clade) (Danley i Kocher, 2001). Prilagodba na makrostaništa pijeska i stijena rezultirala je divergencijom mnogih morfoloških i bihevioralnih karakteristika povezanih s ekološkom specijalizacijom.

Druga faza predstavlja diferencijaciju u morfologiji grupe koja se hrani na stijenama zbog kompeticije za hranidbene resurse. Uzak opseg morfoloških i bihevioralnih promjena koje su

povezane s ovom fazom sugerira da je selekcija bila usmjerena na trofičku morfologiju. Postoje dvije glavne inovacije odgovorne za diverzifikaciju trofičkog aparata: restrukturiranje aparata faringealne čeljusti i odvajanje pojedinih elemenata oralne čeljusti (Liem, 1973). Kao primarna zadaća, ždrijelne čeljusti pomažu u transportu hrane iz bukalne šupljine u želudac. Prolazeći kroz manje promjene u živčanom sustavu, muskulaturi i skeletu, faringealne čeljusti zamijenile su ulogu oralnih, čija je uloga bila prerada hrane (Liem, 1973). Odvajanje elemenata gornje oralne čeljusti je omogućilo nezavisno pomicanje premaksile i maksile, a time se povećala raznolikost kinematičkih puteva koji su povezani s pomicanjem čeljusti (Liem, 1980). kombinacija ove dvije promjene povećala je raznolikost hranidbenih resursa dostupnih ciklidima. Kod različitih vrsta ciklida, aparat faringealne čeljusti dobio je nove funkcije za iskorištavanje resursa poput filamentoznih algi, ljuski sastruganih s drugih riba, ispašu epifitskih algi, algi pričvrćenih na dijatomeje (Liem, 1973). Postojanje različitih kinematičkih puteva povezanih s trofičkom raznolikošću, može usporiti stopu izumiranja tijekom razdoblja smanjene dostupnosti resursa. S druge strane, ako se pak dogodi preklapanje u ishrani, vrste se mogu razlikovati na temelju nekih drugih aspekata njihove ekologije ishrane (McKaye i Marsh, 1983).

Treća faza predstavlja diferenciju u obojenosti mužjaka kao odgovor na seksualnu selekciju. Selektivni pritisci koji su djelovali tijekom ove faze rezultirali su diverzifikacijom muških sekundarnih spolnih karakteristika - prvenstveno uzoraka boja (Albertson, 2008). Ponašanje kod udvaranja ovih haplokrominskih vrsta je donekle složeno. Ženke mogu slobodno birati mužjaka za parenje. Mužjaci im ne pružaju nikakve resurse osim mjesta za parenje koje brane od ostalih jedinki. Ključna faza jest da ženka pokupi neoplođena jaja u usta što se naziva oralna inkubacija (Holzberg, 1978). Mužjaci ciklida imaju na svojoj analnoj peraji imaju žuto-crvene mrlje koje oponašaju izgled jaja. Tijekom udvaranja, ženka će pokušati uzeti ta lažna jaja s analne peraje i u tom će trenutku mužjak položiti jaja unutar ženkinih usta. Ovaj se ciklus ponavlja nekoliko puta, osiguravajući visoke stope oplodnje. Embriji se razvijaju u ustima majke, iz kojih izlaze tek nakon 2 tjedna ili više (Wickler, 1962). Među jedinkama postoji spolni dimorfizam koji se očituje u tome da su mužjaci veći i obojeni jarkim bojama, dok su ženke manje i kriptično obojene (Albertson, 2008). Nekoliko studija provedenih na ciklidima jezera Malawi pokazalo je da je reproduktivna boja mužjaka diverzificirala brže od drugih znakova kao što su sklonost dubini i agresivnost. Točkice na analnoj peraji slične su po boji i obliku jajašcima *mbuna* te se smatra da privlače ženke i pospješuju postotak oplodnje.

Mužjaci s više točkica na analnoj peraji su reproduktivno uspješniji dok se mužjaci bez mrlja nisu uspjeli pariti (Kornfield i Smith, 2000).



