

UNIVERZITET U BEOGRADU

BIOLOŠKI FAKULTET

Uroš B. Savković

Uloga fenotipske plastičnosti osobina životne  
istorije i ponašanja u procesima specijacije  
*Acanthoscelides obtectus*

doktorska disertacija

Beograd, 2016

UNIVERSITY OF BELGRADE

FACULTY OF BIOLOGY

Uroš B. Savković

The role of phenotypic plasticity of life history  
and behavioural traits during speciation  
processes in *Acanthoscelides obtectus*

Doctoral Dissertation

Belgrade, 2016

**Mentorka:**

---

**Prof. dr Biljana Stojković**, vanredna profesorka

Biološki fakultet

Univerzitet u Beogradu

**Članovi komisije:**

---

**dr Jelica Lazarević**, naučna savetnica

Institut za biološka istraživanja „Siniša Stanković“

Univerzitet u Beogradu

---

**Prof. dr Anđeljko Petrović**, vanredni profesor

Biološki fakultet

Univerzitet u Beogradu

**Datum odbrane:** \_\_\_\_\_

*Dragim roditeljima*

*Ova doktorska disertacija predstavlja deo projekta osnovnih istraživanja Ministarstva prosvete, nauke i tehnološkog razvoja Republike Srbije „Evolucija u laboratoriji i adaptacije u prirodi“ (br. 173007, rukovodilac dr Branka Tucić) realizovanog u okviru Odeljenja za evolucionu biologiju Instituta za biološka istraživanja „Siniša Stanković“, Univerziteta u Beogradu.*

*\*\*\**

*Ogromnu zahvalnost dugujem dragoj mentorki prof. dr Biljani Stojković. Njen nesebični angažman i požrtvovanost predstavljali su stub oslonca tokom celokupne izrade disertacije. Ne lišavajući me zadovoljstva otkrića, Biljana mi je ukazivala na zanimljivosti iz oblasti, što bi uvek bilo praćeno dugim diskusijama i planiranjem budućih eksperimenata. Dodatno, Biljana mi je ukazala i na važnost samostalnosti prilikom istraživanja, negovanja kritičkog načina razmišljanja i moralne ispravnosti u dinamičnom akademskom životu.*

*Dragoj dr Jelici Lazarević dugujem veliku zahvalnost na pruženoj podršci u radu, konstruktivnim sugestijama i savetima tokom izrade disertacije.*

*Dragom prof. dr Nikoli Tuciću zahvalnan sam na ukazanom poverenju. Nadam se da će njegov entuzijizam prema evolucionoj teoriji i nadalje krasiti naš radni prostor.*

*Prof. dr Anđeljku Petroviću sam veoma zahvalan na korisnim komentarima i sugestijama tokom pisanja disertacije.*

*Dragom Mirku Đorđeviću dugujem neizmernu zahvalnost za provedene nezaboravno zabavne, vedre i nasmejane trenutke tokom dugih dana provedenih u laboratoriji. Bez Mirkove pomoći ova disertacija bila bi apsolutno neostvariva, a njegovi korisni saveti i komentari uvek su mi bili od pomoći.*

*Zahvalnost dugujem i koleginicama i kolegama sa Odeljenja za evolucionu biologiju.*

*Konačno, dragoj porodici i prijateljima iskazujem najveću moguću zahvalnost na pruženoj podršci i ljubavi.*

## **Uloga fenotipske plastičnosti osobina životne istorije i ponašanja u procesima specijacije *Acanthoscelides obtectus***

### **SAŽETAK:**

Fenotipska plastičnost, kao univerzalno svojstvo svih organizama, predstavlja sposobnost jednog genotipa da u različitim uslovima životne sredine razvije različite fenotipske vrednosti osobina. Ovaj fenomen predstavlja važan mehanizam fenotipskog variranja insekata i nalazi se u osnovi formiranja različitih pravaca evolucionih promena njihovih populacija uzrokujući adaptivnu divergenciju i posledičnu međupopulacionu reproduktivnu izolaciju. Od posebne važnosti je i uloga fenotipske plastičnosti u procesima ekološke specijacije, kada ekološki zasnovana divergentna selekcija između životnih sredina ograničava protok gena između populacija. Koristeći pogodnosti laboratorijske evolucije, ova studija proučava osobine životne istorije, njihova međusobna ograničenja i obrasce plastičnih odgovora, populaciono-ekološke i selekcionere obrasce kao i promenu reproduktivnog ponašanja kod dve grupe laboratorijskih populacija fitofagnog insekta, *Acanthoscelides obtectus*, koje su evoluirale na različitim biljkama domaćinima (pasulj, *Phaseolus vulgaris* i naut, *Cicer arietinum*). Populacije selektovane na različitim biljkama pokazuju jasne razlike u životnim strategijama i stepenu plastičnosti osobina životne istorije i ponašanja. Načelno, populacije selektovane na pasulju imaju izraženiju sposobnost plastičnog odgovora na variranje identiteta biljke domaćina u poređenju sa populacijama selektovanim na nautu. Selekcioni režimi pokazuju i umeren stepen reproduktivne izolacije čime se ističe značaj divergentne selekcije u početnim fazama procesa nastanka novih vrsta.

**KLJUČNE REČI:** fenotipska plastičnost, specijacija, promena biljke domaćina, osobine životne istorije, reproduktivno ponašanje, reproduktivna izolacija, kutikularni ugljovodoni, laboratorijska evolucija, pasuljev žižak, *Acanthoscelides obtectus*

**NAUČNA OBLAST:** Biologija

**UŽA NAUČNA OBLAST:** Evolucionarna biologija

**UDK:** 575.174.4:575.21:[57.017.3+575.832+575.825.2]:595.763/.768(043.3)

## **The role of phenotypic plasticity of life history and behavioural traits during speciation processes in *Acanthoscelides obtectus***

### **ABSTRACT:**

Phenotypic plasticity, a universal feature of all organisms, represents genotypes' ability to produce alternative phenotypes in different environmental conditions. In insects, this phenomenon represents an important mechanism of phenotypic variation and it is fundamental for the establishment of different evolutionary trajectories of their populations causing adaptive divergence and consequential interpopulation reproductive isolation. Phenotypic plasticity is of particular importance during the process of ecological speciation, when ecologically based divergent selection between environments reduces gene flow among populations. Using the benefits of laboratory evolution, this study investigates life history traits, their trade-offs and plasticity patterns, population dynamics and selection patterns, as well as changes in reproductive behaviour, in two sets of laboratory populations of a phytophagous insect, *Acanthoscelides obtectus*, evolved on different host plants (white beans, *Phaseolus vulgaris* and chickpeas, *Cicer arietinum*). Populations selected on different plant hosts demonstrate distinct life history strategies and plasticity levels of life history and behavioural traits. Generally, populations selected on beans demonstrate prominent ability to plastically respond to host plant variation compared to chickpea selected populations. Selection regimes demonstrate moderate level of reproductive isolation emphasizing the importance of divergent selection in the first phases of the speciation.

**KEY WORDS:** phenotypic plasticity, speciation, host-shift, life history traits, reproductive behaviour, reproductive isolation, cuticular hydrocarbons, laboratory evolution, seed beetle, *Acanthoscelides obtectus*

**SCIENTIFIC FIELD:** Biology

**SPECIFIC SCIENTIFIC FIELD:** Evolutionary biology

**UDC:** 575.174.4:575.21:[57.017.3+575.832+575.825.2]:595.763/.768(043.3)

## SKRAĆENICE KORIŠĆENE U DOKTORSKOJ DISERTACIJI:

AL – antenalni lobus (engl. *Antenal Lobe*)

AMDIS – automatizovani maseno spektralni prečišćavač i identifikacioni sistem (engl. *Automated Mass Spectral Deconvolution and Identification System*)

CHC – kutikularni ugljovodonici (engl. *Cuticular Hydrocarbons*)

DRN – razvojna norma reakcije (engl. *Developmental Reaction Norm*)

GC–MS – gasna hromatografija i masena spektrometrija (engl. *Gas Chromatography – Mass Spectrometry*)

HHSP – Hopkinsov princip selekcije domaćina (eng. *Hopkin's Host Selection Principle*)

HSP – proteini toplotnog šoka (engl. *Heat Shock Proteins*)

IPO – indeks preferencije tokom ovipozicije

ORN – neuroni olfaktornih receptora (engl. *Olfactor Receptor Neurons*)

PPH – hipoteza preferencije i performanse (engl. *Preference-Performance Hypothesis*)

PI<sub>mv</sub> – indeks plastičnosti izračunat na osnovu srednjih fenotipskih vrednosti genotipa (engl. *mean value*)

PI<sub>rd</sub> – indeks plastičnosti izračunat na osnovu relativnih udaljenosti fenotipskih vrednosti genotipa (engl. *relative distance*)

PSI – indeks seksualne izolacije po parovima (engl. *Pair Sexual Isolation*)

PSS – indeks seksualne selekcije po parovima (engl. *Pair Sexual Selection*)

PTI – združeni indeks seksualne selekcije i izolacije po parovima (engl. *Pair Total Index*)

RDPI – standardizovan indeks fenotipske plastičnosti zasnovan na relativnim udaljenostima fenotipskih vrednosti genotipa (engl. *Relative Distance Plasticity Index*)

RI – reproduktivna izolacija

RetI – retencioni index

RetT – retenciono vreme (eng. *Retention Time*)



## SADRŽAJ:

<b>1. UVOD .....</b>	<b>1</b>
<b>1.1 Fenotipska plastičnost.....</b>	<b>1</b>
1.1.1 Norma reakcije .....	3
1.1.2 Boldvinov efekat, genetička akomodacija i genetička asimilacija.....	7
1.1.3 Fenotipska plastičnost u procesima diverzifikacije populacija i specijacije .....	10
1.1.4 Plastičnost osobina životne istorije .....	13
<b>1.2 Evoluciono-ekološka dinamika fitofagnih insekata i biljaka.....</b>	<b>15</b>
1.2.1 Zastupljenost i raznovrsnost fitofagnih insekata.....	15
1.2.2 Interakcije fitofagnih insekata i biljaka.....	16
<b>1.3 Fitofagni insekti i nove biljke domaćini – izazovi i posledice .....</b>	<b>21</b>
1.3.1 Reproduktivno ponašanje i reproduktivna izolacija.....	21
1.3.2 Izbor biljke domaćina prilikom ovipozicije .....	23
<b>1.4 Ekološka specijacija.....</b>	<b>27</b>
1.4.1 Ekološki uzroci divergentne selekcije.....	29
1.4.2 Jačanje reproduktivne izolacije .....	31
1.4.2.1 Kutikularni ugljovodonici (CHC) insekata .....	34
1.4.3 Povezanost divergentne selekcije i reproduktivne izolacije.....	35
<b>2. CILJEVI.....</b>	<b>37</b>
<b>3. MATERIJAL I METODE.....</b>	<b>38</b>
<b>3.1 Klasifikacija, morfo-anatomska i hromozomska karakterizacija pasuljevog žiška.</b>	<b>38</b>
<b>3.2 Evolucionarna istorija <i>Acanthoscelides obtectus</i> .....</b>	<b>41</b>
3.2.1 Poreklo i fizičko-hemijska karakterizacija semena pasulja i nauta.....	43
<b>3.3 Selekcioni režimi i laboratorijske populacije .....</b>	<b>46</b>
<b>3.4 Eksperimentalni dizajn i procedure .....</b>	<b>49</b>
3.4.1 Eksperiment I <sub>A</sub> – osobine životne istorije i ponašanje ženki prilikom polaganja jaja bez mogućnosti izbora biljke domaćina (engl. <i>no-choice</i> ) .....	49
3.4.2 Eksperiment I <sub>B</sub> – ponašanje ženki prilikom polaganja jaja sa mogućnošću izbora biljke domaćina (engl. <i>choice</i> ) .....	52
3.4.3 Eksperiment II –reproduktivno ponašanje i nivoi prezigotske reproduktivne izolacije .....	53

3.4.4 Eksperiment III – određivanje sastava kutikularnih ugljovodonika (CHC) gasnom hromatografijom i masenom spektrometrijom (GC-MS) .....	57
3.4.5 Eksperiment IV – fenotipska plastičnost osobina životne istorije .....	59
<b>3.5 Statistička obrada podataka i korišćeni modeli .....</b>	<b>62</b>
3.5.1 Varijacione i korelacione statističke procedure .....	62
3.5.2 Indeks preferencije tokom ovipozicije ( <b>IPO</b> ) .....	64
3.5.3 Populaciono-ekološki parametri rasta populacije .....	64
3.5.4 Analiza fenotipske selekcije – selekcionni gradijenti .....	69
3.5.5 Analize reproduktivnog ponašanja žižaka .....	70
3.5.5.1 Procena seksualne selekcije i prezigotske reproduktivne izolacije .....	70
3.5.5.2 Opis modela reproduktivne izolacije.....	70
3.5.5.3 Grafičko prikazivanje i statistička obrada frekvencije ukrštanja i početka kopulacije .....	73
3.5.6 Određivanje relativne količine kutikularnih ugljovodonika (CHC).....	74
3.5.7 Analiza indeksa plastičnosti .....	74
3.5.7.1 Cena plastičnosti.....	77
<b>4. REZULTATI.....</b>	<b>78</b>
<b>4.1 Preadultne osobine životne istorije.....</b>	<b>78</b>
<b>4.2 Adultne osobine životne istorije.....</b>	<b>81</b>
4.2.1 Uticaj biljke domaćina na fekunditet ženki.....	81
4.2.2 Uticaj biljke domaćina na dužinu života.....	86
<b>4.3 Populaciono-ekološki parametri.....</b>	<b>88</b>
<b>4.4 Selekcioni gradijenti .....</b>	<b>90</b>
<b>4.5 Reproductivno ponašanje .....</b>	<b>91</b>
4.5.1 Funkcija preferencije ukrštanja .....	92
4.5.2 Izbirljivost partnera .....	93
4.5.3 Prezigotska reproduktivna izolacija .....	94
<b>4.6 Detekcija i kvantifikacija kutikularnih ugljovodonika.....</b>	<b>95</b>
4.6.1 Korelacije frekvencije ukrštanja i relativne zastupljenosti CHC .....	96
<b>4.7 Plastičnost osobina životne istorije.....</b>	<b>97</b>

<b>5. DISKUSIJA</b> .....	<b>103</b>
<b>5.1 Plastičnost osobina životne istorije</b> .....	<b>104</b>
5.1.1 Plastičnost preadultnih osobina životne istorije .....	106
5.1.2 Plastičnost adultnih osobina životne istorije .....	108
5.1.3 Plastičnost fekunditeta i evolucija percepcije domaćina .....	111
<b>5.2 Populaciono-ekološki parametri prilikom promene biljke domaćina</b> .....	<b>115</b>
<b>5.3 Reproductivno ponašanje i prekopulatorna reproductivna izolacija</b> .....	<b>117</b>
5.3.1 Plastičnost reproductivnog ponašanja tokom prvih faza promene domaćina ....	117
5.3.1.1 Promena CHC profila kao posledica promene ishrane .....	119
5.3.2 Dugoročni efekti promene domaćina na reproductivno ponašanje .....	121
5.3.3. Prekopulatorna reproductivna izolacija izazvana promenom domaćina .....	123
<b>5.4 Fenotipska plastičnost i ekološka specijacija</b> .....	<b>126</b>
<b>5.5 Pravci budućih istraživanja</b> .....	<b>129</b>
<b>6. ZAKLJUČCI</b> .....	<b>132</b>
<b>7. TABELE</b> .....	<b>134</b>
<b>8. SLIKE</b> .....	<b>175</b>
<b>9. LITERATURA</b> .....	<b>193</b>
<b>10. PRILOZI</b> .....	<b>224</b>

## 1. UVOD

*“Our ignorance of how genotypes produce phenotypes is, I believe, the greatest gap in our understanding of the evolutionary process and it is a huge gap indeed.” Futuyma 1979, p. 438.*

*„Smatram da je naše nepoznavanje toga kako genotipovi formiraju fenotipove najveća praznina u našem razumevanju evolucionih procesa, a to je zaista velika praznina.“ Futuima 1979, str. 438.*

---

### 1.1 Fenotipska plastičnost

Fenotipska plastičnost predstavlja kapacitet genotipa da odgovori na sredinska variranja formiranjem različitih fenotipova (Pigliucci 2001)<sup>1</sup>. Ovaj, „obmanjujuće jednostavan“ (Whitman i Agrawal 2009) fenomen je važan mehanizam fenotipskog variranja i nalazi se u osnovi nastanka različitih evolucionih pravaca populacija, često uzrokujući adaptivnu divergenciju i posledičnu međupopulacionu reproduktivnu izolaciju (West-Eberhard 2003). Proučavanje fenotipske plastičnosti je od izuzetne važnosti i u teorijskom smislu zato što širi ugao postojeće, u velikoj meri genocentrične, teorije evolucije unapređujući postojeću paradigmu i nudeći potpunija objašnjenja mehanizma nastanka i raznovrsnosti života na Zemlji (Pigliucci 2007). Višedecenijski fokus istraživanja populaciono-genetičke teorije, utemeljen u delima velikana Moderne sinteze, bio je veoma uspešan u razumevanju mehanizama kojima određena populacija menja svoju genetičku strukturu kroz generacije. Međutim, ovakav pristup nije u potpunosti opisao načine formiranja fenotipskih razlika u populacijama, posebno tokom procesa razvića. Imajući u vidu da je nastanak fenotipa složen proces koji se odvija kroz interakcije genetičkih sistema, individualnog razvića i uticaja sredinskih činilaca, pitanja pojave i održavanja fenotipskih varijacija stavljen su u fokus nove sintetičke discipline: ekološke evolucione biologije razvića (engl. *Eco-Evo-Devo*). Znajući da prirodna selekcija deluje preko fenotipova, odnosno fenotipskih razlika između jedinki, objašnjenja njihovog nastanka i održavanja u populacijama postaju vrlo važna. Još jedan veliki doprinos Eko-Evo-Devo koncepcije je to što sredinski uticaji dobijaju značajnu

---

<sup>1</sup>Definicije fenotipske plastičnosti su brojne, ali i relativno izbalansirane u svom značenju (videti Whitman i Agrawal 2009 za pregled većeg broja relevantnih definicija fenotipske plastičnosti).

ulogu u formiranju fenotipa i više nisu samo „arena“ koja filtrira već stvorenu (genetičku) varijabilnost, već istovremeno i kreiraju i selektuju varijabilnost (West-Eberhard 1989, 2003, Moczek 2015)<sup>2</sup>. Sasvim je jasno da ovakav izmenjeni pogled na evolucione procese ne negira značajnu i nužnu ulogu gena i njihovih interakcija u formiranju fenotipa, već pruža sveobuhvatniji pristup u razumevanju evolucije fenotipa i plastičnosti kao univerzalnog svojstva svih organizama (West-Eberhard 2003, DeWitt i Scheiner 2004). Samim tim, proučavanje fenotipske plastičnosti baca i novo svetlo na staru kontroverzu urođenog nasuprot stečenog (engl. „*nature vs. nurture*“) ukazujući na neraskidivu vezu aktivnosti gena i njihovih interakcija sa sredinskim činiocima i ontogenetskim programima. Epigenetičkim obrascima nasleđivanja regulacije genske ekspresije samo se dodatno umanjuje ova „dihotomija“ gena i sredine (Jablonka i Lamb 2005). Govoreći da: „više nije pitanje urođenog nasuprot stečenog, ili urođeno i stečeno, već urođeno kroz stečeno“ Singh (Singh 2015, str. 56) na najbolji način artikuliše ovo stanovište.

O samoj aktuelnosti proučavanja fenotipske plastičnosti i njenom značaju za evolucione procese govori i podatak o broju objavljenih radova koji se bave ovom tematikom. Naime, do 1980. godine broj objavljenih radova po godini koji su se bavili proučavanjem fenotipske plastičnosti bio je manji od deset, dok je 2014. godine taj broj iznosio 1400 publikacija<sup>3</sup>. Međutim, iako je fenotipska plastičnost u protekle dve decenije postala prihvaćenija i znatno prisutnija u evolucionoj biologiji, u naučnim krugovima se i dalje vode aktivne diskusije vezane za značaj i udeo fenotipske plastičnosti u evoluciji (npr. de Jong 2005, Pigliucci i sar. 2006, Laland i sar. 2014). Istovremeno, istraživači koji razumeju značaj fenotipske plastičnosti u evolucionim procesima pokušavaju da odgovore na pitanja zašto postoji i na koji način nastaje varijabilnost u plastičnom odgovoru osobina između populacija i vrsta. Koji su to uslovi životne sredine koji pospešuju i održavaju evoluciju plastičnosti? Da li fenotipska plastičnost ubrzava ili usporava evolucione procese? U kojoj meri plastičnost doprinosi diverzifikaciji populacija? Kakva je uloga fenotipske plastičnosti u procesima

---

<sup>2</sup>Sredinske uticaje treba posmatrati u širem kontekstu koji obuhvata ulogu kako unutrašnjih (genetičke i/ili negenetičke promene ekspresije gena i uticaj njihovih interakcija na karakteristike fenotipa) tako i spoljašnjih činilaca (životna sredina kao kontekst koji obuhvata ekološke interakcije između organizama, kao i interakcije organizama sa fizičkim i hemijskim činiocima životne sredine).

<sup>3</sup>Izvor iz pretrage Scopus baze.

specijacije i adaptivne radijacije? Koliko često je plastičnost adaptivna i od čega zavisi cena plastičnosti? Kakva je genetička osnova fenotipske plastičnosti i da li se plastičnost može posmatrati kao zasebna osobina na koju deluje prirodna selekcija? Da li su geni „pratioci“ ili „predvodnici“ u evolucionim procesima? Kolika je uloga fenotipske plastičnosti u ontogenetskim procesima? Neka od ovih pitanja će u narednim odeljcima biti detaljnije analizirana.

### 1.1.1 Norma reakcije

*“Although the evolution of reaction norms is unquestionable, I think the burden of proof for the pioneering role of plasticity rests on its advocates.” Futuyma 2011, p. 207.*

*„Iako je evolucija normi reakcija neupitna, ja smatram da teret dokazivanja pionirske uloge plastičnosti leži na njenim zagovornicima.“ Futuyma 2011, str. 207.*

---

Kako je fenomen fenotipske plastičnosti neraskidivo povezan sa pojmom norma reakcije, nužno je definisati normu reakcije, objasniti na koji način se interpretira njeno grafičko prikazivanje i skrenuti posebnu pažnju na značaj razvojne norme reakcije u evoluciji fenotipa.

Početakom XX veka, termin norma reakcije je služio prilikom opisivanja različitih fenotipskih stanja istog genotipa u izmenjenim uslovima životne sredine (Woltereck 1909). Danas, norma reakcije se definiše kao svojstvo genotipa i opisuje ukupan broj fenotipova koje neki genotip može proizvoditi u različitim životnim sredinama (Sultan 1987). Iako se često koriste naizmenično, potrebno je istaći da se plastičnost pre svega odnosi na opšti efekat koji životna sredina ima na ekspresiju određene karakteristike (osobine), uključujući i odsustvo odgovora<sup>4</sup>, dok se normom reakcije opisuje specifičan oblik odnosa životne sredine i fenotipa (Scheiner 1993). Zbog toga se plastičnost uvek vezuje za normu reakcije, iako nije nužno da norma reakcije bude plastična (Schlichting i Pigliucci 1998).

---

<sup>4</sup>Kada se govori o značaju fenotipske plastičnosti, važno je precizno definisati karakteristiku (osobinu) i skup uslova životne sredine pod kojima je ona izmerena, zato što posmatrana karakteristika (osobina) zapravo predstavlja fenotip u „užem smislu“ jer u njenom formiranju učestvuje samo deo genotipa.

Opisivanje fenotipskog odgovora genotipa na variranje uslova životne sredine najčešće se prikazuje grafički kao dijagram norme reakcije<sup>5</sup>. U ovakvim situacijama se dati genotip posmatra u najmanje dve sredine ( $x$  osa), dok se fenotipske vrednosti karakteristike unose na drugu ( $y$  osu). Kada se za svaki genotip povežu srednje fenotipske vrednosti osobine između različitih sredina, svaki genotip dobija svoj dijagram norme reakcije<sup>6</sup>. Predstavljanje većeg broja genotipova posmatrane populacije na istom dijagramu može pomoći prilikom interpretacije fenotipske plastičnosti posmatrane osobine. Pre svega, na ovaj način se može videti da li genotipovi uopšte i poseduju sposobnost da plastično odgovore na promenjene uslove. Ukoliko genotipovi imaju takve karakteristike, što se ogleda u promenjenom nagibu norme reakcije, moguće je utvrditi u kojoj meri životna sredina utiče na formiranje fenotipa (opseg promene i obrazac norme reakcije). Kada se fenotipske vrednosti svih analiziranih genotipova između različitih sredina uproseče, dobija se srednji opseg plastičnog odgovora posmatrane populacije. Dodatno, moguće je ustanoviti nedostatak (genotipovi obrazuju paralelne norme reakcija) ili postojanje (norme reakcija genotipova imaju različite nagibe, ili se pak ukrštaju) genetičke varijabilnosti plastičnog odgovora osobina u datoj populaciji. Drugim rečima, ukoliko su norme reakcija paralelne, bez obzira na promenjene fenotipske vrednosti osobina između različitih sredina, razlike u odgovorima na variranje sredine odsustvuju i pretpostavljaju se isti mehanizmi regulacije fenotipskog odgovora na variranja sredine kod različitih genotipova. Nasuprot tome, drugačiji nagibi, ili ukrštene norme reakcija ukazuju na postojanje genetičke varijabilnosti u načinima primanja i obrade signala koji dolaze iz spoljašnje sredine. Takvi dijagrami normi reakcija ističu postojanje genetičke varijabilnosti fenotipske plastičnosti i potencijal za njenu evoluciju (Conover i Schultz 1995).

---

<sup>5</sup>Woltereck je ovo nazivao fenotipska kriva.

<sup>6</sup>Za različite načine predstavljanja normi reakcija videti (Schlichting i Pigliucci 1998, Conover i Schultz 1995, Tucić i Tucić 2000). Za dodatna objašnjenja dijagrama normi reakcija videti Stojković i Tucić (2012).

Koncepcija razvojne norme reakcije (engl. *Developmental Reaction Norm, DRN*, Schlichting i Pigliucci 1998)<sup>7</sup> je od posebne važnosti za evoluciju fenotipa i definiše se kao skup multivarijantnih trajektorija ontogenije koje proizvodi jedan genotip kao odgovor na sredinska variranja. Isticanje plastičnog odgovora razvojnih sistema na sredinska variranja prilikom formiranja fenotipa, zauzima veoma važno mesto u ekološkoj evolucionoj biologiji razvića. Brojni sredinski činioci poseduju kapacitet da izmene fenotipske karakteristike jedinki koje, pod uticajem selekcije, u određenom sredinskom kontekstu imaju različite efekte na adaptivnu vrednost, što svakako otvara mogućnost za evolucionu promenu populacija putem selekcije normi reakcija (Waddington 1961, Borenstein i sar. 2006, Crispo 2007, 2008, Moczek i sar. 2011).

Kako bi zaista razumeli načine na koji faktori životne sredine poseduju kapacitet da izmene putanju razvića nekog organizma, neophodno je prvo objasniti kako se organizmi najčešće razvijaju u okvirima svog, za datu vrstu, karakterističnog programa razvića. Drugim rečima, potrebno je objasniti mehanizme koji su suprotni od onih koje obuhvata fenotipska plastičnost, tj. opisati mehanizme koji omogućavaju fenotipsku stabilnost (Schlichting i Pigliucci 1998, Stojković i Tucić 2012). Ukoliko se posmatra iz fiziološkog ugla, stabilnost fenotipa se uspostavlja onda kada se različiti fiziološki procesi međusobno usklade, što Kenon (Cannon 1932) naziva fiziološka homeostaza. S druge strane, procesi kojima se tok individualnog razvića štiti od različitih uticaja koji se nalaze u spoljašnjoj („sredinskoj“) i unutrašnjoj („genetičkoj“) sredini naziva se ontogenetska homeostaza (Lerner 1954). Dodatno, Waddington (Waddington 1942) definiše pojam kanalsanje razvića kao razvojne reakcije koje su prilagođene tako da, bez obzira na male varijacije koje se nalaze u sredini, formiraju jedan krajnji rezultat. Međutim, kanalsanje razvića ima dvojako značenje<sup>8</sup> i ukoliko se definiše kao rezultat, može se koristiti kao sinonim za ontogenetsku homeostazu i podrazumeva uspešan tok

---

<sup>7</sup>Postoji ukupno pet svojstava normi reakcije koji su deo *DRN* (Schlichting i Pigliucci 1998): (i) *opseg plastičnosti* predstavlja relativnu meru promene kao odgovor na izmenjene sredinske uslove (npr. velika ili mala promena); (ii) *obrazac plastične promene* predstavlja specifičan oblik odgovora genotipa u opsegu sredinskog variranja (npr. monotoni rast, monotoni pad, ili složeniji oblik norme reakcije); (iii) *brzina plastične promene* (npr. brze fiziološke ili spore morfološke promene); (iv) *reverzibilnost* se odnosi na sposobnost smenjivanja različitih fenotipskih stanja; (v) *sposobnost plastičnog odgovora razvojnog sistema* na sredinska kolebanja u određenoj tački ontogenetske putanje.

<sup>8</sup>Kanalsanje razvića ima sličan status kao i pojam adaptacija (Gould i Vrba 1982).



razvića bez obzira na manja sredinska ometanja. Međutim, ukoliko se definiše kao proces, selekcija može delovati na molekulsko-fiziološke mehanizme, menjati stabilnost fenotipa na svakoj pojedinačnoj tački duž ontogenetske putanje, čime se stabilizuje tačno određeni ontogenetski put. Jedan od mogućih ishoda ovakvog scenarija je i situacija u kojoj različiti genotipovi, u opsegu sredinskih uslova, produkuju isti ili veoma sličan fenotip (Sultan 1987). Waddington (Waddington 1957) je smatrao da je ovakvo stanje direktna posledica kanališuće selekcije<sup>9</sup>. Naime, selektovanje tačno određenih (epi)genetičkih sistema dovelo bi do stabilne ontogenetske putanje (ontogenetska homeostaza) koja nužno podrazumeva kompleksne, redundantne regulatorne mreže kako bi različiti genotipovi formirali isti fenotip pod datim uslovima životne sredine (Beldade i sar. 2011, Nettle i Bateson 2015). Još jedna važna evolucionarna posledica kanalisiranja razvića je to što može doći do favorizovanja određenih putanja razvića koje su u stanju da puferišu potencijalno negativne efekte mutacionih događaja<sup>10</sup>. Na ovaj način, kroz generacije, može doći do nagomilavanja mutacija koje su na taj način „skrivenne“ od delovanja prirodne selekcije i nalaze se u tzv. „zajedničkom“ fenotipu. Tek kada se uslovi životne sredine promene, može doći do „razotkrivanja“ do tada „skrivenne“ genetičke varijabilnosti i pojavljivanja novih fenotipskih formi koje do tada nisu bile ispoljene. Takvi fenotipovi moraju proći test prirodne selekcije, a ukoliko se pokažu kao dovoljno uspešni, učestalost ovakvih fenotipskih oblika se može uvećati, što svakako može imati dalekosežne posledice na njihovu evoluciju (Videti odeljak 1.1.3, Uvod). Međutim, vrlo je važno naglasiti da kanalisiranje nije populacioni fenomen, već je isključivo vezan za razvojne sisteme jedinki (Schlichting i Pigliucci 1998)! Tek nakon ispoljavanja „skrivenih“ fenotipova, prirodna selekcija može delovati na novootkrivenu varijabilnost i uvećati učestalost određenog fenotipa u populaciji. Još jedna važna posledica kanalisiranja razvića je i evolucionarna promena same norme reakcije (Conover i Schultz 1995, Ehrenreich i

---

<sup>9</sup>Kanališuća selekcija se u kvantitativnoj genetici naziva stabilizaciona selekcija i odnosi se na situacije u kojima se favorizuju geni čije ispoljavanje smanjuje štetne efekte mutacija. Vagner (Wagner 1996) empirijski potvrđuje da stabilizaciona selekcija favorizuje mutacije koje kanališu razviće.

<sup>10</sup>Na ovom mestu se pre svega misli na genetičko kanalisiranje koje podrazumeva neosetljivost određene osobine na mutacione događaje (Wilkins 1997). Pored genetičkog postoji i sredinsko kanalisiranje (Waddington 1957) koje bi predstavljalo neosetljivost određene osobine na sredinske uzroke variranja.

Pfennig 2015). Budući da kanalisiranje teži da u što većoj meri izoluje procese razvića od spoljašnjih i unutrašnjih varijacija, takvi procesi mogu suziti norme reakcije genotipova, odnosno ograničiti broj fenotipova koji se mogu proizvoditi u odgovoru na sredinsko variranje. Samim tim, direktna posledica kanalisiranja razvića je i sužavanje norme reakcije genotipova, a takvi fenotipovi postaju manje plastični i mogu opstati samo u ograničenom opsegu sredina, što takve populacije nužno vodi ka ekološkoj specijalizaciji (Videti odeljak 1.4, Uvod). Drugim rečima, s obzirom da kanalisiranje razvića kao proces utiče na stabilizovanje pojedinačnih tačaka duž ontogenetske putanje, smanjenje plastičnog odgovora nužno utiče na evoluciju razvojnih normi reakcije i menja pravac evolucije date populacije.

### **1.1.2 Boldvinov efekat, genetička akomodacija i genetička asimilacija**

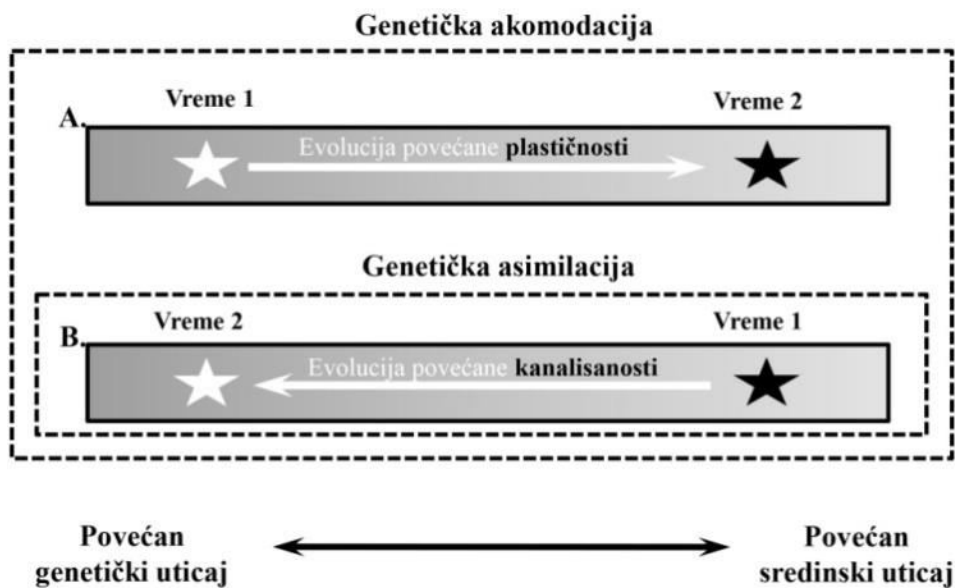
Prilikom prilagođavanja jedinki na nove sredine Boldvinov efekat, genetička akomodacija i genetička asimilacija predstavljaju ključne fenomene koji utiču na procese diverzifikacije populacija i specijacije. Međutim, ovi pojmovi su često nedovoljno jasno definisani što stvara određenu zabunu prilikom njihovog korišćenja (Crispo 2007 i ref. unutar). Imajući u vidu tesnu vezu fenotipske plastičnosti i pomenutih procesa, nužno je njihovo adekvatno definisanje kako bi se potpunije sagledao njihov evolucionarni značaj.

Boldvinov efekat je fenomen u kome fenotipska varijabilnost u okvirima date norme reakcije omogućava početno prilagođavanje na izmenjene uslove životne sredine pre pojave mutacionih događaja, ali za kojim slede nove mutacije koje mogu fiksirati datu fenotipsku promenu (Tucić i Tucić 2000). Dve faze čine osnovu Boldvinovog efekta: faza „organske selekcije“ i faza „ortoplazije“ (Baldwin 1902, Crispo 2007). Kao što je već istaknuto, organizmi su često u stanju da se, tokom jedne generacije, na plastičan način prilagode nastalim promenama sredine. Kako se plastičan odgovor može ispoljiti raznovrsnim promenama morfoloških, fizioloških, ponašajnih ili nekih drugih osobina (npr. osobine životne istorije, nivo ekspresije gena itd.)<sup>11</sup>, potencijal jedinki da na plastičan način odgovore promenama sredine može odrediti koje će jedinke preživeti i doprineti narednoj generaciji – faza „organske selekcije“. Kroz generacije, prirodna

---

<sup>11</sup>Kao psiholog, Boldvin je pre svega isticao plastičnost ponašanja i sposobnosti učenja, iako je razumeo da se plastičnost može odnositi i na mnoge druge osobine.

selekcija može da favorizuje upravo one jedinke koje ispoljavaju plastičnost i, ukoliko nastavi da deluje u pravcu plastične promene, utiče na pojavu genetičkog ispoljavanja takvih osobina – faza „ortoplazije“. Drugim rečima, faza „ortoplazije“ podrazumevala bi usmereni uticaj „organske selekcije“ na evoluciju populacije. Za potpunije razumevanje Boldvinovog efekta neophodno je upoznati se i sa terminom „akomodacija“ koji je Boldvin koristio kako bi istakao nenasledne promene fenotipa koje su uzrokovane promenom sredine koje jedinkama donose određenu adaptivnu korist (Baldwin 1902). Danas se u ovom kontekstu najčešće koristi pojam „fenotipska akomodacija“ koji ima nešto šire značenje i opisuje adaptivno prilagođavanje, bez genetičke promene, koje nastaje tokom procesa razvića kao odgovor na izmenjene genetičke ili sredinske uslove (West-Eberhard 2005). Kao što je već spomenuto, početne plastične odgovore može pratiti i odgovarajuća genetička promena koja je uključena u ispoljavanje date osobine. Ovo je opisano savremenim terminom „genetička akomodacija“ i predstavlja svojevrsan evolucionih mehanizam kada novi fenotipovi, nastali bilo genetičkim ili sredinskim izmenama, putem serije kvantitativno-genetičkih promena postaju adaptivni (West-Eberhard 2003). Dakle, može se reći da Boldvinov efekat uključuje procese kako fenotipske, tako i genetičke akomodacije, a samim tim poseduje potencijal da utiče na procese adaptivne evolucije (Crispo 2007). Važna stvar koju treba napomenuti u vezi sa Boldvinovim efektom je da selekcija može delovati na populacije preko promene srednje vrednosti osobine u promenjenoj sredini, bez promene stepena plastičnosti same osobine (paralelne norme reakcije sa istim stepenom nagiba). Međutim, moguće su i situacije u kojima je upravo sama plastičnost adaptivna i selektovana (izraženiji nagib norme reakcije) čime se favorizuju oni fenotipovi koji imaju najveću sposobnost da na plastičan način odgovore promenljivim sredinskim uticajima (Slika 1.1.2.1A). U oba slučaja, Boldvinov efekat doprinosi diverzifikaciji populacija.



Slika 1.1.2.1. Shematski prikaz odnosa genetičke akomodacije i genetičke asimilacije. Tokom razvića ističe se kontinuum genetičkih i sredinskih uticaja prilikom formiranja fenotipa. **A.** Povećan sredinski uticaj (povećana fenotipska plastičnost) i **B.** povećan genetički uticaj (kanalisanost) u formiranju određene fenotipske karakteristike. Prema Fenig i sar. (Pfennig i sar. 2010).

S druge strane, genetičku asimilaciju treba shvatati kao poseban slučaj genetičke akomodacije (Slika 1.1.2.1B) kada osobina, koja je u početku ispoljavala plastičnost, postaje fiksirana u populaciji i ispoljava se bez obzira na promene u sredini, tj. osobina postaje konstitutivna. Vodington (Waddington 1953) tom prilikom ističe ključnu ulogu procesa razvića i smatra da razviće, delovanjem prirodne selekcije, evoluira u pravcu povećane izolacije od sredinskih uticaja – kanalisanje puteva razvića. Drugim rečima, genetička asimilacija menja učestalost fenotipova usled evolucionih promena osetljivosti ispoljavanja određene osobine tokom razvića (West-Eberhard 2003) i može u velikoj meri da utiče na pravac evolucije neke populacije (Crispo 2007 i ref. unutar). Takođe, genetička asimilacija igra važnu ulogu u diverzifikaciji, jer fenotipovi koji se konstitutivno ispoljavaju, a nekada su bili sredinski indukovani, mogu relativno lako prerasti u razlike između populacija ili vrsta. Drugim rečima, prelaskom sa plastičnih na neplastične fenotipove, genetička asimilacija proizvodi genetički fiksirane razlike i doprinosi raznovrsnosti između populacija (Pfennig i sar. 2010). Dodatno, fiksiranjem jednog fenotipa, bez obzira na sredinske promene, populacija može izbeći one

fenotipove koji nisu adaptivni u datoj sredini. Istovremeno, genetička asimilacija smanjuje cenu koja se vezuje za nastanak plastičnih fenotipova, što se pre svega odnosi na senzorne i efektorne puteve koji aktivno učestvuju u ispoljavanju plastičnih osobina (DeWitt i sar. 1998). Takođe, genetička asimilacija može imati i stabilizacioni efekat na populacije zato što povećava njihovu evovabilnost prikupljajući „skrivenu“ genetičku varijabilnost koja se može ispoljiti u novim okolnostima.

### **1.1.3 Fenotipska plastičnost u procesima diverzifikacije populacija i specijacije**

U dosadašnjem izlaganju fenotipska plastičnost je definisana, opisani su procesi kako se norma reakcija može menjati kroz procese razvića i kakve su evolucione posledice ovakvih događaja. Na ovom mestu biće dodatno objašnjeno na koji sve način fenotipska plastičnost, a posebno adaptivna fenotipska plastičnost, može uticati na diverzifikaciju populacija i procese specijacije.

U skorašnjoj teorijskoj sintezi, Fenig i sar. (Pfennig i sar. 2010) ističu da plastičnost može uticati na povećanje diverzifikacije: (i) formiranjem novih fenotipova i divergencijom unutar populacije, (ii) evolucijom divergencije između populacija i vrsta, (iii) kroz procese specijacije i (iv) adaptivne radijacije. Kao što je već naglašeno, fenotipska plastičnost zauzima centralno mesto u nastanku i održavanju fenotipskih razlika u populaciji (West-Eberhard 2003) i jedinkama služi kao svojevrsan most koji povezuje stare i nove sredine, pružajući im mogućnost da opstanu u izmenjenim uslovima i eventualno adaptivno odgovore na novonastale uslove životne sredine (Ghalambor i sar. 2007 i ref. unutar, Ghalambor i sar. 2015). Na taj način, fenotipska plastičnost doprinosi procesima diverzifikacije unutar populacije, a tako formirane fenotipske razlike, direkciona ili disruptivna selekcija mogu dodatno oblikovati (Schlichting 2004). Znajući da regulatorna mreža razvojnih procesa leži u osnovi fenotipske plastičnosti (Schlichting i Pigliucci 1998), veliki broj članova jedne populacije može istovremeno ispoljiti postojeću genetičku varijabilnost uzrokovanu unutrašnjim i/ili spoljašnjim promenama. Drugim rečima, izmenjeni sredinski uslovi mogu istovremeno izmeniti fenotipske karakteristike velikog broja jedinki (West-Eberhard 2003, Martin i Pfennig 2010). Ne negirajući mogućnost nastanka novih fenotipskih karakteristika „klasičnim“ mutacionim modelom, fenotipska plastičnost ima

nekoliko pogodnosti u ovim procesima. Pre svega, mutacioni događaji najčešće nisu dovoljno česti da bi odgovorili na brze promene koje nastaju u životnoj sredini. Dodatno, većina novonastalih mutacija može biti štetna za njihove nosioce, a retke genetičke varijante, čak i ako su adaptivne, mogu se izgubiti iz populacije putem genetičkog drifta. Još jedan važan doprinos fenotipske plastičnosti u obrazovanju novih fenotipova i divergenciji unutar populacija je i to što plastičnost jedne osobine, može izmeniti veliki broj vezanih i korelisanih osobina koje su onda izložene potpuno novim selektivnim pritiscima (određena morfološka promena je često praćena izvesnim promenama u ponašanju ili fiziologiji Cornwallis i Brikhead 2008, Snell-Rood 2013). Tako na primer, povećana sposobnost učenja, kao jedna od manifestacija fenotipske plastičnosti, omogućava jedinkama da na bolji način koriste okruženje u kom se nalaze i iskoriste ovu prednost u novim sredinama, a u takvim okolnostima bi osobine koje su važne za korišćenje resursa bile izložene novim selektivnim pritiscima (Price i sar. 2003, Forister i Wilson 2013). Još jedna u nizu specifičnosti fenotipske plastičnosti koja doprinosi diverzifikaciji populacija je i sposobnost prikupljanja „skrivenih“ genetičke varijabilnosti i njenog „razotkrivanja“ pod određenim okolnostima (tj. nakon sredinski indukovane promene, Videti odeljak 1.1.1, Uvod). Naime, kroz plastični odgovor, jedinke su u stanju da ublaže nastale promene u varijantama gena putem kompenzatornih mehanizama sa jedne (Rutherford i Lindquist 1998, Sangster i sar. 2004, Jarosz i Lindquist 2010) i relaksiranim efektima selekcije na date gene u neindukujućim sredinama, s druge strane (Lahti i sar. 2009, Snell-Rood i sar. 2011 i ref. unutar). Kroz generacije, ovako „skrivena“ genetička varijabilnost se nagomilava, a do njenog „razotkrivanja“ može doći nakon promena u sredini ili genomu (mutacione, rekombinacione i/ili epistatičke promene), kada jedinke formiraju nove fenotipske karakteristike. Jedan od najočiglednijih primera kako fenotipska plastičnost može doprineti procesima diverzifikacije unutar populacije predstavljaju polifenizmi (Nijhout 2003, Suzuki i Nijhout 2006). Ovaj ekstremni primer ireverzibilne fenotipske plastičnosti, kada jedinke sa istovetnim, ili maksimalno sličnim genomima daju potpuno različite fenotipove kao odgovor na sredinski indukovanu promenu, predstavljaju odlične kandidate za nastanak reprduktive izolacije, pa se samim tim i smatra da je uloga polifenizama u procesima specijacije izuzetno važna (West-Eberhard 1989, Pfennig i sar. 2010, Nonaka i sar. 2015).

Fenotipska plastičnost doprinosi divergenciji između populacija i vrsta jer može poslužiti kao mehanizam koji populacijama olakšava prelazak sa jednog na drugi „adaptivni vrh“ (Price i sar. 2003). Naime, ukoliko zamislimo dve populacije, od kojih svaka zauzima svoj adaptivni vrh, i ukoliko dođe do nagle promene sredine kod jedne od populacija, novi optimum adaptivne vrednosti bio bi u potpunosti izmenjen. Klasično shvatanje prelaska takve populacije na novi adaptivni vrh podrazumevalo bi „spore“, kvantitativno-genetičke promene strukture populacije i dugotrajan prelazak „adaptivne doline“ uz povećanu verovatnoću eliminacije takve populacije putem kombinovanih efekata genetičkog drifta i prirodne selekcije. Međutim, mehanizmima fenotipske plastičnosti ovaj prelazak se dešava u okvirima razvojnih, a ne evolucionih skala vremena, nastali fenotip se nalazi u novom kontekstu, prirodna selekcija dodatno oblikuje takvu populaciju i konačno je postavlja na novi adaptivni vrh. Prateći ovakav scenario, početne dve populacije mogu, u veoma kratkom vremenskom roku, ispoljiti značajne fenotipske razlike. Dodatno, kako populacije jedne vrste stupaju u različite interakcije sa populacijama kako iste, tako i drugih vrsta, promena nastala putem fenotipske plastičnosti kod jedne populacije može izmeniti interakcije sa populacijama drugih vrsta i na taj način, indirektno, uticati i na povećanje njihove diverzifikacije (Johnson i Stinchcombe 2007).

Iako skorašnje sintetičko delo iz oblasti specijacije u potpunosti ignoriše mehanizme fenotipske plastičnosti (Coyne i Orr 2004), poslednjih godina povećan broj revijalnih radova (West-Eberhard 1987, 1989, 2003, 2005, Pfennig i sar. 2010, Pfennig i Ehrenreich 2014, Schlichting i Wund 2014 i ref. unutar), kao i mnogi kvantitativni modeli (Thibert-Plante i Hendry 2011, Thibert-Plante i Gavrillets 2013, Nonaka i sar. 2015), ipak ukazuju na značaj i realnost ovog mehanizma u procesima nastanka novih vrsta. Tako na primer, plastična promena osobina odgovornih za korišćenje resursa može uticati na sva tri ključna koraka specijacije – ekološki zasnovanu divergenciju, reproduktivnu izolaciju i genetički mehanizam koji ih povezuje (Videti odeljak 1.4, Uvod). Znajući da ovakvi primeri postaju sve brojniji (Nosil 2012 i ref. unutar), postaje jasno da se bez adekvatnog razumevanja uloge fenotipske plastičnosti procesi specijacije ne mogu u potpunosti objasniti (Mason 2016). Mnogi taksoni pokazuju da međupopulaciona reproduktivna izolacija može biti uzrokovana sredinski indukovanim promenama u korišćenju resursa, promenama nivoa plastičnosti osobina koje utiču na

izbor partnera, ili raznovrsnim fenološkim karakteristikama (Pfennig i sar. 2010, Mason 2016). Pored značajne uloge u procesima specijacije, fenotipska plastičnost utiče i na procese adaptivne radijacije (Pfennig i sar. 2010). Svakako najilustrativniji primeri toga kako fenotipska plastičnost može povećati verovatnoću pojave novih taksona i objasniti obrasce varijabilnosti koji tom prilikom nastaju, mogu se pronaći među fitofagnim insektima (Videti odeljak 1.2, Uvod). Međutim, pokazano je i da klade drugih taksona, poput vodozemaca i riba, koje ispoljavaju visoke nivoe fenotipske plastičnosti imaju veći broj vrsta od sestrinskih klada kod kojih je plastičnost manje izražena (Pfennig i McGee 2010, Crispo 2008). Stoga se plastičnost, sa punim pravom, može smatrati ključnim mehanizmom koji omogućava adaptivnu radijaciju kod veoma različitih taksona.

#### **1.1.4 Plastičnost osobina životne istorije**

Osobine životne istorije su one karakteristike organizama koje su direktno povezane sa strategijama ulaganja usvojenih resursa u preživljavanje, rast i reprodukciju, a zbog izraženog uticaja na adaptivnu vrednost organizama, osobine životne istorije se još nazivaju i osnovne komponente adaptivne vrednosti (Roff 1992, 2002, Stearns 1992, Tucić i Tucić 2000, Stojković i Tucić 2012). Pre svega, osnovni zadatak proučavanja „teorije životnih istorija“ je da objasni raznovrsnost životnih strategija između vrsta i razjasni na koji način evolucija oblikuje organizme sa optimalnim reproduktivnim uspehom u datoj sredini (Fabian i Flatt 2012). Ovo se svakako nadovezuje na zadatke evolucione ekologije koja pokušava da ponudi adekvatna objašnjenja kompleksnih interakcija u nekoj ekološkoj zajednici i evolucionih istorija pojedinačnih taksona koji je sačinjavaju. Budući da fenomen fenotipske plastičnosti igra važnu ulogu u formiranju fenotipskih razlika organizama, osobine životne istorije svakako nisu izuzete od ovako važnog izvora variranja (Stearns i Koella 1986, Nyilin i Gotthard 1998, Schlichting i Pigliucci 1998, West-Eberhard 2003).

Osnovni princip funkcionisanja živih sistema podrazumeva raspoređivanje usvojenih resursa prema čitavom nizu različitih procesa koji omogućavaju organizmima obavljanje velikog broja funkcija. Posmatrano u kontekstu osobina životne istorije, prikupljena energija mora biti usmerena prema različitim osobinama, kao što su broj i veličina potomaka, masa tela prilikom stupanja u reprodukciju, ili dužina života.



Imajući u vidu da jedan organizam ima ograničen kapacitet za sticanje resursa (engl. *resource acquisition*), njihovo usmeravanje (engl. *resource allocation*) ka jednoj osobini/funkciji nužno vodi ka smanjenju raspoloživih resursa (energije) za ulaganje u neku drugu osobinu/funkciju. Samim tim je i teorija životnih istorija utemeljena na optimizacionim modelima koji obuhvataju interakciju intrinzičkih uzajamnih ograničenja (engl. *trade-off*) i ekstrinzičkih faktora. U intrinzička ograničenja, pored gorenavedenog ograničenja ulaganja energije u različite procese (tzv. fiziološko uzajamno ograničenje, engl. *physiological trade-off*), spada i mikroevoluciono trade-off (Sterns 1992). Naime, kako osobine životne istorije predstavljaju izuzetno kompleksne osobine izgrađene od hiljada genetičkih i epigenetičkih elemenata, kao i njihovih specifičnih interakcija, ovako kompleksna (epi)genetička mreža je u stanju da reguliše uzajamno ograničenje alokacije resursa između osobina životne istorije. Na taj način (epi)genetički sistemi uslovljavaju korelacije između osobina životne istorije i uspostavljaju specifičnu životnu strategiju koja ograničava formiranje drugačijih kombinacija. Dodatno, kako osobine životne istorije direktno utiču na adaptivnu vrednost jedinki (Boggs 2009, Sih i sar. 2012, Eck i sar. 2015), kratkoročne, ali i dugoročne promene ekstrinzičkih faktora mogu imati direktne posledice i na demografsku strukturu populacije (Caswell 1983, Maia i sar. 2000). U tako izmenjenom ekološkom kontekstu, one jedinke koje poseduju sposobnost da optimalno rasporede svoje resurse (plastični odgovor osobina životne istorije) mogu imati višu adaptivnu vrednost u poređenju sa jedinkama koje nisu u stanju da na plastičan način odgovore promenjenim uslovima životne sredine. Samim tim, učestalost plastičnih genotipova bi se kroz generacije uvećavala, što bi takve populacije približilo adaptivnom optimumu, i većem uspehu same populacije. Primera koji ilustruju da novi sredinski uslovi zaista mogu indukovati značajne promene u genetičkoj varijabilnosti odgovora osobina životne istorije i, posledično, izmeniti njihove kovarijanse i obrasce fenotipskih i genetičkih korelacija u nekoj populaciji zaista je mnogo (Schlichting i Pigliucci, 1998, Siepielski i sar. 2009, Matsubayashi i sar. 2010, Fitzpatrick 2012). Ovakve, sredinski indukovane, promene u obliku i relacijama između osobina životne istorije mogu biti favorizovane ukoliko su načelno usklađene sa adaptivnim pejzažom koji nameće nova sredina (Saeki i sar. 2014). Imajući to u vidu, može se očekivati da promena sredine u

značajnoj meri izmeni pravac evolucije životnih strategija populacija (Barron 2001, Gripenberg i sar. 2010, Rios i sar. 2013, Saeki i sar. 2014).

## ***1.2 Evoluciono-ekološka dinamika fitofagnih insekata i biljaka***

Paleobotanički podaci drvenaste vrste paprati *Psaronius chasei* Morgan, koji datiraju iz kasnog Karbona (320 do 300 miliona godina), ubedljiv su dokaz da je do formiranja veze između biljaka i holometabolnih fitofagnih insekata došlo veoma rano u evolucionoj istoriji života (Labandera i Phillips 1996, McLoghlin 2011). Naime, fosilizovana tkiva ove drvenaste vrste paprati imaju specifična hipertrofična zadebljanja – gale, a prisustvo mesta izlaza nesumnjivo ukazuje da su insekti odgovorni za njihov nastanak. Dodatno, mehanička oštećenja listova, kore, sporangija i parenhima nedvosmisleno pokazuju da su vrste roda *Psaronius* bile izložene velikom broju različitih vrsta insekata koje su koristile njihove raznovrsne delove u svojoj ishrani. Dakle, već u Karbonu su razvijeni kompleksni odnosi između pojedinih delova biljke i različitih vrsta insekata koji su se specijalizovali za njihovo koršćenje što, u velikoj meri, podseća na složenost i raznovrsnost interakcija koja se može naći na recentnim vrstama biljaka (Labandera i Phillips 1996, Labandera i sar. 2002, Stam i sar. 2014)<sup>12</sup>. Sledeći odeljci imaće za cilj da prikažu raznovrsnost fitofagnih insekata i ukažu na dinamične evolucione procese koji vladaju između fitofagnih insekata i njihovih domaćina.

### **1.2.1 Zastupljenost i raznovrsnost fitofagnih insekata**

Danas, imajući u vidu problem kvantifikacije biološke raznovrsnosti koji se određuje poređenjem broja vrsta<sup>13</sup>, smatra se da polovinu od procenjenih šest miliona vrsta insekata predstavljaju fitofagni insekti. Ovakav impozantni broj vrsta svrstava fitofagne insekte, s punim pravom, u jednu od najraznovrsnijih grupa organizama. Zajedno sa oko 352000 biljnih vrsta koje proizvode 50 % ukupne biomase na Zemlji (Paton i sar. 2008), pomenuti taksoni imaju izuzetan uticaj na formiranje odnosa u biološkim zajednicama,

---

<sup>12</sup>Procenjuje se da su ovako kompleksne interakcije biljaka i insekata morale evoluirati duže vremena. Samim tim, interakcija insekata i biljaka najverovatnije datira iz vremena između pre 420 i 385 miliona godina (Labandera 2013).

<sup>13</sup> Purvis i Hektor (Purvis i Hector 2000) skreću pažnju na probleme koje pojednostavljena interpretacija biodiverziteta može imati na istraživačke programe i zaključke koji se tom prilikom izvode.

utiču na dinamične promene višetrofičkih sistema i, u značajnoj meri, doprinose ukupnoj biološkoj raznovrsnosti (Schoonhoven i sar. 2005, Stam i sar. 2014).

Iako je poreklo fitofagije veoma staro, samo devet od ukupno 29 redova insekata ima značajnu zastupljenost ovakvog načina ishrane (Price i sar. 2011)<sup>14</sup>. Njih čine pripadnici sledećih insekatskih redova: Orthoptera (pravokrilci), Phasmatodea (paličnjaci), Thysanoptera (resokrilci), Hemiptera (biljne vaši, cikade i stenice), Psocoptera (senojedi), Coleoptera (tvrdokrilci), Hymenoptera (opnokrilci), Lepidoptera (leptiri) i Diptera (dvokrilci). Upadljiva je i razlika procentualne zastupljenosti fitofagnih insekata unutar pomenutih redova. Tako su vrste svrstane u redove Lepidoptera, Phasmatodea, Orthoptera, Thysanoptera i Hemiptera predominantno fitofagne (između 80 % i 95 %). Smanjeno prisustvo fitofagnih insekata upadljivo je kod Coleoptera (oko 35 %), Diptera (oko 30 %) i Hymenoptera (oko 15 %). Takođe, upečatljiv je i opšti trend po kome klade koje imaju fitofagiju kao dominantni tip ishrane povećavaju ukupan broj vrsta u odnosu na sestrinsku kladu koje imaju neki drugi način ishrane (npr. predatorski). Ovakav trend je veoma značajan kada su u pitanju procesi diverzifikacije i specijacije i smatra se da specifične interakcije biljaka i fitofagnih insekata imaju važnu ulogu u pomenutim procesima (Price i sar. 2003, Pfennig i McGee 2010, Pfennig i sar. 2010, Smith i Ritchie 2013).

### **1.2.2 Interakcije fitofagnih insekata i biljaka**

Bez svake sumnje, interakcije između fitofagnih insekata i biljaka su uticale i na dinamiku evolucionih procesa kod pomenutih taksona. Tako su fitofagni insekti povećavali selektivni pritisak biljkama koje su odgovarale formiranjem različitih odbrambenih sistema. Raznovrsne morfološke celine (npr. trihomi, trnovi, voštane i/ili glatke površine), smanjenje nutritivnog kvaliteta biljnog tkiva i evolucija sekundarnih metabolita samo su neke od strategija koje su omogućile biljkama odbranu od fitofagnih insekata (Chen 2008, Fürstenberg-Hägg i sar. 2013 i ref. unutar). S druge strane, insekti su na povećani selektivni pritisak biljaka odgovarali evolucijom različitih strategija

---

<sup>14</sup>Ovakva podela ne uključuje brojne vrste insekata koji u svojoj ishrani koriste i različite biljne materije u raspadu, ili insekte koji aktivno razlažu biljnu materiju. Najupečatljiviji primer ovakvog načina ishrane imaju predstavnici reda Isoptera (termiti). Ukoliko se vrste koje se hrane na ovaj način ubroje u fitofagiju, broj redova fitofagnih insekata uvećava se za 16, a ovakav tip ishrane koriste i tri reda svrstanih u klasu Entognata (Protura, Diplura i Collembola) (Price i sar. 2011).

detoksifikacije, ekskrecije ili sekvestracije (Karban i Agrawal 2002, Agrawal 2011 i ref. unutar). Ovakvi odnosi fitofagnih insekata i njihovih biljaka domaćina doveli su do razvoja nekoliko hipoteza koje, u prvom planu, pokušavaju da opišu i objasne genetičku, fenotipsku i geografsku varijabilnost odbrane biljaka od fitofagnih insekata i cene koja prati ovakve sisteme odbrane, što je poznato pod nazivom teorija odbrane biljaka (engl. *plant defence theory*<sup>15</sup>, Stamp 2003 i ref. unutar). Ukratko, dva osnovna mehanizma kojima se neka biljka brani od fitofagnih insekata su: (i) smanjenje unosa hranljivih materija – antinutritivnost i (ii) toksičnost. Antinutritivnost kao mehanizam može delovati preko ograničenja fizičkog unosa hrane, ili smanjenjem nutritivne vrednosti unete hrane. Tako na primer, različita zadebljanja biljnih organa i njihovih ćelijskih zidova, poput deponovanja lignina i tanina, mogu zaštititi biljke od prevelike štete, dok se nutritivna vrednost hrane može umanjiti smanjivanjem usvajanja nutrijenata u procesu varenja hrane, ili inhibicijom digestivnih enzima insekata. Dodatno, toksičnost, kao drugi mehanizam odbrane biljaka, nanosi fizičku štetu insektu (npr. cisteinske proteaze biljaka razgrađuju proteine peritrofne membrane insekta, holesterol oksidaze dovode do oksidativnih oštećenja u membrani epitelnih ćelija creva insekata, itd.), ili izaziva određene hemijske disfunkcije metaboličkih procesa kroz delovanje sekundarnih metabolita i/ili fitohemaglutinina (lektina). Pomenuta teorija u značajnoj meri daje odgovore na pitanja kako biljke odgovaraju na povećan selekcionistički pritisak fitofagnih insekata, međutim: „mnogo je manje jasno u kom opsegu su biljke i fitofagni insekti uticali na međusobnu diverzifikaciju i koji to uslovi utiču na stepen koadaptacije i koevolucije“ (Price i sar. 2011, str. 159).

Iako su ideje koje zastupaju združenu evoluciju i diferencijaciju fitofagnih insekata i biljaka bile poznate i pre uticajnog rada Erlich i Raven (Ehrlich i Raven 1964), tek je tada po prvi put konceptualizovana koevolucionarna ideja koja je empirijskim istraživanjima „pružila okvir koji je istovremeno sveobuhvatan i provokativan“ (Janz 2011, str. 72). Osnovni doprinos ovog uticajnog dela nije bilo samo uočavanje taksonomske podudarnosti grupa leptira i biljaka kojima se oni hrane, već i činjenica da sekundarni metaboliti biljaka u pojedinim slučajevima mogu imati veći uticaj na diverzifikaciju od direktne taksonomske povezanosti biljaka kojima se određena grupa

---

<sup>15</sup>Teorija odbrane biljaka u sebi sadrži nekoliko hipoteza koje su od sredine sedamdesetih godina dvadesetog veka predstavljale teorijske okvire za empirijska istraživanja fizioloških i evolucionih objašnjenja odbrambenih sistema biljaka.

leptira hrani. Drugim rečima, taksonomski raznovrsne grupe biljaka mogu zbog istih, ili dovoljno sličnih sekundarnih metabolita poslužiti kao adekvatna hrana nekoj grupi leptira. U svojoj osnovi, koevoluciona hipoteza je svojevrsna „trka u naoružanju“ (engl. *arms race*) kada nova jedinjenja, kao odgovor na napade fitofagnih insekata, evoluiraju kod biljaka, smanjujući štetne efekte insekta, a što može dovesti do zauzimanja novih niša i intenzivnije diverzifikacije biljaka. S druge strane, insekti na novonastala hemijska jedinjenja biljaka odgovaraju adaptacijama i takođe povećavaju svoj diverzitet. Dakle, ovakve situacije bi vodile ka seriji adaptivnih radijacija i povećanom broju specijacija kako kod biljaka, tako i kod fitofagnih insekata (engl. *escape-and-radiate model of diversification*). Savremeni podaci zaista i pokazuju da insekti koji uspeju da pređu na novu kladu biljaka, imaju povećanu stopu diverzifikacije (Winkler i Mitter 2008). Ovako postulirana, koevoluciona hipoteza povezuje mikro- i makroevolucione događaje i bila je inspiracija mnogim istraživačima čiji je cilj bio objašnjenje koevolucije i velike raznovrsnosti biljaka i fitofagnih insekata. Iako je zadobila veliku popularnost, ideja koevolucije nosila je sa sobom i brojna teorijska opterećenja (Suchan i Alvarez 2015 i ref. unutar)<sup>16</sup>. Tako, koevolucija fitofagnih

---

<sup>16</sup>Na različite aspekte problema pogrešne interpretacije procesa koevolucije ukazuje nekolicina autora (npr. Brooks 1979 i Janzen 1980). Tako Jansen (Janzen 1980) pokušava da precizira pojam koevolucije i definiše „striktnu koevoluciju“ kao uzajamne adaptivne evolucione promene osobina kod dve populacije, dok „difuzna koevolucija“ opisuje adaptivnu promenu osobina neke populacije nastale usled selekcionog pritiska grupe populacija (npr. asocijacije različitih vrsta). Dodatno, skreće se pažnja i na neophodnost dokazivanja recipročne adaptivne promene populacija koje intereaguju jer: „nije nužno da je pčela koevoluirala sa cvetom koga oprašuje, gusenica nije nužno koevoluirala sa biljkom kojom se hrani, a žižak nije nužno koevoluirao sa semenima leguminoza koja su bogata inhibitorima proteaza.“ (Janzen 1980, str. 611-612). Bruks (Brooks 1979) ukazuje da je pojam koevolucija korišćen prilikom opisivanja dva potpuno različita fenomena. Jedan od njih bi bio koadaptacija, dok bi drugi bio kospecijacija, a oni ne moraju biti nužno povezani, odnosno koadaptacija može voditi ka kospecijaciji i obrnuto. Ovakvi pogledi doprineli su da se procesi koevolucije posmatraju ili uz prevelika ograničenja (npr. „striktna koevolucija“) ili na previše velikim skalama (npr. nivo kladogeneze i specijacije). Radovi Tompsona sredinom devedesetih godina (Tompson 1994, 1997) daju novi ugao gledanja na problematiku koevolucije ukazujući da se populacije organizama koje intereaguju ne nalaze u „ekološkom vakuumu“, već da u različitoj meri intereaguju sa brojnim populacijama u nekoj zajednici, što on naziva geografskim mozaikom. Kako jedna populacija može biti povezana direktno ili indirektno sa velikim brojem populacija, i kako intenzitet tih interakcija može varirati kako kroz vreme (transgeneracijske promene), tako i kroz prostor (međusobna geografska povezanost populacija), varijabilnost interakcija između

insekata i biljaka nije bila dovoljno precizno definisana, sam pojam se često koristio u pogrešnom kontekstu, a „pojam koji može da znači bilo šta, na kraju ne znači ništa“ (Janz 2011 str. 72). Međutim, i pored velikih problema oko definisanja samog pojma i značaja procesa koevolucije u procesima diverzifikacije vrsta, opšti zaključci dobijeni poređenjem viših taksonomskih kategorija zaista ukazuju da je veza biljaka i fitofagnih insekata često i taksonomski konzervativna (Janz 2011)<sup>17</sup>.

Istovremeno, fitofagni insekti pokazuju relativno visok stepen specijalizacije prema biljkama kojima se hrane (Jaenike 1990, Winkler i Mitter 2008, Forister i sar. 2012, Forister i Wilson 2013, Forister i sar. 2015). Jedan od češće korišćenih parametara specijalizacije insekata je i broj biljnih vrsta koje neki insekt koristi tokom preadultne i/ili adultne faze. Za potpuno razumevanje trendova specijalizacije, neophodno je prvo definisati pojmove koji se odnose na opseg biljnih vrsta koje neki insekt može koristiti u svojoj ishrani. Tako su fitofagni insekti najčešće podeljeni u tri grupe: (i) monofagni insekti koji se hrane isključivo jednom biljnom vrstom, ili različitim vrstama biljaka koje pripadaju istom rodu, (ii) oligofagni insekti koji koriste veći broj biljaka različitih rodova iz iste familije i (iii) polifagni insekti koji se još nazivaju i generalisti jer koriste biljke koje pripadaju različitim familijama (Ali i Agrawal 2012). Fitofagni insekti klasifikovani na ovaj način predstavljaju podelu kontinuuma koji se sreće u biološkim zajednicama, od striktno monofagnih vrsta, do vrsta koja su polifagne. Upotreba ovakve podele je korisna za poređenje taksonomskih kategorija iznad nivoa roda i ukazuje na trend po kome više od 75 % vrsta Aphidoidea (biljne vaši), Cicadellidae (cikade) i Agromyzidae (muve rudari) spada u grupu monofagnih insekata (Schoonhoven i sar. 2005), a prema nekim procenama manje od 10 % svih fitofagnih insekata se hrani biljkama iz tri različite familije (Bernays i Graham 1988)<sup>18</sup>. Savremena analiza opsega biljaka domaćina fitofagnih insekata na globalnom

---

populacija može u velikoj meri biti sakrivena, a samim tim i izostavljena iz modela koevolucije. Ovakav ugao posmatranja, ponovo aktualizuje koncepciju koevolucije i usmerava istraživačke programe prema sveobuhvatnijem i kompleksnijem pristupu prilikom objašnjenja evolucionih odnosa biljaka i fitofagnih insekata.

<sup>17</sup>Ovakva generalizacija je uslovljena dovoljno sličnim sastavom sekundarnih metabolita biljaka koje pripadaju različitim taksonomskim kategorijama.

<sup>18</sup>Poseban problem ovakvog grupisanja vrsta fitofagnih insekata je i podatak da neke vrste mogu koristiti jednu vrstu biljke na jednoj teritoriji, a na nekoj drugoj lokaciji oni se mogu specijalizovati za korišćenje neke druge biljke domaćina (Singer i Wee 2005).

nivou potvrdila je trend po kome su specijalisti najbrojnija grupa insekata (Forister i sar. 2015). Drugim rečima, najveći broj vrsta fitofagnih insekata pokazuje specijalizaciju prema relativno malom broju biljnih vrsta koje koristi u ishrani.

Imajući u vidu relativnu taksonomsku konzervativnost sa jedne strane, i visok nivo specijalizacije na različitim nivoima s druge, očekivano bi bilo da fitofagni insekti prelaze na nove biljke domaćine (engl. *host-shift*) mnogo ređe nego što je to zabeleženo. Međutim, procenjuje se da između 20 % i 50 % specijacija kod fitofagnih insekata uključuje događaje povezane sa promenom biljke domaćina čime ekološka specijacija postaje veoma važan mehanizam u njihovom nastanku (Rundle i Nosil 2005, Winkler i Mitter 2008, Nyman i sar. 2010, Nosil 2012, Videti odeljak 1.4, Uvod). Striktno govoreći, prelazak fitofagnih insekata na nove biljke domaćine podrazumeva potpunu zavisnost insekta od nove biljke tokom specifične faze razvića, ili tokom celog životnog ciklusa, dok širenje opsega biljaka domaćina (engl. *host-expansion*) obuhvata korišćenje nove biljke domaćina uz zadržavanje biljaka koje su do tada korišćene. Smatra se da je prelazak na nove biljke domaćine uvek predvođen širenjem opsega biljaka koje neki fitofagni insekt koristi u svojoj ishrani (Agosta 2006). Međutim, ovakav scenario svakako ne podrazumeva nužnost koevolucije biljaka i fitofagnih insekata, već prosto može oslikavati proces u kom fitofagni insekti poseduju skup osobina koje omogućavaju opstanak u novom ekološkom kontekstu (engl. *ecological fitting*, Janzen 1985, Agosta 2006). Dosta dobrih primera veoma brzog prelaska fitofagnih insekata na nove biljke domaćine može se naći u literaturi koja se bavi invazivnim vrstama (Siemann i sar. 2006, Carroll 2007, Vellend i sar. 2007, Verhoeven i sar. 2009, Bezemer i sar. 2014). Opšti zaključak koji se iz ovakvih studija može izvesti jeste da alohtone vrste fitofagnih insekata veoma brzo usvajaju autohtone biljke kao svoje nove domaćine. Takođe, alohtone invazivne biljne vrste često se suočavaju sa nizom lokalnih fitofagnih insekata koji počinju da ih koriste u svojoj ishrani.

Dakle, i pored relativne taksonomske rigidnosti i relativno visokog nivoa specijalizacije prilikom korišćenja biljaka domaćina, promene domaćina se dešavaju često. Agosta i sar. (Agosta i sar. 2010) ovakve situacije definišu pojmom „paradoks

---

Dodatno, različiti stadijumi životnog ciklusa insekata mogu se specijalizovati za korišćenje različitih biljaka tokom ishrane.

parazita“ (engl. *parasite paradox*)<sup>19</sup>. Uzimajući u obzir da prelazak na nove biljke domaćine može istovremeno uticati na promenu velikog broja osobina (npr. mehanizmi pronalaženja i prepoznavanja odgovarajućeg domaćina, adekvatnog usvajanja hranljivih materija, specifičnih mehanizama detoksifikacije itd.) „paradoks parazita“ postaje još izazovniji, a njegovo rešavanje zahteva: „disekciju anatomije promene domaćina i razumevanje vešestepenosti procesa koga čine ekološke i evolucione komponente“ (Janz 2011, str. 76). Upravo je ovakav višestepeni pristup neophodan ukoliko je razumevanje procesa prelaska fitofagnih insekata na nove biljke domaćine postavljeno kao osnovni cilj istraživanja. Samim tim, specifične promene osobina životne istorije i ponašanja, promena populaciono-ekoloških parametara i razumevanje uloge fenotipske plastičnosti u procesu nastanka novih vrsta, predstavljaju ključne celine koje se moraju detaljnije ispitati kako bi fenomen prelaska na nove biljke domaćine postao jasniji.

### **1.3 Fitofagni insekti i nove biljke domaćini – izazovi i posledice**

Predhodni odeljak se prvenstveno bavio evoluciono-ekološkim interakcijama biljaka i fitofagnih insekata. Osnovni zadatak ovog odeljka biće prikazivanje specifičnih izazova sa kojima se fitofagni insekti susreću prilikom prepoznavanja odgovarajuće biljke domaćina, kao i kratkoročnih i dugoročnih posledica koje eventualna promena biljke domaćina može imati na evoluciju reproduktivnog ponašanja i osobina životne istorije.

#### **1.3.1 Reproductivno ponašanje i reproductivna izolacija**

Jedna od veoma važnih posledica promene biljke domaćina odnosi se na evoluciju reproduktivnog ponašanja i uloge koju ova promena ima tokom izbora partnera kod različitih vrsta insekata (engl. *mate choice*). Za potpunije razumevanje ovih fenomena neophodno je pre svega upoznati se sa dva elementa reproduktivnog ponašanja. Prvi element opisan je kao preferencija ka ukrštanju (engl. *mating preference*) i predstavlja sklonost ženki i mužjaka da se ukrštaju sa određenim fenotipom (Jennios i Petrie 1997, Cotton 2006). Drugi element obuhvata skup vizuelnih, vibracionih, hemijskih i audio signala koje partneri koriste tokom reproduktivnog ponašanja koji utiču na njihove reproductivne odluke (engl. *mate signaling*, Coyne i Orr 2004, Nosil 2012). Stoga, izbor

---

<sup>19</sup>Paraziti imaju vrlo specifične načine ishrane, a broj domaćina je često vrlo ograničen, pa se stoga i odnos fitofagnih insekata i biljaka može se posmatrati kao specifičan slučaj odnosa parazita i domaćina (*sensu* Agosta i sar. 2010).



partnera predstavlja aktivnu manifestaciju preferencije partnera koja može evoluirati ukoliko sklonost jednog pola koevoluirala sa signalima drugog pola. Dodatnom podelom preferencije partnera na funkciju preferencije (engl. *preference function*) – rangiranje potencijalnih partnera u odnosu na osobine važne prilikom interakcije polova, i izbirljivost partnera (engl. *choosines*) – trud koji jedinka ulaže prilikom procenjivanja partnera, moguća je detaljnija analiza i unapređenje modela evolucije reproduktivnog ponašanja (Jennions i Petrie 1997, Cotton 2006). Samim tim, variranje prilikom izbora partnera može da potiče od raznovrsnosti funkcije preferencije, i/ili izbirljivosti partnera. Takođe, preferencija ka ukrštanju, a samim tim i izbor partnera, umnogome zavise i od sposobnosti jedinki da prime i obrade signale koje im druge jedinke šalju (Jennions i Petrie 1997, Ronald i sar. 2012). U kontekstu reproduktivnog ponašanja, jedinke određene populacije se mogu ponašati asortativno, kada su ukrštanja sličnih jedinki učestalija od očekivanog broja, ili disasortativno, kada ukrštanja sličnih fenotipova postaju ređa od očekivanog broja. U slučaju asortativnog ukrštanja unutar populacija, reproduktivno ponašanje direktno vodi divergenciji između populacija usled prezigotske reproduktivne izolacije. Takođe, vrlo je važno naglasiti da seksualna selekcija kao: „promena učestalosti gena ili morfi sparenih jedinki u odnosu na ukupne učestalosti tih istih gena ili morfi u celoj populaciji“ (Hartl i Clark 1989, str. 195) i reproduktivna izolacija, imaju različite uloge u evoluciji neke grupe. Tako seksualna selekcija menja učestalost alela u populaciji, dok seksualna izolacija može direktno uticati na procese specijacije (Rolán-Alvarez i Caballero 2000 i ref. unutar).

Veliki broj studija pokazuje da sredinska raznovrsnost, delujući preko promena procesa razvića, može narušiti signale i načine na koji se oni obrađuju, što konačno utiče i na promenu preferencije ukrštanja između jedinki<sup>20</sup> (David i sar. 2000, Hunt i sar. 2005, Cotton i sar. 2006, Smadja i Butlin 2009, Eraly i sar. 2009, Cocroft i sar. 2010, Geiselhardt i sar. 2012). Istovremeno, promena sredine može voditi ka plastičnom odgovoru ekspresije onih gena koji su odgovorni za nastanak raznovrsnih reproduktivnih signala (Qvarnström i sar. 2000, Nosil i sar. 2007, Rodríguez i sar. 2008,

---

<sup>20</sup>Izmena reproduktivnog ponašanja usled sredinskih uticaja, poznata i pod nazivom hipoteza razvojnog stresa (engl. *developmental stress hypothesis*, Nowicki i sar. 2002, Buchanan i sar. 2003), sa jedne strane ističe ulogu sredine u narušavanju razvića senzorskog sistema jedinki, dok sa druge strane menja načine na koji se ti signali obrađuju, što konačno utiče na promene koje se dešavaju prilikom izbora partnera.

Etges i sar. 2009, Cocroft i sar. 2010). Jedan takav ilustrativni primer predstavljaju kutikularni ugljovodonici – CHC (Videti odeljak 1.4.2.1, Uvod), relativno jednostavna hemijska jedinjenja koja se nalaze na površini egzoskeleta insekata i kao kontaktni feromoni često imaju važnu ulogu tokom izbora partnera (Tregenza i sar. 2000, Howard i Blomquist 2005, Ferveur 2005). Variranje ovih jedinjenja potiče kako od genetičke varijabilnosti populacija (Havens i Etges 2013 i ref. unutar), tako i od raznovrsnih sredinskih uticaja na puteve njihove biosinteze (Grace i Shaw 2004, Etges i sar. 2007, Cocroft i sar. 2008, Fedina i sar. 2012). Dakle, posmatrano u kontekstu procesa promene biljke domaćina, nova sredina može proizvesti nove fenotipske karakteristike koje, ukoliko su povezane sa reproduktivnim uspehom jedinki, imaju potencijal da izmene uspostavljen obrazac ukrštanja (Fitzpatrick 2012). Na taj način, ukoliko se ponavljaju kroz generacije i ukoliko prirodna i seksualna selekcija kontinuirano favorizuju određene razvojne putanje, kratkoročne promene sredine mogu izmeniti evolucione putanje, uticati na stepen asortativnog ukrštanja između jedinki i voditi nastanku reproduktivne izolacije između populacija. Imajući u vidu realnost procesa genetičke asimilacije (videti odeljak 1.1.2, Uvod), kada fenotipovi gube sposobnost sredinske indukcije i postaju konstitutivno ispoljeni, efekti različitih sredina mogu veoma brzo izmeniti stepen ukrštanja populacija koje su izložene takvim promenama (Cocroft i sar. 2010, Matsubayashi i sar. 2010, Geiselhardt i sar. 2012). Takav kratkoročni efekat promene sredine može se oslikati i nakon višegeneracijske promene ukoliko različiti selekcionni pritisci vode ka nastanku različitog stepena plastičnog odgovora osobina reproduktivnog ponašanja, što može dodatno učvrstiti obrasce nastale nakon kratkoročne promene sredine.

### **1.3.2 Izbor biljke domaćina prilikom ovipozicije**

U svom neposrednom okruženju, oplodena ženka neke vrste fitofagnog insekta okružena je velikim brojem različitih biljnih vrsta. Znajući da larve nekih insekata imaju veoma ograničeno kretanje, posledice polaganja jaja na neadekvatnoj biljci mogu delimično, ili u potpunosti ugroziti opstanak potomstva i smanjiti adaptivnu vrednost ženki. Zbog toga je izbor biljke domaćina tokom ovipozicije često jedna od ključnih tačaka životnog ciklusa fitofagnih insekata.

