

UNIVERZITET U BEOGRADU

BIOLOŠKI FAKULTET

Aleksandra D. Patenković

**EFEKAT ELEKTROMAGNETNOG POLJA
(50 Hz, 0,25 mT)
NA KOMPONENTE ADAPTIVNE VREDNOSTI
I MORFOMETRIJU KRILA
KOD *Drosophila subobscura*
COLLIN, 1936 (INSECTA, DIPTERA)**

doktorska disertacija

Beograd, 2016.

UNIVERSITY OF BELGRADE

FACULTY OF BIOLOGY

Aleksandra D. Patenković

**EFFECT OF ELECTROMAGNETIC FIELD
(50 Hz, 0.25 mT)
ON FITNESS COMPONENTS AND
WING MORPHOMETRICS
OF *Drosophila subobscura*
COLLIN, 1936 (INSECTA, DIPTERA)**

Doctoral Dissertation

Belgrade, 2016

MENTOR:

dr Marina Stamenković-Radak

redovni profesor
Univerzitet u Beogradu - Biološki fakultet

naučni savetnik
Univerzitet u Beogradu
Institut za biološka istraživanja „Siniša Stanković“

ČLANOVI KOMISIJE

ZA PREGLED I OCENU DOKTORSKE DISERTACIJE:

dr Marina Stamenković-Radak

redovni profesor
Univerzitet u Beogradu - Biološki fakultet

naučni savetnik
Univerzitet u Beogradu
Institut za biološka istraživanja „Siniša Stanković“

dr Marija Savić Veselinović

docent
Univerzitet u Beogradu - Biološki fakultet

dr Bojan Kenig

naučni saradnik
Univerzitet u Beogradu
Institut za biološka istraživanja „Siniša Stanković“

dr Zorana Kurbalija Novičić

viši naučni saradnik
Univerzitet u Beogradu
Institut za biološka istraživanja „Siniša Stanković“

Postdoctoral Research Fellow
Evolutionary Biology Centre, Uppsala University, Sweden

DATUM ODBRANE:

Eksperimentalna istraživanja čiji su rezultati predstavljeni u okviru ove doktorske disertacije urađena su na Odeljenju za genetiku populacija i ekogenotoksikologiju, Instituta za biološka istraživanja „Siniša Stanković“

Univerziteta u Beogradu.

Rad je realizovan u okviru projekata osnovnih istraživanja Ministarstva prosvete i nauke Republike Srbije (143014,173012).

Imala sam sreću i zadovoljstvo da disertaciju radim u laboratoriji Odeljenja za genetiku populacija, u timu kojim rukovodi akademik Marko Anđelković, profesorka dr Marina Stamenković-Radak i dr Tatjana Savić. Njihovo znanje, iskustvo i strpljenje su mi mnogo značili, i čast mi je što sam deo tima koji su oni oformili i vodili. Vreme koje su mi posvetili i usmeravanje tokom svih ovih godina bilo je izuzetno važno za moje naučno usavršavanje. Hvala vam na idejama, podršci i podsticajima da se ova disertacija realizuje.

Tokom mog puta kroz disertaciju, kroz laboratoriju su kao deo tima prošle inteligentne, vredne, talentovane i izuzetne kolege na koje sam se mogla osloniti i koji su ostavili trag na moj rad: dr Gordana Rašić, dr Predrag Kalajdžić, dr Zorana Kurbalija Novičić, dr Bojan Kenig, dr Marija Savić Veselinović, dr Mihailo Jelić, Marija Tanasković i Sonja Lečić. Svako od njih mi je posebno značio u nekom trenutku izrade teze. Brojni zajednički sati provedeni u laboratoriji, bezbroj razgovora i korisnih diskusija, zanimljive ideje, smeh i razumevanje je činilo okruženje u kome ovaj rad drugačije i ne bi bio moguć. Svima njima dugujem neizmernu zahvalnost pre svega na prijateljstvu, razumevanju i podršci. Veliku zahvalnost dugujem i kolegici Ivani Bukvić za tehničku pomoć u izradi teze u vidu nezamislivo mnogo skuvanog supstrata i opranih flakona, i to u nemilosrdno kratkim rokovima.

Zahvalnost i divljenje iskazujem mentoru profesorki dr Marini Stamenković-Radak, koja je na pravi način bila posvećena mom naučno-istraživačkom radu, i koja mi predstavlja uzoran model kako se postavljaju prioriteta i koristi znanje, iskustvo i vreme.

Veliku zahvalnost dugujem svim članovima komisije: doc dr Mariji Savić Veselinović, dr Bojanu Kenigu i dr Zorani Kurbaliji Novičić, na korisnim sugestijama koje su doprinele kvalitetu ove disertacije, na efikasnosti, ali pre svega na velikom prijateljstvu, jer su se iskreno radovali svakom mom koraku napred kao što to pravi prijatelji i čine.

Ova teza ne bi bila ovako dobra bez pomoći dr Zlatka Prolića koji me je uveo u svet magnetobiologije i pomogao mi oko opreme i početne postavke eksperimenta, dr Tatjane Savić zbog pomoći u svim fazama izrade ove teze, kao i pomoći dr Stevana Avramova koji mi je rasvetlio analizu korelacija i fenotipske plastičnosti. Zahvaljujem im se na na sugestijama i tehničkoj pomoći.

Zahvalnost dugujem kolegama - prijateljima sa „komšijskih“ odeljenja: dr Tanji Adnađević, dr Vladimiru Jovanoviću, Ivani Budinski, Mariji Rajičić, i Marjani Brkić, kao i svim kolegama sa „kumovskog“ odeljenja, a posebno dr Danijeli Mišić, dr Marijani Skorić i kumu dr Branislavu Šileru. Zajedno smo prošli kroz različite projekte iz istraživanja ili promocije nauke, i zahvaljujem im se na konstruktivnim predlozima, prijateljskoj podršci, druženju u pauzama, i što su uvek bili tu za mene tokom izrade ove disertacije.

Ogromnu zahvalnost dugujem svojim roditeljima zbog čvrstog utemeljenja intelektualnog puta i žive podrške da uvek biram i živim ono što želim i volim. Zahvalna sam porodicama Petrović i Patenković, roditeljima i braći, na iskrenoj podršci i nesebičnoj pomoći kad god mi je zatrebala, Miši i Nadi (Zarić) jer su mi mnogo više od prijatelja, jer su me tokom mog dugačkog puta kroz ovu disertaciju podržali i usmeravali.

Najveću zahvalnost dugujem suprugu Ivanu, mom bezrezervnom osloncu, za razumevanje potrebe da se i na ovaj način ostvarim i za neprocenjivu emotivnu podršku kada sam posustajala, kao i deci Mili, Nikoli i Momčilu, jer su oni neizostavni deo svakog mog uspeha i najveći životni motiv.

Zbog toga ovaj rad posvećujem njima

Mojoj porodici:
Ivanu,
roditeljima i braći
i Petrović i Patenković,
Miši i Nadi

za
podršku,
razumevanje,
nesebičnu pomoć,
i bezuslovnu ljubav
koja svemu daje smisao...

Hvala vam!

Mili, Nikoli i Momčilu

Naslov: **Efekat elektromagnetnog polja (50 Hz, 0,25 mT)**
na komponente adaptivne vrednosti i morfometriju krila
kod *Drosophila subobscura* Collin, 1936 (Insecta, Diptera)

Rezime: Od svog nastanka život na Zemlji se odvijao u prisustvu prirodnih elektromagnetnih polja (EMP) koja su relativno jednostavna i potiču od malobrojnih emitera elektromagnetne energije. Živa bića su se tokom svoje evolucije prilagodila ovom konstantnom sredinskom faktoru, ali su danas pored prirodnih, u sve većoj meri izložena EMP poreklom od izvora koje je stvorio čovek. Intenzitet i frekvencija ovih polja su daleko veći u odnosu na polja prirodnog porekla, a tu spadaju najvećim delom EMP mrežne frekvencije (u okviru dela spektra ekstremno niske frekvencije (ENF) od 50 ili 60 Hz), polja koji potiču od uređaja masovnih (RTV predajnici, 100-500 MHz) i mobilnih komunikacija (800-900 MHz i 1800-2200 MHz). EMP ENF imaju veliki biofizički značaj jer su sveprisutna u životnoj sredini usled prenosa i upotrebe električne energije. Elektromagnetna polja antropogenog porekla predmet su izučavanja različitih bioloških disciplina, ali pre svega sa aspekta zdravlja ljudi. Izlaganje organizama ELM ENF, čak i tokom kraćeg vremenskog perioda, ima za posledicu narušavanje ravnoteže bioloških sistema, kao i poremećaje na različitim nivoima organizacije, ali još uvek ne postoji opšte prihvaćena teorija o mehanizmima dejstva EMP ENF u biološkim sistemima. Pored toga, sredinske promene, usled prisustva EMP ENF, mogu imati uticaj na ekološke i evolucione procese koji utiču na stepen i obim promena u genetičkoj strukturi i evoluciji populacije. Stoga je od suštinskog značaja dublje razumevanje mehanizama koji omogućavaju organizmima da se manje ili više uspešno prilagođavaju sredinskim izazovima, kao i mogućnost da se predvide i prate odgovori populacija na promene u životnoj sredini koja ih okružuje.

Tokom poslednje tri decenije izvedene su brojne studije na *Drosophila* sa ciljem ispitivanja bioloških efekata EMP ENF. Eksperimentalno izlaganje individualnih genotipova *Drosophila* EMP ENF tokom različitih faza životnog ciklusa, rezultuje različitim odgovorima koji su često oprečni, jer efekat delovanja EMP ENF na rast i metabolizam organizama, bilo inhibitorni, bilo stimulatívni, zavisi od kompleksnih veza između frekvencije, jačine polja, dužine izlaganja, i stanja i tipa ćelija ili organizama.

Postoje brojni podaci o uticaju EMP ENF na razviće, fekunditet, vijabilitet i druge komponente adaptivne vrednosti, praćeni na jedinkama *Drosophila* u laboratorijskim uslovima. Međutim EMP ENF, kao sveprisutni abiotički sredinski faktor, može imati efekat na genetičku stukturu populacija, utičući i na nivo genetičke varijabilnosti populacija. Takva genetička varijabilnost može biti glavni osnov za delovanje drugih evolucionih mehanizama na nivou populacije.