Slika 7. Tri evolucijska događaja koji karakteriziraju adaptaciju ciklida jezera Malawi

(Preuzeto iz Kocher, 2004)

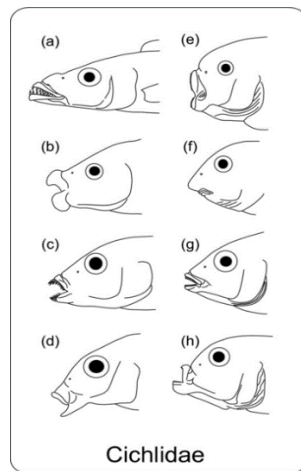
#### 4.4. Jezero Tanganyika

Jezero Tanganyika najstarije je od istočnoafričkih jezera. Znanstvenici procjenjuju njegovu starost između 9 i 12 milijuna godina. Površinom je iza jezera Victoria, a obzirom na volumen slatke vode je najveće budući da mu je prosječna dubina oko 500 metara. Gledajući brojnost vrsta ciklida, njih je ovdje najmanje; oko 250 vrsta je opisano (Cohen i dr., 1993). Kod haplokrominskih ciklida jezera Malawi, već je spomenuta oralna inkubacija, a kod nehaplokrominskih ciklida jezera Tanganyika postoji odlaganje jajašaca na supstrat. Kod tih vrsta, jaja su ljepljiva i pričvršćena na kamenje ili unutar pukotina gdje ih roditelji čuvaju i čiste. Također, mogu se pronaći primjeri gdje se jaja polažu u prazne puževe kućice. Zbog tih varijacija u roditeljskoj skrbi, razlikuje se broj jaja: od 10 do 80 oplođenih jaja kod ciklida koji su inkubirani u ustima, do stotina ili čak više od tisuću jaja kod ciklida položenih na nekom supstratu (Sefc, 2011).

##### 4.4.1. Adaptacije glave i usta

Već je spomenuta morfološka različitost u vidu promjena faringealne čeljusti, a posljedica toga su adaptacije glave i usta koje su usko povezane s prehranom. Pa tako postoje ciklidi koji jedu druge ribe (a) s torpedastim oblikom tijela kako bi lakše lovili plijen, vrste koje jedu

male insekte, člankonošce (c), vrste koje se prehranjuju iz pješčanog dna (b, d), vrste koje stružu hranu s kamenja (e), vrste koje jedu lišće koje padne u jezero (g) itd.



Slika 8. Trofički aparat u ciklida

(Preuzeto iz Mabuchi i dr., 2007)

Možda najzanimljivije ovdje pažnju privlače ciklidi koje karakterizira lepidofagija, tj. hranjenje ljuskama. Na njima je uočeno predatorsko ponašanje temeljeno na asimetričnoj morfologiji usta tako da se dijele na lijevouste i desnouste ciklide; jedan dio populacije otvara usta na lijevu stranu, a jedan dio na desnu stranu kako bi učinkovitije mogli uloviti svoj plijen. Tijekom studije koja je provedena kod vrste *Perissodus microlepis* dokazano je da to svojstvo nisu dobili kao urođeno, već su ga stekli s vremenom (Takeuchi i Oda, 2017).

## 5. Zaključak

Ekološka specijacija je proces kojim se formiraju nove vrste kao posljedica divergentne prirodne selekcije pod utjecajem okolišnih čimbenika. Postojanje grupa vrlo srodnih vrsta koje su se razvile iz istog pretka prilagođavajući se novonastalim uvjetima okoliša, jedna je od najviše istraživanih pojava u evoluciji. To je pojam adaptivne radijacije. Postoji mnogo primjera koji su dosad istraženi i objašnjeni kao što su Darwinove zebe s Galapagosa i ciklidi istočnoafričkih jezera. Zebe je otkrio Charles Darwin koji se upustio u njihovo istraživanje i opisivanje kako je svaka vrsta razvila morfološki drugačiji oblik kljuna ovisno o prehrani koja joj je dostupna u njenom staništu. Desetljećima nakon njega, istraživanje su produbili evolucionisti biolozi Mary i Peter Grant. Drugi primjer ovog fascinantnog evolucionistog događaja koji je opisan u ovom radu su ciklidi. Oni primarno nastanjuju tri istočnoafrička jezera Malawi, Victoria i Tanganyika. Stotine vrsta endemsko je za ta jezera, a razvili su se u poprilično, evolucionisti gledano, kratkom vremenskom periodu. Postoje mnoge osobine po kojima se vrste razlikuju, od fenotipskih osobina kao što su obojenost, morfološke adaptacije glave i usta, do ponašajnih osobina, poput skrbi za mlade i privlačenja partnera. Puno je ovih osobina objašnjeno na molekularnoj razini, ali velik dio ostaje još uvijek nerazjašnjen i daje prostora za daljnja istraživanja u budućnosti.