Uspešnost pronalaska adekvatne biljke domaćina i polaganje jaja u velikoj meri zavise od funkcionalne usklađenosti čulnih receptora (olfaktornih, gustatornih i vizuelnih), nervnog sistema i efektora. Svakako jedan od važnijih sistema koji fitofagni insekti koriste prilikom prepoznavanja biljaka je čulo mirisa, zbog čega će on na ovom mestu biti nešto detaljnije opisan. Antene insekata poseduju brojne specijalizovane olfaktorne receptore koji registruju hemijske signale biljaka (tzv. kairomone)<sup>21</sup>. Primljeni signali se neuronima olfaktornih receptora (engl. *Olfactor Receptor Neurons*, ORN) prenose do antenalnog lobusa mozga (engl. *Antennal Lobe*, AL). Svaki olfaktorni receptor prepoznaje specifična hemijska jedinjenja biljaka, dok ORN prenose signale većeg broja jedinjenja ka tačno određenom regionu na AL, koji se naziva glomerulus. Na ovaj način, hemijska informacija koju primaju receptori pretvara se u obrasce pobuđivanja glomerula u okviru AL (Lei i Vickers 2008). Posebnim neuronima, ovi signali dospevaju do viših centara mozga, obrađuju se, a tako obrađen signal se dalje prosleđuje efektorima. Takođe, poznato je da kairomoni biljaka služe insektima kao svojevrsni „putokazi“ olakšavajući im pronalaženje i korišćenje biljaka prilikom ishrane ili tokom ovipozicije (Bruce i sar. 2005, Bruce i Pickett 2011). Međutim, različite vrste biljaka nemaju jedinjenja koja su specifična za vrstu koja bi insektima služila kao jedinstven signal za prepoznavanje neke vrste biljaka, već specifične kombinacije kvantitativnog i kvalitativnog sastava jedinjenja omogućavaju prepoznavanje, a zatim i korišćenje neke vrste biljaka u ishrani ili prilikom ovipozicije. Pored hemijskih signala biljaka i načina na koji se oni obrađuju u mozgu insekata, jedan od važnijih faktora koji utiču na odluku na kojoj biljci će ženka polagati jaja jeste i kvalitet same biljke (Awmack i Leather 2002 i ref. unutar). Procena kvaliteta biljke može se posmatrati kroz odnos nutritivnih jedinjenja (npr. proteini, esencijalne amino kiseline, šećeri, skrob) i/ili nivoa odbrambenog sistema biljaka (npr. insekticidni proteini i sekundarni metaboliti) koji mogu imati antinutritivne, fagodeterentne i toksične efekte, a samim tim i direktno

---

<sup>21</sup>Kairomoni se definišu kao jedinjenja koja posreduju u interspecijskim interakcijama i najčešće štete emiteru. Po pravilu, kairomoni predstavljaju heterogenu grupu jedinjenja koje različite vrste biljaka emituju. Registrovanjem i obradom primljenog signala, fitofagnim insektima je omogućeno da pronađu određenu biljku, koriste je kao hranu, ili kao adekvatan supstrat za polaganje jaja (Bruce i sar. 2005). Pored kairomona, olfaktorni receptori detektuju i niz drugih jedinjenja koja mogu služiti u hemijskoj komunikaciji (npr. kutikularni ugljovodonici, Videti odeljak 1.4.2.1, Uvod).

uticati na vijabilitet insekata. Kvalitet biljke domaćina može bitno uticati i na promenu reproduktivnih strategija ženki (Awmack i Leather 2002).

Zapažanje da različite biljke nisu podjednako dobri domaćini određenoj vrsti fitofagnog insekta, trasiralo je i empirijska istraživanja koja su pre svega proučavala odnos izbora biljke domaćina i posledica koje mogu imati na potomstvo insekata. Hipoteza preferencije i performanse (engl. *Preference-Performance Hypothesis*, PPH)<sup>22</sup> (Jeanike 1978) jedna je od prvih koja se bavi ovim pitanjem i u svojoj osnovnoj formi polazi od pretpostavke da prirodna selekcija favorizuje ženke koje polažu jaja na biljci koja omogućava najvišu stopu preživljavanja njihovom potomstvu. Drugim rečima, direktna posledica ovakvog selekcionog pritiska bila bi pozitivna korelacija preferencije i performanse (Jeanike 1978, Thompson 1988, Gripenberg i sar. 2010). Gripenberg i sar. (Gripenberg i sar. 2010) u svojoj meta analizi postavlja dve hipoteze od kojih prva testira u kojoj meri preferencija ženki zaista oslikava performansu potomaka, dok druga hipoteza ima zadatak da utvrdi u kojoj meri ekološki kontekst i različiti aspekti osobina životne istorije utiču na vezu preferencije i performanse. Veliki doprinos ovako strukturirane meta analize je to što omogućava analizu konkretnih predikcija vezanih za odnos preferencije i performanse, dok relativno mali uzorak i striktno bitrofički nivo (odnos biljaka i fitofagnih insekata) ograničavaju broj situacija u kojima se prirodne populacije insekata mogu naći. Međutim, i pored ovih ograničenja takva studija predstavlja: „prvu kvantitativnu sintezu dokaza vezanih za odnos preferencije i performanse kod fitofagnih insekata“ (Gripenberg i sar. 2010, str. 391) kojom je pokazano da potomstvo najčešće ima bolje šanse da preživi ukoliko se razvija na biljci domaćinu koju majka preferira prilikom ovipozicije, dok tendencija kraćeg preadultnog razvića i povećanja mase tela prati ovakav trend. Međutim, slabe, ili pak negative korelacije između preferencije polaganja jaja i performanse na određenoj biljci relativno su česte kod insekata (Mayhew 1997, 2001). Tako je poznato da ženke fitofagnih insekata mogu promeniti biljku domaćina u uslovima povećane gustine populacije (Andersson i sar. 2013), ili u prisustvu predatora (Videla i sar. 2006), što nameće pitanje

---

<sup>22</sup>Hipoteza preferencije i performanse u literaturi se sreće i pod imenima: teorija optimalne ovipozicije (engl. *optimal oviposition theory*, Jeanike 1978), jednostavna adaptacionistička teorija (engl. *naive adaptationist theory*, Courtney i Kibota 1990) i princip „majka zna najbolje“ (engl. *‘mother knows best’ principle*, Valladares i Lawton 1991). Prema Klark i sar. (Clark i sar. 2011).

o broju faktora koji dovode do očiglednih neusklađenosti preferencije i performanse kod pojedinih grupa insekata. Imajući to u vidu, potpuno je opravdano i pitanje da li takav odnos omogućava ženka neke druge adaptivne prednosti koje nisu toliko očigledne na prvi pogled (Thompson 1988, Courtney i Kibota 1990, Mayhew 1997, Craig i Itami 2008, Clark i sar. 2011, D'Costa i sar. 2013).

Na ovom mestu, potrebno je upoznati se i sa još jednim fenomenom koji se u entomološkoj literaturi naziva Hopkinsov princip selekcije domaćina (eng. *Hopkin's Host Selection Principle*, HHSP)<sup>23</sup>. Osnovna ideja HHSP podrazumeva da su informacije koje se odnose na kvalitet i dostupnost neke biljke, a koje su prikupljene za vreme larvenog razvića, dovoljno pouzdane da se mogu iskoristiti prilikom odabira biljke tokom polaganja jaja. Drugim rečima, biljka tokom larvenog razvića insekta može uticati na promenu preferencije polaganja jaja ženki, a pravac povećanog ulaganja u reprodukciju je usmeren prema biljci domaćinu koja je korišćena tokom ontogenetskih faza larve. Na ovaj način, HHSP predstavlja specifičan oblik fenotipske plastičnosti kada promenjena sredina (biljka domaćin koja se koristi tokom larvenog razvića) menja fenotip adulta (izmenjeno ponašanje tokom polaganja jaja). Međutim, neobično je to što su sredinske informacije koje modifikuju ponašanje ženki tokom ovipozicije pomerene mnogo pre ispoljavanja same osobine, pa se i obrazac ekspresije osobine mora modifikovati pre njenog ispoljavanja (Janz i sar. 2009 i ref. unutar). Dosadašnje studije su pokazale da se HHSP može smatrati važnim fenomenom u procesima promene biljaka domaćina i širenja opsega biljaka domaćina.

---

<sup>23</sup>Hopkinsov princip selekcije domaćina je, sa određenim izmenama u svojim postavkama, poznat i po nazivima novi Hopkinsov princip (engl. *neo-Hopkins principle*, Jeanike 1983) i hipoteza hemijske zaostavštine (engl. *chemical legacy hypothesis*, Corbert 1985).

#### 1.4 Ekološka specijacija

*“The essence of the “species problem” is the fact that, while many different authorities have very different ideas of what species are, there is no set of experiments or observations that can be imagined that can resolve which of these views is the right one. This being so, the “species problem” is not a scientific problem at all, merely one about choosing and consistently applying a convention about how we use a word. So, we should settle on our favorite definition, use it, and get on with the science.” Brookfield 2002, p. 107.*

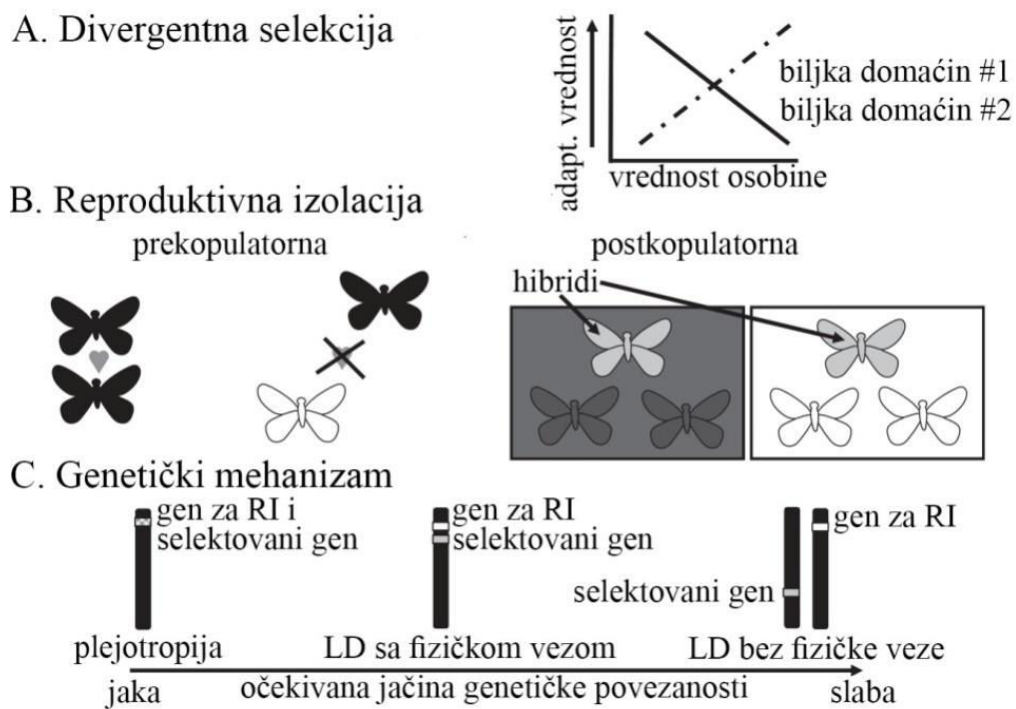
*„Suština „problema vrsta“ je činjenica da, pored toga što različiti autoriteti imaju veoma različite ideje o tome šta su vrste, ne postoji skup eksperimenata ili posmatranja koji bi mogli biti osmišljeni, a koji bi uspjeli da razreše koji je od tih aspekata ispravan. Ukoliko je to tačno, „problem vrsta“ nije uopšte naučni problem, već se svodi na odabir i stalnu upotrebu konvencije o tome kako treba koristiti pojam. Dakle, treba odabrati omiljenu definiciju, upotrebiti je, i nastaviti sa naukom.“ Brukfeld 2002, str. 107.*

---

Iako je koncept ekološke specijacije poznat još od početaka Moderne sinteze, tek sa postavljanjem pitanja da li je disruptivna selekcija neophodna za prevazilaženje efekta homogenizacije usled protoka gena tokom simpatričke specijacije, sredinom šezdesetih godina dvadesetog veka, interesovanje za ekološku specijaciju raste (npr. Maynard-Smith 1966). Savremena slika ovog fenomena je, tokom vremena, dobila bitno drugačije forme, a literatura koja je vezana za probleme ekološke specijacije u poslednjih 20 godina značajno je uvećana (npr. Funk 1998, Schluter 2000, Rundle i Nosil 2005, Nosil 2012). Povećano interesovanje je reflektovano i u većem broju definicija ekološke specijacije (Schluter i sar. 1996, Funk 1998, Schluter 2001, 2009, Rundle i Nosil 2005), a jedna od aktuelnijih definiše ekološku specijaciju kao: „proces u kom barijere protoka gena evoluiraju između populacija kao rezultat ekološki zasnovane divergentne selekcije između životnih sredina“ (Nosil 2012, str. 7). Osnovna karakteristika koja razlikuje ekološku specijaciju od mutacionog modela specijacije

(engl. *mutation order speciation*) je u to što kod ekološke specijacije divergentna selekcija favorizuje posebne setove alela u različitim sredinama, dok mutacioni model dovodi do fiksiranja međusobno nekompatibilnih alela u relativno sličnim uslovima životne sredine (Coyne i Orr 2004)<sup>24</sup>.

Rundl i Nosil (Rundle i Nosil 2005) ističu tri ključna koraka koja vode ka ekološkoj specijaciji (Slika 1.4.1).



Slika 1.4.1. Ključni koraci tokom procesa ekološke specijacije. **A.** Divergentna selekcija uzrokuje različite vrednosti osobina i menja adaptivnu vrednost genotipa u najmanje dve sredine; **B.** Oblik reproductivne izolacije: prekopulatorna ili postkopulatorna; **C.** Genetički mehanizam koji povezuje divergentnu selekciju i reproductivnu izolaciju. LD označava vezanu neravnotežu, tj. gametski disekvilibrijum (engl. *linkage disequilibrium*) između gena. Prema Macubaijaši i sar. (Matsubayashi i sar. 2010).

<sup>24</sup>Ekološka specijacija i mutacioni model specijacije nisu međusobno isključivi procesi, a njihovo združeno proučavanje omogućava potpunije razumevanje procesa specijacije.

Prvi korak predstavlja izvor divergentne selekcije kada se relativna adaptivna vrednost istog genotipa u promenjenoj životnoj sredini menja (Slika 1.4.1A). Drugi korak je jačanje reproduktivne izolacije (RI) između posmatranih grupa (Slika 1.4.1B) i može se ostvarivati pre ukrštanja (prekopulatorna RI) ili nakon ukrštanja (postkopulatorna prezigotska RI i postzigotska RI). Treći korak je obuhvaćen genetičkim mehanizmom nasleđivanja koji povezuje divergentnu selekciju i RI kroz plejotropiju ili vezanost gena (Slika 1.4.1C). Ovakav tip sistematizacije prilikom proučavanja fenomena ekološke specijacije veoma je sličan teorijskoj analizi različitih modela specijacije (Kirkpatrick i Ravigné 2002) i omogućava relativno nezavisno testiranje svake od pomenutih faza.

#### **1.4.1 Ekološki uzroci divergentne selekcije**

Kako divergentna selekcija predstavlja jednu od osnovnih karakteristika ekološke specijacije, neophodno je opisati uslove u kojima divergentna selekcija najčešće nastaje. Tako se razlike između životnih sredina, međupopulacione interakcije i seksualna selekcija prepoznaju kao tri glavna uzroka divergentne selekcije (Schluter 2000, Kirkpatrick i Ravigné 2002, Nosil 2012).

Znajući da su proučavanja ekološke specijacije najčešće vezana za razlike koje se beleže između životnih sredina, posebna pažnja biće usmerena upravo ovom uzroku divergentne selekcije. Pre svega, potrebno je istaći da različite životne sredine treba posmatrati iz šireg konteksta koji obuhvataju kako razlike u klimatskim faktorima, strukturi staništa, dostupnosti raspoloživih resursa tako i, na primer, u prisustvu ili odsustvu predatora i patogena u određenoj sredini. Drugim rečima, razlike između životnih sredina u formiranju ekološki zasnovane divergentne selekcije uključuju kako abiotičke tako i biotičke elemente (Schluter 2000, Rundle i Nosil 2005). Svakako jedan od najilustrativnijih primera, koji ukazuje na koji način razlike između životnih sredina mogu trasirati divergentne putanje populacija, predstavlja promena biljke domaćina kod fitofagnih insekata (Funk i sar. 2002). Različit nutritivni sastav i specifični mehanizmi odbrane biljaka predstavljaju veliki izazov populacijama fitofagnih insekata tokom procesa promene biljke domaćina (Videti odeljak 1.2.2, Uvod). Izmenjeni uslovi mogu indukovati divergenciju različitih fizioloških, etoloških, i/ili morfoloških specifičnosti koje bi insektima omogućile opstanak u novoj sredini. Dosadašnji fokus empirijskih



istraživanja nedvosmisleno ukazuje da promena biljke domaćina može voditi divergentnom fiziološkom odgovoru<sup>25</sup> (Funk i sar. 2002, Nosil i sar. 2006). Međutim, česti su primeri u kojima divergencija fizioloških osobina tokom prilagođavanja na različite biljke domaćine nije pokazana (Matsubayashi i sar. 2010 i ref. unutar) što upućuje na zaključak da različite životne sredine mogu favorizovati neke druge, sasvim različite setove osobina. Divergentna selekcija uzrokovana različitim životnim sredinama često se predstavlja odnosom prosečne vrednosti određene osobine i prosečne adaptivne vrednosti genotipa (Slika 1.4.1A). U takvoj postavci, moguće je da određeni genotip bude uspešniji u jednoj sredini, dok izmenjena sredina vodi ka padu njegove adaptivne vrednosti. Tradicionalni eksperimentalni pristup u proučavanju uticaja ekološki zasnovane divergentne selekcije zasniva se na recipročno-transplantacionom dizajnu, iako se u poslednje vreme sve više ističe prednost dugoročnih selekcionih eksperimenata (Agrawal 2001, Fry 2003, Messina i sar. 2009). Drugi uzrok koji može dovesti do disruptivne selekcije odnosi se na međupopulacione interakcije. Ovaj uzrok divergencije se najčešće javlja kod simpatričkih populacija i najčešće zavisi od učestalosti i gustine posmatrane populacije (Turelli i sar. 2002). Dakle, situacije u kojima su pripadnici iste ili srodnih vrsta u direktnoj kompeticiji za određene resurse životne sredine (npr. hrana), a nalaze se na ograničenom prostoru, pogodne su za pojavu disruptivne selekcije i promene ekoloških niša, što na kraju može dovesti do početnih faza specijacije<sup>26</sup>. Konačno, efekat seksualne selekcije, kao trećeg faktora koji može izazvati divergenciju između populacija i inicirati proces nastanka novih vrsta, može biti ispoljen u neekološkom i ekološkom kontekstu. Neekološki kontekst obuhvata primere Fišerove nezadržive selekcije i seksualnog konflikta (Lande, 1981; Arnqvist i Rowe, 2005). S druge strane, ukoliko razlike u reproduktivnim signalima, njihovoj obradi, kao i sklonosti ka ukrštanju potiču od posledica različitog ekološkog konteksta, u pitanju su ekološki uzroci povećanog intenziteta seksualne selekcije. Mehanizam koji objašnjava nastanak tih razlika naziva se čulno vođenje (engl. *sensory drive*) i obuhvata združenu

---

<sup>25</sup>Macubajjaši i sar. (Matsubayashi i sar. 2010) ovo nazivaju opštim imenom selekcija fiziologije (engl. *selection on physiology*).

<sup>26</sup>Ovakav scenario je dosta teško odvojiti od fenomena pojačavanja izolacije (engl. *reinforcement*).

evoluciju signala za komunikaciju, odnosno načina na koji se signali prenose, primaju i obrađuju (Boughman 2002)<sup>27</sup>.

#### 1.4.2 Jačanje reproduktivne izolacije

Drugi korak ekološke specijacije podrazumeva jačanje RI između posmatranih populacija (Slika 1.4.1B, Prilog 1) i može se uspostaviti ili pre ukrštanja (prekopulatorna RI) ili nakon ukrštanja (postkopulatorna prezigotska RI i postzigotska RI). Od sredine 20. veka, uočavanje RI postaje jedan od osnovnih kriterijuma u proučavanju specijacije, što je svakako imalo dalekosežne posledice na tokove i faze proučavanja u ovoj oblasti (Coyne i Orr 2004). Tako je, na primer, najčešće upotrebljavana koncepcija vrste – tzv. biološka koncepcija vrste, u potpunosti zasnovana na RI između populacija (Mayr 1942). U uslovima ekološki zasnovane divergentne selekcije između životnih sredina (ekološka specijacija) RI ima različite oblike i može evoluirati na brojne načine. Sledeći segmenti nabrajaju neke od najvažnijih mehanizama RI.

Izolacija uzrokovana razlikama u ponašanju (etološka ili seksualna izolacija) je čest uzrok prekopulatorne RI (Rundle i Nosil 2005 i ref. unutar). Naime, tokom ekološki zasnovane divergencije, populacije mogu izmeniti sklonost ka biranju partnera usled različitih, sredinski indukovanih promena. Na taj način, divergentna selekcija može uticati na kvalitativnu i/ili kvantitativnu promenu emitovanja signala kao i načina na koji se ti signali primaju i obrađuju. Sve te promene poseduju kapacitet da izmene obrasce prepoznavanja jednog partnera u odnosu na drugog (Videti odeljak 1.3.1, Uvod). Međutim, važno je naglasiti da nije samo divergentna selekcija ta koja je odgovorna za izmenu signala i načina na koji jединke menjaju svoju preferenciju prema partnerima, već ovaj proces nužno uključuje i raznovrsne oblike seksualne selekcije, genetičkog drifta i prirodne selekcije. Upravo je zbog ovih razloga izolovano proučavanje ovakvog načina evolucije RI dosta problematično, posebno u prirodnom okruženju (Coyne i Orr 2004). Takođe, kada alopatričke populacije dođu u sekundarni

---

<sup>27</sup>Značaj čulnog vođenja u procesima divergencije populacija zavisi od transmisije signala (engl. *effective signal transmission*), podešavanja primanja signala (engl. *perceptual tuning*) i usklađivanja signala (engl. *signal matching*) u datim sredinama. Prema Bogman (Boughman 2002) ove tri komponente moraju da deluju u suprotnim smerovima u različitim sredinama kako bi usledila reproduktivna izolacija.

kontakt, jedinke populacija koje su bile izložene različitim sredinama mogu evoluirati potpuno drugačije sisteme prepoznavanja partnera, što može voditi ka povećanju izbirljivosti partnera. U takvim situacijama se, u većoj meri, za partnere prihvataju jedinke koje potiču iz sredine u kojoj su se i same razvijale. Dodatno, prekopulatorna RI može nastati kada su populacije razdvojene u prostoru i/ili vremenu (Drès i Mallet 2002). Izolacija uzrokovana izborom staništa (engl. *divergent habitat preference*) i vremenska izolacija usled promenjenog rasporeda tokom razvića (engl. *developmental schedules*), nastaju zbog razlika u ekološkim faktorima između životnih sredina u kojima se organizmi nalaze. Ovi oblici izolacije se nužno vezuju za divergentnu ekološku selekciju između populacija i zauzimaju važno mesto u evoluciji RI (Funk i sar. 2002, Tilmon 2008). Izolacija uzrokovana izborom staništa pre svega nastaje kada populacije pokazuju sklonost prema tačno određenom tipu staništa, čime se istovremeno umanjuje verovatnoća ukrštanja sa jedinkama nekog drugog staništa, što povećava stepen prekopulatorne RI. Mehanizmi nastanka reproduktivne izolacije uzrokovane izborom staništa mogu nastati ili zbog uzajamnih ograničenja adaptivne vrednosti (engl. *fitness trade-off*), kada selekcija aktivno deluje protiv jedinki koje su promenile stanište, ili usled razlika u obradi signala (engl. *information processing hypothesis*), kada se naglašava da produženo vreme provedeno u traženju staništa može smanjiti adaptivnu vrednost usled, recimo, povećane izloženosti predatorima. Ova dva mehanizma nastanka RI vezuju se za različita okruženja u kojima se nalaze populacije insekata. Tako se očekuje da, u uslovima kada su insekti okruženi većim brojem potencijalnih biljaka domaćina, glavni mehanizam nastanka RI predstavljaju uzajamna ograničenja adaptivne vrednosti. S druge strane, mehanizam različite obrade signala može voditi ka RI one populacije insekata koja na određenom staništu ima samo jednu vrstu biljke koju jedinke mogu koristiti. Drugim rečima, ovaj mehanizam mogao bi da objasni nastanak RI između alopatričkih populacija koje na svojim staništima nemaju mogućnosti izbora biljaka domaćina. Konačno, ukoliko životni ciklus neke populacije insekata zavisi od usklađenosti sa fenološkim osobinama biljke domaćina, može se očekivati da izmene u rasporedu ispoljavanja neke osobine (npr. kasnije izleganje, kasnije polaganje jaja) izazovu vremenski indukovanu RI između populacija insekata. Na taj način, iako se nalaze na istom staništu, subpopulacije insekata nemaju sinhronizovane reproduktivne

rasporede, takve subpopulacije imaju umanjen ili onemogućen protok gena, što kroz vreme, vodi ka uvećanoj verovatnoći nastanka RI.

Postkopulatorna, prezigotska RI javlja se u slučajevima kada ukrštanja između jedinki koje pripadaju različitim populacijama pokazuju smanjen stepen oplodnje gameta, odnosno kada takva ukrštanja smanjuju adaptivnu vrednost jedinkama koje su kopulirale. Prema Macubaijaši i sar. (Matsubayashi i sar. 2010), ovakav vid RI kod fitofagnih insekata može nastati ukoliko promena biljke domaćina vodi ka promeni spoljašnjih ili unutrašnjih delova genitalnog sistema, ili ukoliko promenjena sredina menja neka fizička svojstva gameta koji onda postaju nekompatibilni. Najbolji primer da divergentna selekcija može dovesti do postkopulatorne prezigotske RI pokazuju Nozil i sar. (Nosil i sar. 2006). Prema njihovim nalazima, smanjeni fekunditet javlja se samo između onih populacija paličnjaka *Timema cristinae* Vickery koje su adaptirane na različite biljke domaćine.

Postzigotska RI nastaje usled razlika u genomima roditelja koje se ispoljavaju kroz narušavanje funkcionalne usklađenosti hibrida i životnih sredina u kojima se nalaze. Divergencija genoma roditelja može voditi ka: (i) intrinzičkim nekompatibilnostima hibrida (engl. *intrinsic hybrid incompatibilities*) ispoljavanjem međusobno nekompatibilnih alela, (ii) ekološki zavisnoj selekciji protiv hibrida (engl. *ecologically dependent selection against hybrids*) kada fenotip ovih hibrida nije usklađen sa ekološkim kontekstom u kome se nalaze te je adaptivna vrednost hibrida smanjena u obe sredine i (iii) seksualnoj selekciji protiv hibrida (engl. *sexual selection against hybrids*) kada hibridi dostižu polnu zrelost, ali uz smanjenu verovatnoću ukrštanja. Naime, u prvom slučaju hibridni genotip se sastoji od kombinacije setova alela, od kojih su neki selektovani u jednoj, a drugi u drugoj sredini i čiji efekti mogu biti međusobno neusklađeni. Važno je istaći da intrinzička nekompatibilnost hibrida u užem smislu ne zavisi od interakcije genoma hibrida i sredine u kojoj se nalaze. Međutim, znajući koliko je važna interakcija genoma i životne sredine, postavlja se opravdano pitanje koliko često se ovakav mehanizam nastanka RI sreće u biološkim sistemima? Drugi slučaj obuhvata tzv. ekstrinzičke nekompatibilnosti hibrida kada roditelji, koji su dobro prilagođeni u različitim sredinama, daju potomstvo (hibride) koje neće biti dovoljno dobro prilagođeno ni u jednoj od dve sredine usled ekološki zavisne selekcije protiv hibrida. Prema navodima Koin i Or (Coyne i Orr 2004), ekološki

zavisna selekcija protiv hibrida i mehanizam prekopulativne RI, kada se adaptivna vrednost smanjuje onim jedinkama koje se nađu u novom ekološkom kontekstu (engl. *immigrant inviability*), predstavljaju samo različite strane iste medalje. Treći slučaj narušene funkcionalnosti hibrida nastaje kao posledica seksualne selekcije (Schluter 2000). Tako je moguće da hibridi imaju narušene signale prepoznavanja partnera, ili da ne poseduju dovoljno „upadljive“ signale koji će privući pažnju potencijalnim partnerima. Takođe, sasvim je moguće da seksualna selekcija protiv hibrida nema ekološku komponentu, već da smanjena privlačnost hibrida nastaje usled genetičkih nekompatibilnosti genoma roditelja. Zbog toga je veoma važno utvrditi da li je poreklo seksualne selekcije protiv hibrida ekološko ili neekološko u svojoj osnovi.

#### *1.4.2.1 Kutikularni ugljovodonici (CHC) insekata*

Kutikularni ugljovodonici (engl. *cuticular hydrocarbons* – CHC) predstavljaju jedinjenja koja su neophodna za funkcionalnu usklađenost insekata i promenljivih uslova spoljašnje sredine. Smatra se da je primarna uloga CHC sprečavanje isušivanja insekata, ali ova, na prvi pogled jednostavna, grupa jedinjenja učestvuje i u nizu složenih bioloških funkcija poput odbrane od mikroorganizama i hemijske komunikacije. Brojna empirijska istraživanja populacija različitih vrsta insekata ukazuju na evolucionu značaj kutikularnih ugljovodonika (Howard i Blomquist 2005, Blomquist i Bagnères 2010, Menzel i Schmitt 2012). Zbog toga što CHC jedinjenja predstavljaju deo kompleksne kutikule, smatra se da imaju značajnu ulogu u kontroli balansa vode (Wigglesworth 1933, Gibbs i Rajpurohit 2010). Druge funkcije, posmatrane u ekološkom kontekstu, mogu bitno menjati odnose jedinki unutar i između populacija iste ili različitih vrste insekata. Tako na primer, CHC mogu igrati važnu ulogu u prepoznavanju jedinki, razlikovanju polova i prepoznavanju partnera. Takođe, potvrđeno je da su hemijski obrasci CHC specifični za svaku vrstu, što znači da su ova jedinjenja evoluirala pod specifičnim abiotičkim okolnostima (npr. uticaj klime, van Wilgenburg i sar. 2011), biotičkim interakcijama različitih vrsta (Menzel i sar. 2008a), ili određenim specifičnostima posmatrane vrste (npr. specifični signali koji imaju ulogu u prepoznavanju partnera, ili hemijske komunikacije Ayasse i sar. 2001, Martin i Drijfhout 2009). Dakle, pored uloga koje CHC imaju u preživljavanju, ova jedinjenja su značajna i u reproduktivnom ponašanju insekata, a razlike između polova mogu biti

zabeležene na kvalitativnom i kvantitativnom nivou. Tako na primer, vrste roda *Drosophila* mogu imati specifična jedinjenja koja su karakteristična samo za jedan pol (Ginzel i sar., 2003), polovi mogu imati različit nivo sintetisanih CHC (Cobb i Ferveur 1996), ili se kvantitativni sastav može menjati pre i posle kopulacije (Oppelt i Heinze 2009). Određeni kutikularni ugljovodonici mogu stimulisati, dok drugi mogu inhibirati specifična reproduktivna ponašanja, a „veliki ili mali delovi „buketa“ mogu se koristiti za komunikaciju, uticati na izbor partnera i pojačati seksualnu izolaciju“ (Ferveur 2005, str. 291). Međutim, poznati su i slučajevi u kojima kvantitativne i kvalitativne razlike kutikularnih ugljovodonika nisu pronađene između polova (Howard i sar. 2003, Howard i Baker 2003). Takođe je poznato i da se profili kutikularnih ugljovodonika mogu menjati u odnosu na spoljašnju sredinu. Uticaj temperature, ili raspoložive hrane tokom razvića samo su neki od primera kako životna sredina može menjati kvantitativni, ali i kvalitativni sastav CHC (Savarit i Ferveur 2002, Stennett i Etges 1997). Uzimajući u obzir da mehanizmi sinteze CHC zavise od hemijskog konteksta dostupnih resursa, očekivano je da promena ishrane može izmeniti sastav CHC insekata. Zbog uloge koju CHC profili imaju u prepoznavanju partnera i razvoju reproduktivnih barijera, ovakve plastične promene mogu izmeniti načine na koji se fitofagni insekti prilagođavaju nekoj biljci domaćinu (*sensu* Pigliucci 2001) i mogu doprineti sposobnosti insekata da povećaju opseg biljaka domaćina koje mogu da koriste (Blomquist i Bagnères 2010).

#### **1.4.3 Povezanost divergentne selekcije i reproduktivne izolacije**

Konačno, treći korak u ekološkoj specijaciji obuhvata mehanizme nasleđivanja koji povezuju divergentnu selekciju i reproduktivnu izolaciju (Kirkpatrick i Ravigné 2002). Postoje dva osnovna genetička mehanizma koji dovode u vezu divergentnu selekciju i reproduktivnu izolaciju (Slika 1.4.1C). Prvi mehanizam je plejotropija onih gena koji pored direktnog odgovora na divergentnu selekciju istovremeno dovode i do reproduktivne izolacije. Primer plejotropije su geni selektovani za korišćenje jednog domaćina, koji istovremeno povećavaju i vreme koje insekt provodi na tom domaćinu (smanjena verovatnoća da će se insekt ukrstiti sa insektom koji je prilagođen životu na drugom domaćinu), što predstavlja direktnu vezu selektovanih gena i mehanizama reproduktivne izolacije uzrokovane izborom staništa<sup>28</sup>.

---

<sup>28</sup>Ovakve osobine se metaforički nazivaju „magične osobine“ (engl. „*magic traits*“).

Drugi mogući scenario je da se plejotropni efekat oslikava u promeni preferencije prema partneru (npr. čulno vođenje), što dovodi do redukovanja protoka gena i konačno vodi ka RI. Veliki problem u proučavanju genetičkih mehanizama je razlikovanje plejotropnih efekata i efekata vezanosti gena odgovornih za različite aspekte fenotipa. Pitanje je koliko su zaista efekti plejotropije zastupljeni, ili se radi o genima koji se nasleđuju vezano, odnosno imaju smanjenu stopu rekombinacije? Upravo ovo pitanje uvodi nas u drugi, dosta realniji, genetički mehanizam koji povezuje divergentnu selekciju i RI. Taj mehanizam podrazumeva da geni koji su odgovorni za RI nisu istovetni genima koji su zaduženi za divergentnu selekciju. Drugim rečima, geni izloženi divergentnoj selekciji i geni koji dovode do RI se nasleđuju združeno usled vezanosti, odnosno neslučajne asocijacije (engl. *linkage disequilibrium* – LD) gena. Vezanost gena posledica je smanjene stope rekombinacija, dok je LD pojava koja objašnjava povećanje/smanjenje verovatnoće nasleđivanja tačno određene kombinacije alela ili genetičkih markera koja se razlikuje od nasumičnog formiranja haplotipa i zavisi samo od njihovih učestalosti. Najveći problem koji se javlja kod povezivanja neslučajne asocijacije gena i procesa specijacije je to što rekombinacioni događaji mogu da naruše vezu gena selektovanih za različite sredine i onih koji dovode do RI u samo jednoj generaciji. Mehanizmi koji mogu da spreče narušavanje ove veze rekombinacionim događajima su fizička povezanost gena (Hawthorne i Via, 2001), hromozomske inverzije, ili jaka selekcija kroz proces razdvojenog povlačenja (engl. *divergence hitchhiking*) (Gavrilets 2004, Via i West 2008).

## 2. CILJEVI

Opšti cilj ove disertacije jeste analiza stepena i obrazaca plastičnih odgovora osobina životne istorije i ponašanja, kao i posledica koje ovi procesi mogu imati u iniciranju nastanka novih vrsta. Istraživanja na laboratorijskim populacijama *Acanthoscelides obtectus* (Say 1831) doprinose boljem razumevanju fundamentalnih evoluciono-ekoloških fenomena poput ekološke specijacije, evolucije prezigotske reproduktivne izolacije, uzajamnih ograničenja (engl. *trade-off*) između osobina životnih istorija i obrazaca populaciono-ekoloških oscilacija koje nastaju usled promenjenih uslova životne sredine.

Imajući to u vidu, specifični ciljevi ove disertacije su:

- Analiza osobina životne istorije i obrazaca njihovih međusobnih uzajamnih ograničenja usled dugoročne (engl. *long-term*) i kratkoročne (engl. *short-term*) promene domaćina kod laboratorijskih populacija *A. obtectus*.
- Ispitivanje evolucije fenotipske plastičnosti osobina životnih istorija u različitim ekološkim kontekstima uzrokovanim promenom biljke domaćina.
- Analiza variranja populaciono-ekoloških parametara i potencijal opstanka populacija insekata tokom kratkoročne i dugoročne promene biljke domaćina.
- Analiza obrazaca i intenziteta prirodne selekcije na osobine životne istorije laboratorijskih populacija tokom dugoročne i kratkoročne promene domaćina.
- Ispitivanje uticaja biljke domaćina tokom larvenog razvića na promene u reproduktivnom ponašanju adulata.
- Utvrđivanje stepena prezigotske reproduktivne izolacije između populacija uzrokovane kratkoročnom i dugoročnom promenom biljke domaćina.
- Kvantitativna i kvalitativna analiza sastava kutikularnih ugljovodonika i njihova uloga u hemijskoj komunikaciji i oblikovanju reproduktivnog ponašanja pasuljevog žiška.



### 3. MATERIJAL I METODE

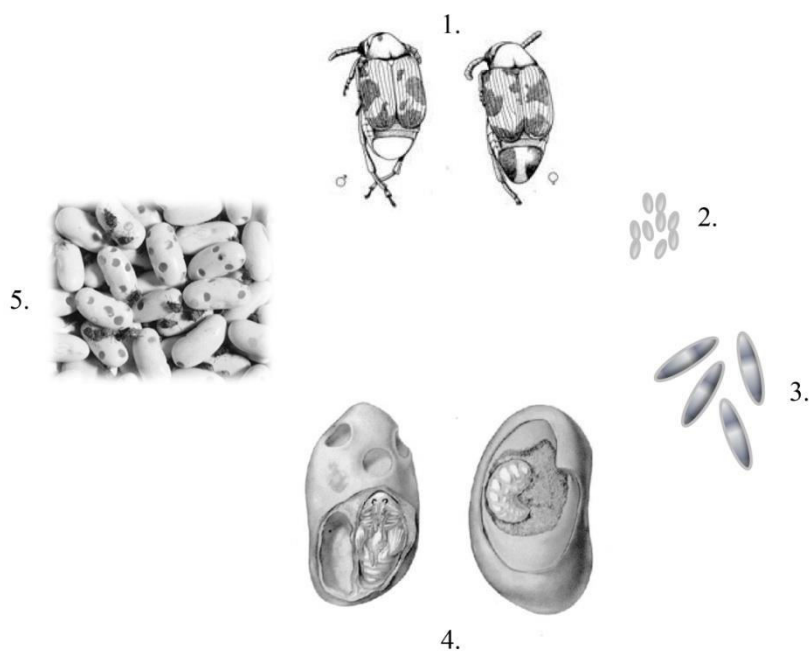
#### 3.1 Klasifikacija, morfo-anatomska i hromozomska karakterizacija pasuljevog žižka

Pasuljev žižak – *Acanthoscelides obtectus* (Say 1831) svrstava se u klasu Insecta, red Coleoptera, familiju Chrysomelidae i potfamiliju Bruchinae.

Telo odraslih jedinki je okruglasto, svetlije ili tamnije braon-sive boje sa uzdužnim sivkastim prugama. Antene su paličaste, a prvih 4-5 segmenata je crvenkasto-braon boje. Širina pronotuma nadmašuje njegovu dužinu, a skutelum je dobro uočljiv i trapezastog oblika. Elitre ne prekrivaju ceo abdomen. Dužina tela je varijabilna, ali najčešće dimenzije su između 2,5 i 5 mm. Polni dimorfizam je vrlo izražen (Tucić i sar. 1997, Slika 3.1.1). Ženke su krupnije sa bolje razvijenim zadnjim delom abdomena. Mužjaci su sitniji, deo abdomena koga ne prekrivaju elitre je znatno manje izražen i bez dodatne pigmentacije. Dva sata nakon izleganja jedinke su reproduktivno aktivne, a kopulacija u proseku traje šest minuta (Tucić i sar. 1997, Šešlija i sar. 2009).

Orijentacija jedinki prilikom kopulacije je tipična za insekte i mužjaci svojom ventralnom stranom prilaze zadnjem dorzalnom delu abdomena ženki. Nakon kopulacije ejakulat se nalazi u kopulatornoj bursi (lat. *bursa copulatorix*), odakle se peristaltičkim pokretima deponuje u posebnu anatomsku celinu vrećastog oblika zvanu spermatea. Neoplođena jaja lateralnim jajovodima dospevaju do zajedničkog jajovoda odakle prelaze u kopulatornu bursu. Ovulacija stimuliše izbacivanje spermatozoida iz spermateke kada i dolazi do fertilizacije oocita. Ženski reproduktivni sistem *A. obtectus* nema pomoćne žlezde, već tu ulogu preuzimaju lateralni ovidukti koji imaju dva regiona (Hamon i sar. 1982): (i) anteriorni – čije ćelije luče sadržaj u lumen organa i (ii) posteriorni – koji je pokriven epikutikulom. Anteriorni region se po tipu ćelija i prisustvu/odsustvu mikrovila deli na tri zone koje se nadovezuju jedna na drugu. Zona I ima visoke ćelije bez mikrovila sa apokrinom sekrecijom, zona II ima niže ćelije sa brojnim vezikulama i izraženim mikrovilima, dok zonu III karakterišu niske ćelije sa izraženim endoplazmatskim retikulumom bez mikrovila. Ubrzo nakon fertilizacije, uz spoljašnji stimulus (npr. prisustvo semena pasulja u kojima se odvija razviće larvi), ženke polažu jaja, najčešće ne lepeći ih za supstrat, što ujedno predstavlja specifičnost vrste (Šešlija i sar. 2009). Zrela oocita ima tri ovojnice koje nastaju u različitim

delovima reproduktivnog sistema ženki sa funkcijom koja se prevashodno vezuje za sprečavanje od isušivanja. Spoljašnji omotač oocite nastaje usled lučenja sekretornih ćelija lateralnih ovidukta, dok horionsku i vitelinsku ovojnici luče folikularne ćelije. Vitelinska ovojnica postaje veoma gusta neposredno pre polaganja jaja, a jedan od tri sloja horionske ovojnice ima parakristalnu ultrastrukturu (Biemont i sar. 1981).



Slika 3.1.1. Životni ciklus *Acanthoscelides obtectus*. 1. razlike između mužjaka i ženki, 2. jaja, 3. pokretna larva I stupnja, 4. larve II-IV stupnja i metamorfoza unutar zrna, 5. izleganje adultnih jedinki.

*Acanthoscelides obtectus* ima holometabolno razviće (Slika 3.1.1). Nakon kopulacije, ženke polažu jaja dužine 0,65 – 0,75 mm iz kojih izlaze pokretne larve I stupnja (engl. *instar*) koje se ubušuju u zrna. Larve od II do IV stupnja se razvijaju unutar zrna. Nakon ulutkavanja i metamorfoze, adultne jedinice probijaju opnu zrna i životni ciklus *A. obtectus* se ponavlja. Adulti se odlikuju fakultativnom afagijom i sve potrebne resurse za somatsko održavanje i reprodukciju usvajaju tokom larvenog razvića (engl. *capital breeders*). Upotrebom skenirajuće elektronske mikroskopije, Fafenberg (Pfaffenberger 1985) detaljno opisuje morfološke razlike koje se mogu zapaziti između četiri stupnja larvenog razvića (Prilog 2) i sastavlja ključ za njihovo razlikovanje (Prilog 3). Osnovne razlike koje se mogu uočiti između larvi različitih stupnjeva vezane su za njihove dimenzije. Širina larvi I stupnja iznosi 0,3 mm i 0,8 mm

dužine, dok veličina jedinki IV stupnja iznosi 1,6 – 2,3 mm širine i 2,4 – 3,5 mm dužine. Prisustvo protorakalne ploče, torakalnih sternita i abdominalnih tergita, kao i noge sastavljene od dva, a ne četiri segmenta, vrlo jasno razdvaja larve prvog, od ostalih larvenih stupnjeva (Pfaffenberger 1985, Prilog 3). Najmanje razlike između larvenih stupnjeva se uočavaju u građi usnog aparata, pre svega mandibula, maksila i labiuma.

Larve *A. obtectus* poseduju i čitav niz čulnih organa koji odgovaraju na različite nadražaje iz spoljašnje sredine i pružaju mogućnost primerenog odgovora na date draži (Pfaffenberger 1985). Tako senzila ampulacea (lat. *sensilla ampullacea*) locirana na labrumu, maksilama, labijumu i nogama, detektuje mirisne nadražaje; senzila bazikonika (lat. *sensilla basiconica*) je kontaktni hemoreceptor na antenama i maksilarnim palpusima; senzila hetika (lat. *sensilla chaeticum*) ima ulogu u mehanorepciji i nalazi se na antenama; senzila placodea (lat. *sensilla placodea*) je osetljiva na infracrvenu svetlost i nalazi se na maksilarnim palpusima, dok su ocele (lat. *ocelli*) osetljive na svetlost. Mikrotrihe (lat. *microtichae*) često okružuju različite tipove senzilia štiteći ih od mehaničkih oštećenja. Najverovatnija dodatna uloga mikrotriha je da održavaju površinu samih čulnih organa čistom sprečavajući nagomilavanje čestica prašine. Veliki broj čulnih struktura olakšava prevazilaženje čitavog niza prepreka sa kojima se larve *A. obtectus* suočavaju. Pre svega, (i) larve se moraju osloboditi iz jajeta, (ii) nakon čega sledi lociranje i (iii) probijanje semena biljke domaćina u kome će se razviće nastaviti. Kada su već ubušene, (iv) larve moraju da izbegavaju druge larve unutar istog semena. Neposredno pre metamorfoze, (v) larve moraju zauzeti pogodan položaj blizu površine semena kako bi se olakšao izlazak adultnih jedinki iz semena biljke domaćina.

Kariotip *Acanthoscelides obtectus* je poznat, a diploidni set hromozoma iznosi 20 ( $2n = 20$ ). Heterogametni pol su mužjaci sa XY parom polnih hromozoma, dok ženke poseduju XX polne hromozome (Rozek i sar. 1999). Pet pari autozoma su metacentrični, tri para su submetacentrična, dok je jedan par hromozoma subtelocentričan. Najmanji u celom setu su polni hromozomi: X hromozom koji je submetacentričan i Y hromozom koji je subtelocentričan. Genomi ove vrste još uvek nisu sekvencirani.

### 3.2 Evolucionarna istorija *Acanthoscelides obtectus*

*Acanthoscelides obtectus* je kosmopolitiska vrsta koja danas najčešće naseljava skladišta mahunarki. Primarna biljka domaćin je običan pasulj (*Phaseolus vulgaris* L.), međutim, *A. obtectus* je sposoban da završi životni ciklus i na drugim biljkama iz porodice Fabaceae. Tako se među najčešćim alternativnim domaćinima nalaze sledeće biljke: naut (*Cicer arietinum* L.), azuki (*Vigna angularis* Wild), mungo (*Vigna radiata* L.), bob (*Vicia faba* L.), kineski duguljasti pasulj (*Vigna unguiculata* L.), patuljasti (indijski) grašak (*Cajanus indicus* L.) i grašak (*Pisum sativum* L.). Poreklo *A. obtectus* i njegovog optimalnog domaćina – pasulja tradicionalno se vezuje za predele Srednje Amerike (Labeyrie 1990, Delgado-Salinas i sar. 1999). Najaktuelnija istraživanja molekularno-bioloških podataka mitohondrijskih gena (12s RNK, 16s RNK i COI) (Oliveira i sar. 2013) ukazuju da *A. obtectus* ima primarni centar diverziteta na području današnjeg Meksika. Pre-kolumbovskim trgovinskim putevima prenet je u Južnu Ameriku u dva navrata: pre oko 2200 godina u današnji Brazil i pre oko 1100 godina u današnji Peru i Čile. Brazil postaje novi centar diverziteta i u najvećem broju slučajeva ove populacije postaju predačke za populacije nastale post-kolumbovskim trgovinskim putevima (Evropa, Afrika i Azija). Populacije sa Anda, uz intenzivnije delovanje genetičkog drifta i odsustvo protoka gena, pokazuju veću genetičku udaljenost od predačkih (meksičkih) haplotipova, iako su hiljadu godina kasnije naselile ove predele. Ovakav scenario je u saglasnosti sa filogeografskom analizom pet jedarnih gena pasulja koji su dali odgovor na pitanje centara domestifikacije pasulja (Bitocchi i sar. 2012). Naime, ove analize ukazuju da je pasulj domestifikovan najmanje dva puta: jednom u Srednjoj Americi (današnji Meksiko) i drugi put u Južnoj Americi (današnji Peru i Čile). Znajući da je pasulj primarni domaćin pasuljevog žiška, vrlo je verovatno da su populacije *A. obtectus* pratile geografsko širenje domestifikovanog pasulja iz Meksika prema Južnoj Americi. Ovakav scenario je u saglasnosti sa rezultatima po kojima su populacije *A. obtectus* sa Anda u većoj meri udaljene u odnosu na populacije iz Srednje Amerike.

Druga grupa istraživača (Alvarez i sar. 2005, 2006b), na istim mitohondrijskim genima (12s RNK, 16s RNK i COI), ali uz analizu manjeg broja uzoraka i upotrebom drugačijih statističkih modela, ukazuje da je poreklo pasuljevog žiška pre svega vezano za ekvatorijalne delove Anda (današnji Peru). Prema njihovoj argumentaciji, za potpuno

razumevanje evolucione istorije taksona neophodno je istaći sličnosti i razlike između *A. obtectus* i sestrinske vrste *A. obvelatus* (Alvarez i sar. 2006a). Naime, *A. obvelatus* se nalazi isključivo u predelu Srednje Amerike, a pored veoma sličnih morfoloških odlika, ove dve vrste se bitno razlikuju u broju generacija koje produkuju u toku godine – voltinizmu (engl. *voltinism*). *A. obtectus* se odlikuje multivoltinizmom, tj. većim brojem generacija tokom godine, dok vrstu *A. obvelatus* karakteriše univoltinizam (jedna generacija u toku godine). Kako ekvatorijalni delovi Južne Amerike nemaju izražen efekat sezona, sorte divljeg pasulja i njihova semena bila su dostupna cele godine. Ovakva situacija nije zapažena u predelu Srednje Amerike, gde klimatski faktori omogućavaju sazrevanje plodova pasulja samo jednom godišnje. Uz ovakvu pretpostavku, evolucija voltinizma predstavljala bi važnu adaptaciju na uslove u kojima su ove dve vrste evoluirale. Tako bi multivoltinizam povećavao adaptivnu vrednost jedinkama u Južnoj Americi, a evolucija univoltinizma jedinkama *A. obvelatus* u Srednjoj Americi. Dakle, prema ovoj grupi autora, upravo je evolucija multivoltinizama omogućila jedinkama *A. obtectus* da osvoje skladišta leguminoza nastala domestikacijom pasulja pre oko 7000 godina, iskoriste pre- i post-kolumbovske trgovinske maršrute i postanu izuzetno uspešna i svetski rasprostranjena vrsta. Gledište po kom delovi Južne Amerike oko Ekvatora predstavljaju lokaciju na kojoj evoluiraju predačke populacije *A. obtectus* danas nije podržano, međutim svakako ne isključuje evoluciju voltinizma kao važne komponente koja je omogućila veliku geografsku rasprostranjenost vrste. Poznavanjem klimatskih prilika u kojima je ovaj insekt evoluirao, olakšava se potraga za specifičnim biološkim agensom koji bi eventualno umanjio upotrebu insekticida i smanjio štetu koju ova vrsta nanosi skladištima mahunarki širom sveta. Naime, smatra se da skladišta mahunarki, u kojima je potvrđeno prisustvo populacija *A. obtectus*, mogu imati smanjenu ukupnu masu skladištenih zrna i za više od 30 % (Cardona 1989). Svakako, proučavanje *A. obtectus* kao model organizma ima i višestruk fundamentalni značaj. Problematika divergencije populacija nakon promene biljke domaćina (engl. *host-shift*), evolucija mehanizama reproduktivne izolacije i specijacije, intenziteta seksualne selekcije i fenotipske plastičnosti primeri su samo nekih fundamentalnih pitanja koji mogu koristiti *A. obtectus* kao model sistem.

### 3.2.1 Poreklo i fizičko-hemijska karakterizacija semena pasulja i nauta

Poznavanje hemijskog sastava biljaka ima višestruki značaj kada se proučavaju odnosi fitofagnih insekata i biljaka domaćina. Pre svega, poznavanjem hemijskog sastava biljaka moguće je saznati na koji način hemijske i nutritivne specifičnosti biljaka mogu uticati na promenu životnih i reproduktivnih strategija fitofagnih insekata. Takođe, poznavanje hemijskog sastava biljaka olakšava razumevanje procesa adaptacija prilikom promene domaćina, a moguće je utvrditi i da li postoje mehanizmi koji fitofagnim insektima pružaju mogućnost istovremenog prelaska na veći broj potencijalnih biljaka domaćina? Konačno, poznavanjem mehanizama rezistentnosti, otvaraju se brojne opcije za unapređenje zaštite ekonomski značajnih vrsta biljaka.

U ovom odeljku, akcenat će biti na poreklu, fizičko-hemijskim razlikama i mehanizmima odbrane dve vrste leguminoza, pasulja i nauta, koji su služili kao biljke domaćini pasuljevom žišku u eksperimentima laboratorijske evolucije. Iako pripadaju porodici mahunarki (lat. Fabaceae), pasulj i naut su svrstani u različite rodove. Pasulj – *Phaseolus vulgaris*, pripada rodu *Phaseolus*, dok se naut – *Cicer arietinum* svrstava u rod *Cicer*. Upečatljiva je i razlika geografske distribucije divljih srodnika i mesta domestikacije ove dve vrste biljaka. Tako pasulj ima svoje poreklo u Srednjoj Americi (Videti odeljak 3.2, Materijal i metode), dok naut vodi poreklo sa prostora Bliskog Istoka (današnji prostor zapadnog Irana, Iraka, Jordana, Izraela, Palestine i jugoistočne Turske, Kerem i sar. 2007). Danas se ove vrste uzgajaju širom sveta, a godišnji prinosi pasulja i nauta zauzimaju prvo, odnosno treće mesto globalne proizvodnje leguminoza (Zhou i sar. 2013). Imajući u vidu da je pasuljev žižak u stanju da uspešno završi svoj životni ciklus koristeći kako zrna pasulja, tako i zrna nauta, različita mesta porekla i domestikovanja ovih biljaka, kao i dovoljno izražene razlike u hemijskom sastavu, predstavljaju odličan početak za proučavanje procesa prilagođavanja i prelaska insekata na nove biljke domaćine, kao i uloga koje promena biljke domaćina može imati u procesima nastanka novih vrsta.

Kvalitet zrna leguminoza, sadržaj proteina, lipida, ugljenih hidrata i mikronutrijenata umnogome varira od vrste, sorte, klime, hemijskog sastava zemljišta i primene agro-tehničkih sredstava (Prilog 4A). U proseku, ukupan sadržaj proteina u semenu pasulja iznosi oko 23,6 g/100g suve mase (Boye i sar. 2010), dok Kabuli sorte nauta variraju u opsegu od 12,6 do 29,0 g/100g (Wood i Grusak 2007). Nakon

poređenja amino-kiselinskog sastava pasulja i nauta (Prilog 4B) može se izvesti zaključak da su zrna ovih mahunarki najčešće bogata lizinom, leucinom, aspartanskom kiselinom, glutaminskom kiselinom i argininom, dok su amino-kiseline bogate sumporom poput metionina i cisteina veoma slabo zastupljene (Boye i sar. 2010). Kada se pogleda ukupan udeo lipida, naut je daleko bogatiji ovom klasom jedinjenja u odnosu na pasulj (naut: 3,4 – 8,8 g/100g; pasulj: 0,9 g/100g). Takođe, ukupna količina zasićenih, mononezasićenih i polinezasićenih masnih kiselina je veća kod nauta. Tako je, na primer, linoleinska omega-3 polinezasićena masna kiselina oko osam puta zastupljenija u semenima nauta – 2,6 g/100g, nego u semenima pasulja sa svega 0,3 g/100g. Primećeno je da povećan nivo nezasićenih masnih kiselina ima deterentni efekat prilikom ovipozicije kod nekih vrsta insekata (Thiéry i sar. 1995, Li i Ishikawa 2004) pa se zbog toga smatra da imaju ulogu u odbrani od fitofagnih insekata. Ugljeni hidrati semena leguminoza predstavljaju oko 60 % ukupne mase semena. U odnosu na rastvorljivost u vodi, ugljeni hidrati se mogu podeliti na rastvorljive (mono-, di-, i oligosaharidi) i nerastvorljive (polisaharidi). Monosaharidi (glukoza, fruktoza, riboza i galaktoza) se u semenima pasulja i nauta mogu naći u tragovima, sa procentualnom zastupljenošću manjom od 1 %, dok saharoza i maltoza, kao najzastupljeniji disaharidi, ne prelaze 2 % ukupne količine ugljenih hidrata. Kada su u pitanju oligosaharidi, semena pasulja i nauta imaju do 4 %, a najznačajniji predstavnici su rafinoza, stahioza, cicerol i verbaskoza. Sa blizu 60 %, skrob je ubedljivo najzastupljeniji polisaharid, a zatim slede celuloza, hemiceluloza i pektini. Što se tiče mineralnog sastava (Prilog 4C) nivo natrijuma, fosfora, mangana i magnezijuma je donekle viši u semenima nauta, dok je povećan nivo kalijuma glavna karakteristika semena pasulja.

Ubedljivo najzastupljeniji protein u semenima pasulja je fazeolin (7S vicilinska klasa globulina) čije relativne količine mogu iznositi čak 50 % od ukupne količine proteina. Imajući u vidu da ovaj protein nema metionin, cistein i triptofan, njegova smanjena nutritivna vrednost ujedno predstavlja i mehanizam odbrane od fitofagnih insekata. Različite sorte pasulja imaju različite varijante fazeolina i do sada je identifikovano preko 40 (Montoya i sar. 2010). Lopez-Pedruzo i sar. (López-Pedrouso i sar. 2012) pokazuju da razlike u fazeolinu između različitih sorti pasulja potiču zapravo od različitih glikozidnih nastavaka, a ne od razlika u amino-kiselinskom sastavu polipeptidnog lanca ukazujući na značaj post-translacionih modifikacija. Lektin nazvan

fitohemaglutinin (PHA) i lektinu slični  $\alpha$ -amilazni inhibitor ( $\alpha$ AI) i arcelini (Arc) su jedinjenja koje svakako u najvećoj meri izdvajaju semena pasulja od drugih leguminoza i imaju posebnu efikasnost u odbrani protiv vrsta potfamilije Bruchinae (Marcedo i sar. 2007). Iako je mehanizam delovanja ova tri proteina donekle sličan, samo se PHA vezuje za glikane epitelnih ćelija creva, smanjuje sekreciju i narušava efikasnost varenja. S druge strane, mehanizam delovanja  $\alpha$ AI u potpunosti blokira aktivno mesto  $\alpha$ -amilaze, što kod nekih vrsta roda *Callosobruchus* onemogućava završetak larvenog razvića (Ishimoto i Kitamura 1989, Huesing 1991). Konačno, efikasnost Arc u odbrani protiv fitofagnih insekata ogleda se u njihovoj manjoj svarljivosti i sposobnosti da, slično lektinima, prođu epitelni sloj ćelija digestivnog trakta, uđu u hemolimfu larvi ispolje citotoksično dejstvo u različitim tkivima. Do sada je izolovano sedam izoformi arcelina (arcelin 1-7), dok su izoforme 1 i 5 najodgovornije za odbranu od bruhina (Sparvoli i Bollini 1998, Acosta-Gallegos 1998). Međutim, važno je napomenuti da su arcelini detektovani i kod divljih srodnika pasulja koji vode poreklo iz Meksika (Sparvoli i Bollini 1998), ali su važni jer je to primarni domaćin pasuljevom žišku.

Semena pasulja takođe obiluju različitim proteaznim inhibitorima. Tako su na primer PVI-3 i PVI-4 proteazni inhibitori podjednako efikasni prilikom blokiranja tripsina i himotripsina, iako se prilikom inhibicije ovih proteaza koriste posebna mesta vezivanja i aktivni centri (Funk i sar. 1993). Ovi inhibitori serinskih proteaza su po svojim karakteristikama klasifikovani u Bowman-Birk familiju proteina<sup>29</sup> sa molekulskom masom između 8000 i 9000Da, dva disulfidna mosta i povećanom količinom cisteina, a relativna količina ovih inhibitora se nalazi između 19,5 i 25,4 TIU/mg suve mase (Piergiorganni i Pignone 2003; Guliamon i sar. 2008).

Najupečatljivija karakteristika semena nauta je veliki broj sekundarnih metabolita (više od 200, prema Stevenson i Aslam 2006) u koje se svrstava više od 130 isparljivih jedinjenja poput alifatičnih i aromatičnih ugljovodonika, alkohola, terpena i saponina (Rembold i sar. 1989, Kozłowska i sar. 2001, Stevenson i Aslam 2006), polifenola u koje spadaju tanini i fenolna kiselina (Sosulski i Dabrowski 1984, Vadnere i sar. 2012) izoflavona (Zhao i sar. 2009), flavonoida (Aoki i sar. 2000, Bagri i sar. 2011) i alkaloida (Lu i sar. 2010). Posebnu specifičnost semena nauta predstavlja i

---

<sup>29</sup>Serinske proteaze leguminoza se mogu svrstati u Bowman-Birk ili Kunic familiju proteina. Ove dve familije proteina se razlikuju u molekulskoj masi, broju disulfidnih mostova koje mogu formirati, broju katalitičkih centara i enzimima koje blokiraju.



neproteinska amino kiselina L-kanavanin (Bisby i sar. 1994, Aoki i sar. 2000) čiji je glavni mehanizam delovanja efikasna strukturna mimikrija arginina koja dovodi do formiranja nefunkcionalnih proteina, što negativno utiče na opšti rast i razviće larvi, smanjuje uspešnost izleganja adulata, fekunditet ženki i oplodnu sposobnost mužjaka (Rosenthal 2001). Pored toga, pasulj i naut sadrže različite hemaglutinine (lektine). Dok je u semenima pasulja detektovan fitohemaglutinin, u semenima nauta su identifikovana dva lektina: CAL koji ima širok spektar ugljenih-hidrata za koje se vezuje (Katre i sar. 2005) i CAA II koji pokazuje veliki afinitet prema N-acetil-D-galaktozaminu (Qureshi i sar. 2006). Semena nauta imaju i serinski inhibitor proteaza koji pripada Kunicovoj familiji proteina – CaTI, koji je specifični inhibitor tripsina (de Gomes i sar. 2005, Nair i sar. 2013). Dodatno, semena nauta sadrže i specifičan  $\alpha$ -amilazni inhibitor nazvan CLA I koji pokazuje veliku sličnost sa amilaznim inhibitorom boba (Hao i sar. 2009). Inhibitori serinskih proteaza nisu od značaja za bruhide koje varenje proteina zasnivaju uglavnom na cisteinskim proteazama. Međutim, strukturne razlike lektina i amilaznih inhibitora u pasulju i nautu mogu doprineti razlikama u osobinama životne istorije i različitim selektivnim pritiscima koji vode divergenciji populacija na novom domaćinu.

### ***3.3 Selekcioni režimi i laboratorijske populacije***

Eksperimentalna evolucija (sin. laboratorijska evolucija, laboratorijska prirodna selekcija) pruža mogućnost da se „evolucionim procesi posmatraju u realnom vremenu i bavi se evolucionim promenama eksperimentalnih populacija usled promenjenih uslova životne sredine i demografije koje nameće sam istraživač” (Kawecki i sar. 2012, str. 547). Važno je napomenuti da u uslovima laboratorijske evolucije veštačka selekcija odsustvuje. Drugim rečima, istraživač ne učestvuje u biranju jedinki koje doprinose sledećoj generaciji sa tačno određenim fenotipskim vrednostima (npr. veličina jedinki), čime se nužno ističe veza tih osobina i adaptivne vrednosti, već evolucionim mehanizmi mogu delovati na bilo koju osobinu i grupe gena koje doprinose adaptivnoj vrednosti jedinki u posmatranim uslovima. Takođe, u uslovima laboratorijske evolucije istovremeno deluju prirodna selekcija, genetički drift i mutacioni događaji. Postavka eksperimenta koji koriste laboratorijsku evoluciju kao dizajn posebno je prikladna kada se postavlja pitanje prilagođavanja populacija izmenjenom režimu ishrane tokom larvenog razvića insekata (Kolss i sar. 2009).

Upravo zbog navedenih prednosti, selekcionni režimi i laboratorijske populacije koji su korišćeni u eksperimentalnom testiranju oslanjaju se na koncepcije laboratorijske evolucije i vode poreklo od sintetičke, osnivačke (engl. „base“) populacije. Osnivačka populacija je oformljena iz tri velika uzorka zrna pasulja zaraženih sa *Acanthoscelides obtectus*, a koja potiču iz tri magacina leguminoza u blizini Beograda 1983. godine (Tucić i sar. 1997). Sintetička populacija je potom premeštena u laboratoriju gde je gajena na pasulju u termostatima sa konstantnom temperaturom od  $30^{\circ}\text{C} \pm 1^{\circ}\text{C}$  tokom prve tri godine. Broj jedinki koje su doprinosile svakoj narednoj generaciji iznosio je najmanje 5000. Od osnovne, sintetičke populacije, 1986. godine izvedena su dva selekcionna režima: režim koji je podrazumevao transgeneracijsko održavanje žižaka na pasulju (označen je slovom P od lat. *Phaseolus*), dok je selekcionni režim u kome su žišci održavani na suboptimalnom domaćinu – nautu, obeležen slovom C (od lat. *Cicer*).

Pored ovih populacija, koje su tokom skoro 30 godina evoluirale na dva različita domaćina, 2005. godine je iz uzoraka osnovne populacije formirano još dva seta laboratorijskih populacija koje su postavljene na semena dve različite biljke – pasulj i naut. U okviru svakog selekcionnog režima napravljeno je po četiri replike populacije. Populacije selekcionnog režima P (I – IV) nastavile su svoje razviće ekskluzivno na pasulju, dok je održavanje populacija (I – IV) na nautu, u okviru selekcionnog režima C, podrazumevalo procese adaptacija na suboptimalnog domaćina. U okviru svake populacije, više od 300 jedinki je doprinosilo obrazovanju svake naredne generacije.

Razlozi za formiranje novog pula eksperimentalnih populacija su fundamentalno evolucionni. Naime, na divergenciju populacija, pored efekata prirodne selekcije u smeru prilagođavanja na različite domaćine, veliki uticaj mogu imati i stohastički evolucionni procesi – genetički drift i mutacije. Formiranje različitih populacija (replika) na istim selekcionnim režimima pruža mogućnost empirijskog razdvajanja efekata stohastičkih i selekcionnih odgovora populacije u procesu evolucionih promena. Uopšteno govoreći, razlike u fenotipskim svojstvima između populacija u okviru istog režima ukazuju na efekte genetičkog drifta u međupopulacionoj divergenciji, kao i pojavu različitih mutacija u izolovanim populacijama. S druge strane, fenotipske razlike između selekcionnih režima jasno upućuju na pravce adaptivnih promena koji jesu povezani sa ekološkim kontekstom na svakom od dva tipa domaćina. Paralelni pravci fenotipskih

promena populacionih replika unutar jednog režima, i pored njihovih međusobnih razlika, pružaju mogućnost za potvrdu adaptivnih scenarija u evoluciji insekata pri promeni domaćina. Pored toga, korišćenje populacije koja je prebacivanje na naut doživela pre 30 godina i njeno poređenje sa populacijama iz skorijih događaja promene domaćina (pre 10 godina), dodatno mogu rasvetliti ulogu prirodne selekcije u definisanju pravaca evolucije fitofagnih insekata.

Laboratorijske populacije su gajene u kontrolisanim uslovima u termostatima na temperaturi od  $30^{\circ}\text{C} \pm 1^{\circ}\text{C}$ . Semena pasulja i nauta su pre upotrebe zamrzavana 24 h na  $-21^{\circ}\text{C}$  kako bi se izbegla potencijalna kontaminacija laboratorijskih populacija.

### 3.4 Eksperimentalni dizajn i procedure

#### 3.4.1 Eksperiment I<sub>A</sub> – osobine životne istorije i ponašanje ženki prilikom polaganja jaja bez mogućnosti izbora biljke domaćina (engl. *no-choice*)

Jedinke korišćene prilikom izvođenja eksperimenta I<sub>A</sub> selektovane su tokom 45 i 46 generacija na pasulju i nautu (P i C selekcionni režimi sa po četiri replike – populacije). Nakon ukrštanja jedinki unutar svake populacije, ženka je omogućeno da polažu jaja na istom ili alternativnom domaćinu (Slika 3.4.1.1). Broj jaja položenih na pasulju ili nautu je izbrojan, i konačno, iz jaja su se izlegle larve koje su završile svoje preadultno razviće na domaćinu na kojem su ženke polagale. Na ovaj način dobijene su jedinke koje su svrstane u četiri eksperimentalne grupe zavisno od selekcionnog režima i domaćina u kojem se odvijalo preadultno razviće u poslednjoj generaciji:

1. **Pp grupa** – u kojoj su se žišci poreklom iz P populacija razvijali unutar semena pasulja;
2. **Cc grupa** – jedinke poreklom iz C populacija završile su preadultno razviće u semenu nauta;
3. **Pc grupa** – jedinke poreklom iz P populacija razvijale su se na alternativnom domaćinu – nautu;
4. **Cp grupa** – žišci poreklom iz C populacija završili su preadultno razviće u semenu pasulja.

Sve eksperimentalne grupe imale su po četiri replike, izvedene iz svake od četiri populacije unutar oba režima.

Ovakva eksperimentalna postavka, prema modelu recipročno-transplantacione procedure (2 režima × 4 replike × 2 tretmana alternativnog domaćina), vrlo jasno razgraničava kratkoročne efekte promene biljke domaćina (engl. *short-term*; u Pc i Cp grupama), od dugoročnih, transgeneracijskih efekata biljke domaćina (engl. *long-term*; u Pp i Cc eksperimentalnim grupama).

Preadultne osobine koje su praćene na jedinkama u svakoj eksperimentalnoj grupi (i replici) su:

- preadultni vijabilitet (odnos broja jaja i broja adultnih jedinki koje su se razvile iz semena);

- dužina razvića (vreme u danima koje je proteklo od polaganja jaja do pojave adultnih jedinki);
- masa jedinki nakon izlaska iz semena.

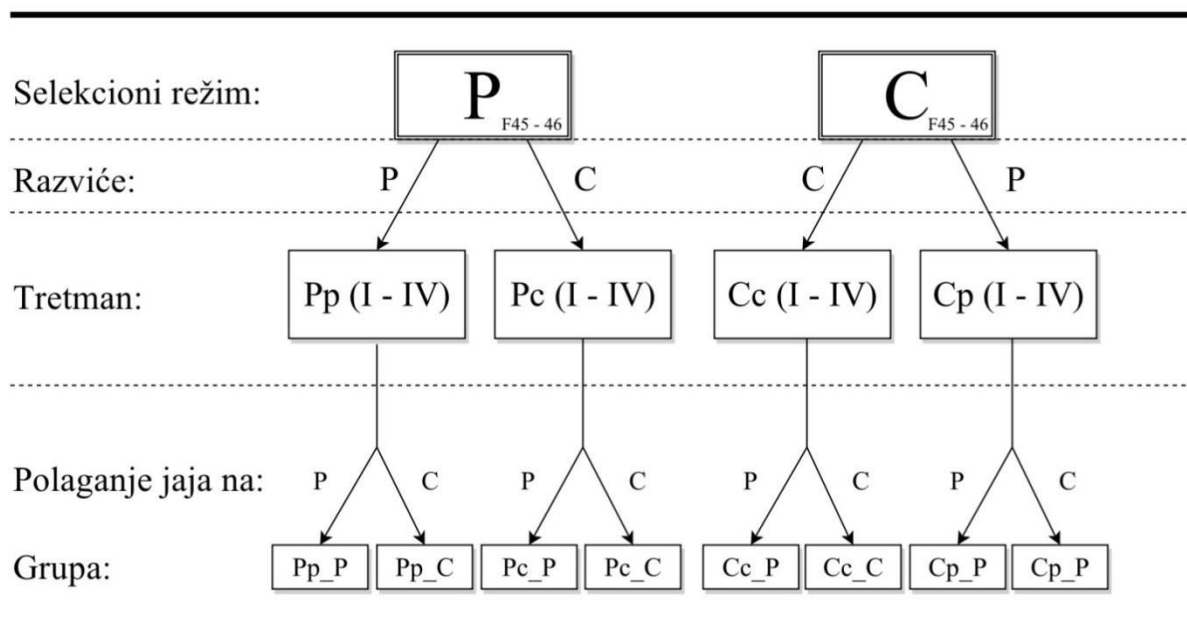
Sledeća (tzv. „adultna“) faza u istraživanju omogućila je praćenje reproduktivnog ponašanja ženki prilikom polaganja jaja bez mogućnosti izbora biljke domaćina. Parovi tek izleženih ženki i mužjaka iz četiri eksperimentalne grupe postavljeni su u pojedinačne Petri šolje. Parovima su, za polaganje jaja, ponuđena semena jedne od dve alternativne biljke domaćina – pasulj ili naut. Na ovaj način, formirano je osam eksperimentalnih grupa (slika 3.4.1.1):

1. **Pp\_P** – adulti poreklom iz P populacija, koji su se razvijali na pasulju, polagali su jaja na pasulju;
2. **Pp\_C** – adulti poreklom iz P populacija, koji su se razvijali na pasulju, polagali su jaja na nautu;
3. **Pc\_P** – adulti poreklom iz P populacija, koji su se razvijali na nautu, polagali su jaja na pasulju;
4. **Pc\_C** – adulti poreklom iz P populacija, koji su se razvijali na nautu, polagali su jaja na nautu;
5. **Cc\_C** – adulti poreklom iz C populacija, koji su se razvijali na nautu, polagali su jaja na nautu;
6. **Cc\_P** – adulti poreklom iz C populacija, koji su se razvijali na nautu, polagali su jaja na pasulju;
7. **Cp\_C** – adulti poreklom iz C populacija, koji su se razvijali na pasulju, polagali su jaja na nautu;
8. **Cp\_P** – adulti poreklom iz C populacija, koji su se razvijali na pasulju, polagali su jaja na pasulju;

Tokom trajanja eksperimenta, svakodnevno je praćen fekunditet (broj položenih jaja) i dužina života mužjaka i ženke u svakom od 1600 parova, a broj parova po svakoj eksperimentalnoj grupi i replici približno je iznosio 50.

Ovakav eksperimentalni pristup simulira nekoliko faza u procesu promene biljke domaćina. Naime, smanjena dostupnost optimalnog domaćina uslovljava jedinke da polažu jaja na semena biljke koja nije optimalni domaćin (Pp\_C grupa). Ukoliko je preadultno razviće na suboptimalnom domaćinu uspešno (Pc), a ženke su i dalje

suočene sa deficitom optimalnog domaćina, polagaće jaja na supstratu na kom su se i razvijale (Pc\_C grupa). Ovakva situacija može da potraje veći broj generacija i da potencijalno dovede do specijalizacije na alternativnoj biljci (Cc\_C grupa). Ukoliko ove jedinice ponovo dođu u kontakt sa semenom nekada optimalnog domaćina, sekundarna promena domaćina se može odviti kroz nekoliko faza (Cc\_P i Cp\_P eksperimentalne grupe). Ovakvi događaji, koji podrazumevaju promenu vrste semena koja se skladišti u silosima, nisu retki i mogli su sukcesivno inicirati proširivanje opsega domaćina pasuljevog žiška koje je pratilo poljoprivrednu praksu i trgovačke rute tokom poslednjih hiljadu godina (Alvarez i sar. 2005).

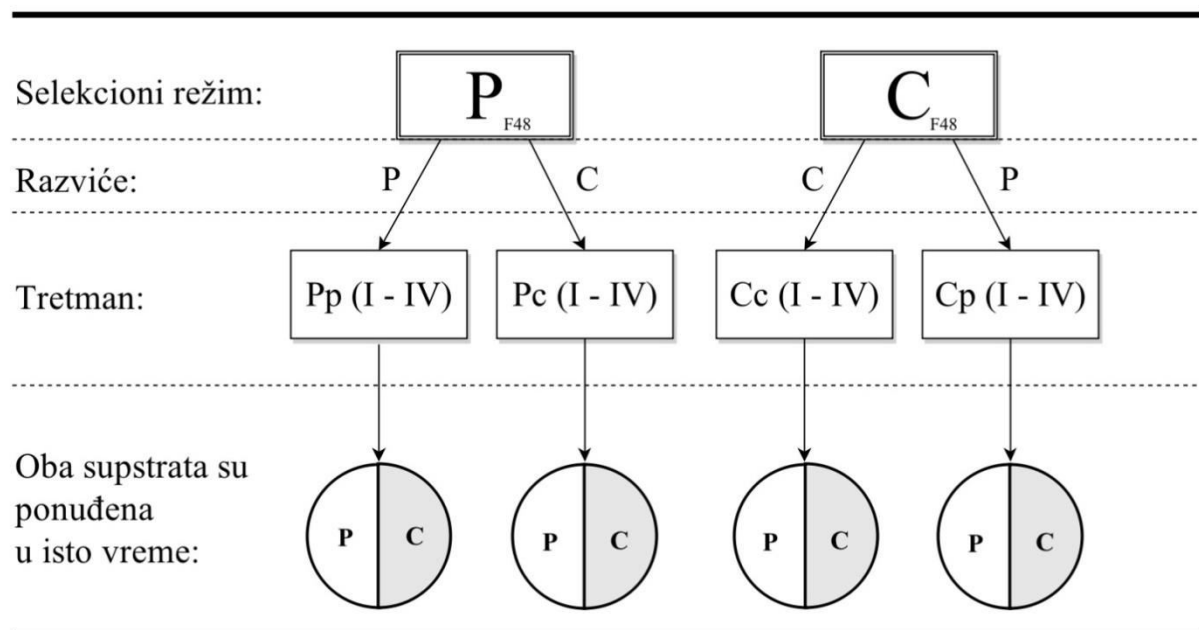


Slika 3.4.1.1. Shema eksperimenta I<sub>A</sub> – procedura prilikom polaganja jaja bez mogućnosti izbora biljke domaćina. Oplođenim ženjkama P i C selekcionog režima omogućeno je razviće na dugotrajnom domaćinu ili semenu alternativne biljke čime se formiraju četiri tretmana. Jedinke četiri populacije svakog tretmana polagale su jaja na pasulju ili nautu. Oznake korišćene prilikom obeležavanja grupe: P (pasulj) i C (naut); prvo slovo predstavlja poreklo, tj. selekcionog režim; drugo slovo je supstrat na kom su se insekti razvijali; treće slovo je ponuđeni domaćin prilikom polaganja jaja. Prema Savković i sar. (2016).

### **3.4.2 Eksperiment I<sub>B</sub> – ponašanje ženki prilikom polaganja jaja sa mogućnošću izbora biljke domaćina (engl. *choice*)**

Jedinke korišćene prilikom izvođenja eksperimenta I<sub>B</sub> selektovane su tokom 48 generacija na pasulju i nautu (P i C selekcionirani režimi sa po četiri replike – populacije). Postavka i izvođenje eksperimenta I<sub>B</sub> u velikoj meri oslanjaju se na proceduru eksperimenta I<sub>A</sub> (Videti odeljak 3.4.1, Materijal i metode). Nakon unutarpopulacionog ukrštanja, ženka je omogućeno da polaže jaja na istom domaćinu na kojem se odvijala selekcija ili na alternativnoj biljci. Kao i u eksperimentu I<sub>A</sub>, razvićem na određenom domaćinu formirane su dve eksperimentalne grupe u kojima domaćin nije promenjen (P<sub>p</sub> i C<sub>c</sub>) i dve grupe sa promenom domaćina (P<sub>c</sub> i C<sub>p</sub>). Svaka grupa je imala četiri replike koje su izvedene iz svake od četiri populacije unutar oba selekcionirana režima (Slika 3.4.2.1). Ovakav istraživački pristup dozvoljava praćenje ponašanja ženki prilikom polaganja jaja sa mogućnošću izbora biljke domaćina. Na taj način dodatno se opisuje varijabilnost reproduktivnog ulaganja ženki tokom procesa prelaska na druge biljke domaćine.

Eksperimentalna procedura eksperimenta I<sub>B</sub> podrazumevala je korišćenje tek izležanih ženki i mužjaka svake od replika iz četiri eksperimentalne grupe (P<sub>p</sub>, P<sub>c</sub>, C<sub>c</sub> i C<sub>p</sub>), i njihovo postavljanje u pojedinačne Petri šolje. Tako formiranim parovima su tokom polaganja jaja istovremeno ponuđena semena kako pasulja, tako i nauta. Dodatna specifičnost ove eksperimentalne procedure predstavljala je prepreka koja se nalazila na sredini Petri šolje. Na taj način bilo je onemogućeno mešanje postavljenih zrna i položenih jaja, dok je, s druge strane, kretanje jedinki unutar Petri šolje bilo slobodno i ženke su neometano birale na kom će semenu polagati jaja. Uzorak ovog eksperimenta obuhvatao je približno 1900 parova (oko 60 parova po eksperimentalnoj grupi i populaciji). Dodatno, kako ženke *A. obtectus* polažu više od 85 % jaja tokom prva četiri dana života, upravo je ovaj broj položenih jaja korišćen prilikom procene ukupnog fekunditeta i računanja Indeksa preferencije domaćina prilikom ovipozicije (*IPO*) (Videti odeljak 3.5.2, Materijal i metode).



Slika 3.4.2.1. Shema eksperimenta I<sub>B</sub> – procedura prilikom polaganja jaja ženki *A. obtectus* sa mogućnošću izbora biljke domaćina (engl. *choice*). Oplođenim ženkama P i C selekcionog režima omogućeno je razviće na dugotrajnom domaćinu ili semenu alternativne biljke čime se formiraju četiri tretmana. Prilikom polaganja jaja, jedinke četiri populacije svakog od tretmana istovremeno bile su istovremeno izložene semenima kako pasulja, tako i nauta. Prema Savković i sar. (2016).

### 3.4.3 Eksperiment II –reproduktivno ponašanje i nivoi prezigotske reproduktivne izolacije

Reproduktivno ponašanje i nivoi prezigotske reproduktivne izolacije ispitivani su nakon 50 generacija selekcije na pasulju i nautu (P i C selekciono režimi). Nakon unutarpopulacionog ukrštanja svake od četiri replike (populacije) P i C selekcionog režima, omogućeno je polaganje jaja na ustaljenoj ili alternativnoj biljci domaćinu. Na taj način su formirana četiri eksperimentalna tretmana (Pp, Pc, Cc i Cp) koji simuliraju postepen proces prelaska na druge biljke domaćine. Imajući u vidu da je svaki od četiri eksperimentalna tretmana imao po četiri replike koje vode poreklo do specifičnih populacija, ukupno je formirano 16 grupa. Ovakva eksperimentalna postavka jasno odvajava dugoročne (tokom 50 generacija) od kratkoročnih (tokom samo jedne generacije) efekata biljke domaćina na reproduktivno ponašanje žižaka (Slika 3.4.3.1). Dodatno,



ovako složen eksperimentalni pristup omogućava formiranje četiri različita tipa ukrštanja od kojih svaki odgovara na specifična pitanja promene reproduktivnog ponašanja:

1. **Homo – selekциони režim / homo – tretman** – tip ukrštanja omogućava proučavanje asortativnog ukrštanja između populacija koje vode poreklo sa istog selekcionog režima i larveno razviće završavaju na istim biljkama ( $Pp \times Pp$ ,  $Pc \times Pc$ ,  $Cc \times Cc$  i  $Cp \times Cp$  ukrštanja). Ovakva ukrštanja su služila kao standard za računanje odnosa očekivanih/realizovanih ukrštanja u JMating softverskom paketu (Carvajal-Rodriguez i Rolan-Alvarez 2006, Videti odeljak 3.5.5 Materijal i metode). Istovremeno, ovaj tip ukrštanja pokazuje razlike u reproduktivnom ponašanju unutar istog tipa ukrštanja za vreme procesa promene domaćina, tj. moguće je praćenje razlika između  $Pp$ ,  $Pc$ ,  $Cc$  i  $Cp$  eksperimentalnih grupa;
2. **Homo – selekциони režim / hetero – tretman** – tip ukrštanja koji prati reproduktivno ponašanje jedinki istog selekcionog režima nakon izmenjenog larvenog razvića ( $Pp \times Pc$  i  $Cc \times Cp$  ukrštanja). Ovakav tip ukrštanja odgovara na pitanje u kojoj meri kratkoročno izlaganje alternativnoj biljci utiče na plastičnu promenu reproduktivnog ponašanja i obrasca ukrštanja;
3. **Hetero – selekциони režim / homo – tretman** – tip ukrštanja između populacija koji vode poreklo sa različitih selekcionih režima, ali larveno razviće završavaju na istoj biljci ( $Pp \times Cp$  i  $Cc \times Pc$  ukrštanja). Na taj način moguće je saznati u kojoj meri larveno razviće na promenjenom domaćinu zadržava, ili pak remeti, obrasce reproduktivnog ponašanja koji su evoluirali pod različitim selektivnim pritiscima u okviru selekcionih režima;
4. **Hetero – selekциони režim / hetero – tretman** – tip ukrštanja između jedinki koje pripadaju različitim selekcionim režimima, a larveno razviće završavaju na različitim biljkama domaćinima ( $Pc \times Cp$  i  $Pp \times Cc$  ukrštanja). Ovakav tip ukrštanja, s jedne strane, analizira plastičnost reproduktivnog ponašanja kada se ženke i mužjaci različitih selekcionih režima nađu u promenjenoj sredini tokom razvića ( $Pc \times Cp$  ukrštanje), dok s druge strane, postavlja pitanje u kojoj meri su

transgeneracijski efekti različitih selekcionih režima izmenili reproduktivno ponašanje Pp × Cc ukrštanja.