Cilj ovog rada je ispitivanje efekata EMP ENF, kao kompleksnog sredinskog faktora, na populaciono-genetičkom nivou. Eksperiment evaluira mrežu fenotipskih odgovora na EMP ENF koristeći genetičku varijabilnost linija u okviru populacije vrste *D. subobscura*. Analizirani fenotipovi opisuju finu saradnju između genotipa i sredine potencirajući značajnost njihove interakcije za opstanak populacija u uslovima stresa kojima su jedinke/populacije izložene tokom većeg broja generacija.

Jedinke *Drosophila subobscura* izlagane su u embrionalnom i ranom postembrionalnom razviću EMP ENF od 50 Hz i 0,25 mT, tokom tri sukcesivne generacije. Rezultati ispitivanja komponenti adaptivne vrednosti su pokazali da jedinke već tokom prve generacije izlaganja EMP ENF odgovaraju na prisustvo ovog sredinskog faktora, i to dužim embrionalnim razvićem (jaje-adult), slabijim preživljavanjem, skraćivanjem dužine života, i trendom povećanja fekunditeta u stresnim uslovima, u odnosu na jedinke iz kontrolne grupe koje su čitavo razviće provele izvan dejstva EMP. Nakon treće generacije, jedinke koje su izlagane navedenom EMP takođe imaju slabije preživljavanje i kraći životni vek, ali njihovo razviće traje kraće, a u pogledu fekunditeta uočava se trend smanjivanja u poređenju sa jedinkama iste generacije iz kontrolnih uslova. Prosečna vrednost komponenti adaptivne vrednosti opada tokom generacija, što je posebno izraženo u značajnom smanjenju preživljavanja kroz generacije kod jedinki izloženih EMP od 50 Hz i 0,25 mT. Ovi rezultati takođe pokazuju da uticaj EMP ENF tokom niza sukcesivnih generacija ima kumulativno dejstvo. Fenotipske korelacije analiziranih komponenti adaptivne vrednosti pokazuje da EMP ENF kao sredinski faktor utiče na kovariranje analiziranih osobina, menjajući smer i smanjujući stepen povezanosti osobina. Izlagane jedinke iz druge i treće generacije pokazuju varijabilnost fenotipske plastičnosti u dužini razvića, što može biti važno za adaptaciju na veštačka EMP ENF. Jedinke posmatranih IF linija,

koji se međusobno mogu razlikovati u osetljivosti i fiziološkim mehanizmima odgovora na sredinske uslove, variranjem dužine razvića delimično kompenzuju sredinski stres nastao usled uticaja EMP od 50 Hz i 0,25 mT. Uticaj EMP ENF na jedinke *D. subobscura* izlagane tokom embrionalnog i ranog post-embrionalnog razvića ogleda se i kroz promenu veličine, ali ne i oblika krila. Jedinke koje su bile izlagane veštačkom EMP ENF u prvoj generaciji imaju veća krila u odnosu na jedinke iz kontrolne grupe, i to kod oba pola, za razliku od jedinki iz treće generacije kojih je došlo do smanjenja veličine krila. Promena veličine krila izlaganih jedinki tokom tri generacije je pokazatelj uticaja EMP ENF na procese razvića tokom embrionalne i larvalne faze. Rezultati pokazuju da se pod delovanjem EMP ENF na puteve i mehanizme tokom razvića menja i konačni fenotip organizama.

Rezultati ovog rada su pokazali da EMP ENF predstavlja faktor spoljašnje sredine koji ima uticaj na rast, razviće i adaptivnu vrednost jedinki *D. subobscura*, pa na populacionom nivou ovaj faktor može predstavljati selekcionu pritisak za komponente adaptivne vrednosti, fenotip i genetičku varijabilnost populacije. Analizirani efekti EMP od 50 Hz i 0,25 mT na populacionom nivou se ogledaju u smanjivanju vrednosti pojedinih komponenti adaptivne vrednosti populacije *D. subobscura*, a samim tim i na sposobnost populacije da adekvatno odgovori na dodatne i/ili buduće promene u životnoj sredini. Na osnovu svega iznetog, može se zaključiti da EMP ENF može da se klasifikuje kao stresogeni faktor antropogenog porekla.

Ključne reči: elektromagnetno polje (EMP) ekstremno niske frekvencije (ENF), *Drosophila subobscura*, komponente adaptivne vrednosti, geometrijska morfometrija krila, fenotipska plastičnost

Naučna oblast: biologija

Uža naučna oblast: ekološka genetika

UDK broj: [574:575]:[537.8:621.3.029.4]:575.17(043.3)

Title: **The effect of electromagnetic field (50 Hz, 0.25 mT)
 on fitness components and wing morphometrics
 of *Drosophila subobscura* Collin, 1936 (Insecta, Diptera)**

Summary: Since its beginning, the life on Earth has been evolved in the presence of natural electromagnetic fields (EMFs) which are relatively simple and with few EM energy emitters. During their evolution living organisms have well adapted to this constant environmental factor, but in nowadays, they are being increasingly exposed to artificial EMF's. The intensity and frequency of these fields are far higher than in the fields of natural origin, and includes mostly EMP power frequency (within the spectrum of extremely low frequency (ELF) of 50 or 60 Hz), fields originating from the unit of mass (radio and television transmitters, 100-500 MHz) and mobile communications (800-900 MHz and 1800-2200 MHz). The ELF EMFs have great biophysical significance since they are part of ubiquitous electric power transmission and consumption. The artificial EMF's have been a subject of various biological studies, focused mainly on the effects to human health. Exposing organisms to ELF EMFs, even for a short period, results in a disturbance of equilibrium of biological systems, as well as in disorder/disturbance on different levels of the organization. Nevertheless, there is no generally accepted theory about the ELF EMF mechanisms and their effects on biological systems. Furthermore, environmental changes caused by ELF EMF can have an effect on ecological and evolutionary processes that affect the level and extent of genetic structure and evolutionary changes within a population. Therefore, it is of utmost importance to not only thoroughly understand the mechanisms that enable organisms to adapt to environmental challenges, but to anticipate and observe populations' responses to environmental changes.

 In the last three daecades, there have been numerous biological studies on ELF EMF effects on *Drosophila*. The results of exposing *Drosophila* individuals to ELF EMF during different life stages are often contradictory because the ELF EMF effects on growth and metabolism can be either inhibitory or stimulative depending on the complex relations between the frequency, field intensity, exopusre duration, and condotion and type of cells or organisms. There are many data on ENF EMP effects on development, fecundity, viability, and other fitness components observed on *Drosophila*

in laboratory conditions. Nevertheless, the ENF EMP, being one of the ubiquitous abiotic environmental factors, can affect populations' genetic structures and levels of populations' genetic variability. This kind of the genetic variability can serve as a basis for other evolutionary mechanisms within a population.

The goal of this research is to analyse the effects of ENF EMP, complex environmental factor, on a populational-genetic level. The experiment evaluates network of phenotypic responses to ELF EMF by using the genetic variability of IF lines within population of *D. subobscura*. Analyzed phenotypes describe delicate cooperation between genotype and the environment, emphasizing the importance of their interaction for population survival in the conditions of stress, to which the individuals/populations are exposed during the generations.

Individuals of *D. subobscura* were exposed to ELF EMF of 50 Hz and 0,25 mT in embryonal and early post-embryonal developmental stages during three successive generations. The results of fitness components analysis showed that individuals responded to exposure with ELF EMF already in the first generation. The response was reflected in longer embryonic development (egg-to-adult), lower survival, shortening of longevity, and by the trend of fecundity increase in stressful conditions, when compared to individuals of the control group whose development was completed outside of the EMP. In the third generation, individuals exposed to EMF also had lower survival and shorter life span, but their development was faster, while fecundity showed trend of decrease, when compared to control individuals of the corresponding generation. Average values of fitness components decreased through generations, which can be observed in particular by lowered survival through generations of individuals exposed to 50 Hz and 0.25 mT EMF. The results also show that the effect of EMF ELF is cumulative during generations. Phenotypic correlations of fitness components indicate that EMF ELF as an environmental factor affects covariation of the analyzed traits by changing the direction and by lowering the degree of trait interconnection. Exposed individuals from second and third generation show variation of phenotypic plasticity of developmental time, which can be important for adaptation to artificial EMF ELF. By varying the developmental time, individuals of the analyzed IF lines, which can differ in sensitivity and physiological mechanisms of response to

environmental factors, partially compensate environmental stress caused by EMF ELF. The effect of ELF EMF on individuals of *D. subobscura* exposed during embryonic and early post-embryonic development, is reflected through the change of wing size as well, but not through the wing shape. Individuals of both sexes exposed to an artificial EMF ELF in first generation had larger wings compared to control group individuals. Contrary to that, in exposed individuals of the third generation there has been a decrease of wing size . Change of wing size of the exposed individuals during three generations is the indicator of the EMF ELF effect on developmental processes during embrionic and larval phase. The results also show that the effect of EMF ELF on developmental mechanisms changes final phenotype of individuals as well.

The results showed that EMF ELF represents environmental factor which influence growth, development and fitness of *D. subobscura* individuals. Therefore, on a population level this factor can represent selection pressure for fitness components, phenotype and population genetic variability. Analized effects of 50 Hz and 0,25 mT EMF on population level are reflected in the decrease of particular fitness components of *D. subobscura* population, and by that in the ability of population to adequately respond to added and/or future changes in the environment. Based on all the evidence presented here, the conclusion is that ELF EMF can be clasified as a stressogenic factor of the anthropogenic origin.