## 6. Literatura

- Abbott, R., Albach, D., Ansell, S., Arntzen, J. W., Baird, S. J. E. i dr. (2013): Hybridization and speciation. *Journal of Evolutionary Biology*, volume 26, 229–246.
- Albertson, R. C. (2008): Morphological Divergence Predicts Habitat Partitioning in a Lake Malawi Cichlid Species Complex. *Copeia*, volume 3, 689–698.
- Alphen, J. V. (1999): Evolution of colour patterns in East African cichlid fish. *Journal of evolutionary Biology*, volume 12, 514–534.
- Berta, A., Sumich J. L., Kovacs, K. M. (2015): *Marine mammals*. Academic Press, 3rd edition, 250-298.
- Bell, G. (2015): Every inch a finch: a commentary on Grant (1993) 'Hybridization of Darwin's finches on Isla Daphne Major, Galapagos'. *The Royal Society*, volume 370, 2-8.
- Boag, P., Grant, P. (1981): Intense Natural Selection in a Population of Darwin's Finches (Geospizinae) in the Galápagos. *Science*, volume 214, 82-85.
- Bowmaker, J. K. (2008): Evolution of vertebrate visual pigments. *Vision Research*, volume 48, 2022-2041.
- Bowmaker, J. K., Govardovskii, V. I., Shukolyukov, S. A., Zueva, J. L. V., Hunt, D. M., Sideleva, V. G., Smirnova, O. G. (1994): Visual pigments and the photic environment: The cottoid fish of Lake Baikal. *Vision Research*, volume 34, 591-605.
- Carleton, K. L., Yourick, M. R. (2020): Axes of visual adaptation in the ecologically diverse family Cichlidae. *Seminars in Cell and Developmental Biology*, volume 106, 43–52.
- Danley, P. D., Kocher, T. D. (2001): Speciation in rapidly diverging systems: lessons from Lake Malawi. *Molecular Ecology*, volume 10, 1075–1086.
- Cohen, A. S., Soreghan, M. J., Scholz, C. A. (1993): Estimating the age of formation of lakes: an example from Lake Tanganyika, East African Rift system. *Geology*, volume 21, 511-514.
- Coyne, J. A. (1992): Genetics and speciation. *Nature*, volume 355, 511-515.
- Grande, L. (1998): Fishes through the ages. *Encyclopedia of fishes*, Academic Press, volume 2, 27-31.



Grant, P. R., Grant, B. R. (2002): Adaptive Radiation of Darwin's Finches: Recent data help explain how this famous group of Galápagos birds evolved, although gaps in our understanding remain. *American Scientist*, volume 90, 130–139.

Herrera, R. J., Garcia-Bertrand, R. (2023): The species concept and the reality of introgression. *Sex and Cohabitation Among Early Humans*, Academic Press, 53-83.

Hollocher, H. (2013): Parapatry and Speciation through Hybridization. *Encyclopedia of biodiversity*, 2nd edition, 629-639.

Holzberg, S. (1978): A field and laboratory study of the behaviour and ecology of *Pseudotropheus zebra* (Boulenger), an endemic cichlid of Lake Malawi (Pisces, Cichlidae). *Journal of Zoological Systematics and Evolutionary Research*, volume 16, 171-187.

Joyce, D. A., Lunt, D. H., Bills, R., Turner, G. F., Katongo, C., i dr. (2005): An extant cichlid fish radiation emerged in an extinct Pleistocene lake. *Nature*, volume 435, 90–95.