U okviru ova četiri tipa ukrštanja, svaka populacija je ukrštana sa svim ostalim populacijama uzimajući u obzir i poreklo mužjaka i ženki (recipročna ukrštanja), tj. između svake dve populacije urađena su dva pravca ukrštanja – u jednom su ženke bile iz prve populacije, a u drugom su bile poreklom iz druge populacije. U zbiru, eksperimentalni dizajn je, u okviru svakog tipa ukrštanja, podrazumevao 64 postavke ukrštanja – 16 kombinacija populacija × 2 pola (slika 3.4.3.1). Svako ukrštanje urađeno je na 40 parova mužjaka i ženki. Ukrštanja između replika-populacija u okviru iste eksperimentalne grupe imala su za cilj da efekti stohastičkih mehanizama, koji uslovljavaju divergenciju izolovanih populacija unutar istih selekcionih režima, budu uvršteni u celokupnu procenjenu varijansu reproduktivnog ponašanja. Na taj način, ustanovljene razlike između selekcionih režima, i pored visoke varijanse fenotipa ponašanja, mogu se smatrati rezultatom delovanja divergentne selekcije. Dodatni razlog recipročnih ukrštanja je i to što se na taj način povećava ukupan broj podataka koji ulaze u analizu učestalosti ukrštanja, kada se za svaki tip ukrštanja dobija ukupno 64 podatka o frekvenciji ukrštanja.

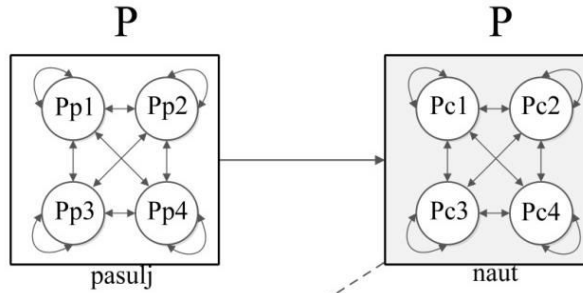
Eksperimentalni protokol podrazumevao je sakupljanje tek izleženih jedinki na svaka dva sata, kako bi se sakupili žišci koji nisu bili seksualno aktivni („nevine“ jedinke). Tako sakupljene jedinke su odmah odvajene po polovima i ostavljane tokom 24 h u kontrolisanim uslovima ( $30^{\circ}\text{C} \pm 1^{\circ}\text{C}$ ). Nakon ovog perioda, pravljena su recipročna ukrštanja, a po jedna ženka i mužjak su stavljeni u Petri šolju dijametra 35 mm bez semena pasulja ili nauta. Parovi su posmatrani 30 min, a tom prilikom je beleženo (i) da li je došlo do kopulacije (engl. *copulation frequency*), (ii) koliko je vremena proteklo do početka kopulacije (engl. *copulation latency*) i (iii) koliko vremena su jedinke provele kopulirajući – dužina kopulacije (engl. *copulation duration*). Osnovna prednost dizajna bez mogućnosti izbora partnera (engl. *no-choice*) je omogućeno praćenje tačnog broja potencijalnih i ostvarenih kopulacija u svakoj od kombinacija ukrštanja. Ovo je ujedno i preduslov za određivanje parametra seksualne izolacije ( $I_{PSI}$ ) koji se prvenstveno oslanja na ulogu ponašanja u izboru partnera (engl.

*mate choice*) umanjujući ulogu ukupne sklonosti ka ukrštanju (engl. *mating propensity*) između posmatranih populacija (Videti odeljak 3.5.5, Materijal i metode).

A.

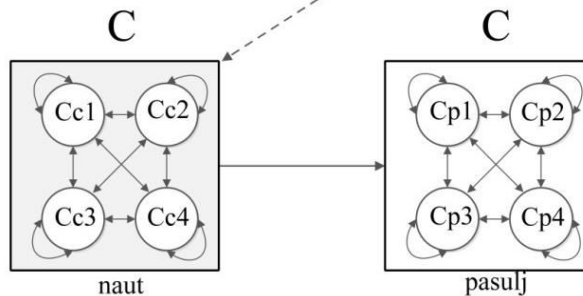
Tip ukrštanja:

selekcioni režim:



biljka domaćin:  
homo - selekcioni režim/  
homo - tretman

selekcioni režim:

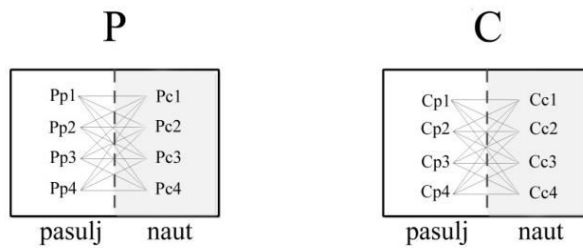


biljka domaćin:

B.

Tip ukrštanja:

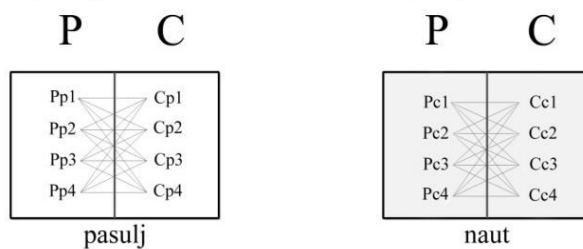
selekcioni režim:



homo - selekcioni režim/  
hetero - tretman

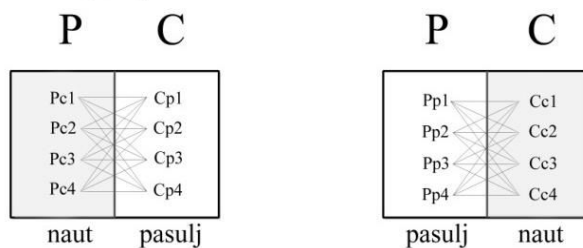
biljka domaćin:

selekcioni režim:



biljka domaćin:

selekcioni režim:



hetero - selekcioni režim/  
hetero - tretman

biljka domaćin:

Slika 3.4.3.1. Eksperimentalna postavka i shema ukrštanja populacija *A. obtectus* u eksperimentu reproduktivnog ponašanja i prezigotske reproduktivne izolacije. Bela i siva boja predstavljaju larveno razviće na pasulju i nautu, respektivno. **A.** – Svaka od četiri eksperimentalne grupe (Pp, Pc, Cc i Cp) sa po četiri replike simuliraju postepen proces prelaska na nove biljke domaćine. Dugačke pune strelice ukazuju na kratkoročnu promenu domaćina, dok isprekidana strelica predstavlja višegeneracijsku promenu domaćina. Dodatno, svaki od četiri kvadrata predstavlja ukrštanja između i unutar svake od četiri populacije koje imaju isto poreklo selekcionog režima i tretmana. tj. *homo – selekcionni režim / homo – tretman* tip ukrštanja (Pp × Pp, Pc × Pc, Cc × Cc, Cp × Cp). **B.** – Različiti tipovi heterotipskih ukrštanja između eksperimentalnih grupa. *Homo – selekcionni režim / hetero – tretman* tip ukrštanja odnosi se na jedinke P i C selekcionih režima koji se ukrštaju sa jedinkama koje larveno razviće završavaju na alternativnim biljkama domaćinima (Pp × Pc i Cc × Cp). *Hetero – selekcionni režim / homo – tretman* tip ukrštanja odnosi se na ukrštanja između jedinki koje pripadaju različitim selekcionim režimima, ali larveno razviće završavaju na istoj biljci (Pp × Cp i Cc × Pc). *Hetero – selekcionni režim / hetero – tretman* tip ukrštanja odnosi se na ukrštanja između jedinki koje pripadaju različitim selekcionim režimima i različitim biljkama na kojima se završava larveno razviće (Pc × Cp i Pp × Cc). U okviru svakog tipa ukrštanja, ukrštanja su bila recipročna, što je predstavljeno punim linijama. Videti tekst za detalje. Prema Stojković i sar. (2014).

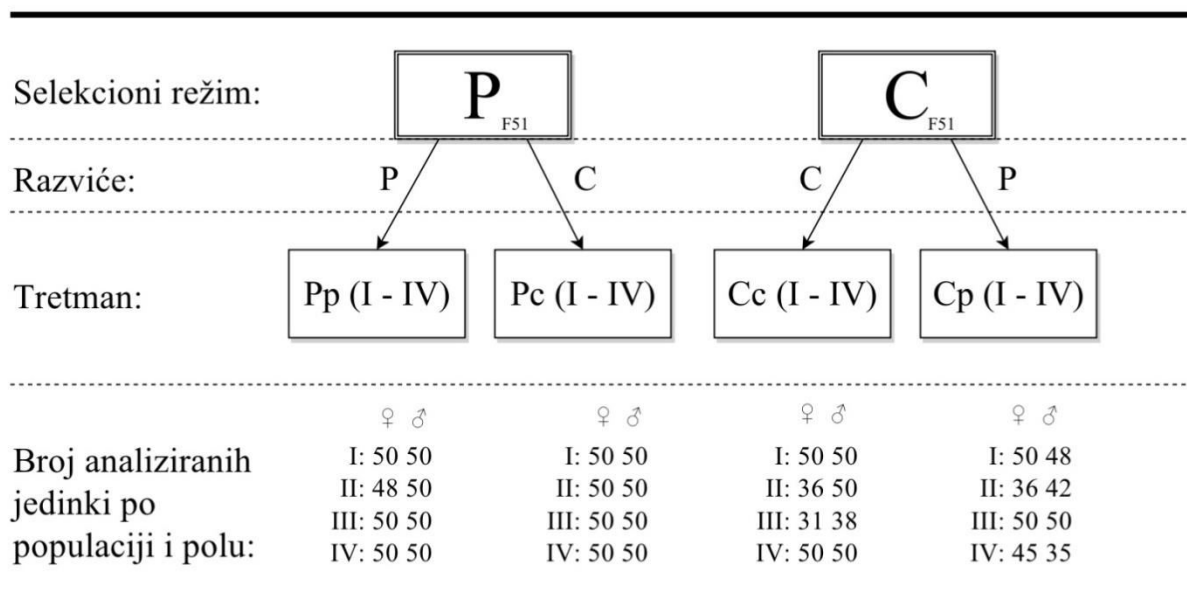
### **3.4.4 Eksperiment III – određivanje sastava kutikularnih ugljovodonika (CHC) gasnom hromatografijom i masenom spektrometrijom (GC-MS)**

Primarni cilj eksperimenta III bio je određivanje kvalitativnog i kvantitativnog sastava kutikularnih ugljovodonika populacija pasuljevog žiška. Ovaj eksperiment realizovan je nakon 51 generacija od početka selekcije na pasulju i nautu (P i C selekcionni režimi sa po četiri replike – populacije). Eksperimentalna procedura omogućavala je sparenim jedinkama da polažu jaja i završe larveno razviće na ustaljenom ili alternativnom domaćinu, čime se jasno razlikuju kratkoročni od dugoročnih efekta promene biljke domaćina (Slika 3.4.4.1). Na ovaj način formirane su dve kontrolne (Pp i Cc) i dve tretman eksperimentalne grupe (Pc i Cp), pri čemu je svaka eksperimentalna grupa imala po četiri replike koje su izvedene iz svake od četiri populacije unutar oba

selekciona režima. S obzirom da kutikularni ugljovodonici imaju potencijalno velike uloge u hemijskoj komunikaciji, prepoznavanju i privlačenju partnera (Videti odeljak 1.4.2.1, Uvod), razlike između polova u sastavu i količini ovih molekula mogu imati velike posledice na obrasce asortativnog ukrštanja. Samim tim, sastav i količina kutikularnih ugljovodonika analizirani za svaki pol odvojeno, a ukupnan broj analiziranih uzoraka iznosio je 32 (2 režima  $\times$  4 replike  $\times$  2 tretmana alternativnog domaćina  $\times$  2 pola). Svaki analizirani uzorak sadržao je između 31 i 50 jedinki. Osnovni cilj ovako koncipirane analize bio je uočavanje obrazaca varijabilnosti kutikularnih ugljovodonika između jedinki koje pripadaju različitim selekcionim režimima, proučavanje kratkoročnih efekata razvića na alternativnoj biljci domaćinu, kao i proučavanje razlika između polova.

Procedura pripreme uzoraka za kvalitativnu i kvantitativnu analizu kutikularnih ugljovodonika pasuljevog žiška imala je sledeći tok. Tek izležene jedinke svake od eksperimentalnih grupa i replika su odvojene po polovima i stavljene u 2 ml redestilovanog *n*-heksana. Ovako pripremljeni uzorci su vorteksovani 5 s i stavljeni 10 s u ultrazvučno kupatilo (50/60 Hz), nakon čega je ponovljen korak vorteksovavanja od 5 s. Završni korak pripreme uzoraka bilo je prebacivanje *n*-heksana u bočice za hromatografiju od 1,5 ml kada se pristupilo gasno hromatografskoj i maseno spektrometrijskoj analizi (GC – MS). GC – MS analiza je urađena na Agilent 7890A GC sistemu opremljenim 5975C inertnim XL EI/CI MSD i FID detektorom povezanim tehnologijom kapilarnog protoka sa dvostrukim spliterom i inertnim gasom. Korišćena je HP – 5 MSI kapilarna kolona (Agilent Technologies, 25 mm i.d., 30 m dužine, 0.25  $\mu$ m debljina filma). Analizirana količina iznosila je 1  $\mu$ l za svaki uzorak, a protočnost helijuma kao inertnog gasa nosača je bila 1,1 ml/min. Temperatura kolone imala je sledeći temperaturni raspored: od 150°C do 220°C temperatura je povećavana za 25°C po minutu, od 220°C do 280°C temperatura je povećavana za po 3°C po minutu. Temperatura od 315°C je zadržavana tokom 4,8min. Linija transfera je bila zagrejana na 280°C, dok je temperatura FID detektora iznosila 300°C. EI maseni spektri su bili u *m/z* opsegu od 35 – 550, a temperatura jona je bila podešena na 230°C.

Pretraga baze podataka masenih spektara je urađena u NIST AMDIS programu (engl. *Automated Mass Spectral Deconvolution and Identification System*) verzija 2.64 (NIST, 2005). Retencioni Indeksi (RetI) su kalibrisani u odnosu na RetI standarde alkana normalnog niza (*n*-alkana) koji su ubrizgani nakon analize uzoraka pod istim hromatografskim uslovima. Jedinjenja kutikularnih ugljovodonika su identifikovana na osnovu njihovih EI masenih spektara prateći karakteristične obrazce spektralne fragmentacije normalnih, mono-, di-, i tri- metilalkana (Blomquist i sar. 1987, Blomquist i Bagneres 2010) kao i njihovih RetI (Carlson i sar. 1998).



Slika 3.4.4.1. Eksperimentalna postavka i broj analiziranih jedinki po uzorku korišćenih prilikom kvalitativnog i kvantitativnog određivanja sastava kutikularnih ugljovodonika (CHC) pasuljevog žiška. Oplođenim ženka P i C selekcionog režima omogućeno je razviće na dugotrajnom domaćinu ili semenu alternativne biljke, čime su formirane četiri eksperimentalna tretmana sa po četiri replike (populacije). Oznake korišćene prilikom obeležavanja grupe: P (pasulj) i C (naut); prvo slovo predstavlja poreklo, tj. selekcioni režim; drugo slovo je supstrat na kom su se insekti razvijali.

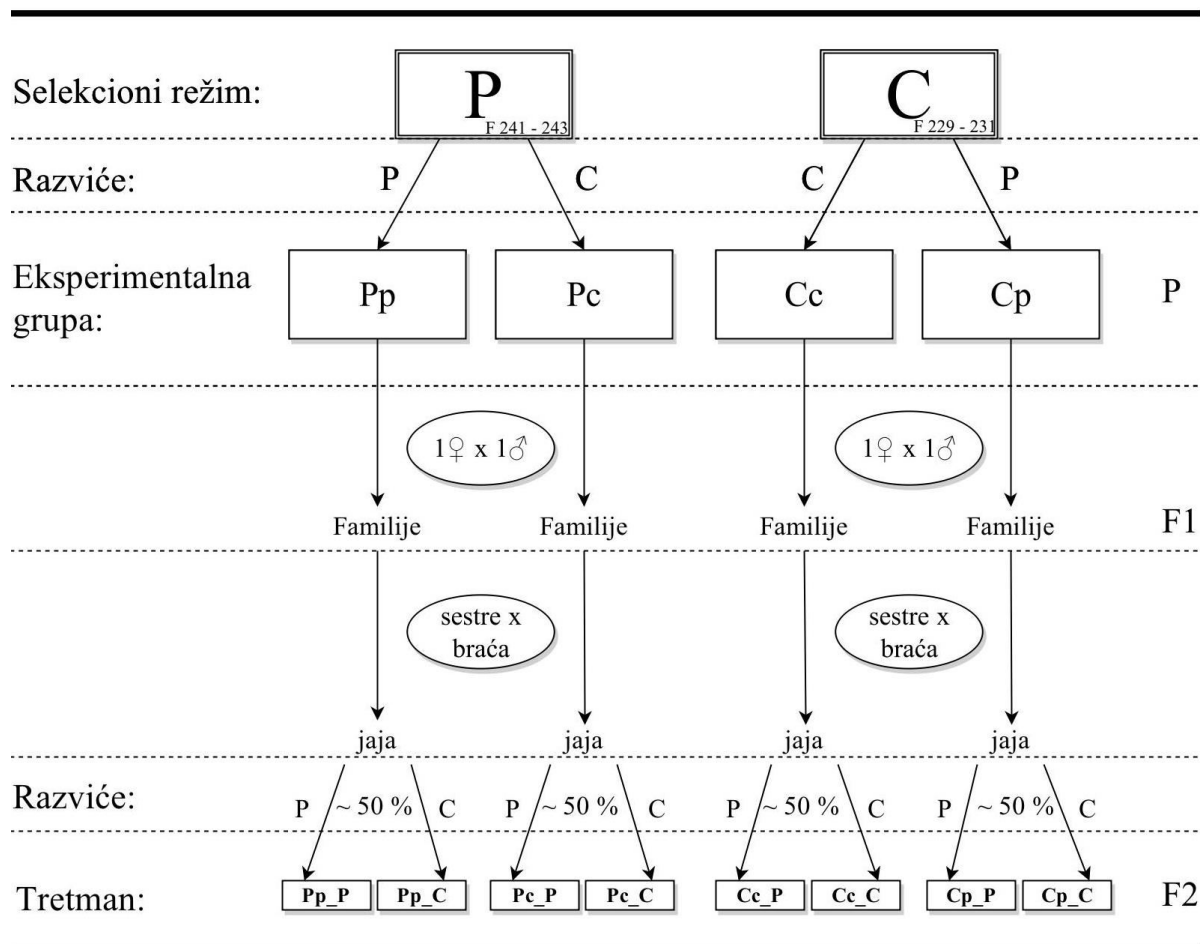
### 3.4.5 Eksperiment IV – fenotipska plastičnost osobina životne istorije

U ovom eksperimentu korišćene su jedinke koje vode poreklo sa dva selekcionog režima koji su se 241-243 generacija razvijali na pasulju (P selekcioni režim), odnosno 229-231

generacija na nautu (C selekcionni režim). Osnovni razlog zbog koga su ove dve populacije korišćene prilikom ispitivanja fenomena fenotipske plastičnosti osobina životne istorije bio je znatno veći broj generacija pod određenim selekcionim režimom u uslovima laboratorijske evolucije. Takođe, imajući u vidu da je broj jedinki koji je doprinosaio svakoj sledećoj generaciji bio vrlo visok (oko 3000 jedinki po generaciji za svaki selekcionni režim), moguće je bilo proceniti da li populacije selektovane na različitim domaćinima imaju potencijal za evoluciju plastičnosti.

Sparenim jedinkama iz dve populacije P i C selekcionih režima omogućeno je razviće na svom ustaljenom, ili na alternativnom domaćinu, te je ukupno oformljeno četiri eksperimentalne grupe (Pp, Pc, Cc i Cp). Ovako formirane eksperimentalne grupe korišćene su za sva dalja ukrštanja (Slika 3.4.5.1). Početni korak eksperimentalne procedure bilo je formiranje oko 50 parova jedinki uzimajući tek izležene mužjake i ženke ( $1♀ \times 1♂$ ) iz svake od četiri eksperimentalne grupe. Tom prilikom parovi su postavljeni u Petri šolje sa dovoljnom količinom supstrata. Ženkama je omogućeno da polažu jaja, a tako formirane familije su završavale larveno razviće na biljci koja je predstavljala supstrat za razviće. Tako su familije koje vode poreklo iz Pp i Cp eksperimentalnih grupa larveno razviće završile na pasulju, dok su se familije Cc i Pc eksperimentalnih grupa razvijale na nautu. Sve izležene jedinke iz formiranih familija predstavljale su F1 generaciju i međusobno su ukrštene (sestre  $\times$  braća ukrštanja). Kako je predulsov proučavanja fenotipske plastičnosti osobina životne istorije razviće svake familije u najmanje dve različite sredine, ukrštanje sestara i braće iz već formiranih familija bilo je nužno kako bi ukupan broj oplodjenih jaja bio uvećan. Tom prilikom, položena jaja su svakodnevno prebrojavana, a približno 50 % jaja iz ovakvih ukrštanja je prebačeno u Petri šolje sa pasuljem, dok je druga polovina jaja postavljena na naut. Na ovaj način oformljeno je ukupno osam tretmana (Pp\_P, Pp\_C, Pc\_P, Pc\_C, Cc\_P, Cc\_C, Cp\_P i Cp\_C). Tako su, na primer, jaja familija koje vode poreklo iz Pp eksperimentalne grupe stavljana na pasulj (Pp\_P tretman) ili naut (Pp\_C tretman). Na ovom mestu treba napomenuti da se poslednje slovo u nazivu tretmana odnosi na razviće na određenoj biljci domaćinu. Ovakav eksperimentalni pristup, kao i poznat broj jaja, omogućili su procenu preadultnog vijabiliteta za svaku analiziranu familiju, dok je dužina razvića praćena za svaku izleženu jedinku u okviru familije (F2 generacija). Masa tela je merena kod uzorka jedinki koje su postavljane u sledeću fazu ukrštanja.

Uzorak ženki iz svake familije ukrštan je sa mužjacima iz osnivačke (engl. „base“) populacije na biljci domaćinu koja je odgovarala supstratu na kom su se ženke poslednje razvijale (npr. ženke Pp\_C tretmana su polagale jaja na nautu). Ženke su pojedinačno stavljane u Petri šolje sa referentnim mužjacima. Broj položenih jaja je beležen na svaka četiri dana, dok je mortalitet svakodnevno praćen. Iz svake familije, mužjaci su stavljani u pojedinačne tubice sa neoplođenim referentnim ženkama iz osnivačke (engl. „base“) populacije. Svakodnevno je praćen mortalitet ovih mužjaka. U zavisnosti od uspešnosti familije, broj jedinki kojima su praćene adultne osobine životne istorije, iznosio je između tri i petnaest (u najvećem broju slučajeva deset), a svaka eksperimentalna grupa sadržala je 17 i 33 familija na osnovu kojih su izračunati indeksi plastičnosti osobina životne istorije (Videti odeljak 3.5.7, Materijal i metode).



Slika 3.4.5.1. Eksperimentalna procedura za određivanje fenotipske plastičnosti osobina životne istorije u uslovima eksperimentalno izazvane promene biljke domaćina. Videti detalje u tekstu.



### 3.5 Statistička obrada podataka i korišćeni modeli

#### 3.5.1 Varijacione i korelacione statističke procedure

Osnovni parametri deskriptivne statistike (srednja vrednost, standardna greška i koeficijent variranja) za osobine životne istorije, osobine reproduktivnog ponašanja, relativne količine kutikularnih ugljovodonika i indeksa plastičnosti osobina životne istorije izračunati su PROC MEANS procedurom u SAS softverskom paketu (9.3 SAS Institute INC. 2010). Dobijene vrednosti su prikazane tabelarno.

Prilikom analize osobina životne istorije u izmenjenim uslovima životne sredine (eksperiment I<sub>A</sub>) korišćena su dva mešana modela analize varijanse (PROC GLM). Prvim modelom je testirana varijabilnost preadultnih osobina (vijabilitet, dužina razvića i masa tela). Efekti selekcionog režima, tretmana i interakcije selekcionog režima i tretmana tretirani su kao fiksirani faktori. Kako su proučavane populacije pasuljevog žiška definisane selekcionim režimom, ali i efektom tretmana, prilikom analize efekat populacija je ugnježđen u njihovu interakciju i predstavljao je nasumičan (engl. *random*) faktor u modelu. Pre testiranja, vrednosti vijabiliteta su transformisane koristeći arc sin kvadratni koren transformaciju kako bi osnovni zahtevi parametarskih testova bili ispoštovani. Drugim modelom su testirane adultne osobine životne istorije (prvi dan polaganja jaja, dan kada je položeno najviše jaja, ukupan broj položenih jaja i dužina života). Fiksirani faktori su definisani selekcionim režimom, tretmanom i ponuđenim domaćinom prilikom polaganja jaja. Kao i u prethodnom modelu, efekti populacije su ugnježđeni u interakciju selekcionog režima i tretmana i predstavljali su nasumičan faktor. Za testiranje međugrupne varijabilnosti početka i dužine kopulacije (eksperiment II) logaritmovani podaci su testirani mešanim modelom analize varijanse: sa selekcionim režimom, tretmanom i polom kao fiksiranim faktorima i populacijama ugnježđenim u interakciju selekcionog režima i tretmana kao nasumičnim faktorom. Pre faktorske analize varijanse, vrednosti relativne količine CHC (eksperiment III) su transformisane arc sin kvadratni koren transformacijom sledeći zahteve parametarskih testova za normalnošću raspodele i homogenošću varijanse za podatke koji se nalaze u opsegu od 0 do 1. Prilikom same analize varijanse, selekcionim režimom, tretmanom i polom predstavljali su fiksirane faktore, dok su populacije ugnježđene u interakciju selekcionog režima i tretmana predstavljale nasumičan faktor. Mešani model analize

varijanse korišćen je i prilikom analize fenotipskih vrednosti osobina životne istorije četiri eksperimentalne grupe populacija *Acanthoscelides obtectus* selektovanih na pasulju (P) ili nautu (C) tokom više od 230 generacija. U ovako konstruisanom modelu, efekat eksperimentalne grupe (Pp, Pc, Cc i Cp) i efekat tretmana (preadultno razviće na pasulju ili nautu) predstavljali su fiksirane faktore u modelu, dok su familije ugnježdene u eksperimentalnu grupu predstavljale nasumičan faktor u modelu. Analiza varijanse je urađena za svaku osobinu životne istorije zasebno, a podaci korišćeni prilikom analize su dobijeni iz Eksperimenta IV. Takođe, analizom varijanse, testirani su i efekti različitih eksperimentalnih grupa na obrazac varijabilnosti indeksa fenotipske plastičnosti baziranim na relativnim udaljenostima –  $PI_{rd}$  (eksperiment IV).

Međugrupna parna poređenja prosečnih vrednosti osobina životne istorije omogućena su Tukey i Scheffe post-hoc testovima, PROC GLM (9.3 SAS Institute INC. 2010).

Za testiranje korelacija osobina životne istorije u izmenjenim uslovima životne sredine (eksperiment I<sub>A</sub>), PROC CORR procedurom (9.3 SAS Institute INC. 2010) je omogućeno računanje Pearsonovog koeficijenta korelacije  $r$ . Takođe, kako bi se uočila veza između preferencije partnera i hemijske komunikacije (eksperimenti II i III), korelacione analize su poslužile za povezivanje relativne zastupljenosti kutikularnih ugljovodonika (CHC) i učestalosti ukrštanja. Tako su ženski signali, odnosno relativna zastupljenost CHC kod ženki, korelisani sa vrednostima učestalosti ukrštanja sa svim ostalim tipovima mužjaka. Isti princip je korišćen i za muške signale. Kako su vrednosti CHC analizirane na grupnom, a ne na individualnom nivou, multivarijantne analize količine CHC i osobina reproduktivnog ponašanja nisu bile moguće. Zbog toga su frekvencije ukrštanja korelisane za svako jedinjenje posebno nakon log-ratio (crl) transformacije (Aitchison 1986, Pawlowsky-Glahn i Buccianti 2011) koristeći CoDaPack softversko rešenje (Comas-Cufí i Thió-Henestrosa 2011). Pre korelacione analize, podaci frekvencije ukrštanja su arc sin kvadratni koren transformisani, a Bonferoni korekcija višestrukih poređenja je primenjena za svaki tip ukrštanja za svako od analiziranih 21 CHC jedinjenja.

### 3.5.2 Indeks preferencije tokom ovipozicije (*IPO*)

U postavci eksperimentalno indukovane promene domaćina (eksperiment  $I_B$ ), proučavanje ponašanja ženki tokom polaganja jaja sa mogućnošću izbora domaćina je vrlo informativno. Tako se, u kombinaciji sa drugim osobinama životne istorije, saznaje odnos preferencije polaganja jaja i uspešnosti na određenom domaćinu, ili stepen uzajamnog ograničenja dugovečnosti i ukupnog fekunditeta. Koristeći podatke dobijene iz eksperimenta  $I_B$ , Indeks preferencije tokom ovipozicije (*IPO*) je izračunat za svaku ženku i predstavlja razliku položenih jaja na pasulju ( $n_{pasulj}$ ) i nautu ( $n_{naut}$ ) u odnosu na ukupan broj položenih jaja ( $n_{total}$ ) (1). Vrednosti *IPO* se nalaze u opsegu od -1 do +1, pri čemu -1 predstavlja potpuno biranje pasulja prilikom polaganja jaja, nula je nasumično (nediskriminativno) polaganje, dok vrednosti od +1 predstavljaju potpunu preferenciju polaganja jaja na nautu.

$$(1) IPO = \left( \frac{n_{pasulj}}{n_{total}} \right) - \left( \frac{n_{naut}}{n_{total}} \right)$$

Imajući u vidu da indeksi preferencije prilikom ovipozicije (eksperiment  $I_B$ ) nisu zadovoljavali osnovne pretpostavke parametarskih testova (Kolmogorov-Smirnov test normalnosti  $D_{900} = 0,1821$ ,  $P < 0,0001$ ), međugrupna varijabilnost je testirana koristeći Mann Whitney U neparametarski test koristeći PROC NPAR1WAY proceduru (9.3 SAS Institute INC. 2010).

### 3.5.3 Populaciono-ekološki parametri rasta populacije

Metode za formiranje, opis i analizu tablica života u ekološkim istraživanjima poznate su od sredine dvadesetog veka (Deevey 1947, Birch 1948, Southwood 1978) i zauzimaju važno mesto prilikom procene stope rasta populacija i njihove dinamike. Najčešći populaciono-ekološki (demografski) parametri koji se dobijaju iz tablica života su: neto stopa reprodukcije ženki ( $R_0$ ), intrinzička stopa rasta populacije ( $r_m$ ), srednje vreme generacije populacije ( $T$ ), vreme za koje populacija duplira broj jedinki ( $D_t$ ) i konačna stopa rasta populacije ( $\lambda$ ). Kako je preduslov bilo kakvog statističkog poređenja poznavanje varijansi testiranih osobina, a imajući u vidu da parametri tablica života predstavljaju integrisane vrednosti različitog broja osobina životne istorije, testiranje razlika populacionih parametara različitih grupa nije moguće samo na osnovu

njihove unutargrupne varijabilnosti, već se nužno zasniva na metodama nasumičnog i ponovnog uzorkovanja. Maja i sar. (Maia i sar. 2000) razvijaju statistički paket koji koristi jackknife proceduru za računanje procena parametara tablica života, njihovih jackknife varijansi i intervala poverenja, čime je omogućeno poređenje između različitih eksperimentalnih grupa. Podaci potrebni za formiranje tablica života su dobijeni iz eksperimenta  $I_A$ . Sedam osnovnih parametara služe za izračunavanje izvedenih populaciono-ekoloških parametara.

Osnovni podaci za računanje populaciono-ekoloških parametara prema Maja i sar. (Maia i sar. 2000, 2006):

- 1) Broj sparenih ženki po svakoj eksperimentalnoj grupi  $g$  ( $NF_g$ )
- 2) Dužina razvica  $i$ -te ženke u svakoj eksperimentalnoj grupi  $g$  – vreme koje protekne od polaganja jaja do pojave ženke kao adulta ( $t0_{gi}$ )
- 3) Dužina života  $i$ -te ženke u svakoj eksperimentalnoj grupi  $g$  – vreme koje protekne od polaganja jaja do njene smrti ( $tf_{gi}$ )
- 4) Broj položenih jaja  $i$ -te ženke u svakoj eksperimentalnoj grupi  $g$ , po danu  $x$  ( $NEGG_{gix}$ )
- 5) Ukupan broj položenih jaja u okviru date eksperimentalne grupe  $g$  ( $NEGG_{gx}$ ),  
 $NEGG_{gx} = \sum_{i=1}^{n_g} NEGG_{gix}$
- 6) Procena broja ženki u datoj eksperimentalnoj grupi  $g$  ( $SR_g$ ). Ovaj parametar se računa kao količnik broja izleženih ženki po datoj eksperimentalnoj grupi  $g$  ( $NAF_g$ ) i ukupnog broja izleženih jedinki u datoj eksperimentalnoj grupi  $g$  ( $NA_g$ ) i u svojoj završnoj formi ima oblik:  $SR_g = \frac{NAF_g}{NA_g}$
- 7) Vijabilitet date eksperimentalne grupe  $g$  ( $SURV_g$ ). Ovaj parametar se dobija deljenjem broja izleženih jedinki po datoj eksperimentalnoj grupi  $g$  ( $NA_g$ ) i ukupnog broja jaja koja doprinose sledećoj generaciji u datoj eksperimentalnoj grupi  $g$  ( $N_g$ ),  $SURV_g = \frac{NA_g}{N_g}$

Prilikom računanja populaciono-ekoloških parametara korišćen je model koji se oslanja na eksponencijalni rast populacija (2) gde  $N(t)$  predstavlja veličinu populacije

$N$  u vremenu  $t$ ,  $N_0$  je početna veličina populacije, dok  $r_m$  parametar predstavlja intrinzičku stopu rasta populacije.

$$(2) N(t) = N_0 \times e^{r_m \times t}$$

Populacioni parametar  $r_m$  se može izračunati na dva načina: (i) aproksimacijom parametra  $T$  (5), ili (ii) iterativnim metodom koji se oslanja na funkcionalnu zavisnost neto stope reprodukcije u vremenu  $x$  ( $R_0$ ) i intrinzičke stope rasta populacija ( $r_m$ ) (jednačine 7 i 8) (Southwood 1978).

*Neto stopa reprodukcije* ( $R_0$ ) je procena koliko svaka ženka u narednoj generaciji doprinosi ženskom potomstvu tokom celokupnog perioda polaganja jaja. Za računanje ovog parametra potrebno je odrediti koliko ženskog potomstva unutar eksperimentalne grupe  $g$  nastaje u vremenskom intervalu  $x$  ( $m_{gx}$ ). Ovaj podatak se dobija množenjem ukupnog broja položenih jaja eksperimentalne grupe  $g$  ( $NEGG_{gx}$ ) sa očekivanim odnosom polova iste grupe ( $SR_g$ ), ( $m_{gx} = NEGG_{gx} \times SR_g$ ). Dodatno, potrebno je proceniti kolika je ukupna stopa preživljavanja ženki eksperimentalne grupe  $g$  u trenutku  $x$  ( $l_{gx}$ ) koja obuhvata stopu preživljavanja ženki na preadultnom ( $SURV_g$ ) i adultnom ( $\frac{NSF_{gx}}{NF_g}$ ) nivou,  $l_{gx} = SURV_g \times \frac{NSF_{gx}}{NF_g}$ . Množenjem stope preživljavanja ( $l_{gx}$ ) i doprinosa ženskom potomstvu u narednoj generaciji ( $m_{gx}$ ) dobija se neto stopa reprodukcije eksperimentalne grupe  $g$  u vremenu  $x$  ( $R_{0gx}$ ) (3).

$$(3) R_{0gx} = l_{gx} \times m_{gx}$$

Za određivanje neto stope reprodukcije eksperimentalne grupe  $g$  ( $R_{0g}$ ), neophodno je sabrati sve vrednosti  $R_{0gx}$ , odnosno, vrednosti od prvog pojavljivanja adalata ( $x_{0g} = \min_i[x_{0gi}]$ ), sve do smrti poslednje ženke u datoj grupi ( $\Omega_g = \max_i t_{f_{gi}}$ ) (4).

$$(4) R_{0g} = \sum_{x=x_{0g}}^{\Omega_g} R_{0gx}$$

*Srednje vreme generacije* ( $T$ ) predstavlja vreme koje protekne od izleganja adalata u jednoj generaciji do izleganja adalata u narednoj generaciji. Aproksimativnim

metodom se računa prema jednačini (5), dok se izračunavanje iterativnim metodom bazira na jednačini eksponencijalnog rasta populacija (2) uz korekciju obeležavanja parametara gde je  $t = T_g$ , a  $R_{0g} = N_{tg}/N_0$  (6).

$$(5) T_g = \frac{\sum_{x=x_{0g}}^{\Omega_g} x \times l_{gx} \times m_{gx}}{\sum_{x=x_{0g}}^{\Omega_g} l_{gx} \times m_{gx}}$$

$$(6) T_g = \frac{L_n(R_{0g})}{r_{mg}}$$

*Intrinzička stopa rasta populacije* ( $r_m$ ) je mera trenutne stope rasta populacija i podrazumeva stabilnu uzrasnu strukturu populacija. Izračunavanje se bazira na jednačini eksponencijalnog rasta populacija (2), gde je  $t = T_g$ , a  $R_{0g} = \frac{N_{tg}}{N_0}$ . Nakon prilagođavanja, parametr  $r_m$  se izračunava prema jednačini prikazanoj pod rednim brojem 7. Iterativni metod za računanje ovog populacionog parametra se oslanja na aproksimativni postupak i za prvu vrednost koristi parametar  $r_m$  izračunat aproksimativnim metodom. Nakon toga se traži vrednost u intervalu između  $0,8r$  i  $1,2r$  aproksimativnog parametra i određuje se vrednost koja predstavlja najmanje odstupanje leve i desne strane jednačine (8).

$$(7) r_{mg} = \frac{L_n(R_{0g})}{T_g}$$

$$(8) \sum_{x=x_{0g}}^{\Omega_g} e^{-rx} \times l_x \times m_{gx} = 1$$

*Vreme za koje populacija duplira broj jedinki* ( $D_t$ ) se izračunava modifikacijom eksponencijalnog rasta populacije (2), gde je  $t = T_g$ , a  $N_{tg}/N_0 = 2$  (9).

$$(9) D_{tg} = \frac{L_n(2)}{r_{mg}}$$

*Konačna stopa rasta populacije* ( $\lambda$ ) se dobija iz parametra intrinzičke stope rasta populacija ( $r_m$ ) (10).

$$(10) \lambda = e^{r_{mg}}$$

Za utvrđivanje srednjih vrednosti i intervala poverenja populacionih parametara korišćena je jackknife metoda koja se zasniva na ponavljanju izračunavanja željenog parametra uz izbacivanje jednog nasumičnog uzorka iz analizirane populacije prilikom svake iteracije. Prvi korak jackknife metode je određivanje populacionih parametara koristeći kompletan set podataka (engl. *true calculations*) populacije  $g$ . U ovom koraku populacioni parametri imaju sledeće oznake:  $R_{0g}^{(0)}$ ,  $r_{mg}^{(0)}$ ,  $T_g^{(0)}$ ,  $D_{tg}^{(0)}$ ,  $\lambda_g^{(0)}$ . Sledi serija od 10000 iteracija, pri čemu se svaki put iz populacije  $g$  nasumično izbacuje po jedan uzorak  $n_g - 1$ , a oznake postaju:  $R_{0g}^{(i)}$ ,  $r_{mg}^{(i)}$ ,  $T_g^{(i)}$ ,  $D_{tg}^{(i)}$ ,  $\lambda_g^{(i)}$ . U svakoj iteraciji  $i$ , populacije  $g$ , za svaki populacioni parametar računaju se njihove pseudovrednosti oduzimajući vrednosti koje koriste kompletan set podataka od vrednosti dobijenih nasumičnim izbacivanjem jednog uzorka u datoj iteraciji  $i$ . Populacioni parametar  $\lambda$  je poslužio za prikazivanje načina po kom se računaju pseudovrednosti (11). Na isti način se, uz adekvatnu promenu oznaka, računaju i pseudovrednosti svih ostalih populaciono-ekoloških parametara.

$$(11) PSV\lambda_g^{(i)} = n_g \times \lambda_g^{(0)} - (n_g - 1) \times \lambda_g^{(i)}$$

Pseudovrednosti populacionih parametara dalje se koriste za računanje srednje vrednosti ( $\lambda_g'$ ) (12), varijanse ( $VAR(\lambda_g')$ ) (13) i standardne greške ( $SEM(\lambda_g')$ ) (14) svake populacije  $g$  upotrebom jackknife metoda. Kao i u primeru računanja pseudovrednosti, populacioni parametar  $\lambda$  poslužio je kao primer po kome se jackknife srednje vrednosti, varijanse i standardne greške mogu izračunati i za ostale populaciono-ekološke parametre uz upotrebu adekvatnih oznaka.

$$(12) \lambda_g' = \frac{\sum_{i=1}^{n_g} PSV\lambda_g^{(i)}}{n_g}$$

$$(13) VAR(\lambda_g') = \frac{\sum_{i=1}^{n_g} (PSV\lambda_g^{(i)} - \lambda_g')^2}{(n_g - 1)}$$

$$(14) SEM(\lambda_g') = \sqrt{\frac{VAR\lambda_g'}{n_g}}$$

Poređenja populacio-ekoloških parametara između različitih eksperimentalnih grupa su testirana Studentovim –  $t$  testom sa Welch-ovom korekcijom stepena slobode.

### 3.5.4 Analiza fenotipske selekcije – selekциони gradijenti

Analize sredinski indukovanih razlika u fenotipskoj selekciji osobina životne istorije *A. obtectus* omogućene su računanjem standardizovanih selekcionih gradijenata za svaku osobinu unutar eksperimentalnog tretmana i to regresijom mere relativne adaptivne vrednosti na  $Z$  transformisane vrednosti osobina. Za potpunije razumevanje pravaca i obrazaca prirodne selekcije na osobine životne istorije neophodno je kvantifikovati kako standardizovane linearne ( $\beta$ ) tako i nelinearne ( $\gamma$ ) selekzione gradijente (Lande i Arnold 1983, Arnold i Wade 1984). Vrednosti standardizovanih linearnih selekcionih gradijenata ( $\beta$ ) su interpretirani kao direkciona selekcija, dok su pozitivne i negativne vrednosti nelinearnih selekcionih gradijenata ( $\gamma$ ) tumačeni kao stabilizaciona i disruptivna selekcija, respektivno. Prosek ukupnog fekunditeta je korišćen kao procena adaptivne vrednosti svake eksperimentalne grupe, dok je relativna adaptivna vrednost svake ženke izračunata deljenjem njenog ukupnog fekunditeta srednjom vrednošću ukupnog fekunditeta eksperimentalne grupe kojoj data ženka pripada. Vrednosti osobina životne istorije (dužina razvića, masa, dužina života i prvi dan polaganja jaja) su pre analize standardizovane  $Z$  transformacijom (srednja vrednost nula, standardna devijacija jedan, Sokal i Rohlf 2012). Statistička značajnost razlika linearnih i nelinearnih selekcionih gradijenata testirana je analizom kovarijanse preko statističke značajnosti interakcije  $Z$  transformisane analizirane osobine i eksperimentalnog tretmana, sa relativnom adaptivnom vrednošću eksperimentalne grupe kao zavisnom varijablom. Kada se vrednosti dve osobine životne istorije ( $x$  i  $y$  osa) i relativne adaptivne vrednosti ( $z$  osa) za svaku eksperimentalnu grupu predstave na istom grafiku, dobija se specifičan adaptivni pejzaž. Na ovaj način, omogućeno je poređenje istih kombinacija osobina između eksperimentalnih grupa što olakšava analizu specifičnih odnosa osobina u promenjenim uslovima životne sredine.



### 3.5.5 Analize reproduktivnog ponašanja žižaka

#### 3.5.5.1 Procena seksualne selekcije i prezigotske reproduktivne izolacije

Najbolji način za procenu seksualne selekcije za kvantitativne osobine je parametar  $W$  (engl. *cross-product estimator*) koji predstavlja direktnu procenu adaptivne vrednosti jednog fenotipa u odnosu na drugi u posmatranoj populaciji (Rolán-Alvarez i Caballero 2000 i ref. unutar). Za izračunavanje parametara seksualne izolacije najčešće se koriste parametri koji prate odnos homotipskih (između jedinki istog tipa) i heterotipskih ukrštanja (između jedinki različitog tipa) poput  $I_{PSI}$  parametra. Zbog toga što parametri seksualne selekcije ( $W$ ) i reproduktivne izolacije ( $I_{PSI}$ ) koriste različite skale prilikom njihovog računanja, njihovo direktno poređenje je onemogućeno, a dodatni problem je i nedostatak informacije koja se dobija proučenjem kombinacije parova posmatranih populacija. Zbog navedenih razloga, Rolan-Alvarez i Kabalero (Rolán-Alvarez i Caballero 2000) unapređuju model koji predlažu Hartl i Klark (Hartl i Clark 1989) po kome se efekti seksualne selekcije i seksualne izolacije mogu adekvatno porediti ukoliko se informacije o stepenu seksualne selekcije (engl. *Pair Sexual Selection – PSS*), reproduktivne izolacije (engl. *Pair Sexual Isolation – PSI*) i njihovog združenog efekta (engl. *Pair Total Index – PTI*) koriste prilikom izračunavanja za svaki par ukrštanja posebno.

#### 3.5.5.2 Opis modela reproduktivne izolacije

Ukoliko se pretpostavi da su  $A$  i  $B$  individue koje pripadaju različitim populacijama, pri čemu  $A$  i  $B$  predstavljaju broj mužjaka,  $A'$  i  $B'$  odgovarajući broj ženki, i da je  $aa$ ,  $ab$ ,  $ba$  i  $bb$  broj zabeleženih kopulacija između različitih tipova mužjaka i ženki, onda je moguće izračunati: ukupan broj uočenih kopulacija ( $t$ ), ukupan broj jedinki u datoj populaciji ( $T$ ) i ukupan broj očekivanih parova izračunatih iz učestalosti populacija ( $S$ ) (Tabela 3.5.5.2.1).

Tabela 3.5.5.2.1. Osnova modela za računanje prezigotske reproduktivne izolacije.  $t$  – ukupan broj uočenih kopulacija između različitih tipova mužjaka ( $A, B$ ) i ženki ( $A', B'$ ),  $T$  – ukupan broj jedinki u populaciji,  $S$  – ukupan broj očekivanih parova izračunatih iz učestalosti populacija. Prema Rolan-Alvarez i Kabalero (Rolán-Alvarez i Caballero 2000).

		ženke			
		$A'$	$B'$		
mužjaci	$A$	$aa$	$ab$	$aa + ab$	
	$B$	$ba$	$bb$	$ba + bb$	
		$aa + ba$	$ab + bb$	$t$	

$t = aa + ab + ba + bb$   
 $T = A + B + A' + B'$   
 $S = (AA') + (AB') + (BA') + (BB')$

Ukoliko se postavi nulta hipoteza da je ukrštanje između različitih tipova mužjaka i ženki nasumično, očekivani broj ukrštenih jedinki se može izračunati na dva načina (Tabela 3.5.5.2.2). Prvi način koristi parametar  $S$  i omogućava da se očekivani broj ukrštenih jedinki izračuna iz ukupnog broja parova. Drugi način omogućava da se očekivani broj ukrštenih jedinki izračuna na osnovu realizovanih kopulacija.

Tabela 3.5.5.2.2 Procene očekivanog broja ukrštanja koristeći ukupan broj jedinki ili na osnovu realizovanih kopulacija. Prema Rolan-Alvarez i Kabalero (Rolán-Alvarez i Caballero 2000).

Broj zabeleženih kopulacija		Očekivani broj ukrštanja koristeći ukupan broj jedinki		Očekivani broj ukrštanja na osnovu realizovanih kopulacija	
$aa$	$ab$	$\frac{AA'}{S}t$	$\frac{AB'}{S}t$	$\frac{(aa + ab)(aa + ba)}{t}$	$\frac{(aa + ab)(ab + bb)}{t}$
$ba$	$bb$	$\frac{BA'}{S}t$	$\frac{BB'}{S}t$	$\frac{(aa + ba)(ba + bb)}{t}$	$\frac{(ba + bb)(ab + bb)}{t}$

Indeks seksualne selekcije po parovima ( $PSS$ ) se izračunava deljenjem očekivanog broja ukrštanja na osnovu realizovanih kopulacija i očekivanog broja ukrštanja koja koriste ukupan broj jedinki (Tabela 3.5.5.2.3).

Tabela 3.5.5.2.3. Računjanje indeksa seksualne selekcije, izolacije i ukupnog indeksa po parovima. Prema Rolan-Alvarez i Kabalero (Rolán-Alvarez i Caballero 2000).

<b>Indeks seksualne selekcije po parovima (<i>PSS</i>)</b>	
$PSS_{aa} = \frac{(aa + ab)(aa + ba)S}{(AA')t^2}$	$PSS_{ab} = \frac{(aa + ab)(ab + bb)S}{(AB')t^2}$
$PSS_{ba} = \frac{(aa + ba)(ba + bb)S}{(BA')t^2}$	$PSS_{bb} = \frac{(ba + bb)(ab + bb)S}{(BB')t^2}$
<b>Indeks seksualne izolacije po parovima (<i>PSI</i>)</b>	
$PSI_{aa} = \frac{(aa)t}{(aa + ab)(aa + ba)}$	$PSI_{ab} = \frac{(ab)t}{(aa + ab)(ab + bb)}$
$PSI_{ba} = \frac{(ba)t}{(aa + ba)(ba + bb)}$	$PSI_{bb} = \frac{(bb)t}{(ba + bb)(ab + bb)}$
<b>Ukupan indeks po parovima (<i>PTI</i>)</b>	
$PTI_{aa} = \frac{(aa)S}{AA't}$	$PTI_{ab} = \frac{(ab)S}{AB't}$
$PTI_{ba} = \frac{(ba)S}{BA't}$	$PTI_{bb} = \frac{(bb)S}{BB't}$

Znajući da *PSS* u sebi sadrži dva načina procene očekivanih ukrštanja, kao i da oba parametra koriste pretpostavke potpuno nasumičnog ukrštanja između jedinki iz različitih grupa, *PSS* meri razlike u intenzitetu seksualne selekcije između kopulirajućih i nekopulirajućih jedinki i interpretira se u kontekstu ukupne sklonosti ka ukrštanju (engl. *mating propensity*). *PSI* parametar pokazuje stepen seksualne izolacije za svaku kombinaciju parova, a računa se deljenjem broja zabeleženih kopulacija i očekivanog broja ukrštanja na osnovu realizovanih kopulacija. *PSI* parametar služi za računanje  $I_{PSI}$  parametra (15) koji procenjuje stepen izolacije homotipskih ( $PSI_{jj}$ ) i heterotipskih ( $PSI_{ij}$ ) ukrštanja oslanjajući se prvenstveno na izbor partnera, a umanjujući efekat međupopulacione ukupne sklonosti ka ukrštanju.

$$(15) I_{PSI} = \frac{((n-1) \times \sum(PSI_{jj}) - \sum(PSI_{ij}))}{((n-1) \times \sum(PSI_{jj}) + \sum(PSI_{ij}))}$$

Vrednosti  $I_{PSI}$  parametra mogu varirati u opsegu od -1 do +1, pri čemu vrednost nula predstavlja potpuno odsustvo bilo kakve preferencije u ukrštanjima (potpuno nasumično ukrštanje), dok se vrednosti -1 i +1 interpretiraju u svetlu potpunog disasortativnog ukrštanja i potpune reproduktivne izolacije, respektivno.  $PTI$  objedinjuje parametre seksualne selekcije i seksualne izolacije ( $PTI = PSS \times PSI$ ) i računa se kao količnik broja zabeleženih kopulacija i očekivanog broja ukrštanja koja koriste ukupan broj jedinki.

Sva izračunavanja parametara seksualne selekcije i reproduktivne izolacije su dobijena korišćenjem JMating softverskog paketa, verzija 1.0.8 (Carvajal-Rodrigues i Rolan-Alvarez 2006). Prilikom testiranja efekta seksualne selekcije (tj. ukupne sklonosti ka ukrštanju) u ukupnom variranju reproduktivnog ponašanja između različitih tipova ukrštanja korišćen je G test i  $\chi^2$  raspodela. Određivanje standardne devijacije i verovatnoće parametara reproduktivne adaptivne vrednosti ( $W$ ) i  $I_{PSI}$  parametra omogućeno je bootstrap metodom ponovnog uzorkovanja sa 10000 iteracija.

#### *3.5.5.3 Grafičko prikazivanje i statistička obrada frekvencije ukrštanja i početka kopulacije*

Učestalost ukrštanja (engl. *copulation frequency*) predstavlja odnos realizovanih kopulacija i ukupnog broja posmatranih parova između dve eksperimentalne grupe. Početak kopulacije (engl. *copulation latency*) se definiše kao vreme koje protekne od kontakta ženke i mužjaka do početka kopulacije i moguć je samo kod već sparenih jedinki. Ova dva podatka na bitno drugačiji način opisuju reproduktivno ponašanje insekata. Naime, učestalost ukrštanja ukazuje na stepen sklonosti ka ukrštanju jedne grupe u odnosu na drugu i daje opštu sliku reproduktivne izolacije, dok s druge strane, početak kopulacije služi kao procena vremena koje protekne u sakupljanju informacija o partneru kod onih jedinki do kojih je došlo do kopulacije i pruža uvid u procese izbirljivosti partnera (Sullivan 1994, Ronald i sar. 2012). Koristeći eksperimentalni dizajn direktnih i recipročnih ukrštanja između populacija četiri eksperimentalne grupe – Pp, Pc, Cc i Cp (Slika 3.4.3.1, Eksperiment II, Materijal i metode), učestalost ukrštanja i početak kopulacije su grafički predstavljeni kao funkcija srednjih vrednosti svakog od četiri tipa ženki i mužjaka u odnosu na sve ostale tipove njihovih partnera. Zbog jasnijeg predstavljanja opštih trendova, svaka tačka na graficima je združena

vrednost učestalosti ukrštanja ili početka kopulacije između populacija istog tipa ukrštanja. Tako je recimo, srednja vrednost učestalosti ukrštanja između Pp ženki i Cc mužjaka dobijena nakon što su združene srednje vrednosti svih kombinacija populacija unutar ovog tipa ukrštanja ( $Pp_1 \times Cc_1$ ,  $Pp_1 \times Cc_2$ ,  $Pp_1 \times Cc_3$ ,  $Pp_1 \times Cc_4$ ,  $Pp_2 \times Cc_1$ ,  $Pp_2 \times Cc_2$ , ...,  $Pp_3 \times Cc_1$ , ...,  $Pp_4 \times Cc_1$ , ...  $Pp_4 \times Cc_4$ ). Prilikom testiranja susednih tačaka svake funkcije učestalosti ukrštanja korišćen je G test koji se zasniva na poređenju izračunatih G vrednosti i vrednosti sa kritičnom značajnošću iz  $\chi^2$  raspodele za  $(n - 1)$  broj stepeni slobode bez upotrebe Yatesove korekcije za dobijanje diskretnih brojeva u rezultatima. Susedne tačke svake od funkcija koje prikazuju dužinu kopulacije testirane su neparametarskim Mann-Whitney U testom. Za statističko testiranje promena funkcije učestalosti ukrštanja i početka kopulacije u zavisnosti od tipa ukrštanja korišćen je G test homogenosti (Sokal i Rohlf 2012).

### **3.5.6 Određivanje relativne količine kutikularnih ugljovodonika (CHC)**

Za svaki od 32 analizirana uzorka, relativna zastupljenost (kvantifikacija količine) kutikularnih ugljovodoničnih jedinjenja (CHC) je izračunata kao integral površine koju dato jedinjenje zauzima ispod krive na grafiku dobijenom GC-FID metodom (Slika 10). Pikovi čija je površina iznosila manje od 0,5 % od ukupne površine svih pikova su zanemareni jer predstavljaju eksperimentalni šum koji je uvek prisutan prilikom analiza ovakvog tipa (npr. segment između četvrtog i petog pika Slika 10).

### **3.5.7 Analiza indeksa plastičnosti**

Razumevanje značaja fenotipske plastičnosti u procesima adaptacije i evolucije taksona u izmenjenim uslovima životne sredine postaje sve veće, međutim, saglasnost oko kvantifikacije fenotipske plastičnosti, njihovog poređenja između različitih taksona i načina na koji prirodna selekcija oblikuje norme reakcije još uvek nije postignuta (Pigliucci 2001, Valladares i sar. 2006). Razlike fenotipskih vrednosti osobina istog genotipa u različitim sredinama opisane su indeksom fenotipske plastičnosti. Valladares i sar. (2006) porede čak 17 različitih načina kvantifikacije fenotipske plastičnosti. Najveći broj ovih indeksa oslanja se na apsolutnu vrednost stepena promene posmatrane osobine istog, ili maksimalno sličnog genotipa  $i$  (npr. klona kod biljaka, familija kod insekata) u različitim sredinama  $j$  i  $j'$  (16). Međutim, različiti indeksi fenotipske

plastičnosti koriste različite parametre prilikom procene fenotipske vrednosti osobine istog genotipa  $i$  u različitim sredinama  $j$  i  $j'$ . Tako, na primer,  $\bar{x}$  u zavisnosti od indeksa fenotipske plastičnosti može predstavljati srednju vrednost genotipa, njegovu medijanu, maksimalnu ili minimalnu vrednost, standardnu devijaciju itd. (Valladares i sar. 2006).

$$(16) PL_{ind} = |\bar{x}_{ij} - \bar{x}_{ij'}|$$

Prilikom analize fenotipske plastičnosti osobina životne istorije kod *A. obtectus* korišćena su dva indeksa fenotipske plastičnosti:  $PI_{mv}$  (engl. *Plasticity Index based on Mean Values*) i  $PI_{rd}$  (engl. *Plasticity Index based on Relative Distances*). Prvi korišćeni indeks,  $PI_{mv}$  (17), zasniva se na količniku apsolutne vrednosti razlika srednjih vrednosti osobine životne istorije genotipa  $i$  u različitim sredinama  $j$  i  $j'$ , i maksimalne fenotipske vrednosti genotipa  $i$  date osobine između posmatranih sredina  $j$  i  $j'$ ,  $\bar{x}_{imax(\bar{x}_{ij}, \bar{x}_{ij'})}$ .

$$(17) PI_{mv} = \frac{|\bar{x}_{ij} - \bar{x}_{ij'}|}{\bar{x}_{imax(\bar{x}_{ij}, \bar{x}_{ij'})}}$$

$PI_{mv}$  indeks predstavlja jedan od najčešće korišćenih parametara (Valladares i sar. 2000 a, b, Martínez-Ferri i sar. 2001) i daje grubu procenu stepena fenotipske plastičnosti posmatrane osobine.

Drugi indeks plastičnosti ( $PI_{rd}$ ) zasniva se na relativnim udaljenostima fenotipskih vrednosti genotipa  $i$  u različitim sredinama  $j$  i  $j'$  (18) (Valladares i sar. 2006).

$$(18) PI_{rd} = \frac{|\bar{x}_{ij} - \bar{x}_{ij'}|}{\bar{x}_{ij} + \bar{x}_{ij'}}$$

U zavisnosti od osobine životne istorije, stepen pozitivne korelacije između  $PI_{rd}$  i  $PI_{mv}$  je vrlo visok. Međutim, korišćenje  $PI_{rd}$  prilikom kvantifikacije fenotipske plastičnosti osobina životne istorije *A. obtectus* ima nekoliko prednosti. Prvo, omogućeno je formiranje nove promenljive koja opisuje relativne udaljenosti indeksa plastičnosti kod svih analiziranih genotipova. Drugo, ovako formirane vrednosti mogu se koristiti u statistički adekvatnom poređenju različitih eksperimentalnih grupa analizom varijanse. Konačno, ukoliko se zbir svih  $PI_{rd}$  standardizuje ukupnim brojem relativnih udaljenosti

( $n$ ) po datoj eksperimentalnoj grupi, dobijaju se  $RDPI$  vrednosti koje mogu poslužiti prilikom poređenja indeksa fenotipske plastičnosti između različitih vrsta (19).

$$(19) RDPI = \frac{\sum PI_{rd}}{n}$$

Ukupan broj relativnih distanci ( $n$ ) zavisi od broja sredina u kojima se genotipovi posmatraju. Ukoliko postoje samo dve sredine u kojima se prati određeni genotip, onda će se  $\sum PI_{rd}$  genotipova deliti ukupnim brojem analiziranih genotipova u okviru iste eksperimentalne grupe. Međutim, povećavanjem broja sredina u kojima se nalazi isti genotip, povećava se i ukupan broj relativnih udaljenosti po genotipu. Tako je, na primer, za tri sredine moguće izračunati dva  $RDPI$  po genotipu, za četiri sredine šest, za pet sredina deset, itd. U eksperimentalnoj postavci promena osobina životne istorije pasuljevog žiška, broj analiziranih sredina u kojima su se genotipovi (familije) posmatrali je iznosio dva (pasulj i naut). Samim tim je za svaku posmatranu osobinu životne istorije dobijen jedan  $RDPI$  broj po eksperimentalnoj grupi.

Prilikom računanja indeksa fenotipske plastičnosti, vrednosti osobina životne istorije nisu transformisane. Dobijene vrednosti  $PI_{rd}$  su analizirane dvofaktorskom analizom varijanse kako bi se uočio obrazac varijabilnosti indeksa plastičnosti između selekcionih režima, kratkoročnog tretmana promene domaćina i njihove međusobne interakcije (selekcioni režim  $\times$  tretman). Imajući u vidu da su promene osobina životne istorije posmatrane u dve sredine (pasulj i naut), grafičko prikazivanje promena vrednosti osobina životne istorije genotipova prikazano je linearnim normama reakcija.

### 3.5.7.1 Cena plastičnosti

Cena plastičnosti za svaku eksperimentalnu grupu testirana je parcijalnom regresijom (20):

$$(20) W = X + p l X$$

gde  $W$  predstavlja relativnu adaptivnu vrednost,  $X$  je vrednost osobine životne istorije u datoj životnoj sredini, dok je  $p l X$  parametar plastičnosti izražen kao apsolutna razlika srednjih vrednosti date osobine (prema Scheiner i Berrigan 1998). Ukoliko statistički značajan parcijalni koeficijent regresije na plastičnost osobine ima negativan znak, interpretacija ovakvog rezultata je usmerena prema postojanju cene plastičnosti za datu osobinu (Berrigan i Scheiner 2004). S druge strane, statistička značajnost pozitivnog parcijalnog koeficijenta regresije na plastičnost osobine ukazuje na cenu homeostaze.

Vrednosti osobina i njihovih plastičnosti su  $Z$  transformisani, a razlike regresionih koeficijenata između eksperimentalnih grupa su testirane preko statističke značajnosti interakcije tretmana i osobine, odnosno interakcije tretmana i plastičnosti osobine analizom kovarijanse. Adaptivne vrednosti eksperimentalnih grupa predstavljaju proseke relativnih adaptivnih vrednosti analiziranih familija, a relativna adaptivna vrednost svake familije je izračunata deljenjem adaptivne vrednosti (vijabilitet  $\times$  1/dužina razvića  $\times$  masa  $\times$  ukupni fekunditet) srednjom vrednošću adaptivne vrednosti eksperimentalne grupe.



## 4. REZULTATI

*„To develop is to interact with the environment. To evolve is to alter these interactions in a heritable manner.“ Moczek 2015, p. 3.*

*„Razviti se znači interagovati sa sredinom. Evoluirati znači izmeniti te interakcije i naslediti ih. Mozek 2015, str. 3.*

---

### 4.1 Preadultne osobine životne istorije

Podaci dobijeni iz eksperimenta I<sub>A</sub> (Videti odeljak 3.4.1, Materijal i metode) korišćeni su prilikom analize preadultnih osobina životne istorije *Acanthoscelides obtectus*. Minimalna zabeležena vrednost preadultnog vijabiliteta analiziranih replika je iznosila 8,70 %, dok je maksimalna vrednost iznosila 100%. Prosečne vrednosti populacija četiri eksperimentalne grupe (Pp, Pc, Cc i Cp, Tabela 1) se nalaze u opsegu od 18,95 % do 87,59 % i ukazuju na razlike između selekcionih režima nakon višegeneracijske promene biljke domaćina, kao i plastičnih odgovora uzrokovanih kratkoročnom promenom biljke domaćina tokom samo jedne generacije. Analiza koeficijentata variranja ukazuje na veći stepen variranja preadultnog vijabiliteta jedinki unutar Pp eksperimentalne grupe (28,74 %) u poređenju sa jedinkama koje pripadaju Cc eksperimentalnoj grupi (13,73 %). Kada se vrednosti populacija združe (puliraju), dobijaju se vrednosti preadultnog vijabiliteta za svaku od četiri eksperimentalne grupe (Tabela 2, Slika 1A). Ovakvo predstavljene vrednosti preadultnog vijabiliteta otkrivaju obrazac po kom su srednje vrednosti Pp, Pc i Cc eksperimentalnih grupa međusobno slične i nalaze se između 74,29 % i 82,07 %. Međutim, pad prosečne vrednosti preadultnog vijabiliteta na 35,53 % upečatljiv je i karakterističan za jedinke koje vode poreklo sa C selekcionog režima, a larveno razviće završavaju na pasulju (Cp eksperimentalna grupa). Imajući u vidu da je isti trend uočen i kod jedinki koje su više od 230 generacija bile selekcionisane na nautu (sa 67,97 % kod Cc grupe, na 17,71 % kod Cp grupe, Tabela 2), rezultati preadultnog vijabiliteta dobijeni nakon 46 generacija selekcije ukazuju na ponovljivost trendova nakon višedecenijske selekcije na izmenjenim biljkama domaćinima. Mešanim modelom analize varijanse (Tabela 3) uočene su statistički značajne razlike između selekcionih režima ( $F_{1, 12.103} = 7,18$ ;  $P = 0,0199$ ), tretmana – kratkoročni efekti biljke domaćina na kom se završilo larveno razviće ( $F_{1, 12.103} = 17,87$ ;  $P = 0,0012$ ) i interakcije selekcionog režima i tretmana ( $F_{1,$

$12.103 = 19,32$ ;  $P = 0,0009$ ). Zbog značajnog efekta interakcije, urađena je dodatna analiza varijanse u okviru svakog selekcionog režima, a ovako urađena analiza potvrđuje uočen obrazac (Tabela 2, Slika 1A) i ukazuje na različite načine reagovanja selekcionih režima nakon razvića na alternativnom domaćinu. Naime, jedinke koje vode poreklo sa P selekcionog režima ne menjaju bitno vrednosti preadultnog vijabiliteta kada se razvijaju na alternativnom domaćinu – nautu ( $F_{1, 6.0465} = 0,01$ ;  $P = 0,9120$ ). S druge strane, nakon razvića na pasulju, jedinke C selekcionog režima postaju veoma osetljive na promenu domaćina i drastično smanjuju vrednosti preadultnog vijabiliteta što doprinosi statistički značajnim razlikama između Cc i Cp eksperimentalne grupe ( $F_{1, 6.039} = 39,33$ ;  $P = 0,0008$ ). Ovakav rezultat ukazuje da višegeneracijska selekcija na nautu vodi ka visokom stepenu specijalizacije žižaka tokom larvenog razvića. Takođe, interesanto je i da nakon 46 generacija selekcije ne postoje statistički značajne razlike preadultnog vijabiliteta između dva selekciona režima, tj. između Pp i Cc eksperimentalne grupe (Pp vs. Cc poređenje) iako je ova razlika uočljiva nakon više od 230 generacija selekcije (Pp vs. Cc poređenje, Tukey post-hoc test,  $P < 0,05$ ) kada jedinke C selekcionog režima pokazuju nešto niže srednje vrednosti preadultnog vijabiliteta (67,97 %) u odnosu na jedinke koje vode poreklo sa P selekcionog režima (86,25 %).

Dužina razvića kod *A. obtectus* predstavlja vreme koje protekne od polaganja jaja do izleganja adulta i izražava se u danima. Kako ova osobina životne istorije varira u zavisnosti od temperature na kojoj se insekti gaje, svi eksperimenti su izvođeni pod konstantnom temperaturom od  $30^{\circ}\text{C} \pm 1^{\circ}\text{C}$  čime je maksimalno umanjen efekat koji promena temperature može imati na datu osobinu. Jedna od upečatljivih karakteristika pasuljevog žižka je i protandrija, odnosno brže razviće mužjaka u odnosu na ženke. Eksperimenti izvedeni na selekcionim režimima nakon 46 generacija selekcije na pasulju i nautu potvrđuju ovu pravilnost. Protandrija se jasno uočava ukoliko se uporede srednje vrednosti dužine razvića ženki i mužjaka u okviru iste populacije kod određene eksperimentalne grupe (Tabela 4). Isti obrazac je zabeležen i nakon više od 230 generacija selekcije (Tabela 5). Mešanim modelom analize varijanse, koji je kao izvor variranja uključivao i efekat pola, detektovana je statistička značajnost između ženki i mužjaka ( $F_{1, 9548} = 21,49$ ;  $P < 0,0001$ ). Imajući ovo u vidu, kao i jasne biološke razlike između polova, mešani model analize varijanse promene dužine razvića analiziran za

svaki pol posebno (Tabele 6 i 7). Rezultati ovako urađenih analiza ukazuju na značajan efekat koji biljka domaćin ima u ukupnom variranju srednjih vrednosti dužine razvića – efekat tretmana, kako kod ženki ( $F_{1, 13.04} = 14,41$ ;  $P = 0,0022$ , Tabela 6), tako i kod mužjaka ( $F_{1, 12.673} = 9,69$ ;  $P = 0,0085$ , Tabela 7). Na ovaj način se ističe da, nezavisno od evolucione istorije eksperimentalne grupe, ženke i mužjaci imaju produženo larveno razviće na nautu. Dodatno, razlike srednjih vrednosti dužine razvića veoma su upečatljive kada se porede Pp i Cc eksperimentalne grupe (Tabela 5, Slika 1B, 1C), odnosno eksperimentalne grupe koje su veći broj generacija bile izložene pasulju i nautu (32,79 dana kod Pp ženki nasuprot 34,46 dana kod Cc ženki i 31,88 dana kod Pp mužjaka nasuprot 33,71 dana kod Cc mužjaka). Razlike između selekcionih režima su i statistički potvrđene mešanim modelom analize varijanse ( $F_{1, 13.04} = 11,50$ ;  $P < 0,0001$  kod ženki i  $F_{1, 12.673} = 11,58$ ;  $P < 0,0001$  kod mužjaka, Tabele 6 i 7). Interesantno je da pomenute analize otkrivaju i polno vezane specifičnosti u načinu interakcije selekcionog režima i tretmana. Tako ženke koje vode poreklo sa P selekcionog režima intenzivnije reaguju na kratkoročnu promenu domaćina u odnosu na ženke koje vode poreklo sa C selekcionog režima (interakcija selekcionog režima i tretmana,  $F_{1, 13.04} = 5,56$ ;  $P = 0,0347$ , Tabela 6). Pomenuta interakcija odsustvuje kod mužjaka ( $F_{1, 12.673} = 2,10$ ;  $P = 0,1718$ , Tabela 7).

Masa tela predstavlja važnu komponentu adaptivne vrednosti i često se nalazi u pozitivnoj korelaciji sa reproduktivnim uspehom. Ovaj obrazac je posebno izražen kod ženki, kada su krupnije ženke najčešće i fekundnije. Znajući da *A. obtectus* u uslovima laboratorijske evolucije koristi samo resurse koje usvoji tokom larvenog razvića, masa tela je interpretirana kao preadultna osobina. Jedinke su merene najviše osam sati nakon izleganja, pa je smanjenje telesne mase kroz gubitak vode i trošenje zaliha svedeno na najmanju moguću meru. Kao i u slučaju dužine razvića, mešani model analize varijanse je pokazao statistički značajne razlike u masi tela između polova ( $F_{1, 12.02} = 3880,48$ ;  $P < 0,0001$ ). Kako je veća masa ženki jedna od karakteristika polnog dimorfizma vrste, razlike srednjih vrednosti testirane su mešanim modelom analize varijanse za svaki pol odvojeno (Tabele 10 i 11). Analize ove osobine životne istorije ukazuju da, uprkos postojanju opšteg trenda da se unutar selekcionog režima masa uvećava nakon razvića na nautu (Tabele 8 i 9, Slika 1D, 1E), identitet biljke tokom larvenog razvića ne doprinosi ukupnom variranju mase tela ( $F_{1, 12.034} = 2,93$ ;  $P = 0,1127$  kod ženki i  $F_{1, 12.043}$

= 2,21;  $P = 0,1629$  kod mužjaka). Jedine statistički značajne razlike su zabeležene između selekcionih režima ( $F_{1, 12,034} = 11,07$ ;  $P = 0,0060$  kod ženki i  $F_{1, 12,043} = 13,89$ ;  $P = 0,0029$  kod mužjaka). Ovakve vrednosti ukazuju na jasno diferenciranje populacija koje su evoluirale pod različitim selekcionim režimima i povećanje prosečne vrednosti mase tela ženki i mužjaka u okviru C selekcionog režima. Interesanto je da, iako postoji opšti trend povećanja mase uz produženo razviće kod jedinki koje vode poreklo sa C selekcionog režima, obrazac Pearson korelacija između mase tela i dužine razvića ostaje negativan, a vrednosti koeficijenta korelacije se nalaze u opsegu od  $r = -0,24$  do  $r = -0,17$  sa značajnošću od  $P < 0,0001$  kod svih eksperimentalnih grupa.

Poređenjem svih analiziranih preadultnih osobina životne istorije u uslovima eksperimentalno izazvane promene domaćina (Slika 1) uočavaju se jasne razlike između populacija koje su tokom većeg broja generacija selektovane na pasulju i nautu. Tako populacije selektovane na pasulju ne pokazuju razlike u preadultnom vijabilitetu bez obzira na to da li su larveno razviće završili na svom ustaljenom (pasulju) ili alternativnom domaćinu (nautu). Međutim, produženo razviće i trend uvećanja mase nakon razvića na nautu ukazuju na sposobnost P populacija da na plastičan način prilagode svoje razvojne putanje i na adekvatan način odgovore na nove sredinske uslove. S druge strane, populacije selektovane na nautu pokazuju izražen stepen specijalizacije, tj. smanjeni plastični odgovor dužine preadultnog razvića i mase adulta. Takođe, izražen pad preadultnog vijabiliteta nakon razvića na pasulju ujedno predstavlja i najupečatljiviji primer kako kratkoročni efekat promene biljke domaćina utiču na promenu preadultnih osobina životne istorije.

## **4.2 Adultne osobine životne istorije**

### **4.2.1 Uticaj biljke domaćina na fekunditet ženki**

U uslovima eksperimentalno izazvane promene domaćina, važne komponente u analizi promena adultnih osobina životne istorije su distribucija i broj položenih jaja tokom života ženki, kao i preferencija polaganja jaja na određenom supstratu. Ukoliko se pretpostavi da raspored polaganja jaja i ponašanje ženki mogu varirati u zavisnosti od toga da li je ženkama omogućeno da biraju biljku domaćina ili ne, ispravna interpretacija rezultata ovih komponenti adaptivne vrednosti populacija *Acanthoscelides*

*obtectus* zahteva dva različita eksperimentalna dizajna. Prvi eksperimentalni pristup omogućava analizu distribucije i broja položenih jaja u uslovima bez mogućnosti izbora biljke domaćina prilikom ovipozicije (Eksperiment I<sub>A</sub>, Videti odeljak 3.4.1, Materijal i metode). Drugi eksperimentalni pristup ženka pruža mogućnost izbora biljke domaćina tokom polaganja jaja čime je omogućena kvantifikacija nivoa preferencije prema određenoj biljci domaćinu (Eksperiment I<sub>B</sub>, Videti odeljak 3.4.2, Materijal i metode). Kombinovanjem ova dva eksperimentalna pristupa, pored opisivanja varijabilnosti reproduktivnog ulaganja ženki koje su veći broj generacija selektovane na različitim biljkama domaćinima, omogućeno je i uočavanje kratkoročnih efekata razvića na alternativnom domaćinu.

Prilikom analize distribucije položenih jaja tokom života ženki u uslovima bez mogućnosti izbora biljke domaćina (Eksperiment I<sub>A</sub>), prvi dan polaganja jaja (engl. *first day*) i dan kada je položeno najviše jaja (engl. *fecundity peak*) predstavljaju osobine koje mogu ukazati na evoluciju različitih strategija ulaganja u reprodukciju. Srednje vrednosti prvog dana polaganja jaja (Tabele 12 i 13, Slika 2A) ukazuju na činjenicu da, nezavisno od eksperimentalne grupe, ženke *A. obtectus* uvek počinju ranije da polažu jaja ukoliko je ponuđeni supstrat pasulj. Međutim, jasno diferenciranje populacija koje su evoluirale pod različitim selekcionim režimima (značajan efekat selekcionog režima u Tabeli 14) ukazuje na različite selekzione pritiske kada je u pitanju ova osobina životne istorije. Ova razlika se najbolje uočava kada se porede srednje vrednosti Pp i Cc eksperimentalne grupe u uslovima kada im je omogućeno da polažu jaja na ustaljenom ili alternativnom supstratu, odnosno Pp\_P vs. Pp\_C poređenje, nasuprot Cc\_C vs. Cc\_P poređenju. Tako ženke Pp\_P eksperimentalne grupe, u proseku, počinju da polažu jaja 1,56 dana nakon izleganja, dok su srednje vrednosti početka polaganja jaja ženki Pp\_C grupe znatno više i u proseku iznose 4,84 dana (Tukey post-hoc test,  $P < 0,05$ ). Iako statistički značajne, razlike srednjih vrednosti početka polaganja jaja kod ženki Cc\_C i Cc\_P grupa su manje i iznose 1,94 dana i 1,25 dana, respektivno (Tukey post-hoc test,  $P < 0,05$ ). Izloženi rezultati jasno ukazuju da ženke P selekcionog režima imaju sposobnost plastičnog odgovora i u stanju su da odlože početak polaganja jaja kada je naut ponuđena biljka domaćin, dok s druge strane, ženke C selekcionog režima imaju smanjeni plastični odgovor i veoma rano počinju sa polaganjem jaja nezvezano od ponuđene biljke. Zanimljivo je da kratkoročno razviće na alternativnom supstratu

jedinki sa P selekcionog režima (Pc eksperimentalna grupa) ne menja obrazac koji je uočen kod Pp eksperimentalne grupe. Međutim, kod Pc eksperimentalne grupe primećeno je smanjenje razlike srednjih vrednosti prvog dana polaganja kada su pasulj ili naut ponuđene biljke domaćini (1,35 dana kod Pc\_P ženki i 3,11 dana kod Pc\_C ženki). Druga osobina koja opisuje vremenski raspored polaganja jaja ukazuje na dan kada je broj položenih jaja maksimalan (engl. *fecundity peak*). Obrasci srednjih vrednosti (Tabele 15 i 16) kao i rezultati mešanog modela analize varijanse (Tabela 17), podudarni su rezultatima dobijenim za prvi dan fekunditeta. Tako se, uočava da ženke Pp eksperimentalne grupe odlažu dan u kome se dostiže maksimalna vrednost broja položenih jaja ukoliko je naut ponuđeni supstrat (sa 2,71 dana kod Pp\_P gupe, na 6,12 dana kod Pp\_C grupe). Kao i u slučaju prvog dana polaganja jaja, razlike srednjih vrednosti dana kada je položeno najviše jaja kod Cc\_C i Cc\_P grupa su manje i iznose 2,50 i 2,96 dana, respektivno.

Srednje vrednosti ukupnog broja položenih jaja tokom života ženki (Tabele 18 i 19, Slika 2B) u mešanom modelu analize varijanse (Tabela 20) pokazuju specifične odgovore u odnosu na selekcionu režim, kratkoročni efekat alternativnog domaćina tokom razvića, biljku koja je ponuđena prilikom ovipozicije i interakciju selekcionog režima i ponuđenog domaćina. Prvo zapažanje, koje se uočava iz srednjih vrednosti ukupnog broja položenih jaja, ukazuje na činjenicu da ženke uvek povećavaju ukupan broj položenih jaja kada je pasulj ponuđeni domaćin. Nepostojanje statističke značajnosti interakcije selekcionog režima i tretmana ( $F_{1, 12.231} = 0,30$ ;  $P = 0,5926$ , Tabela 20) na vrlo jasan način potvrđuje takav obrazac. Dodatno, kada se polaganje jaja odvija u prisustvu biljke domaćina koja je karakteristična za dati selekcionu režim, ženke Pp i Cc eksperimentalnih grupa imaju veoma slične srednje vrednosti ukupnog broja položenih jaja. Tako ženke Pp\_P grupe u proseku polože 45,71 jaja, dok jedinke Cc\_C grupe polože 44,47 jaja (Tukey post-hoc test,  $P > 0,05$ ) što upućuje na zaključak da je višegeneracijska izloženost nautu ženkama omogućila visok spepen prilagođenosti na nekada nepovoljnom domaćinu. Međutim, u uslovima kada je ponuđen alternativni supstat tokom ovipozicije, pomenute eksperimentalne grupe na upečatljivo drugačije načine menjaju vrednosti ukupnog broja položenih jaja. Tako ženke Pp eksperimentalne grupe smanjuju ukupni fekunditet za blizu 40 % kada je naut supstrat koji je ponuđen prilikom ovipozicije (sa 45,71 jaja, kada je pasulj ponuđeni domaćin, na 27,91 jaja, kada

je naut ponuđeni domaćin – Pp\_C eksperimentalna grupa). Suprotno tome, kada ženke Cc eksperimentalne grupe polažu jaja na pasulju, prosečan broj položenih jaja raste za oko 20 % (prosečne srednje vrednosti ukupnog broja položenih jaja Cc\_C i Cc\_P eksperimentalnih grupa iznose 44,47 i 54,66, respektivno).