Key words: extremely low frequency (ELF) electromagnetic field (EMF), *Drosophila subobscura*, fitness components, geometric morphometrics, phenotypic plasticity

Specific scientific field: Biology

Scientific field: Ecological genetics

UDC number: [574:575]:[537.8:621.3.029.4]:575.17(043.3)

Efekat
elektromagnetnog polja (50 Hz, 0,25 mT)
na komponente adaptivne vrednosti
i morfometriju krila
kod *Drosophila subobscura*
Collin, 1936 (Insecta, Diptera)

*The best way to envisage the situation is as follows:
the environment presents challenges to living species,
to which the latter may respond by adaptive genetic changes.*

Theodosius Dobzhansky (1973)

S A D R Ž A J

UVOD	1
Životna sredina i mehanizmi prilagođavanja na sredinske promene	3
<i>Disperzija</i>	4
<i>Fenotipska plastičnost</i>	5
<i>Genetička adaptacija</i>	9
Komponente adaptivne vrednosti kao indikatori promene sredinskih uslova	14
Veličina i oblik krila <i>Drosophila</i> kao indikatori promene sredinskih uslova	17
Elektromagnetna polja - osnovne karakteristike i izvori	20
<i>Prirodni izvori EMP nejonizujućeg zračenja</i>	24
<i>Veštački izvori EMP nejonizujućeg zračenja</i>	26
Biološki efekti EMP frekvencije 50/60 Hz	29
<i>Drosophila</i> kao eksperimentalni model u istraživanjima uticaja EMP ENF	35
CILJEVI ISTRAŽIVANJA	38
MATERIJAL I METODE	40
<i>Drosophila subobscura</i>	41
<i>Formiranje laboratorijskih linija Drosophila subobscura</i>	43
Sistem za izlaganje elektromagnetnom polju	44
Dizajn eksperimenta	45
Komponente adaptivne vrednosti	46
Fenotipska plastičnost	47
Fenotipske korelacije	48
Geometrijsko-morfometrijska analiza veličine i oblika krila	49
Statistička analiza podataka	50

REZULTATI	53
Analiza komponenti adaptivne vrednosti	54
<i>Fekunditet</i>	55
<i>Stopa polaganja jaja</i>	59
<i>Dužina razvića</i>	63
<i>Preživljavanje jaje – adult</i>	68
<i>Dužina života ženki</i>	73
Fenotipske korelacije komponenti adaptivne vrednosti	77
Fenotipska plastičnost komponenti adaptivne vrednosti	80
Geometrijsko-morfometrijska analiza veličine i oblika krila	86
<i>Veličina krila</i>	86
<i>Oblik krila</i>	94
DISKUSIJA	97
Uticaj EMP ENF (50 Hz, 0,25 mT) na komponente adaptivne vrednosti	99
Uticaj EMP ENF (50 Hz, 0,25 mT) na fenotipske korelacije	109
Fenotipska plastičnost na nivou komponenti adaptivne vrednosti	113
Uticaj EMP ENF (50 Hz, 0,25 mT) na morfometrijske karakteristike krila	117
ZAKLJUČCI	122
LITERATURA	126
BIOGRAFIJA AUTORA	162
PRILOZI	164
Lista tabela i slika	165
Izjava o autorstvu	171
Izjava o istovetnosti štampane i električne verzije doktorskog rada	172
Izjava o korišćenju	173

Efekat
elektromagnetnog polja (50 Hz, 0,25 mT)
na komponente adaptivne vrednosti
i morfometriju krila
kod *Drosophila subobscura*
Collin, 1936 (Insecta, Diptera)

U V O D

Sve veća brojnost ljudske vrste i njenih povećanih zahteva za prostor i resurse tokom prošlog veka doveli su do opšteg devastiranja prirodne sredine, pa i povećanja njenog zagađenja na globalnom nivou. Antropogeni uticaj izaziva i lokalne i globalne promene u biosferi, a obim i porast stope ovih promena predstavljaju nove izazove za život na planeti. U velikoj raznovrsnosti fizičkih i hemijskih agenasa antropogenog porekla čije se delovanje na životnu sredinu danas intenzivno proučava, značajno mesto zauzimaju elektromagnetna polja (EMP). Iako se život na Zemlji od samog postanka odvija u njihovom neprekidnom prisustvu, veliki interes za proučavanje delovanja elektromagnetnih polja na organizme je zasnovan pre svega, na sve većoj upotrebi, ali i izloženosti kao propratnoj pojavi veštački stvorenih elektromagnetnih polja. Naučni i tehnološki napredak dovodi do sve većeg prisustva EMP, pre svega u masovnim i mobilnim komunikacijama i u prenosu električne energije, a karakteristike ovih EMP predstavljaju abiotički faktor sa kojim se živi svet ranije nije sretao. Pošto su stalno prisutna u životnoj sredini pažnja velikog broja istraživača usmerena je na ispitivanje bioloških efekata EMP koja potiču od brojnih veštačkih izvora, pre svega po zdravlje ljudi, ali i na moguće posledice ovog sredinskog faktora na sav živi svet.

Sredinske promene imaju uticaj na ekološke i evolucione procese koji utiču na stepen i obim promena u genetičkoj strukturi i evoluciji određene populacije, pa je stoga od suštinskog značaja dublje razumevanje mehanizama koji omogućavaju organizmima da se manje ili više uspešno prilagođavaju sredinskim izazovima, kao i mogućnost da se predvide i prate odgovori populacija na promene u životnoj sredini koja ih okružuje. U svakom slučaju, populacije mogu odgovoriti fenotipski i/ili genetički na prisutni sredinski stres mehanizmima koji omogućavaju opstanak u izmenjenim uslovima sredine.

Pitanje koje se nužno nameće, a postavlja u ovom radu, je kako populacije reaguju na veštačko elektromagnetno polje koje predstavlja sve jači abiotički sredinski faktor? Odgovor možemo tražiti u analizi efekata EMP kao sredinskog faktora na seriju različitih genotipova u višegeneracijskom modelu. Genotipovi će na ovakav sredinski izazov odgovoriti oblikovanjem fenotipa, koji može biti procenjen preko varijabilnosti različitih komponenata adaptivne vrednosti, kao i preko varijabilnosti određenih morfometrijskih karaktera.

Životna sredina i mehanizmi prilagođavanja na sredinske promene

Životna sredina svojom raznovrsnošću i složenošću igra važnu ulogu u evolucionim procesima, jer životne sredine nisu ni homogene ni konstantne, već se uslovi u njima i vremenski i prostorno menjaju. Na abiotičke i biotičke faktore životne sredine jedinke i populacije reaguju različito u zavisnosti od intenziteta i dužine njihovog dejstva, kao i od osobina samih jedinki i evolutivne istorije populacije. Savremene populacije mnogih biljnih i životinjskih vrsta širom sveta suočene su sa drastičnim promenama u uslovima životne sredine koje nastaju kao rezultat svakodnevnih ljudskih aktivnosti (Pimms i sar., 2014). Glavnu brigu, i naučno i šire društveno, predstavljaju prisutne klimatske promene, koje izazivajući efekat staklene bašte i konstantno povećavanje prosečne temperature (Kerr, 2007; Moss i sar., 2010) ugrožavaju opstanak brojnih populacija i vrsta (Parmesan, 2006). Populacije se suočavaju i sa drugim ekološkim promenama u životnoj sredini, pre svega sa fragmentacijom staništa i narušavanjem prirodnih ekosistema (Bennett i Saunders, 2010), ali i sa sve većim stepenom zagađenjenja (Anderson i sar., 1994), i različitim biotičkim faktorima, poput patogena (Parker i Gilbert, 2004), i invazivnih vrsta, čije introdukcije menjaju obrasce kompeticije i predatorstva u određenom staništu (Mack i sar., 2000). Pored toga, i intenzivna izlovljavanja u značajnoj meri menjaju selekcionu pritisak i demografske karakteristike populacija (Allendorf i sar., 2008; Coltman, 2008).

Velike promene u spoljašnjoj sredini izazivaju stres, poremećaj funkcionisanja ili čak smrt organizama, ali i male promene mogu da umanje njihove fiziološke kapacitete (Hofmann i Todgham, 2010). Za svaki abiotički i biotički faktor postoji opseg unutar koga organizam može da preživi i da se reprodukuje. Za promene unutar tog opsega organizmi poseduju kapacitet za toleranciju na određeni faktor, i ako se granice tolerancije ne pređu, neće doći do štetnih posledica niti do fatalnog ishoda. Da bi ublažili posledice delovanja spoljašnje sredine i osigurali svoj opstanak, organizmi su razvili širok spektar strategija prilagođavanja novonastalim uslovima. To prilagođavanje u kratkom vremenskom roku odvija se prevashodno na nivou fenotipa, izbegavanjem nepovoljnih lokacija disperzijom i/ili prilagođavanjem kroz fenotipsku plastičnost, odnosno ekspresijom određene osobine u skladu sa lokalnim uslovima sredine. Dugoročni odgovor vodi adaptivno evolutivnim promenama na nivou

populacije, koje omogućavaju prilagođavanje na promenljive uslove izvan granica mogućih odgovora pripisanih fenotipskoj plastičnosti. Ukoliko organizmi ne mogu da odgovore niti jednim od ovih mehanizama, a izazov sredine je suviše jak, populacije postaju ugrožene, i u nepovoljnim sredinskim uslovima mogu i da iščeznu.