Kocher, T. (2004): Adaptive evolution and explosive speciation: The cichlid fish model. *Nature reviews*, volume 5, 291-292.

Kornfield, I., Smith, P. F. (2000): African Cichlid Fishes: Model Systems for Evolutionary Biology. *Annual Review of Ecology and Systematics*, volume 31, 163–196.

Lack, D. (1947): *Darwin's Finches*. Cambridge University Press, 58-65.

Liem, K. F. (1973): Evolutionary Strategies and Morphological Innovations: Cichlid Pharyngeal Jaws. *Systematic Zoology*, volume 22, 425–441.

Liem, K. F. (1980): Adaptive Significance of Intra- and Interspecific Differences in the Feeding Repertoires of Cichlid Fishes. *Harvard University*, volume 20, 295-304.

Mabuchi, K., Miya, M., Azuma, Y., Nishida, M. (2007): Independent evolution of the specialized pharyngeal jaw apparatus in cichlid and labrid fishes. *BMC Evolutionary Biology*, volume 10, 3-4.

Malinsky, M., Svardal, H., Tyers, A. M., Miska, E. A., Genner, M. J., Turner, G. F. (2018): Whole-genome sequences of Malawi cichlids reveal multiple radiations interconnected by gene flow. *Nature Ecology and Evolution*, volume 2, 1940–1955.

- McGee, M. D., Borstein, S.R., Meier, J. I. (2020): The ecological and genomic basis of explosive adaptive radiation. *Nature*, volume 586, 75–79.
- McKaye, K. R., Marsh, A. (1983): Food switching by two specialized algae-scraping cichlid fishes in Lake Malawi. *Africa. Oecologia*, volume 56, 245-248.
- Moen, D., Morlon, H. (2014): From dinosaurs to modern bird diversity: Extending the time scale of adaptive radiation. *Plos Biology*, volume 12, 2-6.
- Meyer, A. (2015): The extraordinary evolution of cichlid fishes. *Scientific American*, volume 312, 70-75.
- Osborn, H. F. (1902): The law of adaptive radiation. *The American Naturalist*, volume 36, 353–363.
- Ring, U., Albrecht, C., Schrenk, F. (2018): The east African rift system: tectonics, climate and biodiversity. *Mountains, climate and biodiversity*, Wiley-Blackwell, 391–406.
- Rundle, H. D., Nosil, P. (2005): Ecological speciation. *Ecology Letters*, volume 8, 336-352.
- Santos, M. E., Lopes, J. F., Kratochwil, C. F. (2023): East African cichlid fishes. *Evolution and Development*, volume 14, 3-12.
- Schutler, D. (1996): Ecological Causes of Adaptive Radiation. *American Naturalist*, volume 148, 40-64.
- Seehausen, O., Meier, J., Marques, D., Mwaiko, S. i dr. (2017): Ancient hybridization fuels rapid cichlid fish adaptive radiations. *Nature Communications*, volume 8, 1-11.
- Seehausen, O., Spady, T. C., Loew, E. R., Jordan, R. C., Kocher, T. D. i dr. (2005): Adaptive molecular evolution in the opsin genes of rapidly speciating cichlid species. *Molecular Biology and Evolution*, volume 6, 1412–1422.
- Seehausen, O., Alphen, J. J. M., Witte, F. (1997): Cichlid fish diversity threatened by eutrophication that curbs sexual selection. *Science*, volume 277, 1808.
- Seehausen, O., Terai, Y., Magalhaes, I. S., Carleton, K. L., Mrosso, H. D. J., Miyagi, R., van der Sluijs, I., Schneider, M. V., Maan, M. E., Tachida, H. (2008): Speciation through sensory drive in cichlid fish. *Nature*, volume 455, 620-626.