Grafičko predstavljanje dinamike broja položenih jaja tokom života ženki (engl. *fecundity schedule*, Slika 3) na najbolji način prikazuje različite strategije koje ženke imaju u uslovima kada izbor između ustaljene i alternativne biljke domaćina nije moguć. Tako ženke koje pripadaju Pp\_P i Pp\_C eksperimentalnim grupama pokazuju vrlo jasne razlike u dinamici polaganja jaja. Naime, ženke Pp eksperimentalne grupe kojima je ponuđen pasulj, najveći broj jaja polože u prvih nekoliko dana života, značajno redukujući broj jaja koje polože u kasnijim fazama života. S druge strane, analize distribucije i broja položenih jaja ženki Pp\_C eksperimentalne grupe ukazuju na trend odlaganja početka ovipozicije, kasnije dostizanje dana kada se polaže najveći broj jaja, redukciju ukupnog broja položenih jaja (Tabele 13, 16 i 19, Slika 2A, 2B) i produženje života (videti kasnije). Imajući ovo u vidu, nije bilo neočekivano da i dinamika broja položenih jaja tokom života ženki Pp\_C eksperimentalne grupe bude izmenjena i to uz prilično ujednačen broj jaja koji se polažu tokom života. Razlike u dinamici broja položenih jaja tokom života ženki Cc\_C i Cc\_P eksperimentalnih grupa su manje i govore u prilog činjenici da ženke koje su veći broj generacija selektovane na nautu imaju umanjenu sposobnost da prave razliku između ustaljene (naut) i alternativne (pasulj) biljke domaćina.

Eksperimentalnim dizajnom sa mogućnošću izbora biljke domaćina tokom polaganja jaja (eksperiment I<sub>B</sub>), moguće je kvantifikovati preferenciju ženki prema određenoj biljci (Indeks preferencije tokom ovipozicije – *IPO*, videti odeljak 3.5.2, Materijal i metode). Na ovaj način se dobijaju dodatne informacije koje potpunije opisuju varijabilnost reproduktivnog ulaganja u zavisnosti od spoljašnjih stimulusa i olakšavaju interpretaciju rezultata vezanih za ponašanje ženki prilikom eksperimentalno izazvane promene domaćina. Imajući u vidu da vrednosti *IPO* od -1 ukazuju na potpunu preferenciju polaganja jaja na pasulju, srednje vrednosti *IPO* kod Pp eksperimentalne grupe iznose -0,71 i ukazuju da ženke selektovane na pasulju imaju sposobnost da u najvećem broju slučajeva izaberu pasulj kao biljku na kojoj će polagati najviše jaja

(Tabela 21). Kratkoročni efekat razvića na alternativnom domaćinu (Pc eksperimentalna grupa) statistički značajno smanjuje preferenciju ka pasulju (Mann-Whitney  $U = 16590$ ,  $P = 0,013$ , Tabela 22), a srednja vrednost *IPO* ove eksperimentalne grupe iznosi  $-0,51$ . Nakon dugoročne selekcije na nautu (Cc eksperimentalna grupa), vrednosti *IPO* od  $-0,29$  ukazuju da ženke smanjuju diskriminativnost, odnosno sve više gube sposobnost aktivnog biranja pasulja kao biljke domaćina na kojoj će polagati jaja. Takođe, *IPO* vrednosti se statistički značajno menjaju nakon kratkoročnog razvića na pasulju (Cp eksperimentalna grupa) povećavajući preferenciju polaganja na pasulju  $IPO = -0,39$  (Mann-Whitney  $U = 25410$ ;  $P = 0,0009$ , Tabela 22). Ukoliko se vrednosti *IPO* svrstaju u pet klasa, pri čemu je svaka klasa predstavljena sa po  $0,4$  *IPO* jedinice, svaka eksperimentalna grupa pokazuje specifičan odnos procentualne zastupljenosti *IPO* klasa (Slika 4). Ovako predstavljene vrednosti *IPO* pružaju dodatne informacije o razlikama eksperimentalnih grupa kada je u pitanju preferencija polaganja jaja prema određenoj biljci domaćinu. Tako Pp i Cc eksperimentalne grupe pokazuju vrlo jasne razlike u procentualnim zastupljenostima *IPO* klase koja se nalazi u opsegu od  $0,6$  do  $1$ , tj. klase koja predstavlja jedinice sa najvišom preferencijom polaganja jaja na nautu (Slika 4A, 4C). Naime, od 194 analiziranih ženki Pp eksperimentalne grupe, samo  $3\%$  ženki je svrstano u klasu čiji se *IPO* nalazi u opsegu od  $0,6$  do  $1$ . Kada su u pitanju ženke koje su veći broj generacija selektovane na nautu (Cc eksperimentalna grupa), procenat ženki koje su svrstane u istu klasu *IPO* bio je blizu šest puta veći i iznosi  $17\%$ . Takođe, Pp i Cc eksperimentalne grupe pokazuju velike razlike vezane za preferenciju prema pasulju (vrednosti *IPO* u opsegu od  $-1$  do  $-0,6$ ). Tako je  $78\%$  ženki Pp grupe svrstano u ovu klasu i  $38\%$  ženki iz Cc eksperimentalne grupe. Upečatljive razlike selekcionih režima se uočavaju i kada se uporede združene vrednosti *IPO* klasa (vrednosti *IPO* u opsegu od  $-0,6$  do  $0,6$ ), odnosno one vrednosti koje se interpretiraju kao smanjena sposobnost biranja biljke na kojoj će se polagati jaja. Analizom ovih *IPO* klasa uočava se značajna razlika Pp i Cc eksperimentalne grupe i potvrđuje se obrazac u kome su Cc ženke te koje na manje diskriminativan način biraju biljku domaćina prilikom ovipozicije ( $45\%$  kod Cc eksperimentalne grupe, nasuprot  $19\%$  kod Pp eksperimentalne grupe). Kratkoročni efekti razvića na alternativnom domaćinu (Pc eksperimentalna grupa) pokazuju umanjenu preferenciju prema pasulju. Ovo se najbolje uočava kada se poredi procentualna zastupljenost *IPO* vrednosti u opsegu od  $-1$  do  $-0,6$  (preferencija prema



pasulju) koja kod Pp eksperimentalne grupe iznosi 78 %, dok je 62 % ženki Pc eksperimentalne grupe svrstano u istu IPO klasu (Slika 4A, 4B). Ženke Cp eksperimentalne grupe smanjuju preferenciju polaganja jaja na nautu sa 17 % na 13 % uz istovremeno povećavanje preferencije ka pasulju sa 38 % na 50 % (Slika 4C, 4D). Ovi rezultati su veoma značajni jer ukazuju na značaj plastičnog odgovora osobina vezanih za reproduktivno ulaganje i njihov potencijal u adaptivnom odgovoru u izmenjenim životnim sredinama.

#### 4.2.2 Uticaj biljke domaćina na dužinu života

Kada je u pitanju dužina života jedinki *A. obtectus* koje su veći broj generacija selektovane na različitim domaćinima, centralne tendencije otkrivaju nekoliko specifičnosti (Tabele 23 i 24). Ženke Pp i Pc eksperimentalnih grupa u proseku žive tri dana duže kada je naut ponuđena biljka domaćin tokom polaganja jaja (10,03 dana kod Pp\_P grupe i 13,05 dana kod Pp\_C grupe; 10,26 dana kod Pc\_P grupe i 13,11 dana kod Pc\_C grupe, Tabela 24). Drugim rečima, nevezano od kratkoročnog efekata alternativnog domaćina tokom razvića, ženke P selekcionog režima na isti način menjaju dužinu života u odnosu na biljku domaćina koja je ponuđena za ovipoziciju (Tretman × Ponuđeni domaćin interakcija  $F_{1, 1359} = 0,86$ ;  $P = 0,3527$ , Tabela 25). S druge strane, efekat koji ponuđeni domaćin ima u ukupnom variranju srednjih vrednosti dužine života ženki veoma je izražen ( $F_{1, 1359} = 296,31$ ;  $P < 0,0001$ , Tabela 25). Iako ženke Cp eksperimentalne grupe žive duže kada je naut ponuđena biljka tokom ovipozicije, čime zadržavaju obrazac uočen kod ženki Pp i Pc eksperimentalnih grupa, razlika srednjih vrednosti je upečatljivo manja (9,92 dana kod Cp\_P i 11,14 dana kod Cp\_C). Međutim, ženke Cc eksperimentalne grupe pokazuju suprotan trend i imaju produženu dužinu života kada je pasulj supstrat na kome je omogućeno polaganje jaja (10,44 dana kod Cc\_C grupe i 11,38 dana kod Cc\_P grupe). Zanimljivo je da uprkos produženom životu, najveći broj jaja polažu upravo ženke Cc\_P eksperimentalne grupe (54,66 jaja, Tabela 19). Statistički značajna interakcija selekcionog režima i ponuđenog domaćina u mešanom modelu analize varijanse ( $F_{1, 1359} = 63,42$ ;  $P < 0,0001$ , Tabela 25) potvrđuje da ženke koje vode poreklo sa P i C selekcionih režima na bitno drugačije načine menjaju dužinu života kada se nađu u uslovima sa alternativnom biljkom domaćinom za ovipoziciju. Razlike u dužini života su znatno manje izražene

kod mužjaka (Tabela 24) sa statistički značajnim razlikama između selekcionih režima ( $F_{1, 12.083} = 7,88$ ;  $P = 0,0157$ ) uz zadržavanje trenda da se dužina života produžava kod jedinki koje vode poreklo sa C selekcionog režima (Slika 2D).

Jedan od osnovnih zadataka teorije životnih istorija jeste proučavanje načina na koje su međusobni odnosi osobina životne istorije oblikovani. U kontekstu eksperimentalno izazvane promene domaćina, izuzetno je zanimljivo analizirati kako uzajamna ograničenja osobina životne istorije utiču na promenu životnih strategija populacija *A. obtectus*. Jedan od najboljih primera koji ukazuju na odnos ulaganja u reprodukciju nasuprot somatskog održavanja je i odnos ukupnog broja položenih jaja i dužine života ženki. Eksperimentalna postavka bez mogućnosti izbora biljke domaćina prilikom ovipozicije omogućava istovremeno posmatranje dužine života i reproduktivnog ulaganja ženki, a Pearsonovi koeficijenti korelacija omogućavaju analizu pomenutih uzajamnih ograničenja. Analizirani podaci pokazuju bitno drugačiji odgovor jedinki selektovanih na pasulju (P selekcionni režim) u odnosu na jedinke selektovane na nautu (C selekcionni režim). Tako jedinke Pp\_C eksperimentalne grupe imaju produženu dužinu života i smanjeni ukupan broj položenih jaja ( $r = -0,42$ ,  $P < 0,0001$ ,  $n = 168$ ), što evolucija životnih strategija i predviđa. S druge strane, veoma je zanimljivo da ženke Cc\_P eksperimentalne grupe odstupaju od očekivanih negativnih korelacija i imaju produženu dužinu života uprkos najvišim vrednostima ukupnog fekunditeta (Tabele 19 i 24). Narušavanje očekivano negativnih korelacija ove dve osobine životne istorije, ukazuje na izmenjene načine ragovanja selekcionih režima tokom procesa prilagođavanja na nove biljke domaćine.

U uslovima eksperimentalno izazvane promene domaćina, analiza adultnih osobina životne istorije ukazuje na specifičnosti selekcionih režima. Kao i u slučaju preadultnih osobina životne istorije, populacije selektovane na pasulju pokazuju veći stepen plastičnog odgovora u poređenju sa populacijama koje su veći broj generacija bile izložene nautu. Tako na primer, ženke P selekcionog režima u situacijama kada je naut jedini ponuđeni domaćin prilikom polaganja jaja, u značajnoj meri odlažu dan kada počinje polaganje jaja i dan kada se dostiže maksimalni broj položenih jaja uz istovremeno smanjenje ukupnog broja položenih jaja i dužeg života. Dodatno, rezultati dobijeni analizom indeksa preferencije tokom ovipozicije (IPO) ukazuju da

višegeneracijska izloženost pasulju povećava izbirljivost prilikom polaganja jaja. Nasuprot tome, C ženke imaju umanjenu sposobnost da na plastičan način odgovore na promjenjene uslove, gube sposobnost biranja biljke domaćina prilikom polaganja jaja, dinamika polaganja jaja je ujednačena tokom života, a ukupan broj položenih jaja je uvećan. Analiza osobina životne istorije, kako na preadultnom, tako i na adultnom nivou ukazuje da populacije selektovane na pasulju i nautu tokom većeg broja generacija ispoljavaju potpuno različite strategije kao odgovor na promjenjene uslove života.

### ***4.3 Populaciono-ekološki parametri***

Analiza populacionog odgovora tokom procesa adaptacija na nove uslove životne sredine uključuje veliki broj osobina životne istorije. Znajući da vrednosti različitih kombinacija osobina životne istorije direktno utiču na promenu populaciono-ekoloških parametara (Videti odeljak 3.5.3, Materijal i metode), njihovom analizom dobija se sveobuhvatna slika promene životnih strategija, olakšava se uočavanje potencijalnih nepodudarnosti promena adultnih i preadultnih osobina životne istorije i, što je najvažnije, opisuje se populaciona dinamika tokom procesa adaptacija na nove biljke domaćine. Podaci korišćeni za računanje populaciono-ekoloških parametara dobijeni su iz Eksperimenta I<sub>A</sub>.

Srednje vrednosti populaciono-ekoloških parametara i procene dobijene Jackknife iterativnim metodom (Tabela 26) ukazuju da eksperimentalne grupe na drugačije načine reaguju kada se nađu u uslovima eksperimentalno izazvane promene biljke domaćina. Ove razlike u vrednostima između eksperimentalnih grupa su i potvrđene Studentovim *t* testom (Tabela 27). Na ovom mestu je važno ponovo istaći da eksperimentalne grupe (Pp\_P, Pp\_C, Pc\_C i Cc\_C) simuliraju postepeni prelazak populacija pasuljevog žiška sa optimalne, na suboptimalnu biljku domaćina, odnosno, sa pasulja na naut. S druge strane, Cc\_P, i Cp\_P eksperimentalne grupe predstavljaju postepeno vraćanje populacija sa nauta na pasulj (Videti odeljak 3.4.1, Materijal i metode). Korišćenjem pomenutih eksperimentalnih grupa omogućena je analiza populacionih odgovora u uslovima eksperimentalno izazvane promene biljke domaćina. Najilustrativniji primer fluktuacije populacionih parametara između eksperimentalnih grupa koje se nalaze u različitim fazama prelaska na nove biljke domaćine predstavlja

analiza intrinzičke stope rasta populacija, odnosno populaciono-ekološkog parametra  $r_m$  (Slika 5). Tako se, u prvoj fazi eksperimentalno izazvane promene domaćina, odnosno kada je ženkama Pp eksperimentalne grupe omogućeno da polažu jaja samo na alternativnom supstratu (nautu), uočava da vrednosti populacionog parametra  $r_m$  opadaju (sa 0,102 koliko je zabeleženo kod Pp\_P eksperimentalne grupe, na 0,079 kod Pp\_C eksperimentalne grupe). Kako ove dve eksperimentalne grupe imaju iste vrednosti preadultnog vijabiliteta i dužine razvića (Tabele 2 i 5), statistički značajan pad koji je zabeležen u ovoj fazi je direktna posledica odlaganja i smanjenog reproduktivnog ulaganja koji je zabeležen kod Pp\_C ženki (Tabela 19). Postepeni oporavak populacije u narednoj fazi adaptacije na novog domaćina pre svega se odnosi na umereno uvećanje ukupnog fekunditeta. Međutim, produženo preadultno razviće na nautu je osnovni razlog niže vrednosti intrinzičke stope rasta populacije Pc\_C eksperimentalne grupe u odnosu na početnu, Pp\_P grupu. Sledeća faza promene biljke domaćina zapravo predstavlja presek stanja populacije koja se prilagođavala nautu nakon višegeneracijske selekcije na ovoj biljci domaćinu. Iako je eksperiment izveden nakon 46 generacija selekcije na nautu, jedinke Cc\_C eksperimentalne grupe imaju statistički značajno niže vrednosti intrinzičke stope rasta populacija ( $r_m = 0,095$ ) u odnosu na populacije sa pasulja – Pp\_P eksperimentalna grupa. S obzirom da su prosečne vrednosti ukupnog fekunditeta Pp\_P i Cc\_C eksperimentalnih grupa praktično istovetne (Tabela 19), kao i to da se jedinke ove dve grupe ne razlikuju u srednjim vrednostima preadultnog vijabiliteta (Tabela 2), osnovni razlog za smanjenje intrinzičke stope rasta populacije je produženo trajanje preadultnog razvića koja je najupečatljivija odlika Cc\_C grupe (Tabela 5). Kada je jedinkama Cc eksperimentalne grupe omogućeno da polažu jaja na pasulju, vrednosti  $r_m$  parametra su bile izjednačene vrednostima koje su zabeležene kod Pp\_P eksperimentalne grupe ( $r_m = 0,102$ ), a statistička značajnost razlika između ovih grupa nije detektovana. Osobina životne istorije koja najviše doprinosi ovom privremenom izjednačavanju populacionog parametra je povećani ukupni fekunditet koje jedinke Cc\_P eksperimentalne grupe imaju kada je pasulj ponuđena biljka domaćin (Tabela 19). Međutim, već u sledećoj fazi promene domaćina (Cp\_P eksperimentalna grupa), rast populacije je smanjen usled velikog pada preadultnog vijabiliteta (Cp eksperimentalna grupa, Tabela 2) i ukazuje na činjenicu da vraćanje na nekada optimalnog domaćina nije jednostavan ekološki proces.

Populaciono-ekološki parametri ukazuju na upečatljive razlike između populacija koje su veći broj generacija bile izložene pasulju, odnosno nautu. Dodatno, kratkoročno izlaganje alternativnoj biljci domaćinu, kao i identitet biljke domaćina tokom polaganja jaja izazivaju populaciono-ekološke oscilacije i upućuju na evoluciju različitih strategija osobina životne istorije uzrokovanu različitim selekcionim pritiscima tokom procesa prelaska na novu biljku domaćina.

#### ***4.4 Selekcioni gradijenti***

Analiza linearnih selekcionih gradijenata ( $\beta$ ) ukazuje da sve eksperimentalne grupe, nezavisno od kratkoročne ili dugoročne promene biljke domaćina, pokazuju iste efekte direkcione selekcije koji su usmereni ka povećanju telesne mase i ranijoj ovipoziciji. Tako na primer, ženke Pp\_P eksperimentalne grupe, povećavajući telesnu masu ( $\beta = 0,150 \pm 0,0020$ ) uz ranije polaganje jaja ( $\beta = -0,120 \pm 0,0021$ ), dostižu najviše adaptivne vrednosti (Tabela 28). Ovakvi rezultati u potpunosti odgovaraju zabeleženim negativnim korelacijama između telesne mase i dužine razvića (Videti odeljak 4.1, Rezultati). Međutim, analiza svake faze eksperimentalno izazvane promene domaćina pokazuje specifične obrasce direkcione, stabilizacione i disruptivne selekcije, kao i korelisanog odgovora osobina životne istorije (Tabela 28). Ovakvi, multivarijantni, adaptivni pejzaži ukazuju na međupopulacione razlike u oblicima delovanja selekcije na strategije osobina životne istorije, a uočene međugrupne razlike pre svega potiču od razlika u nelinearnim selekcionim gradijenatima ( $\gamma$ ). Tako se može videti da je specifičnost Pp\_P eksperimentalne grupe stabilizaciona selekcija za dužinu života ( $\gamma = -0.041 \pm 0.011$ ), pozitivan korelacioni odgovor dužine razvića i dužine života ( $\gamma = 0.047 \pm 0.021$ ), kao i negativan korelacioni odgovor mase tela i prvog dana polaganja jaja ( $\gamma = -0.050 \pm 0.024$ ). Prvu fazu prelaska na novu biljku domaćina (Pp\_C eksperimentalna grupa) karakteriše disruptivna selekcija mase tela ( $\gamma = 0.045 \pm 0.021$ ) i pozitivan korelacioni odgovor dužine života i prvog dana polaganja jaja ( $\gamma = 0.098 \pm 0.028$ ) dok u sledećoj fazi promene biljke domaćina (Pc\_C grupa) dolazi do stabilizacione selekcije dužine života ( $\gamma = -0.060 \pm 0.027$ ) čiji se efekti nakon višegeneracijske selekcije na nautu (Cc\_C grupa) gube. Odsustvo ovih nelinearnih selekcionih gradijenata najbolje se uočava poređenjem adaptivnih pejzaža Pp\_P i Cc\_C eksperimentalne grupe (Slika 6). Posebno je zanimljivo da eksperimentalne grupe koje se susreću sa alternativnim

domaćinom prilikom polaganja jaja (Pp\_C i Cc\_P grupe) imaju značajne efekte disruptivne ( $\gamma = 0.045 \pm 0.021$ ) i stabilizacije ( $\gamma = -0.030 \pm 0.015$ ) selekcije za masu tela. Međutim, i pored zabeleženih razlika u oblicima delovanja prirodne selekcije, eksperimentalne grupe koje su veći broj generacija selektovane na pasulju i nautu dostigle su veoma slične prosečne adaptivne vrednosti (Pp\_P = 40.83 i Cc\_C = 40.61, Mann-Whitney test,  $U = 7$ ,  $P = 0.8857$ ). Ovakav rezultat upućuje na zaključak da je višegeneracijsko izlaganje semenima nauta dovelo do toga da su populacije pasuljevog žiška osvojile nov adaptivni vrh u adaptivnom pejzažu. Drugim rečima, pokazano je da su se populacije uspešno prilagodile ovom, nekada suboptimalnom, domaćinu, uz, kako smo pokazali, adaptivne promene životne strategije.

#### **4.5 Reproductivno ponašanje**

Specifičnosti eksperimentalnog dizajna (Eksperiment II, Videti odeljak 3.4.3, Materijal i metode) omogućavaju testiranje promene osobina reproduktivnog ponašanja i prezigotske reproduktivne izolacije između populacija *Acanthoscelides obtectus* nakon dugoročnih i kratkoročnih efekata promene biljke domaćina. Na ovaj način, moguće je videti evolucione promene nakon višegeneracijske promene biljke domaćina (Pp i Cc eksperimentalne grupe), ali i kratkoročne (plastične) odgovore nakon razvića na alternativnom supstratu tokom samo jedne generacije (Pc i Cp eksperimentalne grupe). Dakle, specifične kombinacije ukrštanja razotkrivaju odnose osobina reproduktivnog ponašanja i nivoa prezigotske reproduktivne izolacije u različitim fazama prelaska na nove biljke domaćine. Funkcije preferencije ukrštanja i analize komponenti prezigotske reproduktivne izolacije ukazuju na nivo asortativnog ukrštanja eksperimentalnih grupa koje se nalaze u različitim fazama eksperimentalno izazvane promene domaćina, što predstavlja važnu komponentu u početnim fazama divergencije populacija uzrokovanih efektom izmenjene životne sredine. S druge strane, analizirane komponente reproduktivnog ponašanja – vreme koje protekne do početka kopulacije i dužina trajanja kopulacije – interpretiraju se u svetlu izbirljivosti partera kod već ukrštenih parova.

#### 4.5.1 Funkcija preferencije ukrštanja

U poređenju sa bilo kojom drugom kombinacijom ukrštanja, jedinke koje su veći broj generacija selektovane na pasulju imaju najviše vrednosti kada se ukrštaju sa jedinkama iste eksperimentalne grupe ( $P_p \times P_p = 0,59$ , Tabela 29). Grafičkim prikazivanjem srednjih vrednosti učestalosti ukrštanja specifičnih kombinacija eksperimentalnih grupa, dobija se oblik funkcije učestalosti ukrštanja (Slika 7). Testiranje razlika oblika funkcije učestalosti ukrštanja (G test heterogenosti, Tabela 30), ukazuje da ženke  $P_p$ ,  $C_c$  i  $C_p$  eksperimentalne grupe pokazuju statistički značajno variranje oblika funkcija preferencije. Nasuprot tome, samo mužjaci P selekcionog režima ( $P_p$  i  $P_c$  eksperimentalne grupe) pokazuju pomenute razlike.

Kada se porede srednje vrednosti učestalosti ukrštanja  $P_p$  ženki (Slika 7A), uočava se obrazac po kome srednje vrednosti statistički značajno opadaju u ukrštanju sa mužjacima koji su se razvijali na nautu ( $P_c$  eksperimentalna grupa). Dodatno, pad vrednosti u odnosu na  $P_p$  mužjake je zabeležen i kada mužjaci pripadaju  $C_c$  i  $C_p$  eksperimentalnim grupama. Sličan trend se uočava i kada se analiziraju ukrštanja  $P_p$  mužjaka sa različitim tipovima ženki (Slika 7B), a najniže vrednosti učestalosti ukrštanja su zabeležene kada ženke vode poreklo sa C selekcionog režima. Kratkoročno razviće na nautu dovodi do nižih srednjih vrednosti učestalosti ukrštanja i relativno ravne funkcije preferencije kako kod  $P_c$  ženki (Slika 7A), tako i kod  $P_c$  mužjaka (Slika 7B). Statistički značajno niže srednje vrednosti učestalosti ukrštanja nakon razvića na nautu dobijaju se pri unutargrupnom poređenju (za ženke:  $P_p \times P_p$  vs.  $P_p \times P_c$ ,  $G_{(1)} = 11,3606$ ;  $P = 0,0008$ , Tabela 31A; za mužjake:  $P_p \times P_p$  vs.  $P_p \times P_c$ ,  $G_{(1)} = 6,0317$ ;  $P = 0,0141$ , Tabela 31B). Jedini izuzetak od homogenosti funkcije učestalosti ukrštanja zabeležen je kada su  $P_c$  mužjaci povećali prosečnu vrednost učestalosti ukrštanja sa  $C_p$  ženkama ( $P_c \times C_c$  vs.  $P_c \times C_p$ ,  $G_{(1)} = 11,6588$ ;  $P = 0,0006$ , Tabela 31B), što predstavlja i glavni uzrok statistički značajne heterogenosti ove grupe ( $G_H = 17,6251$ ,  $P = 0,0035$ , Tabela 30).

Srednje vrednosti učestalosti ukrštanja jedinki C selekcionog režima (Tabela 29) ukazuju na trend po kome jedinke koje završavaju razviće na alternativnom supstratu ( $C_p$  eksperimentalna grupa) imaju više vrednosti uspešnih kopulacija u poređenju sa parovima koji završavaju razviće na nautu ( $G_{(1)} = 9,52$ ;  $P < 0,01$  kod ženki i  $G_{(1)} = 7,11$ ;

$P < 0,001$  kod mužjaka). Poređenjem oblika funkcije učestalosti ukrštanja Cc i Cp ženki (Slika 7C), dobijene su najniže vrednosti kopulatornih učestalosti sa Pp mužjacima. S druge strane, najviše vrednosti su zabeležene u slučaju kada su ženke C selekcionog režima ukrštane sa Cp mužjacima, što je doprinelo heterogenosti oblika funkcije preferencije (Cc ženke  $G_{H(5)} = 12,64$ ;  $P = 0,027$  i Cp ženke  $G_{H(5)} = 13,36$ ;  $P = 0,0203$ , Tabela 30). Dodatno, i pored toga što mužjaci Cc i Cp eksperimentalne grupe imaju najviše vrednosti učestalosti ukrštanja u ukrštanjima sa Cp ženkama (Slika 7D), razlike u obliku funkcije učestalosti ukrštanja nisu bile značajne (Cc mužjaci  $G_{H(5)} = 8,29$ ;  $P = 0,1412$  i Cp mužjaci  $G_{H(5)} = 4,94$ ;  $P = 0,4227$ , Tabela 30).

#### 4.5.2 Izbirljivost partnera

Srednje vrednosti komponenti reproduktivnog ponašanja prikazane su tabelarno (Tabela 32). Upotrebom mešanog modela analize varijanse za trajanje kopulacije, statistički značajni efekti selekcionog režima, kratkoročnog razvića na alternativnom supstratu, efekta pola i njihovih međusobnih interakcija nisu zabeleženi, a srednje vrednosti su se nalazile u intervalu od 5,36 i 6,72 minuta. S druge strane, analiza varijanse vremena početka kopulacije pokazuje razlike u odgovoru populacija *A. obtectus* koje su veći broj generacija bile izložene semenima pasulja ili nauta ( $F_{1, 12,532} = 13,84$ ;  $P = 0,0027$ , značajan efekat selekcionog režima u Tabeli 33). Takođe, specifične interakcije kratkoročnog i dugoročnog efekta razvića na alternativnom supstratu ukazuju na značajne efekte selekcije na plastičnost izbirljivosti partnera ( $F_{1, 12,536} = 36,73$ ;  $P < 0,0001$ ), dok interakcija selekcionog režima i pola govori o različitim ulogama polova u procesu biranja partnera ( $F_{1, 4597} = 11,73$ ;  $P = 0,0006$ ). Imajući u vidu da efekat populacija u ovakvoj analizi nije bio statistički značajan ( $F_{12, 4579} = 0,63$ ;  $P = 0,8216$ ), uticaj genetičkog drifta na ovu osobinu reproduktivnog ponašanja bio je veoma mali.

Grafičkim predstavljanjem srednjih vrednosti vremena koje protekne do početka kopulacije (Slika 8) uočavaju se specifični trendovi različitih tipova ukrštanja. Tako se, u poređenju sa svim ostalim tipovima ukrštanja, uočava da jedinke koje pripadaju Pp × Pp tipu ukrštanja provode najviše vremena u proceni partnera pre kopulacije (Slika 8A i 8B). Kratkoročni efekti razvića na nautu (Pc eksperimentalna grupa) dovode do bržeg ulaska u reprodukciju nezavisno od tipa eksperimentalne grupe kojoj pripadaju partneri, a najbrža reprodukcija je zabeležena u situacijama kada Pc jedinke intereaguju sa Cp



jedinkama (Slika 8A i 8B, Tabele 32 i 34). S druge strane, jedinke koje vode poreklo sa C selekcionog režima (Cc i Cp eksperimentalne grupe) odlažu početak kopulacije u situacijama kada njihovi partneri potiču sa P selekcionog režima (Slika 8C i 8D). Iako razlike nisu statistički značajne, opšti trend pokazuje da mužjaci Cp eksperimentalne grupe smanjuju vreme procene partnera sa 7,86 minuta, koliko je zabeleženo kod Cc mužjaka, na 6,75 minuta (Mann-Whitney  $U_{(4,4)} = 0$ ;  $P < 0,34$ ).

#### 4.5.3 Prezigotska reproduktivna izolacija

Jedinke Pp eksperimentalne grupe pokazuju najviše vrednosti sklonosti ka ukrštanju (engl. *mating propensity*) i reproduktivne adaptivne vrednosti (engl. *reproductive fitness* –  $W$ ) bez obzira na tip jedinki sa kojima ulaze u interakciju (Tabela 35). Uticaj kratkoročnog efekta razvića na alternativnom domaćinu, statistički značajno obara vrednosti pomenutih parametara. Međutim, i pored ovakvih rezultata, kratkoročna promena biljke domaćina ne dovodi do statistički značajnog nivoa prezigotske reproduktivne izolacije (Pp × Pc ukrštanje,  $I_{PSI} = 0,0874$ ;  $P = 0,10$ , Tabela 35). Drugim rečima, ustanovljen stepen asortativnog ukrštanja jedinki koje su razviće završile na jednom domaćinu, a u odnosu na one koje su se razvijale na drugom domaćinu, nije dovoljan da bi omogućio značajniju reproduktivnu izolaciju. Sličan trend je uočen i kod jedinki koje vode poreklo sa C selekcionog režima (Cc × Cp ukrštanje,  $I_{PSI} = 0,0160$ ;  $P = 0,80$ , Tabela 35). Međutim, jedinke P selekcionog režima pokazuju značajan stepen prezigotske reproduktivne izolacije u odnosu na C selekcionu režim, bez obzira na identitet kratkoročnog domaćina u procesu individualnog razvića C jedinki (Pp × Cc ukrštanje,  $I_{PSI} = 0,1400$ ;  $P = 0,00$  i Pp × Cp ukrštanje,  $I_{PSI} = 0,1200$ ;  $P = 0,00$ , Tabela 35). Ovaj efekat je izražen i nakon analize stepena prezigotske reproduktivne izolacije pojedinačnih poređenja kombinacija populacija, kada je čak 7 od 16 kombinacija populacija Pp × Cc ukrštanja i 5 od 16 Pp × Cp ukrštanja pokazalo statistički značajne vrednosti prezigotske reproduktivne izolacije –  $I_{PSI}$  parametar (Tabela 36).

Veoma zanimljiv rezultat vezuje se za razlike u reproduktivnom vigoru kod jedinki koje vode poreklo sa P i C selekcionih režima. Naime, opšta sklonost ka ukrštanju i reproduktivna adaptivna vrednost je smanjena kod jedinki koje vode poreklo sa P selekcionog režima, a razviće završavaju na nautu (Pc eksperimentalna grupa). S druge strane, jedinke koje vode poreklo sa C selekcionog režima, nakon razvića na

pasulju (Cp eksperimentalna grupa) povećavaju vrednosti ovih osobina u poređenju sa jedinkama Cc eksperimentalne grupe. Međutim, iako ukrštanje Cc × Cp nije pokazalo statistički značajne razlike u reproduktivnom vigoru, Pc × Cp heterotipsko ukrštanje na vrlo jasan način ukazuje na promenu osobina reproduktivnog vigora nakon kratkoročne promene domaćina (sklonost ka ukrštanju:  $G_{(1)} = 6,46$ ;  $P < 0,046$ ; reproduktivna adaptivna vrednost:  $W_{(Pc)} = 0,86$ ,  $W_{(Cp)} = 1$ ;  $P < 0,009$ , Tabela 35). Upravo ovakvo povećanje reproduktivnog vigora C jedinki može objasniti odsustvo prezigotske reproduktivne izolacije između Pc × Cp ( $I_{PSI} = 0,0186$ ;  $P = 0,60$ ) i Pc × Cc ( $I_{PSI} = 0,0368$ ;  $P = 0,30$ ) ukrštanja.

#### **4.6 Detekcija i kvantifikacija kutikularnih ugljovodonika**

Značaj hemijske komunikacije insekata je veoma izražen posebno kada se ima u vidu uloga koju ovakvi sistemi komunikacije mogu imati u početnim fazama specijacije (pronalaženje i prepoznavanje partnera). Važno mesto u ovakvim analizama zauzima proučavanje stepena promenljivosti jedinjenja koja učestvuju u komunikaciji insekata u zavisnosti od spoljašnjih stimulusa (npr. izmenjena ishrana tokom larvenog razvića). Osnovni cilj Eksperimenta III (Videti odeljak 3.4.4, Materijal i metode) bio je uočavanje potencijalne razlike sastava i relativnih zastupljenosti jedinjenja kutikularnih ugljovodonika (CHC) koje jedinice *Acanthoscelides obtectus* imaju nakon dugoročne (Pp i Cc) i kratkoročne (Pc i Cp) promene biljke domaćina. Rezultati retencionih vremena, retencionih indeksa, broja ugljenikovih atoma, molekulskih masa i dijagnostičkih jona identifikovanih kutikularnih ugljovodonika predstavljeni su tabelarno (Tabela 37). Ukupno je identifikovano 21 jedinjenje, od čega šest jedinjenja predstavlja alkane normalnog niza (*n*-alkani), osam jedinjenja su monometilalkani, šest jedinjenja su dimetilalkani, a jedno jedinjenje se svrstava u grupu trimetilalkana. Od svih detektovanih jedinjenja, *n*-pentakozan je imao najmanje ugljenikovih atoma – C<sub>25</sub>, dok su tri jedinjenja (11,15-dimetilnonakozan, 7,11-dimetilnonakozan i *n*-hentriakotan) imala po 31 ugljenikov atom (tipičan primer GC profila kod *A. obtectus* je prikazan na Slici 9). Imajući u vidu da je svaka eksperimentalna grupa imala po četiri replike (populacije), srednje vrednosti relativne zastupljenosti CHC svake eksperimentalne grupe dobijene su iz puliranih vrednosti (Tabela 38). Pažljivijom analizom CHC profila uočava se da jedinjenja 9,13-dimetilheptakozan i *n*-heptakozan imaju najveću relativnu

zastupljenost (njihove srednje vrednosti nalaze se u opsegu od 18,95 % do 22,69 %). Osam jedinjenja je imalo prosečnu relativnu zastupljenost višu od pet procenata, dok je *n*-heksakozan jedinjenje koje je najmanje zastupljeno kod svih analiziranih uzoraka sa prosečnim relativnim vrednostima ispod jednog procenta.

Analize kvalitativnog sastava CHC ukazuju da jedinike *A. obtectus*, nezavisno od selekcionog režima, kratkoročnog efekta promene biljke domaćina, ili pola, imaju isti GC profil, odnosno, svaki analizirani uzorak imao je uvek ista detektovana jedinjenja (Tabela 37). Međutim, osnovne razlike CHC između eksperimentalnih grupa bile su u njihovim relativnim zastupljenostima – kvantitativne razlike. Mešanim modelom analize varijanse potvrđena je velika varijabilnost između analiziranih grupa (Tabela 39). Tako, ukupno osam jedinjenja pokazuje statistički značajne razlike između selekcionih režima, sedam jedinjenja menja relativnu količinu CHC nakon kratkoročnog efekta alternativnog supstrata tokom razvića, dok je statistička značajnost efekta populacija detektovana kod deset CHC jedinjenja. Izraženi polni dimorfizam je najinteresantniji rezultat mešanog modela analize varijanse relativnih zastupljenosti CHC. Naime, analizirani podaci pokazuju da razlike između polova nisu bile statistički značajne za samo tri jedinjenja (5,9-dimetilheptakozan, 11-metilnonakozan, i 11,15-dimetilnonakozan). Znajući da CHC mogu imati važne uloge u hemijskoj komunikaciji insekata, razlike u relativnoj zastupljenosti CHC kod populacija *A. obtectus* ukazuju na važno mesto u analizi reproduktivnog ponašanja.

#### 4.6.1 Korelacije frekvencije ukrštanja i relativne zastupljenosti CHC

Imajući u vidu uloge koje CHC imaju u intraspecijskoj komunikaciji kod različitih taksona, primenom Bonferoni korekcije sa kritičnom značajnošću od  $P < 0,002$ , izračunati su statistički značajni obrasci korelacionih koeficijenta između frekvencije ukrštanja i relativne zastupljenosti CHC. Statistički značajne korelacije detektovane su samo u slučaju ukrštanja eksperimentalnih grupa koje pripadaju hetero selekcionom režimu, odnosno  $P_p \times C_c$ ,  $P_p \times C_p$ ,  $P_c \times C_c$  i  $P_c \times C_p$  ukrštanjima. Takođe, kako vrednosti frekvencije ukrštanja ženki nisu pokazale statistički značajne korelacije sa relativnom zastupljenošću CHC mužjaka, predstavljeni su samo rezultati korelacionih analiza frekvencije ukrštanja mužjaka i relativnih zastupljenosti CHC ženki (Tabela 40). Relativna zastupljenost četiri CHC jedinjenja ženki koreliše sa frekvencijom ukrštanja

mužjaka koji vode poreklo sa C selekcionog režima. S druge strane, mužjaci P selekcionog režima nisu u stanju da uoče razlike između potencijalnih partnera. Dakle, pokazano je da Cc i Cp mužjaci mogu detektovati razlike samo između ženki koje pripadaju Pp eksperimentalnoj grupi. U bilo kojoj drugoj kombinaciji ukrštanja, ženski signali, tj. relativne zastupljenosti njihovih CHC jedinjenja nisu u korelaciji sa frekvencijom ukrštanja. Veće količine *n*-pentakozana i 9-metilheptakozana, kao i manje količine *n*-hentriakontana kod Pp ženki povećavaju frekvenciju ukrštanja kada se ukrštaju sa Cc mužjacima. S druge strane, smanjene količine *n*-nonakozana Pp ženki povećavaju frekvenciju ukrštanja prilikom interakcije sa Cp mužjacima. Potrebno je naglasiti da odsustvo statistički značajnih korelacija između CHC profila i učestalosti ukrštanja ne ukazuje da kutikularni ugljovodonici nemaju važne uloge u izboru partnera unutar analiziranih populacija. Ovakvi rezultati prevashodno govore u prilog tvrdnji da su CHC profili značajnije uključeni u seksualnu izolaciju između divergiranih populacija, iako na unutarpopulacionom nivou mogu postojati specifične hemijske preferencije.

#### ***4.7 Plastičnost osobina životne istorije***

Imajući u vidu veliki značaj fenotipske plastičnosti u evoluciji kompleksnih fenotipova i njihovog odgovora na promenjene uslove životne sredine, proučavanje plastičnosti osobina životne istorije nužno je za potpuno razumevanje njihove evolucije. Kao što je ranije istaknuto, populacije pasuljevog žiška jesu u stanju da na plastičan način odgovore na promene biljke domaćina (osobine životne istorije, Odeljci 4.1 i 4.2, Rezultati i reproduktivno ponašanje, Videti odeljak 4.5, Rezultati). Ovakav pristup pokazao je značajne međupopulacione razlike u sposobnosti plastičnog odgovora, ali bez specifičnog eksperimentalnog dizajna, nije bilo moguće analizirati unutarpopulacionu varijabilnost plastičnosti osobina životne istorije. Kako bi se potpunije razumela i unutarpopulaciona genetička varijabilnost plastičnog odgovora osobina životne istorije i kako bi se otkrili načini na koji norme reakcije evoluiraju u laboratorijskim populacijama pasuljevog žiška, bilo je neophodno formiranje većeg broja familija koje vode poreklo iz iste eksperimentalne grupe. Tom prilikom su korišćene dve laboratorijske populacije koje su više od 230 generacija selektovane na pasulju i nautu, a larveno razviće na pasulju ili nautu omogućilo je formiranje četiri

eksperimentalne grupe (Pp, Pc, Cc i Cp) koje su služile kao polazna tačka prilikom formiranja familija (Eksperiment IV, Videti odeljak 3.4.5, Materijal i metode). Na taj način omogućeno je praćenje promene fenotipskih vrednosti osobina životne istorije i testiranje promene u veličini i pravcima fenotipske plastičnosti tokom eksperimentalno izazvane promene biljke domaćina.

Fenotipske vrednosti analiziranih osobina životne istorije (Tabela 41) pokazuju razlike kako između eksperimentalnih grupa, tako i nakon razvića na alternativnim biljkama domaćinima (statistički značajni efekti eksperimentalne grupe i tretmana, Tabela 42). Takođe, eksperimentalne grupe se razlikuju u odgovorima na promenjene uslove sredine (statistički značajna interakcija eksperimentalne grupe i tretmana), a pokazano je i prisustvo genetičke varijabilnosti u čitavom pulu analiziranih grupa (statistički značajan efekat familije, Tabela 42). Detaljna analiza fenotipskih vrednosti osobina životne istorije, kao i analiza varijanse unutar eksperimentalnih grupa (Tabela 43) ukazuje na bitne razlike između eksperimentalnih grupa u načinu odgovora na promenjene uslove životne sredine. Tako familije koje pripadaju Pp eksperimentalnoj grupi ne menjaju vrednost preadultnog vijabiliteta pri razviću u semenu nauta ( $F_{1, 81} = 3,73$ ;  $P = 0,0571$ , Tabela 43, Slika 10). Veoma interesantan rezultat je i statistički značajna promena vrednosti preadultnog vijabiliteta kod Pc eksperimentalne grupe. Naime, familije ove grupe imaju u proseku statistički značajno više vrednosti vijabiliteta tokom razvića na nautu ( $Pc\_P = 0,28$ ;  $Pc\_C = 0,45$ ; Tuckey test  $P < 0,05$ ; Tabela 41). Promena nagiba prosečne norme reakcije kod Pc grupe poprima oblik normi reakcija koji je karakterističan za Cc i Cp eksperimentalne grupe (Slika 10). Zanimljivo je i zapažanje da efekat familije kod Pp i Cc eksperimentalnih grupa nije značajan, kao i to da familije na isti način odgovaraju na promenu biljke domaćina (neznačajna interakcija tretman  $\times$  familija, Tabela 43). Međutim, potrebno je ukazati da nedostatak statističke značajnosti efekta familije kod ove dve grupe ima donekle različite uzroke. Naime, sve familije Cc grupe (17/17) imaju više vrednosti vijabiliteta nakon razvića na nautu i zapravo ukazuju na homogenost odgovora nakon promene biljke domaćina tokom larvenog razvića i izraženu specijalizaciju prema nautu u prvim fazama razvića, što ih čini veoma osetljivim na promenu domaćina (izražen pad vrednosti preadultnog vijabiliteta na pasulju). S druge strane, blizu polovine familija Pp grupe (10/23) ima više vrednosti vijabiliteta na nautu, dok ostale familije imaju više vrednosti nakon larvenog

razvića na pasulju (13/23). Drugim rečima, familije Pp grupe su „homogene u svojoj heterogenosti“ što se interpretira u kontekstu održavanja varijabilnosti, tj. fenotipskog odgovora koji je usmeren prema generalizaciji. Analiza vrednosti indeksa plastičnosti preadultnog vijabiliteta (Tabele 44 i 45) potvrđuje ovaj trend. S obzirom da su u ovom radu analizirane osobine životne istorije, koje predstavljaju komponente adaptivne vrednosti, povećane vrednosti indeksa plastičnosti za ove osobine nedvosmisleno ukazuju na specijalizaciju, odnosno na pad adaptivne vrednosti u jednoj od analiziranih životnih sredina. S druge strane, smanjenje plastičnosti osobina životne istorije ukazuje na sposobnost genotipa da adekvatno odgovori na različite uslove ne smanjujući bitno svoju adaptivnu vrednost, odnosno, da odgovori kao generalista. Imajući ovo u vidu, povećanje vrednosti indeksa plastičnosti preadultnog vijabiliteta kod Cc i Cp u odnosu na Pp i Pc grupe nije neočekivano budući da pad vijabiliteta C jedinki na pasulju ukazuje na specijalizaciju njihovog razvića na nekada suboptimalnom domaćinu (Tabela 45). Ujedno, indeksi plastičnosti preadultnog vijabiliteta imaju najviše vrednosti u poređenju sa svim ostalim analiziranim osobinama životne istorije, čime se dodatno ističe značaj proučavanja preadultnih stadijuma razvića u procesu prilagođavanja na promenu biljke domaćina.

U poređenju sa eksperimentalnim grupama koje vode poreklo sa pasulja (Pp i Pc grupe), prosečne vrednosti dužine razvića i mase tela su značajno povećane nakon višegeneracijske selekcije na nautu (Cc i Cp grupe, Tabela 41, Slike 11, 12, 13 i 14). Zanimljivo je da jedino ženke Pp eksperimentalne grupe ne pokazuju razlike u dužini razvića između dva alternativna domaćina ( $F = 1,51$ ;  $P = 0,2195$ , Tabela 43, Slika 11). Relativno uski opseg varijabilnosti dužine razvića i mase na alternativnim semenima uzrok su niskih vrednosti indeksa plastičnosti ovih osobina (Tabela 44). Međutim, post-hoc testom je otkriveno da oba pola Cp eksperimentalne grupe imaju statistički značajno više vrednosti indeksa plastičnosti dužine razvića u poređenju sa ostalim eksperimentalnim grupama. Analiza indeksa plastičnosti mase ženki pokazuje da su C jedinke značajno osetljivije na promenu domaćina od jedinki Pp i Pc grupa.

Rezultati ovog eksperimenta pokazuju i specifičnosti u načinima na koji jedinke eksperimentalnih grupa menjaju adultne osobine životne istorije (dužina života i ukupni fekunditet). Tako na primer, u poređenju sa jedinkama koje vode poreklo sa C

selekcijonog režima, ženke i mužjaci P selekcijonog režima u proseku žive duže nakon razvića na nautu (Tabela 41, Slike 15 i 16). Ova razlika u dužini života P ženki koje su razvijene na nautu u odnosu na pasulj, međutim, nije statistički značajna (Tabela 42). Bez obzira na pol, najizraženije razlike u vrednostima dužine života su zabeležene kod Pc eksperimentalne grupe koja u proseku živi tri dana duže nakon razvića na nautu (Tabela 41), što je svakako doprinelo najvećim odstupanjima ove eksperimentalne grupe kada je u pitanju indeks plastičnosti dužine života (Tabela 44). Sve eksperimentalne grupe povećavaju vrednosti ukupnog fekunditeta nakon razvića na nautu izuzev ženki Pc eksperimentalne grupe koja pokazuje smanjeno reproduktivno ulaganje nakon razvića na nautu (Slika 17, Tabela 41), a najviše indekse plastičnosti za osobinu ukupni fekunditet ima Cc grupa.

Generalni zaključak koji se može izvesti nakon analize obrazaca normi reakcija (Slike 10-18) jeste da familije koje vode poreklo sa P selekcijonog režima, načelno, pokazuju veću varijabilnost u plastičnom odgovoru osobina životne istorije. Drugim rečima, u populacijama selektovanim na pasulju postoji visok nivo genetičke varijabilnosti fenotipske plastičnosti za osobine životne istorije. Ovakav trend svakako se najlakše uočava poređenjem obrazaca normi reakcija preadultnog vijabiliteta (Slika 10), kada familije selektovane na pasulju pokazuju dosta heterogen odgovor prilikom promene biljke domaćina, za razliku od homogenih odgovora familija iz C populacija. Dodatno, koeficijenti variranja fenotipskih vrednosti osobina na indirektan način potvrđuju ovakva zapažanja (npr. koeficijent variranja preadultnog vijabiliteta kod Pp\_P grupe iznosi 34,68 % u poređenju sa 20,47 % kod Cc\_C grupe). Dakle, i nakon više od 230 generacija selekcije, jedinke koje pripadaju P selekcijonom režimu pokazuju, za njih karakterističnu, strategiju generalista koja je u najvećoj meri izražena na preadultnom nivou.

Analiza cene plastičnosti ni u jednom slučaju nije pokazala smanjenje adaptivne vrednosti sa povećanjem opsega plastičnog odgovora osobina životnih istorija (Tabela 46). Međutim, ovakvi rezultati zahtevaju dodatna objašnjenja. Naime, nije neuobičajeno da analiza kovarijance u regresionim modelima koji analiziraju cenu plastičnosti, ne ukaže na statističku značajnost razlika između grupa u korelisanosti adaptivne vrednosti i indeksa plastičnosti. Zapravo, primena ove analize retko otkriva cenu plastičnosti

(DeWitt i sar. 1998, Scheiner i Berrigan 1998) zbog ograničene snage statističkog testa koji se zasniva na srednjim vrednostima familija i njihovim apsolutnim razlikama između sredina.

Poređenja rezultata dobijenih analizom osobina životne istorije nakon 46 generacija selekcije (Eksperiment I<sub>A</sub>) i nakon više od 230 generacija selekcije (Eksperiment IV), ukazuju na značajne podudarnosti u vrednostima i načinima plastičnog odgovora. Na ovom mestu moramo imati u vidu da se dve grupe populacija razlikuju prema broju generacija tokom kojih je trajala evolucija na alternativnim domaćinima. Takođe, postavke eksperimenata u kojima su korišćene ove populacije su u značajnoj meri različite, što se pre svega odnosi na direktnu procenu unutarpopulacione genetičke varijabilnosti (familije) u eksperimentu sa starijim populacijama. Iz tih razloga, analiza razlika između rezultata na ovim populacijama moraju uzimati u obzir i ove specifičnosti. Prednosti uporedne analize populacija različitih starosti podrazumevaju praćenje evolucije osobina i njihovih plastičnosti u više tačaka evolucionog vremena pružajući dodatnu informaciju o evolvabilnosti populacija u heterogenim uslovima životne sredine.

Familije Pp eksperimentalne grupe ne menjaju vrednost preadultnog vijabiliteta nakon razvića na nautu (Pp\_P = 50,04 %, Pp\_C = 44,03 %, Slika 10), što u potpunosti odgovara trendu koji je zabeležen nakon 46 generacija selekcije (Pp = 74,29 %, Pc = 75,13 %), iako se apsolutne vrednosti same osobine donekle razlikuju (vrednosti preadultnog vijabiliteta su niže nakon 230 generacija selekcije). S druge strane, jedinke selektovane na nautu imaju veoma snižene vrednosti preadultnog vijabiliteta nakon razvića na pasulju u obe vremenske tačke (Cc = 82,07 %, Cp = 35,53 % nakon 46 generacija selekcije i Cc\_C = 64,03 %, Cc\_P = 20,02 % nakon više od 230 generacija selekcije). Dakle, u različitim vremenskim presecima postoji isti obrazac reagovanja koji ukazuje na specijalizaciju razvojnih putanja i ograničen odgovor u izmenjenim uslovima. Sličan trend može se uočiti i za druge preadultne osobine životne istorije (dužina razvića i masa tela) kada eksperimentalne grupe koje vode poreklo sa pasulja (Pp i Pc), a selektovane su tokom više od 230 generacija, imaju u proseku niže fenotipske vrednosti u poređenju sa eksperimentalnim grupama koje su bile selektovane na nautu (Cc i Cp grupe, Tabela 41, Slike 11, 12, 13 i 14). Ovakvi obrasci su zabeleženi



kako kod ženki, tako i kod mužjaka i usklađeni su sa rezultatima dobijenim nakon 46 generacija (Tabele 5 i 9). Stoga se može izvesti zaključak da pravci promena strategije preadultnih osobina nisu u velikoj meri izmenjene tokom trajanja evolucije na nautu.

S druge strane, za adultne osobine postoje određene razlike u vrednostima i plastičnim obrascima populacija sa pasulja i nauta u dve vremenske tačke. Posebno je uočljivo da populacije selektovane više od 230 generacija, načelno, imaju nešto veće ulaganje u reprodukciju kada je naut supstrat za polaganje jaja (Tabela 41), što donekle odstupa od obrazaca koji su zabeleženi nakon 46 generacija selekcije kada ženke selektovane na pasulju odlažu polaganje jaja na nautu (Slika 3). S obzirom na poznate, visoko korelisane, odnose fekunditeta i dužine života, izmenjen obrazac ulaganja u reprodukciju nedvosmisleno je uticao i na promenu obrazaca dužine života (npr. nepostojanje razlika u dužini života između tretmana kod ženki Pp eksperimentalne grupe, Tabela 43). Takođe, populacije selektovane na nautu tokom više od 230 generacija (Cc\_C grupa) ne pokazuju povećanje ukupnog fekunditeta nakon razvića na pasulju (Cc\_P grupa), što je bila upečatljiva karakteristika jedinki koje su selektovane na nautu tokom 46 generacija, a larveno razviće završile na pasulju (Tabela 19). Konačno, kada je u pitanju dužina života, eksperimentalne grupe selektovane na nautu tokom većeg broja generacija pokazuju smanjenje, što je obrnut trend u poređenju sa grupama koje su manji broj generacija bile selektovane na nautu (Slike 15 i 16, Tabele 41 i 24). Ovakvi rezultati na adultnim osobinama životne istorije mogu ukazati na promenu korelisanog odgovora ukupnog fekunditeta i dužine života, a samim tim, i na modifikaciju pravaca evolucije životnih strategija tokom trajanja procesa adaptiranja na novom domaćinu.

## 5. DISKUSIJA

*“Evolutionary biologists ask questions inspired by comparisons of differences, differences between species, between populations, between individuals. They want to understand why things are different, not why they are the same. They want to understand what causes diversity.” Stearns 2000, p. 477.*

*„Evolucioni biolozi postavljaju pitanja inspirisana poređenjem različitosti, različitosti između vrsta, između populacija, između jedinki. Oni žele da razumeju zbog čega su stvari različite, a ne zbog čega su iste. Oni žele da razumeju šta uzrokuje raznovrsnost.“ Stearns 2000, str. 477.*

---

Procesi specijacije, aktuelni od samih početaka evolucione misli, i danas predstavljaju oblast biologije koja fascinira i okupira pažnju velikog broja evolucionih biologa. Objasniti načine koji vode nastanku velike raznolikosti živog sveta jedan je od osnovnih ciljeva evolucione teorije. Stoga, ne iznenađuje činjenica da su istraživanja procesa specijacije neiscrpan izvor postavki novih eksperimenata koji stalno pomeraju granice znanja i sve više nas približavaju potpunijem razumevanju procesa nastanka novih vrsta i evolucije živih sistema uopšte.

Crpeći inspiraciju iz velike složenosti interakcija fitofagnih insekata i biljaka domaćina, ova studija predstavlja pokušaj da se u što većoj meri razumeju mehanizmi koji učestvuju u procesima ekološke specijacije. Glavno težište ove studije usmereno je prema ulozi fenotipske plastičnosti u širenju opsega domaćina i početnim fazama nastanka novih vrsta kod fitofagnih insekata. Osnovni predmet ovog istraživanja jeste analiza plastičnih promena osobina životne istorije i njihovih međusobnih ograničenja, populaciono-ekoloških i selekcionih obrazaca, kao i plastičnih odgovora osobina reproduktivnog ponašanja, i to koristeći dve grupe laboratorijskih populacija fitofagnog insekta, *Acanthoscelides obtectus*, gajenih na pasulju, optimalnoj biljci za ovu vrstu, i nautu, suboptimalnom domaćinu. Takođe, prednosti laboratorijske evolucije i recipročno-transplantacionog dizajna eksperimenata korišćeni su za praćenje kratkoročnih (plastičnih) i dugoročnih (evolucioničkih) efekata promene biljke domaćina na populacije pasuljevog žiška. Iako su istraživanja sprovedena u kontrolisanim, laboratorijskim uslovima, dobijeni rezultati predstavljaju realnu simulaciju procesa

prelaska fitofagnih insekata na druge biljke domaćine koji se mogu naći u prirodnim populacijama. Dodatno, zbog toga što je praćen veliki broj osobina, kojima je utvrđen stepen plastičnosti, ova studija daje i sintetički doprinos razumevanju procesa fenotipske plastičnosti tokom početnih faza specijacije i doprinosi potpunijem razumevanju ekološke dinamike populacija u izmenjenim uslovima životne sredine.

Diskusija rezultata ove studije predstavlja analizu promena osobina životne istorije i reproduktivnog ponašanja usled kratkoročnog i dugoročnog izlaganja alternativnoj biljci domaćinu. Tok diskusije ističe posledice plastičnih promena pomenutih osobina na izmenu pravca evolucionih putanja tokom procesa prilagođavanja na izmenjene sredinske uslove. Takođe, delovi diskusije posebno se fokusiraju na izmene životnih strategija koje populacije ispoljavaju kao odgovor na izmenjene selektivne pritiske i razmatraju se načini na koje višegeneracijska izloženost različitim biljkama domaćinima utiče na dinamiku populacija. Konačno, ističe se veza između fenotipske plastičnosti i ekološke specijacije.

### ***5.1 Plastičnost osobina životne istorije***

Procesi prelaska fitofagnih insekata na nove biljke domaćine (engl. *host-shift*) i procesi širenja opsega domaćina (engl. *host-expansion*, Agosta 2006) odvijaju se kroz nekoliko kontinuiranih faza tokom kojih su fitofagni insekti izloženi velikom broju različitih izazova. Nemogućnost prevazilaženja takvih izazova usled, recimo, izražene razlike u strukturi i količini sekundarnih metabolita biljaka, populacije insekata može voditi ka izumiranju (*sensu* Lande 1998). Ovakav scenario je realnost mnogim populacijama, posebno ukoliko jedinke ne poseduju mehanizme koji bi im omogućili da u početku prihvate, a kasnije se i adaptiraju na nove biljke domaćine. Stoga je sasvim logično da uspešan proces prelaska sa ustaljne na novu biljku domaćina, podrazumeva izvestan nivo plastičnosti koji bi vodio ka uspešnom završetku larvenog razvića, kao i prepoznavanju i prihvatanju novog domaćina tokom perioda polaganja jaja. Ukoliko se takvi uslovi ispune, populacije bi, kroz transgeneracijsko oblikovanje prirodnom selekcijom, mogle postepeno izmeniti životne strategije, što bi konačno vodilo novim pravcima evolucije.

Smatra se da je početna faza prelaska fitofagnih insekata na novu biljku domaćina moguća ukoliko insekti poseduju potencijal da na izmenjene uslove životne sredine odgovore adekvatnom plastičnom promenom razvojnih putanja tokom larvenog razvića, promenom fiziologije i/ili plastičnom promenom ponašanja na adultnom nivou (Forsman 2015). Na taj način, adaptivna fenotipska plastičnost na različitim stupnjevima životnog ciklusa, postaje ključna za razumevaje procesa preživljavanja, prilagođavanja i ekološkog uspeha populacija izloženih izmenjenim uslovima životne sredine. Takođe, ovakav plastičan odgovor omogućava populacijama da kombinovanjem efekata postojeće genetičke varijabilnosti, povećanjem verovatnoće nastanka novih mutacionih događaja i/ili rekombinacijom genetičkih elemenata formiraju nove fenotipove koji bi mogli da odgovore na specifične selekzione pritiske koje nameće nova sredina (Pigliucci 2001). Na taj način, adaptivna fenotipska plastičnost ne samo da smanjuje verovatnoću izumiranja populacija u izmenjenim sredinama, već im i olakšava prelazak adaptivne doline i osvajanje novog adaptivnog optimuma (Pigliucci i Murren 2003, Price i sar. 2003, West-Eberhard 2003). Adaptivna fenotipska plastičnost ima još jednu važnu ulogu u procesu prilagođavanja na izmenjene uslove životne sredine. Naime, fenotipska plastičnost služi kao mehanizam koji omogućava prevođenje nenaslednih, sredinski indukovanih promena u nasledne promene (Crispo 2007). Međutim, evolucionari modeli se veoma razlikuju po tome da li, i u kojoj meri, plastična promena u jednoj osobini, ili setu osobina, može usmeravati i evolucionu promenu tih osobina (Pigliucci 1996, 2003, West-Eberhard 2003, Ghalambor i sar. 2007, 2015, Pfennig i sar. 2010, Fitzpatrick 2012). Ukoliko plastični odgovori poseduju sposobnost da utiču na pravac evolucione promene populacija, višegeneracijska izloženost promenjenim uslovima može voditi ka nastanku specifičnih adaptacija ispoljenih na fiziološkom, etološkom ili morfološkom nivou što može, u velikoj meri, izmeniti i osobine životne istorije.

Kao što je bilo reči u ranijim odeljcima (Videti odeljak 1.1.2, Uvod), nivo plastičnosti osobina može se, kroz generacije, menjati preko direktnog delovanja na srednje vrednosti osobina (razlike u visini normi reakcija), što ujedno predstavlja osnovu Boldvinovog modela plastičnosti. S druge strane, Vodingtonovo viđenje plastičnosti pre svega se odnosi na to da je sama plastičnost (tj. promena nagiba normi reakcija) podložna evolucionoj promeni ukoliko u populaciji postoji varijabilnost

plastičnosti – ukrštene norme reakcija ( $G \times E$  interakcija, Via i Lande 1985). Na ovom mestu je važno istaći da različite osobine u okviru iste linije, ili iste osobine pod različitim uslovima mogu evoluirati tako da se uklope bilo u Boldvinov model evolucije fenotipske plastičnosti, ili da vode genetičkoj asimilaciji (Crispo 2007). Najbolja ilustracija ovih mehanizama evolucije plastičnosti može se naći u studiji Suzuki i Nijhout (Suzuki i Nijhout 2006) koja elegantno demonstrira da ista osobina (obojenost larvi moljca *Manduca sexta* L.) pod različitim selekcionim pritiscima (selekcija zelenih i crnih larvenih formi u specifičnom temperaturnom opsegu) može izmeniti obrazac plastičnosti. Naime, putem veštačke selekcije zelenih larvi, temperature koje su bile potrebne da produkuju ovaj fenotip bile su značajno niže od kontrolne grupe. Tokom selekcije, za roditelje naredne generacije birane su jedinke koje su fenotipski odgovarale na promenu temperature, odnosno oni genotipovi koji su pokazivali veću osetljivost na sredinsku promenu. Dodatno, selekcija crnih larvi u potpunosti je eliminisala pojavu drugačijih fenotipova, najverovatnije usled kanalsanja razvića, što predstavlja dokaz genetičke asimilacije. U sledećim segmentima diskusije biće više reči o promenama životnih strategija koje se dešavaju u populacijama pasuljevog žiška tokom kontinuiranih faza prelaska sa pasulja na naut i načinima evolucije plastičnih odgovora ovih osobina.

### **5.1.1 Plastičnost preadultnih osobina životne istorije**

Teorijska razmatranja sugerišu da je prirodna selekcija najintenzivnija u početnim fazama promene biljke domaćina zbog toga što preživljavanje jedinki direktno zavisi od sposobnosti genotipova da, prateći signale koji se nalaze u njihovom okruženju, prilagode putanje svog razvića (West-Eberhard 2003). Selekcija ovakvih karakteristika jedinki poznata je i kao selekcija normi reakcija i predstavlja polaznu osnovu modela evolucije plastičnosti (Waddington 1961, Schlichting i Pigliucci 1998, West-Eberhard 2003, Crispo 2007, 2008). Pored selekcije normi reakcija, izmenjene okolnosti tokom razvića jedinki utiču i na promenu zastupljenosti fenotipova na koje dalje deluje selekcija (Schlichting i Pigliucci 1998, Pigliucci 2001, Ghalambor i sar. 2007). Tada, u zavisnosti od toga da li postoji neusaglašenost između srednjih vrednosti osobine i optimalnih fenotipskih odgovora na promenjene uslove, plastičnost može usporiti ili ubrzati evolucione promene (Ghalambor i sar. 2015). Tako na primer, ukoliko plastična

promena usmerava fenotipove u istom pravcu u kom deluje i prirodna selekcija i ukoliko sredinski uticaji na fenotipove i obrazac delovanja prirodne selekcije ostaju nepromenjeni tokom većeg broja generacija, evolucionarna promena populacije se može, u velikoj meri, pripisati početnom plastičnom odgovoru (West-Eberhard 2003, Fritzpatrick 2012).

Uzimajući u razmatranje rezultate ove studije, može se zaključiti da preadultne osobine životne istorije populacija pasuljevog žiška u velikoj meri prate gorenavedeni scenario i na dobar način opisuju kako kratkoročna, plastična promena poseduje potencijal da utiče na transgeneracijsku putanju životnih strategija. Tako je, na primer, pokazano da jedinke koje su veći broj generacija bile izložene pasulju, imaju značajno duže larveno razviće ukoliko se razvijaju na nautu. Ova plastična promena vremena preadultnog razvića praćena je visokim vrednostima preadultnog vijabiliteta i povećanom masom nakon razvića na nautu, ukazujući na pozitivnu vezu između plastičnosti puteva razvića i adaptivne vrednosti jedinki u izmenjenim sredinama. Takođe, rezultati iz analiza preadultnih osobina pokazuju zanimljiv trend u kome produženo larveno razviće i više vrednosti mase karakterišu jedinke koje su veći broj generacija bile izložene nautu. Ovakvi rezultati preadultnih osobina životne istorije upućuju na zaključak da višegeneracijska izloženost semenima nauta tokom larvenog razvića izaziva svojevrsno „preslikavanje“ razvojnih programa indukovanih kratkoročnom promenom biljke domaćina.

Pored zabeleženih razlika u vrednostima preadultnih osobina životne istorije, laboratorijske populacije selektovane na pasulju i nautu se, u velikoj meri, međusobno razlikuju u sposobnosti jedinki da na plastičan način odgovore kratkoročnim promenama biljke domaćina tokom razvića. Drugim rečima, ove populacije pokazuju divergentne pravce i različite opsege plastičnosti. Jedinke selektovane na pasulju nemaju izmenjene vrednosti preadultnog vijabiliteta nakon kratkoročne promene biljke domaćina, što ide u prilog hipotezi da su jedinke selektovane na pasulju očuvale sposobnost da na plastičan način izmene svoje putanje razvića. Dodatno, heterogenost normi reakcija preadultnog vijabiliteta familija P selekcionog režima pokazuje prisustvo visokog nivoa genetičke varijabilnosti fenotipske plastičnosti. S druge strane, u slučajevima kada su populacije insekata selektovane na semenima nauta tokom više

generacija (C selekcionirani režim), dolazi do značajnog pada plastičnog odgovora preadultnih osobina životne istorije (dužina preadultnog razvića i masa adulta). Pre svega, smanjenje plastičnog odgovora dužine razvića ukazuje na gubitak sposobnosti ovih jedinki da na adekvatan način prime informacije iz spoljašnje sredine i/ili nemogućnosti adekvatne obrade ovih signala koji bi uslovlili adaptivne plastične odgovore u putanjama razvića. Dramatičan pad vrednosti preadultnog vijabiliteta populacija selekcionisanih na nautu nakon razvića na pasulju najupadljivija je posledica takve, smanjene sposobnosti plastičnog odgovora. Bez dileme, ovakvi rezultati ukazuju na izražen stepen specijalizacije ranih faza razvića žižaka koji su selektovani na nautu. S druge strane, duže trajanje preadultnog razvića P žižaka u semenu nauta uz visoke vrednosti vijabiliteta sugerise da se modifikovanje puteva razvića, koje podrazumeva duže preadultne faze ontogenije, može smatrati adaptivnom plastičnom reakcijom na kratkoročnu promenu domaćina. Dakle, preadultne faze razvića kod P žižaka pokazuju strategiju „generalista“ kroz izraženu osetljivost i modifikaciju ontogenije na različitim domaćinima.

### **5.1.2 Plastičnost adultnih osobina životne istorije**

Analiza adultnih osobina životne istorije ukazuje na potpuno različite strategije selekcioniranih režima – jedinke selektovane na pasulju pokazuju specijalizaciju prema toj biljci, dok se jedinke selektovane na nautu uslovno ponašaju kao generalisti. Uspostavljajući visok stepen plastičnosti putanja razvića, jedinke koje su selektovane na pasulju uspešno se razvijaju u promenjenim životnim uslovima i dostižu vijabilne adultne faze. Međutim, kao adulti, ove jedinke odlažu početak polaganja jaja, smanjuju ukupni fekunditet na nautu i ispoljavaju povećanu diskriminaciju tokom izbora domaćina, što su osobine koje ukazuju na specijalizovanost adultnog života na semena pasulja. Ovakva strategija adultnih faza životnog ciklusa najlakše se uočava kroz izraženo smanjenje ukupnog ulaganja u reprodukciju za blizu 40 % i pomeranja početka polaganja jaja sa drugog na peti dan u slučaju kada su jedinke bile izložene nautu (Videti odeljak 5.1.3, Diskusija). Direktna posledica smanjenja ukupnog fekunditeta je produženje života, što je u skladu sa jednim od najbolje proučenih uzajamnih ograničenja u evoluciji životnih istorija koji se označava kao cena reprodukcije (Stearns 1992, Roff 2002). Veoma sličan rezultat, koji ukazuje na različite pravce odgovora

preadultnih i adultnih osobina životne istorije na promenu domaćina, dobijen je u studiji Šeirs i sar. (Scheirs i sar. 2000) kada su jedinke jedne vrste oligofagne muve, *Chromatomyia nigra* Meigen, bile izlagane suboptimalnoj biljci domaćinu, *Lolium perene* L. - ukupan fekunditet ženki smanjen je za 44 %, dok je larveno preživljavanje smanjeno za svega 9 % u odnosu na optimalne uslove. Ovi rezultati mogu se interpretirati i kao posledica diferencijalne alokacije resursa ka različitim funkcijama kao što su preživljavanje u suboptimalnim (stresnim) uslovima i reprodukcija (Zera i Harshman 2001).

Primeri u kojima se obrazac preferencije fitofagnih insekata može u potpunosti oblikovati kroz optimizaciju performanse (visoke i stabilne vrednosti preadultnog vijabiliteta, npr. Moreau i sar. 2008) dosta su česti. Međutim, ukoliko optimizacija performanse potomaka ne objašnjava celu varijansu preferencije (Scheirs i sar. 2000, Proffit i sar. 2015), sasvim je moguće da takva strategija može na neki drugi, manje očigledan način doprineti adaptivnom odgovoru populacija. Upravo populacije selektovane na nautu otkrivaju zanimljive načine da se pad preadultnog vijabiliteta, tj. performanse potomaka na novom domaćinu, prevaziđe kroz specifične promene ostalih osobina životne istorije. Naime, visok nivo specijalizacije na preadultnom nivou prevazilazi se kroz reproduktivno ponašanje koje podrazumeva smanjenu sposobnost izbora biljke domaćina tokom ovipozicije, tj. smanjenje plastičnosti preferencije polaganja jaja na različitim domaćinima, kao i veoma brzim početkom polaganja jaja i povećanjem ukupnog broja položenih jaja bez obzira na ponuđenu biljku domaćina. Drugim rečima, na adultnim stupnjevima, C žišci su nediskriminativni i ponašaju se kao generalisti. Ovakvi rezultati u velikoj meri podsećaju na podatke dobijene na populacijama *Zabrotes subfasciatus* Boheman koje su selektovane na pasulju i nautu (Teixeira i sar. 2008). Naime, pokazano je da za svega 26 generacija selekcije na suboptimalnom domaćinu – nautu, ženke smanjuju izbirljivost domaćina prilikom polaganja jaja i povećavaju ukupan broj položenih jaja.

Uzimajući u obzir obe faze životnog ciklusa žižaka, može se reći da populacije selektovane na nautu i populacije selektovane na pasulju pokazuju različite životne strategije, odnosno neusaglašenost između odgovora na suboptimalnog domaćina u preadultnim i adultnim fazama. Smanjenje plastičnosti odgovora adultnih osobina



životne istorije i načelno povećano ulaganje u reprodukciju, populacijama sa nauta pruža mogućnost da opstanu u nepovoljnim ekološkim uslovima, ali istovremeno i povećava šansu prelaska u neku drugu, potencijalno optimalniju sredinu (Mousseau i Fox 1998, Reinhold 2002, Allen i sar. 2008). Drugim rečima, strategije adultnih stadijuma mogu umanjiti, ili čak i prevazići, štetne efekte smanjene sposobnosti prilagođavanja tokom ranih faza razvića koje su ključne za uspostavljanje stabilne populacione strukture nakon izlaganja novim sredinama (Forsman 2015). Ovakva disproporcija životnih faza u efektu na adaptivnu vrednost jedinki pri promeni domaćina predstavlja potpuno izvrnutu sliku u odnosu na populacije koje su prilagođene pasulju. Kod ovih populacija, visoka plastičnost preadultnih faza obezbeđuje dobro preživljavanje, ali se pojavljuju adulti koji su veoma izbirljivi, neplastičnog ponašanja i smanjenog fekunditeta na novom domaćinu. Stoga se može izvesti zaključak da su selekcionni pritisci u populacijama gajenim na pasulju i nautu veoma različiti i da evoluciona divergencija životnih strategija zavisi od složenog balansa između selekcije na larvenom i na adultnom stupnju (Orsucci i sar. 2016).

U skladu sa velikim brojem studija koje su analizirale sredinski zavisne korelisane odgovore osobina životne istorije (van Noordwijk i de Jong 1986, Roff 2002, Messina i Fry 2003) i ova studija je pokazala značajne razlike u obliku adaptivnih pejzaža između populacija koje su se tokom većeg broja generacija prilagođavale pasulju i nautu. Ovakav rezultat ide u prilog činjenici da su jedinke koje su gajene na nautu tokom većeg broja generacija uspostavile novu životnu strategiju. Drugim rečima, promenom korelisanih odgovora osobina životne istorije, populacije sa nauta izmenile su konture adaptivnog pejzaža, zauzele novi adaptivni vrh i uspešno se prilagodile novim životnim uslovima. Najilustrativniji pokazatelj da su strategije ovih populacija uspešne jesu približno iste vrednosti ukupnog fekunditeta i preadultnog vijabiliteta u populacijama P i C selekcionih režima kada su jedinke gajene na svojim ustaljenim domaćinima. Dakle, promene adaptivnih strategija u kontekstu novih životnih sredina podrazumevale su drugačije adaptivne pejzaže, odnosno različite udele pojedinačnih osobina životne istorije u formiranju totalne adaptivne vrednosti jedinki.

Još jedan rezultat zavređuje poseban komentar. Naime, kako su eksperimenti izvođeni na većem broju populacija, jedinstvena genetička struktura svake od populacija

i neizbežni efekti genetičkog drifta, sasvim očekivano su vodili razlikama u apsolutnim vrednostima osobina životne istorije. Međutim, sve analizirane populacije su imale sličan obrazac odgovora na promenjene uslove, ukazujući na paralelnost adaptivnih odgovora populacija sa nauta. Dodatno, eksperimenti izvedeni nakon više od 230 generacija selekcije pokazuju veoma slične obrasce evolucije životnih strategija. Ovakvim poređenjima moguće je izvesti zaključak da jedinke selektovane na nautu evoluiraju u pravcu povećanog ukupnog fekunditeta i drastičnog smanjenja preadultnog vijabiliteta nakon razvića na pasulju. Drugim rečima, adaptacija na nautu podrazumevala je specijalizaciju preadultnog razvića na karakteristike semena nauta i sveukupni gubitak osetljivosti na identitet domaćina u periodu reprodukcije.

### **5.1.3 Plastičnost fekunditeta i evolucija percepcije domaćina**

Prikupljene i obrađene informacije o određenoj biljci tokom adultnih faza mogu uticati i na raspoređivanje ograničenih resursa prema povećanoj reprodukciji ili povećanom somatskom ulaganju (Videti odeljak 5.1.1, Diskusija). Takođe, ukoliko je promena adaptivne vrednosti posledica individualnog fenotipskog variranja u načinu na koji jedinke odgovaraju promenjenim uslovima životne sredine, ovakve situacije mogu izmeniti obrazac fenotipske selekcije (Kingsolver i sar. 2012). Dodatno, pokazano je da kvalitet biljke domaćina prilikom larvenog razvića često utiče na realizovani fekunditet, veličinu i kvalitet položenih jaja (Fox i sar. 1997), a efekti kvaliteta biljke domaćina tokom larvenog razvića mogu se odraziti i na adultne forme menjajući brojne, korelisane osobine životne istorije poput dužine razvića, mase, ili fekunditeta (Orsucci i sar. 2016).

Rezultati ove studije pokazuju da ženke koje vode poreklo sa pasulja imaju izraženu preferenciju prema pasulju tokom polaganja jaja. Da bismo razumeli razloge za evoluciju ove preferencije, reproduktivno ponašanje moramo posmatrati u sklopu čitave evolucije životnih strategija. Naime, iako promena biljke domaćina tokom larvenog razvića ne utiče na promenu vrednosti preadultnog vijabiliteta, ove larve se razvijaju značajno duže na novom domaćinu, što dovodi do smanjenog populacionog rasta (Videti odeljak 5.1.1, Diskusija) i, posledično, do manje verovatnoće opstanka populacije u novom ekološkom kontekstu. Ovakav odnos različitih osobina životne istorije u kratkoročnim efektima promene domaćina, može objasniti selektivno

favorizovanje usaglašenosti preferencije polaganja jaja i bolje performanse potomaka na pasulju, što potvrđuje očekivanja hipoteze preferencije i performanse (PPH) kod P populacija. Prema navodima Gripenberg i sar. (Gripenberg i sar. 2010), pozitivan odnos preferencije i performanse može se očekivati ukoliko se fitofagni insekti nađu u specifičnim situacijama. Prva u nizu oslanja se na neuro-fiziološku mrežu i vezuje se za ograničenja nervnog sistema insekata da obrade primljene signale (npr. Janz 2003). Znajući da opseg biljaka koje fitofagni insekti koriste veoma varira, od striktno monofagnih do izrazito polifagnih vrsta, sasvim je očekivano i da je broj stimulusa koje ženke prepoznaju različit. Tako na primer, u poređenju sa ženkama monofagnih insekata, ženke polifagnih vrsta najčešće prepoznaju veći broj stimulusa (Reinecke i Hilker 2014). Međutim, zbog ograničenja nervnog sistema prilikom obrade signala, polifagne vrste nisu u stanju da na adekvatan način odaberu najoptimalniju biljku, što može dovesti do slabe povezanosti preferencije i performanse. Ovo je posebno izraženo ukoliko različite biljke insektima pružaju relativno slične stope preživljavanja. S druge strane, monofagni insekti, obrađujući mnogo manje signala, mogu biti uspešniji u prepoznavanju biljaka domaćina zbog čega se očekuje da veza preferencije i performanse bude pozitivna i veoma izražena. Međutim, Gripenberg i sar. (Gripenberg i sar. 2010) ističe da oligofagni insekti, u koje spada i pasuljev žižak, mogu takođe pokazivati veoma izraženu sposobnost da biraju biljke na kojima će polagati jaja i da su takve odluke često usklađene sa pozitivnom performansom potomstva. Situacija koja dodatno objašnjava PPH, vezuje se za promenu kvaliteta neke biljke domaćina kroz vreme. Tako bi se moglo očekivati da insekti koji koriste biljke čiji delovi po pravilu manje variraju (npr. kora drveta, seme itd.) razviju jaču vezu preferencije i performanse od jedinki koje u svojoj ishrani koriste delove biljaka sa velikom dinamikom tokom vegetacione sezone (npr. list) (Craig i Itami 2008). Takođe, specifičnost životnog ciklusa insekta, odnosno nivo mobilnosti njihovih razvojnih stupnjeva, dodatno utiče na vezu preferencije i performanse. Naime, ukoliko larve imaju vrlo ograničeno kretanje, ili su potpuno sesilne, performanse larvi direktno će zavisiti od fizičko-hemijskih karakteristika biljke na kojoj su položena jaja. Kako ove larve nisu u mogućnosti da isprave eventualne „greške“ nastale tokom ovipozicije njihovih majki, očekivan ishod bila bi pozitivna korelacija preferencije i performanse, odnosno pažljivije biranje biljke domaćina prilikom ovipozicije. Sledeći aspekt PPH vezan je za broj i način polaganja

jaja na nekoj biljci domaćinu. Naime, ukoliko ženka u veoma kratkom vremenskom intervalu položi veći broj jaja, izbor pogrešne biljke bi onemogućio larveno razviće, a ženka bi bila onemogućena da ispravi grešku polaganjem jaja na nekoj drugoj biljci. Stoga bi polaganje većeg broja jaja u relativno kratkom vremenskom intervalu trebalo da favorizuje pozitivnu korelaciju preferencije i performanse. Konačno, ukoliko se adultne forme ne hrane, ili ispoljavaju fakultativnu afagiju, kao što je slučaj sa pasuljevim žiškom, veza preferencije i performanse bi trebalo da bude pozitivna.

Međutim, iako P populacije ispunjavaju mnoge gorenavedene kriterijume i pokazuju izraženu vezu između preferencije i performanse, jedinke selektovane na nautu u velikoj meri odstupaju od ovih očekivanja. Sposobnost diskriminacije domaćina prilikom ovipozicije u populacijama selektovanim na nautu je smanjena, uprkos činjenici da je preadultni vijabilitet nakon larvenog razvića na pasulju izuzetno nizak. Drugim rečima, izražena specijalizacija preadultnih faza razvića nije pratila specijalizaciju preferencije polaganja jaja prema tom domaćinu. Dodatno, jedna od upečatljivih karakteristika populacija pasuljevog žiška koje su veći broj generacija gajene na nautu jeste i povećano ulaganje u reprodukciju čak i u potpunom odsustvu biljke domaćina (engl. *egg dumping*, Stojković i sar. 2012). Jasno je da okolnosti koje se vezuju za evoluciju smanjene sposobnosti selekcije domaćina prilikom ovipozicije kod populacija selektovanih na nautu upućuju na dublju analizu odnosa osobina koje modeluju životnu strategiju. Naime, nije nepoznato da smanjena sposobnost biranja biljaka domaćina može biti adaptivna strategija, koja je kod fitofagnih insekata evoluirala kao odgovor na odsustvo dostupnih resursa (engl. *egg maturation hypothesis*, Papaj 2000, Wang i Horng 2004, Hougardy i sar. 2005). Prema ovom scenariju, ukoliko prestanak polaganja jaja ujedno narušava i procese koje vode njihovom sazrevanju, ženke koje kontinuirano, čak i u odsistvu biljke domaćina, polažu jaja mogu pokazivati određenu selektivnu prednost zbog toga što mogu početi da polažu jaja čim resursi postanu dostupni. Dodatno, ukoliko se ženke zateknu u sredinama u kojima imaju smanjene šanse da pronađu optimalnu biljku domaćina, neselektivno polaganje jaja može se pokazati kao adaptivno jer im povećava šanse da ostave potomstvo (Cheng i sar. 2008). Na taj način, neselektivno ponašanje ženki prilikom polaganja jaja utiče i na širenje opsega biljaka domaćina, a učestali susreti ženki fitofagnih insekata sa domaćinima koje ne preferiraju, ali na kojima se potomstvo

uspešno razvija, mogu održavati ovakav tip ponašanja u populacijama fitofagnih insekata. U skladu sa prethodnim nalazima o nediskriminativnom polaganju jaja jeste i smanjena sposobnost razlikovanja partnera kod C jedinki (Videti odeljak 5.3, Diskusija). Dakle, može se pretpostaviti da je sveukupna promena reproduktivnog ponašanja, u pravcu smanjene osetljivosti na identitet domaćina i partnera, strategija koja može povećati broj potomaka i, samim tim, šansu za ostavljanjem potencijalno uspešnog potomstva.