Disperzija

Disperzija, kretanje jedinki dalje od njihovih natalnih lokacija, često predstavlja prvu liniju odbrane kojom pokretne jedinke pokušavaju da izbegnu nepovoljne uslove sredine biranjem lokacije u kojoj je taj faktor u granicama tolerancije, čime populacija opstaje bez promene na nivou fenotipa ili genetičke strukture. Disperzija je ponašajni odgovor koji zavisi i od heterogenosti staništa i od disperzionih sposobnosti samih jedinki. Ona ima važne implikacije na više nivoa organizacije, utiče na preživljavanje, rast i razmnožavanje jedinki, a time i na sastav, strukturu i dinamiku populacija i zajednica. Šire gledajući, disperzija je bitna i za opstanak, evoluciju i geografsku rasprostranjenost vrsta. Povoljnije lokacije se potencijalno mogu nalaziti i na velikim udaljenostima, a rastojanja koje jedinke prelaze tokom disperzije značajno variraju između vrsta (Swingland, 1982) i predstavljaju osnovu populacione demografije i prostorne dinamike (Arcese, 1989; Clobert i sar., 2001), kolonizacije (Hengeveld, 1994) i protoka gena (Neigel i Avise, 1993; Ronce, 2007). Studije na fosilnim zapisima ukazuju da je pomeranje populacija najčešći način izbegavanja nepovoljnih uslova, pa je tako pokazano da je zajednička karakteristika u odgovoru na klimatske promene u Zemljinoj prošlosti i sadašnjosti, promena geografskih granica rasprostranjenja vrsta. Meta-analizom podataka za oko 2000 različitih vrsta, procenjeno je da su granice distribucije vrsta nedavno pomerene ka većim nadmorskim visinama u proseku za 11 metara po deceniji, i ka višim geografskim širinama srednjom stopom od 16,9 kilometara po deceniji (Chen i sar., 2011). Međutim, pojedine vrste se u velikoj meri razlikuju u svojim stopama promene distribucije areala, što ukazuje da opseg promena svake vrste zavisi i od ostalih ekoloških faktora, kao i od njihove osetljivosti na lokalne aspekte mikrosredinskih promena.

Važno je pomenuti da u mnogim slučajevima izbegavanje nepovoljnih uslova premeštanjem na povoljnije lokacije nije moguće zbog niske pokretljivosti i/ili ograničene stope disperzije samih jedinki, zbog ekoloških ograničenja kao što su hrana ili dostupnost skloništa, ili disperziju otežavaju i onemogućavaju geografske barijere i sve prisutnija fragmentacija staništa (Roncè, 2007; Matter, 2006). Iz tog razloga, sposobnost jedinki da se prilagode ili adaptiraju na lokalne uslove staništa, postaje od suštinskog značaja, bilo da je to prilagođavanje kroz fenotipsku plastičnost, što omogućava odgovor na promenu životne sredine u kratkom roku, ili kroz genetičku adaptaciju dugoročnim procesom (Gienapp i sar., 2008). Kod vrsta koje nemaju sposobnost ili mogućnost za disperziju, fenotipska plastičnost predstavlja prvi odgovor na sredinske promene (Bradshaw i Holzapfel, 2006; Fuller i sar. 2010).

Fenotipska plastičnost

Prostorno i vremensko variranje uslova sredine može dovesti do prilagođavanja *in situ* novim uslovima promenom fenotipa u istoj generaciji, na osnovu već postojeće genetičke varijabilnosti, bez promene genetičke strukture populacije. Ovakav odgovor na biotičku i abiotičku promenljivost sredine predstavlja fenotipsku plastičnost, koja se definiše kao “sposobnost pojedinačnih genotipova da daju različite fenotipove kada se nalaze u različitim sredinskim uslovima” (Bradshaw, 1965; Palmer, 1994; Falconer i Mackay, 1996; Pilgliucci i sar., 2006). Ove promene u fenotipu obuhvataju promene u ponašanju, u osobinama životne istorije i drugim kompleksnim osobinama, u koje su uključeni mnogi aspekti organizma na nižim nivoima organizacije, pa odgovor na promenjene uslove sredine obavezno uključuje promene u fiziologiji, biohemiji, morfologiji. U osnovi tih odgovora leže epigenetičke, hormonske, metaboličke promene, koje uključuju mogućnost modifikovanja razvojne putanje u odgovoru na specifične sredinske signale, kao i sposobnost organizma da menja svoje fenotipsko stanje ili aktivnosti u odgovoru na kratkoročne promene u spoljašnjoj sredini (Garland i Kelly, 2006). Stoga plastičnost obuhvata brojne vidove, koji se mogu podeliti u ireverzibilne oblike fenotipske plastičnosti, koji nastaju kao rezultat interakcije između određenog programa razvića (genotipa) i njegove životne sredine – razvojna plastičnost, i brze i reverzibilne promene organizama koje se mogu dešavati tokom čitavog života organizma.

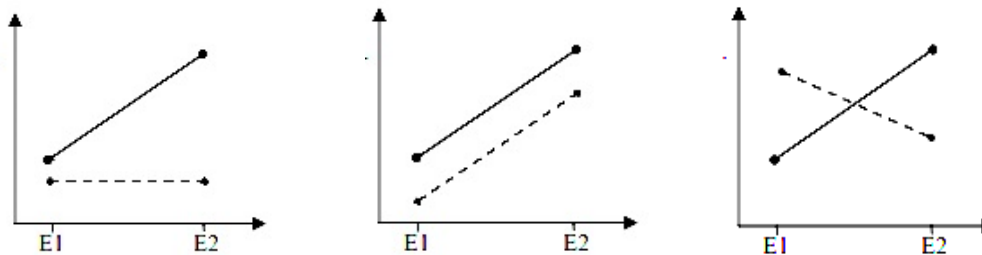
Primeri kratkoročne i reverzibilne fenotipske plastičnosti su na primer melanizacija (akumulacija melanina u ćelijama kože pri povećanom izlaganju UV zračenju), izmenjen metabolizam pri gladovanju ili fiziološka aklimatizacija u uslovima zagađenja. Fiziološka aklimatizacija predstavlja vid fenotipske plastičnosti, jer ona podrazumeva zbir prilagođavanja jedinke na određeni sredinski faktor koje prati ponovljeno i produženo izlaganje suboptimalnim uslovima, što povećava verovatnoću preživljavanja u uslovima stresa većeg intenziteta, što znači da ranija iskustva u pogledu delovanja nekog faktora mogu da modifikuju kasniji odgovor i toleranciju. Tako stečena tolerantnost nije nasledna, jer je to sposobnost genotipa da menja fenotip u skladu sa promenama uslova životne sredine. Sve ove promene su reverzibilne, ograničenog trajanja i na vremenskoj skali mogu biti u trajanju od nekoliko časova, dana ili meseci (kao što je na primer period mirovanja – dijapauze kod nekih vrsta).

Dugoročni, najčešće, ireverzibilni fenotipski plastični odgovori na promene u spoljašnjoj sredini odvijaju se tokom razvića, kada se integrišu različite informacije iz životne sredine kako bi se formirao veliki broj različitih fenotipskih oblika koje se bolje uklapaju sa konkretnim životnim uslovima u pogledu fitnesa. Kao takva razvojna plastičnost se razlikuje od razvojnog šuma koji je posledica slučajnih događaja tokom razvića i predstavlja fenotipsko variranje koje je nekorelisano sa bilo kojim sredinskim faktorom. Razvojna plastičnost se može definisati i kao promena razvojnih puteva jednog genotipa indukovana sredinskim efektima (Scheiner, 1993; Via, 1993), i predstavlja važan način održavanja fenotipskog diverziteta i značajan faktor za razviće organizma, njegovo funkcionisanje i evoluciju populacije u sredini koju nastanjuje.

Iako je razvojna plastičnost veoma bitna jer omogućava prilagođavanje, pa u krajnjem slučaju i preživljavanje organizama u izmenjenim uslovima sredine, organizmi ne mogu neograničeno da se prilagođavaju varijabilnim uslovima životne sredine. Oni poseduju brojne mehanizme koji učestvuju u održavanju stabilnosti sistema, tj. mehanizme fenotipske stabilnosti koji su im tokom evolucije omogućili da zadrže relativnu stabilnost procesa individualnog razvića uprkos određenim genetičkim i sredinskim promenama. Dva mehanizma koji smanjuju razvojnu varijabilnost su kanalisanje razvića i razvojna stabilnost, procesi koji podrazumevaju odvijanje razvića i zadržavanje stabilnosti fenotipa uprkos poremećajima, s tim što je izvor tih poremećaja različit. Razvojna stabilnost predstavlja stabilnost fenotipa uprkos slučajnim

odstupanjima koja uključuju male razlike između homologih delova unutar individue (Van Dongen i Lens, 2000), dok savremene definicije opisuju kanalisanje kao proces kojim se struktura ili organizam razvija ka ciljnom fenotipu u različitim genetičkim i sredinskim uslovima (Palmer, 1994), pa razlikujemo genetičko i sredinsko kanalisanje. To su procesi kojima se smanjuje osetljivost strukture ili organizma na alelsku varijaciju (npr. rekombinaciju, mutaciju, epistazu), i na sredinske promene (npr. temperaturu, ishranu). Bitna razlika između kanisanja i razvojne fenotipske plastičnosti se ogleda u tome da se kanisanje odnosi na jednu životnu sredinu u kojoj se organizam našao i u kojoj se dešava njegovo razviće, dok razvojna plastičnost predstavlja fenotipsku promenu uzrokovanu razlikama između dve ili više životnih sredina. Tako razvojna fenotipska plastičnost omogućava populaciji da se prilagodi promeljivim uslovima sredine i tako povećava varijansu između grupa jedinki koje stvaraju različite fenotipove u različitim sredinama. Kanisanje smanjuje unutargrupnu varijabilnost oko ciljnog fenotipa smanjujući osetljivost prema genetičkim i sredinskim promenama, dok razvojna stabilnost amortizuje slučajne poremećaje tokom razvića.

Opseg fenotipske varijabilnosti određenog genotipa u različitim uslovima sredine predstavlja se normom reakcije. Ovaj pojam je uveo 1909. Woltereck, i prema savremenoj definiciji predstavlja ukupnost fenotipova koje može da ostvari jedan genotip pod različitim uslovima životne sredine (Sultan, 1987; Sarkar, 1999), dok veličina fenotipske promene neke osobine, koja je nastala u različitim sredinama, predstavlja meru plastičnosti te osobine u konkretnim životnim uslovima (Bradshaw, 1965). Norme reakcija različitih genotipova omogućavaju procenu fenotipske plastičnosti u eksperimentima u kojima se članovi srodničkih grupa razvijaju u dve ili više različitih životnih sredina. U slučaju kada se fenotipski odgovori različitih genotipova razlikuju njihove norme reakcije se ukrštaju, i u datoj populaciji postoji genetička varijabilnost fenotipske plastičnosti, a time i potencijal za njenu evolucionu promenu. Ukrštanje normi reakcija različitih genotipova je pokazatelj interakcije genotipa i sredine ($G \times E$). Ukoliko su norme reakcije različitih genotipova paralelne, odnosno analizirani genotipovi pokazuju isti pravac i opseg fenotipske promene, odgovori genotipova na sredinska variranja su identični i najverovatnije su elementi regulacije fenotipskog odgovora na sredinske uslove isti kod različitih genotipova. Opisani primeri odnosa normi reakcija dva različita genotipa su prikazani na *Slici 1.1*.