- Seehausen, O. (2004): Hybridization and adaptive radiation. *Trends in Ecology and Evolution*, volume 19, 198–207.
- Sefc, K. M. (2011): Mating and Parental Care in Lake Tanganyika's Cichlids. *International Journal of Evolutionary Biology*, volume 2011, 2-15.
- Simpson, G. G. (1953): *The Major features of evolution*. Columbia University Press.
- Stevens, M. (2013): *Sensory ecology, behaviour, and evolution*. Oxford University Press, volume 56, 1-3.
- Shichida, Y. (1999): *The Retinal Basis of Vision: Visual pigment: photochemistry and molecular evolution*. Elsevier Science, volume 6, 23-35.
- Takeuchi, Y., Oda, Y. (2017): Lateralized scale-eating behaviour of cichlid is acquired by learning to use the naturally stronger side. *Scientific Reports*, volume 7, 2-6.
- Weiner, J. (1995): *The Beak of the Finch: A Story of Evolution in Our Time*. Knopf Doubleday Publishing Group, 154-200.
- Wickler, W. (1962) : 'Egg-dummies' as natural releasers in mouth-breeding cichlids. *Nature*, volume 194, 1092–1093.
- Wiens, J. J. (2004): What Is Speciation and How Should We Study It? *The American Naturalist*, volume 6, 914–923.
- Zimmer, C., Douglas, J. E. (2013): *Natural selection: Empirical studies in the wild*. Evolution: Making Sense of Life, Greenwood Village. Print, 220-223.

Izvori s interneta:

- Achenbach, J. (2014): People who saw evolution. Dostupno na:  
<https://paw.princeton.edu/article/people-who-saw-evolution> (20.07.2023.)
- Carr, S. M. (2021): Adaptation in Darwin's Finches. Dostupno na:  
[https://www.mun.ca/biology/scarr/Adaptation\\_in\\_Darwins\\_Finches.html](https://www.mun.ca/biology/scarr/Adaptation_in_Darwins_Finches.html) (18.09.2023.)
- Grant, P. R., Grant, B. R. (2005): Balzan Prize for Population Biology. Dostupno na:  
<https://www.balzan.org/en/prizewinners/peter-and-rosemary-grant> (18.07.2023.)

Hrvatska enciklopedija, mrežno izdanje. Leksikografski zavod Miroslav Krleža (2021).

Dostupno na: <http://www.enciklopedija.hr/Natuknica.aspx?ID=13955> (19.07.2023.)

Lotzof, K. (2016): Charles Darwin: history's most famous biologist. Dostupno na: <https://www.nhm.ac.uk/discover/charles-darwin-most-famous-biologist.html> (19.07.2023.)

Miriti, E. A .K. (2023): Lake Victoria. Dostupno na: <https://www.africangreatlakesinform.org/article/lake-victoria> (01.08.2023.)

Pavlica, M. (2022): Mrežni udžbenik iz genetike. Dostupno na: <https://www.genetika.biol.pmf.hr/> (17.07.2023.)

Rafferty, J. P. (2020): Adaptive radiation. Encyclopedia Britannica. Dostupno na: <https://www.britannica.com/science/adaptive-radiation> (18.09.2023.)

Singer, E. (2016): Watching Evolution Happen In Two Lifetimes. Quanta Magazine. Dostupno na: <https://www.quantamagazine.org/watching-evolution-happen-in-two-lifetimes-20160922/> (18.07.2023.)

Wikipedia (2023): Dostupno na: [https://en.wikipedia.org/wiki/Haplochromis\\_nyererei](https://en.wikipedia.org/wiki/Haplochromis_nyererei), [https://en.wikipedia.org/wiki/Haplochromis\\_pundamilia](https://en.wikipedia.org/wiki/Haplochromis_pundamilia) (18.09.2023.)

## Životopis

Osnovnu školu pohađala sam u Vukovini, selu pokraj Velike Gorice, a srednju školu u Zagrebu. 2019. godine završila sam Žensku opću gimnaziju Družbe sestara milosrdnica, s pravom javnosti. Tijekom srednje škole, u 2., 3. i 4. razredu, sudjelovala sam na međuzupanijskim i državnim Smotrama hrvatskih GLOBE škola. Nakon završetka srednje škole upisala sam preddiplomski studij Znanosti o okolišu na biološkom odsjeku Prirodoslovno-matematičkog fakulteta u Zagrebu. Od jezika koristim se engleskim jezikom na B2 razini te njemačkim jezikom na A1 razini. Dobro se snalazim u Microsoft programima kao što su Microsoft Teams, Word, PowerPoint i Excel.