Na ovom mestu, može se postaviti pitanje u kojoj meri su nediskriminativne C jedinke sposobne da prime i obrade hemijske signale? Stepem preferencije prilikom ovipozicije kod jedinki selektovanih na pasulju ukazuje da oko 7 % ženki nema sposobnosti razlikovanja biljaka tokom ovipozicije. Imajući u vidu da su sve eksperimentalne populacije korišćene u ovoj studiji oformljene od iste osnivačke populacije gajene na pasulju, možemo pretpostaviti da su ove jedinke pokazivale slične obrasce ponašanja prilikom polaganja jaja kao i jedinke P populacija. Ukoliko je to tačno, u prvom koraku osnivanja novih populacija na nautu morale su biti selektovane upravo one jedinke koje su manje izbirljive prilikom polaganja jaja. Nadalje, tokom trajanja selekcije na nautu, mogli su biti favorizovani upravo žišci nediskriminativni u ovipoziciji budući da plastični mehanizmi percepcije i obrade informacije, kao i modifikacije ponašanja podrazumevaju brojne molekulske elemente i mogu biti „skupe“ komponente genoma (DeWitt i sar. 1998). Na primer, za uspešno prepoznavanje biljke domaćina neophodno je koordinisano funkcionisanje čulnih receptora i obrade prikupljenih signala. Kako navodi Kuningam (Cunningham 2012), proces obrade senzornih signala koji stižu iz neurona olfaktornih receptora u glomerule antenalnih lobusa može ograničiti evoluciju ponašanja insekata tokom odabira biljke domaćina. Jedna, u velikoj meri pojednostavljena, mogućnost je da svaki ORN aktivira specifičan glomerul, odakle se pristigli signali dalje prenose na više nervne centre. Druga, znatno realnija i kompleksnija, mogućnost je da u zavisnosti od mešavine signala koje insekti detektuju, pobuđeni glomeruli međusobno komuniciraju preko mreže interneurona, utičući na pojačavanje ili utišavanje signala. Na ovaj način formiraju se specifični obrasci prenosa signala na više nervne centre (engl. *blend-specific patterns of output firing*), a izlazni signal nije prost zbir svih pojedinačnih jedinjenja. Upravo ovakav način obrade u AL može imati veliki značaj za fitofagne insekte budući da omogućava

procesuiranje velikog broja stimulusa iz okruženja i određuje percepciju pogodnosti biljne vrste za ovipoziciju (Cunningham 2012). U ovom emergentnom kontekstu obrade informacija, promena samo jednog jedinjenja može izazvati promenu izlaznog signala čitave smeše jedinjenja i izmeniti „kategorizaciju“ neke biljke iz potpuno neatraktivne, ili slabo atraktivne, u biljku koja će biti privlačan izbor fitofagnim insektima. Drugim rečima, modifikacije u obradi signala biljaka fitofagne insekte mogu staviti u novi, prošireni kontekst koji im otvara mogućnosti istraživanja adaptivnog pejzaža i širenja opsega domaćina.

### ***5.2 Populaciono-ekološki parametri prilikom promene biljke domaćina***

Odgovor populacija na promenjene uslove sredine umnogome zavisi od osobina koje učestvuju u formiranju adaptivne vrednosti organizma i stepena plastičnosti komponenti adaptivne vrednosti odnosno, osobina životne istorije. Važno je naglasiti da se takve osobine mogu ispoljiti na različitim stupnjevima životnog ciklusa jedinki i mogu uticati na to da li će neka populacija u određenoj sredini opstati ili ne, da li će održati svoju brojnost na relativno stabilnom nivou, ili će pak napredovati (Maia i sar. 2000, Clark i Martin 2007, Boggs 2009, Sih i sar. 2012, Ghalambor i sar. 2015). Znajući da osobine životne istorije direktno formiraju adaptivnu vrednost jedinki i poseduju kapacitet da menjaju demografsku strukturu populacije (Caswell 1983, Chevin i sar. 2013), njihovo proučavanje olakšava analizu procesa prelaska fitofagnih insekata na nove biljke domaćine i otkriva puteve evolucionih strategija nastalih u takvim populacijama.

Načelno govoreći, populaciono-ekološki parametri stope rasta populacija *A. obtectus*, poput intrinzičke stope rasta populacije –  $r_m$  i konačne stope rasta populacije –  $\lambda$ , imaju pozitivne vrednosti bez obzira na to u kojoj fazi prelaska na nove biljke se nalaze posmatrane populacije. Ovakav rezultat ukazuje da su jedinke populacija pasuljevog žiška u stanju da odgovore na promenjene uslove životne sredine i održe izvesnu stopu populacionog rasta. Međutim, pažljivijom analizom pomenutih populaciono-ekoloških parametara uočavaju se izraženi obrasci fluktuiranja. Na osnovu analize promena osobina životne istorije u svakoj od faza procesa prelaska na novog domaćina – od početnog polaganja jaja na suboptimalnom domaćinu do transgeneracijskih procesa adaptacija na novoj biljci, moguće je bilo utvrditi koje promene životnih strategija dovode do izražene populacione dinamike.

U prvoj fazi, kada se insekti selektovani na optimalnoj biljci (pasulju) po prvi put sreću sa ovipozicijom na novoj biljci (semenu nauta), uočava se izražen pad potencijalne brojnosti populacije. Kako predviđaju ekološki modeli, parametri populacionog rasta izmenjeni su usled promene vremenskog rasporeda fekunditeta - odlaganja reprodukcije, ali i smanjenog fekunditeta na nautu (Gaillard i sar. 2005, Jones i sar. 2008).

U sledećoj fazi prelaska na novu biljku, kroz plastično prilagođavanje puteva razvića, jedinke selektovane na pasulju, a nakon razvića na nautu, menjaju svoj reproduktivni raspored na način da ranije započinju ovipoziciju uz istovremeno povećanje fekunditeta.

Da strategija promene rasporeda polaganja jaja može značajno uticati na populacione parametre (Eck 2015 i ref. unutar), najjasnije se uočava kod populacija selektovanih na nautu koje su polagale jaja na pasulju. Vrednosti populacionog rasta u potpunosti su izjednačene sa populacijama prilagođenim semenima pasulja usled povećanog ulaganja u reprodukciju i smanjenog stepena diskriminacije tokom izbora biljke domaćina. Sekundarni susret C populacija sa nekada optimalnim domaćinom može se očekivati u skladištima leguminoza koja menjaju sadržaj semena. Kako se pokazalo, u ovoj prvoj fazi sekundarnog kontakta sa pasuljem, populacije adaptirane na naut pokazuju visok potencijal za opstanak i vraćanje na pasulj.

Međutim, dramatičan pad preadultnog vijabiliteta nakon jedne generacije razvića u semenu pasulja (druga faza sekundarnog kontakta sa pasuljem), drastično obara vrednosti parametara populacionog rasta. Zbog nemogućnosti da kroz plastične odgovore prilagode svoje razviće na nekada optimalnom domaćinu, populacije adaptirane na naut imaju veoma redukovan populacioni rast nakon ontogeneze na pasulju. Dakle, iako reproduktivni potencijal C jedinki raste na pasulju, loše preživljavanje u ranim fazama razvića u semenu pasulja značajno smanjuje potencijal žižaka selektovanih na nautu da formiraju velike populacije na pasulju. Tačnije, specijalizacija preadultnog razvića na naut značajno umanjuje verovatnoću povratka velikih potentnih populacija na pasulj.

Evolucione posledice prikazane populacione dinamike mogu biti velike. Evolucionarna teorija predviđa da drastično smanjenje broja jedinki koje uspešno preživljavaju u izmenjenim životnim uslovima, smanjuje genetičku varijabilnost

populacije i, posledično, njen evolucionni potencijal. Pored velikih efekata selekcije, smanjena efektivna veličina populacije podrazumeva i povećan efekat genetičkog drifta. Uloga adaptivne fenotipske plastičnosti u održavanju genetičke varijabilnosti unutar populacija koje su izložene intenzivnim sredinskim promenama, potvrđena je i u skorašnjem heurističkom modelu (Gomez-Mestre i Jovani 2013). Prema ovom modelu, populacije koje imaju adekvatan plastičan odgovor na promenjene uslove su, s jedne strane, u većoj meri zaštićene od efekata purifikujuće selekcije jer povećavaju broj genotipova koji su u stanju da prevaziđu nastale uslove, dok s druge, strane umanjuju efekte genetičkog drifta održavajući brojnost populacije na određenom nivou. Ovakve rezultate potvrđuje i matematički model prema kome plastičnost može izazvati promenu mutacionog obrasca, voditi ka povećanju genetičke varijanse i evolvibilnosti populacija u uslovima sredinske heterogenosti (Draghi i Whitlock 2012). Analize fenotipske varijanse laboratorijskih populacija žižaka adaptiranih na alternativne domaćine pokazale su da sve populacije, nakon više od 40 ili 230 generacija evolucije u eksperimentalnim uslovima, održavaju visok nivo genetičke varijabilnosti osobina i njihove plastičnosti ukazujući na postojanje potencijala za dalju evoluciju.

### ***5.3 Reproductivno ponašanje i prekopulatorna reproductivna izolacija***

#### **5.3.1 Plastičnost reproductivnog ponašanja tokom prvih faza promene domaćina**

Prva faza prelaska insekata na nove biljke domaćine sa sobom nosi veliki broj izazova. Kao što je već istaknuto, posebno važnu ulogu tokom ovog procesa ima larveno razviće koje, pod uticajem izmenjenog kvaliteta hrane (Awmack i Leather 2002 i ref. unutar), može imati važnu ulogu u izmeni obrazaca životnih strategija (Messina i Fry 2003, Vanbergen i sar. 2003, Huang i sar. 2005, Messina i sar. 2009). Takođe, promene sastava i kvaliteta hrane imaju potencijal da utiču na reproductivno ponašanje i obrazac razmnožavanja što je pokazano kod velikog broja insekata (Denno i McCloud 1985, Ernsting i sar. 1992, Sokolovska i sar. 2000, Awmack i Leather 2002, Boggs i Freeman 2005, Etges i Tripodi 2008, Eraly i sar. 2009, Gosden i Chenoweth 2011, Lewis i sar. 2012). Imajući u vidu da se fenotipska plastičnost kod životinja u velikoj meri odnosi i na plastičnost reproductivnog ponašanja (Badyaev 2005), sasvim je očekivano da jedinke tokom procesa promene biljke domaćina modifikuju i svoje reproductivne



strategije. U osnovi, plastičnost reproduktivnog ponašanja zasniva se na sposobnosti jedinki da plate cenu, ili da profitiraju od izbora potencijalnih partnera, a variranje preferencije je često sredinski uslovljeno (Cotton i sar. 2006).

Poređenjem svih tipova ukrštanja u eksperimentu u kom je analizirano reproduktivno ponašanje populacija pasuljevog žiška u različitim fazama prelaska na druge biljke domaćine, jasno je pokazano da su jedinke selektovane i gajene na pasulju (Pp eksperimentalna grupa) u homotipskom ukrštanju imale najveći reproduktivni uspeh u poređenju sa ostalim eksperimentalnim grupama. Ovo se ogledalo kroz povećanje učestalosti ukrštanja, povećanje opšte sklonosti ka ukrštanju i višom reproduktivnom adaptivnom vrednošću u odnosu na bilo koju drugu eksperimentalnu grupu. Dodatna specifičnost Pp eksperimentalne grupe u homotipskom ukrštanju bilo je i odlaganje početka kopulacije. Ovakve vrednosti reproduktivnih osobina ukazuju na sposobnost Pp jedinki da u velikoj meri prepoznaju partnere koji vode poreklo iz iste eksperimentalne grupe i da odvoje dodatno vreme u proceni njihovog kvaliteta. Dodatno, ovi rezultati svedoče o viskom stepenu sinhronizacije između emitovanja, prikupljanja i obrade specifičnih reproduktivnih signala (Ali i Agrawal 2012). Stoga je sasvim opravdano pretpostaviti da su odgovarajući signali postepeno oblikovani tokom evolucione istorije pasuljevog žiška na optimalnoj biljci domaćinu. Na taj način jedinkama je omogućeno da naprave fine razlike između potencijalnih partnera i povećaju verovatnoću da se ukrste sa jedinkama visokog kvaliteta (Castellano i sar. 2012). Ovi zaključci podržani su i činjenicom da u heterotipskim ukrštanjima Pp jedinke smanjuju učestalost ukrštanja i snižavaju nivo izbirljivosti partnera što se manifestuje ranijim ulaskom u reprodukciju. Razlozi zbog kojih dolazi do velikih promena u reproduktivnom ponašanju mogu se delimično objasniti izmenjenim obrascima molekula koji učestvuju u procesima seksualne signalizacije usled kratkoročne ili dugoročne promene biljke domaćina (npr. CHC profili, Videti odeljak 5.3.1.1, Diskusija).

U prvim fazama prelaska na novu biljku domaćina, tj. kada jedinke koje vode poreklo sa P selekcionog režima završavaju larveno razviće na nautu (Pc eksperimentalna grupa), učestalost ukrštanja je manja, smanjuje se opšta sklonost ka ukrštanju, a reproduktivna adaptivna vrednost opada u odnosu na jedinke koje su završile svoje razviće na pasulju (Pp eksperimentalna grupa). Ove promene bile su

uočljive čak i u okviru homotipskih ukrštanja jedinki Pc grupe koje su u proseku imale manji procenat uspešnih kopulacija i smanjenu sposobnost izbora partnera u poređenju sa eksperimentalnom grupom koja se razvijala na optimalnoj biljci. Dakle, razviće na suboptimalnom domaćinu smanjuje sposobnost razlikovanja i prepoznavanja potencijalnih partnera. Međutim, i pored toga što jedinke Pc eksperimentalne grupe u poređenju sa Pp jedinkama pokazuju nižu reproduktivnu adaptivnu vrednost, smanjena izbirljivost partnera može predstavljati adekvatnu strategiju kao odgovor na novog domaćina pružajući prednost nediskriminativnim jedinkama. Naime, ukoliko izmenjena sredina remeti mogućnost percepcije signala drugih jedinki i/ili informacije o potencijalnim partnerima ne mogu biti pouzdane zbog promenjenih sadržaja, proces izbora partnera ne može biti adekvatan. Drugim rečima, adaptivna cena pronalaženja partnera i izbirljivosti može biti isuviše velika u odnosu na nediskriminativno reproduktivno ponašanje budući da diskriminacija signala nije pouzdana (Hingle i sar. 2001, Härdling i Kokko 2005, Hunt i sar. 2005, Ingleby i sar. 2013a).

#### *5.3.1.1 Promena CHC profila kao posledica promene ishrane*

Kutikularni ugljovodonici insekata imaju veoma raznovrsne biološke uloge (Howard i Blomquist 2002). Samim tim, CHC profili insekata izloženi su brojnim selekcionim pritiscima koji mogu uticati na broj detektovanih jedinjenja, zastupljenost određenih klasa jedinjenja ili uticati na relativne zastupljenosti detektovanih jedinjenja (Menzel i Schmitt 2012 i ref. unutar). Brojni primeri koji vrlo jasno povezuju izmenu CHC profila i povećanu adaptivnu vrednost mogu se naći kod insekata koji se nalaze u predelima koji imaju produžene sušne periode. Ove studije su vrlo jasno pokazale da insekti koji imaju CHC profile sa dužim ugljovodonicima imaju povećane šanse da prežive nepovoljne uslove (Gibbs i sar. 2003, Rouault i sar. 2004, van Wilgenburg i sar, 2011). Slični CHC profili dovođeni su u vezu i sa povećanjem fertiliteta (Liebig 2010) ili smanjenim stepenom interspecijske kompeticije kod nekih vrsta mrava (Menzel i sar. 2008b, Menzel i Schmitt 2012). Iz ovih primera jasno se izvodi zaključak da CHC jedinjenja imaju važnu ulogu u adaptivnom odgovoru uzrokovanom promenom sredine.

Pored toga što se CHC profili insekata mogu menjati usled klimatskih faktora, jedan od važnih selekcionih pritisaka koji može uticati na promenu kvalitativnog i kvantitativnog sastava kutikularnih ugljovodonika je i promena ishrane (Howard i

Blomquist 2005, Havens i Etges 2013, Etges i de Oliveira 2014, Xue i sar. 2016). U skladu sa tim, studija na eksperimentalnim populacijama pasuljevog žiška koje su selektovane na pasulju i nautu pokazala je značajne kvantitativne razlike CHC profila. Naime, kako semena pasulja i nauta poseduju izražene razlike u hemijskom sastavu, a samim tim izlažu populacije različitim selekcionim pritiscima, sasvim je moguće da su pomenute razlike u hemijskom sastavu bile dovoljne da izmene metaboličke puteve biosinteze CHC i posledično, promene njihove relativne zastupljenosti. Ovakav scenario je sasvim moguć imajući u vidu da selekcija za različite biljke domaćine može uticati na genetičku osnovu i nivo ekspresije onih gena koji kodiraju za enzime koji su deo puta u sintezi i određuju količinu kutikularnih ugljovodonika (Chung i Carroll 2015). Iako su podaci u vezi sa detekcijom i nivoom ekspresije prevazilazili ciljeve ove studije, istraživanja na vinskoj mušici su potvrdila postojanje vrlo složenih mreža gena koje učestvuju u sintezi CHC (Marcillac i Ferveur 2004, Marcillac i sar. 2004). Dodatno, ukoliko se uzme u obzir da geni mogu menjati profil svoje ekspresije kao odgovor na promenjene uslove sredine, značaj koji promena ishrane može imati u formiranju specifičnog CHC sastava insekata postaje vrlo jasan. Samim tim, i pitanje na koji način ishrana larvi dovodi do promene u ekspresiji gena postaje veoma značajno, jer pored toga što može uticati na evolucionu putanju određene populacije, može odgovoriti i na fundamentalna pitanja funkcionalnosti genoma i njihove usklađenosti sa promenama koje se dešavaju u spoljašnjoj sredini.

Kao što je već istaknuto, preduslov za promenu biljke domaćina i eventualnu posledičnu ekološku specijalizaciju podrazumeva inicijalno prihvatanje nove biljke (Forbes i sar. 2005). S obzirom da svaka jedinka koja je preživela takvu promenu može ispoljiti specifičan hemijski identitet, tj. izmeniti sastav i/ili količinu CHC, takva promena takođe poseduje i potencijal da izmeni složene biološke uloge hemijske komunikacije između jedinki (npr. pronalaženje i prepoznavanje partnera, Liang i Silverman 2000). Istovremeno, uspešno zauzimanje nove ekološke niše zavisi i od efikasnosti prirodne selekcije da favorizuje lokalne adaptacije populacija povećavajući nivo asortativnog ukrštanja i filopatrije (Whitlock 1996). Samim tim, promene CHC „buketa“ uzrokovane izmenjenom ishranom tokom larvenog razvića mogu igrati važnu ulogu u procesima promene biljke domaćina, ekološke specijalizacije i prezigotske reproduktivne izolacije (Ferveur 2005). Ova predviđanja potvrđena su kod većeg broja

vrsta insekata kod kojih promena ishrane direktno utiče na reproduktivne signale jedinki (Etges i Tripodi 2008, Geiselhardt i sar. 2012, Havens i Etges 2013). Prema Fedina i sar. (Fedina i sar. 2012), promena kvaliteta hrane utiče na sintezu određenih klasa CHC koje mogu imati suprotne efekte na reproduktivno ponašanje jedinki, odnosno neka jedinjenja mogu privlačiti, dok druga mogu odbijati partnera čime se šalju neusaglašeni seksualni signali. Drugim rečima, interakcija genotipa i sredine može izmeniti obrasce seksualne signalizacije utičući na kvalitet i pouzdanost informacija koje ovi signalni molekuli nose (Higginson i Reader 2009, Ingleby i sar. 2013b). Analize CHC profila pasuljevog žiška potvrdile su da kratkoročne, ali i dugoročne promene biljke domaćina menjaju njihov kvantitativni sastav. Ovakve promene, uz detektovane razlike između polova, mogu biti jedan od prvih pokazatelja ekološke adaptacije na promenjene domaćine i jedinkama mogu služiti kao izvor informacija o nutritivnoj istoriji drugih jedinki. Ukoliko je to tačno, informacije prikupljene na ovaj način mogu uticati i na nivo asortativnog ukrštanja između jedinki, što dodatno oblikuje profile kontaktnih feromona mehanizmima seksualne selekcije (npr. kod *Chorthippus parallelus* Zetterstedt, Tregenza i sar. 2000, ili *Blattella germanica* L., Rivault i sar. 2002).

### **5.3.2 Dugoročni efekti promene domaćina na reproduktivno ponašanje**

Dugoročni efekti promene biljke domaćina na reproduktivno ponašanje u načelu su pratili promene nastale nakon kratkoročne promene domaćina. Reproductivne strategije jedinki selektovanih na nautu (Cc i Cp eksperimentalne grupe) u najvećoj meri su bile slične strategijama jedinki Pc grupe – smanjena izbirljivost partnera i vreme potrebno za ocenu partnera. Postoje dva objašnjenja koja mogu opisati odnose između kratkoročnih i dugoročnih efekata promene biljke domaćina. Prvo, razviće jedinki na nautu može, iz generacije u generaciju, indukovati iste plastične odgovore populacija u reproduktivnom ponašanju, bez bilo kakvih evolucionih promena u genima koji učestvuju u funkcionisanju razvojnih sistema i osobinama ponašanja. Da bi ova pretpostavka o jednostavnoj sredinskoj indukciji bila potvrđena, trebalo bi očekivati da će razlike između jedinki koje su završile razviće na istom domaćinu biti smanjene, bez obzira na to kom selekcionom režimu te jedinice pripadaju. Međutim, poređenje eksperimentalnih grupa koje vode poreklo sa različitih selekcionih režima, a preadultno razviće su završile na pasulju (Pp i Cp eksperimentalne grupe), pokazalo je da obrazac

reproduktivnog ponašanja karakterističan za homotipska ukrštanja jedinki Pp grupe nije ponovno uspostavljen. Takav rezultat ukazivao je na značajnu genetičku divergenciju između populacija koje su evoluirale na različitim biljkama domaćinima. Sličnost između reproduktivnog ponašanja žižaka nakon kratkoročnog efekta subotimalnog domaćina (Pc grupa) i populacija adaptiranih na naut (Cc i Cp grupe), može se objasniti modelom genetičke asimilacije (Crispo 2007). Ovaj fenomen podrazumeva evolucioni proces u kome fenotipsko svojstvo, inicijalno indukovano sredinskim uticajem, postaje, kroz delovanje prirodne selekcije, preuzeto od strane genotipa i može se nadalje formirati bez sredinskog stimulusa (Waddington 1961). Smanjena diskriminativna sposobnost potencijalnih partnera, koja je indukovana razvićem P žižaka na suboptimalnom domaćinu, održana je nakon više od 40 generacija selekcije i postala je nezavisna od kratkoročnog domaćina (C žišci). Drugim rečima, višegeneracijska selekcija na semenima nauta genetički je asimilovala takve, inicijalno plastične odgovore osobina koje učestvuju u reproduktivnom ponašanju. Prema Badijevu (Badyaev 2005), ukoliko se indukovana fenotipska varijansa (npr. osobine reproduktivnog ponašanja), u okvirima postojećih sistema, može razvojno kanalisati i ukoliko su tako indukovane strategije favorizovane tokom i nakon nastalih promena sredine, selekcija će stabilizovati takve promene koje bi u populaciji bile asimilovane kroz seriju kvantitativno-genetičkih promena (Oyama 2000, West-Eberhard 2003, Suzuki i Nijhout 2006, Lande 2009, Pfennig i sar. 2010, Duckworth 2013). U skladu sa predviđanjima teorije genetičke asimilacije (Crispo 2007, Pfennig i sar. 2010), plastični odgovori reproduktivnog ponašanja su nakon višegeneracijske selekcije na nautu izgubljeni, odnosno sposobnost jedinki da biraju svoje partnere je značajno umanjena. Smanjenje opsega plastičnog odgovora jedinki selektovanih na nautu može se uočiti i kod nekih drugih osobina ponašanja vezanih za polaganje jaja kao i kod osobina životne istorije (Videti odeljak 5.1, Diskusija). Tako na primer, jedinke koje su jednu generaciju gajene na nautu, počinju u većoj meri da polažu jaja čak i u odsustvu zrna koja stimulišu ženke da polažu jaja. Takođe, odsustvo plastičnosti kod C populacija, kroz gubitak sposobnosti razlikovanja biljaka za ovipoziciju, može se razumeti kroz evolucioni fenomen genetičke asimilacije (Videti deo 5.1.3, Diskusija). Ranije smo već razmatrali razloge zbog kojih sredinski usmereno reproduktivno ponašanje može, pod delovanjem prirodne selekcije, biti genetički stabilizovano. Efekti takvog ponašanja, za početak,

moraju biti adaptivni. Populacija koja dugoročno usvoji strategiju sredinske neosetljivosti može slobodnije „istraživati“ životno okruženje, širiti opseg biljaka koje mogu koristiti u svojoj ishrani, što konačno povećava verovatnoću pronalaženja odgovarajuće biljke domaćina (Cheng i sar. 2008).

Uzimajući u obzir promene celokupne životne strategije žižaka tokom evolucije na suboptimalnom domaćinu, asimilacija nediskriminativnog reproduktivnog ponašanja i smanjen opseg plastičnih odgovora na alternativne domaćine mogu se smatrati adaptivnim. Jedinke adaptirane na naut provode malo vremena u proceni partnera nakon razvića na pasulju i značajno povećavaju učestalost uspešnih kopulacija. Tako povećano ulaganje u reprodukciju i neselektivna reprodukcija može kompenzovati nizak nivo preživljavanja larvi na pasulju, odnosno prevazići probleme s kojima se populacije suočavaju zbog specijalizacije larvi.

Analiza reproduktivnog ponašanja jedinki C selekcionog režima ukazala je da je genetička stabilizacija nediskriminativnog parenja nije bila povezana sa gubitkom sposobnosti primanja seksualnih signala. Prema Ronald i sar. (Ronald i sar. 2012), nediskriminativno seksualno ponašanje može biti posledica umanjene sposobnosti razlikovanja partnera, ili usled samog smanjenja izbirljivosti, kada jedinke mogu zanemariti signale koje su primile. Rezultati, o kojima će više biti reči u narednom poglavlju, pokazuju da nediskriminativni mužjaci, koji su evoluirali na nautu, imaju sposobnost da razlikuju potencijalne partnerke na osnovu njihovih CHC profila.

### **5.3.3. Prekopulatorna reproduktivna izolacija izazvana promenom domaćina**

Važna veza reproduktivnog ponašanja i kratkoročnih promena biljke domaćina tokom preadultnog razvića je istaknuta ranije (Videti odeljak 5.3.1, Diskusija). Međutim, i pored njihovih značajnih efekata na promenu reproduktivnog ponašanja, kratkoročno razviće na alternativnim biljkama nije uspevalo da pređe granicu koja bi izazvala značajno povećanje prekopulatorne reproduktivne izolacije ( $I_{PSI}$  parametar nivoa reproduktivne izolacije kod heterotipskih ukrštanja  $Pp \times Pc$  i  $Cc \times Cp$  nije pokazivao statistički značajne razlike). Međutim, promene reproduktivnog ponašanja koje su nastajale nakon kratkoročnog izlaganja nedvosmisleno su imale udela u pojavi niskog,

ali značajnog stepena prekopulatorne reproduktivne izolacije između eksperimentalnih grupa koje su tokom većeg broja generacija bile gajene na alternativnim biljkama domaćinima. Bez ikakve dileme, jedinke koje su najodgovornije za ovakve obrasce pripadaju eksperimentalnoj grupi koja je selektovana i gajena na optimalnoj biljci – pasulju. Naime, obrasci reproduktivnog ponašanja Pp jedinki, pre svega njihova izbirljivost i učestalost ukrštanja, bili su značajno izmenjeni prilikom kontakta sa drugim eksperimentalnim grupama. Ovakav rezultat se može interpretirati u svetlu opšte nevoljnosti jedinki Pp grupe da stupaju u interakcije sa jedinkama koje su uspostavile drugačije fenotipske odlike koje se odnose na signale prepoznavanja, ili imaju smanjenu sposobnost biranja partnera.

Postoje dva osnovna razloga zbog kojih su promene nivoa reproduktivne izolacije koja se oslanja na promenu ponašanja imale i svoju genetičku komponentu. Pre svega, ukoliko bi se nastale promene oslanjale isključivo na promenu izazvanu sredinskim uticajima, nivo reproduktivne izolacije pokazivao bi značajne razlike između eksperimentalnih grupa gajenih na ustaljenom domaćinu i onih gajenih na alternativnom domaćinu tokom samo jedne generacije. Studija na pasuljevom žišku nije pokazala takve rezultate, što se suprotstavlja rezultatima dobijenim na *Phaedon cochlearie* Fabricius koji su pokazali da kratkoročna promena ishrane od svega 42 dana može izazviti značajnu reproduktivnu izolaciju između populacija (Geiselhardt i sar. 2012)! Drugi argument koji ide u prilog genetičkoj divergenciji populacija gajenih na pasulju i nautu tokom većeg broja generacija predstavlja značajna reproduktivna izolacija jedinki Pp eksperimentalne grupe i jedinki C selekcionog režima, bez obzira na identitet biljke domaćina na kome je završeno njihovo larveno razviće (Cc i Cp eksperimentalne grupe). Takođe, značajne korelacije CHC jedinjenja i učestalosti ukrštanja zabeležene su samo između C eksperimentalnih grupa. Sudeći prema Etgas i Tripodi (Etges i Tripodi 2008), koji su pokazali slične rezultate na *Drosophila mojavensis* Patterson, ovakav rezultat je sasvim očekivan ukoliko CHC molekuli u većoj meri utiču na seksualnu izolaciju između populacija u poređenju sa njihovim intrapopulacionim ulogama tokom izbora partnera. Međutim, ovakav rezultat svakako ne isključuje mogućnost da jedinke unutar određene populacije mogu pokazati sklonost ka tačno određenom CHC profilu koji je specifičan za neku populaciju.

Potrebno je naglasiti i da su eksperimentalne grupe kojima je praćeno reproduktivno ponašanje zapravo simulirale događaje koji se vezuju za različite faze promene domaćina. Na taj način eksperimentalne grupe su oslikavale kako inicijalno širenje i konačno prihvatanje nove biljke domaćina utiču na reproduktivno ponašanje jedinki. Rezultati ovako postavljenog eksperimenta snažno podupiru pretpostavku da sredinski indukovana fenotipska varijabilnost zauzima važno mesto u početnim fazama prelaska na novu biljku domaćina, čime se direktno utiče na divergenciju evolucionih putanja kada je u pitanju izbor partnera. Tako su populacije gajene na optimalnom domaćinu pokazale vrlo visok nivo asortativnog ukrštanja i značajan plastičan odgovor kada je u pitanju preferencija partnera. Posledice kratkoročnog razvića na alternativnoj biljci tokom samo jedne generacije izazvale su gubitak osetljivosti prepoznavanja partnera. Ovakvo smanjenje plastičnosti održalo se i nakon više od 50 generacija selekcije na nautu kada su jedinke postale potpuno nediskriminativne kada je u pitanju izbor partnera. Stoga je jasno da smanjenje sposobnosti razlikovanja partnera, odnosno smanjenje plastičnog odgovora osobina reproduktivnog ponašanja, predstavljaju odličan primer transgeneracijskog kanalisanja razvića koji je pratio odgovor nastao tokom procesa prelaska na nove biljke domaćine (*sensu* Waddington 1953).

Ovako koncipirana studija doprinosi i potpunijem razumevanju još jednog fundamentalnog pitanja evolucione biologije. Naime, proučavanjem osobina reproduktivnog ponašanja moguće je ustanoviti da li fenotipska plastičnost predstavlja prepreku, ili potpomaže divergenciji populacija kada je u pitanju izbor partnera (Fitzpatrick 2012)? U ranijim odeljcima je bilo reči o tome kako su jedinke selektovane i gajene na pasulju u velikoj meri sposobne da prepoznaju i selektuju svoje potencijalne partnere, pokazujući veliku sklonost prema jedinkama koje pripadaju istoj eksperimentalnoj grupi (Videti odeljak 5.3, Diskusija). Takođe, pokazano je da kratkoročno razviće na nautu narušava sposobnost razlikovanja partnera, što se odrazilo i na smanjenje nivoa asortativnog ukrštanja i, posledično izazvalo gubitak reproduktivne izolacije između Pc jedinki i jedinki selektovanih na nautu. Rezultati ove studije sa jedne strane jasno ukazuju na mogućnost da je plastičnost razvića mogla biti okidač koji je izazivao promene u ponašanju jedinki koje su konačno vodile nastanku povećane reproduktivne izolacije između jedinki koje su selektovane na različitim biljkama domaćinima. S druge strane, plastični odgovori osobina ponašanja koji su



karakteristična za Pp grupu mogu, pod određenim okolnostima, umanjiti efekte reproduktivne izolacije koja se oslanja na izbor partnera. Ovakvi rezultati ukazuju da su efekti plastičnosti tokom divergencije populacija u velikoj meri zavisni od evolucionih tokova same plastičnosti kao osobine (Schlichting i Pigliucci 1998, Pigliucci 2001, Pfennig i sar. 2010).

#### ***5.4 Fenotipska plastičnost i ekološka specijacija***

Primeri u kojima fenotipska plastičnost ima ključnu ulogu u prvim koracima adaptivne evolucije i kasnije ekološke specijalizacije različitih evolucionih linija postaju sve brojniji (Price i sar. 2003, Ghalambor 2007, Pfennig i sar. 2010, Ghalambor 2015). Vest-Eberhard (West-Eberhard 2003) u svom modelu razvojne plastičnosti ilustruje na koje sve načine fenotipska plastičnost doprinosi procesima specijacije. Prema ovoj hipotezi, evolucija različitih ekoloških formi, koje se nalaze u specifičnim sredinskim kontekstima, zavisi od početne sposobnosti jedinki da produkuju alternativne fenotipove. Drugim rečima, predačke populacije ispoljavaju različite alternativne fenotipove u promenjenim uslovima spoljašnje sredine, odnosno ispoljavaju fenotipsku plastičnost. Dodatno, ono što se posebno izdvaja u ovakvom modelu je to da, ukoliko postoji čvrsta veza između adaptivne fenotipske plastičnosti i sredinskih činilaca, procesi specijacije se mogu relativno brzo odigrati prateći sledeći scenario. Prvo, alternativni fenotipovi postaju fiksirani u populaciji usled uticaja sredinskih faktora, a promene genetičke strukture populacije su veoma malo izražene. Sledeće faze u ovom procesu obuhvataju mehanizme genetičke asimilacije koji dodatno, u genetičkom smislu, oblikuju populacije i odgovaraju na različite uzroke divergentne selekcije. Konačno, ovakvo stanje vodi i nastanku reproduktivne izolacije između populacija što može biti direktna posledica adaptivne divergencije i seksualne selekcije. Prema rečima Ficpatrika (Fitzpatrick 2012), ovakva hipoteza je očigledno dobro usklađena sa koncepcijom ekološke specijacije kada plastičnost putanja razvića podstiče genetičke razlike između populacija kao odgovor na ekološki zasnovane pritiske. Dakle, procesi fenotipske plastičnosti su u stanju da deluju kako na procese adaptivne divergencije populacija, tako i na evoluciju stope reproduktivne izolacije, čime aktivno utiču na dinamiku procesa ekološke specijacije.

Modeliranjem adaptivne fenotipske plastičnosti izvedeni su zaključci koji ukazuju da, pod tačno određenim uslovima, može doći do produkcije optimalnog fenotipa u različitim sredinskim okolnostima (Thibert-Plante i Hendry 2011). Direktna posledica ovakve situacije bilo bi podjednako uspešno preživljavanje i reprodukcija datog fenotipa u različitim sredinama što bi, usled nepostojanja varijabilnosti, usporilo ili sasvim onemogućilo procese divergencije između populacija (DeWitt i Scheiner 2004). Međutim, u najvećem broju slučajeva, jedan fenotip nije u stanju da podjednako uspešno odgovori na promenu sredine, što nužno vodi ka različitim adaptivnim vrednostima fenotipova u različitim sredinama, posledično indukujući divergenciju populacija. Drugim rečima, umerena fenotipska plastičnost može pomoći jedinkama da uspešno kolonizuju nove sredine, čime se automatski započinju procesi divergentne selekcije u novim ekološkim kontekstima (Fitzpatrick 2012). Svakako, mora se uzeti u obzir i teorijsko predviđanje prema kome bi, u odsustvu protoka gena, čak i najmanje izražene razlike u sredinama posedovale potencijal da izazovu određen stepen divergencije populacija.

Jedan od poznatijih primera kako promena biljke domaćina može pokrenuti i procese ekološke specijacije je vrsta *Rhagoletis pomonella* Walsh, koja uobičajeno naseljava lokalne, severnoameričke vrste roda *Crataegus*. Naime, kada je sredinom šezdesetih godina dvadesetog veka u severo-istočni deo Severne Amerike zasađena vrsta jabuke, *Malus pumila* Mill., koja je tipična za Evropu, svega nekoliko godina kasnije, populacije *R. pomonella* nastanjuju jabuke, divergiraju i formiraju simpatričke grupe, dobijajući status vrste u nastajanju (engl. *incipient speciation event*). Dve simpatričke grupe vrste *R. pomonella*, od kojih jedna naseljava vrste roda *Crataegus*, dok druga naseljava *M. pumila*, pokazivale su genetičke razlike u preferenciji prema svojim biljkama domaćinima, razlike u vremenu izlaska nakon diapauze (temporalna prezigotska reproduktivna izolacija) i učestalosti nekih alozima. Vreme sazrevanja, mesto i specifični hemijski signali koje odaju biljke domaćini su, u najvećoj meri, doprineli uočenim obrascima izolacije. Ovo je veoma dobra ilustracija kako ekološki i etološki faktori mogu dovesti do reproduktivne izolacije simpatričkih populacija koje interaguju (Bush 1994) (Videti odeljak 1.4, Uvod). Međutim, genetičke analize mitohondrijske i cDNK meksičkih populacija *R. pomonella*, koje nastanjuju vrste roda *Crataegus*, donekle odstupaju od široko prihvaćenog scenarija simpatričkog nastanka

novih rasa uzrokovanog promenom biljke domaćina. Naime, pojedine sekvence ukazuju na činjenicu da je barem određeni deo genetičke raznovrsnosti koji je omogućio promenu biljke domaćina populacijama *R. pomonella* nastao u Meksiku. Ovo se pre svega odnosi na introgresiju inverzionog polimorfizma koja je mogla dovesti do promene vremena diapauze, što bi populacijama iz SAD omogućilo prelazak na novu biljku domaćina, a naizgled simpatrička specijacija bi u tom slučaju imala svoje „alopatričke korene“ (Rull i sar. 2010 i ref. unutar). Ovakva studija ukazuje da su situacije u prirodi često znatno kompleksnije nego što bi empiričari, ali i teoretičari priželjkivali.

Prateći životne strategije, postaje vrlo jasno da su populacije pasuljevog žiška selektovane na pasulju uspele da na plastičan način prilagode putanje svog razvića pri prvom kontaktu sa semenima nove biljke i da se uspešno prilagode višegeneracijskoj promeni biljke domaćina. Ovakva, inicijalno plastična promena životnih strategija, tokom većeg broj generacija vodila je ka zauzimanju novog adaptivnog vrha kod populacija selektovanih na nautu. Najjasniji pokazatelji očigledne divergencije populacija prilikom procesa prelaska na novu biljku mogu se uočiti kada se jedinke razvijaju na domaćinima koji nisu bili specifični za dati selekcionni režim. Rezultati ove studije govore i o smanjenoj sposobnosti jedinki prilagođenih na nautu da na plastičan način prilagode osobine životne istorije i ponašanje prilikom polaganja jaja (Videti odeljak 5.1, Diskusija). Izražene razlike u stepenu plastičnosti osobina, kao i u prosečnim vrednostima osobina, veoma jasno ukazuju na ekološki zasnovanu genetičku divergenciju između populacija. Odsustvo plastičnog odgovora populacija selektovanih na nautu prati predviđanja modela Vest-Eberhard (West-Eberhard 2003) prema kome inicijalna plastičnost u promenjenim sredinskim kontekstima može voditi genetičkoj asimilaciji osobina.

Konačno, fenotipska plastičnost ima velikog udela i u nastanku reproduktivne izolacije između populacija koje se razvijaju u različitim sredinama. Izmenjena sredina može voditi ka nastanku razlika u preferenciji partnera usled promenjenih reproduktivnih signala, ili načina na koji se ti signali obrađuju (Videti odeljak 5.3.1.1, Diskusija). U genetičkom smislu, sredinski indukovana reproduktivna izolacija može imati veoma slične efekte kao izolacija nastala usled postojanja geografske barijere

(Fitzpatrick 2008). Osnovni činilac hipoteze plastičnosti razvića je uspostavljanje čvrste veze sredine u kojoj se razvijaju roditelji i njihovo potomstvo. Stoga je sasvim očekivano da fenotipska plastičnost onih osobina koje su usko povezane sa ekološkim uspehom sa jedne, i procesima asortativnog ukrštanja sa druge strane, ima najvećeg udela u procesima ekološke specijacije. U takvim okolnostima se, između ostalog, može očekivati evolucija asortativnog ukrštanja između partnera koji vode poreklo sa iste sredine.

### **5.5 Pravci budućih istraživanja**

Ova studija pokazala je veoma zanimljive rezultate o načinima na koje populacije pasuljevog žiška menjaju veliki broj osobina životne istorije i ponašanja kako bi se prilagodile novoj biljci domaćinu. Nesporno je pokazano da fenotipska plastičnost ima značajne uloge u procesima ekološke specijacije i to na dva načina. Prvo, fenotipski adaptivni odgovori na prvo suočavanje sa specifičnostima nove biljke, omogućavaju inicijalni opstanak jedinkama i populacijama u novom sredinskom kontekstu. Drugo, sama fenotipska plastičnost, odnosno genetička osnova regulatornih mehanizama koji leže u osnovi primanja i obrade sredinskih informacija, jeste osobina *per se* na koju deluje selekcija favorizujući različite pravce i opsege plastičnih odgovora. Rezultati su jasno pokazali da je u predačkim populacijama favorizovano održavanje osetljivosti (plastičnosti) razvića i reproduktivnog ponašanja, dok je transgeneracijski prelazak na novog domaćina bio označen kanalisanjem razvića i sužavanjem normi reakcija za sve analizirane osobine. Ova studija predstavlja polaznu tačku za buduća istraživanja koja se vezuju za problematiku prelaska na nove biljke domaćine. Sledeći segmenti ukratko opisuju pravce budućih istraživanja.

Analiza obrazaca plastičnosti osobina životne istorije i strategija koje omogućavaju populacijama pasuljevog žiška da prošire opseg biljaka na kojima mogu opstati, vrlo jasno pokazuje da procesi razvića imaju važne uloge u ovom procesu. U nastavku istraživanja, biće osnivane nove laboratorijske populacije pasuljevog žiška koje će biti selektovane za povećanje plastičnosti, tj. opsega plastičnih odgovora na promenu domaćina. Ovakva procedura podrazumeva formiranje populacija koje bi svake generacije bile izlagane različitim biljkama domaćinima. Na taj način opstajale bi samo one jedinke koje su u stanju da adekvatno odgovore na kontinuirane promene

biljke domaćina. Formiranje ovakvih eksperimentalnih populacija predstavlja način da se analizira evolucija normi reakcija kod fitofagnih insekata. Dodatno, moguće je testirati potencijal adaptiranih populacija da se vrate na nekada optimalnu biljku domaćina.

Planirane buduće studije biće orijentisane na analizu evolucije molekulske osnove fenotipske plastičnosti. Homeostaza razvića, koja uključuje fiziološke i biohemijske odgovore na životne uslove, važna je spona između genotipa i fenotipa. Kako je jedna od važnih uloga molekulskih šaperona, poput proteina toplotnog šoka (engl. *Heat Shock Proteins – HSP*), da spreče neadekvatne interakcije između proteina, doprinesu uspostavljanju pravilne konformacije proteina, njihovom transportu, sastavljanju i rastavljanju proteinskih kompleksa, kao i uklanjanju proteina sa pogrešnom konformacijom, njihov značaj u održavanju funkcionalnosti proteina je očigledan. U ovom procesu Hsp90, molekulski šaperon sa velikim opsegom proteina sa kojima stupa u interakciju, ima izražen potencijal da utiče na oblikovanje složenih genotip-sredina-fenotip interakcija, a samim tim i na evoluciju fenotipa. U odsustvu stresnih okolnosti, ovi molekuli su u stanju da, između ostalog, ispravljaju konformacione greške proteina koje nastaju usled genetičkih promena na informacionim molekulima. Na taj način, molekulski šaperoni maskiraju genetičku varijabilnost što vremenom dovodi do akumuliranja mutacija u populaciji. U izmenjenim, stresnim uslovima (npr. temperaturni stres, promena biljke domaćina), potražnja za molekulskim šaperonima raste jer se povećava broj proteina koji nisu u stanju da zauzmu ispravnu konformaciju. Ovakve promene se često ispoljavaju povećanjem fenotipske raznovrsnosti koja je zavisna od genetičke strukture populacije koja se izlaže promenama (Rutherford i Lindquist 1998, Samakovil 2007, Jarosz i Lindquist 2010). Imajući u vidu značajne funkcije šaperona, planirane su kvantitativne i kvalitativne analize ovog molekula kod populacija pasuljevog žiška tokom kratkoročne i dugoročne izloženosti promenjenim biljkama domaćinima.

S obzirom da se larve pasuljevog žiška hrane zrnom mahunarki unutar koga se jedinke i razvijaju, veoma je važno otkriti u kojoj meri jedinke tokom eksperimentalno izazvane promene domaćina poseduju sposobnost da u toku razvića menjaju aktivnost i/ili nivo ekspresije digestivnih enzima. Drugim rečima, potrebno je ispitati digestivnu plastičnost tokom procesa prelaska na nove biljke domaćine. Takođe, za potpuno

razumevanje procesa prelaska na nove biljke domaćine nužno je poznavanje promena ekspresije onih gena koji su u velikoj meri uključeni u metabolizam ksenobiotika. Jedan od najboljih primera je i superfamilija citohrom P450 monooksigenaza (Schuler 1996, Scott i Wen 2001). Analiza obrazaca ekspresije gena ove familije ukazivala bi na njihov udeo u metabolizmu ksenobiotika tokom prilagođavanja na nove biljke domaćine.

## 6. ZAKLJUČCI

Analiza stepena i obrazaca plastičnosti osobina životne istorije i ponašanja kod laboratorijskih populacija pasuljevog žiška, *Acanthoscelides obtectus*, koje su selektovane na različitim biljkama domaćinima (pasulju i nautu), dovela je do zaključaka koji doprinose razumevanju uloge fenotipske plastičnosti u procesu ekološke specijacije:

- Populacije koje su evoluirale na pasulju i nautu tokom većeg broja generacija, bile su pod intenzivnim uticajem različitih selekcionih pritisaka koje, u najvećoj meri, potiču od razlika u fizičko-hemijskim karakteristikama biljaka domaćina. Slične adaptivne vrednosti jedinki koje su se, u uslovima divergentne selekcije, prilagođavale pasulju i nautu, nedvosmisleno ukazuju da su populacije na nautu, procesom evolucionih promena osobina životne istorije, dostigle visok nivo adaptiranosti na nekada suboptimalnom domaćinu.
- Kratkoročne promene biljke domaćina, tokom samo jedne generacije razvića žižaka na alternativnom domaćinu u eksperimentu recipročne transplantacije, otkrivaju značajne razlike između selekcionih režima u pravcima evolucije fenotipske plastičnosti osobina životne istorije.
- Jedinke populacija selektovanih na pasulju ispoljavaju izraženu plastičnost razvića. Kroz produženo preadultno razviće i povećanje mase, ove populacije kompenzuju kratkoročne negativne efekte nauta. Adaptivna plastičnost razvića omogućava visoke vrednosti preadultnog vijabiliteta u semenu nauta. Na adultnim stupnjevima, populacije selektovane na pasulju pokazuju visok nivo plastičnosti reproduktivnog ponašanja kroz izraženu diskriminaciju biljaka domaćina prilikom ovipozicije.
- Nasuprot populacijama sa pasulja, opseg plastičnih odgovora svih analiziranih osobina u populacijama koje su adaptirane na naut ukazuje na sužavanje normi reakcije, tj. evoluciju u smeru smanjenja fenotipske plastičnosti. Posledicu niskog nivoa plastičnosti preadultnog razvića žižaka adaptiranih na naut predstavljao je veoma nizak preadultni vijabilitet nakon kratkoročnog razvića na pasulju. Drastično smanjenje vijabiliteta larvi u semenima pasulja potvrđuje visok nivo specijalizacije ovih žižaka za larveno razviće na nautu. Na adultnom nivou, jedinke selektovane na nautu gube sposobnost izbora biljke domaćina

prilikom ovipozicije, što se može smatrati strategijom kojom se kompenzuje izražena specijalizacija preadultnih faza razvića.

- Velika plastičnost analiziranih osobina u dva selekciona režima ilustruje dve različite životne strategije. U populacijama adaptiranim na pasulj, preadultne faze razvića ukazuju na strategiju generaliste, dok izbirljivost u reproduktivnom ponašanju oslikava specijaliste na adultnom nivou. Suprotnu strategiju uočavamo u populacijama selektovanim na nautu – specijalizacija preadultnog razvića praćena je adultnim generalistima u procesima ukrštanja i polaganja jaja.
- Analiza populacionih parametara rasta pokazuje izraženo fluktuiranje tokom procesa promene biljke domaćina – od prvog susreta sa suboptimalnim domaćinom (nautom) tokom ovipozicije, preko kratkoročnog razvića na nautu, do transgeneracijske adaptacije na novog domaćina. I ova analiza potvrđuje da su populacije dostigle visok nivo adaptiranosti na naut, ali da specifična evolucija osobina životne istorije, pre svega duže razviće, uslovljava manju brojnost populacija adaptiranih na naut.
- Selekcioni režimi pokazuju izražene razlike u seksualnom ponašanju. Dok jedinke poreklom iz populacija sa pasulja ispoljavaju veliku izbirljivost u odabiru partnera i visok nivo asortativnog ukrštanja, žižci poreklom iz populacija sa nauta ponašaju se nediskriminativno u seksualnim interakcijama. Neizbirljivost u odnosu na partnere za kopulaciju, kao i povećano reproduktivno ulaganje (fekunditet) žižaka adaptiranih na naut a koji su razviće završili na pasulju, ukazuje na potencijalno još jedan način prevazilaženja visokog mortaliteta larvi u semenu pasulja.
- Značajna divergencija u reproduktivnom ponašanju uslovljava prisustvo visokog nivoa prezigotske reproduktivne izolacije između dva selekciona režima. Rezultati ove studije, dakle, ističu značaj koje promena biljke domaćina može imati u procesima ekološke specijacije fitofagnih insekata.
- Značajnu ulogu u evoluciji prezigotske reproduktivne izolacije između populacija adaptiranih na pasulj i naut ima evoluciona divergencija populacija u sadržaju kutikularnih ugljovodonika (CHC profila) koji kod insekata imaju ulogu kontaktnih feromona.



## 7. TABELE

Tabela 1. Srednje vrednosti i standardne greške (SE) preadultnog vijabiliteta (%) populacija *Acanthoscelides obtectus* selektovanih na pasulju (P) ili nautu (C) nakon 46 generacija (Eksperiment I<sub>A</sub>). Efekat tretmana predstavlja biljku domaćina na kojoj se završava larveno razviće – pasulj (P) ili naut (C).

Selekциони režim	Tretman	Populacija	Srednja vrednost ± SE	N
P	P	1	77,43 ± 6,38	5
		2	79,26 ± 13,01	4
		3	84,03 ± 4,42	5
		4	53,22 ± 13,27	4
	C	1	85,78 ± 3,67	5
		2	75,44 ± 3,93	5
		3	66,85 ± 4,23	5
		4	71,76 ± 5,02	4
C	C	1	78,78 ± 6,36	5
		2	87,59 ± 2,21	4
		3	83,40 ± 3,70	6
		4	79,33 ± 6,73	5
	P	1	18,95 ± 2,00	5
		2	53,08 ± 11,28	5
		3	42,79 ± 5,74	5
		4	27,30 ± 7,03	5

Tabela 2. Srednje vrednosti i standardne greške (SE) preadultnog vijabiliteta (%) *Acanthoscelides obtectus* nakon 46 generacija i > 230 generacija selekcije na pasulju (P) ili nautu (C) (Eksperimenti I<sub>A</sub> i IV). Efekat tretmana predstavlja biljku domaćina tokom larvenog razvića: pasulj (P) ili naut (C). Vrednosti nakon 46 generacija selekcije predstavljaju združene vrednosti populacija, dok vrednosti nakon > 230 generacija predstavljaju združene vrednosti replika iste populacije.

Selekциони režim	Tretman	Srednja vrednost ± SE	N
<u>46 generacija</u>			
P	P	74,29 ± 5,03	18
	C	75,13 ± 2,53	19
C	C	82,07 ± 2,52	20
	P	35,53 ± 4,55	20
<u>&gt; 230 generacija</u>			
P	P	86,25 ± 3,66	12
	C	82,60 ± 3,90	12
C	C	67,97 ± 2,96	12
	P	17,71 ± 2,76	12

Tabela 3. Mešani model analize varijanse za osobinu preadultni vijabilitet kod laboratorijskih linija *Acantoscélides obtectus*. Poreklo (selekcioni režim) i kratkoročni efekt biljke domaćina tokom razvića (tretman) u modelu predstavljaju fiksirane faktore, dok su populacije ugnježdene u interakciju selekcionog režima i tretmana nasumičan faktor. Podaci su dobijeni iz Eksperimenta I<sub>A</sub>. **A.** Informacije o klasifikacionim varijablama i korišćenim podacima. **B.** Način računanja očekivane srednje vrednosti kvadrata odstupanja (MS). **C.** Testiranje hipoteze mešanog modela analize varijanse. df – broj stepeni slobode, SS – zbir kvadrata, MS – srednja vrednost kvadrata, *F* – *F*-odnos, *P* – statistička značajnost.

<b>A. Klasifikaciona varijabla</b>	Broj nivoa klasifikacionih varijabli	Imena nivoa klasifikacionih varijabli	Broj uočenih / korišćenih podataka		
Selekcioni režim	2	p, c	77/77		
Tretman	2	p, c			
Populacije	8	1-8			
<b>B. Izvor variranja</b>	Način računanja očekivanog MS tipa III i greške				
Selekcioni režim	Var(Greška) + 4,7525 Var (Pop (Sel.režim × Tretman)) + Q(Sel.režim, Sel.režim × Tretman)				
Tretman	Var(Greška) + 4,7525 Var (Pop (Sel.režim × Tretman)) + Q(Sel.režim, Sel.režim × Tretman)				
Selekcioni režim × Tretman	Var(Greška) + 4,7525 Var (Pop (Sel.režim × Tretman)) + Q(Sel.režim × Tretman)				
Populacije (Selekcioni režim × Tretman)	Var(Greška) + 4,7962 Var (Pop (Sel.režim × Tretman))				
<sup>1</sup> Greška	0,9909 * MS (Pop(Sel. režim × Tretman)) + 0,0091 * MS Greška				
<b>C. Izvor variranja</b>	df	Tip III SS	MS	<i>F</i>	<i>P</i>
Selekcioni režim <sup>1</sup>	1	0,527836	0,527836	7,18	0,0199
Tretman <sup>1</sup>	1	1,313990	1,313990	17,87	0,0012
Selekcioni režim × Tretman <sup>1</sup>	1	1,420230	1,420230	19,32	0,0009
Populacije (Selekcioni režim × Tretman) <sup>2</sup>	12	0,886503	0,073875	2,15	0,0258
<sup>1</sup> Greška	12,103	0,889729	0,073514		
<sup>2</sup> MS Greška	61	2,092557	0,034304		

Tabela 4. Srednje vrednosti i standardne greške (SE) dužine razvića (dani) populacija *Acantosceldes obtectus* selektovanih na pasulju (P) ili nautu (C) nakon 46 generacija (Eksperiment I<sub>A</sub>). Efekat tretmana predstavlja biljku domaćina na kojoj se završava larveno razviće – pasulj (P) ili naut (C).

Selekциони režim	Tretman	Populacija	Srednja vrednost ± SE N			
			♀♀		♂♂	
P	P	1	32,89 ± 0,12	395	31,80 ± 0,13	309
		2	32,63 ± 0,11	282	31,84 ± 0,12	243
		3	32,68 ± 0,10	307	31,81 ± 0,10	298
		4	33,11 ± 0,20	122	32,31 ± 0,17	131
	C	1	33,57 ± 0,09	465	32,47 ± 0,09	470
		2	34,34 ± 0,12	363	33,19 ± 0,12	338
		3	33,86 ± 0,11	349	32,76 ± 0,10	341
		4	34,84 ± 0,14	283	33,33 ± 0,14	285
C	C	1	35,57 ± 0,24	125	35,27 ± 0,23	116
		2	35,08 ± 0,11	339	34,04 ± 0,13	335
		3	35,11 ± 0,07	606	34,06 ± 0,09	525
		4	34,57 ± 0,08	513	33,58 ± 0,09	506
	P	1	36,05 ± 0,36	41	34,90 ± 0,25	60
		2	34,51 ± 0,13	282	33,64 ± 0,12	247
		3	34,29 ± 0,11	301	33,83 ± 0,14	293
		4	34,24 ± 0,15	140	33,13 ± 0,13	157

Tabela 5. Srednje vrednosti i standardne greške (SE) dužine razvića (dani) *Acantosceldes obtectus* nakon 46 generacija i > 230 generacija selekcije na pasulju (P) ili nautu (C) (Eksperimenti I<sub>A</sub> i IV). Efekat tretmana predstavlja biljku domaćina tokom larvenog razvića: pasulj (P) ili naut (C). Prikazane vrednosti nakon 46 generacija selekcije predstavljaju združene vrednosti populacija, dok vrednosti nakon > 230 generacija predstavljaju združene vrednosti jedinki iste populacije.

Selekциони režim	Tretman	Srednja vrednost ± SE N			
		♀♀		♂♂	
<u>46 generacija</u>					
P	P	32,79 ± 0,06	1106	31,88 ± 0,06	981
	C	34,07 ± 0,06	1460	32,88 ± 0,06	1434
C	C	34,96 ± 0,05	1583	33,99 ± 0,06	1482
	P	34,46 ± 0,07	764	33,71 ± 0,08	757
<u>&gt;230 generacija</u>					
P	P	32,51 ± 0,06	566	31,89 ± 0,06	660
	C	31,89 ± 0,06	555	31,14 ± 0,06	562
C	C	35,82 ± 0,09	493	34,84 ± 0,08	548
	P	36,27 ± 0,17	120	36,09 ± 0,20	137

Tabela 6. Mešani model analize varijanse za osobinu dužina razvića kod ženki iz laboratorijskih linija *Acantoscelides obtectus*. Poreklo (selekcioni režim) i kratkoročni efekt biljke domaćina tokom razvića (tretman) predstavljaju fiksirane faktore, dok su populacije ugnježdene u inrerakciju selekcionog režima i tretmana nasumičan faktor u modelu. Podaci su dobijeni iz Eksperimenta I<sub>A</sub>. **A.** Informacije o klasifikacionim varijablama i korišćenim podacima. **B.** Način računanja očekivane srednje vrednosti kvadrata odstupanja (MS). **C.** Testiranje hipoteze mešanog modela analize varijanse. df – broj stepeni slobode, SS – zbir kvadrata, MS – srednja vrednost kvadrata, *F* – *F*-odnos, *P* – statistička značajnost.

<b>A. Klasifikaciona varijabla</b>	Broj nivoa klasifikacionih varijabli	Imena nivoa klasifikacionih varijabli	Broj uočenih / korišćenih podataka		
Selekcioni režim	2	p, c	1271/1130		
Tretman	2	p, c			
Populacije	8	1-8			
<b>B. Izvor variranja</b>	Način računanja očekivanog MS tipa III i greške				
Selekcioni režim	Var (Greška) + 195,63(Pop (Sel. režim × Tretman)) + Q (Sel. režim, Sel. režim × Tretman)				
Tretman	Var (Greška) + 195,63(Pop (Sel. režim × Tretman)) + Q (Tretman, Sel. režim×Tretman)				
Selekcioni režim × Tretman	Var (Greška) + 195,63 Var (Pop (Sel. režim × Tretman)) + Q (Sel. režim×Tretman)				
Populacije (Selekcioni režim × Tretman)	Var (Greška) + 291,12 Var (Pop (Sel. režim × Tretman))				
<sup>1</sup> Greška	0,6720*MS (Pop (Sel. režim × Tretman)) + 0,3280*MS (Greška)				
<b>C. Izvor variranja</b>	df	Tip III SS	MS	<i>F</i>	<i>P</i>
Selekcioni režim <sup>1</sup>	1	1616,593126	1616,593126	44,74	< 0,0001
Tretman <sup>1</sup>	1	520,754978	520,754978	14,41	0,0022
Selekcioni režim × Tretman <sup>1</sup>	1	200,901816	200,901816	5,56	0,0347
Populacije (Selekcioni režim × Tretman) <sup>2</sup>	12	619,008792	51,584066	11,50	< 0,0001
<sup>1</sup> Greška	13,04	471,199044	36,134707		
<sup>2</sup> MS Greška	4897	21962,00000	4,484711		

Tabela 7. Mešani model analize varijanse za osobinu dužina razvića kod mužjaka iz laboratorijskih linija *Acantoscélides obtectus*. Poreklo (selekcioni režim) i kratkoročni efekt biljke domaćina tokom razvića (tretman) predstavljaju fiksirane faktore, dok su populacije ugnježdene u inerakciju selekcionog režima i tretmana nasumičan faktor u modelu. Podaci dobijeni iz Eksperimenta I<sub>A</sub>. **A.** Informacije o klasifikacionim varijablama i korišćenim podacima. **B.** Način računanja očekivane srednje vrednosti kvadrata odstupanja (MS). **C.** Testiranje hipoteze mešanog modela analize varijanse. df – broj stepeni slobode, SS – zbir kvadrata, MS – srednja vrednost kvadrata, *F* – *F*-odnos, *P* – statistička značajnost.

<b>A. Klasifikaciona varijabla</b>	Broj nivoa klasifikacionih varijabli	Imena nivoa klasifikacionih varijabli	Broj uočenih / korišćenih podataka		
Selekcioni režim	2	p, c	1272/1094		
Tretman	2	p, c			
Populacije	8	1-8			
<b>B. Izvor variranja</b>	Način računanja očekivanog MS tipa III i greške				
Selekcioni režim	Var (Greška) + 210,93(Pop (Sel. režim × Tretman)) + Q (Sel. režim, Sel. režim × Tretman)				
Tretman	Var (Greška) + 210,93(Pop (Sel. režim × Tretman)) + Q (Tretman, Sel. režim×Tretman)				
Selekcioni režim × Tretman	Var (Greška) + 210,93 Var (Pop (Sel. režim × Tretman)) + Q (Sel. režim×Tretman)				
Populacije (Selekcioni režim × Tretman)	Var (Greška) + 278,51 Var (Pop (Sel. režim × Tretman))				
<sup>1</sup> Greška	0,7574*MS (Pop (Sel. režim × Tretman)) + 0,2426*MS (Greška)				
<b>C. Izvor variranja</b>	df	Tip III SS	MS	<i>F</i>	<i>P</i>
Selekcioni režim <sup>1</sup>	1	2210,078708	2210,078708	54,82	< 0,0001
Tretman <sup>1</sup>	1	390,620284	390,620284	9,69	0,0085
Selekcioni režim × Tretman <sup>1</sup>	1	84,548411	84,548411	2,10	0,1718
Populacije (Selekcioni režim × Tretman) <sup>2</sup>	12	621,542989	51,795249	11,58	< 0,0001
<sup>1</sup> Greška	12,673	510,901106	40,313274		
<sup>2</sup> MS Greška	4638	621,542989	4,473678		

Tabela 8. Srednje vrednosti i standardne greške (SE) mase tela (mg) populacija *Acantoscelides obtectus* selektovanih na pasulju (P) ili nautu (C) nakon 46 generacija (Eksperiment I<sub>A</sub>). Efekat tretmana predstavlja biljku domaćina na kojoj se završava larveno razviće – pasulj (P) ili naut (C).

Selekциони režim	Tretman	Populacija	Srednja vrednost ± SE N			
			♀♀		♂♂	
P	P	1	6,21 ± 0,05	153	4,99 ± 0,05	153
		2	6,06 ± 0,18	150	4,80 ± 0,05	150
		3	5,81 ± 0,05	157	4,71 ± 0,04	157
		4	5,44 ± 0,07	99	4,30 ± 0,07	99
	C	1	6,29 ± 0,05	153	5,02 ± 0,05	153
		2	6,28 ± 0,06	141	4,94 ± 0,06	141
		3	5,95 ± 0,05	159	4,73 ± 0,05	159
		4	5,61 ± 0,08	96	4,59 ± 0,06	96
C	C	1	6,37 ± 0,05	161	5,14 ± 0,04	161
		2	6,47 ± 0,05	162	5,14 ± 0,05	162
		3	6,71 ± 0,06	168	5,30 ± 0,05	168
		4	6,40 ± 0,05	177	5,20 ± 0,04	177
	P	1	6,15 ± 0,07	127	4,81 ± 0,06	127
		2	6,12 ± 0,06	153	4,98 ± 0,05	153
		3	6,51 ± 0,06	125	5,31 ± 0,05	125
		4	6,01 ± 0,07	134	5,03 ± 0,06	135

Tabela 9. Srednje vrednosti i standardne greške (SE) mase tela (mg) *Acantoscelides obtectus*. Izražene vrednosti predstavljaju združene srednje vrednosti populacija dobijene nakon 46 generacija selekcije na pasulju (P) ili nautu (C) (Eksperiment I<sub>A</sub>). Efekat tretmana predstavlja biljku domaćina tokom larvenog razvića: pasulj (P) ili naut (C).

Selekциони režim	Tretman	Srednja vrednost ± SE N			
		♀♀		♂♂	
P	P	5,97 ± 0,06	559	4,74 ± 0,03	559
	C	6,07 ± 0,03	549	4,84 ± 0,03	549
C	C	6,49 ± 0,03	668	5,20 ± 0,02	668
	P	6,22 ± 0,03	539	5,03 ± 0,03	540

Tabela 10. Mešani model analize varijanse za osobinu masa tela kod ženki iz laboratorijskih linija *Acanthoscelides obtectus*. Poreklo (selekциони režim) i kratkoročni efekt biljke domaćina tokom razvića (tretman) predstavljaju fiksirane faktore, dok su populacije ugnježdene u inrerakciju selekcionog režima i tretmana nasumičan faktor u modelu. Podaci su dobijeni iz Eksperimenta I<sub>A</sub>. **A.** Informacije o klasifikacionim varijablama i korišćenim podacima. **B.** Način računanja očekivane srednje vrednosti kvadrata odstupanja (MS). **C.** Testiranje hipoteze mešanog modela analize varijanse. df – broj stepeni slobode, SS – zbir kvadrata, MS – srednja vrednost kvadrata, *F* – *F*-odnos, *P* – statistička značajnost.

<b>A.</b> <i>Klasifikaciona varijabla</i>	Broj nivoa klasifikacionih varijabli	Imena nivoa klasifikacionih varijabli	Broj uočenih / korišćenih podataka		
Selekциони režim	2	p, c	2316/2315		
Tretman	2	p, c			
Populacije	8	1-8			
<b>B.</b> <i>Izvor variranja</i>	Način računanja očekivanog MS tipa III i greške				
Selekциони režim	Var (Greška) + 140,52(Pop (Sel. režim × Tretman)) + Q (Sel. režim, Sel. režim × Tretman)				
Tretman	Var (Greška) + 140,52(Pop (Sel. režim × Tretman)) + Q (Tretman, Sel. režim×Tretmant)				
Selekциони režim × Tretman	Var (Greška) + 140,52 Var (Pop (Sel. režim × Tretman)) + Q (Sel. režim×Tretman)				
Populacije (Selekциони režim × Tretman)	Var (Greška) + 143,89 Var (Pop (Sel. režim × Tretman))				
<sup>1</sup> Greška	0,9766*MS (Pop (Sel. režim × Tretman)) + 0,0234*MS (Greška)				
<b>C.</b> <i>Izvor variranja</i>	df	Tip III SS	MS	<i>F</i>	<i>P</i>
Selekциони režim <sup>1</sup>	1	91,776571	91,776571	11,07	0,0060
Tretman <sup>1</sup>	1	24,265407	24,265407	2,93	0,1127
Selekциони režim × Tretman <sup>1</sup>	1	1,473396	1,473396	0,18	0,6808
Populacije (Selekциони režim × Tretman) <sup>2</sup>	12	101,727636	8,477303	16,93	< 0,0001
<sup>1</sup> Greška	12,034	99,766583	8,290370		
<sup>2</sup> MS Greška	2299	1150,831414	0,500579		

Tabela 11. Mešani model analize varijanse za osobinu masa tela kod mužjaka iz laboratorijskih linija *Acantosceldes obtectus*. Poreklo (selekcioni režim) i kratkoročni efekt biljke domaćina tokom razvića (tretman) predstavljaju fiksirane faktore, dok su populacije ugnježdene u inrerakciju selekcionog režima i tretmana nasumičan faktor u modelu. Podaci su dobijeni iz Eksperimenta I<sub>A</sub>. **A.** Informacije o klasifikacionim varijablama i korišćenim podacima. **B.** Način računanja očekivane srednje vrednosti kvadrata odstupanja (MS). **C.** Testiranje hipoteze mešanog modela analize varijanse. df – broj stepeni slobode, SS – zbir kvadrata, MS – srednja vrednost kvadrata, *F* – *F*-odnos, *P* – statistička značajnost.

<b>A.</b> <i>Klasifikaciona varijabla</i>	Broj nivoa klasifikacionih varijabli	Imena nivoa klasifikacionih varijabli	Broj uočenih / korišćenih podataka		
Selekcioni režim	2	p, c	2316/2316		
Tretman	2	p, c			
Populacije	8	1-8			
<b>B.</b> <i>Izvor variranja</i>	Način računanja očekivanog MS tipa III i greške				
Selekcioni režim	Var (Greška) + 140,58(Pop (Sel. režim × Tretman)) + Q (Sel. režim, Sel. režim × Tretman)				
Tretman	Var (Greška) + 140,58(Pop (Sel. režim × Tretman)) + Q (Tretman, Sel. režim×Tretmant)				
Selekcioni režim × Tretman	Var (Greška) + 140,58 Var (Pop (Sel. režim × Tretman)) + Q (Sel. režim×Tretman)				
Populacije (Selekcioni režim × Tretman)	Var (Greška) + 143,95 Var (Pop (Sel. režim × Tretman))				
<sup>1</sup> Greška	0,9766*MS (Pop (Sel. režim × Tretman)) + 0,0234*MS (Greška)				
<b>C.</b> <i>Izvor variranja</i>	df	Tip III SS	MS	<i>F</i>	<i>P</i>
Selekcioni režim <sup>1</sup>	1	70,243614	70,243614	13,89	0,0029
Tretman <sup>1</sup>	1	11,168672	11,168672	2,21	0,1629
Selekcioni režim × Tretman <sup>1</sup>	1	0,231864	0,231864	0,05	0,8340
Populacije (Selekcioni režim × Tretman) <sup>2</sup>	12	62,009052	5,167421	13,28	< 0,0001
<sup>1</sup> Greška	12,043	60,887057	5,055673		
<sup>2</sup> MS Greška	2300	894,920226	0,389096		



Tabela 12. Srednje vrednosti i standardne greške (SE) prvog dana polaganja jaja populacija *Acanthoscelides obtectus* selektovanih na pasulju (P) ili nautu (C) nakon 46 generacija. Efekat tretmana predstavlja biljku domaćina na kojoj se završava larveno razviće – pasulj (P) ili naut (C) u uslovima bez mogućnosti izbora domaćina tokom polaganja jaja (Eksperiment I<sub>A</sub>).

Selekcionirežim	Tretman	Populacija	Srednja vrednost ± SE N			
			Ponudeni supstrat tokom polaganja jaja			
			Pasulj		Naut	
P	P	1	1,20 ± 0,06	50	3,98 ± 0,48	43
		2	1,64 ± 0,18	50	4,46 ± 0,42	48
		3	1,50 ± 0,08	50	5,48 ± 0,50	44
		4	1,97 ± 0,22	39	5,59 ± 0,61	32
	C	1	1,17 ± 0,06	46	2,32 ± 0,26	47
		2	1,36 ± 0,12	39	3,31 ± 0,43	42
		3	1,54 ± 0,15	50	3,44 ± 0,38	50
		4	1,30 ± 0,10	27	3,56 ± 0,68	27
C	C	1	1,23 ± 0,07	47	1,53 ± 0,17	51
		2	1,08 ± 0,04	48	2,04 ± 0,28	48
		3	1,41 ± 0,09	51	2,23 ± 0,22	53
		4	1,25 ± 0,10	48	1,98 ± 0,18	48
	P	1	1,83 ± 0,14	29	2,53 ± 0,28	30
		2	1,27 ± 0,09	48	1,98 ± 0,21	46
		3	2,18 ± 0,27	34	3,12 ± 0,34	33
		4	1,67 ± 0,08	40	2,58 ± 0,21	41

Tabela 13. Srednje vrednosti i standardne greške (SE) prvog dana polaganja jaja *Acanthoscelides obtectus*. Izražene vrednosti predstavljaju združene vrednosti populacija dobijene nakon 46 generacija selekcije na pasulju (P) ili nautu (C). Efekat tretmana predstavlja biljku domaćina tokom larvenog razvića: pasulj (P) ili naut (C) u uslovima bez mogućnosti izbora domaćina tokom polaganja jaja (Eksperiment I<sub>A</sub>).

Selekcionirežim	Tretman	Srednja vrednost ± SE N			
		Ponudeni supstrat tokom polaganja jaja			
		Pasulj		Naut	
P	P	1,56 ± 0,07	189	4,84 ± 0,25	168
	C	1,35 ± 0,06	162	3,11 ± 0,21	166
C	C	1,25 ± 0,04	194	1,94 ± 0,10	200
	P	1,69 ± 0,08	151	2,51 ± 0,13	150

Tabela 14. Mešani model analize varijanse za osobinu prvi dan polaganja jaja kod laboratorijskih linija *Acartoscelides obtectus*. Poreklo (selekcioni režim), kratkoročni efekat biljke domaćina tokom razvića (tretman) i ponuđeni domaćin tokom ovipozicije predstavljaju fiksirane faktore, dok su populacije ugnježdene u interakciju selekcionog režima i tretmana nasumičan faktor u modelu. Podaci su dobijeni iz Eksperimenta I<sub>A</sub>. **A.** Informacije o klasifikacionim varijablama i korišćenim podacima. **B.** Način računanja očekivane srednje vrednosti kvadrata odstupanja (MS). **C.** Testiranje hipoteze mešanog modela analize varijanse. df – stepeni slobode, SS – zbir kvadrata, MS – srednja vrednost kvadrata,  $F$  –  $F$ -odnos,  $P$  – statistička značajnost.

<b>A. Klasifikaciona varijabla</b>	Broj nivoa klasifikacionih varijabli	Imena nivoa klasifikacionih varijabli	Broj uočenih / korišćenih podataka		
Selekcioni režim	2	p, c	1379/1379		
Tretman	2	p, c			
Populacije	8	1-8			
Poduđeni domaćin	2	pasulj, naut			
<b>B. Izvor variranja</b>	Način računanja očekivanog MS tipa III i greške				
Selekcioni režim	Var(Greška) + 82,937 (Pop (Sel. režim × Tretman)) + Q(Sel. režim, Sel. režim×Tretman, Sel. režim×Pon. dom.)				
Tretman	Var(Greška) + 82,915 (Pop (Sel. režim × Tretman)) + Q(Tretman, Sel. režim,Tretmant×Pon. dom.)				
Poduđeni domaćin	Var(Greška) + Q(Pon. dom., Sel. režim×Pon. dom, Tretman × Pon. dom)				
Selekcioni režim × Tretman	Var(Greška) + 82,904 Var(Pop (Sel. režim × Tretman)) + Q(Sel. režim ×Tretman)				
Selekcioni režim × Poduđeni domaćin	Var(Greška) + Q(Sel. režim × Pon. dom)				
Tretman × Poduđeni domaćin	Var(Greška) + Q(Tretman × Pon. dom)				
Populacije (Selekcioni režim × Tretman)	Var(Greška) + 85,554 Var(Pop (Sel. režim × Tretman))				
<sup>1</sup> Greška	0,9694 *MS(Pop (Sel. režim × Tretman)) + 0,0306 *MS(Greška)				
<sup>2</sup> Greška	0,9691 *MS(Pop (Sel. režim × Tretman)) + 0,0309 *MS(Greška)				
<sup>3</sup> Greška	0,9690 *MS(Pop (Sel. režim × Tretman)) + 0,0310 *MS(Greška)				
<b>C. Izvor variranja</b>	df	Tip III SS	MS	$F$	$P$
Selekcioni režim <sup>1</sup>	1	244,909981	244,909981	20,43	0,0007
Tretman <sup>2</sup>	1	190,785009	190,785009	15,92	0,0017
Ponuđeni domaćin <sup>4</sup>	1	953,572277	953,572277	84,35	<0,0001
Selekcioni režim × Tretman <sup>3</sup>	1	14,223175	14,223175	1,19	0,2970
Selekcioni režim × Ponuđeni domaćin <sup>4</sup>	1	254,071403	254,071403	84,35	<0,0001
Tretman × Ponuđeni domaćin <sup>4</sup>	1	56,508909	56,508909	18,76	<0,0001
Populacije (Selekcioni režim × Tretman) <sup>4</sup>	12	147,233971	12,269498	4,07	<0,0001
<sup>1</sup> Greška	12,187	146,072567	11,986249		
<sup>2</sup> Greška	12,188	146,063131	11,983894		
<sup>3</sup> Greška	12,189	146,058342	11,982698		
<sup>4</sup> MS Greška	1360	4096,471949	3,012112		

Tabela 15. Srednje vrednosti i standardne greške (SE) dana u kom je položeno najviše jaja u populacijama *Acantoscelides obtectus* selektovanih na pasulju (P) ili nautu (C) nakon 46 generacija. Efekat tretmana predstavlja biljku domaćina na kojoj se završava larveno razviće – pasulj (P) ili naut (C) u uslovima bez mogućnosti izbora domaćina tokom polaganja jaja (Eksperiment I<sub>A</sub>).

Selekциони režim	Tretman	Populacija	Srednja vrednost ± SE N			
			Ponudeni supstrat tokom polaganja jaja			
			Pasulj		Naut	
P	P	1	2,06 ± 0,09	50	5,18 ± 0,49	43
		2	2,82 ± 0,16	50	5,65 ± 0,41	48
		3	3,00 ± 0,15	50	6,54 ± 0,45	44
		4	3,05 ± 0,26	39	7,37 ± 0,60	32
	C	1	2,20 ± 0,17	46	3,42 ± 0,29	47
		2	2,51 ± 0,15	39	4,40 ± 0,50	42
		3	2,58 ± 0,18	50	5,46 ± 0,48	50
		4	2,26 ± 0,15	27	5,26 ± 0,77	27
C	C	1	2,66 ± 0,20	47	2,43 ± 0,18	51
		2	2,23 ± 0,19	48	2,60 ± 0,29	48
		3	3,04 ± 0,19	51	3,91 ± 0,27	53
		4	2,06 ± 0,13	48	2,83 ± 0,28	48
	P	1	3,00 ± 0,27	29	3,77 ± 0,40	30
		2	2,48 ± 0,16	48	3,26 ± 0,26	46
		3	3,29 ± 0,32	34	4,09 ± 0,34	33
		4	2,60 ± 0,14	40	3,54 ± 0,26	41

Tabela 16. Srednje vrednosti i standardne greške (SE) dana kada *Acantoscelides obtectus* polaže najveći broj jaja. Izražene vrednosti predstavljaju združene vrednosti populacija dobijene nakon 46 generacija selekcije na pasulju (P) ili nautu (C). Efekat tretmana predstavlja biljku domaćina tokom larvenog razvića: pasulj (P) ili naut (C) u uslovima bez mogućnosti izbora domaćina tokom polaganja jaja (Eksperiment I<sub>A</sub>).

Selekциони režim	Tretman	Srednja vrednost ± SE N			
		Ponudeni supstrat tokom polaganja jaja			
		Pasulj		Naut	
P	P	2,71 ± 0,09	189	6,12 ± 0,24	168
	C	2,40 ± 0,09	162	4,58 ± 0,25	166
C	C	2,50 ± 0,09	194	2,96 ± 0,13	200
	P	2,79 ± 0,11	151	3,62 ± 0,15	150

Tabela 17. Mešani model analize varijanse za osobinu dan maksimalnog polaganja jaja kod laboratorijskih linija *Acanthoscelides obtectus*. Poreklo (selekcioni režim), kratkoročni efekt biljke domaćina tokom razvića (tretman) i ponuđeni domaćin tokom ovipozicije predstavljaju fiksirane faktore, dok su populacije ugnježdene u inrerakciju selekcionog režima i tretmana nasumičan faktor u modelu. Podaci su dobijeni iz Eksperimenta I<sub>A</sub>. **A.** Informacije o klasifikacionim varijablama i korišćenim podacima. **B.** Način računanja očekivane srednje vrednosti kvadrata odstupanja (MS). **C.** Testiranje hipoteze mešanog modela analize varijanse. df – stepeni slobode, SS – zbir kvadrata, MS – srednja vrednost kvadrata, *F* – *F*-odnos, *P* – statistička značajnost.