Slika 1.1. Dijagrami normi reakcija. Na y-osi su predstavljene odgovarajuće srednje vrednosti analizirane fenotipske osobine, dok su na x-osi predstavljene dve različite životne sredine (E1 i E2). Svaka linija predstavlja pojedinačni genotip, i povezuje vrednost osobine u jednoj sredini sa vrednošću te osobine u drugoj sredini, ukazujući na fenotip koji genotip daje u različitim sredinama.

Fenotipski plastični odgovor omogućava organizmu da postigne kontinuirane performanse u većem spektru ekoloških uslova nego što bi inače mogli. Međutim, nije svaka fenotipska plastičnost adaptivna, već specifičnost staništa, pored toga što indukuje određeni plastični odgovor, određuje i da li je formirani fenotip adaptivan ili neadaptivan (Gotthard i Nylin, 1995; Grether, 2005). Tako ubrzavanje razvića u nepovoljnim uslovima može biti adaptivno, neadaptivno, ili čak i štetno, što zavisi od karakteristika populacije i životnog staništa. Sa druge strane, u uslovima smanjenih resursa u staništu dolazi do smanjenja telesne mase, što nije adaptivni, već neizbežni odgovor na uslove životne sredine koji često vodi ka manjem ulaganju u reprodukciju.

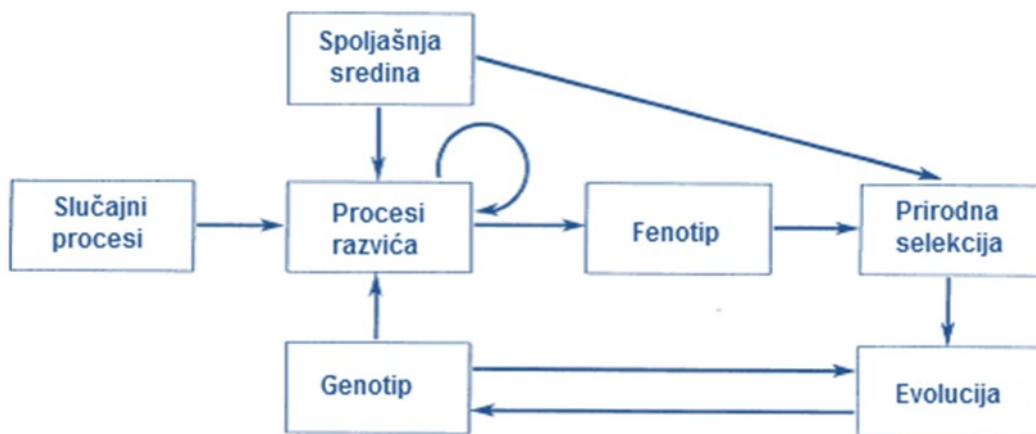
Većina jedinki ima kapacitet da odgovori na promene u lokalnim uslovima sredine preko fenotipskih promena, ali ukoliko fenotipske promene (morfologije, fiziologije ili ponašanja) najvećim delom odražavaju plastičnost, odgovori na kontinuirane promene životne sredine će biti ograničeni (Gienapp i sar., 2008). Međutim, plastičnost može da obezbedi početni, brz adaptabilni odgovor na promene životne sredine koji onda može olakšati genetičku adaptaciju pružajući dodatno vreme za genetičko adaptiranje putem pojave novih mutacija i/ili rekombinacija, ili olakšavajući evoluciju novih, korisnih, obrazaca aktivnosti u regulatornim genskim putevima (West-Eberhard, 1989; Espinosa-Soto i sar., 2011).

Iako adaptivna fenotipska plastičnost predstavlja složen i efikasan mehanizam usaglašavanja organizma sa variranjem životne sredine (Nylín i Gotthard, 1998), sposobnost organizama da plastično odgovori na variranja sredine može biti veoma „skupa“, jer odgovor plastičnog genotipa na uslove životne sredine zahteva uključivanje većeg broja elemenata u molekularne, biohemijske, fiziološke i razvojne puteve, pa i veći utrošak materije, energije i vremena koji su mogli biti usmereni u druge somatske procese, kao što su rast, sazrevanje i reprodukcija. Cena plastičnosti se manifestuje kroz smanjenje adaptivne vrednosti plastičnog genotipa, pa ukoliko su uslovi životne sredine stabilni, očekuje se da će genotipovi sa efikasnije kanalisanim razvićem ka fenotipu (koji je optimalan za takve uslove) imati veću adaptivnu vrednost od plastičnih genotipova sa visokom adaptivnom cenom. Pošto plastičnost ima ograničenja i troškove, održivost populacije u promenjenim uslovima životne sredine često zahteva i evolucionu promenu tokom dugoročne, genetičke promene kroz procese adaptacije.

Genetička adaptacija

Proces oblikovanja genetičkih adaptacija na konkretna životna staništa odvija se mehanizmom prirodne selekcije koja deluje preko fenotipskih razlika u adaptivnoj vrednosti jedinki u populaciji. Fenotipske razlike leže u osnovi genetičkih adaptacija na sredinske uslove, jer selekcija ne “prepoznaje“ gene, već fenotipske osobine koje su rezultat interakcije genotipa i sredine. Posledice delovanja selekcije su promene u nivou genetičke varijabilnosti u genofondu populacije. Favorizovanjem neke osobine koja daje prednost u preživljavanju i/ili reprodukciji nosilaca, prirodna selekcija je održava u populaciji i povećava učestalost date osobine, što dovodi do promene učestalosti određenih alela u populaciji i do promene genetičke strukture populacije tokom generacija. Može se reći da prirodna selekcija deluje kada su ispunjena tri uslova: prisustva fenotipske varijabilnosti u populaciji, postojanja razlika u preživljavanju i/ili reprodukciji tih različitih genotipova, tj. u njihovom fitnessu, i nasleđivanja te fenotipske varijabilnosti (Lewontin, 1970).

Prisustvo fenotipske varijabilnosti u prirodi, koja se oblikuje dejstvom selekcije, je nužan i neizbežan uslov za evoluciju. Životna sredina utiče na formiranje fenotipa, ali ona utiče u velikoj meri i na šanse za opstanak i reprodukciju različitih fenotipova u populaciji. Ovim se ističe dvostruka uloga životne sredine u evolucionim procesima: spoljašnja sredina utiče na formiranje fenotipa kroz interakciju sa genotipom u procesu razvića, pa je važan kreator varijabilnosti, ali i ustanovljava specifični odnos između fenotipa i adaptivne vrednosti jedinke, kroz interakcije sa abiotičkim i biotičkim uslovima sredine (*Slika 1.2.*).



Slika 1.2. Shematski prikaz odnosa između razvića, genotipa, životne sredine i evolucije, faktora koji su uključeni u formiranje fenotipa i njihove uloge u pravcima delovanja prirodne selekcije, odnosno evolutivnih promena u populaciji (preuzeto iz Scheiner, 1993)

Genotipovi koji su fenotipski prilagođeni novim uslovima sredine najčešće već postoje u populaciji, ili se pojavljuju u populaciji tokom rekombinacije gena u narednoj generaciji, a u ređim slučajevima se pojavljuju i putem naslednih mutacija. Bez obzira na poreklo, određeni genotipovi se favorizuju ukoliko imaju funkcionalno odgovarajuće osobine u promenjenoj životnoj sredini. Adaptacije u okviru postojeće genetičke varijabilnosti u populaciji mogu se odigravati brže u onom stepenu u kome genetička varijabilnost sadrži genotipske kombinacije koje daju povoljan fenotipski odgovor na

nove uslove, s obzirom da su odgovarajuće osobine već prisutne u populaciji i sa višom učestalošću nego što bi stopa mutacija mogla da ih uvede u populaciju. Međutim, odgovarajuća genetička varijanta nije uvek prisutna, pa su u takvim populacijama mutacije neophodne za uspešan genetički odgovor na promene u okruženju. Adaptivno povoljne mutacije se ne javljaju često u vremenskom okviru nepromenljive sredine. Prema neutralnoj teoriji molekularne evolucije one su izuzetno retke, a većina novonastalih mutacija je štetna ili neutralna, recesivna i sa malim fenotipskim efektom (Kimura, 1983; Eyre-Walker i Keightley, 2007). Time se redukuje prosečna adaptivna vrednost jedinki sa mutacijama, i to predstavlja mutaciono opterećenje populacije (Haldane, 1937; Muller, 1950). Brojni eksperimentalni podaci prikupljeni na *Drosophila* pokazuju da faktori spoljašnje sredine, kao što su zagađenja, povećanje temperature, insekticidi, teški metali, zračenja, povećavaju stopu mutacija (Guzmán-Rincón i sar., 2001; Karasov i sar., 2010), kao i stopu rekombinacija (Zhuchenko i sar., 1985). Proučavanje stresom izazvane mutageneze, pokazuju da pod uticajem nepovoljnih sredinskih uslova dolazi do povećanja stope mutacija kod laboratorijskih sojeva i prirodnih populacija bakterija (Bjedov i sar., 2003; Foster, 2007; Rosenberg i sar., 2012; Al Mamun i sar., 2012; Maharjan i Ferenci, 2015), kvasca (Heidenreich, 2007; Rodriguez i sar., 2012; Shor i sar., 2013), nematoda (Matsuba i sar., 2013), *Drosophila* (Sharp i Agrawal, 2012), humanih ćelija kancera (Bindra i sar., 2007; Bristow i Hill, 2008), i u biljnom model-organizmu *Arabidopsis thaliana* (Jiang i sar., 2014). Teorijski rezultati podržavaju pretpostavku da stresom izazvane mutacije predstavljaju sirovi materijal za selekciju i da podstiču brzu adaptaciju na složene ekološke izazove bez ugrožavanja adaptivne vrednosti populacije u stabilnom okruženju (Ram i Hadany, 2014). Opsežna studija na *D. melanogaster* na osnovu brojnih dokaza divergencije sekvenci i polimorfizma regiona sa različitim rekombinacionim stopama, sugerise da su rekombinacione stope pozitivno povezane sa povećanjem efikasnosti i pozitivne i prečišćavajuće (eng. *purging, purifying*) selekcije, čime se podržava stav da genske rekombinacije povezane sa polnim razmnožavanjem povećavaju uspešnost prirodne selekcije (Campos i sar., 2014).

Odgovor na antropogene uticaje u sredini putem genetičke adaptacije zahteva nekoliko generacija, ali verovatno jeste i najbolji mehanizam prilagođavanja jer se na ovaj način za odgovarajuću osobinu ne ulaže dodatni “trošak”, za razliku od osobina

formiranih kroz fenotipsku plastičnost, kao i zbog ograničenog kapaciteta za plastičnost mnogih vrsta (Stillman, 2003; DeVitt i sar., 1998). Ipak, prisustvo antropogenih faktora koji menjaju uslove u sredini može znatno smanjiti genetičku varijabilnost konkretne populacije. Primeri smanjenja genetičke varijabilnosti usled zagađenja su dokumentovani u populacijama *Ameiurus nebulosus*, (Silbiger i sar., 2001), *Heterandria formosa* (Athrey i sar., 2007), *Chironomus riparius* (Nowak i sar., 2009), i kod *Drosophila subobscura* pri uticaju viših temperaturnih vrednosti (Santos i sar., 2005), ali su zabeleženi i slučajevi kada se odigrala brza evolutivna promena bez gubitka varijabilnosti kao u slučaju izlaganja jedinki *D. melanogaster* parazitoidima (Jalvingh i sar., 2014). Osim gubitka genetičke varijabilnosti, povećani selekcionni pritisak može da dovede i do ukršanja u srodstvu, a time i inbriding depresije (Charlesworth i Charlesworth, 1987; Kristensen i sar., 2003). Stoga, cenu prirodne selekcije u uslovima izraženog antropogenog uticaja za populaciju čine inbriding depresija i smanjenje genetičke varijabilnosti populacije, što posledično smanjuje sposobnost populacije da odgovori na druge sredinske promene koje nisu u okviru antropogenog uticaja (Meyer i Di Giulio, 2003; Vogt i sar., 2010; Pauls i sar., 2013).

Izlaganje antropogenim zagađenjima i promenama u spoljašnjoj sredini često može da dovede, zbog većih selekcionih pritiska, i do promene u brzini evolucije. Tradicionalno je mišljenje da je za evolucionni odgovor potrebno da prođe veliki broj generacija, međutim skoro je utvrđeno da se evolucija može odigrati i u mnogo kraćim vremenskim skalama. Adaptivni evolucionni događaji nastali tokom relativno kratkog vremenskog perioda generalno se označavaju sa „savremena“ ili „brza“ evolucija (Hendry i Kinnison, 1999). Jedan od značajnijih primera brze evolucije dolazi sa malog Galapagoskog ostrva Dafne Major, gde su jedinke zebe *Geospiza fortis* prošle nekoliko selekcionih događaja, i pokazale znake adaptivne evolucije u samo jednoj generaciji (Boag i Grant, 1981, 1984; Grant i Grant, 1995, 2003). Interesovanje za ovu oblast je znatno poraslo, posebno u poslednjoj deceniji sa nedavnim saznanjem da se većina dokumentovanih primera brze evolucije pripisuje, barem nekim delom, antropogenom uticaju u životnoj sredini, i upravo se evolucionni odgovori smatraju suštinskim za opstanak populacije usled dugotrajnih ekoloških promena (Lande i Shannon, 1996).

Adaptacija ima veoma bitnu ulogu i u definisanju stepena diferencijacije između populacija, pošto proces adaptacije može dovesti do populacione divergencije zbog evolucije u različitim sredinama, a u nekom trenutku i do nastanka novih vrsta. Međutim, ona takođe može da dovede do konvergencije i kada se različite populacije nađu u istom okruženju i prođu slične selektivne pritiske tokom više generacija. Tako je pri istraživanju evolucione dinamike populacija *Drosophila subobscura* pokazano da se populacije prilagođavaju, adaptiraju na novu sredinu, ali i da postoje i jasne razlike u njihovim evolucionim stopama (Matos i sar., 2000, 2002; Simões i sar., 2007, 2008; Santos i sar., 2010). Pored toga, autori su takođe utvrdili i naznake konvergencije između populacija, ukazujući da genetičke pozadine utiču na adaptivni odgovor. Specifična genetička pozadina može da dovede do različitih ishoda (Cohan, 1984 a, b; Cohan i Hoffmann, 1989), uključujući i nemogućnost da se populacije prilagode novim uslovima, što može biti važno i u smislu očuvanja biodiverziteta i konzervacione genetike. Proces genetičke adaptacije je često od suštinskog značaja za dugoročni opstanak vrsta, pored postojanja genetičke varijabilnosti populacije, pošto se većim brojem različitih genotipova koji predstavljaju različite morfološke i fiziološke fenotipove, omogućava stalna reprodukcija i opstanak u okruženju, čime je vrsta u skladu sa trenutnim okruženjem, ali poseduje i genetičku varijabilnost neophodnu za prirodnu selekciju i prilagođavanje na promenljive uslove. Kada se suoče sa promenama parametara sredine u kojoj žive, diferencirane vrste mogu posedovati i različitu evolucionu dinamiku, odnosno mogu da se razlikuju u adaptivnom potencijalu (npr. England i sar., 2003; Reed i sar., 2003). Ovo je od posebne važnosti pošto antropogena aktivnost uvodi dodatne selektivne pritiske u prirodne ekosisteme čime se otvara mogućnost različitih ishoda za populacije diferenciranih vrsta.

Iako su adaptivni procesi u evoluciji dobro dokumentovani i jasno pokazani činjenicom da su se mnogi organizmi veoma brzo prilagodili antropogenim promenama u životnoj sredini, proces adaptacije na zagađenje antropogenog porekla može biti i neuspešan, što dovodi do ugrožavanja opstanaka populacije i njenog mogućeg nestanka (Guillemaud i sar., 1998; Hoffmann i Hercus, 2000; Reznick i Ghalambor, 2001; Sanen i sar., 2003; Smith i Bernatchez, 2008; Hendry i sar., 2011; Pomati. i Nizzetto, 2013; Bouétard i sar., 2014).

Komponente adaptivne vrednosti kao indikatori promene sredinskih uslova

Konačan rezultat svih razvojnih i fizioloških procesa koji su se realizovali kod jedinki određenog genotipa u okolnostima životne sredine koju nastanjuju, predstavlja adaptivnu vrednost (fitnes) tog genotipa. To je složena karakteristika koja predstavlja meru populaciono-evolucionog uspeha određenog genotipa, a ispoljava se preko performansi fenotipa koje nazivamo komponentama adaptivne vrednosti. Osnovne komponente adaptivne vrednosti su vijabilitet i fekunditet, ali i brojne druge karakteristike su na posredan ili neposredan način povezane sa fitnesom. Osobine koje su najbliže povezane sa vijabilitetom i/ili reprodukcijom su: veličina tela pri rođenju; trajanje prereproduktivne faze - dužina i obrasci razvića, uzrast i veličina tela u trenutku reproduktivnog sazrevanja; trajanje reproduktivne faze; komponente vijabiliteta - preadultni i adultni vijabilitet, dugovečnost, tj. dužina života; i komponente fekunditeta - rani, kasni i ukupni fekunditet, veličina potomaka i odnos polova potomaka (Stearns, 1992). Adaptivna vrednost je svojstvo organizama, i preko nje se izražavaju sve interakcije organizama i njihovih životnih sredina. Uočene i merljive razlike između jedinki iste genetičke konstitucije u različitim sredinama u nizu komponenti adaptivne vrednosti predstavljaju u tom slučaju manji ili veći odraz varijabilnosti koja potiče od sredinskih faktora, a ne od genetičkih.

Sredinski uslovi ne utiču samo na jednu ili više izolovanih osobina, već mogu uticati tokom razvića i na balans raspodele ograničenih resursa za više osobina životne istorije. Međusobna ograničenja (eng. *trade-off*) zbog limitiranih resursa predstavljaju opštu prepreku za evoluciju osobina životne istorije, jer da bi genotipovi ulagali znatna sredstva u jednu osobinu ili aktivnost moraju smanjiti svoja ulaganja u druge osobine (Reznick i sar., 2000; Roff, 2002; Sgro i Hoffmann, 2004; Flatt i Heyland, 2011). Slično, ulaganje u resurse u jednoj fazi razvića može predstavljati ograničenje za druge faze. Tako na primer, *trade-off* može da se javi između ulaganja u juvenilni rast i adultni fekunditet. Međusobna ograničenja su obično opisana negativnim fenotipskim ili genetičkim korelacijama između dve ili više fitnes komponenti među jedinkama u populaciji. Genetička korelacija postoji u slučaju da su osobine određene istim skupom gena, pa selekcija jedne osobine rezultira odgovarajućom promenom u drugoj, a na genetičkom nivou ova međusobna ograničenja su posledica alela sa antagonističkim

plejotropnim efektima ili neravnoteže vezanosti (eng. *linkage disequilibrium*) između lokusa. Široko je prihvaćeno da je većina adaptacija povezana sa ograničenjima, a na nivou populacije je očekivano da će ograničenja prouzrokovati negativne genetičke korelacije i kovarijanse među osobinama koje su povezane sa adaptivnom vrednošću, i koje su uključene u *trade-off*, mada neke situacije i neke osobine izazvaju i pozitivne korelacije. Tako je za Sevenster i van Alphen (1993) model životne istorije od suštinske važnosti pozitivna korelacija između dužine preadultnog razvića i otpornosti na gladovanje. Neki od najboljih dokaza za genetičku osnovu međusobnih ograničenja su dobijeni na *Drosophila*, veštačkom selekcijom i eksperimentalnom evolucijom (Flatt i Schmidt, 2009; Flatt, 2011). U mnogim studijama su utvrđene negativne korelacije između ranog fekunditeta i dužine života adulta, kao i između ranog i kasnog fekunditeta, dok su pozitivne korelacije uočene između dužine razvića i veličine tela, kao i između dužine razvića ili veličine tela, i ranog fekunditeta (npr. Reznick, 1985; Partridge i sar., 1987; Stearns, 1989; Sgro i Partridge, 1999; Roff, 2002; Partridge i sar., 2005). Ove genetičke korelacije mogu otežati adaptaciju na nove uslove sredine kada je selekcija jedne osobine u suprotnosti sa selekcijom za druge osobine. Stoga je za razumevanje obrazaca u adaptaciji važno znati pravac i veličinu tih korelacija.