<b>A.</b> <i>Klasifikaciona varijabla</i>	Broj nivoa klasifikacionih varijabli	Imena nivoa klasifikacionih varijabli	Broj uočenih / korišćenih podataka		
Selekcioni režim	2	p, c	1379/1379		
Tretman	2	p, c			
Populacije	8	1-8			
Poduđeni domaćin	2	pasulj, naut			
<b>B.</b> <i>Izvor variranja</i>	Način računanja očekivanog MS tipa III i greške				
Selekcioni režim	Var(Greška) + 82,937 (Pop (Sel. režim × Tretman)) + Q(Sel. režim, Sel. režim×Tretman, Sel. režim×Pon. dom.)				
Tretman	Var(Greška) + 82,915 (Pop (Sel. režim × Tretman)) + Q(Tretman, Sel. režim,Tretmant×Pon. dom.)				
Poduđeni domaćin	Var(Greška) + Q(Pon. dom., Sel. režim×Pon. dom, Tretman × Pon. dom)				
Selekcioni režim × Tretman	Var(Greška) + 82,904 Var(Pop (Sel. režim × Tretman)) + Q(Sel. režim ×Tretman)				
Selekcioni režim × Poduđeni domaćin	Var(Greška) + Q(Sel. režim × Pon. dom)				
Tretman × Poduđeni domaćin	Var(Greška) + Q(Tretman × Pon. dom)				
Populacije (Selekcioni režim × Tretman)	Var(Greška) + 85,554 Var(Pop (Sel. režim × Tretman))				
<sup>1</sup> Greška	0,9694 *MS(Pop (Sel. režim × Tretman)) + 0,0306 *MS(Greška)				
<sup>2</sup> Greška	0,9691*MS(Pop (Sel. režim × Tretman)) + 0,0309 *MS(Greška)				
<sup>3</sup> Greška	0,9690 *MS(Pop (Sel. režim × Tretman)) + 0,0310 *MS(Greška)				
<b>C.</b> <i>Izvor variranja</i>	df	Tip III SS	MS	<i>F</i>	<i>P</i>
Selekcioni režim <sup>1</sup>	1	325,137676	325,137676	13,53	0,0031
Tretman <sup>2</sup>	1	179,529345	179,529345	7,47	0,0180
Ponuđeni domaćin <sup>4</sup>	1	1029,729945	1029,729945	258,33	< 0,0001
Selekcioni režim × Tretman <sup>3</sup>	1	13,435087	13,435087	0,56	0,4689
Selekcioni režim × Ponuđeni domaćin <sup>4</sup>	1	388,402462	388,402462	97,44	< 0,0001
Tretman × Ponuđeni domaćin <sup>4</sup>	1	52,865220	52,865220	13,26	0,0003
Populacije (Selekcioni režim × Tretman) <sup>4</sup>	12	296,015152	24,667929	6,19	< 0,0001
<sup>1</sup> Greška	12,123	291,370940	24,035126		
<sup>2</sup> Greška	12,124	291,332508	24,029863		
<sup>3</sup> Greška	12,124	291,313000	24,027191		
<sup>4</sup> MS Greška	1360	5421,023654	3,986047		

Tabela 18. Srednje vrednosti i standardne greške (SE) ukupnog broja položenih jaja *Acantoscelides obtectus* selektovanih na pasulju (P) ili nautu (C) nakon 46 generacija. Efekat tretmana predstavlja biljku domaćina na kojoj se završava larveno razviće – pasulj (P) ili naut (C) u uslovima bez mogućnosti izbora domaćina tokom polaganja jaja (Eksperiment I<sub>A</sub>).

Selekcionni režim	Tretman	Populacija	Srednja vrednost ± SE N			
			Ponudeni supstrat tokom polaganja jaja			
			Pasulj		Naut	
P	P	1	46,12 ± 1,62	50	29,39 ± 2,54	43
		2	48,26 ± 1,66	50	30,04 ± 1,66	48
		3	46,96 ± 1,93	50	27,52 ± 2,00	44
		4	40,33 ± 1,70	39	23,25 ± 2,59	32
	C	1	49,67 ± 1,97	46	35,40 ± 1,76	47
		2	51,87 ± 2,64	39	35,59 ± 2,28	42
		3	47,50 ± 2,50	50	32,18 ± 2,19	50
		4	44,74 ± 3,00	27	30,48 ± 2,68	27
C	C	1	53,36 ± 2,47	47	50,86 ± 2,31	51
		2	58,19 ± 2,06	48	46,48 ± 2,65	48
		3	56,51 ± 2,20	51	40,17 ± 2,42	53
		4	50,44 ± 2,22	48	40,44 ± 2,01	48
	P	1	45,65 ± 3,28	29	44,17 ± 3,25	30
		2	48,23 ± 1,82	48	45,26 ± 1,80	46
		3	41,35 ± 3,18	34	40,21 ± 2,79	33
		4	46,52 ± 2,39	40	36,95 ± 2,59	41

Tabela 19. Srednje vrednosti i standardne greške (SE) ukupnog broja položenih jaja *Acantoscelides obtectus*. Izražene vrednosti predstavljaju združene vrednosti populacija dobijene nakon 46 generacija selekcije na pasulju (P) ili nautu (C). Efekat tretmana predstavlja biljku domaćina tokom larvenog razvića: pasulj (P) ili naut (C) u uslovima bez mogućnosti izbora domaćina tokom polaganja jaja (Eksperiment I<sub>A</sub>).

Selekcionni režim	Tretman	Srednja vrednost ± SE N			
		Ponudeni supstrat tokom polaganja jaja			
		Pasulj		Naut	
P	P	45,71 ± 0,89	189	27,91 ± 1,09	167
	C	48,71 ± 1,25	162	33,68 ± 1,10	166
C	C	54,66 ± 1,13	194	44,47 ± 1,21	200
	P	45,73 ± 1,28	151	41,66 ± 1,28	150

Tabela 20. Mešani model analize varijanse za osobinu ukupan broj položenih jaja kod laboratorijskih linija *Acanthoscelides obtectus*. Poreklo (selekциони režim), kratkoročni efekt biljke domaćina tokom razvića (tretman) i ponuđeni domaćin tokom ovipozicije predstavljaju fiksirane faktore, dok su populacije ugnježdene u interakciju selekcionog režima i tretmana nasumičan faktor u modelu. Podaci su dobijeni iz Eksperimenta I<sub>A</sub>. **A.** Informacije o klasifikacionim varijablama i korišćenim podacima. **B.** Način računanja očekivane srednje vrednosti kvadrata odstupanja (MS). **C.** Testiranje hipoteze mešanog modela analize varijanse. df – br.stepeni slobode, SS – zbir kvadrata, MS – srednja vrednost kvadrata, *F* – *F*-odnos, *P* – statistička značajnost.

<b>A.</b> <i>Klasifikaciona varijabla</i>	Broj nivoa klasifikacionih varijabli	Imena nivoa klasifikacionih varijabli	Broj uočenih / korišćenih podataka		
Selekциони režim	2	p, c	1379/1379		
Tretman	2	p, c			
Populacije	8	1-8			
Poduđeni domaćin	2	pasulj, naut			
<b>B.</b> <i>Izvor variranja</i>	Način računanja očekivanog MS tipa III i greške				
Selekциони režim	Var(Greška) + 82,937 (Pop (Sel. režim × Tretman)) + Q(Sel. režim, Sel. režim × Tretman, Sel. režim × Pon. dom.)				
Tretman	Var(Greška) + 82,915 (Pop (Sel. režim × Tretman)) + Q(Tretman, Sel. režim, Tretman × Pon. dom.)				
Poduđeni domaćin	Var(Greška) + Q(Pon. dom., Sel. režim × Pon. dom, Tretman × Pon. dom)				
Selekциони režim × Tretman	Var(Greška) + 82,904 Var(Pop (Sel. režim × Tretman)) + Q(Sel. režim × Tretman)				
Selekциони režim × Poduđeni domaćin	Var(Greška) + Q(Sel. režim × Pon. dom)				
Tretman × Poduđeni domaćin	Var(Greška) + Q(Tretman × Pon. dom)				
Populacije (Selekциони režim × Tretman)	Var(Greška) + 85,554 Var(Pop (Sel. režim × Tretman))				
<sup>1</sup> Greška	0,9694 *MS(Pop (Sel. režim × Tretman)) + 0,0306 *MS(Greška)				
<sup>2</sup> Greška	0,9691 *MS(Pop (Sel. režim × Tretman)) + 0,0309 *MS(Greška)				
<sup>3</sup> Greška	0,9690 *MS(Pop (Sel. režim × Tretman)) + 0,0310 *MS(Greška)				
<b>C.</b> <i>Izvor variranja</i>	df	Tip III SS	MS	<i>F</i>	<i>P</i>
Selekциони režim <sup>1</sup>	1	20208,00000	20208,00000	27,30	0,0002
Tretman <sup>2</sup>	1	9018,618448	9018,618448	12,19	0,0043
Ponuđeni domaćin <sup>4</sup>	1	49582,00000	49582,00000	218,41	< 0,0001
Selekциони režim × Tretman <sup>3</sup>	1	223,320100	223,320100	0,30	0,5926
Selekциони režim × Ponuđeni domaćin <sup>4</sup>	1	7155,190646	7155,190646	31,52	< 0,0001
Tretman × Ponuđeni domaćin <sup>4</sup>	1	238,033298	238,033298	1,05	0,3060
Populacije (Selekциони režim × Tretman) <sup>4</sup>	12	9076,022468	756,335206	3,33	< 0,0001
<sup>1</sup> Greška	12,228	9050,749593	740,139644		
<sup>2</sup> Greška	12,23	9050,559964	740,004946		
<sup>3</sup> Greška	12,231	9050,463842	739,936572		
<sup>4</sup> MS Greška	1360	308743	227,016552		

Tabela 21. Srednje vrednosti, standardna greška (SE) i medijana za indeks preferencije tokom ovipozicije (*IPO*) kod *A. obtectus*. Izražene vrednosti dobijene su nakon 48 generacija selekcije na pasulju ili nautu (faktor selekcionni režim) i nakon preadultnog razvića na istoj ili alternativnoj biljci domaćinu (faktor tretman). Rezultati su dobijeni analizom podataka dobijenih iz eksperimenta sa mogućnošću izbora domaćina tokom polaganja jaja (Eksperiment I<sub>B</sub>).

Selekcionni režim	Tretman	Srednja vrednost IPO ± SE	Medijana IPO	N
P	P	-0,71 ± 0,03	-0,91	194
	C	-0,51 ± 0,04	-0,76	209
C	C	-0,29 ± 0,04	-0,31	267
	P	-0,39 ± 0,04	-0,60	230

Tabela 22. Mann-Whitney U test indeksa preferencije tokom ovipozicije (*IPO*). Prikazane su značajnosti međugrupnih poređenja sume rangova (Eksperiment I<sub>B</sub>).

Tip poređenja između eksperimentalnih grupa	Suma rangova po koloni	Mann-Whitney U vrednost	<i>P</i>
Pp vs. Pc	35505, 45901	16590	0,0130
Pp vs. Cc	32510, 73980	13590	<0,0001
Pp vs. Cp	34400, 55700	15490	<0,0001
Pc vs. Cc	41729, 71797	19780	< 0,0001
Pc vs. Cp	43080, 53500	21130	0,0275
Cc vs. Cp	71780, 51970	25410	0,0009

Tabela 23. Srednje vrednosti i standardne greške (SE) dužine života (dani) ženki I mužjaka *Acantosceldes obtectus* selektovanih na pasulju (P) ili nautu (C) nakon 46 generacija. Efekat tretmana predstavlja biljku domaćina na kojoj se završava larveno razviće – pasulj (P) ili naut (C) u uslovima bez mogućnosti izbora domaćina tokom polaganja jaja (Eksperiment I<sub>A</sub>).

Sel. režim	Tretman	Pop.	Srednja vrednost ± SE N			
			Ponudeni supstrat tokom adultne faze:			
			Pasulj		Naut	
			♀♀		♀♀	
P	P	1	9,10 ± 0,17	50	11,86 ± 0,27	43
		2	10,54 ± 0,24	50	12,94 ± 0,46	48
		3	10,66 ± 0,22	50	13,57 ± 0,43	44
		4	9,77 ± 0,29	39	14,09 ± 0,52	32
	C	1	9,54 ± 0,24	46	11,47 ± 0,34	47
		2	10,59 ± 0,31	39	13,52 ± 0,53	42
		3	10,44 ± 0,28	50	13,75 ± 0,48	49
		4	10,67 ± 0,42	27	14,18 ± 0,89	27
C	C	1	10,28 ± 0,21	47	11,12 ± 0,29	51
		2	11,10 ± 0,17	48	11,17 ± 0,25	48
		3	10,67 ± 0,25	51	12,02 ± 0,30	53
		4	9,71 ± 0,18	48	11,17 ± 0,32	48
	P	1	9,86 ± 0,28	29	11,20 ± 0,27	30
		2	9,67 ± 0,19	48	10,67 ± 0,24	46
		3	10,91 ± 0,30	34	11,51 ± 0,37	33
		4	9,42 ± 0,24	40	11,32 ± 0,37	41
			Ponudeni supstrat tokom adultne faze:			
			Pasulj		Naut	
			♂♂		♂♂	
P	P	1	7,20 ± 0,16	49	7,95 ± 0,19	43
		2	8,04 ± 0,16	50	8,74 ± 0,29	46
		3	8,65 ± 0,16	48	9,12 ± 0,23	42
		4	8,20 ± 0,19	39	8,68 ± 0,28	31
	C	1	7,82 ± 0,20	45	7,70 ± 0,23	47
		2	8,18 ± 0,19	39	8,93 ± 0,34	41
		3	7,96 ± 0,22	50	8,77 ± 0,27	49
		4	8,37 ± 0,27	27	9,15 ± 0,39	26
C	C	1	8,64 ± 0,20	47	8,86 ± 0,24	51
		2	9,68 ± 0,14	47	9,31 ± 0,18	48
		3	9,29 ± 0,17	51	9,43 ± 0,23	53
		4	8,72 ± 0,17	47	9,33 ± 0,21	48
	P	1	8,38 ± 0,26	29	9,30 ± 0,32	30
		2	8,04 ± 0,18	48	8,80 ± 0,18	45
		3	9,44 ± 0,22	34	9,97 ± 0,28	33
		4	8,15 ± 0,17	40	8,92 ± 0,25	40



Tabela 24. Srednje vrednosti i standardne greške (SE) dužine života (dani) ženki I mužjaka *Acantoscelides obtectus*. Izražene vrednosti predstavljaju združene vrednosti populacija dobijene nakon 46 generacija selekcije na pasulju (P) ili nautu (C). Efekat tretmana predstavlja biljku domaćina tokom larvenog razvića: pasulj (P) ili naut (C) u uslovima bez mogućnosti izbora domaćina tokom polaganja jaja (Eksperiment I<sub>A</sub>).

Selekcionirežim	Tretman	Srednja vrednost ± SE N			
Ponudeni supstrat tokom adultne faze:					
		Pasulj		Naut	
		♀♀		♀♀	
P	P	10,03 ± 0,12	189	13,05 ± 0,22	167
	C	10,26 ± 0,15	162	13,11 ± 0,27	165
C	C	11,38 ± 0,15	194	10,44 ± 0,11	200
	P	9,92 ± 0,13	151	11,14 ± 0,16	150
Ponudeni supstrat tokom adultne faze:					
		Pasulj		Naut	
		♂♂		♂♂	
P	P	8,01 ± 0,09	186	8,62 ± 0,13	162
	C	8,04 ± 0,11	161	8,56 ± 0,16	163
C	C	9,23 ± 0,11	192	9,09 ± 0,09	200
	P	8,45 ± 0,11	151	9,20 ± 0,13	148

Tabela 25. Mešani model analize varijanse za osobinu dužina života ženki iz laboratorijskih linija *Acantoscelides obtectus*. Poreklo (selekcioni režim), kratkoročni efekt biljke domaćina tokom razvića (tretman) i ponuđeni domaćin tokom ovipozicije predstavljaju fiksirane faktore, dok su populacije ugnježdene u interakciju selekcionog režima i tretmana nasumičan faktor u modelu. Podaci su dobijeni iz Eksperimenta I<sub>A</sub>. **A.** Informacije o klasifikacionim varijablama i korišćenim podacima. **B.** Način računanja očekivane srednje vrednosti kvadrata odstupanja (MS). **C.** Testiranje hipoteze mešanog modela analize varijanse. df – broj stepeni slobode, SS – zbir kvadrata, MS – srednja vrednost kvadrata, *F* – *F*-odnos, *P* – statistička značajnost.

<b>A.</b> <i>Klasifikaciona varijabla</i>	Broj nivoa klasifikacionih varijabli	Imena nivoa klasifikacionih varijabli	Broj uočenih / korišćenih podataka		
Selekcioni režim	2	p, c	1379/1378		
Tretman	2	p, c			
Populacije	8	1-8			
Poduđeni domaćin	2	pasulj, naut			
<b>B.</b> <i>Izvor variranja</i>	Način računanja očekivanog MS tipa III i greške				
Selekcioni režim	Var(Greška) + 82,892 (Pop (Sel. režim × Tretman)) + Q(Sel. režim, Sel. režim×Tretman, Sel. režim×Pon. dom.)				
Tretman	Var(Greška) + 82,874 (Pop (Sel. režim × Tretman)) + Q(Tretman, Sel. režim, Tretman×Pon. dom.)				
Poduđeni domaćin	Var(Greška) + Q(Pon. dom., Sel. režim×Pon. dom, Tretman × Pon. dom)				
Selekcioni režim × Tretman	Var(Greška) + 82,863 Var(Pop (Sel. režim × Tretman)) + Q(Sel. režim × Tretman)				
Selekcioni režim × Poduđeni domaćin	Var(Greška) + Q(Sel. režim × Pon. dom)				
Tretman × Poduđeni domaćin	Var(Greška) + Q(Tretman × Pon. dom)				
Populacije (Selekcioni režim × Tretman)	Var(Greška) + 85,499 Var(Pop (Sel. režim × Tretman))				
<sup>1</sup> Greška	0,9695 *MS(Pop (Sel. režim × Tretman)) + 0,0305 *MS(Greška)				
<sup>2</sup> Greška	0,9693 *MS(Pop (Sel. režim × Tretman)) + 0,0307 *MS(Greška)				
<sup>3</sup> Greška	0,9692 *MS(Pop (Sel. režim × Tretman)) + 0,0308 *MS(Greška)				
<b>C.</b> <i>Izvor variranja</i>	df	Tip III SS	MS	<i>F</i>	<i>P</i>
Selekcioni režim <sup>1</sup>	1	283,068038	283,068038	8,12	0,0145
Tretman <sup>2</sup>	1	24,487762	24,487762	0,70	0,4183
Ponuđeni domaćin <sup>4</sup>	1	1377,506548	1377,606548	296,31	< 0,0001
Selekcioni režim × Tretman <sup>3</sup>	1	1,087489	1,087489	0,03	0,8627
Selekcioni režim × Ponuđeni domaćin <sup>4</sup>	1	294,832802	294,832802	63,42	< 0,0001
Tretman × Ponuđeni domaćin <sup>4</sup>	1	4,018585	4,018585	0,86	0,3527
Populacije (Selekcioni režim × Tretman) <sup>4</sup>	12	429,926568	35,827214	7,71	< 0,0001
<sup>1</sup> Greška	12,098	421,940484	34,876441		
<sup>2</sup> Greška	12,099	421,886082	34,869947		
<sup>3</sup> Greška	12,099	421,850624	34,865714		
<sup>4</sup> MS Greška	1359	6317,845197	4,648893		

Tabela 26. Srednje vrednosti populaciono-ekoloških parametara eksperimentalnih grupa *Acanthoscelides obtectus* dobijenih izračunavanjima kompletnog seta podataka i Jackknife procene dobijene iterativnim metodom sa 95 % intervalom poverenja (CL) nakon 46 generacija laboratorijske evolucije na pasulju (P) i nautu (C) (Eksperiment I<sub>A</sub>). Prvo slovo u skraćenici eksperimentalnih grupa odnosi se na poreklo selekcionog režima, drugo slovo odnosi se na biljku na kojoj je završeno larveno razviće, dok se treće slovo odnosi na ponuđenu biljku tokom adultne faze. Populacioni parametri:  $R_0$ – neto stopa reprodukcije ženki;  $r_m$ – intrinzička stopa rasta populacije;  $T$  – srednje vreme generacije populacije;  $D_t$ – vreme za koje populacija duplira broj jedinki;  $\lambda$  – konačna stopa rasta populacije.

Eksperimentalna grupa Pp_P				Eksperimentalna grupa Pp_C			
Populacioni parametar	Kompletan set podataka	Jackknife procena	95 % CL	Populacioni parametar	Kompletan set podataka	Jackknife procena	95 % CL
$R_0$	20,2624	20,2624	19,4707 – 21,0541	$R_0$	12,1634	12,1634	11,2084 – 13,1185
$r_m$	0,10241	0,10242	0,10089 – 0,10394	$r_m$	0,07934	0,07937	0,07624 – 0,08250
$T$	29,3787	29,3784	29,2149 – 29,5419	$T$	31,4897	31,4855	31,0955 – 31,8754
$D$	6,76814	6,76733	6,66656 – 6,86810	$D$	8,73627	8,72965	8,38442 – 9,07489
$\lambda$	1,10784	1,10785	1,10616 – 1,10954	$\lambda$	1,08257	1,08260	1,07921 – 1,08599

Eksperimentalna grupa Pc_P				Eksperimentalna grupa Pc_C			
Populacioni parametar	Kompletan set podataka	Jackknife procena	95 % CL	Populacioni parametar	Kompletan set podataka	Jackknife procena	95 % CL
$R_0$	21,0525	21,0436	19,9570 – 22,1302	$R_0$	14,5630	14,5667	13,6109 – 15,5225
$r_m$	0,10133	0,10134	0,09948 – 0,10320	$r_m$	0,08560	0,08562	0,08301 – 0,08823
$T$	30,0655	30,0666	29,8451 – 30,2880	$T$	31,2915	31,2915	30,9410 – 31,6419
$D$	6,84058	6,83933	6,71355 – 6,96511	$D$	8,09774	8,09381	7,84689 – 8,34074
$\lambda$	1,10664	1,10665	1,10459 – 1,10871	$\lambda$	1,08937	1,08939	1,08655 – 1,09223

Nastavak tabele na sledećoj strani.

Tabela 26. Nastavak. Srednje vrednosti populaciono-ekoloških parametara eksperimentalnih grupa *Acanthoscelides obtectus* dobijenih izračunavanjima kompletnog seta podataka i Jackknife procene dobijene iterativnim metodom sa 95 % intervalom poverenja (CL) nakon 46 generacija laboratorijske evolucije na pasulju (P) i nautu (C) (Eksperiment I<sub>A</sub>). Prvo slovo u skraćenici eksperimentalnih grupa odnosi se na poreklo selekcionog režima, drugo slovo odnosi se na biljku na kojoj je završeno larveno razviće, dok se treće slovo odnosi na ponuđenu biljku tokom adultne faze. Populacioni parametri:  $R_0$ – neto stopa reprodukcije ženki;  $r_m$ – intrinzička stopa rasta populacije;  $T$  – srednje vreme generacije populacije;  $D_t$ – vreme za koje populacija duplira broj jedinki;  $\lambda$  – konačna stopa rasta populacije.

Populacioni parametar	Eksperimentalna grupa Cc_P			Populacioni parametar	Eksperimentalna grupa Cc_C		
	Kompletan set podataka	Jackknife procena	95 % CL		Kompletan set podataka	Jackknife procena	95 % CL
$R_0$	24,1158	24,1158	32,0292 – 25,2024	$R_0$	19,5765	19,5765	18,4509 – 20,7022
$r_m$	0,10263	0,10263	0,10111 – 0,10416	$r_m$	0,095238	0,09525	0,09326 – 0,09725
$T$	31,0145	31,0145	30,8560 – 31,1731	$T$	31,2306	31,2304	31,0281 – 31,4326
$D$	6,75416	6,75328	6,65308 – 6,85348	$D$	7,27808	7,27625	7,12380 – 7,42871
$\lambda$	1,10808	1,10808	1,10640 – 1,10977	$\lambda$	1,09992	1,09993	1,09774 – 1,10213

Populacioni parametar	Eksperimentalna grupa Cp_P			Populacioni parametar	Eksperimentalna grupa Cp_C		
	Kompletan set podataka	Jackknife procena	95 % CL		Kompletan set podataka	Jackknife procena	95 % CL
$R_0$	12,4583	12,4598	11,7474 – 13,1723	$R_0$	11,3386	11,3386	10,6184 – 12,0589
$r_m$	0,081803	0,08182	0,07983 – 0,08381	$r_m$	0,077470	0,07749	0,07521 – 0,07977
$T$	30,8348	30,8353	30,6382 – 31,0325	$T$	31,3441	31,3430	31,0874 – 31,5986
$D$	8,47333	8,47052	8,26446 – 8,67658	$D$	8,94735	8,94342	8,67998 – 9,20686
$\lambda$	1,08524	1,08526	1,08310 – 1,08742	$\lambda$	1,08055	1,08057	1,07810 – 1,08303

Tabela 27. Poređenje srednjih vrednosti populaciono-ekoloških parametara između eksperimentalnih grupa Studentovim  $t$  testom. Podaci su dobijeni iz Eksperimenta I<sub>A</sub>.  $P$  vrednosti su izračunate za bilateralni (PBI)  $t$  test ( $^* P < 0,05$ ;  $^{**} P < 0,01$ ;  $^{***} P < 0,001$ ).

Grupa A	Grupa B	$r_m$	$R_0$	$T$	$D$	$\lambda$	Grupa A	Grupa B	$r_m$	$R_0$	$T$	$D$	$\lambda$
Pp_P	Cc_C	***	ns	***	***	***	Pp_C	Cc_C	***	***	ns	***	***
	Cc_P	ns	***	***	ns	ns		Cc_P	***	***	*	***	***
	Cp_C	***	***	***	***	***		Cp_C	ns	ns	ns	ns	ns
	Cp_P	***	***	***	***	***		Cp_P	ns	ns	**	ns	ns
	Pc_C	***	***	***	***	***		Pc_C	**	***	ns	**	***
	Pc_P	ns	ns	***	ns	ns		Pc_P	***	***	***	***	***
	Pp_C	***	***	***	***	***		Pp_C	/	/	/	/	/
	Pp_P	/	/	/	/	/		Pp_P	***	***	***	***	***
Pc_P	Cc_C	***	ns	***	***	***	Pc_C	Cc_C	***	***	ns	***	***
	Cc_P	ns	***	***	ns	ns		Cc_P	***	***	ns	***	***
	Cp_C	***	***	***	***	***		Cp_C	***	***	ns	***	***
	Cp_P	***	***	***	***	***		Cp_P	**	***	*	*	*
	Pc_C	***	***	***	***	***		Pc_C	/	/	/	/	/
	Pc_P	/	/	/	/	/		Pc_P	***	***	***	***	***
	Pp_C	***	***	***	***	***		Pp_C	***	***	ns	**	**
	Pp_P	ns	ns	***	ns	ns		Pp_P	***	***	***	***	***
Cc_P	Cc_C	***	***	ns	***	***	Cc_C	Cc_C	/	/	/	/	/
	Cc_P	/	/	/	/	/		Cc_P	***	***	ns	***	***
	Cp_C	***	***	*	***	***		Cp_C	***	***	ns	***	***
	Cp_P	***	***	ns	***	***		Cp_P	***	***	**	***	***
	Pc_C	***	***	ns	***	***		Pc_C	***	***	ns	***	***
	Pc_P	ns	***	***	ns	ns		Pc_P	***	ns	***	***	***
	Pp_C	***	***	*	***	***		Pp_C	***	***	ns	***	***
	Pp_P	ns	***	***	ns	ns		Pp_P	***	ns	***	***	***
Cp_P	Cc_C	***	***	*	***	***	Cp_C	Cc_C	***	***	ns	***	***
	Cc_P	***	***	ns	***	***		Cc_P	***	***	*	***	***
	Cp_C	*	**	**	**	**		Cp_C	/	/	/	/	/
	Cp_P	/	/	/	/	/		Cp_P	*	**	**	**	**
	Pc_C	**	***	*	*	*		Pc_C	***	***	ns	***	***
	Pc_P	***	***	***	***	***		Pc_P	***	***	***	***	***
	Pp_C	ns	ns	**	ns	ns		Pp_C	ns	ns	ns	ns	ns
	Pp_P	***	***	***	***	***		Pp_P	***	***	***	***	***

Tabela 28. Standardizovani linearni ( $\beta$ ) i nelinearni ( $\gamma$ ) selekcionni gradijenti i njihove standardne greške (SE). Podaci dobijeni iz Eksperimenta I<sub>A</sub>. Za svaku eksperimentalnu grupu, ukupan fekunditet predstavlja meru adaptivne vrednosti, dok dužina razvića, masa tela, dužina života i prvi dan polaganja jaja predstavljaju osobine životne istorije koje su testirane parcijalnom regresijom. U okviru nelinearnih selekcionnih gradijenata ( $\gamma$ ), kvadratni selekcionni gradijenti su predstavljeni dijagonalno, dok su korelacioni selekcionni gradijenti predstavljeni vertikalno. Statistička značajnost razlika selekcionnih gradijenata je testirana analizom kovarijanse preko statističke značajnosti interakcije Z transformisane osobine i eksperimentalne grupe sa standardizovanim vrednostima ukupnog fekunditeta kao procenom adaptivne vrednosti kao kovarijablom, ANCOVA (\* $P < 0,05$ ; \*\* $P < 0,01$ ; \*\*\*  $P < 0,001$ ).

Eksperimentalna grupa (n)		$\beta$	SE	$\gamma$		SE				
				Dužina razvića	Masa	Dužina života	Prvi dan polaganja jaja			
Pp_P (165)	Dužina razvića	-0,030	0,017	0,017	0,015					
	Masa	0,150***	0,020	0,032	0,025	-0,006	0,020			
	Dužina života	0,050*	0,012	0,047*	0,021	0,022	0,026	-0,041**	0,011	
	Prvi dan polaganja jaja	-0,120***	0,021	-0,010	0,020	-0,050*	0,024	0,020	0,020	-0,021
Pp_C (150)	Dužina razvića	-0,004	0,033	0,043	0,027					
	Masa	0,099**	0,036	0,018	0,042	0,045*	0,021			
	Dužina života	-0,040	0,040	0,025	0,053	-0,061	0,036	0,040	0,033	
	Prvi dan polaganja jaja	-0,270***	0,040	0,027	0,058	0,037	0,047	0,098***	0,028	-0,060
Pc_C (160)	Dužina razvića	0,0048	0,025	-0,000	0,026					
	Masa	0,163***	0,026	0,010	0,030	-0,029	0,023			
	Dužina života	-0,054	0,032	-0,019	0,037	0,013	0,034	-0,060*	0,027	
	Prvi dan polaganja jaja	-0,232***	0,030	0,027	0,036	-0,024	0,043	-0,052	0,032	-0,020
Cc_C (200)	Dužina razvića	0,030	0,020	-0,018	0,025					
	Masa	0,133***	0,020	0,039	0,045	-0,010	0,024			
	Dužina života	-0,030	0,023	-0,043	0,036	0,034	0,061	-0,040	0,026	
	Prvi dan polaganja jaja	-0,172***	0,023	0,048	0,043	0,077	0,051	-0,034	0,037	-0,013
Cc_P (194)	Dužina razvića	-0,018	0,018	-0,024	0,017					
	Masa	0,122***	0,019	-0,039	0,024	-0,030*	0,015			
	Dužina života	0,023	0,018	0,029	0,020	0,014	0,021	0,007	0,014	
	Prvi dan polaganja jaja	-0,072***	0,018	0,012	0,025	0,012	0,023	0,003	0,023	0,008
Cp_P (115)	Dužina razvića	0,006	0,030	0,013	0,014					
	Masa	0,135***	0,032	0,029	0,018	-0,000	0,001			
	Dužina života	0,011	0,035	0,087***	0,025	-0,026	0,024	-0,014	0,019	
	Prvi dan polaganja jaja	-0,144***	0,031	-0,034	0,022	-0,037	0,025	0,037	0,032	0,025

Tabela 29. Srednje vrednosti i standardne greške (SE) učestalosti ukrštanja eksperimentalnih grupa nakon višegeneracijske selekcije na pasulju (P) ili nautu (C) i kratkoročne promene biljke domaćina tokom larveog razvića (Eksperiment II). Prikazane vrednosti su dobijene združivanjem vrednosti populacija u okviru istog tipa ukrštanja.

Tip ukrštanja	♀ × ♂	Broj parova		Srednja vrednost ± SE
		Ukupno	Ukršteno	Frekvencija ukrštanja
homo selekcionni režim / homo tretman	Pp × Pp	201	117	0,59 ± 0,10
	Pc × Pc	198	82	0,41 ± 0,08
	Cc × Cc	198	86	0,42 ± 0,04
	Cp × Cp	203	106	0,52 ± 0,04
homo selekcionni režim / hetero tretman	Pp × Pc	185	76	0,41 ± 0,06
	Pc × Pp	194	89	0,46 ± 0,10
	Cc × Cp	181	89	0,49 ± 0,06
	Cp × Cc	193	96	0,49 ± 0,06
hetero selekcionni režim / homo tretman	Pp × Cp	474	224	0,45 ± 0,05
	Cp × Pp	473	181	0,38 ± 0,03
	Pc × Cc	474	194	0,41 ± 0,04
	Cc × Pc	472	181	0,38 ± 0,04
hetero selekcionni režim / hetero tretman	Pc × Cp	472	213	0,45 ± 0,03
	Cp × Pc	472	233	0,49 ± 0,04
	Pp × Cc	459	185	0,41 ± 0,03
	Cc × Pp	454	166	0,36 ± 0,04

Tabela 30. G test heterogenosti funkcije preferencije za ženke i mužjake po svakoj eksperimentalnoj grupi između svih tipova ukrštanja. Podaci dobijeni iz Eksperimenta II. *P* vrednosti se odnose na vrednosti  $G_H$ , uz odbacivanje nulte hipoteze homogenosti funkcije preferencije kada je  $P < 0,05$ .

Funkcija preferencije		$G_{Ukupno}$	$G_{Združeno}$	$G_H (df)$	<i>P</i>
Ženke	Pp	42,8811	19,4433	23,4378 <sup>(5)</sup>	0,0003
	Pc	4,6976	4,0483	0,6493 <sup>(5)</sup>	0,9856
	Cc	22,2419	9,6043	12,6376 <sup>(5)</sup>	0,0270
	Cp	26,636	13,2796	13,3564 <sup>(5)</sup>	0,0203
Mužjaci	Pp	63,6906	42,2305	21,4601 <sup>(5)</sup>	0,0007
	Pc	18,2268	0,6017	17,6251 <sup>(5)</sup>	0,0035
	Cc	11,7426	3,4575	8,2851 <sup>(5)</sup>	0,1412
	Cp	6,0311	1,0864	4,9447 <sup>(5)</sup>	0,4227

Tabela 31. G vrednosti i statističke značajnosti razlika u srednjim vrednostima učestalosti ukrštanja između različitih tipova ukrštanja. Podaci dobijeni iz Eksperimenta II.  $P < 0,05$  predstavlja odbacivanje nulte hipoteze da razlike u srednjim vrednostima učestalosti ukrštanja između različitih tipova ukrštanja nema. Rezultati delova tabele (A. – D.) odgovaraju poređenjima susednih tačaka ukrštanja vrednostima panela (A. – D., slika 7).

A.		Pp ♀♀						Pc ♀♀							
		Pp×Pp		Pp×Pc		Pp×Cc		Pp×Cp		Pc×Pp		Pc×Pc		Pc×Cc	
♀ × ♂	G (df)	11,3606 <sub>(1)</sub>		0,0329 <sub>(1)</sub>		4,5829 <sub>(1)</sub>		0,7936 <sub>(1)</sub>		0,0136 <sub>(1)</sub>		1,7015 <sub>(1)</sub>			
	P	<b>0,0008</b>		0,8561		<b>0,0323</b>		0,3730		0,9072		0,1921			
B.		Pp ♂♂						Pc ♂♂							
		Pp×Pp		Pp×Pc		Pp×Cc		Pp×Cp		Pc×Pp		Pc×Pc		Pc×Cc	
♂ × ♀	G (df)	6,0317 <sub>(1)</sub>		4,8965 <sub>(1)</sub>		0,2867 <sub>(1)</sub>		0,0044 <sub>(1)</sub>		0,4156 <sub>(1)</sub>		11,6588 <sub>(1)</sub>			
	P	<b>0,0141</b>		<b>0,0269</b>		0,5923		0,9471		0,5191		<b>0,0006</b>			
C.		Cc ♀♀						Cp ♀♀							
		Cc×Pp		Cc×Pc		Cc×Cc		Cc×Cp		Cp×Pp		Cp×Pc		Cp×Cc	
♀ × ♂	G (df)	0,3142 <sub>(1)</sub>		1,4981 <sub>(1)</sub>		1,2526 <sub>(1)</sub>		11,8465 <sub>(1)</sub>		0,3416 <sub>(1)</sub>		0,2427 <sub>(1)</sub>			
	P	0,5751		0,2210		0,2631		<b>0,0006</b>		0,5589		0,6223			
D.		Cc ♂♂						Cp ♂♂							
		Cc×Pp		Cc×Pc		Cc×Cc		Cc×Cp		Cp×Pp		Cp×Pc		Cp×Cc	
♂ × ♀	G (df)	0,0376 <sub>(1)</sub>		0,3601 <sub>(1)</sub>		1,5633 <sub>(1)</sub>		0,5156 <sub>(1)</sub>		0,8596 <sub>(1)</sub>		0,3551 <sub>(1)</sub>			
	P	0,8462		0,5485		0,2112		0,4727		0,3539		0,5512			



Tabela 32. Vreme početka i trajanje kopulacije (u minutima) u različitim tipovima ukrštanja. Podaci su dobijeni iz Eksperimenta II. Prikazane su srednje vrednosti i standardne greške (SE) nakon združivanja različitih populacija koje pripadaju istom tipu ukrštanja.

Tip ukrštanja	♀ × ♂	Srednja vrednost ± SE N			
		Početak kopulacije		Trajanje kopulacije	
homo selekcionni režim / homo tretman	Pp × Pp	10,59 ± 0,71	117	5,36 ± 0,18	117
	Pc × Pc	8,15 ± 0,79	82	6,72 ± 0,24	82
	Cc × Cc	7,14 ± 0,77	86	6,21 ± 0,22	86
	Cp × Cp	7,45 ± 0,67	106	5,79 ± 0,21	106
homo selekcionni režim / hetero tretman	Pp × Pc	7,47 ± 0,66	76	5,36 ± 0,27	76
	Pc × Pp	8,46 ± 0,78	89	5,82 ± 0,19	89
	Cc × Cp	5,84 ± 0,49	89	6,22 ± 0,22	89
	Cp × Cc	7,24 ± 0,69	96	6,08 ± 0,21	96
hetero selekcionni režim / homo tretman	Pp × Cp	7,73 ± 0,46	214	5,47 ± 0,14	214
	Cp × Pp	9,39 ± 0,55	181	5,81 ± 0,21	181
	Pc × Cc	8,28 ± 0,49	194	6,34 ± 0,17	194
	Cc × Pc	8,84 ± 0,50	181	5,66 ± 0,18	181
hetero selekcionni režim / hetero tretman	Pc × Cp	5,97 ± 0,40	213	6,06 ± 0,14	213
	Cp × Pc	7,42 ± 0,46	233	5,72 ± 0,15	233
	Pp × Cc	8,79 ± 0,56	185	5,52 ± 0,16	185
	Cc × Pp	8,72 ± 0,57	166	6,15 ± 0,18	166

Tabela 33. Mešani model analize varijanse logaritmovanih vrednosti početka kopulacije kod ukrštenih parova populacija *Acantosceldes obtectus*. Poreklo (selekcioni režim), kratkoročni efekat biljke domaćina tokom razvića (tretman) i pol predstavljaju fiksirane faktore, dok su populacije ugnježdene u interakciju selekcionog režima i tretmana nasumičan faktor u modelu. Podaci su dobijeni iz Eksperimenta II. **A.** Informacije o klasifikacionim varijablama i korišćenim podacima. **B.** Način računanja očekivane srednje vrednosti kvadrata odstupanja (MS). **C.** Testiranje hipoteze mešanog modela analize varijanse. df – broj stepeni slobode, SS – zbir kvadrata, MS – srednja vrednost kvadrata, *F* – *F*-odnos, *P* – statistička značajnost.

<b>A. Klasifikaciona varijabla</b>		Broj nivoa klasifikacionih varijabli	Imena nivoa klasifikacionih varijabli	Broj uočenih / korišćenih podataka		
Selekcioni režim		2	p, c	4616/4616		
Tretman		2	p, c			
Populacije		8	1-8			
<b>B. Izvor variranja</b>		Način računanja očekivanog MS tipa III i greške				
Selekcioni režim		Var(Greška) + 282,14 Var(Pop(Sel. režim × Tretman)) + Q(Sel. režim, Sel. režim×Tretman, Sel. režim×Pol)				
Tretman		Var(Greška) + 282,21 Var(Pop (Sel. režim × Tretman)) + Q(Tretman, Sel. režim×Tretman, Tretman×Pol)				
Pol		Var(Greška) + Q(Pol, Sel. režim×Pol, Tretman×Pol)				
Selekcioni režim × Tretman		Var(Greška) + 282,12 Var(Pop (Sel. režim × Tretman)) + Q(Sel. režim × Tretman)				
Selekcioni režim × Pol		Var(Greška) + Q(Sel. režim × Pol)				
Tretman × Pol		Var(Greška) + Q(Tretman × Pol)				
Populacije (Selekcioni režim × Tretman)		Var(Greška) + 286,02 Var(Pop (Sel. režim × Tretman))				
<sup>1</sup> Greška		0,9864*MS(Pop (Sel. režim × Tretman)) + 0,0136*MS(Greška)				
<sup>2</sup> Greška		0,9867*MS(Pop (Sel. režim × Tretman)) + 0,0133*MS(Greška)				
<sup>3</sup> Greška		0,9864*MS(Pop (Sel. režim × Tretman)) + 0,0136*MS(Greška)				
<b>C. Izvor variranja</b>		df	Tip III SS	MS	<i>F</i>	<i>P</i>
Selekcioni režim <sup>1</sup>		1	7,804325	7,804325	13,84	0,0027
Tretman <sup>2</sup>		1	0,572727	0,572727	1,02	0,3325
Pol <sup>4</sup>		1	0,007828	0,007828	0,01	0,9254
Selekcioni režim × Tretman <sup>3</sup>		1	20,706835	20,706835	36,73	<0,0001
Selekcioni režim × Pol <sup>4</sup>		1	10,470956	10,470956	11,73	0,0006
Tretman × Pol <sup>4</sup>		1	0,790179	0,790179	0,88	0,3469
Populacije (Selekcioni režim × Tretman) <sup>4</sup>		12	6,710575	0,559215	0,63	0,8216
<sup>1</sup> Greška		12,532	7,064847	0,563736		
<sup>2</sup> Greška		12,523	7,058705	0,563660		
<sup>3</sup> Greška		12,536	7,067326	0,563767		
<sup>4</sup> MS Greška		4597	4104,692907	0,892907		

Tabela 34. Mann Whitney U test i statističke značajnosti poređenja srednjih vrednosti početka kopulacije između različitih tipova ukrštanja. Podaci su dobijeni iz Eksperimenta II.  $P < 0,05$  predstavlja odbacivanje nulte hipoteze da razlike u srednjim vrednostima početka kopulacije između različitih tipova ukrštanja nema. Rezultati delova tabele (A. – D.) odgovaraju poređenjima susednih tipova ukrštanja vrednostima panela (A. – D., Slika 8).

A.		Pp ♀♀						Pc ♀♀					
		Pp×Pp	Pp×Pc	Pp×Pc	Pp×Cc	Pp×Cc	Pp×Cp	Pc×Pp	Pc×Pc	Pc×Pc	Pc×Cc	Pc×Cc	Pc×Cp
♀ × ♂													
Suma rangova		12370; 6347		9782; 24410		41830; 37970		7663; 7043		11009; 27217		38210; 44820	
Mann-Whitney U		3421		6854		18830		3640		7606		15420	
<i>P</i>		<b>0,0067</b>		0,7500		0,3988		0,9790		0,5652		<b>&lt; 0,0001</b>	
B.		Pp ♂♂						Pc ♂♂					
		Pp×Pp	Pp×Pc	Pp×Pc	Pp×Cc	Pp×Cc	Pp×Cp	Pc×Pp	Pc×Pc	Pc×Pc	Pc×Cc	Pc×Cc	Pc×Cp
♂ × ♀													
Suma rangova		13151; 8170		11134; 21506		32550; 27830		6061; 6500		9975; 24741		44330; 41570	
Mann-Whitney U		4165		7129		13970		3097		6572		17070	
<i>P</i>		<b>0,0139</b>		0,6456		0,2565		0,9485		0,1366		<b>0,0009</b>	
C.		Cc ♀♀						Cp ♀♀					
		Cc×Pp	Cc×Pc	Cc×Pc	Cc×Cc	Cc×Cc	Cc×Cp	Cp×Pp	Cp×Pc	Cp×Pc	Cp×Cc	Cp×Cc	Cp×Cp
♀ × ♂													
Suma rangova		28059; 32319		26066; 9712		7716; 7684		41690; 44220		38500; 15790		10963; 9540	
Mann-Whitney U		14200		5971		3711		16960		11130		4884	
<i>P</i>		0,3760		<b>0,0021</b>		0,7288		<b>0,0006</b>		0,9448		0,6223	
D.		Cc ♂♂						Cp ♂♂					
		Cc×Pp	Cc×Pc	Cc×Pc	Cc×Cc	Cc×Cc	Cc×Cp	Cp×Pp	Cp×Pc	Cp×Pc	Cp×Cc	Cp×Cc	Cp×Cp
♂ × ♀													
Suma rangova		34920; 37090		28620; 10720		8786; 7867		49730; 41640		31617; 14136		10830; 8276	
Mann-Whitney U		17720		6980		4126		18850		8826		4271	
<i>P</i>		0,8309		<b>0,0287</b>		0,9966		<b>0,0019</b>		0,3429		0,2539	

Tabela 35. Opšta sklonost ka ukrštanju, relativne reproduktivne adaptivne vrednosti ( $W$ ) i parametri reproduktivne izolacije ( $I_{PSI}$ ) za različite tipove ukrštanja. Podaci su dobijeni iz Eksperimenta II. Vrednosti su dobijene na združenim podacima populacija koje pripadaju određenom tipu ukrštanja. Statistička značajnost je dobijena bootstrap metodom sa 10000 iteracija. Radi bolje preglednosti, statističke značajnosti  $P < 0,05$  su podebljane, dok su marginalno značajne  $P < 0,1$  vrednosti iskošene.

Eksperimentalna grupa	Kombinacija ukrštanja	Sklonost ka ukrštanju; $P$ dobijen G testom	Reproduktivna adaptivna vrednost $W$ ; bootstrap $P$		$I_{PSI}$ vrednost; bootstrap $P$
			♀♀	♂♂	
homo selekcionni režim / hetero tretman	Pp × Pc	6,65; <b>0,036</b>	Pp = 1,00	Pp = 1,00	0,0874; 0,10
	Pc × Pp		Pc = 0,88; 0,090	Pc = 0,80; <b>0,010</b>	
	Cc × Cp	1,65; 0,440	Cc = 0,91	Cc = 0,92	0,0160; 0,80
	Cp × Cc		Cp = 1,00; 0,170	Cp = 1,00; 0,190	
hetero selekcionni režim / homo tretman	Pp × Cp	5,58; 0,061	Pp = 1,00	Pp = 0,97	0,1200; <b>0,00</b>
	Cp × Pp		Cp = 0,86; <b>0,010</b>	Cp = 1,00; 0,310	
	Pc × Cc	0,59; 0,745	Pc = 1,00	Pc = 0,95	0,0368; 0,30
	Cc × Pc		Cc = 0,99; 0,46	Cc = 1,00; 0,220	
hetero selekcionni režim / hetero tretman	Pc × Cp	6,46; <b>0,046</b>	Pc = 0,86	Pc = 0,94	0,0186; 0,60
	Cp × Pc		Cp = 1,00; <b>0,009</b>	Cp = 1,00; 0,160	
	Pp × Cc	11,97; <b>0,003</b>	Pp = 1,00	Pp = 1,00	0,1400; <b>0,00</b>
	Cc × Pp		Cc = 0,81; <b>0,002</b>	Cc = 0,89; <b>0,004</b>	

Tabela 36. Parametri reproduktivne izolacije ( $I_{PSI}$ ) za različite tipove ukrštanja i kombinacije ukrštanja populacija. Podaci su dobijeni iz Eksperimenta II. Statistička značajnost je dobijena bootstrap metodom sa 10000 iteracija. Radi bolje preglednosti, statističke značajnosti  $P < 0,05$  su podebljane, dok su marginalno značajne  $P < 0,1$  vrednosti iskošene.

Kombinacija ukrštanja populacija	$I_{PSI}$ ; bootstrap $P$					
	Pp × Pc Pc × Pp	Pp × Cp Cp × Pp	Pp × Cc Cc × Pp	Pc × Cp Cp × Pc	Pc × Cc Cc × Pc	Cc × Cp Cp × Cc
1 × 1	0,0283; 0,7566	-0,0237; 0,7958	0,0177; 0,8572	0,3674; <b>0,0024</b>	-0,0550; 0,5452	-0,087; 0,3390
1 × 2	/	0,0985; 0,3034	0,2946; <b>0,0124</b>	-0,0176; 0,8458	0,3672; <b>0,0026</b>	/
1 × 3	/	0,2612; <b>0,0164</b>	0,3106; <b>0,0118</b>	0,1204; 0,2552	0,0897; 0,4558	/
1 × 4	/	0,1118; 0,2188	0,2078; <b>0,0440</b>	0,1952; <b>0,0416</b>	0,1634; 0,1144	/
2 × 1	/	0,1848; 0,0794	0,3002; <b>0,0048</b>	-0,0534; 0,6336	-0,0947; 0,3942	/
2 × 2	0,0594; 0,6058	0,1140; 0,2698	0,2714; <b>0,0244</b>	0,0537; 0,6638	0,0427; 0,7530	0,0623; 0,5982
2 × 3	/	0,1886; 0,0902	-0,0124; 0,9084	0,1657; 0,2278	0,3287; <b>0,0236</b>	/
2 × 4	/	0,2743; <b>0,0062</b>	-0,0317; 0,7366	-0,0424; 0,6914	0,0500; 0,6858	/
3 × 1	/	0,0304; 0,7978	0,2288; <b>0,0534</b>	-0,0273; 0,8018	0,0062; 0,9546	/
3 × 2	/	0,1854; 0,1240	0,0963; 0,4556	-0,0536; 0,6502	0,0410; 0,7740	/
3 × 3	-0,0272; 0,8148	-0,0663; 0,5522	0,1786; 0,1956	-0,2309; <b>0,0360</b>	0,0241; 0,8670	0,0377; 0,7606
3 × 4	/	0,2622; <b>0,0272</b>	-0,099; 0,3544	-0,1993; <b>0,0490</b>	0,0193; 0,8888	/
4 × 1	/	0,1562; 0,1178	0,1459; 0,1378	0,0906; 0,4096	0,0085; 0,9448	/
4 × 2	/	0,2027; <b>0,0454</b>	0,1076; 0,3382	0,1785; 0,1130	-0,0930; 0,3856	/
4 × 3	/	-0,0144; 0,8790	0,2639; <b>0,0302</b>	0,0130; 0,9098	-0,0305; 0,7654	/
4 × 4	0,1094; 0,3426	0,4388; <b>0,0000</b>	0,1727; 0,0932	-0,0099; 0,9242	-0,0211; 0,8264	0,0847; 0,4080

Tabela 37. Detekcija kutikularnih ugljovodonika (CHC) laboratorijskih populacija *Acanthoscelides obtectus* primenom gasne hromatografije i masene spektrometrije (GC-MS) (Eksperiment III). RetT – retenciono vreme, RetI – retencioni indeks, broj ugljenjikovih atoma, MW – molekulska masa i diagnostički joni  $m/z$ .

#	Ime jedinjenja	RetT	RetI	Broj C atoma	MW	Diagnostički joni $m/z$
1.	<i>n</i> -pentakozan	15,57	2500	25	352	352
2.	5-metilpentakozan	16,59	2550	26	366	84/5, 308/9
3.	3-metilpentakozan	17,05	2573	26	366	337, 366 (M)
4.	<i>n</i> -heksakozan	17,59	2600	26	366	366
5.	<i>n</i> -heptakozan	19,75	2700	27	380	380
6.	11-metilheptakozan	20,42	2729	28	394	168/9, 224/5, 252/3, 394 (M)
7.	9-metilheptakozan	20,50	2734	28	394	140/1, 280/1, 394 (M)
8.	5-metilheptakozan	20,78	2746	28	394	84/5, 337
9.	9,13-dimetilheptakozan	21,12	2767	29	408	140/1, 210/1, 224/5, 294/5
10.	7,11-dimetilheptakozan	21,22	2772	28	394	323, 394 (M)
11.	3-metilheptakozan	21,30	2776	28	394	365, 394 (M)
12.	5,9-dimetilheptakozan	21,45	2782	28	394	351, 394 (M)
13.	<i>n</i> -octakozan	21,82	2800	28	394	394
14.	10,14,18-trimetilheptakozan	22,00	2808	30	422	154/5, 224/5, 294/5, 407 (M-15)
15.	10-metiloctakozan	22,56	2832	29	408	154/5, 280/1
16.	10,14-dimetiloctakozan	23,10	2858	30	422	154/5, 224/5, 294/5, 407 (M-15)
17.	<i>n</i> -nonakozan	23,74	2900	29	408	408
18.	11-metilnonakozan	24,20	2932	30	422	168/9, 280/9, 407 (M-15)
19.	11,15-dimetilnonakozan	24,52	2957	31	436	168/9, 224/5, 238/9, 294/5
20.	7,11-dimetilnonakozan	24,66	2967	31	436	112/3, 183, 280/1, 351, 421 (M-15)
21.	<i>n</i> -hentriakontan	26,37	3100	31	436	436

Tabela 38. Srednje vrednosti i standardne greške (SE) relativne zastupljenosti kutikularnih ugljovodnika (CHC) izražene u procentima. Vrednosti relativne zastupljenosti CHC su dobijene nakon 52 generacije selekcije na pasulju (P) ili nautu (C) – faktor selekcionni režim, i prikazani su za svaki tretman – larveno razviće na pasulju (P) ili nautu (C), i pol zasebno (Eksperiment III).

#	Ime jedinjenja	Sel. režim Tretman Pol	P		C	
			P	C	C	P
			Srednja vrednost (%) ± SE			
1.	<i>n</i> -pentakozan	ženski	1,79 ± 0,05	1,50 ± 0,09	1,75 ± 0,09	1,94 ± 0,15
		muški	1,71 ± 0,11	1,49 ± 0,09	1,51 ± 0,11	1,67 ± 0,10
2.	5-metilpentakozan	ženski	1,06 ± 0,07	0,87 ± 0,05	0,88 ± 0,05	0,89 ± 0,01
		muški	1,16 ± 0,13	1,06 ± 0,04	1,01 ± 0,05	1,19 ± 0,04
3.	3-metilpentakozan	ženski	2,43 ± 0,09	2,05 ± 0,10	1,99 ± 0,09	2,00 ± 0,11
		muški	2,54 ± 0,25	2,53 ± 0,08	2,06 ± 0,17	2,40 ± 0,18
4.	<i>n</i> -heksakozan	ženski	0,92 ± 0,03	0,83 ± 0,04	0,89 ± 0,01	0,96 ± 0,02
		muški	0,87 ± 0,02	0,75 ± 0,02	0,79 ± 0,01	0,86 ± 0,01
5.	<i>n</i> -heptakozan	ženski	18,95 ± 0,38	19,23 ± 0,55	21,30 ± 0,33	19,85 ± 0,64
		muški	19,53 ± 0,59	19,85 ± 0,39	21,83 ± 0,53	20,42 ± 0,58
6.	11-metilheptakozan	ženski	5,15 ± 0,58	5,44 ± 0,23	4,93 ± 0,15	6,25 ± 0,11
		muški	4,61 ± 0,70	3,28 ± 0,25	3,45 ± 0,35	3,63 ± 0,23
7.	9-metilheptakozan	ženski	7,10 ± 0,06	7,35 ± 0,14	8,03 ± 0,16	8,31 ± 0,44
		muški	6,54 ± 0,31	6,03 ± 0,12	6,94 ± 0,38	7,15 ± 0,32
8.	5-metilheptakozan	ženski	1,13 ± 0,04	1,07 ± 0,03	1,02 ± 0,05	0,93 ± 0,02
		muški	1,32 ± 0,12	1,43 ± 0,02	1,21 ± 0,05	1,22 ± 0,05
9.	9,13-dimetilheptakozan	ženski	22,69 ± 0,34	22,58 ± 0,37	20,94 ± 0,33	21,81 ± 0,32
		muški	21,58 ± 0,53	21,63 ± 0,18	19,70 ± 0,39	20,50 ± 0,38
10.	7,11-dimetilheptakozan	ženski	6,11 ± 0,13	6,15 ± 0,14	5,36 ± 0,04	5,64 ± 0,06
		muški	5,68 ± 0,20	5,32 ± 0,04	4,77 ± 0,19	5,15 ± 0,19
11.	3-metilheptakozan	ženski	5,71 ± 0,23	5,19 ± 0,28	4,96 ± 0,45	4,70 ± 0,12
		muški	6,24 ± 0,41	6,79 ± 0,28	5,85 ± 0,10	6,10 ± 0,20
12.	5,9-dimetilheptakozan	ženski	3,08 ± 0,07	2,96 ± 0,13	2,77 ± 0,04	2,74 ± 0,08
		muški	2,98 ± 0,08	2,92 ± 0,06	2,84 ± 0,09	2,89 ± 0,11
13.	<i>n</i> -octakozan	ženski	1,35 ± 0,06	1,49 ± 0,05	1,47 ± 0,07	1,35 ± 0,06
		muški	1,44 ± 0,05	1,61 ± 0,06	1,64 ± 0,14	1,49 ± 0,08
14.	10,14,18-trimetilheptakozan	ženski	2,81 ± 0,05	3,09 ± 0,12	2,63 ± 0,03	2,49 ± 0,05
		muški	2,89 ± 0,08	3,17 ± 0,10	2,77 ± 0,06	2,65 ± 0,05
15.	10-metiloctakozan	ženski	2,42 ± 0,03	2,45 ± 0,08	2,21 ± 0,04	2,35 ± 0,06
		muški	2,37 ± 0,06	2,28 ± 0,03	2,17 ± 0,06	2,28 ± 0,04
16.	10,14-dimetiloctakozan	ženski	1,77 ± 0,06	1,73 ± 0,03	1,44 ± 0,04	1,54 ± 0,02
		muški	1,80 ± 0,04	1,79 ± 0,03	1,50 ± 0,03	1,61 ± 0,04
17.	<i>n</i> -nonakozan	ženski	5,76 ± 0,53	6,42 ± 0,31	6,99 ± 0,36	5,83 ± 0,30
		muški	6,45 ± 0,47	8,12 ± 0,29	8,83 ± 0,85	7,69 ± 0,40
18.	11-metilnonakozan	ženski	5,87 ± 0,26	5,49 ± 0,11	6,20 ± 0,15	6,48 ± 0,08
		muški	6,02 ± 0,18	5,30 ± 0,06	6,31 ± 0,10	6,55 ± 0,12
19.	11,15-dimetilnonakozan	ženski	2,27 ± 0,08	2,21 ± 0,06	2,22 ± 0,08	2,34 ± 0,13
		muški	2,41 ± 0,19	2,16 ± 0,05	2,05 ± 0,07	2,25 ± 0,07
20.	7,11-dimethylnonakozan	ženski	0,96 ± 0,09	1,08 ± 0,03	1,02 ± 0,04	0,78 ± 0,08
		muški	1,11 ± 0,13	1,45 ± 0,07	1,42 ± 0,06	1,23 ± 0,09
21.	<i>n</i> -hentriakontan	ženski	0,67 ± 0,07	0,82 ± 0,06	1,01 ± 0,07	0,83 ± 0,06
		muški	0,73 ± 0,05	1,03 ± 0,07	1,29 ± 0,18	1,08 ± 0,09

Tabela 39. Mešani model analize varijanse relativnih zastupljenosti kutikularnih ugljovodonika populacija *Acanthoscelides obtectus* selektovanih na pasulju (P) ili nautu (C) tokom 52 generacije. Podaci su dobijeni iz Eksperimenta III. Selekcioni režim, tretman (larveno razviće na pasulju ili nautu) i pol predstavljaju fiksirane faktore, dok su populacije ugnježdene u interakciju selekcionog režima i tretmana nasumučan faktor u modelu. Analiza varijanse je urađena za svako detektovano jedinjenje. Stepni slobode su prikazani u zagradama, a značajnosti su istaknute zvezdicama, nivo značajnosti: \*  $P < 0,05$ ; \*\*  $P < 0,01$ ; \*\*\*  $P < 0,001$ .

#	Ime jedinjenja	F vrednosti			
		Sel.režim (1, 12)	Tretman (1, 12)	Pol (1, 15)	Pop (Sel. režim × Tretman) (12, 15)
1.	<i>n</i> -pentakozan	0,91	4,78*	17,59***	7,68***
2.	5-metilpentakozan	0,98	7,69*	14,24**	0,80
3.	3-metilpentakozan	5,94*	2,46	7,98*	1,58
4.	<i>n</i> -heksakozan	2,64	18,34**	45,39***	2,55*
5.	<i>n</i> -heptakozan	11,63**	4,06	5,18*	2,85*
6.	11-metilheptakozan	0,08	9,16*	25,27***	0,36
7.	9-metilheptakozan	12,02**	0,61	65,90***	3,64*
8.	5-metilheptakozan	13,83**	0,79	38,65***	0,81
9.	9,13-dimetilheptakozan	29,87***	2,83	22,30***	1,08
10.	7,11-dimetilheptakozan	41,31***	7,44*	32,63***	0,80
11.	3-metilheptakozan	12,31**	0,00	30,65***	0,68
12.	5,9-dimetilheptakozan	4,79*	0,38	0,30	4,87**
13.	<i>n</i> -octakozan	0,04	4,53	20,12***	5,09**
14.	10,14,18-trimetilheptakozan	30,84***	9,80**	16,27**	5,24**
15.	10-metiloctakozan	8,87*	3,02	8,21*	2,54*
16.	10,14-dimetiloctakozan	90,85***	6,52*	6,00*	1,41
17.	<i>n</i> -nonakozan	2,50	8,33*	36,49***	2,57*
18.	11-metilnonakozan	37,34***	12,00**	0,16	1,96
19.	11,15-dimetilnonakozan	0,29	3,60	0,67	2,11
20.	7,11-dimethilnonakozan	0,51	14,24**	34,47***	1,05
21.	<i>n</i> -hentriakontan	9,19*	7,21*	25,27***	4,14**



Tabela 40. Pearsonov koeficijent korelacije između frekvencije ukrštanja mužjaka i relativne zastupljenosti kutikularnih ugljovodonika ženki određene eksperimentalne grupe u okviru hetero selekcionirani režim / hetero tretman i hetero selekcionirani režim / homo tretman tipa ukrštanja. Podaci su dobijeni iz Eksperimenta II i III. Predstavljena su samo jedinjenja koja pokazuju statistički značajnu korelaciju sa učestalošću ukrštanja kod najmanje jednog tipa ukrštanja. Primenom Bonferoni korekcije, statistički značajne korelacije imaju  $P < 0,002$  i prikazane su kao zadebljane vrednosti koeficijenta korelacije, ns – predstavlja odsustvo korelacija, odnosno  $P > 0,002$ .

Ime jedinjenja	$Pp_{\text{♀}} \times Cc_{\text{♂}}$	$Cc_{\text{♀}} \times Pp_{\text{♂}}$	$Pc_{\text{♀}} \times Cp_{\text{♂}}$	$Cp_{\text{♀}} \times Pc_{\text{♂}}$
<i>n</i> -pentakozan	<b>0,717</b>	ns	ns	ns
9-metilheptakozan	<b>0,730</b>	ns	ns	ns
<i>n</i> -nonakozan	ns	ns	ns	ns
<i>n</i> -hentriakontan	<b>-0,747</b>	ns	ns	ns
Ime jedinjenja	$Pp_{\text{♀}} \times Cp_{\text{♂}}$	$Cp_{\text{♀}} \times Pp_{\text{♂}}$	$Pc_{\text{♀}} \times Cc_{\text{♂}}$	$Cc_{\text{♀}} \times Pc_{\text{♂}}$
<i>n</i> -pentakozan	ns	ns	ns	ns
9-metilheptakozan	ns	ns	ns	ns
<i>n</i> -nonakozan	<b>-0,724</b>	ns	ns	ns
<i>n</i> -hentriakontan	ns	ns	ns	ns

Tabela 41. Fenotipske vrednosti osobina životne istorije kod četiri eksperimentalne grupe nakon larvenog razvića na pasulju (P) ili nautu (C) (Eksperiment IV). Prikazane su srednje vrednosti, standardne greške (SE) i koeficijenti variranja (CV).

Eksperimentalna grupa Tretman	Pp				Pc			
	P		C		P		C	
	Sr. vrednost ± SE	CV (%)	Sr. vrednost ± SE	CV (%)	Sr. vrednost ± SE	CV (%)	Sr. vrednost ± SE	CV (%)
Vijabilitet	0,50 ± 0,04	34,68	0,44 ± 0,03	27,48	0,28 ± 0,02	48,55	0,45 ± 0,02	30,66
Dužina razvića ♀♀	33,33 ± 0,13	1,92	33,46 ± 0,14	1,99	33,57 ± 0,09	1,62	33,32 ± 0,12	2,04
Dužina razvića ♂♂	32,93 ± 0,14	1,99	32,55 ± 0,15	2,16	33,01 ± 0,11	1,94	32,45 ± 0,11	2,01
Masa ♀♀	5,77 ± 0,08	6,72	5,94 ± 0,07	5,32	5,77 ± 0,07	6,86	6,07 ± 0,07	6,66
Masa ♂♂	4,68 ± 0,06	5,72	4,92 ± 0,04	4,16	4,71 ± 0,05	6,58	4,98 ± 0,04	5,02
Dužina života ♀♀	8,91 ± 0,20	10,85	9,15 ± 0,16	8,61	9,20 ± 0,15	9,26	12,24 ± 0,33	15,29
Dužina života ♂♂	10,30 ± 0,17	8,00	11,57 ± 0,17	7,13	11,46 ± 0,23	11,95	14,02 ± 0,18	7,97
Ukupni fekunditet	44,62 ± 1,34	14,40	49,98 ± 1,52	14,56	46,99 ± 1,31	16,03	40,85 ± 1,80	25,37
Adaptivna vrednost	4,02 ± 0,34	40,48	3,92 ± 0,23	28,24	2,58 ± 0,23	50,93	3,63 ± 0,31	49,46
Eksperimentalna grupa Tretman	Cc				Cp			
	P		C		P		C	
	Sr. vrednost ± SE	CV (%)	Sr. vrednost ± SE	CV (%)	Sr. vrednost ± SE	CV (%)	Sr. vrednost ± SE	CV (%)
Vijabilitet	0,20 ± 0,02	44,92	0,64 ± 0,03	20,47	0,19 ± 0,02	56,54	0,67 ± 0,02	18,87
Dužina razvića ♀♀	35,56 ± 0,18	2,16	35,05 ± 0,15	1,90	34,97 ± 0,16	2,31	33,97 ± 0,16	1,38
Dužina razvića ♂♂	34,91 ± 0,13	1,59	34,24 ± 0,14	1,83	34,15 ± 0,14	2,16	32,56 ± 0,09	1,45
Masa ♀♀	5,44 ± 0,13	9,57	6,14 ± 0,07	4,67	5,92 ± 0,07	5,64	6,56 ± 0,06	4,60
Masa ♂♂	4,46 ± 0,07	6,26	4,84 ± 0,07	5,88	4,78 ± 0,07	7,20	5,26 ± 0,06	5,44
Dužina života ♀♀	8,87 ± 0,23	10,74	9,55 ± 0,20	8,45	7,88 ± 0,18	11,71	9,41 ± 0,19	10,33
Dužina života ♂♂	10,63 ± 0,28	11,17	11,12 ± 0,26	10,50	10,41 ± 0,17	8,23	12,26 ± 0,18	7,40
Ukupni fekunditet	38,36 ± 2,55	27,41	49,29 ± 1,71	14,32	55,22 ± 1,26	11,44	56,49 ± 1,71	15,17
Adaptivna vrednost	1,32 ± 0,16	49,19	5,73 ± 0,33	23,91	1,84 ± 0,21	56,10	7,63 ± 0,40	25,91

Tabela 42. Mešani model analize varijanse fenotipskih vrednosti osobina životne istorije linija *Acanthoscelides obtectus* selektovanih na pasulju (P) ili nautu (C) tokom više od 230 generacija. Efekat eksperimentalne grupe (Pp, Pc, Cc i Cp) i efekat tretmana (larveno razviće na pasulju ili nautu) predstavljaju fiksirane faktore u modelu, dok su familije ugnježdene u eksperimentalnu grupu nasumičan faktor u modelu. Analiza varijanse je urađena za svaku osobinu životne istorije zasebno, a podaci korišćeni prilikom analize su dobijeni iz Eksperimenta IV. Testiranje hipoteze mešanog modela analize varijanse:  $F$  –  $F$ -odnos,  $df$  – broj stepeni slobode,  $P$  – statistička značajnost.

	Eksp. grupa		Tretman		Eksp. grupa × Tretman		Familija (Eksp. grupa)	
	F (df);	$P$	F (df);	$P$	F (df);	$P$	F (df);	$P$
Vijabilitet	3,94 (3, 105.18);	<b>0,0105</b>	263,00 (1, 665);	<b>&lt;0,0001</b>	73,96 (3, 665);	<b>&lt;0,0001</b>	2,66 (95, 665);	<b>&lt;0,0001</b>
Dužina razvića ♀♀	60,92 (3, 121.22);	<b>&lt;0,0001</b>	152,13 (1,5806);	<b>&lt;0,0001</b>	90,62 (3, 5806);	<b>&lt;0,0001</b>	5,44 (95, 5806);	<b>&lt;0,0001</b>
Dužina razvića ♂♂	64,76 (3, 109.93);	<b>&lt;0,0001</b>	307,30 (1, 6200);	<b>&lt;0,0001</b>	45,64 (3, 6200);	<b>&lt;0,0001</b>	5,17 (94, 6200);	<b>&lt;0,0001</b>
Masa ♀♀	10,76 (3, 107.35);	<b>&lt;0,0001</b>	194,46 (1, 1541);	<b>&lt;0,0001</b>	12,72 (3, 1541);	<b>&lt;0,0001</b>	4,35 (97, 1541);	<b>&lt;0,0001</b>
Masa ♂♂	8,91 (3, 96.37);	<b>&lt;0,0001</b>	188,58 (1, 1833);	<b>&lt;0,0001</b>	3,10 (3, 1833);	<b>&lt;0,0001</b>	4,01 (94, 1833);	<b>&lt;0,0001</b>
Dužina života ♀♀	30,34 (3, 110.98);	<b>&lt;0,0001</b>	138,99 (1, 1539);	<b>&lt;0,0001</b>	33,44 (3, 1539);	<b>&lt;0,0001</b>	3,24 (97, 1539);	<b>&lt;0,0001</b>
Dužina života ♂♂	28,38 (3, 97.00);	<b>&lt;0,0001</b>	230,53 (1, 1806);	<b>&lt;0,0001</b>	19,13 (3, 1806);	<b>&lt;0,0001</b>	3,36 (94, 1806);	<b>&lt;0,0001</b>
Ukupni fekunditet	20,30 (3, 115.97);	<b>&lt;0,0001</b>	10,11 (1, 1542);	<b>0,0015</b>	16,34 (3, 1542);	<b>&lt;0,0001</b>	2,42 (97, 1542);	<b>&lt;0,0001</b>
Adaptivna vrednost	9,65 (3, 96.52);	<b>&lt;0,0001</b>	758,08 (1, 1531);	<b>&lt;0,0001</b>	212,67 (3, 1531);	<b>&lt;0,0001</b>	6,88 (94, 1531);	<b>&lt;0,0001</b>

Tabela 43. Analiza varijanse fenotipskih vrednosti osobina životne istorije populacija *Acanthoscelides obtectus* selektovanih na pasulju (P) ili nautu (C) tokom više od 230 generacija i razvijenih na alternativnim domaćinima (Eksperiment IV). Prikazani su  $F$  -  $F$ -odnos,  $df$  – stepeni slobode (u zagradi),  $P$  – statistička značajnost.

	Eksp. grupa	Tretman		Familija		Tretman × Familija	
		F (d.f.);	$P$	F (d.f.);	$P$	F (d.f.);	$P$
Vijabilitet	Pp	3,73 (1, 81);	0,0571	1,60 (22, 81);	0,0661	0,84 (22, 81);	0,6665
	Pc	44,30 (1, 222);	< 0,0001	2,74 (33, 222);	< 0,0001	1,36 (32, 222);	0,1031
	Cc	133,26 (1, 87);	< 0,0001	1,62 (16, 87);	0,0799	0,88 (16, 87);	0,5908
	Cp	393,11 (1, 181);	< 0,0001	40,6 (24, 181);	< 0,0001	1,68 (24, 181);	0,0302
Dužina razvicia ♀♀	Pp	1,51 (1, 1017);	0,2195	3,57 (22, 1017);	< 0,0001	3,98 (22, 1017);	< 0,0001
	Pc	37,11 (1, 1798);	< 0,0001	4,15 (32, 1798);	< 0,0001	2,43 (32, 1798);	< 0,0001
	Cc	9,00 (1, 916);	0,0028	3,23 (16, 916);	< 0,0001	2,74 (16, 916);	0,0003
	Cp	308,46 (1, 2079);	< 0,0001	4,45 (1, 2079);	< 0,0001	3,33 (1, 2079);	< 0,0001
Dužina razvicia ♂♂	Pp	14,47 (1, 1196);	0,0001	5,49 (22, 1196);	< 0,0001	4,03 (22, 1196);	< 0,0001
	Pc	8,13 (1, 1700);	0,0044	3,90 (33, 1700);	< 0,0001	2,33 (33, 1700);	< 0,0001
	Cc	18,67 (1, 1051);	< 0,0001	1,43 (16, 1051);	0,1175	2,73 (16, 1051);	0,0003
	Cp	250,65 (1, 2061);	< 0,0001	3,93 (24, 2061);	< 0,0001	1,97 (24, 2061);	0,0034
Masa ♀♀	Pp	5,65 (1, 284);	0,0181	2,94 (22, 284);	< 0,0001	1,39 (22, 284);	0,1164
	Pc	48,66 (1, 545);	< 0,0001	5,81 (32, 545);	< 0,0001	1,84 (32, 545);	0,0037
	Cc	54,62 (1, 207);	< 0,0001	3,22 (19, 207);	< 0,0001	1,04 (16, 207);	0,4160
	Cp	124,82 (1, 411);	< 0,0001	4,67 (24, 411);	< 0,0001	0,83 (24, 411);	0,6938
Masa ♂♂	Pp	19,42 (1, 397);	< 0,0001	2,28 (22, 397);	0,0009	1,73 (22, 397);	0,0217
	Pc	56,23 (1, 628);	< 0,0001	4,18 (32, 628);	< 0,0001	1,41 (32, 628);	0,0691
	Cc	34,71 (1, 296);	< 0,0001	3,49 (16, 296);	< 0,0001	2,18 (15, 296);	0,0071
	Cp	103,76 (1, 419);	< 0,0001	6,20 (24, 419);	< 0,0001	1,81 (24, 419);	0,0119
Dužina života ♀♀	Pp	1,80 (1, 283);	0,1813	1,91 (22, 283);	0,0092	2,20 (22, 283);	0,0018
	Pc	188,90 (1, 545);	< 0,0001	3,95 (32, 545);	< 0,0001	2,00 (32, 545);	0,0011
	Cc	7,39 (1, 206);	0,0071	1,88 (19, 206);	0,0171	1,04 (16, 206);	0,4131
	Cp	75,76 (1, 411);	< 0,0001	2,48 (24, 411);	0,0002	2,02 (24, 411);	0,0034
Dužina života ♂♂	Pp	34,69 (1, 391);	< 0,0001	1,47 (22, 391);	0,0817	1,14 (22, 391);	0,3001
	Pc	221,80 (1, 616);	< 0,0001	4,19 (32, 616);	< 0,0001	2,29 (32, 616);	< 0,0001
	Cc	5,10 (1, 289);	0,0246	5,36 (16, 289);	< 0,0001	1,34 (15, 289);	0,1781
	Cp	115,58 (1, 417);	< 0,0001	3,25 (24, 417);	< 0,0001	1,35 (24, 417);	< 0,0001
Ukupni fekunditet	Pp	9,80 (1, 284);	0,0019	0,92 (22, 284);	0,5706	1,90 (22, 284);	0,0099
	Pc	18,35 (1, 546);	< 0,0001	3,36 (32, 546);	< 0,0001	1,33 (32, 546);	0,1076
	Cc	20,50 (1, 207);	< 0,0001	1,96 (19, 207);	0,0118	1,04 (16, 207);	0,4116
	Cp	0,65 (1, 411);	0,4192	2,28 (24, 411);	0,0006	1,22 (24, 411);	0,2186
Adaptivna vrednost	Pp	0,61 (1, 283);	0,4356	6,91 (22, 283);	< 0,0001	4,08 (22, 283);	< 0,0001
	Pc	79,05 (1, 544);	< 0,0001	16,34 (32, 544);	< 0,0001	6,08 (32, 544);	< 0,0001
	Cc	274,95 (1, 199);	< 0,0001	1,98 (16, 199);	0,0158	2,09 (16, 199);	0,0100
	Cp	754,66 (1, 411);	< 0,0001	5,74 (24, 411);	< 0,0001	3,15 (24, 411);	< 0,0001

Tabela 44. Indeksi plastičnosti osobina životne istorije za svaku od četiri eksperimentalne grupe (Pp, Pc, Cc i Cp). Podaci dobijeni iz Eksperimenta IV.  $PI_{mv}$  – indeks plastičnosti zasnovan na srednjim vrednostima,  $PI_{rd}$  – indeks plastičnosti zasnovan na relativnim udaljenostima, RDPI – standardizovan indeks plastičnosti zasnovan na relativnim udaljenostima, Sr. vr. – srednja vrednost, SE – standardna greška, CV (%) – koeficijent variranja. Nastavak tabele na sledećoj strani.

Grupa	Vijabilitet									Grupa	Ukupni fekunditet								
	$PI_{mv}$				$PI_{rd}$				RDPI		$PI_{mv}$				$PI_{rd}$				RDPI
	N	Sr. vr.	SE	CV	N	Sr. vr.	SE	CV		N	Sr. vr.	SE	CV	N	Sr. vr.	SE	CV		
Pp	23	0,2857	0,0276	46,31	23	0,1733	0,0189	52,16	0,1733	Pp	23	0,1950	0,0221	54,27	23	0,1118	0,0138	59,42	0,1118
Pc	33	0,3760	0,0299	45,73	33	0,2453	0,0246	55,31	0,2453	Pc	33	0,1706	0,0224	75,29	33	0,0990	0,0147	85,33	0,0990
Cc	17	0,6583	0,0372	23,29	17	0,5074	0,0384	31,20	0,5074	Cc	17	0,2508	0,0374	61,41	17	0,1521	0,0254	69,91	0,1550
Cp	25	0,7163	0,0288	20,08	25	0,5750	0,0318	27,67	0,5750	Cp	25	0,1143	0,0177	77,32	25	0,0629	0,0103	81,72	0,0629
Dužina razvića ♀♀										Dužina razvića ♂♂									
	$PI_{mv}$				$PI_{rd}$				RDPI		$PI_{mv}$				$PI_{rd}$				RDPI
	N	Sr. vr.	SE	CV	N	Sr. vr.	SE	CV		N	Sr. vr.	SE	CV	N	Sr. vr.	SE	CV		
Pp	23	0,0208	0,0033	75,73	23	0,0105	0,0017	76,49	0,0105	Pp	23	0,0222	0,0035	75,52	23	0,0113	0,0018	76,36	0,0113
Pc	33	0,0194	0,0027	78,33	33	0,0099	0,0014	79,14	0,0099	Pc	33	0,0234	0,0033	80,60	33	0,0120	0,0017	81,81	0,0120
Cc	17	0,0255	0,0045	72,26	17	0,0130	0,0023	73,29	0,0130	Cc	17	0,0242	0,0050	85,94	17	0,0123	0,0026	87,13	0,0123
Cp	25	0,0472	0,0047	49,62	25	0,0243	0,0025	50,80	0,0234	Cp	25	0,0483	0,0042	43,13	25	0,0248	0,0022	43,87	0,0248

Tabela 44. Nastavak. Indeksi plastičnosti osobina životne istorije za svaku od četiri eksperimentalne grupe (Pp, Pc, Cc i Cp). Podaci dobijeni iz Eksperimenta IV.  $PI_{mv}$  – indeks plastičnosti zasnovan na srednjim vrednostima,  $PI_{rd}$  – indeks plastičnosti zasnovan na relativnim udaljenostima, RDPI – standardizovan indeks plastičnosti zasnovan na relativnim udaljenostima, Sr. vr. – srednja vrednost, SE – standardna greška, CV (%) – koeficijent variranja. Nastavak tabele na sledećoj strani.

Masa ♀♀										Masa ♂♂									
$PI_{mv}$				$PI_{rd}$				RDPI	$PI_{mv}$				$PI_{rd}$				RDPI		
	N	Sr. vr.	SE	CV	N	Sr. vr.	SE	CV		N	Sr. vr.	SE	CV	N	Sr. vr.	SE	CV		
Pp	23	0,0590	0,0075	60,69	23	0,0307	0,0040	62,09	0,0307	Pp	23	0,0606	0,0092	72,69	23	0,0318	0,0050	75,22	0,0318
Pc	33	0,0700	0,0083	68,33	33	0,0369	0,0045	70,78	0,0369	Pc	33	0,0664	0,0077	66,74	33	0,0349	0,0042	68,86	0,0349
Cc	17	0,1144	0,0161	57,97	17	0,0619	0,0093	61,62	0,0619	Cc	17	0,0935	0,0123	54,40	17	0,0497	0,0068	56,35	0,0497
Cp	25	0,0971	0,0076	38,97	25	0,0514	0,0042	41,23	0,0514	Cp	25	0,0878	0,0097	55,24	25	0,0465	0,0053	57,35	0,0465
Dužina života ♀♀										Dužina života ♂♂									
$PI_{mv}$				$PI_{rd}$				RDPI	$PI_{mv}$				$PI_{rd}$				RDPI		
	N	Sr. vr.	SE	CV	N	Sr. vr.	SE	CV		N	Sr. vr.	SE	CV	N	Sr. vr.	SE	CV		
Pp	23	0,1033	0,0155	72,07	23	0,0560	0,0089	75,82	0,0560	Pp	23	0,1169	0,0153	62,72	23	0,0636	0,0087	65,30	0,0636
Pc	33	0,2367	0,0189	45,92	33	0,1385	0,0123	50,90	0,1385	Pc	33	0,1941	0,0158	46,67	33	0,1102	0,0095	49,74	0,1102
Cc	17	0,1018	0,0170	68,95	17	0,0550	0,0097	72,43	0,0550	Cc	16	0,0892	0,0137	61,57	16	0,0475	0,0076	63,87	0,0475
Cp	25	0,1678	0,0211	62,99	25	0,0953	0,0132	69,46	0,0953	Cp	25	0,1505	0,0122	40,39	25	0,0825	0,0071	43,25	0,0825

Tabela 45. Analiza varijanse indeksa plastičnosti zasnovanih na relativnim udaljenostima vrednosti osobina životne istorije (PI<sub>rd</sub>) kod eksperimentalnih grupa (Pp, Pc, Cc i Cp) i međugrupna Scheffe post-hoc poređenja. Podaci su dobijeni iz Eksperimenta IV. Prikazani su *F* – *F*-odnos, *df* – broj stepeni slobode (u zagradi), *P* – statistička značajnost.

	ANOVA		Scheffe post-hoc međugrupna poređenja	
	Eksp. grupa			
	<i>F</i> ( <i>df</i> )	<i>P</i>	Pp	Pc
PI <sub>rd</sub> Vijabilitet	48,65 (3, 94)	<0,0001	Pp Pc Cc Cp	B B A A
PI <sub>rd</sub> Dužina razvica ♀♀	12,95 (3, 94)	<0,0001	Pp Pc Cc Cp	B B B A
PI <sub>rd</sub> Dužina razvica ♂♂	10,52 (3, 94)	<0,0001	Pp Pc Cc Cp	B B B A
PI <sub>rd</sub> Masa ♀♀	6,14 (3, 94)	0,0007	Pp Pc Cc Cp	B B A B, A
PI <sub>rd</sub> Masa ♂♂	2,64 (3, 94)	0,0542	Pp Pc Cc Cp	A A A A
PI <sub>rd</sub> Dužina života ♀♀	11,82 (3, 94)	<0,0001	Pp Pc Cc Cp	B, A B, A A B
PI <sub>rd</sub> Dužina života ♂♂	9,20 (3, 94)	<0,0001	Pp Pc Cc Cp	B A B B, A
PI <sub>rd</sub> Ukupni fekunditet	4,62 (3, 94);	0,0046	Pp Pc Cc Cp	B A B B, A

Tabela 46. Regresiona analiza cene plastičnosti za osobine životne istorije kod familija četiri eksperimentalne grupe (Pp, Pc, Cc i Cp) koje su izložene kratkoročnoj promeni biljke domaćina tokom razvića (efekat tretmana) – Eksperiment IV. Množenjem vrednosti preadultnog vijabiliteta, recipročne vrednosti dužine razvića, mase i ukupnog fekunditeta izračunata je mera adaptivne vrednosti. Prikazane su vrednosti linearnog koeficijenta regresije relativne adaptivne vrednosti na standardizovane vrednosti osobina ili njihove plastičnosti ( $\beta$ ) i njihove značajnosti ( $P$ ). Razlike u koeficijentima regresije između tretmana testirani su ANCOVA testom (srednje vrednosti kvadrata odstupanja – MS, F vrednosti i odgovarajuće  $P$  vrednosti – \*\*\*  $P < 0,001$ ; \*\*  $P < 0,01$ ; \*  $P < 0,05$ ). Nastavak tabele na sledećoj strani.

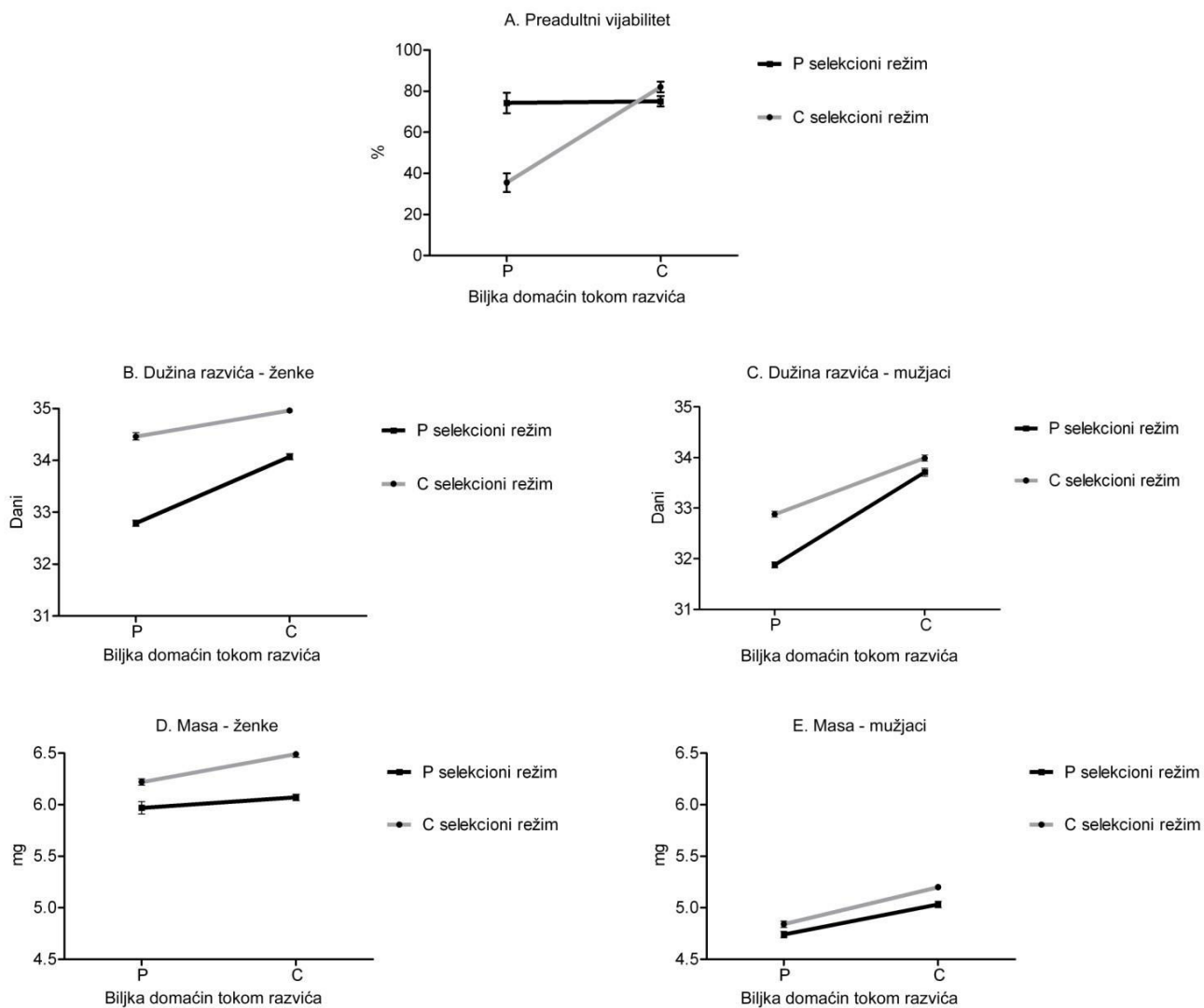
Osobina	Eksperimentalna grupa									
	Pp					Pc				
	Tretman		ANCOVA			Tretman		ANCOVA		
	P	C	MS	F	P	C	MS	F		
Vijabilitet	<b>0,378; &lt;0,0001</b>	<b>0,239; 0,0001</b>	<b>0,1921; 8,38*</b>		<b>0,386; &lt;0,0001</b>	<b>0,484; &lt;0,0001</b>	0,1123; 1,45			
Plast. (Vijabilitet)	-0,046; 0,2443	0,004; 0,8950	0,0249; 1,09		0,060; 0,0830	-0,103; 0,1959	0,3082; 3,99			
Dužina razvića	0,025; 0,7898	0,019; 0,7596	0,0004; 0,00		<b>-0,159; 0,0218</b>	0,008; 0,9517	0,3369; 1,50			
Plast. (Dužina razvića)	0,125; 0,1958	-0,024; 0,6985	0,2182; 1,84		-0,099; 0,1410	0,004; 0,9768	0,1110; 0,49			
Masa	<b>0,232; 0,0028</b>	0,018; 0,7732	<b>0,4807; 5,37</b>		<b>0,195; 0,0137</b>	<b>0,265; 0,0088</b>	0,0644; 0,33			
Plast. (Masa)	-0,091; 0,1960	0,040; 0,5252	0,1804; 2,02		0,085; 0,2626	0,006; 0,9484	0,0823; 0,42			
Dužina života	0,017; 0,8190	-0,014; 0,8482	0,0253; 0,20		0,132; 0,0692	0,061; 0,7709	0,0267; 0,12			
Plast (Dužina života)	-0,024; 0,7956	0,040; 0,6649	0,0144; 0,12		0,032; 0,6468	-0,243; 0,2538	0,4099; 1,87			
Fekunditet	0,181; 0,0544	0,087; 0,1782	0,0802; 0,76		<b>0,219; 0,0022</b>	<b>0,412; &lt;0,0001</b>	0,4703; 3,44			
Plast. (Fekunditet)	0,011; 0,9010	-0,059; 0,3547	0,0447; 0,42		-0,014; 0,8367	0,016; 0,8495	0,0108; 0,08			



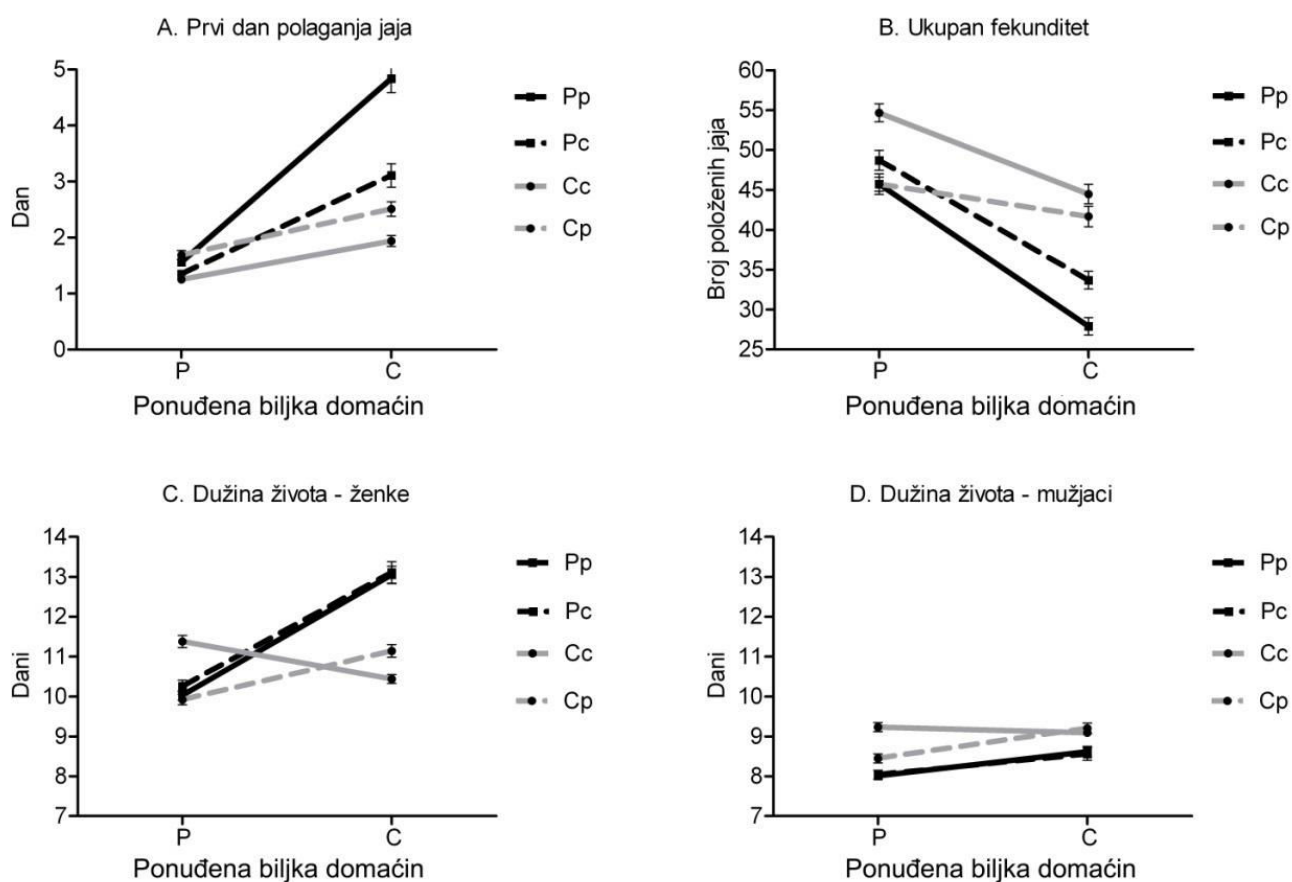
Tabela 46. Nastavak. Regresiona analiza cene plastičnosti za osobine životne istorije kod familija četiri eksperimentalne grupe (Pp, Pc, Cc i Cp) koje su izložene kratkoročnoj promeni biljke domaćina tokom razvića (efekat tretmana) – Eksperiment IV. Množenjem vrednosti preadultnog vijabiliteta, recipročne vrednosti dužine razvića, mase i ukupnog fekunditeta izračunata je mera adaptivne vrednosti. Prikazane su vrednosti linearnog koeficijenta regresije relativne adaptivne vrednosti na standardizovane vrednosti osobina ili njihove plastičnosti ( $\beta$ ) i njihove značajnosti ( $P$ ). Razlike u koeficijentima regresije između tretmana testirani su ANCOVA testom (srednje vrednosti kvadrata odstupanja – MS, F vrednosti i odgovarajuće  $P$  vrednosti – \*\*\*  $P < 0,001$ ; \*\*  $P < 0,01$ ; \*  $P < 0,05$ ).

Osobina	Eksperimentalna grupa											
	Cc					Cp						
	Tretman		ANCOVA			Tretman		ANCOVA				
	$\beta$	$P$	$\beta$	$P$	MS	F	$\beta$	$P$	$\beta$	$P$	MS	F
Vijabilitet	<b>0,137; 0,0008</b>		0,072; 0,5526		0,0138; 0,37		<b>0,199; &lt;0,0001</b>		<b>0,312; 0,0002</b>		0,1020; 3,09	
Plast. (Vijabilitet)	0,012; 0,7147		0,202; 0,1111		0,1167; 3,10		0,001; 0,9073		-0,024; 0,7378		0,0046; 0,14	
Dužina razvića	-0,028; 0,6486		-0,155; 0,0642		0,0898; 1,48		-0,144; 0,0608		-0,004; 0,9688		0,1010; 1,02	
Plast. (Dužina razvića)	0,028; 0,6503		0,119; 0,1442		0,0466; 0,77		0,115; 0,1278		-0,018; 0,8440		0,0918; 0,92	
Masa	-0,072; 0,2414		<b>0,188; 0,0327</b>		<b>0,2477; 4,27*</b>		<b>0,101; 0,0251</b>		<b>0,212; 0,0073</b>		0,1224; 0,2006	
Plast. (Masa)	<b>-0,171; 0,0114</b>		-0,036; 0,6593		0,0667; 1,15		-0,012; 0,7716		-0,111; 0,1357		0,0967; 0,2544	
Dužina života	0,020; 0,7204		0,108; 0,2747		0,0476; 0,61		-0,0317; 0,5468		-0,039; 0,6964		0,0004; 0,00	
Plast (Dužina života)	0,022; 0,6832		-0,113; 0,2517		0,1131; 1,44		-0,074; 0,1690		-0,113; 0,2608		0,0113; 0,13	
Fekunditet	0,059; 0,2844		0,149; 0,0955		0,0371; 0,58		0,0128; 0,7471		<b>0,239; 0,0009</b>		<b>0,6111; 9,51*</b>	
Plast. (Fekunditet)	-0,060; 0,2769		-0,092; 0,2872		0,0048; 0,07		-0,081; 0,0509		-0,069; 0,2786		0,0017; 0,03	

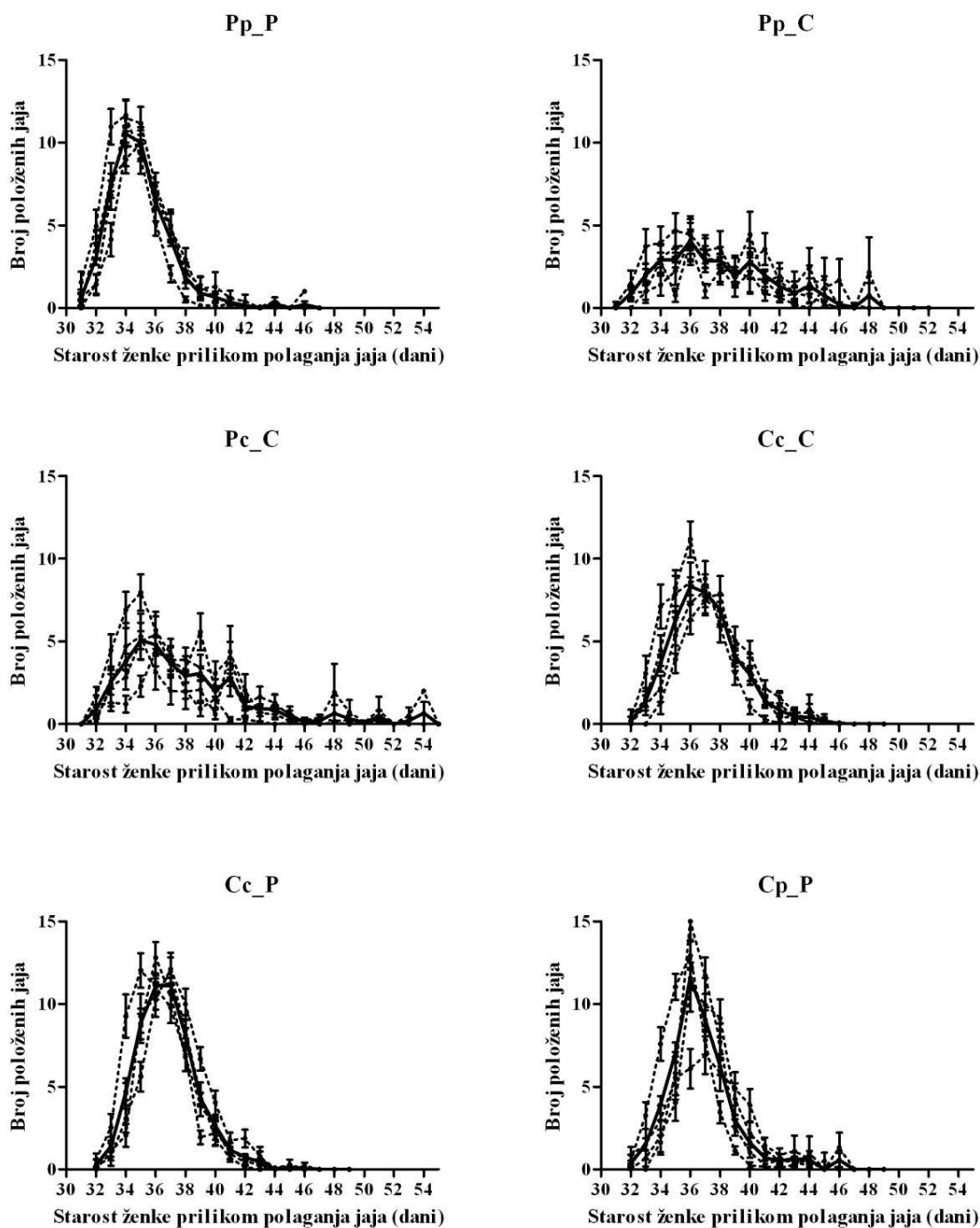
## 8. SLIKE



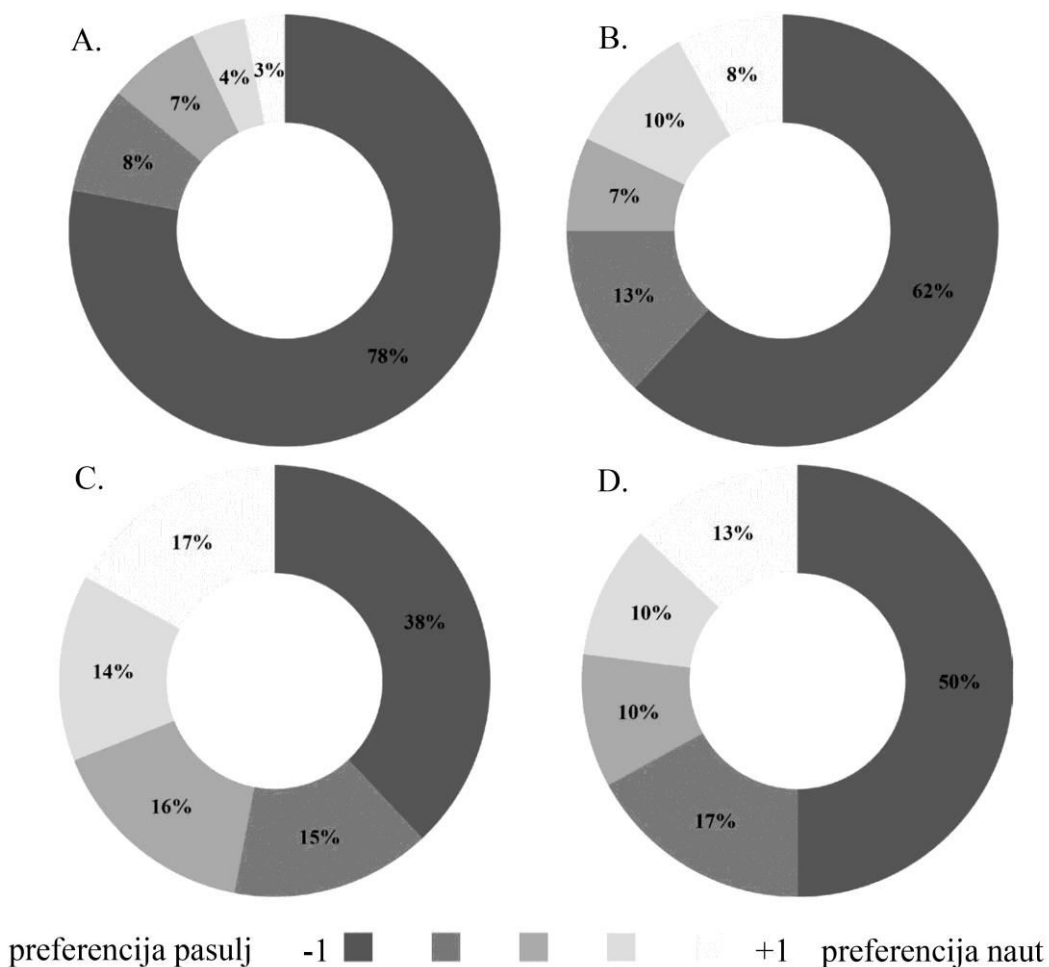
Slika 1. Srednje vrednosti i standardne greške preadultnih osobina životne istorije populacija *Acanthoscelides obtectus* selektovanih na pasulju (P selekcioni režim – crne linije) ili nautu (C selekcioni režim – sive linije) tokom 46 generacija. Identitet biljke tokom larvenog razvića je prikazan na x osi: pasulj (P) ili naut (C). **A.** – preadultni vijabilitet (%); **B.** – dužina razvića ženki (dani); **C.** - dužina razvića mužjaka (dani); **D.** – masa ženke (mg); **E.** – masa mužjaci (mg). Prema Savković i sar. (2016).



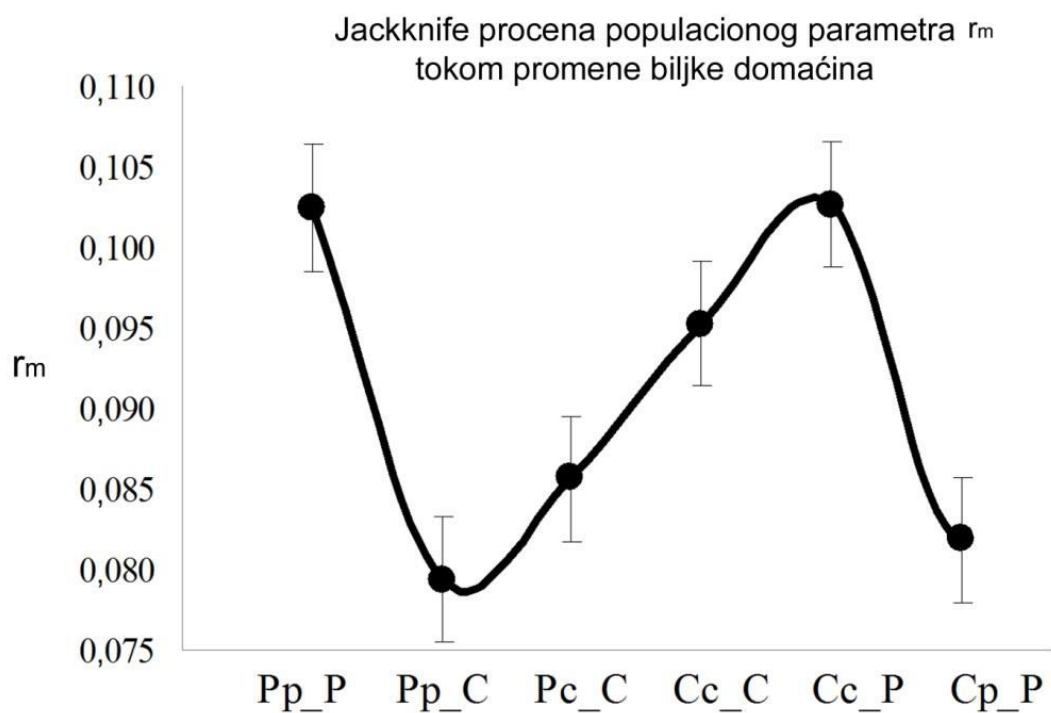
Slika 2. Srednje vrednosti i standardne greške adultnih osobina životne istorije populacija *Acanthoscelides obtectus* selektovanih na pasulju (Pp eksperimentalna grupa –pune crne linije) ili nautu (Cc eksperimentalna grupa – pune sive linije) tokom 46 generacija. Eksperimentalne grupe koje larveno razviće završavaju na alternativnoj biljci domačinu predstavljene su isprekidanim linijama (Pc eksperimentalna grupa – isprekidane crne linije i Cp eksperimentalna grupa – isprekidane sive linije). Identitet biljke tokom praćenja osobina životne istorije je prikazan na x osi: pasulj (P) ili naut (C). **A.** – prvi dan polaganja jaja (dan) **B.** – ukupan broj položenih jaja; **C.** - dužina života- ženke (dani); **D.** – dužina života - mužjaci (dani). Prema Savković i sar. (2016).



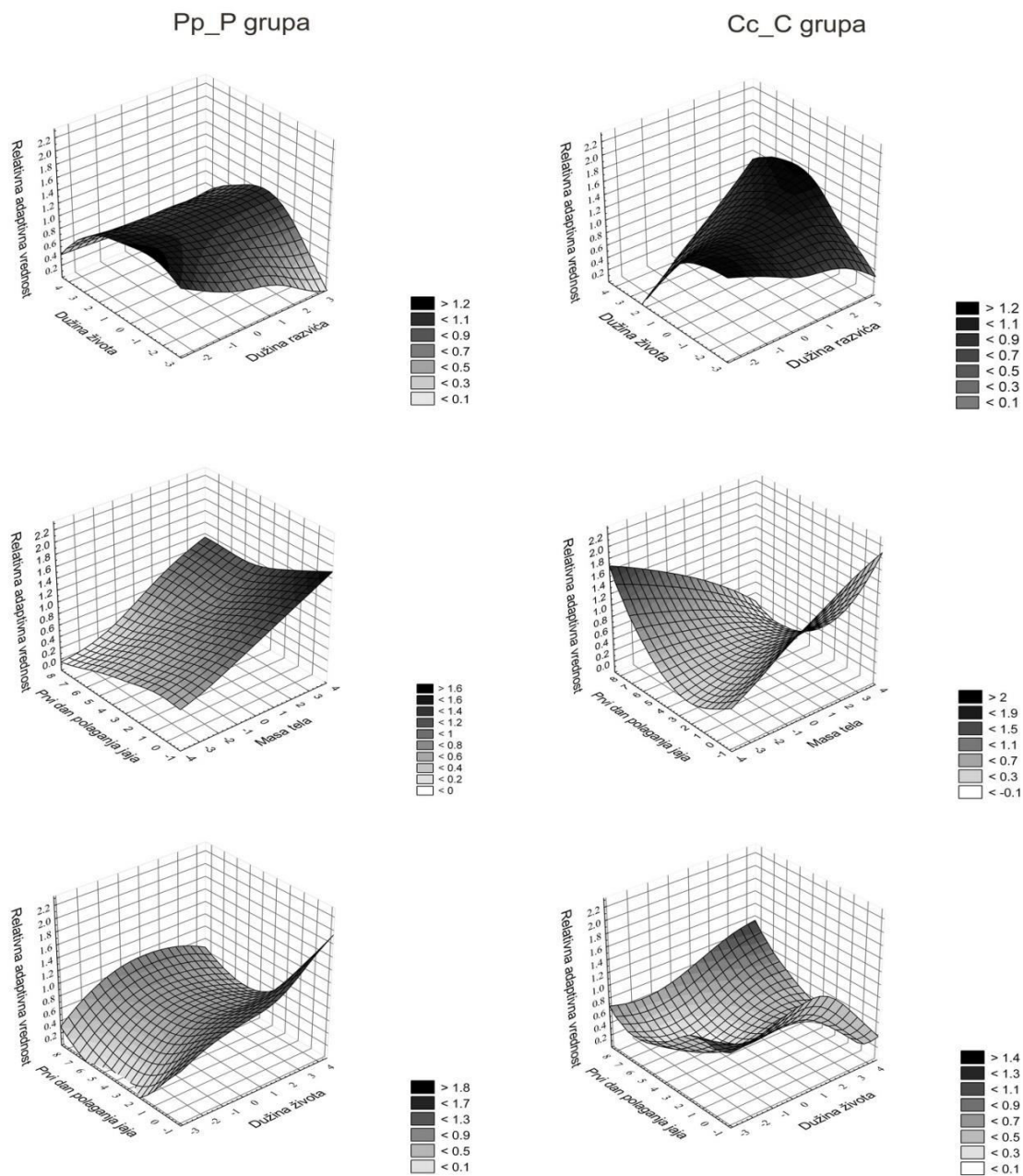
Slika 3. Dinamika promene prosečnih vrednosti broja položenih jaja tokom života ženki različitih eksperimentalnih grupa u uslovima bez mogućnosti izbora biljke domaćina (Eksperiment I<sub>A</sub>). Srednje vrednosti populacija prikazane su punom linijom, dok isprekidane linije predstavljaju pojedinačne populacije. Prema Savković i sar. (2016).



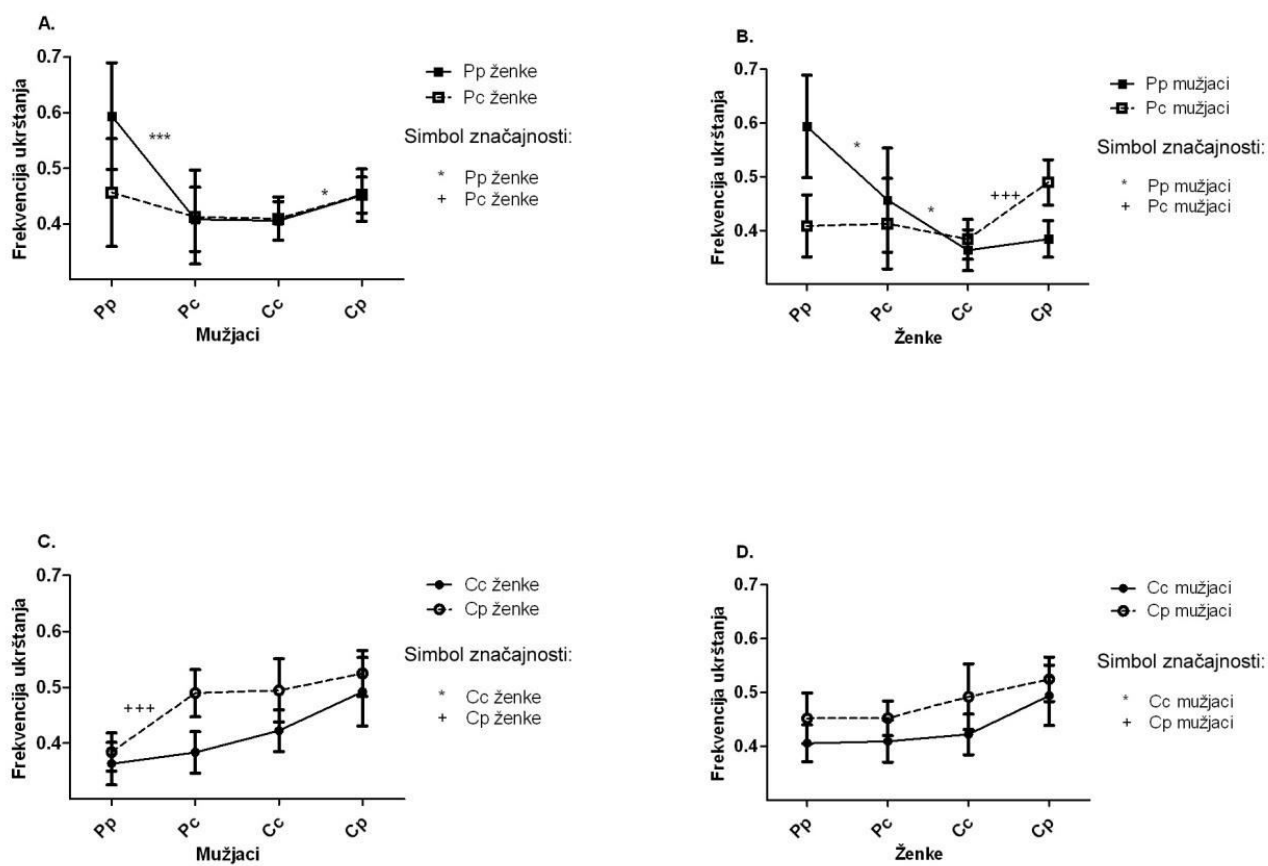
Slika 4. Procentualna zastupljenost pet klasa indeksa preferencije tokom polaganja jaja (*IPO*). Svaka klasa predstavlja rang od 0,4 *IPO* jedinice. Vrednosti *IPO* imaju opseg od -1 do +1, pri čemu vrednost -1 predstavlja polaganje jaja isključivo na pasulju, nula je nasumično (nediskriminativno) polaganje jaja, dok vrednost +1 predstavlja isključivo polaganje jaja na nautu. Podaci za računanje *IPO* dobijeni su iz eksperimenta I<sub>B</sub>. **A.** Pp eksperimentalna grupa; **B.** Pc eksperimentalna grupa; **C.** Cc eksperimentalna grupa; **D.** Cp eksperimentalna grupa.



Slika 5. Fluktuacije srednjih vrednosti jackknife procene populacionog parametra  $r_m$  tokom eksperimentalno izazvane promene biljke domaćina – od polaganja jaja na novom domaćinu (Pp\_C), preko razvića i polaganja jaja na nautu (Pc\_C), do transgeneracijske adaptacije na novog domaćina (Cc\_C); sekundarni kontakt sa pasuljem podrazumeva polaganje jaja na pasulju (Cc\_P) i razviće i polaganje jaja na pasulju (Cc\_P i Cp\_P).

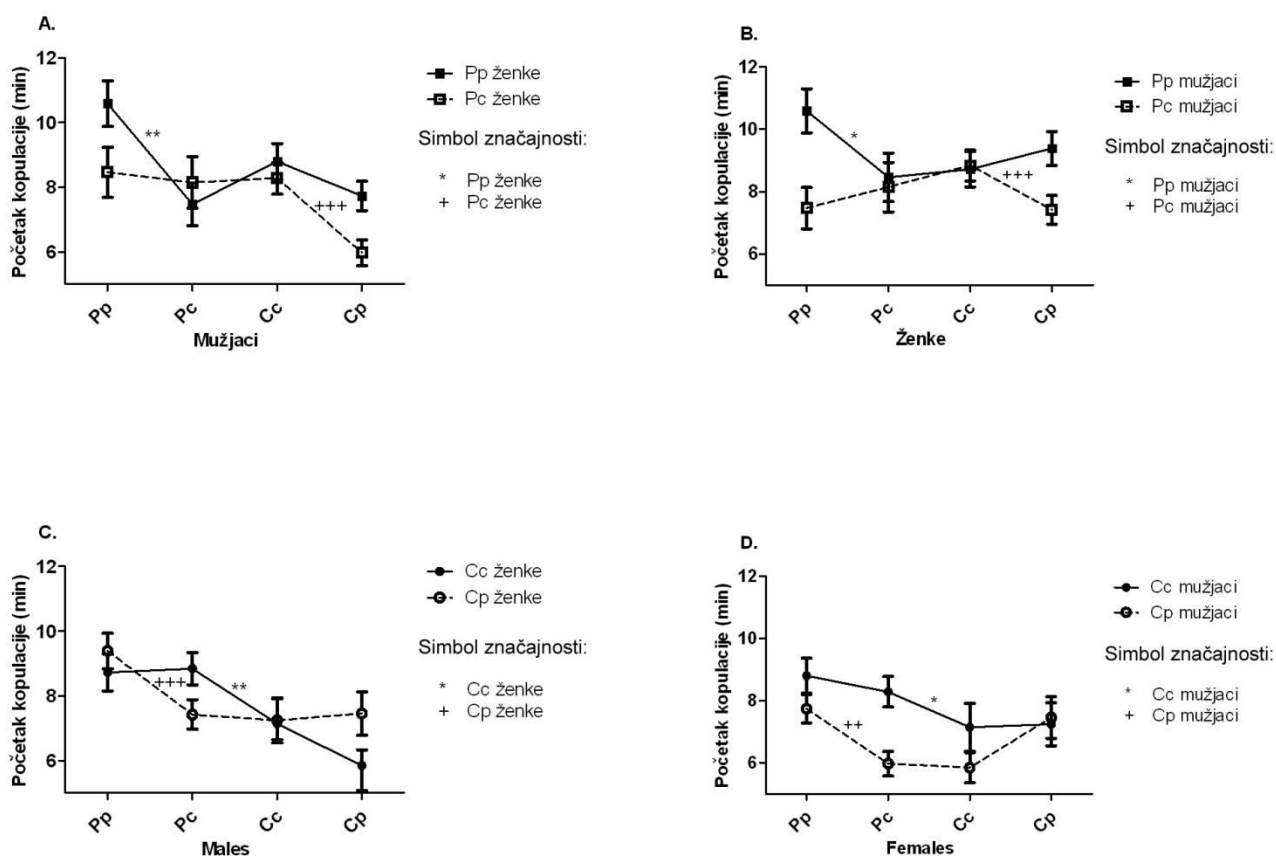


Slika 6. Adaptivni pejzaži eksperimentalnih grupa selektovanih na pasulju (Pp\_P) ili nautu (Cc\_C) tokom 46 generacija selekcije (Eksperiment I<sub>A</sub>). Z osa predstavlja relativnu meru adaptivne vrednosti u odnosu na kombinaciju osobina životne istorije na x i y osi. Prema Savković i sar. (2016).

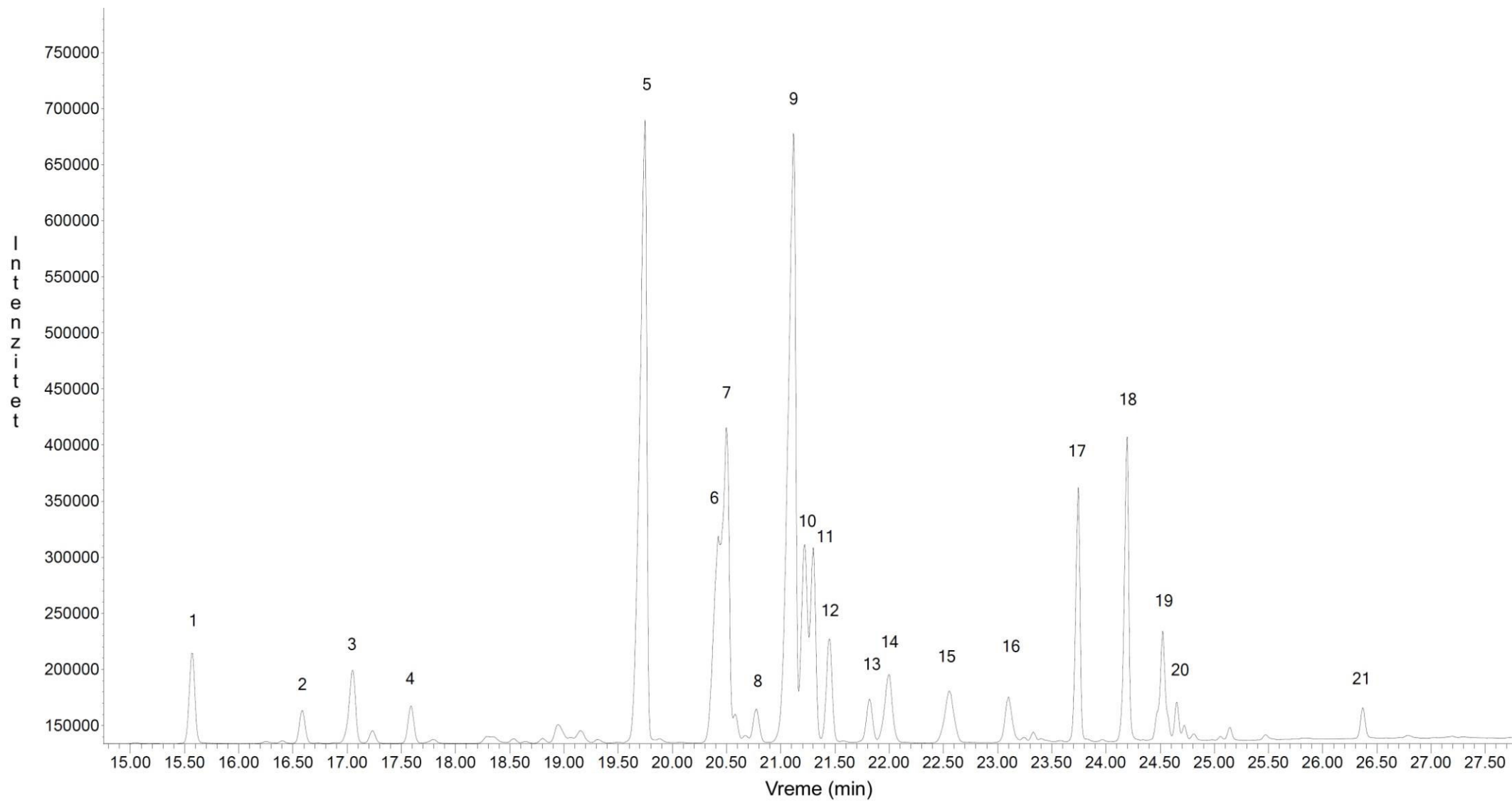


Slika 7. Funkcije učestalosti ukrštanja ženki (A. – Pp i Pc; C. – Cc i Cp) i mužjaka (B. – Pp i Pc; D. – Cc i Cp) u zavisnosti od eksperimentalne grupe kojoj pripadaju partneri (x osa). Srednje vrednosti i standardne greške su prikazane za svaku kombinaciju ukrštanja. Razlike u srednjim vrednostima između susednih tačaka svake eksperimentalne grupe su testirane G testom (Tabela 31), a statistički značajne razlike su istaknute simbolima \*\*\*, +++ ( $P < 0.001$ ) i \*, + ( $P < 0.05$ ). Prema Stojković i sar. (2014).

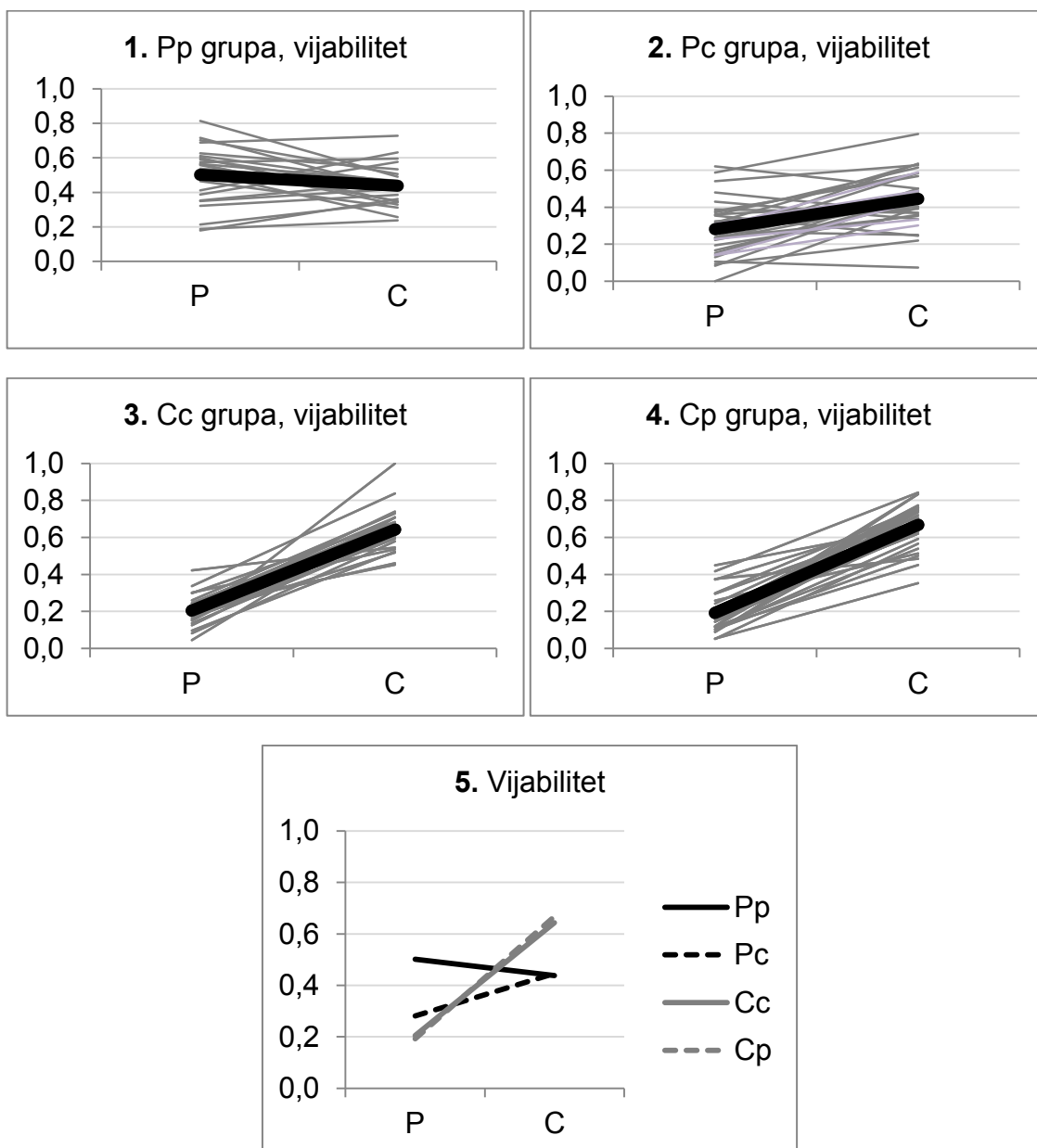




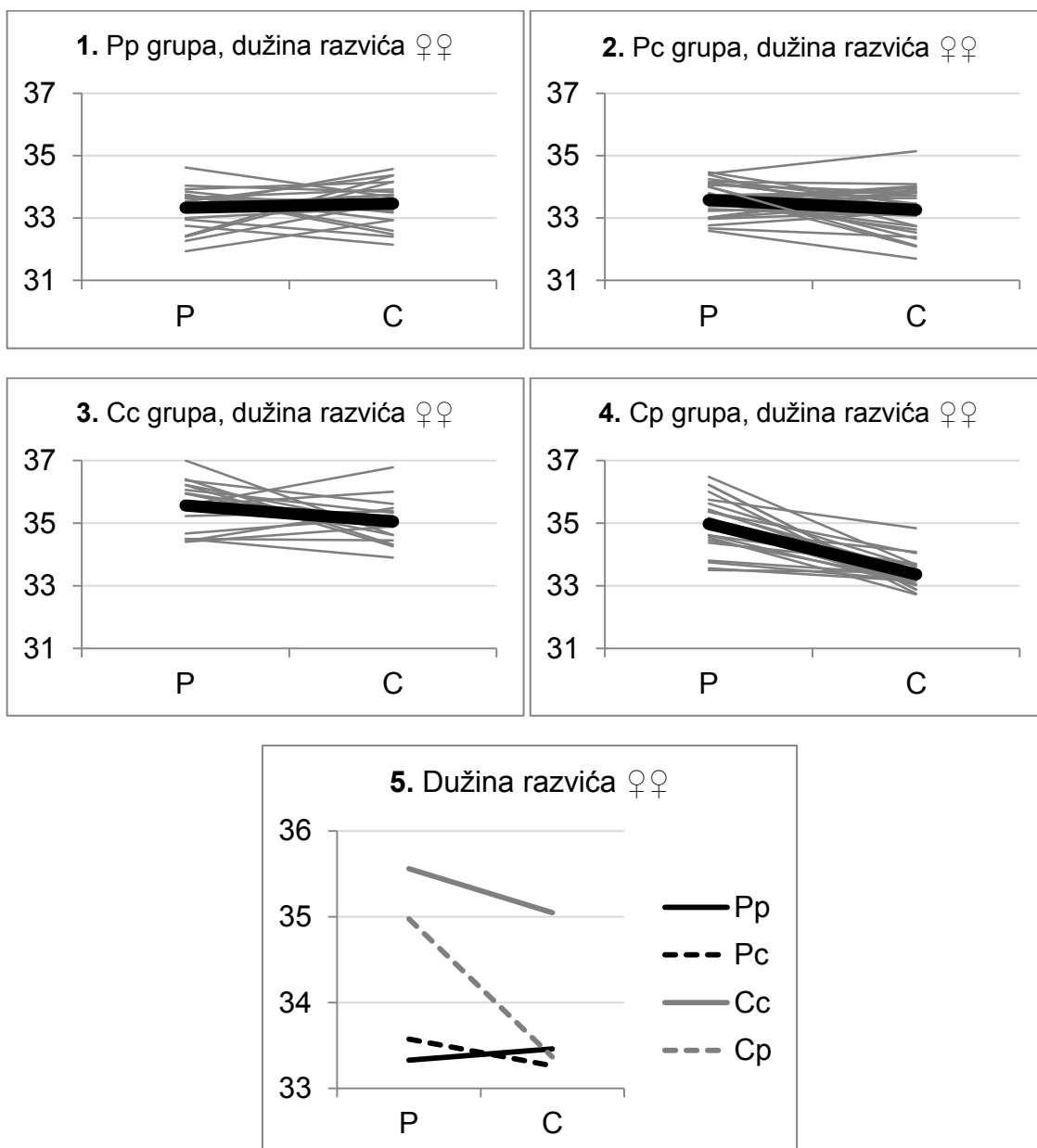
Slika 8. Funkcije izbirljivosti ukrštanja ženki (A. – Pp i Pc; C. – Cc i Cp) i mužjaka (B. – Pp i Pc; D. – Cc i Cp) predstavljene kao zavisnost vremena koje protekne od početka kopulacije (y osa) od eksperimentalne grupe kojoj pripadaju partneri (x osa). Srednje vrednosti i standardne greške su prikazane za svaku kombinaciju ukrštanja. Razlike u srednjim vrednostima između susednih tačaka svake eksperimentalne grupe su testirane Mann-Whitney testom (Tabela 33), a statistički značajne razlike su istaknute simbolima \*\*\*, +++ ( $P < 0,001$ ), \*\*, ++ ( $P < 0,005$ ) i \*, + ( $P < 0,05$ ). Prema Stojković i sar. (2014).



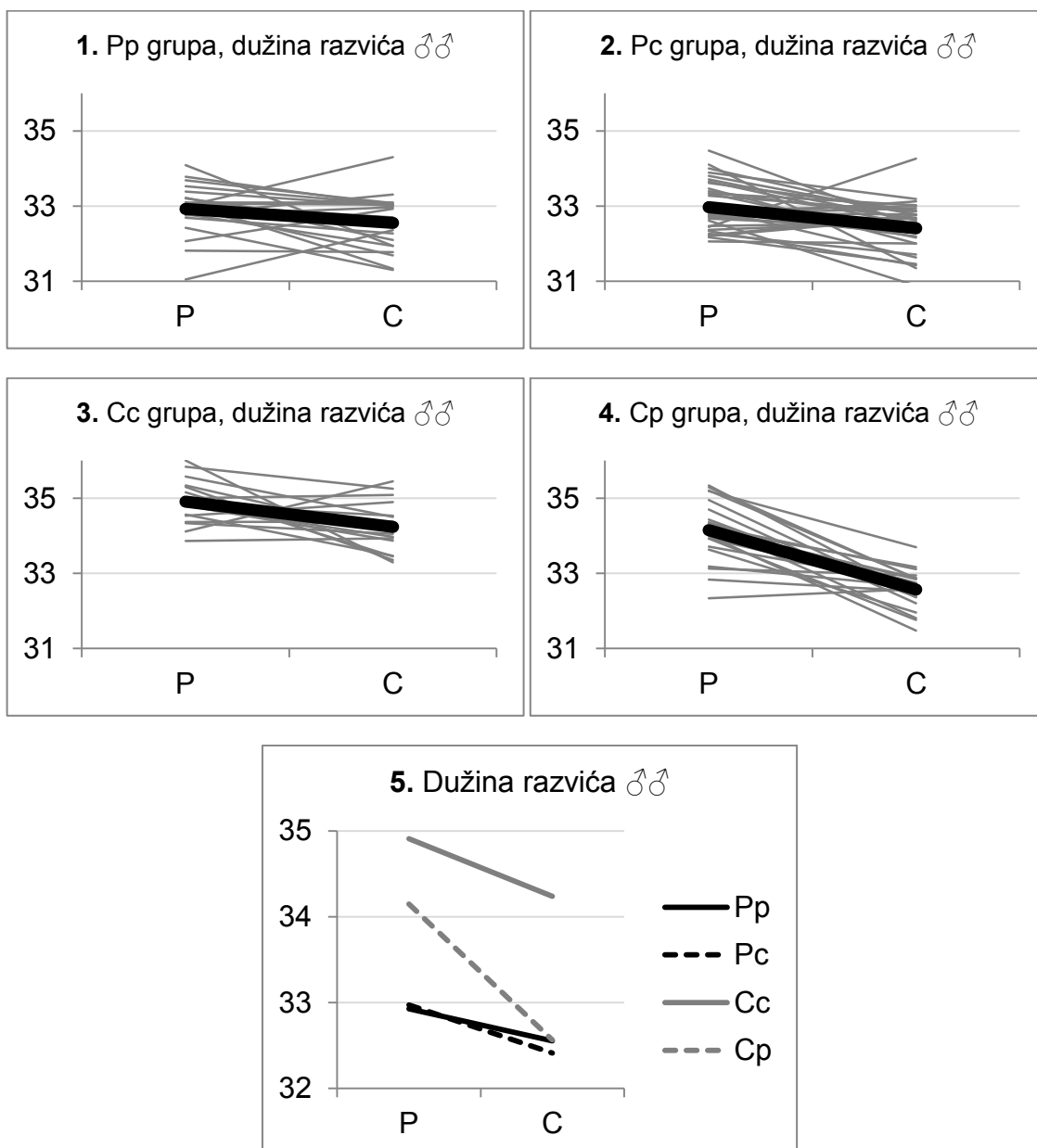
Slika 9. GC-FID profil kutikularnih ugljovodonika. Brojevi na pikovima hromatograma odgovaraju imenima jedinjenja iz tabela 37, 38 i 39. Prema Savković i sar. (2012).



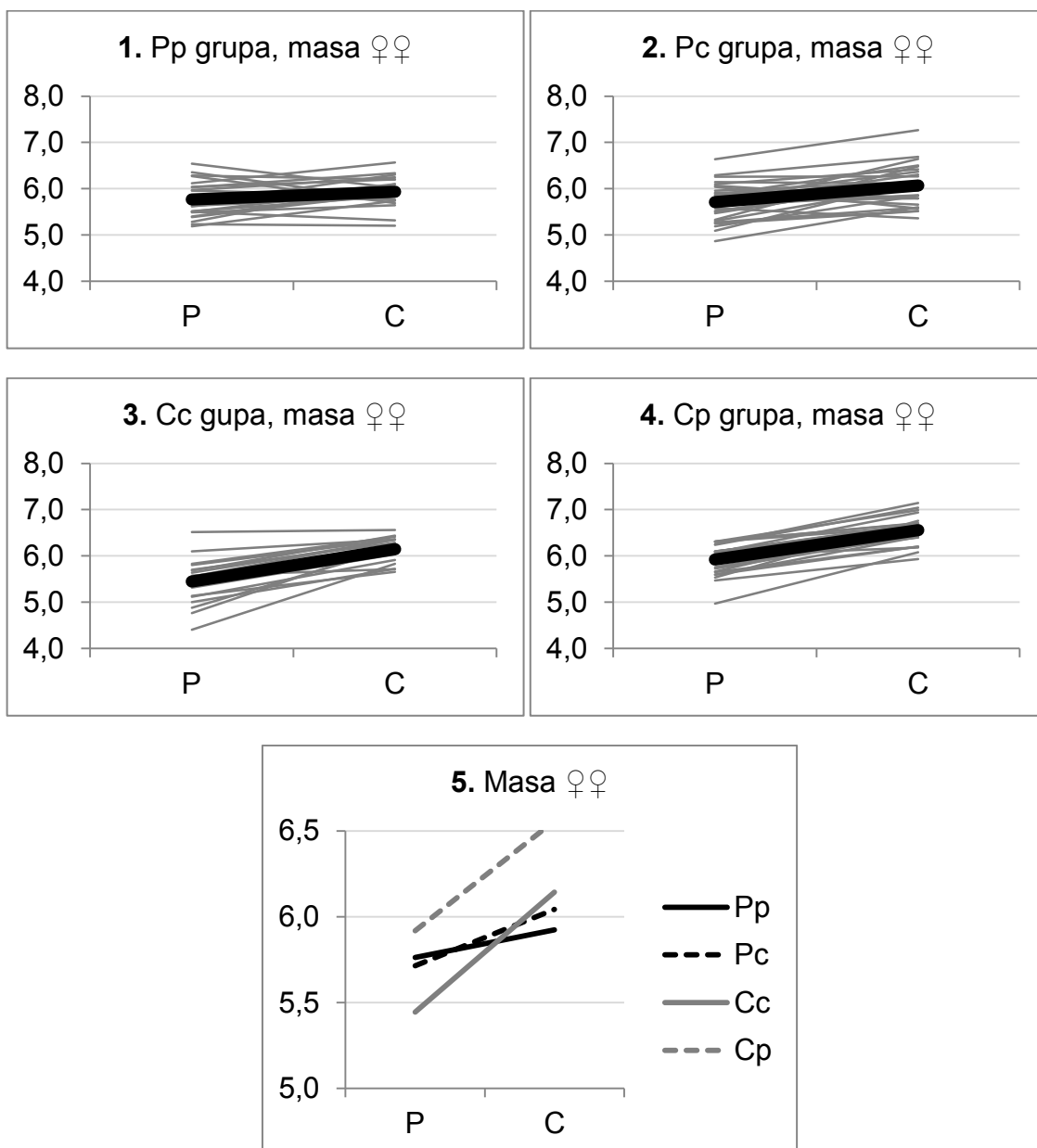
Slika 10. Norme reakcija vijabiliteta kod linija selektovanih na dva domaćina nakon preadultnog razvića na pasulju (P) ili nautu (C) – x osa. **1.** – **4.** U okviru eksperimentalne grupe, sive linije povezuju srednje vrednosti vijabiliteta za svaku od analiziranih familija. Crne linije povezuju srednje vrednosti eksperimentalne grupe. **5.** Linije povezuju srednje vrednosti vijabiliteta iste eksperimentalne grupe u različitim sredinama (Pp grupa – pune crne linije, Pc grupa – crna isprekidana linija, Cc – puna siva linija, Cp – isprekidana siva linija).



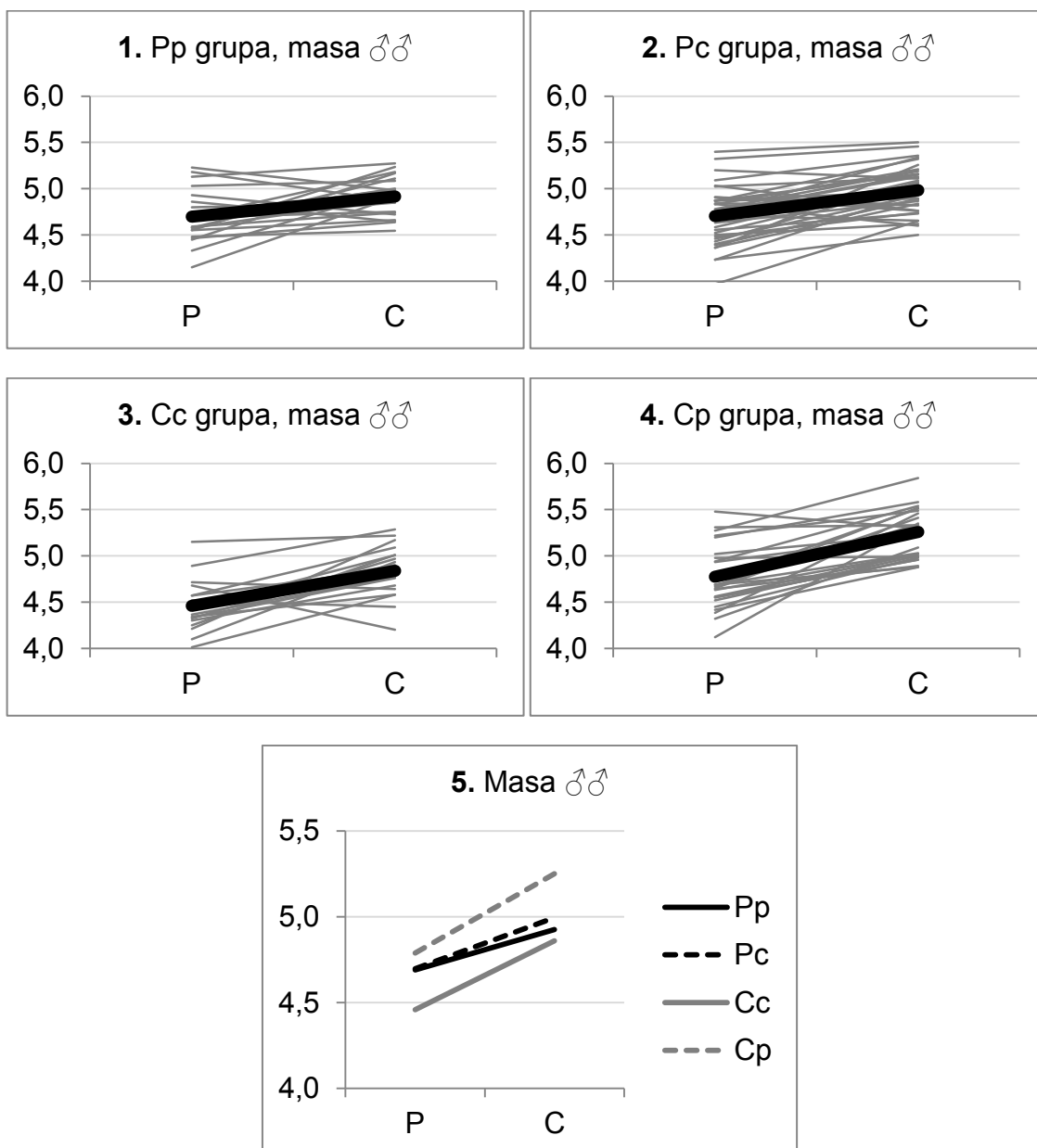
Slika 11. Norme reakcija dužine razvića ženki kod linija selektovanih na dva domaćina nakon preadultnog razvića na pasulju (P) ili nautu (C) – x osa. **1.** – **4.** U okviru eksperimentalne grupe, sive linije povezuju srednje vrednosti dužine razvića ženki za svaku od analiziranih familija. Crne linije povezuju srednje vrednosti eksperimentalne grupe. **5.** Linije povezuju srednje vrednosti dužine razvića ženki iste eksperimentalne grupe u različitim sredinama (Pp grupa – pune crne linije, Pc grupa – crna isprekidana linija, Cc – puna siva linija, Cp – isprekidana siva linija).



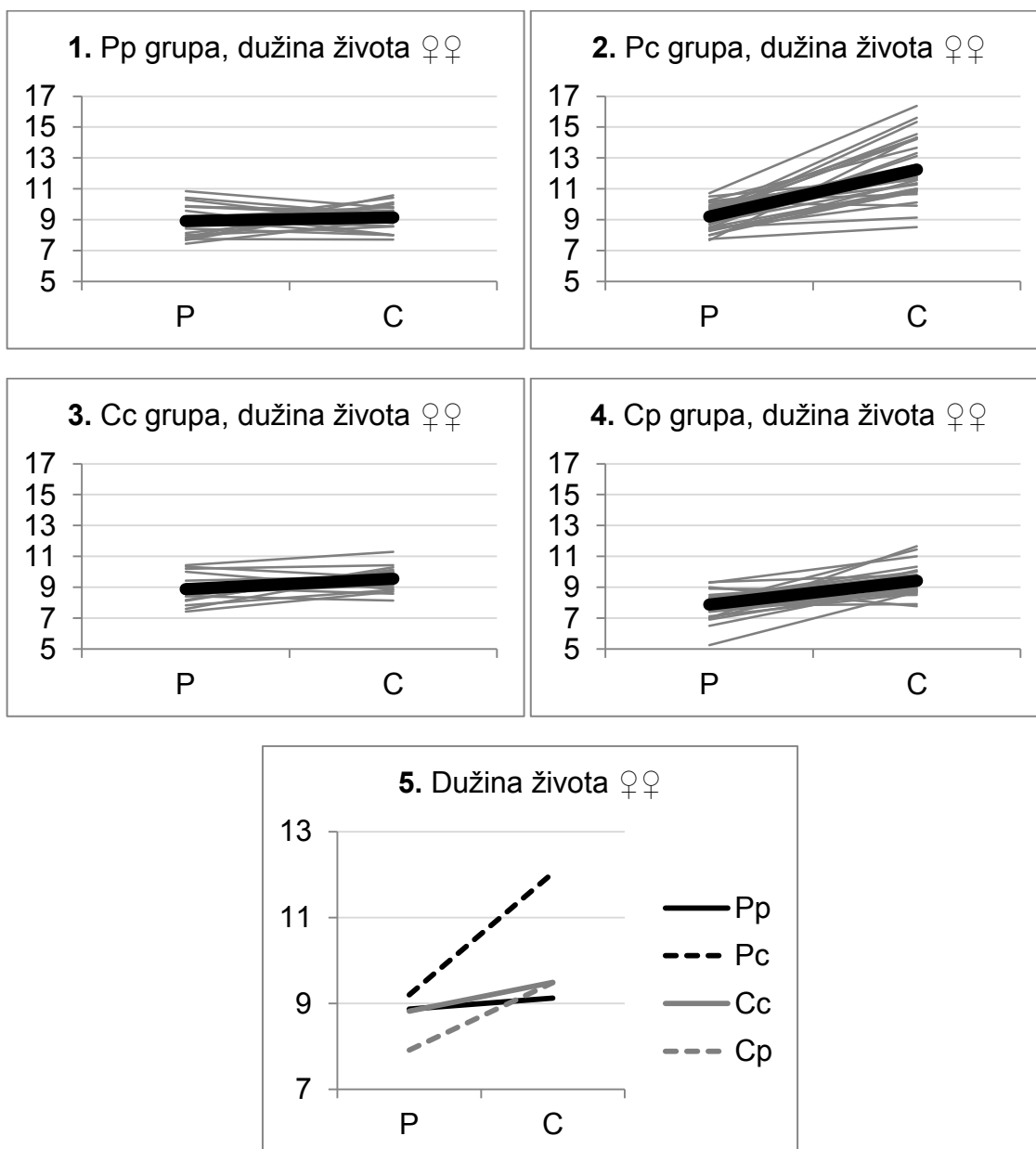
Slika 12. Norme reakcija dužine razvića mužjaka kod linija selektovanih na dva domaćina nakon preadultnog razvića na pasulju (P) ili nautu (C) – x osa. **1.** – **4.** U okviru eksperimentalne grupe, sive linije povezuju srednje vrednosti dužine razvića mužjaka za svaku od analiziranih familija. Crne linije povezuju srednje vrednosti eksperimentalne grupe. **5.** Linije povezuju srednje vrednosti dužine razvića mužjaka iste eksperimentalne grupe u različitim sredinama (Pp grupa – pune crne linije, Pc grupa – crna isprekidana linija, Cc – puna siva linija, Cp – isprekidana siva linija).



Slika 13. Norme reakcija mase ženki kod linija selektovanih na dva domaćina nakon preadultnog razvića na pasulju (P) ili nautu (C) – x osa. **1.** – **4.** U okviru eksperimentalne grupe, sive linije povezuju srednje vrednosti mase ženki za svaku od analiziranih familija. Crne linije povezuju srednje vrednosti eksperimentalne grupe. **5.** Linije povezuju srednje vrednosti mase ženki iste eksperimentalne grupe u različitim sredinama (Pp grupa – pune crne linije, Pc grupa – crna isprekidana linija, Cc – puna siva linija, Cp – isprekidana siva linija).

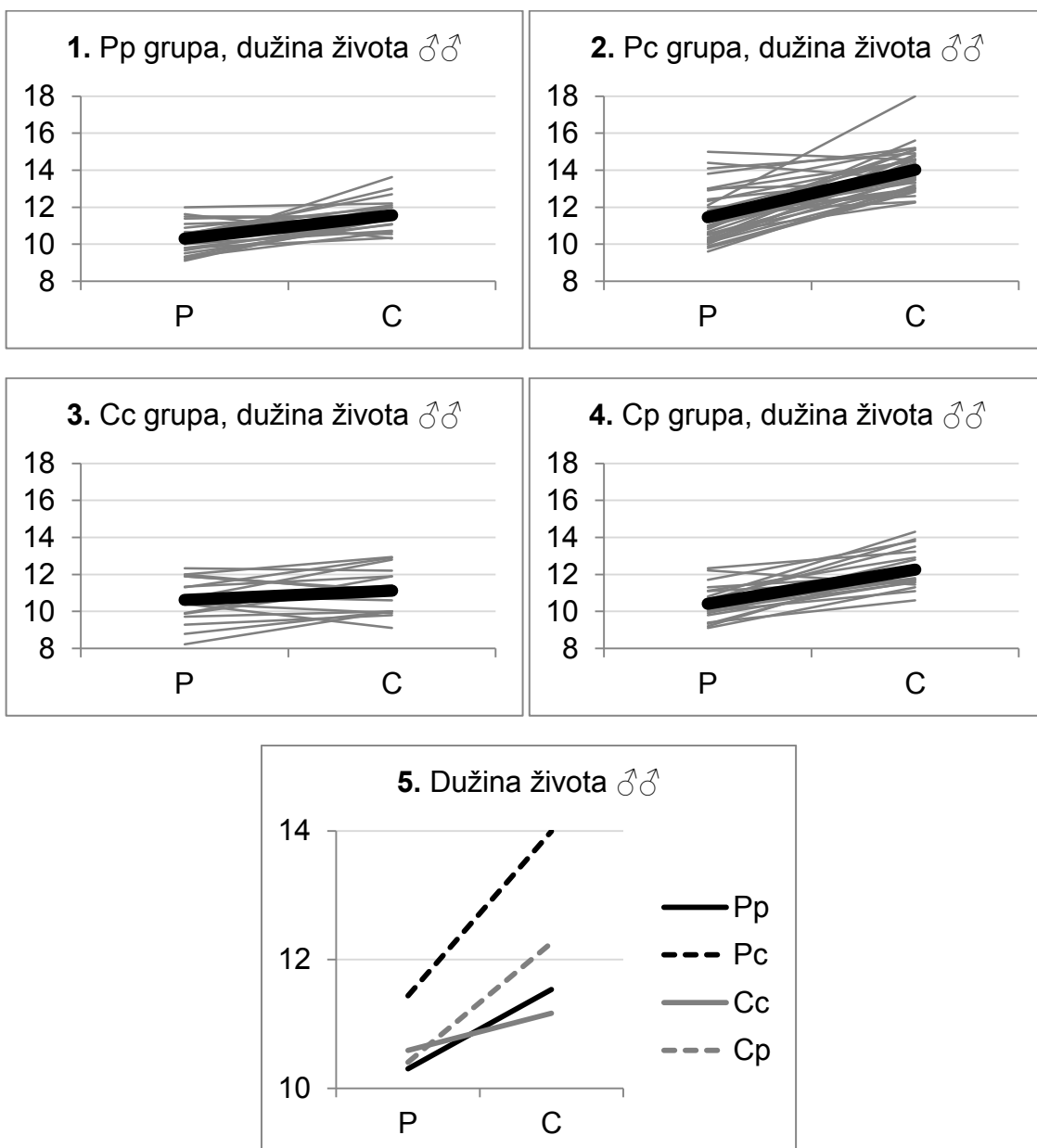


Slika 14. Norme reakcija mase mužjaka kod linija selektovanih na dva domaćina nakon preadultnog razvića na pasulju (P) ili nautu (C) – x osa. **1.** – **4.** U okviru eksperimentalne grupe, sive linije povezuju srednje vrednosti mase mužjaka za svaku od analiziranih familija. Crne linije povezuju srednje vrednosti eksperimentalne grupe. **5.** Linije povezuju srednje vrednosti mase mužjaka iste eksperimentalne grupe u različitim sredinama (Pp grupa – pune crne linije, Pc grupa – crna isprekidana linija, Cc – puna siva linija, Cp – isprekidana siva linija).

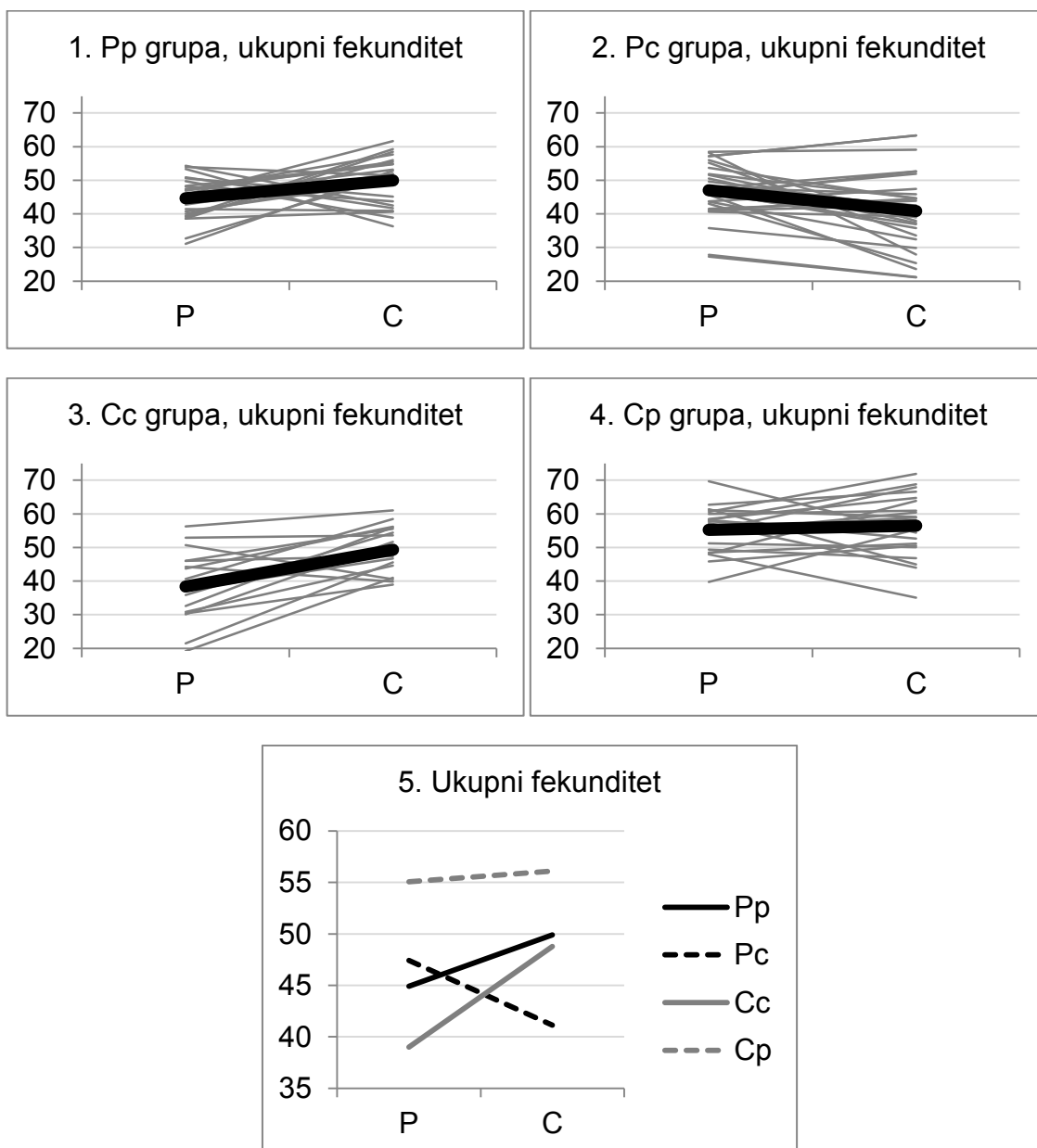


Slika 15. Norme reakcija dužine života ženki kod linija selektovanih na dva domaćina nakon preadultnog razvića na pasulju (P) ili nautu (C) – x osa. **1.** – **4.** U okviru eksperimentalne grupe, sive linije povezuju srednje vrednosti dužine života ženki za svaku od analiziranih familija. Crne linije povezuju srednje vrednosti eksperimentalne grupe. **5.** Linije povezuju srednje vrednosti dužine života ženki iste eksperimentalne grupe u različitim sredinama (Pp grupa – pune crne linije, Pc grupa – crna isprekidana linija, Cc – puna siva linija, Cp – isprekidana siva linija).

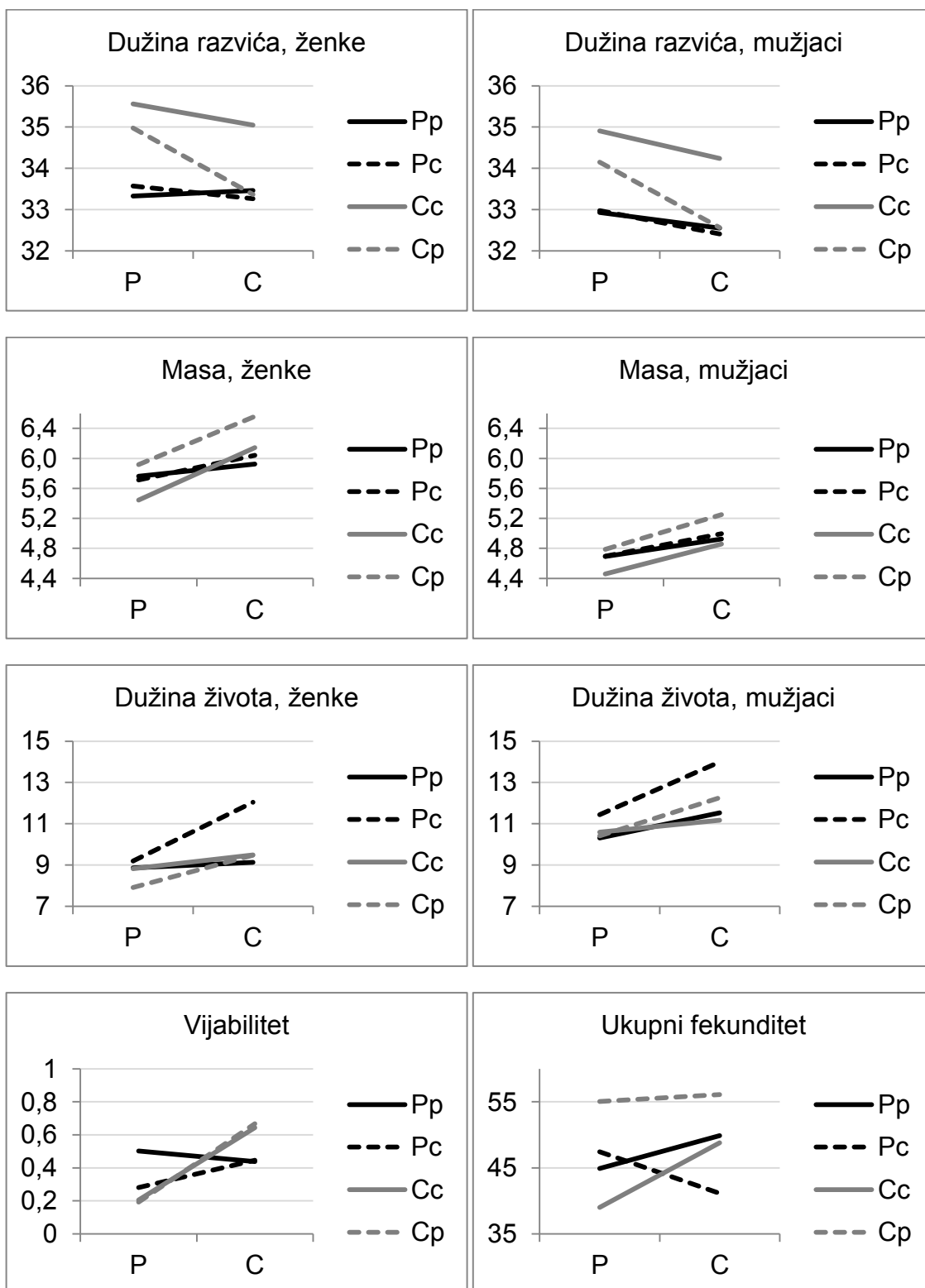




Slika 16. Norme reakcija dužine života mužjaka kod linija selektovanih na dva domaćina nakon preadultnog razvića na pasulju (P) ili nautu (C) – x osa. **1. – 4.** U okviru eksperimentalne grupe, sive linije povezuju srednje vrednosti dužine života mužjaka za svaku od analiziranih familija. Crne linije povezuju srednje vrednosti eksperimentalne grupe. **5.** Linije povezuju srednje vrednosti dužine života mužjaka iste eksperimentalne grupe u različitim sredinama (Pp grupa – pune crne linije, Pc grupa – crna isprekidana linija, Cc – puna siva linija, Cp – isprekidana siva linija).



Slika 17. Norme reakcija ukupnog fekunditeta kod linija selektovanih na dva domaćina nakon preadultnog razvića na pasulju (P) ili nautu (C) – x osa. **1. – 4.** U okviru eksperimentalne grupe, sive linije povezuju srednje vrednosti ukupnog fekunditeta za svaku od analiziranih familija. Crne linije povezuju srednje vrednosti eksperimentalne grupe. **5.** Linije povezuju srednje vrednosti ukupnog fekunditeta iste eksperimentalne grupe u različitim sredinama (Pp grupa – pune crne linije, Pc grupa – crna isprekidana linija, Cc – puna siva linija, Cp – isprekidana siva linija).



Slika 18. Norme reakcija analiziranih osobina kod četiri eksperimentalne grupe nakon preadultnog razvića na pasulju (P) ili nautu (C) – x osa. Linije povezuju srednje vrednosti osobina životne istorije familija iste eksperimentalne grupe u različitim sredinama (Pp grupa – pune crne linije, Pc grupa – crna isprekidana linija, Cc – puna siva linija, Cp – isprekidana siva linija).

## 9. LITERATURA

- Acosta-Gallegos, J. A., Quintero, C., Vargas, J., Toro, O., Tohme, J., & Cardona, C. (1998). A new variant of arcelin in wild common bean, *Phaseolus vulgaris* L., from southern Mexico. *Genetic Resources and Crop Evolution*, 45(3), 235-242.
- Agosta, S. J. (2006). On ecological fitting, plant–insect associations, herbivore host shifts, and host plant selection. *Oikos*, 114(3), 556-565.
- Agosta, S. J., Janz, N., & Brooks, D. R. (2010). How specialists can be generalists: resolving the "parasite paradox" and implications for emerging infectious disease. *Zoologia (Curitiba)*, 27(2), 151-162.
- Agrawal, A. A. (2001). Phenotypic plasticity in the interactions and evolution of species. *Science*, 294(5541), 321-326.
- Agrawal, A. A. (2011). Current trends in the evolutionary ecology of plant defence. *Functional Ecology*, 25(2), 420-432.
- Aitchison, J. (1986). *The statistical analysis of compositional data*. Chapman & Hall, London, UK.
- Ali, J. G., & Agrawal, A. A. (2012). Specialist versus generalist insect herbivores and plant defense. *Trends in Plant Science*, 17(5), 293-302.
- Allen, R. M., Buckley, Y. M., & Marshall, D. J. (2008). Offspring size plasticity in response to intraspecific competition: An adaptive maternal effect across life-history stages. *The American Naturalist*, 171(2), 225-237.
- Alvarez, N., Mckey, D., Hossaert-McKey, M., Born, C., Mercier, L., & Benrey, B. (2005). Ancient and recent evolutionary history of the bruchid beetle, *Acanthoscelides obtectus* Say, a cosmopolitan pest of beans. *Molecular Ecology*, 14(4), 1015-1024.
- Alvarez, N., Mercier, L., Hossaert-McKey, M., Contreras-Garduño, J., Kunstler, G., Aebi, A., & Benrey, B. (2006a). Ecological distribution and niche segregation of sibling species: the case of bean beetles, *Acanthoscelides obtectus* Say and *A. obvelatus* Bridwell. *Ecological Entomology*, 31(6), 582-590.