Eksperimentalna evolucija pruža mnoštvo dokaza za široko rasprostranjenje prisustva preraspodele resursa i uzajamnih ograničenja, kao i uvid u njihove mehanizme održavanja u specifičnim slučajevima (npr. Fry, 2003; Roff i Fairbairn, 2007, 2012; Kellermann i sar., 2013). Neka ograničenja, uočena kod mnogih životinjskih vrsta, su prilično dobro proučena, kao što je slučaj sa reproduktivnim ulaganjem koji se ogleda u vidu slabijeg preživljavanja ili smanjenog somatskog rasta, i buduće reprodukcije (npr. Lenski, 1988; Snow i Whigham, 1989; Tessier i sar., 2000; Shefferson i sar., 2003; Kraus i sar., 2013; Haeler i sar., 2014). Reproduktivno ulaganje predstavlja opšte ograničenje u evoluciji životne istorije. Evolucionarna teorija ukazuje da fekunditet treba da bude optimizovan u odnosu na ostale osobine uzajamnim ograničavanjem, kako bi se omogućila buduća reprodukcija i samim tim, postigao optimalni fitness. Primer uzajamnog ograničenja je i selekcija na *Drosophila melanogaster* za odloženo, kasnije starenje i produženi životni vek, čija je cena slabiji rani fekunditet (Rose, 1984), a rezultati ovog i nekoliko sličnih eksperimenata su od ključnog značaja u širem prihvatanju evolutivnih objašnjenja starenja.

Mnogobrojne informacije o genetičkoj osnovi složenih osobina kao što su komponente adaptivne vrednosti, kao i o obrascima genetičke divergencije u određenim sredinama dobijene su na jedinkama različitih vrsta roda *Drosophila*. Evolucionari odgovori organizama u pogledu komponenti adaptivne vrednosti su očekivani u slučaju bilo kog faktora životne sredine sa intenzitetom koji je izvan granica tolerancije organizma, i koji specifično deluje na osobine adaptivne vrednosti, kao što su trajanje razvića, stepen preživljavanja ili reprodukcija (Michod, 1979; Stearns, 1992). Studije o uticaju sredinskih faktora na adaptivnu vrednost mogu pružiti i uvid u mehanizam kojim selekcija produkuje evolucionu divergenciju unutar populacija *Drosophila*, ali i šire, u kontekstu drugih vrsta.

Preko adaptivne vrednosti definišu se i nepovoljni sredinski uslovi kao oni koji dovode do oštre redukcije adaptivne vrednosti populacija tj. koji utiču na drastičnu redukciju reprodukcije i preživljavanja, a takvi sredinski uslovi se mogu označiti i kao stresni (Sibly i Calow, 1989; Koehn i Bayne, 1989). Opadanje prosečne adaptivne vrednosti može da vodi daljoj redukciji u brojnosti ka nivoima koji su ispod održivog, što populaciju dalje vodi ka izumiranju. Dužina trajanja tih uslova dovodi i do nepovratnog oštećenja populacije (Hoffmann i Hercus, 2000).

Veličina i oblik krila *Drosophila* kao indikatori promene sredinskih uslova

Krila *Drosophila* predstavljaju proveren i često korišćen fenotipski model za genetičke i evolucione analize veličine i oblika, jer je oblik krila evoluciono stabilan, a sama krila su u suštini dvodimenzionalne strukture koje se relativno lako i brzo mere.

Razviće krila različitih vrsta iz roda *Drosophila* je dobro proučeno, a položaj vena na krilima je visoko konzervativna osobina (Houle i sar., 2003; Blair, 2007). Razviće krila kod *Drosophila* počinje u ranom larvalnom stadijumu u ćelijama imaginalnog diska krila, nastavlja se tokom stadijuma lutke i traje sve do finalnih modifikacija odmah nakon izleganja adulta (Johnson i Milner, 1987; de Celis, 2003; Kiger i sar., 2007). Rastući imaginalni disk krila nastaje kao mozaik od centara proliferujućih ćelija, smeštenih u anteriornom, posteriornom, dorzalnom i ventralnom delu krila, kao glavnim delovima krila (Gonzales-Gaitan i sar., 1994). Ovi centri proliferacija su ograničeni pozicijom primordijalnih vena na oblasti koje će dati međuvenske regione na krilu odraslih jedinki. Pozicija primordijalnih vena je regulisana ekspresijom provenskih gena u okolnim ćelijama imaginalnog diska, mada je regulacija odnosa između gena eksprimiranih u primordijalnim venama i međuvenskim oblastima nepoznata (Lecuit i sar., 1996; Nellen i sar., 1996; Bier, 2000). Pretpostavlja se da bi u slučaju postojanja adekvatne genetičke varijabilnosti gena uključenih u formiranje vena, to bio jedan od puteva kojim bi se modulirala relativna veličina i položaj delova krila, a posledica toga bi bila promena u veličini i/ili obliku krila. Konačni oblik i veličina krila *Drosophila* su rezultat tesne koordinacije između ćelijske proliferacije, apoptoze, raspodele ćelija, i mitotičke orijentacije (de Celis, 2003; Palsson i Gibson, 2004; Baena-López i sar., 2005; Dworkin i sar., 2005; Dworkin i Gibson, 2006). Promena obrasca rasta krila je izgleda veoma ograničena (Guerra i sar., 1997; Pezzoli i sar., 1997; Moreto i sar., 1998; Klingenberg i Zaklan, 2000), što bi moglo da bude posledica homeostatske organizacije genetičkog sistema ili nefleksibilnosti razvojnog puta. Nefleksibilnost u razvojnim putevima može biti rezultat prirodne selekcije i može da dovede do visoke kanalisiranosti veličine i oblika krila, jer je funkcija krila usko povezana sa preživljavanjem, a samim tim i sa fitnessom (Gilchrist i sar., 2000).

Poznato je da su neke komponente oblika krila *Drosophila* regulisane u velikoj meri nezavisno od veličine krila (Weber i sar., 1999, 2001; Zimmerman i sar., 2000; Gilchrist i Partridge, 2001; Carreira i sar., 2011), što ukazuje na to da postoji znatna

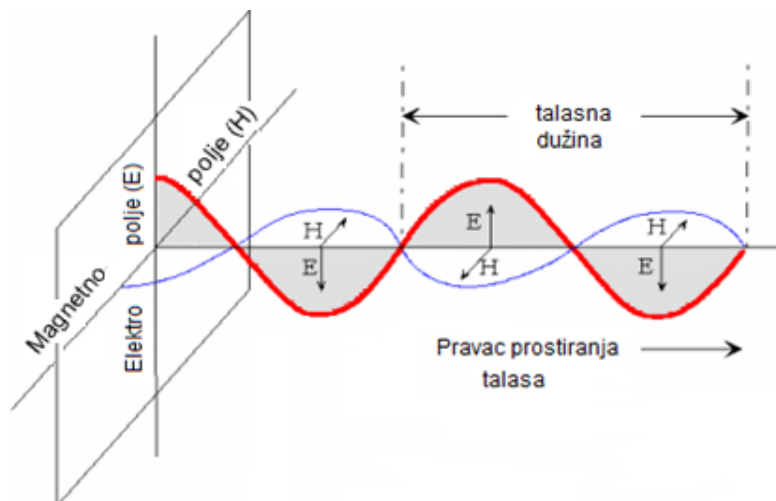
aditivna genetička varijansa za veličinu i oblik krila u populacijama *Drosophila*, uprkos razvojnim ograničenjima u formiranju krila. Veličina krila ima niže vrednosti za heritabilnost u odnosu na vrednosti za heritabilnost oblika krila, što implicira da je u slučaju veličine krila učešće genetičke varijanse u celokupnoj fenotipskoj varijansi takođe malo, a uticaj faktora spoljašnje sredine koji se ispoljava delovanjem direkcione selekcije velik (Bitner-Mathé i Klaczko, 1999; Moraes i sar., 2004; Breuker i sar., 2006). Nasuprot veličini krila, varijabilnost oblika krila je visoko heritabilna, a time i manje podložna promenama faktora spoljašnje sredine, što potvrđuje i odsustvo klinalne distribucije oblika krila u populacijama vrsta *Drosophila* (Weber i sar., 1999, 2001; Gilchrist i Partridge, 2001; Santos i sar., 2004). Identifikovan je veliki broj genskih lokusa, oko 150 u genomu *D. melanogaster* (Márquez i sar., 2013) koji imaju značajan i uglavnom aditivni efekat u determinaciji oblika krila, kao i manji plejotropni efekat na fitnes (Weber i sar., 1999, 2001; Zimmerman i sar., 2000; Carreira i sar., 2011). Smatra se da ovi geni nisu u vezi sa genima koji determinišu veličinu krila, ali da pored ispoljavanja plejotropnog dejstva stupaju u epistatičke interakcije sa genima odgovornim za razvoj vena na krilima (Bitner-Mathé i Klaczko, 1999; Birdsall i sar., 2000; Dworkin i Gibson, 2006).