- Alvarez, N., Romero Napoles, J., Anton, K. W., Benrey, B., & Hossaert-McKey, M. (2006b). Phylogenetic relationships in the Neotropical bruchid genus *Acanthoscelides* (Bruchinae, Bruchidae, Coleoptera). *Journal of Zoological Systematics and Evolutionary Research*, 44(1), 63-74.
- Andersson, P., Löfstedt, C., & Hambäck, P. A. (2013). Insect density–plant density relationships: a modified view of insect responses to resource concentrations. *Oecologia*, 173(4), 1333-1344.
- Aoki, T., Akashi, T., & Ayabe, S. I. (2000). Flavonoids of leguminous plants: structure, biological activity, and biosynthesis. *Journal of Plant Research*, 113(4), 475-488.
- Arnold, S. J., & Wade, M. J. (1984). On the measurement of natural and sexual selection: applications. *Evolution*, 38(4), 720-734.
- Arnqvist, G., & Rowe, L. (2005). *Sexual conflict*. Princeton University Press, Princeton, NJ.
- Awmack, C. S., & Leather, S. R. (2002). Host plant quality and fecundity in herbivorous insects. *Annual Review of Entomology*, 47(1), 817-844.
- Ayasse, M., Paxton, R. J., & Tengö, J. (2001). Mating behavior and chemical communication in the order Hymenoptera. *Annual Review of Entomology*, 46(1), 31-78.
- Badyaev, A. V. (2005). Stress-induced variation in evolution: from behavioural plasticity to genetic assimilation. *Proceedings of the Royal Society of London B: Biological Sciences*, 272(1566), 877-886.
- Bagri, P., Ali, M., Sultana, S., & Aeri, V. (2011). A new flavonoid glycoside from the seeds of *Cicer arietinum* Linn. *Acta Poloniae Pharmaceutica*, 68(4), 605-608.
- Baldwin, M. J. (1902). *Development and evolution*. Macmillan Publishers, New York, NY.
- Barampama, Z., & Simard, R. E. (1993). Nutrient composition, protein quality and antinutritional factors of some varieties of dry beans (*Phaseolus vulgaris*) grown in Burundi. *Food Chemistry*, 47(2), 159-167.
- Barron, A. B. (2001). The life and death of Hopkins' host-selection principle. *Journal of Insect Behavior*, 14(6), 725-737.

- Beldade, P., Mateus, A. R. A., & Keller, R. A. (2011). Evolution and molecular mechanisms of adaptive developmental plasticity. *Molecular Ecology*, *20*(7), 1347-1363.
- Bernays, E., & Graham, M. (1988). On the evolution of host specificity in phytophagous arthropods. *Ecology*, *69*(4), 886-892.
- Berrigan, D., & Scheiner, S. M. (2004). Modeling the evolution of phenotypic plasticity, 6, 82-97. In: *Phenotypic plasticity: functional and conceptual approaches*. T. J. DeWitt, & S. M. Scheiner, (Eds.), Oxford University Press, New York, NY.
- Bezemer, T. M., Harvey, J. A., & Cronin, J. T. (2014). Response of native insect communities to invasive plants. *Annual Review of Entomology*, *59*, 119-141.
- Biemont, J. C., Chauvin, G., & Hamon, C. (1981). Ultrastructure and resistance to water loss in eggs of *Acanthoscelides obtectus* Say (Coleoptera: Bruchidae). *Journal of Insect Physiology*, *27*(10), 667-679.
- Birch, L. (1948). The intrinsic rate of natural increase of an insect population. *The Journal of Animal Ecology*, *17*(1), 15-26.
- Bisby, F. (1994). *Phytochemical dictionary of the Leguminosae*. Chapman & Hall, London, UK.
- Bitocchi, E., Nanni, L., Bellucci, E., Rossi, M., Giardini, A., Zeuli, P. S., & Papa, R. (2012). Mesoamerican origin of the common bean (*Phaseolus vulgaris* L.) is revealed by sequence data. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 201108973.
- Blomquist, G. J., & Bagnères, A. G. (2010). *Insect hydrocarbons: biology, biochemistry, and chemical ecology*. Cambridge University Press, Cambridge, UK.
- Blomquist, G. J., Nelson, D. R., & De Renobales, M. (1987). Chemistry, biochemistry, and physiology of insect cuticular lipids. *Archives of Insect Biochemistry and Physiology*, *6*(4), 227-265.
- Boggs, C. L. (2009). Understanding insect life histories and senescence through a resource allocation lens. *Functional Ecology*, *23*(1), 27-37.
- Boggs, C. L., & Freeman, K. D. (2005). Larval food limitation in butterflies: effects on adult resource allocation and fitness. *Oecologia*, *144*(3), 353-361.

- Borenstein, E., Meilijson, I., & Ruppin, E. (2006). The effect of phenotypic plasticity on evolution in multipeaked fitness landscapes. *Journal of Evolutionary Biology*, *19*(5), 1555-1570.
- Boughman, J. W. (2002). How sensory drive can promote speciation. *Trends in Ecology & Evolution*, *17*(12), 571-577.
- Boye, J., Zare, F., & Pletch, A. (2010). Pulse proteins: processing, characterization, functional properties and applications in food and feed. *Food Research International*, *43*(2), 414-431.
- Brookfield, J. (2002). Book review: *Genes, Categories and Species, The Evolutionary and Cognitive Causes of the Species Problem* by J. Hey. *Genetical Research*, *79*(1), 107-108.
- Brooks, D. R. (1979). Testing the context and extent of host-parasite coevolution. *Systematic Biology*, *28*(3), 299-307.
- Bruce, T. J., & Pickett, J. A. (2011). Perception of plant volatile blends by herbivorous insects—finding the right mix. *Phytochemistry*, *72*(13), 1605-1611.
- Bruce, T. J., Wadhams, L. J., & Woodcock, C. M. (2005). Insect host location: a volatile situation. *Trends in Plant Science*, *10*(6), 269-274.
- Buchanan, K. L., Spencer, K. A., Goldsmith, A. R., & Catchpole, C. K. (2003). Song as an honest signal of past developmental stress in the European starling (*Sturnus vulgaris*). *Proceedings of the Royal Society of London B: Biological Sciences*, *270*(1520), 1149-1156.
- Bush, G. L. (1994). Sympatric speciation in animals: new wine in old bottles. *Trends in Ecology & Evolution*, *9*(8), 285-288.
- Cannon, W. B. (1932). *Wisdom of the body*. W. W. Norton & Company, New York, NY.
- Cardona, C., 1989. Insects and other invertebrate bean pests in Latin America, 22, 505-570. In: *Bean production problems in the tropics*. H. F. Schwartz, & M. A. Pastor-Corrales (Eds.), Centro Internacional de Agricultura Tropical (CIAT), Cali, Colombia.
- Carlson, D. A., Bernier, U. R., & Sutton, B. D. (1998). Elution patterns from capillary GC for methyl-branched alkanes. *Journal of Chemical Ecology*, *24*(11), 1845-1865.

- Carroll, S. P. (2007). Natives adapting to invasive species: ecology, genes, and the sustainability of conservation. *Ecological Research*, 22(6), 892-901.
- Carvajal-Rodriguez, A., & Rolan-Alvarez, E. (2006). JMATING: a software for the analysis of sexual selection and sexual isolation effects from mating frequency data. *BMC Evolutionary Biology*, 6(1), 40.
- Castellano, S., Cadeddu, G., & Cermelli, P. (2012). Computational mate choice: theory and empirical evidence. *Behavioural Processes*, 90(2), 261-277.
- Caswell, H. (1983). Phenotypic plasticity in life-history traits: demographic effects and evolutionary consequences. *American Zoologist*, 23(1), 35-46.
- Chen, M. S. (2008). Inducible direct plant defense against insect herbivores: a review. *Insect Science*, 15(2), 101-114.
- Cheng, C. W., Yang, R. L., Cheng, I. C., & Horng, S. B. (2008). Egg-dumping: a strategy for host range expansion in *Callosobruchus maculatus* (Coleoptera: Bruchidae). *Annals of the Entomological Society of America*, 101(5), 950-954.
- Chevin, L. M., Collins, S., & Lefèvre, F. (2013). Phenotypic plasticity and evolutionary demographic responses to climate change: taking theory out to the field. *Functional Ecology*, 27(4), 967-979.
- Chung, H., & Carroll, S. B. (2015). Wax, sex and the origin of species: dual roles of insect cuticular hydrocarbons in adaptation and mating. *Bioessays*, 37(7), 822-830.
- Clark, K. E., Hartley, S. E., & Johnson, S. N. (2011). Does mother know best? The preference–performance hypothesis and parent–offspring conflict in aboveground–belowground herbivore life cycles. *Ecological Entomology*, 36(2), 117-124.
- Clark, M. E., & Martin, T. E. (2007). Modeling tradeoffs in avian life history traits and consequences for population growth. *Ecological Modelling*, 209(2), 110-120.
- Cobb, M., & Ferveur, J. F. (1995). Evolution and genetic control of mate recognition and stimulation in *Drosophila*. *Behavioural Processes*, 35(1), 35-54.
- Cocroft, R. B., Rodriguez, R. L., & Hunt, R. E. (2010). Host shifts and signal divergence: mating signals covary with host use in a complex of specialized plant-feeding insects. *Biological Journal of the Linnean Society*, 99(1), 60-72.



- Cocroft, R. B., Rodríguez, R. L., & Hunt, R. E. (2008). Host shifts, the evolution of communication, and speciation in the *Enchenopa binotata* species complex of treehoppers, 7, 88-100. In: *Specialization, speciation, and radiation: the evolutionary biology of herbivorous insects*. K. J. Tilmon, (Editor). University of California Press, Berkley, CA.
- Comas-Cufi, M., & Thió-Henestrosa, S. (2011). CoDaPack 2.0: a stand-alone, multi-platform compositional software. *Proceedings of the 4th international workshop on compositional data analysis*, 1-10.
- Conover, D. O., & Schultz, E. T. (1995). Phenotypic similarity and the evolutionary significance of countergradient variation. *Trends in Ecology & Evolution*, 10(6), 248-252.
- Corbert, S. A. (1985). Insect chemosensory responses: a chemical legacy hypothesis. *Ecological Entomology*, 10(2), 143-153.
- Cornwallis, C. K., & Birkhead, T. R. (2008). Plasticity in reproductive phenotypes reveals status-specific correlations between behavioral, morphological, and physiological sexual traits. *Evolution*, 62(5), 1149-1161.
- Cotton, S., Small, J., & Pomiankowski, A. (2006). Sexual selection and condition-dependent mate preferences. *Current Biology*, 16(17), R755-R765.
- Courtney, S. P., & Kibota, T. T. (1990). Mother doesn't know best: selection of hosts by ovipositing insects. *Insect-plant Interactions*, 2, 161-188.
- Coyne, J. A., & Orr, H. A. (2004). *Speciation*. Sinauer Associates, Sunderland, MA.
- Craig, T., & Itami, J. (2008). Evolution of preference and performance, 2, 20-39. In: *Specialization, speciation, and radiation: the evolutionary biology of herbivorous insects*, K. J. Tilmon, (Editor). University of California Press, Berkley, CA.
- Crispo, E. (2007). The Baldwin effect and genetic assimilation: revisiting two mechanisms of evolutionary change mediated by phenotypic plasticity. *Evolution*, 61(11), 2469-2479.
- Crispo, E. (2008). Modifying effects of phenotypic plasticity on interactions among natural selection, adaptation and gene flow. *Journal of Evolutionary Biology*, 21(6), 1460-1469.

- Cunningham, J. P. (2012). Can mechanism help explain insect host choice? *Journal of Evolutionary Biology*, 25(2), 244-251.
- David, P., Bjorksten, T., Fowler, K., & Pomiankowski, A. (2000). Condition-dependent signalling of genetic variation in stalk-eyed flies. *Nature*, 406(6792), 186-188.
- D'Costa, L., Koricheva, J., Straw, N., & Simmonds, M. S. (2013). Oviposition patterns and larval damage by the invasive horse-chestnut leaf miner *Cameraria ohridella* on different species of *Aesculus*. *Ecological Entomology*, 38(5), 456-462.
- de Gomes, P. G. A., Dias, S. C., Bloch, C., Melo, F. R., Furtado, J. R., Monnerat, R. G., Grossi-de-Sá, F. M., & Octávio, L. (2005). Toxicity to cotton boll weevil *Anthonomus grandis* of a trypsin inhibitor from chickpea seeds. *Comparative Biochemistry and Physiology Part B: Biochemistry and Molecular Biology*, 140(2), 313-319.
- de Jong, G. (2005). Evolution of phenotypic plasticity: patterns of plasticity and the emergence of ecotypes. *New Phytologist*, 166(1), 101-118.
- Deevey, E. S. (1947). Life tables for natural populations of animals. *The Quarterly Review of Biology*, 22(4), 283-314.
- Delgado-Salinas, A., Turley, T., Richman, A., & Lavin, M. (1999). Phylogenetic analysis of the cultivated and wild species of *Phaseolus* (Fabaceae). *Systematic Botany*, 24(3), 438-460.
- Denno, R. F., & McCloud, E. S. (1985). Predicting fecundity from body size in the planthopper, *Prokelisia marginata* (Homoptera: Delphacidae). *Environmental Entomology*, 14(6), 846-849.
- DeWitt, T. J., & Scheiner, S. M. (2004). *Phenotypic plasticity: functional and conceptual approaches*. Oxford University Press, New York, NY.
- DeWitt, T. J., Sih, A., & Wilson, D. S. (1998). Costs and limits of phenotypic plasticity. *Trends in Ecology & Evolution*, 13(2), 77-81.
- Draghi, J. A., & Whitlock, M. C. (2012). Phenotypic plasticity facilitates mutational variance, genetic variance, and evolvability along the major axis of environmental variation. *Evolution*, 66(9), 2891-2902.

- Drès, M., & Mallet, J. (2002). Host races in plant–feeding insects and their importance in sympatric speciation. *Philosophical Transactions of the Royal Society of London B: Biological Sciences*, 357(1420), 471-492.
- Duckworth, R. A. (2013). Epigenetic inheritance systems act as a bridge between ecological and evolutionary timescales. *Behavioral Ecology*, 24(2), 327-328.
- Eck, D. J., Shaw, R. G., Geyer, C. J., & Kingsolver, J. G. (2015). An integrated analysis of phenotypic selection on insect body size and development time. *Evolution*, 69(9), 2525-2532.
- Ehrenreich, I. M., & Pfennig, D. W. (2015). Genetic assimilation: a review of its potential proximate causes and evolutionary consequences. *Annals of Botany*, doi: 10.1093/aob/mcv130.
- Ehrlich, P. R., & Raven, P. H. (1964). Butterflies and plants: a study in coevolution. *Evolution*, 18(4), 586-608.
- Eraly, D., Hendrickx, F., & Lens, L. (2009). Condition-dependent mate choice and its implications for population differentiation in the wolf spider *Pirata piraticus*. *Behavioral Ecology*, 20(4), 856-863.
- Ernsting, G., Isaaks, J. A., & Berg, M. P. (1992). Life cycle and food availability indices in *Notiophilus biguttatus* (Coleoptera, Carabidae). *Ecological Entomology*, 17(1), 33-42.
- Etges, W. J., & Tripodi, A. D. (2008). Premating isolation is determined by larval rearing substrates in cactophilic *Drosophila mojavensis*. VIII. Mating success mediated by epicuticular hydrocarbons within and between isolated populations. *Journal of Evolutionary Biology*, 21(6), 1641-1652.
- Etges, W. J., & de Oliveira, C. C. (2014). Premating isolation is determined by larval rearing substrates in cactophilic *Drosophila mojavensis*. X. Age-specific dynamics of adult epicuticular hydrocarbon expression in response to different host plants. *Ecology and Evolution*, 4(11), 2033-2045.
- Etges, W. J., de Oliveira, C. C., Gragg, E., Ortíz-Barrientos, D., Noor, M. A., & Ritchie, M. G. (2007). Genetics of incipient speciation in *Drosophila mojavensis*. I. Male courtship song, mating success, and genotype x environment interactions. *Evolution*, 61(5), 1106-1119.

- Etges, W. J., de Oliveira, C. C., Ritchie, M. G., & Noor, M. A. (2009). Genetics of incipient speciation in *Drosophila mojavensis*: II. Host plants and mating status influence cuticular hydrocarbon QTL expression and  $G \times E$  interactions. *Evolution*, *63*(7), 1712-1730.
- Fabian, D., & Flatt, T. (2012). Life history evolution. *Nature Education Knowledge*, *3*(10), 24.
- Fedina, T. Y., Kuo, T. H., Dreisewerd, K., Dierick, H. A., Yew, J. Y., & Pletcher, S. D. (2012). Dietary effects on cuticular hydrocarbons and sexual attractiveness in *Drosophila*. *PLoS One*, *7*(12), e49799.
- Ferveur, J. F. (2005). Cuticular hydrocarbons: their evolution and roles in *Drosophila* pheromonal communication. *Behavior Genetics*, *35*(3), 279-295.
- Fitzpatrick, B. M. (2008). Hybrid dysfunction: Population genetic and quantitative genetic perspectives. *The American Naturalist*, *171*(4), 491-498.
- Fitzpatrick, B. M. (2012). Underappreciated consequences of phenotypic plasticity for ecological speciation. *International Journal of Ecology*, 2012, ID 256017.
- Forbes, A. A., Fisher, J., & Feder, J. L. (2005). Habitat avoidance: overlooking an important aspect of host-specific mating and sympatric speciation? *Evolution*, *59*(7), 1552-1559.
- Forister, M. L., & Wilson, J. S. (2013). The population ecology of novel plant–herbivore interactions. *Oikos*, *122*(5), 657-666.
- Forister, M. L., Dyer, L. A., Singer, M. S., Stireman, J. O., & Lill, J. T. (2012). Revisiting the evolution of ecological specialization, with emphasis on insect–plant interactions. *Ecology*, *93*(5), 981-991.
- Forister, M. L., Novotny, V., Panorska, A. K., Baje, L., Basset, Y., Butterill, P. T., Cizek, L., Coley, P. D., Dem, F., Diniz, I. R., & Drozd, P. (2015). The global distribution of diet breadth in insect herbivores. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, *112*(2), 442-447.
- Forsman, A. (2015). Rethinking phenotypic plasticity and its consequences for individuals, populations and species. *Heredity*, *115*(4), 276-284.
- Fox, C. W., Thakar, M. S., & Mousseau, T. A. (1997). Egg size plasticity in a seed beetle: an adaptive maternal effect. *American Naturalist*, *149*(1), 149-163.

- Fry, J. D. (2003). Detecting ecological trade-offs using selection experiments. *Ecology*, 84(7), 1672-1678.
- Funk, A., Weder, J. K., & Belitz, H. D. (1993). Primary structures of proteinase inhibitors from *Phaseolus vulgaris* var. *nanus* (cv. Borlotto). *Zeitschrift für Lebensmittel-Untersuchung und Forschung*, 196(4), 343-350.
- Funk, D. J. (1998). Isolating a role for natural selection in speciation: host adaptation and sexual isolation in *Neochlamisus bebbianae* leaf beetles. *Evolution*, 52(6), 1744-1759.
- Funk, D. J., Filchak, K. E., & Feder, J. L. (2002). Herbivorous insects: model systems for the comparative study of speciation ecology. *Genetica*, 116(2), 251-267.
- Fürstenberg-Hägg, J., Zagrobelny, M., & Bak, S. (2013). Plant defense against insect herbivores. *International Journal of Molecular Sciences*, 14(5), 10242-10297.
- Futuyma, D. J. (1979). *Evolutionary biology*. Sinauer, Sunderland, MA.
- Futuyma, D. J. (2011). Expand or revise? The evolutionary synthesis today. *The Quarterly Review of Biology*, 86(3), 203-208.
- Gaillard, J. M., Yoccoz, N. G., Lebreton, J. D., Bonenfant, C., Devillard, S., Loison, A., Pontier, D., & Allaine, D. (2005). Generation time: a reliable metric to measure life-history variation among mammalian populations. *The American Naturalist*, 166(1), 119-123.
- Gavrilets, S. (2004). *Fitness landscapes and the origin of species*. Princeton University Press, Princeton, NJ.
- Geiselhardt, S., Otte, T., & Hilker, M. (2012). Looking for a similar partner: host plants shape mating preferences of herbivorous insects by altering their contact pheromones. *Ecology Letters*, 15(9), 971-977.
- Ghalambor, C. K., Hoke, K. L., Ruell, E. W., Fischer, E. K., Reznick, D. N., & Hughes, K. A. (2015). Non-adaptive plasticity potentiates rapid adaptive evolution of gene expression in nature. *Nature*, 525, 372-375.
- Ghalambor, C. K., McKay, J. K., Carroll, S. P., & Reznick, D. N. (2007). Adaptive versus non-adaptive phenotypic plasticity and the potential for contemporary adaptation in new environments. *Functional Ecology*, 21(3), 394-407.

- Gibbs, A. G., & Rajpurohit, S. (2010). Cuticular lipids and water balance, 6, 100-120. In: *Insect hydrocarbons: biology, biochemistry, and chemical ecology*. G. J. Blomquist, & A. G. Bagnères (Eds.), Cambridge University Press, Cambridge, UK.
- Gibbs, A. G., Fukuzato, F., & Matzkin, L. M. (2003). Evolution of water conservation mechanisms in *Drosophila*. *Journal of Experimental Biology*, 206(7), 1183-1192.
- Ginzel, M. D., Blomquist, G. J., Millar, J. G., & Hanks, L. M. (2003). Role of contact pheromones in mate recognition in *Xylotrechus colonus*. *Journal of Chemical Ecology*, 29(3), 533-545.
- Gomez-Mestre, I., & Jovani, R. (2013). A heuristic model on the role of plasticity in adaptive evolution: plasticity increases adaptation, population viability and genetic variation. *Proceedings of the Royal Society of London B: Biological Sciences*, 280(1771), 20131869.
- Gosden, T. P., & Chenoweth, S. F. (2011). On the evolution of heightened condition dependence of male sexual displays. *Journal of Evolutionary Biology*, 24(3), 685-692.
- Gould, S. J., & Vrba, E. S. (1982). Exaptation – a missing term in the science of form. *Paleobiology*, 8(1), 4-15.
- Grace, J. L., & Shaw, K. L. (2004). Effects of developmental environment on signal-preference coupling in a Hawaiian cricket. *Evolution*, 58(7), 1627-1633.
- Gripenberg, S., Mayhew, P. J., Parnell, M., & Roslin, T. (2010). A meta-analysis of preference–performance relationships in phytophagous insects. *Ecology Letters*, 13(3), 383-393.
- Guillamon, E., Pedrosa, M. M., Burbano, C., Cuadrado, C., de Cortes Sánchez, M., & Muzquiz, M. (2008). The trypsin inhibitors present in seed of different grain legume species and cultivar. *Food Chemistry*, 107(1), 68-74.
- Hamon, C., Biemont, J. C., & Chauvin, G. (1982). Ultrastructure et fonction sécrétrice des cellules de la paroi des oviductes latéraux chez *Acanthoscelides obtectus* Say (Coleoptera: Bruchidae). *International Journal of Insect Morphology and Embryology*, 11(5), 327-339.

- Hao, X., Li, J., Shi, Q., Zhang, J., He, X., & Ma, H. (2009). Characterization of a novel legumin  $\alpha$ -amylase inhibitor from chickpea (*Cicer arietinum* L.) seeds. *Bioscience, Biotechnology, and Biochemistry*, 73(5), 1200-1202.
- Hårdling, R., & Kokko, H. (2005). The evolution of prudent choice. *Evolutionary Ecology Research*, 7(5), 697-715.
- Hartl, D. L., & A. G. Clark. 1989. *Principles of population genetics* (No. Ed. 2). Sinauer Associates, Sunderland, MA.
- Havens, J. A., & Etges, W. J. (2013). Premating isolation is determined by larval rearing substrates in cactophilic *Drosophila mojavensis*. IX. Host plant and population specific epicuticular hydrocarbon expression influences mate choice and sexual selection. *Journal of Evolutionary Biology*, 26(3), 562-576.
- Hawthorne, D. J., & Via, S. (2001). Genetic linkage of ecological specialization and reproductive isolation in pea aphids. *Nature*, 412(6850), 904-907.
- Higginson, A. D., & Reader, T. (2009). Environmental heterogeneity, genotype-by-environment interactions and the reliability of sexual traits as indicators of mate quality. *Proceedings of the Royal Society of London B: Biological Sciences*, 276(1659), 1153-1159.
- Hingle, A., Fowler, K., & Pomiankowski, A. (2001). The effect of transient food stress on female mate preference in the stalk-eyed fly *Cyrtodiopsis dalmanni*. *Proceedings of the Royal Society of London B: Biological Sciences*, 268(1473), 1239-1244.
- Hougaard, E., Bezemer, T. M., & Mills, N. J. (2005). Effects of host deprivation and egg expenditure on the reproductive capacity of *Mastrus ridibundus*, an introduced parasitoid for the biological control of codling moth in California. *Biological Control*, 33(1), 96-106.
- Howard, R. W., & Baker, J. E. (2003). Cuticular hydrocarbons and wax esters of the ectoparasitoid *Habrobracon hebetor*: ontogenetic, reproductive, and nutritional effects. *Archives of Insect Biochemistry and Physiology*, 53(1), 1-18.
- Howard, R. W., & Blomquist, G. J. (2005). Ecological, behavioral, and biochemical aspects of insect hydrocarbons. *Annual Review of Entomology*, 50, 371-393.

- Howard, R. W., Jackson, L. L., Banse, H., & Blows, M. W. (2003). Cuticular hydrocarbons of *Drosophila birchii* and *D. serrata*: identification and role in mate choice in *D. serrata*. *Journal of Chemical Ecology*, 29(4), 961-976.
- <http://nutritiondata.self.com/facts/legumes-and-legume-products>
- Huang, C. C., Yang, R. L., Lee, H. J., & Horng, S. B. (2005). Beyond fecundity and longevity: trade-offs between reproduction and survival mediated by behavioural responses of the seed beetle, *Callosobruchus maculatus*. *Physiological Entomology*, 30(4), 381-387.
- Huesing, J. E., Shade, R. E., Chrispeels, M. J., & Murdock, L. L. (1991).  $\alpha$ -amylase inhibitor, not phytohemagglutinin, explains resistance of common bean seeds to cowpea weevil. *Plant Physiology*, 96(3), 993-996.
- Hunt, J., Brooks, R., & Jennions, M. D. (2005). Female mate choice as a condition-dependent life-history trait. *The American Naturalist*, 166(1), 79-92.
- Ingleby, F. C., Hosken, D. J., Flowers, K., Hawkes, M. F., Lane, S. M., Rapkin, J., Dworkin, I., & Hunt, J. (2013a). Genotype-by-environment interactions for cuticular hydrocarbon expression in *Drosophila simulans*. *Journal of Evolutionary Biology*, 26(1), 94-107.
- Ingleby, F. C., Hunt, J., & Hosken, D. J. (2013b). Heritability of male attractiveness persists despite evidence for unreliable sexual signals in *Drosophila simulans*. *Journal of Evolutionary Biology*, 26(2), 311-324.
- Ishimoto, M., & Kitamura, K. (1989). Growth inhibitory effects of an  $\alpha$ -amylase inhibitor from the kidney bean, *Phaseolus vulgaris* (L.) on three species of bruchids (Coleoptera: Bruchidae). *Applied Entomology and Zoology*, 24(3), 281-286.
- Jablonka, E., & Lamb, M. J., (2005): *Evolution in four dimensions: genetic, epigenetic, behavioral and symbolic variation in the history of life*. MIT Press, Cambridge, MA.
- Jaenike, J. (1978). An hypothesis to account for the maintenance of sex within populations. *Evolutionary Theory*, 3, 191-194.
- Jaenike, J. (1983). Induction of host preference in *Drosophila melanogaster*. *Oecologia*, 58(3), 320-325.



- Jaenike, J. (1990). Host specialization in phytophagous insects. *Annual Review of Ecology and Systematics*, 21, 243-273.
- Janz, N. (2003). The cost of polyphagy: oviposition decision time vs error rate in a butterfly. *Oikos*, 100(3), 493-496.
- Janz, N. (2011). Ehrlich and Raven revisited: mechanisms underlying codiversification of plants and enemies. *Annual Review of Ecology, Evolution, and Systematics*, 42(1), 71-89.
- Janz, N., Söderlind, L., & Nylin, S. (2009). No effect of larval experience on adult host preferences in *Polygonia c-album* (Lepidoptera: Nymphalidae): on the persistence of Hopkins' host selection principle. *Ecological Entomology*, 34(1), 50-57.
- Janzen, D. H. (1980). When is it coevolution. *Evolution*, 34(3), 611-612.
- Janzen, D. H. (1985). On ecological fitting. *Oikos*, 45(3), 308-310.
- Jarosz, D. F., & Lindquist, S. (2010). Hsp90 and environmental stress transform the adaptive value of natural genetic variation. *Science*, 330(6012), 1820-1824.
- Jennions, M. D., & Petrie, M. (1997). Variation in mate choice and mating preferences: a review of causes and consequences. *Biological Reviews*, 72(2), 283-327.
- Johnson, M. T., & Stinchcombe, J. R. (2007). An emerging synthesis between community ecology and evolutionary biology. *Trends in Ecology & Evolution*, 22(5), 250-257.
- Jones, O. R., Gaillard, J.-M., Tuljapurkar, S., Alho, J. S., Armitage, K. B., Becker, P. H., Bize, P., Brommer, J., Charmantier, A., Charpentier, M., Clutton-Brock, T., Dobson, F. S., Festa-Bianchet, M., Gustafsson, L., Jensen, H., Jones, C. G., Lillandt, B.-G., McCleery, R., Merila, J., Neuhaus, P., Nicoll, M. A. C., Norris, K., Oli, M. K., Pemberton, J., Pietiainen, H., Ringsby, T. H. Roulin, A., Saether, B.-E., Setchell, J. M., Sheldon, B. C., Thompson, P. M., Weimerskirch, H., Wickings, E. J. & Coulson, T. (2008) Senescence rates are determined by ranking on the fast–slow life-history continuum. *Ecology Letters*, 11(7), 1-10.
- Karban, R., & Agrawal, A. A. (2002). Herbivore offense. *Annual Review of Ecology and Systematics*, 33, 641-664.

- Katre, U. V., Gaikwad, S. M., Bhagyawant, S. S., Deshpande, U. D., Khan, M. I., & Suresh, C. G. (2005). Crystallization and preliminary X-ray characterization of a lectin from *Cicer arietinum* (chickpea). *Acta Crystallographica Section F: Structural Biology and Crystallization Communications*, 61(1), 141-143.
- Kawecki, T. J., Lenski, R. E., Ebert, D., Hollis, B., Olivieri, I., & Whitlock, M. C. (2012). Experimental evolution. *Trends in Ecology & Evolution*, 27(10), 547-560.
- Kerem, Z., Lev-Yadun, S., Gopher, A., Weinberg, P., & Abbo, S. (2007). Chickpea domestication in the Neolithic Levant through the nutritional perspective. *Journal of Archaeological Science*, 34(8), 1289-1293.
- Kingsolver, J. G., Diamond, S. E., Siepielski, A. M., & Carlson, S. M. (2012). Synthetic analyses of phenotypic selection in natural populations: lessons, limitations and future directions. *Evolutionary Ecology*, 26(5), 1101-1118.
- Kirkpatrick, M., & Ravigné, V. (2002). Speciation by natural and sexual selection: models and experiments. *The American Naturalist*, 159(S3), S22-S35.
- Kolss, M., Vijendravarma, R. K., Schwaller, G., & Kawecki, T. J. (2009). Life-history consequences of adaptation to larval nutritional stress in *Drosophila*. *Evolution*, 63(9), 2389-2401.
- Kozłowska, H., Aranda, P., Dostalova, J., Frias, J., Lopez-Jurado, M., Pokorný, J., Urbano, G., Vidal-Valverde, C., & Zdyunczyk, Z. (2001). Nutrition 3, 61-89. In: *Carbohydrates in grain legume seeds: improving nutritional quality and agronomic characters*. C. L. Hedley, (Editor), CAB International, Oxon, UK.
- Labandeira, C. C. (2002). The history of associations between plants and animals, 2, 248-261. In: *Plant–animal interactions: an evolutionary approach*. C. M. Herrera, & O. Pellmyr, (Eds.), Blackwell Science Ltd., Oxford, UK.
- Labandeira, C. C. (2013). A paleobiologic perspective on plant–insect interactions. *Current Opinion in Plant Biology*, 16(4), 414-421.
- Labandeira, C. C., & Phillips, T. L. (1996). A Carboniferous insect gall: insight into early ecologic history of the Holometabola. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 93(16), 8470-8474.

- Labeyrie, V. (1990). The bean beetle (*Acanthoscelides obtectus*) and its host, the French bean (*Phaseolus vulgaris*): a two-way colonization story, 14, 229-243. In: *Biological invasions in Europe and the Mediterranean basin*. F. di Castri, A. J. Hansen, & M. Debussche, (Eds.), Kluwer Academic Publishers, Dordrecht, The Netherlands.
- Lahti, D. C., Johnson, N. A., Ajie, B. C., Otto, S. P., Hendry, A. P., Blumstein, D. T., Coss, R. G., Donohue, K., & Foster, S. A. (2009). Relaxed selection in the wild. *Trends in Ecology & Evolution*, 24(9), 487-496.
- Laland, K., Uller, T., Feldman, M., Sterelny, K., Müller, G. B., Moczek, A., Jablonka, E., Odling-Smee, J., Wray, G.A., Hoekstra, H.E., & Futuyma, D. J. (2014). Does evolutionary theory need a rethink? *Nature*, 514(7521), 161-164.
- Lande, R. (1981). Models of speciation by sexual selection on polygenic traits. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 78(6), 3721-3725.
- Lande, R. (1998). Anthropogenic, ecological and genetic factors in extinction and conservation. *Researches on Population Ecology*, 40(3), 259-269.
- Lande, R. (2009). Adaptation to an extraordinary environment by evolution of phenotypic plasticity and genetic assimilation. *Journal of Evolutionary Biology*, 22(7), 1435-1446.
- Lande, R., & Arnold, S. J. (1983). The measurement of selection on correlated characters. *Evolution*, 37(6), 1210-1226.
- Lei, H., & Vickers, N. (2008). Central processing of natural odor mixtures in insects. *Journal of Chemical Ecology*, 34(7), 915-927.
- Lerner, I. M. (1954). *Genetic homeostasis*. Oliver & Boyd, Edinburgh, UK.
- Lewis, S. M., Tigreros, N., Fedina, T., & Ming, Q. L. (2012). Genetic and nutritional effects on male traits and reproductive performance in *Tribolium* flour beetles. *Journal of Evolutionary Biology*, 25(3), 438-451.
- Li, G., & Ishikawa, Y. (2004). Oviposition deterrents in larval frass of four *Ostrinia* species fed on an artificial diet. *Journal of Chemical Ecology*, 30(7), 1445-1456.
- Liang, D., & Silverman, J. (2000). "You are what you eat": diet modifies cuticular hydrocarbons and nestmate recognition in the Argentine ant, *Linepithema humile*. *Naturwissenschaften*, 87(9), 412-416.

- Liebig, J. (2010). Hydrocarbon profiles indicate fertility and dominance status in ant, bee, and wasp colonies, *13*, 254-281. In: *Insect hydrocarbons: biology, biochemistry, and chemical ecology*, G. J. Blomquist, & A. G. Bagnères, (Eds.), Cambridge University Press, Cambridge, UK.
- López-Pedrouso, M., Alonso, J., Santalla Ferradás, M., Álvarez, G., & Zapata, C. (2012). In-depth characterization of the phaseolin protein diversity of common bean (*Phaseolus vulgaris* L.) based on two-dimensional electrophoresis and mass spectrometry. *Food Technology and Biotechnology*, *50*(3), 315-325.
- Lu, C. T., Tang, H. F., Sun, X. L., Wen, A. D., Zhang, W., & Ma, N. (2010). Indole alkaloids from chickpea seeds (*Cicer arietinum* L.). *Biochemical Systematics and Ecology*, *38*(3), 441-443.
- Macedo, M. L. R., Freire, M. D. G. M., da Silva, M. B. R., & Coelho, L. C. B. B. (2007). Insecticidal action of Bauhinia monandra leaf lectin (BmoLL) against *Anagasta kuehniella* (Lepidoptera: Pyralidae), *Zabrotes subfasciatus* and *Callosobruchus maculatus* (Coleoptera: Bruchidae). *Comparative Biochemistry and Physiology Part A: Molecular & Integrative Physiology*, *146*(4), 486-498.
- Maia, A. de H. N., Luiz, A. J., & Campanhola, C. (2000). Statistical inference on associated fertility life table parameters using jackknife technique: computational aspects. *Journal of Economic Entomology*, *93*(2), 511-518.
- Maia, A. H. N., & Luiz, A. J. B. (2006). Programa SAS para análise de tabelas de vida e fertilidade de artrópodes: o método jackknife. *Jaguariúna: Embrapa Meio Ambiente*.
- Marcillac, F., & Ferveur, J. F. (2004). A set of female pheromones affects reproduction before, during and after mating in *Drosophila*. *Journal of Experimental Biology*, *207*(22), 3927-3933.
- Marcillac, F., Bousquet, F., Alabouvette, J., Savarit, F., & Ferveur, J. F. (2004). Genetic and molecular characterization of a mutation that largely affects the production of sex pheromones in *Drosophila melanogaster*. *Genetics*, *171*(4), 1617-1621.
- Martin, R. A., & Pfennig, D. W. (2010). Field and experimental evidence that competition and ecological opportunity promote resource polymorphism. *Biological Journal of the Linnean Society*, *100*(1), 73-88.

- Martin, S., & Drijfhout, F. (2009). A review of ant cuticular hydrocarbons. *Journal of Chemical Ecology*, 35(10), 1151-1161.
- Martínez-Ferri, E., Valladares, F., Pérez-Corona, M. E., Baquedano, F. J., Castillo, F. J., & Manrique, E. (2001). Population divergence in the plasticity of the response of *Quercus coccifera* to the light environment. *Functional Ecology*, 15(1), 124-135.
- Mason, P. A. (2016). On the role of host phenotypic plasticity in host shifting by parasites. *Ecology Letters*, 19(2), 121-132.
- Matsubayashi, K. W., Ohshima, I., & Nosil, P. (2010). Ecological speciation in phytophagous insects. *Entomologia Experimentalis et Applicata*, 134(1), 1-27.
- Mayhew, P. J. (1997). Adaptive patterns of host-plant selection by phytophagous insects. *Oikos*, 79(3), 417-428.
- Mayhew, P. J. (2001). Herbivore host choice and optimal bad motherhood. *Trends in Ecology & Evolution*, 16(4), 165-167.
- Mayr, E. (1942). *Systematics and the origin of species, from the viewpoint of a zoologist*. Columbia University Press, New York, NY.
- McLoughlin, S. (2011). New records of leaf galls and arthropod oviposition scars in Permian–Triassic Gondwanan gymnosperms. *Australian Journal of Botany*, 59(2), 156-169.
- Menzel, F., & Schmitt, T. (2012). Tolerance requires the right smell: first evidence for interspecific selection on chemical recognition cues. *Evolution*, 66(3), 896-904.
- Menzel, F., Blüthgen, N., & Schmitt, T. (2008a). Tropical parabiocotic ants: highly unusual cuticular substances and low interspecific discrimination. *Frontiers in Zoology*, 5(1), 1-16.
- Menzel, F., Linsenmair, K. E., & Blüthgen, N. (2008b). Selective interspecific tolerance in tropical *Crematogaster*–*Camponotus* associations. *Animal Behaviour*, 75(3), 837-846.
- Messina, F. J., & Fry, J. D. (2003). Environment-dependent reversal of a life history trade-off in the seed beetle *Callosobruchus maculatus*. *Journal of Evolutionary Biology*, 16(3), 501-509.
- Messina, F. J., Mendenhall, M., & Jones, J. C. (2009). An experimentally induced host shift in a seed beetle. *Entomologia Experimentalis et Applicata*, 132(1), 39-49.

- Meynard-Smith, J. (1966). Sympatric speciation. *American Naturalist*, 100(916), 637-650.
- Moczek, A. P. (2015). Developmental plasticity and evolution—quo vadis? *Heredity*, doi:10.1038/hdy.2015.14
- Moczek, A. P., Sultan, S., Foster, S., Ledón-Rettig, C., Dworkin, I., Nijhout, H. F., Abouheif, E., & Pfennig, D. W. (2011). The role of developmental plasticity in evolutionary innovation. *Proceedings of the Royal Society of London B: Biological Sciences*, 278(1719), 2705-2713.
- Montoya, C. A., Lallès, J. P., Beebe, S., & Leterme, P. (2010). Phaseolin diversity as a possible strategy to improve the nutritional value of common beans (*Phaseolus vulgaris*). *Food Research International*, 43(2), 443-449.
- Moreau, J., Rahme, J., Benrey, B., & Thiéry, D. (2008). Larval host plant origin modifies the adult oviposition preference of the female European grapevine moth *Lobesia botrana*. *Naturwissenschaften*, 95(4), 317-324.
- Mousseau, T. A., & Fox, C. W. (1998). The adaptive significance of maternal effects. *Trends in Ecology & Evolution*, 13(10), 403-407.
- Nair, M., Sandhu, S. S., & Babbar, A. (2013). Purification of trypsin inhibitor from seeds of *Cicer arietinum* (L.) and its insecticidal potential against *Helicoverpa armigera* (Hübner). *Theoretical and Experimental Plant Physiology*, 25(2), 137-148.
- Nettle, D., & Bateson, M. (2015). Adaptive developmental plasticity: what is it, how can we recognize it and when can it evolve? *Proceedings of the Royal Society of London B: Biological Sciences*, 282(1812), 20151005.
- Nijhout, H. F. (2003). Development and evolution of adaptive polyphenisms. *Evolution & Development*, 5(1), 9-18.
- NIST AMDIS, 2005. Automated Mass Spectral Deconvolution and Identification System AMDIS 2.64. Released December 2005. National Institute of Standards and Technology, Gaithersburg, MD, USA.
- Nonaka, E., Svanbäck, R., Thibert-Plante, X., Englund, G., & Brännström, Å. (2015). Mechanisms by which phenotypic plasticity affects adaptive divergence and ecological speciation. *The American Naturalist*, 186(5), E126-E143.

- van Noordwijk, A. J., & de Jong, G. (1986). Acquisition and allocation of resources: their influence on variation in life history tactics. *The American Naturalist*, *128*(1), 137-142.
- Nosil, P. (2012). *Ecological speciation*. Oxford University Press, New York, NY.
- Nosil, P., Crespi, B. J., Gries, R., & Gries, G. (2007). Natural selection and divergence in mate preference during speciation. *Genetica*, *129*(3), 309-327.
- Nosil, P., Sandoval, C. P., & Crespi, B. J. (2006). The evolution of host preference in allopatric vs. parapatric populations of *Timema cristinae* walking-sticks. *Journal of Evolutionary Biology*, *19*(3), 929-942.
- Nowicki, S., Searcy, W. A., & Peters, S. (2002). Brain development, song learning and mate choice in birds: a review and experimental test of the "nutritional stress hypothesis". *Journal of Comparative Physiology A*, *188*(11), 1003-1014.
- Nylin, S., & Gotthard, K. (1998). Plasticity in life-history traits. *Annual Review of Entomology*, *43*(1), 63-83.
- Nyman, T., Vikberg, V., Smith, D. R., & Boevé, J. L. (2010). How common is ecological speciation in plant-feeding insects? A "higher" Nematinae perspective. *BMC Evolutionary Biology*, *10*(1), 266.
- Oliveira, M. R. C., Corrêa, A. S., de Souza, G. A., Guedes, R. N. C., & de Oliveira, L. O. (2013). Mesoamerican origin and pre-and post-columbian expansions of the ranges of *Acanthoscelides obtectus* Say, a cosmopolitan insect pest of the common bean. *PloS One*, *8*(7), e70039.
- Oppelt, A., & Heinze, J. (2009). Mating is associated with immediate changes of the hydrocarbon profile of *Leptothorax gredleri* ant queens. *Journal of Insect Physiology*, *55*(7), 624-628.
- Orsucci, M., Audiot, P., Pommier, A., Raynaud, C., Ramora, B., Zanetto, A., Bourguet, D., & Streiff, R. (2016). Host specialization involving attraction, avoidance and performance, in two phytophagous moth species. *Journal of Evolutionary Biology*, *29*(1), 114-125.
- Oyama, S. (2000). *The ontogeny of information: developmental systems and evolution*. Duke University Press, Durham, NC.
- Papaj, D. R. (2000). Ovarian dynamics and host use. *Annual Review of Entomology*, *45*(1), 423-448.

- Paton, A. J., Brummitt, N., Govaerts, R., Harman, K., Hinchcliffe, S., Allkin, B., & Lughadha, E. N. (2008). Towards target 1 of the global strategy for plant conservation: a working list of all known plant species-progress and prospects. *Taxon*, 57(2), 602-611.
- Pawlowsky-Glahn, V., & Buccianti, A. (Eds.). (2011). *Compositional data analysis: theory and applications*. John Wiley & Sons Ltd, West Sussex, UK.
- Pfaffenberger, G. S. (1985). Description, differentiation, and biology of the four larval instars of *Acanthoscelides obtectus* (Say) (Coleoptera: Bruchidae). *The Coleopterists' Bulletin*, 39(3), 239-256.
- Pfennig, D. W., & Ehrenreich, I. M. (2014). Towards a gene regulatory network perspective on phenotypic plasticity, genetic accommodation and genetic assimilation. *Molecular Ecology*, 23(18), 4438-4440.
- Pfennig, D. W., & McGee, M. (2010). Resource polyphenism increases species richness: a test of the hypothesis. *Philosophical Transactions of the Royal Society B: Biological Sciences*, 365(1540), 577-591.
- Pfennig, D. W., Wund, M. A., Snell-Rood, E. C., Cruickshank, T., Schlichting, C. D., & Moczek, A. P. (2010). Phenotypic plasticity's impacts on diversification and speciation. *Trends in Ecology & Evolution*, 25(8), 459-467.
- Piergiovanni, A. R., & Pignone, D. (2003). Effect of year-to-year variation and genotype on trypsin inhibitor level in common bean (*Phaseolus vulgaris* L) seeds. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 83(5), 473-476.
- Pigliucci, M. (2001). *Phenotypic plasticity: beyond nature and nurture*. Johns Hopkins University Press, Baltimore, MD.
- Pigliucci, M. (2003). From molecules to phenotypes? The promise and limits of integrative biology. *Basic and Applied Ecology*, 4(4), 297-306.
- Pigliucci, M. (2007). Do we need an extended evolutionary synthesis? *Evolution*, 61(12), 2743-2749.
- Pigliucci, M., & Murren, C. J. (2003). Perspective: genetic assimilation and a possible evolutionary paradox: can macroevolution sometimes be so fast as to pass us by? *Evolution*, 57(7), 1455-1464.



- Pigliucci, M., Murren, C. J., & Schlichting, C. D. (2006). Phenotypic plasticity and evolution by genetic assimilation. *Journal of Experimental Biology*, 209(12), 2362-2367.
- Pigliucci, M. (1996). How organisms respond to environmental changes: from phenotypes to molecules (and vice versa). *Trends in Ecology & Evolution*, 11(4), 168-173.
- Price, P. W., Denno, R. F., Eubanks, M. D., Finke, D. L., & Kaplan, I. (2011). *Insect ecology: behavior, populations and communities*. Cambridge University Press, New York, NY.
- Price, T. D., Qvarnström, A., & Irwin, D. E. (2003). The role of phenotypic plasticity in driving genetic evolution. *Proceedings of the Royal Society of London B: Biological Sciences*, 270(1523), 1433-1440.
- Proffit, M., Khallaf, M. A., Carrasco, D., Larsson, M. C., & Anderson, P. (2015). “Do you remember the first time?” Host plant preference in a moth is modulated by experiences during larval feeding and adult mating. *Ecology Letters*, 18(4), 365-374.
- Purvis, A., & Hector, A. (2000). Getting the measure of biodiversity. *Nature*, 405(6783), 212-219.
- Qureshi, I. A., Dash, P., Srivastava, P. S., & Koundal, K. R. (2006). Purification and characterization of an N-acetyl-d-galactosamine-specific lectin from seeds of chickpea (*Cicer arietinum* L.). *Phytochemical Analysis*, 17(5), 350-356.
- Qvarnström, A., Pärt, T., & Sheldon, B. C. (2000). Adaptive plasticity in mate preference linked to differences in reproductive effort. *Nature*, 405(6784), 344-347.
- Reinecke, A., & Hilker, M. (2014). Plant semiochemicals—perception and behavioural responses by insects. In: *Annual plant reviews volume 47: insect-plant interactions*, 115-153. C. Voelckel, & G. Jander, (Eds.), Wiley-Blackwell, Hoboken, NJ.
- Reinhold, K. (2002). Maternal effects and the evolution of behavioral and morphological characters: a literature review indicates the importance of extended maternal care. *Journal of Heredity*, 93(6), 400-405.

- Rembold, H., Wallner, P., Nitz, S., Kollmannsberger, H., & Drawert, F. (1989). Volatile components of chickpea (*Cicer arietinum* L.) seed. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 37(3), 659-662.
- Rios, R. S., Cárdenas, M., González, K., Cisternas, M. F., Guerra, P. C., Loayza, A. P., & Gianoli, E. (2013). Effects of host plant and maternal feeding experience on population vital rates of a specialized leaf beetle. *Arthropod-Plant Interactions*, 7(1), 109-118.
- Rivault, C., Cloarec, A., & Sreng, L. E. A. M. (2002). Are differences in hydrocarbon profiles able to mediate strain recognition in German cockroaches (Dictyoptera: Blattellidae)? *European Journal of Entomology*, 99(4), 437-444.
- Rodríguez, R. L., Sullivan, L. M., Snyder, R. L., & Cocroft, R. B. (2008). Host shifts and the beginning of signal divergence. *Evolution*, 62(1), 12-20.
- Roff, D. A. (1992). *The evolution of life histories: theory and analysis*. Chapman & Hall, New York, NY.
- Roff, D. A. (2002). *Life history evolution*. Sinauer Associates, Sunderland, MA.
- Rolán-Alvarez, E., & Caballero, A. (2000). Estimating sexual selection and sexual isolation effects from mating frequencies. *Evolution*, 54(1), 30-36.
- Ronald, K. L., Fernández-Juricic, E., & Lucas, J. R. (2012). Taking the sensory approach: how individual differences in sensory perception can influence mate choice. *Animal Behaviour*, 84(6), 1283-1294.
- Rosenthal, G. A. (2001). L-Canavanine: a higher plant insecticidal allelochemical. *Amino Acids*, 21(3), 319-330.
- Rouault, J. D., Marican, C., Wicker-Thomas, C., & Jallon, J. M. (2004). Relations between cuticular hydrocarbon (HC) polymorphism, resistance against desiccation and breeding temperature; a model for HC evolution in *D. melanogaster* and *D. simulans*. *Genetica*, 120(1), 195-212.
- Rozek, M., Holecová, M., & Lachowska, D. (1999). Karyological notes on *Acanthoscelides obtectus* (Say 1859) (Coleoptera, Bruchidae). *Cytologia*, 64(4), 367-369.
- Rull, J., Aluja, M., & Feder, J. L. (2010). Evolution of intrinsic reproductive isolation among four North American populations of *Rhagoletis pomonella* (Diptera: Tephritidae). *Biological Journal of the Linnean Society*, 100(1), 213-223.

- Rundle, H. D., & Nosil, P. (2005). Ecological speciation. *Ecology letters*, 8(3), 336-352.
- Rutherford, S. L., & Lindquist, S. (1998). Hsp90 as a capacitor for morphological evolution. *Nature*, 396(6709), 336-342.
- Saeki, Y., Tuda, M., & Crowley, P. H. (2014). Allocation tradeoffs and life histories: a conceptual and graphical framework. *Oikos*, 123(7), 786-793.
- Samakovli, D., Thanou, A., Valmas, C., & Hatzopoulos, P. (2007). Hsp90 canalizes developmental perturbation. *Journal of Experimental Botany*, 58(13), 3513-3524.
- Sangster, T. A., Lindquist, S., & Queitsch, C. (2004). Under cover: causes, effects and implications of Hsp90-mediated genetic capacitance. *Bioessays*, 26(4), 348-362.
- SAS Institute, Inc, 2010. The SAS System for Windows. Release 9.3. SAS Institute, Cary, NC, USA.
- Savarit, F., & Ferveur, J. F. (2002). Temperature affects the ontogeny of sexually dimorphic cuticular hydrocarbons in *Drosophila melanogaster*. *Journal of Experimental Biology*, 205(20), 3241-3249.
- Savković, U., Đorđević, M., Šešlija Jovanović, D., Lazarević, J., Tucić, N., & Stojković, B. (2016). Experimentally induced host-shift changes life-history strategy in a seed beetle. *Journal of Evolutionary Biology*, 29(4), 837-847.
- Savković, U., Vučković, I., & Stojković, B. (2012). The growth on different stored legume species affects the profiles of cuticular hydrocarbon (CHC) in *Acanthoscelides obtectus* (Say). *Journal of Stored Products Research*, 50, 66-72.
- Scheiner, S. M. (1993). Genetics and evolution of phenotypic plasticity. *Annual Review of Ecology and Systematics*, 24, 35-68.
- Scheiner, S. M., & Berrigan, D. (1998). The genetics of phenotypic plasticity. VIII. The cost of plasticity in *Daphnia pulex*. *Evolution*, 52(2), 368-378.
- Scheirs, J., De Bruyn, L., & Verhagen, R. (2000). Optimization of adult performance determines host choice in a grass miner. *Proceedings of the Royal Society of London B: Biological Sciences*, 267(1457), 2065-2069.
- Schlichting, C. D. (2004). The role of phenotypic plasticity in diversification. 12, 191–200. In: *Phenotypic plasticity*. T. J. DeWitt, & S. M. Scheiner, (Eds.), Oxford University Press, Oxford, UK.

- Schlichting, C. D., & Pigliucci, M., (1998). *Phenotypic evolution. A reaction norm perspective*. Sinauer Associates Inc., Sunderland, MA.
- Schlichting, C. D., & Wund, M. A. (2014). Phenotypic plasticity and epigenetic marking: an assessment of evidence for genetic accommodation. *Evolution*, 68(3), 656-672.
- Schluter, D. (2000). Ecological character displacement in adaptive radiation. *The American Naturalist*, 156(S4), S4-S16.
- Schluter, D. (2001). Ecology and the origin of species. *Trends in Ecology & Evolution*, 16(7), 372-380.
- Schluter, D. (2009). Evidence for ecological speciation and its alternative. *Science*, 323(5915), 737-741.
- Schluter, D., Rambaut, A., Schluter, D., & Rambaut, A. (1996). Ecological speciation in postglacial fishes. *Philosophical Transactions of the Royal Society of London. Series B: Biological Sciences*, 351(1341), 807-814.
- Schoonhoven, L. M., Van Loon, J. J., & Dicke, M. (2005). *Insect-plant biology* (No. Ed. 2). Oxford University Press, Oxford, UK.
- Schuler, M. A. (1996). The role of cytochrome P450 monooxygenases in plant-insect interactions. *Plant Physiology*, 112(4), 1411-1419.
- Scott, J. G., & Wen, Z. (2001). Cytochromes P450 of insects: the tip of the iceberg. *Pest Management Science*, 57(10), 958-967.
- Siemann, E., Rogers, W. E., & Dewalt, S. J. (2006). Rapid adaptation of insect herbivores to an invasive plant. *Proceedings of the Royal Society of London B: Biological Sciences*, 273(1602), 2763-2769.
- Siepielski, A. M., DiBattista, J. D., & Carlson, S. M. (2009). It's about time: the temporal dynamics of phenotypic selection in the wild. *Ecology Letters*, 12(11), 1261-1276.
- Sih, A., Cote, J., Evans, M., Fogarty, S., & Pruitt, J. (2012). Ecological implications of behavioural syndromes. *Ecology Letters*, 15(3), 278-289.
- Singer, M. C., & Wee, B. (2005). Spatial pattern in checkerspot butterfly – host plant association at local, metapopulation and regional scales. *Annales Zoologici Fennici*, 42(4), 347-361.

- Singh, R. S. (2015). Darwin's legacy II: why biology is not physics, or why it has taken a century to see the dependence of genes on the environment 1. *Genome*, 58(1), 55-62.
- Smadja, C., & Butlin, R. K. (2009). On the scent of speciation: the chemosensory system and its role in premating isolation. *Heredity*, 102(1), 77-97.
- Smith, G., & Ritchie, M. G. (2013). How might epigenetics contribute to ecological speciation? *Current Zoology*, 59(5) 686-696.
- Snell-Rood, E. C. (2013). An overview of the evolutionary causes and consequences of behavioural plasticity. *Animal Behaviour*, 85(5), 1004-1011.
- Snell-Rood, E. C., Cash, A., Han, M. V., Kijimoto, T., Andrews, J., & Moczek, A. P. (2011). Developmental decoupling of alternative phenotypes: insights from the transcriptomes of horn-polyphenic beetles. *Evolution*, 65(1), 231-245.
- Sokal, R. R., & Rohlf, F. J. (2012). *Biometry: the principles and practice of statistics in biological research* (Fourth Ed.). W. H. Freeman and Company, New York, NY.
- Sokolovska, N., Rowe, L., & Johansson, F. (2000). Fitness and body size in mature odonates. *Ecological Entomology*, 25(2), 239-248.
- Sosulski, F. W., & Dabrowski, K. J. (1984). Composition of free and hydrolyzable phenolic acids in the flours and hulls of ten legume species. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 32(1), 131-133.
- Southwood, T. R. E. (1978). The construction, description and analysis of age-specific life-tables. *Ecological Methods*, Springer Netherlands, 356-387.
- Sparvoli, F., & Bollini, R. (1998). Arcelin in wild bean (*Phaseolus vulgaris* L.) seeds: sequence of arcelin 6 shows it is a member of the arcelins 1 and 2 subfamily. *Genetic Resources and Crop Evolution*, 45(4), 383-388.
- Stam, J. M., Kroes, A., Li, Y., Gols, R., van Loon, J. J., Poelman, E. H., & Dicke, M. (2014). Plant interactions with multiple insect herbivores: from community to genes. *Plant Biology*, 65(1), 689-713.
- Stamp, N. (2003). Out of the quagmire of plant defense hypotheses. *The Quarterly Review of Biology*, 78(1), 23-55.
- Stearns, S. C. (1992). *The evolution of life histories*. Oxford University Press, Oxford, UK.

- Stearns, S. C., & Koella, J. C. (1986). The evolution of phenotypic plasticity in life-history traits: predictions of reaction norms for age and size at maturity. *Evolution*, *40*(5), 893-913.
- Stennett, M. D., & Etges, W. J. (1997). Premating isolation is determined by larval rearing substrates in cactophilic *Drosophila mojavensis*. III. Epicuticular hydrocarbon variation is determined by use of different host plants in *Drosophila mojavensis* and *Drosophila arizonae*. *Journal of Chemical Ecology*, *23*(12), 2803-2824.
- Stevenson, P. C., & Aslam, S. N. (2006). The chemistry of the genus *Cicer* L. *Studies in Natural Products Chemistry*, *33*, 905-956.
- Stojković, B., & Tucić, N. (2012). *Od molekula do organizma: molekularna i fenotipska evolucija*. Službeni glasnik, Beograd, Srbija.
- Stojković, B., Savković, U., Đorđević, M., & Tucić, N. (2014). Host-shift effects on mating behavior and incipient pre-mating isolation in seed beetle. *Behavioral Ecology*, *25*(3), 553-564.
- Stojković, B., Šešlija Jovanović, D., & Tucić, N. (2012). Transgenerational effects on overall fitness: influence of larval feeding experience on the oviposition behaviour of seed beetle *Acanthoscelides obtectus* (Say). *Polish Journal of Ecology*, *60*(2), 387-393.
- Suchan, T., & Alvarez, N. (2015). Fifty years after Ehrlich and Raven, is there support for plant–insect coevolution as a major driver of species diversification? *Entomologia Experimentalis et Applicata*, *157*(1), 98-112.
- Sullivan, M. S. (1994). Mate choice as an information gathering process under time constraint: implications for behaviour and signal design. *Animal Behaviour*, *47*(1), 141-151.
- Sultan, S. E. (1987). Evolutionary implications of phenotypic plasticity in plants, 21, 127-178. In: *Evolutionary biology*. M. K. Heckt, B. Wallace, & G. T. Prance, (Eds.), Springer US, New York, NY.
- Suzuki, Y., & Nijhout, H. F. (2006). Evolution of a polyphenism by genetic accommodation. *Science*, *311*(5761), 650-652.

- Šešlija, D., Lazarević, J., Janković, B., & Tucić, N. (2009). Mating behavior in the seed beetle *Acanthoscelides obtectus* selected for early and late reproduction. *Behavioral Ecology*, *20*(3), 547-552.
- Teixeira, I. R. D. V., Barchuk, A. R., & Zucoloto, F. S. (2008). Host preference of the bean weevil *Zabrotes subfasciatus*. *Insect Science*, *15*(4), 335-341.
- Thibert-Plante, X., & Gavrillets, S. (2013). Evolution of mate choice and the so-called magic traits in ecological speciation. *Ecology Letters*, *16*(8), 1004-1013.
- Thibert-Plante, X., & Hendry, A. P. (2011). The consequences of phenotypic plasticity for ecological speciation. *Journal of Evolutionary Biology*, *24*(2), 326-342.
- Thiéry, D., Gabel, B., Farkas, P., & Jarry, M. (1995). Egg dispersion in codling moth: influence of egg extract and of its fatty acid constituents. *Journal of Chemical Ecology*, *21*(12), 2015-2026.
- Thompson, J. N. (1988). Evolutionary ecology of the relationship between oviposition preference and performance of offspring in phytophagous insects. *Entomologia Experimentalis et Applicata*, *47*(1), 3-14.
- Thompson, J. N. (1994). *The coevolutionary process*. University of Chicago Press, Chicago, IL.
- Thompson, J. N. (1997). Evaluating the dynamics of coevolution among geographically structured populations. *Ecology*, *78*(6), 1619-1623.
- Tilmon, K. (2008). *Specialization, speciation and radiation: the evolutionary biology of herbivorous insects*. University of California Press, Berkeley, CA.
- Tregenza, T., Buckley, S. H., Pritchard, V. L., & Butlin, R. K. (2000). Inter- and intrapopulation effects of sex and age on epicuticular composition of meadow grasshopper, *Chorthippus parallelus*. *Journal of Chemical Ecology*, *26*(1), 257-278.
- Tucić, N., & Tucić, B. (2000). *Prirodna selekcija i adaptacije*. NNK International, Beograd, Srbija.
- Tucić, N., Mikuljanac, S., & Stojković, O. (1997). Genetic variation and covariation among life history traits in populations of *Acanthoscelides obtectus* maintained on different hosts. *Entomologia Experimentalis et Applicata*, *85*(3), 247-256.
- Turelli, M., Barton, N. H., & Coyne, J. A. (2001). Theory and speciation. *Trends in Ecology & Evolution*, *16*(7), 330-343.

- Vadnere, G. P., Patil, A. V., Wagh, S. S., & Jain, S. K. (2012). *In vitro* free radical scavenging and antioxidant activity of *Cicer arietinum* L. (Fabaceae). *International Journal of PharmTech Research*, *4*(1), 343-350.
- Valladares, F., Sanchez-Gomez, D., & Zavala, M. A. (2006). Quantitative estimation of phenotypic plasticity: bridging the gap between the evolutionary concept and its ecological applications. *Journal of Ecology*, *94*(6), 1103-1116.
- Valladares, F., Wright, S. J., Lasso, E., Kitajima, K., & Pearcy, R. W. (2000a). Plastic phenotypic response to light of 16 congeneric shrubs from a Panamanian rainforest. *Ecology*, *81*(7), 1925-1936.
- Valladares, F., Martínez-Ferri, E., Balaguer, L., Perez-Corona, E., & Manrique, E. (2000b). Low leaf-level response to light and nutrients in Mediterranean evergreen oaks: a conservative resource-use strategy? *New Phytologist*, *148*(1), 79-91.
- Valladares, G., & Lawton, J. H. (1991). Host-plant selection in the holly leaf-miner: does mother know best? *The Journal of Animal Ecology*, *60*(1), 227-240.
- Vanbergen, A. J., Raymond, B., Pearce, I. S., Watt, A. D., Hails, R. S., & Hartley, S. E. (2003). Host shifting by Operophtera brumata into novel environments leads to population differentiation in life-history traits. *Ecological Entomology*, *28*(5), 604-612.
- Vellend, M., Harmon, L. J., Lockwood, J. L., Mayfield, M. M., Hughes, A. R., Wares, J. P., & Sax, D. F. (2007). Effects of exotic species on evolutionary diversification. *Trends in Ecology & Evolution*, *22*(9), 481-488.
- Verhoeven, K. J., Biere, A., Harvey, J. A., & van der Putten, W. H. (2009). Plant invaders and their novel natural enemies: who is naive? *Ecology Letters*, *12*(2), 107-117.
- Via, S., & Lande, R. (1985). Genotype-environment interaction and the evolution of phenotypic plasticity. *Evolution*, *39*(3), 505-522.
- Via, S., & West, J. (2008). The genetic mosaic suggests a new role for hitchhiking in ecological speciation. *Molecular Ecology*, *17*(19), 4334-4345.
- Videla, M., Valladares, G., & Salvo, A. (2006). A tritrophic analysis of host preference and performance in a polyphagous leafminer. *Entomologia Experimentalis et Applicata*, *121*(2), 105-114.



- Waddington, C. H. (1942). Canalization of development and the inheritance of acquired characters. *Nature*, 150(3811), 563-565.
- Waddington, C. H. (1953). The “Baldwin Effect”, “genetic assimilation” and “homeostasis”. *Evolution*, 7(4), 386-387.
- Waddington, C. H. (1957). *The strategy of the gene*. George Allen & Unwin, London, UK.
- Waddington, C. H. (1961). Genetic assimilation. *Advances in Genetics*, 10, 257-293.
- Wagner, A. (1996). Does evolutionary plasticity evolve? *Evolution*, 50(3), 1008-1023.
- Wang, M. H., & Horng, S. B. (2004). Egg dumping and life history strategy of *Callosobruchus maculatus*. *Physiological Entomology*, 29(1), 26-31.
- West-Eberhard, M. J. (1987). Flexible strategy and social evolution, 3, 35-51. In: *Animal societies: theories and facts*. J. L. Brown, J. Kikkawa, & Y. Ito (Eds.), Japan Scientific Societies Press, Tokyo, Japan.
- West-Eberhard, M. J. (1989). Phenotypic plasticity and the origins of diversity. *Annual Review of Ecology and Systematics*, 20, 249-278.
- West-Eberhard, M. J. (2003). *Developmental plasticity and evolution*. Oxford University Press, New York, NY.
- West-Eberhard, M. J. (2005). Phenotypic accommodation: adaptive innovation due to developmental plasticity. *Journal of Experimental Zoology Part B: Molecular and Developmental Evolution*, 304(6), 610-618.
- Whitlock, M. C. (1996). The red queen beats the jack-of-all-trades: the limitations on the evolution of phenotypic plasticity and niche breadth. *American Naturalist*, 148, S65-S77.
- Whitman, D. W., & Agrawal, A. A. (2009). What is phenotypic plasticity and why is it important, 10, 1-63. In: *Phenotypic plasticity of insects: mechanisms and consequences*. D. Whitman, & T. N. Ananthakrishnan, (Eds.), Science Publishers, Enfield, UK.
- Wigglesworth, V. B. (1933). The physiology of the cuticle and of ecdysis in *Rhodnius prolixus* (Triatomidae, Hemiptera); with special reference to the function of the oenocytes and of the dermal glands. *Quarterly Journal of Microscopical Science*, 76, 269-318.

- van Wilgenburg, E., Symonds, M. R. E., & Elgar, M. A. (2011). Evolution of cuticular hydrocarbon diversity in ants. *Journal of Evolutionary Biology*, *24*(6), 1188-1198.
- Wilkins, A. S. (1997). Canalization: a molecular genetic perspective. *BioEssays*, *19*(3), 257-262.
- Winkler, I. S., & Mitter, C. (2008). The phylogenetic dimension of insect-plant interactions: a review of recent evidence, *16*, 240-263. In: *Specialization, speciation, and radiation: the evolutionary biology of herbivorous insects*. K. J. Tilmon (Editor), University of California, Berkely, CA.
- Woltereck, R., (1909) Weitere experimentelle untersuchungen uber artveranderung, speziell uber das wesens quantitativer artunterschiede bei daphnien. *Verhandlung der Deutschen Zool Gesellschaft*, *19*, 110-173.
- Wood, J. A., & Grusak, M. A. (2007). Nutritional Value of Chickpea, *5*, 101-143. In: *Chickpea breeding and management*. S. S. Yadav, R. J. Redden, W. Chen, & B. Sharma, (Eds.). CABI, Cromwell Press, Trowbridge, UK.
- Xue, H. J., Wei, J. N., Magalhães, S., Zhang, B., Song, K. Q., Liu, J., Li, W. Z., & Yang, X. K. (2016). Contact pheromones of 2 sympatric beetles are modified by the host plant and affect mate choice. *Behavioral Ecology*, doi:10.1093/beheco/arv238.
- Zera, A. J., & Harshman, L. G. (2001). The physiology of life history trade-offs in animals. *Annual Review of Ecology and Systematics*, *32*, 95-126.
- Zhao, S., Zhang, L., Gao, P., & Shao, Z. (2009). Isolation and characterisation of the isoflavones from sprouted chickpea seeds. *Food Chemistry*, *114*(3), 869-873.
- Zhou, K., Slavin, M., Lutterodt, H., Whent, M., Eskin, N. A. M., & Yu, L. (2012). Cereals and legumes, *1*, 3-48. In: *Biochemistry of foods* (No. Ed. 3), N. A. M. Eskin, & F. Shahidi, (Eds.). Academic press, Cambridge, MA.

## 10. PRILOZI

Prilog 1. Klasifikacija reproduktivne izolacije. Prema Koin i Or (Coyne i Orr 2004).

### **I Prekopulatorne prepreke – one prepreke koje sprečavaju protok gena pre prebacivanja sperme ili polena drugim jedinkama.**

A. Izolacija uzrokovana razlikama u ponašanju (etološka ili seksualna izolacija)

B. Ekološka izolacija

1. Izolacija uzrokovana razlikama u staništu
2. Vremenska izolacija
3. Izolacija uzrokovana oprašivačima

C. Mehanička izolacija

D. Izolacija uzrokovana tipom ukrštanja

### **II Postkopulatorne, prezigotske prepreke – one prepreke koje deluju nakon prebacivanja sperme ili polena drugim jedinkama, ali pre oplodnje.**

A. Izolacija uzrokovana razlikama u ponašanju prilikom kopulacije

B. Gametska izolacija

1. Nekompetitivna gametska izolacija
2. Kompetitivna gametska izolacija

### **III Postzigotske prepreke (hibridna sterilnost i hibridna invijabilnost).**

A. Ekstrinzičke – zavisne od životne sredine

1. Ekološka invijabilnost
2. Ponašajna sterilnost

B. Intrinzičke – nezavisne od životne sredine (problemi u razvojnom sistemu)

1. Hibridna invijabilnost
2. Hibridna sterilnost
  - a. Fiziološka sterilnost
  - b. Ponašajna sterilnost

Prilog 2. Morfološke razlike između četiri larvena stupnja (I – IV) kod *Acanthoscelides obtectus* Say. Prema Fafenberg (Pfaffenberger 1985).

Larveni stupanj / Morfološka celina	I	II	III	IV
Telo	0,3 mm širina	0,8 mm širina	1,2–1,6 mm širina	1,6–2,3 mm širina
	0,5 mm dužina	1,2–1,4 mm dužina	1,4–2,4 mm dužina	2,4–3,5 mm dužina
	cifosomatičko	oblika slova C	oblika slova C	oblika slova C
	kutikula bela protorakalna ploča pigmentisana	usni aparat tamno obojen	integument žućkast usni aparat obojen tamno	integument beo prodorzum žućkast
Oceli	pojedinačni, između antene i mandibule	isto kao I	isto kao I	isto kao I
Antena	teleskopska sa jednim segmentom	isto kao I	isto kao I	isto kao I
	jedna izdužena senzila hetika	isto kao I	isto kao I	isto kao I
	mali broj mikrotriha u jednom redu	distoventralno se nalazi veći broj mikrotriha raspoređenih u redove	isto kao II	mikrotrihe su izdužene i skoro pokrivaju senzilu hetiku
	nije prisutna	senzila bazikonika postavljena lateralno	isto kao II	isto kao II
Clypeolabrum	deset tupih senzila trihodea	isto kao I	isto kao I	isto kao I
	jedna senzila ampulacea	isto kao I	isto kao I	isto kao I
	mikrotrihe odsutne duž distalne strane	isto kao I	mikrotrihe prisutne (male)	mikrotrihe prisutne (veće nego kod III)
Mandibula	monokondilna dve senzile trihode su postavljene lateralno	isto kao I	isto kao I	isto kao I
Maxila	cardo – prisutan	isto kao I	isto kao I	isto kao I
	stipes – ima dve senzile trihode	isto kao I	isto kao I	stipes – 5-7 senzila trihoda
	palpifer – 12 senzila trihoda postavljenih oko senzile plakode	isto kao I	isto kao I	isto kao I
	palpus – 13 senzila bazikonika i senzila ampulacea	isto kao I	isto kao I	isto kao I
	nisu prisutne	raste broj mikrotriha	isto kao II	isto kao II

Nastavak priloga na sledećoj strani.

Prilog 2. Nastavak. Morfološke razlike između četiri larvena stupnja (I – IV) kod *Acanthoscelides obtectus* Say. Prema Fafenberger (Pfaffenberger 1985).

Labium	submentum - oblika slova C sa parom senzila trihodea	isto kao I	isto kao I	isto kao I
	mentum - proksimalni deo je kružan od koga polaze dve „ruke“ svaka sa po jednom senzilom trihodeom i grupom mikrotiha prva polovina	isto kao I	isto kao I	isto kao I
	mentuma ima dva para senzila trihodea od kojih je jedan 1,5 puta duži od drugog	isto kao I	isto kao I	isto kao I
Protorakalna ploča	oblika slova X ili H pet pari senzila trihodea	odsustvuje	odsustvuje	odsustvuje
Torakalani sterniti	metatorakalni sterniti sa senzila trihodea i sklerotizovanim šiljcima	odsustvuje	odsustvuje	odsustvuje
Protorakalni tergiti	osmi i deveti abdominalni tergiti su sklerotizovani	odsustvuje	odsustvuje	odsustvuje
Spirakulum	torakalni i abdominalni	isto kao I	isto kao I	isto kao I
Noga	dvosegmentisana	četvorosegmentisana	isto kao II	isto kao II
	par senzila trihodea	jedna senzila trihodea	dve senzile trihode	četiri senzile trihode

Prilog 3. Ključ za razlikovanje larvenih stupnjeva kod *Acanthoscelides obtectus* Say.  
Prema Fafenberger (Pfaffenberger 1985).

1. Telo je cifosomatsko (lat. <i>cyphosomatic</i> ); protorakalna ploča je prisutna i ima oblik slova X ili H; noge su stubičaste sa dva segmenta; osmi i deveti abdominalni tergiti imaju sklerotizovane ploče.....	<b>prvi larveni stupanj</b>
– Telo je robusno oblika slova C; protorakalna ploča odsustvuje; noge su bradavičastog izgleda sa četiri segmenta; sklerotizovane ploče na abdominalnim tergitema odsustvuju .....	2
2(1). Jedan red mikrotrih na distodorzalnoj antenalnoj površini; klipeolabralna (lat. <i>clypeolabral</i> ) mikrotrih odsutna; senzila trihodea (lat. <i>sensilla trichodea</i> ) se nalazi na završetku noge .....	<b>drugi larveni stupanj</b>
– Kombinacija karaktera nije podudarna gore navedenom .....	3
3(2). Više redova mikrotrih na distodorzalnoj antenalnoj površini koje nisu više od senzile bazikonike (lat. <i>sensilla basiconica</i> ); na distolateralnim delovima klipeolabruma su prisutne male mikrotrih; noga sa četiri segmenta (segmentacija nije najjasnija) i dve senzile trihode (jedana lateralno, a druga medijalno postavljene) .....	<b>treći larveni stupanj</b>
-Više redova izduženih mikrotrih koji skoro zaklanjaju površinu antena; mikrotrih klipeolabruma su izdužene, brojne i skoro zaklanjaju senzile trihode; noga sa četiri segmenta (jasno definisana segmentacija) nosi dve senzile trihode sa suprotnih strana predzadnjeg segmenta i dve senzile trihode na anterolateralnom delu bazalnog segmenta .....	<b>četvrti larveni stupanj</b>

Prilog 4. **A.** Zastupljenost najvažnijih hemijskih klasa u zrnima pasulja i nauta prema Boi i sar. (Boye i sar. 2010). **B.** Amino-kiselinski sastav zrna pasulja i nauta. **C.** Zastupljenost pojedinih hemijskih elemenata u zrnima pasulja i nauta.

<b>A. Hemijske klase g/100g</b>	<b>Proteini</b>	<b>Masti</b>	<b>Vlakna</b>	<b>Ugljeni-hidrati</b>	<b>Suvi ostatak</b>
Pasulj	23,58	0,83	24,90	60,10	3,83
Naut	12,60-29,00	3,40-8,80	3,00-17,40	59,50-60,65	2,50-3,50
<b>B. Zastupljenost amino-kiselina izražena u g/16g N</b>					
	<b>Pasulj</b>	<b>Naut</b>			
Izoleucin	5,3	3,2-6,0			
Leucin	9,0	5,7-9,1			
Lizin	7,7	4,9-8,7			
Metionin	1,3	0,6-3,6			
Fenilalanin	6,0	4,1-8,4			
Treonin	4,9	2,6-4,9			
Triptofan	/	0,3-2,4			
Valin	5,9	3,1-6,2			
Arginin	6,9	10,3			
Histidin	3,2	3,4			
Alanin	4,7	4,4			
Asparaginska kiselina	12,0	11,4			
Cistein	1,1	1,3			
Glutaminska kiselina	15,1	17,3			
Glicin	4,2	4,1			
Prolin	4,7	2,9-5,3			
Serin	7,2	3,1-5,9			
Tirozin	3,4	1,1-4,2			
<b>C. Mineralne materije mg/100g</b>					
	<b>Pasulj</b>	<b>Naut</b>			
Na	5-16 <sup>1,3</sup>	2,1-64 <sup>3,4</sup>			
K	525-1795 <sup>1,2</sup>	220-1333 <sup>3,4</sup>			
P	301-456 <sup>1,2</sup>	159-930 <sup>3,4</sup>			
Ca	55,2-240 <sup>1,2</sup>	40-267 <sup>3,4</sup>			
Fe	7,6-10,4 <sup>1,2</sup>	3,2-14,3 <sup>3,4</sup>			
Cu	0,8-1,0 <sup>1,2,3</sup>	0,27-1,42 <sup>3,4</sup>			
Zn	3,7-7,3 <sup>1,2,3</sup>	0,1-9,4 <sup>3,4</sup>			
Mn	1,1-1,8 <sup>1,3</sup>	2,0-5,4 <sup>3,4</sup>			
Mg	38,2-190 <sup>1,2,3</sup>	10-239 <sup>3,4</sup>			
<sup>1</sup> <a href="http://nutritiondata.self.com/facts/legumes-and-legume-products">http://nutritiondata.self.com/facts/legumes-and-legume-products</a> ; <sup>2</sup> Barampama i Simard 1993; <sup>3</sup> Zhou i sar. 2012; <sup>4</sup> Wood i Grusak 2007.					

## BIOGRAFIJA AUTORA

Uroš Savković je rođen 27. novembra 1986. godine u Beogradu. Nakon završene osnovne škole i Treće beogradske gimnazije, školske 2005/2006 godine upisuje Biološki fakultet Univerziteta u Beogradu, studijska grupa Biologija. Školsku 2008/2009 provodi na Indiana University of Pennsylvania kao stipendista World Learning-a. Odbranom diplomskog rada 2010 godine: „Eksperimentalno testiranje modela  $r - i$  –  $K$  – selekcije kod pasuljevog žiška (*Acanthoscelides obtectus* Say)“, pod mentorstvom doc. dr Biljane Stojković i prof. dr Nikole Tucić, diplomira sa prosečnom ocenom 9.30. Školske 2010/2011. godine upisuje prvu godinu doktorskih studija na modulu Evolucionarna biologija, Biološkog fakulteta Univerziteta u Beogradu.

Od 01.01.2011. godine Uroš je zaposlen u Odeljenju za evolucionu biologiju Instituta za biološka istraživanja „Siniša Stanković“, gde radi u zvanju istraživač pripravnik. 28.06.2012. godine, na V redovnoj sednici Instituta, stiče istraživačko zvanje istraživač saradnik u koje je reizabran 10.07.2015. godine na XIII redovnoj sednici Instituta.

Uroš učestvuje u realizovanju projekta osnovnih istraživanja Ministarstva prosvete, nauke i tehnološkog razvoja Republike Srbije „Evolucija u laboratoriji i adaptacije u prirodi“ (br. 173007, rukovodilac dr Branka Tucić).

Uroševa dosadašnja naučno-istraživačka aktivnost pretežno se odvijala u oblasti eksperimentalne evolucije insekata. Dosadašnje rezultate svojih istraživanja Uroš je prikazao u osam naučnih radova koji su publikovani u časopisima od međunarodnog značaja. Dodatno, Uroš aktivno učestvuje u različitim programima popularizacije nauke.



## Изјава о ауторству

Потписани Урош Савковић

број уписа Б3042/2010

### Изјављујем

да је докторска дисертација под насловом

Улога фенотипске пластичности особина животне историје и понашања у процесима специјације *Acanthoscelides obtectus*

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

**Потпис докторанда**

У Београду, \_\_\_\_\_ .2016.

Урош Савковић

**Изјава о истоветности штампане и електронске верзије докторског рада**

Име и презиме аутора

Урош Савковић

Број уписа

Б3042/2010

Студијски програм

Биологија

Наслов рада

Улога фенотипске пластичности особина животне историје и понашања у процесима специјације *Acanthoscelides obtectus*

Менторка

проф. др Биљана Стојковић

Потписани Урош Савковић

изјављујем да је штампана верзија мог докторског рада истоветна електронској верзији коју сам предао за објављивање на порталу **Дигиталног репозиторијума Универзитета у Београду.**

Дозвољавам да се објаве моји лични подаци везани за добијање академског звања 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 докторанда**

У Београду, \_\_\_\_\_, 2016.

Урош Савковић

## Изјава о коришћењу

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

Улога фенотипске пластичности особина животне историје и понашања у процесима специјације *Acanthoscelides obtectus*

која је моје ауторско дело.

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

Моју докторску дисертацију похрањену у Дигитални репозиторијум Универзитета у Београду могу да користе сви који поштују одредбе садржане у одабраном типу лиценце Креативне заједнице (Creative Commons) за коју сам се одлучио.

1. Ауторство

2. Ауторство - некомерцијално

**3. Ауторство – некомерцијално – без прераде**

4. Ауторство – некомерцијално – делити под истим условима

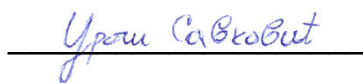
5. Ауторство – без прераде

6. Ауторство – делити под истим условима

(Молимо да заокружите само једну од шест понуђених лиценци, кратак опис лиценци дат је на полеђини листа).

**Потпис докторанда**

У Београду, \_\_\_\_\_, 2016.

  
\_\_\_\_\_

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 прераде. 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 прераде. 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.