Veličina krila je pozitivno korelisana sa veličinom tela u celini (Robertson i Reeve, 1952; Robertson, 1959; Misra i Reeve, 1964; Wilkinson i sar., 1990; Partridge i sar., 1994, 1999; Huey i sar., 2000; Calboli i sar., 2003; David i sar., 2005, 2006), i kao takva je povezana sa brojnim fitnes komponentama (Reeve i sar., 2000; Trotta i sar., 2007). Oblik krila se može povezati sa sposobnošću letenja, pa i oblik krila može takođe imati uticaja na fitnes (Cavicchi i sar., 1991; Köliker-Ott i sar., 2003). Oblik krila je odgovoran i za stvaranje zvuka, specifičnih signala karakterističnih za vrste za prepoznavanje i komunikaciju jedinki, posebno bitnih u ritualima parenja (Birdsall i sar., 2000). Zbog toga se smatra da je održavanje i distribucija fenotipova po obliku krila rezultat balansa između seksualne i ostalih vidova prirodne selekcije, ali da i uticaj genetičkog drifta nije zanemarljiv (Gilchrist i sar., 2000; Santos i sar., 2004). Iako je kod većine vrsta roda *Drosophila* utvrđena pozitivna korelacija veličine krila (ili tela) i uspešnosti u parenju, kod vrste *Drosophila subobscura* krila ne predstavljaju osobinu koja je pod dejstvom seksualno selekcije (Monclus i Prevosti, 1971; Steele, 1986; Steele i Partridge, 1988).

Istraživanja geometrijsko-morfometrijskih komponenti krila imaju značaja i u proučavanju adaptivnih procesa u evoluciji različitih vrsta roda *Drosophila* (Trotta i sar., 2007, 2011; Soto i sar., 2008; McGuigan i Blows, 2013), kao i kod vrste *Drosophila subobscura* (Huey i sar., 2000; Gilchrist i Huey, 2004; Santos i sar., 2004, 2005; Kurbalija Novičić i sar., 2012). Tako je pokazano da adaptacija na laboratorijske uslove (Cavicchi i sar., 1985, 1991; Weber, 1990; Santos i sar., 2004, 2005), prirodna selekcija (Bitner-Mathe i sar., 1995; Bitner-Mathe i Klaczko, 1999; Gilchrist i sar., 2000), i veštačka selekcija (Weber, 1990, 1992; Guerra i sar., 1997) mogu da dovedu do promena u veličini i obliku krila. Brz morfološki odgovor u veličini krila uočen je kod *D. subobscura* introdukovane iz Evrope u Severnu Ameriku, već nakon dve decenije posle introdukcije (Huey i sar., 2000). Stopa uočene morfološke evolucije je veoma visoka, čak i u odnosu na stope izmerene u lokalnim populacijama. Formirane geografske kline u Severnoj Americi ponavljaju klinalne obrasce prisutne kod predačkih populacija u Evropi, gde se sa porastom geografske širine povećava i dužina krila, ali su ove promene postignute produženjem različitih delova krila. Tako je pokazano da je brza morfološka evolucija klinalne varijacije za veličinu krila postignuta kroz analogne, a ne homologne promene u relativnoj dužini različitih sekcija krila (Gilchrist i sar., 2000; Gilchrist i Huey, 2004). Pobrajani rezultati pokazuju da promene srednjih vrednosti, varijansi i razvojne varijabilnosti krila *Drosophila* predstavljaju dobar model za istraživanje uticaja različitih sredinskih faktora na razvojne puteve morfologije krila tokom procesa razvića.

Elektromagnetna polja - osnovne karakteristike i izvori

Život na Zemlji odvija se u uslovima neprekidnog prisustva elektromagnetnih polja, a izvori ovih polja mogu biti različiti i brojni, jer se elektromagnetna polja javljaju kao prirodne pojave i kao posledica ljudske delatnosti. Bez obzira na njihovo poreklo, izvori svih EMP su elementarne naelektrisane čestice, protoni i elektroni. Oko naelektrisanih čestica koje miruju nastaju električna polja, a oko tih čestica kada se kreću stvaraju se magnetna polja. Oscilovanje naelektrisanja u nekom izvoru izaziva u okolnom prostoru ritmičnu promenu magnetnog i električnog polja, jer naelektrisanja koja se kreću u prostoru stvaraju oko sebe vremenski promenljivo električno polje koje je uvek praćeno i vremenski promenljivim magnetnim poljem (Faradejev zakon elektromagnetne indukcije), a važi i obrnuto (Maksvelova opšta teorija elektromagnetnog polja). Shodno tome, vremenski promenljivo električno i magnetno polje uvek postoje jednovremeno i predstavljaju jedinstveno elektromagnetno polje, čije se kretanje naziva elektromagnetni talas. Ove dve komponente elektromagnetnog talasa osciluju u fazi normalno jedna na drugu i upravno na pravac prostiranja energije (*Slika 1.3.*).



Slika 1.3. Prostiranje elektromagnetnog talasa

Osnovne veličine koje definišu EMP i njihove međunarodne (SI) jedinice su prikazane u Tabeli 1.1., i to su: magnetna indukcija, tj. gustina magnetnog fluksa \mathbf{B} , intenzitet (jačina) magnetnog polja \mathbf{H} , magnetni fluks Φ i magnetna permeabilnost, tj. magnetno svojstvo materijala μ . Magnetna permeabilnost je određena svojstvima sredine i za većinu bioloških materijala približno je jednaka vrednosti magnetne permeabilnosti vakuuma (μ_0): $\mu_0 = 4 \times \pi \times 10^{-7} (H/m)$.

Tabela 1.1. Veličine koje opisuju EMP i njihove jedinice po međunarodnom sistemu (SI) jedinica

Veličina	Oznaka	SI jedinica	Simbol
Intenzitet električnog polja	E	Volt/metar	V/m
Intenzitet magnetnog polja	H	Amper/metar	A/m
Magnetna indukcija (gustina magnetnog fluksa)	B	Tesla *	T
Magnetni fluks	Φ	Veber	Wb
Frekvencija	ν	Herc	Hz
Magnetna permeabilnost	μ	Henri/metar	H/m
Dielektrična konstanta	ϵ	Faradej/metar	F/m
Magnetna permeabilnost vakuma	μ_0	$\mu_0 = 12,57 \times 10^{-12}$	
Dielektrična konstanta u vakumu	ϵ_0	$\epsilon_0 = 8,854 \times 10^{-12}$	

* u literaturi se često može naći i jedinica Gauss: $1 \text{ G} = 10^{-4} \text{ T}$, odnosno $1 \text{ G} = 100 \mu\text{T}$

Međusobni odnosi ovih veličina su dati u relacijama:

$$\mathbf{B} = \mu \mathbf{H}$$

$$i \quad \Phi = S \mathbf{B}$$

gde je za većinu biološkog materijala $\mu = \mu_0$.

Brzina prostiranja elektromagnetnog talasa i njegova frekvencija su povezane sledećom relacijom:

$$\nu = c / \lambda$$

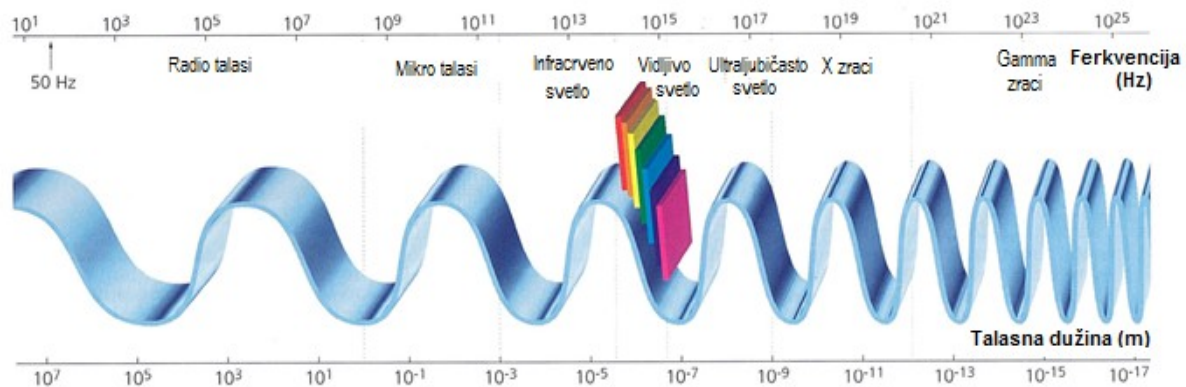
pri čemu je:

- ν - frekvencija variranja električnog i magnetnog polja, a definiše se kao broj promena u jedinici vremena, odnosno kao broj punih talasa u sekundi, sa jedinicom Herc (Hz);
- c - brzina svetlosti, $c = 3 \times 10^8 \text{ m/s}$
- λ - talasna dužina elektromagnetnog talasa, tj. najkraće rastojanje između dve tačke koje su u istoj fazi oscilovanja dva uzastopna talasa.

Talasna dužina elektromagnetnih talasa ekstremno niske frekvencije je veoma velika, pa tako elektromagnetni talas frekvencije od 50 Hz ima talasnu dužinu približno 6000 km, dok je talasna dužina elektromagnetnih talasa vidljivog dela elektromagnetnog spektra od 400 do 780 nm.

EMP se prostiru kroz prostor u vidu elektromagnetnog zračenja, koja obuhvataju vrlo široko područje u pogledu talasnih dužina. Ceo opseg talasnih dužina elektromagnetnog zračenja naziva se elektromagnetni spektar i obuhvata zračenja ekstremno niskih frekvencija (ENF, do 300 Hz), veoma niskih frekvencija (VNF, od 300 do 3000 Hz), niskih (NF, 30×10^3 do 300×10^3 Hz), srednjih (SF, 300×10^3 do 3×10^6 Hz), visokih (VF, 3×10^6 do 30×10^6 Hz), veoma visokih (VVF, 30×10^6 do 300×10^6 Hz), ultra visokih frekvencija (UVF, 300×10^6 do 3×10^9 Hz), mikrotalasna zračenja (MT, 3×10^9 do 300×10^9 Hz), infra-crveno (IC, 300×10^9 do 300×10^{12} Hz), vidljivi deo spektra (300×10^{12} do 3×10^{15} Hz), ultra-violetno (UV, 3×10^{15} do 30×10^{15} Hz), X-zračenje (30×10^{15} do 30×10^{18} Hz) i gama zračenje (γ , 30×10^{18} do 300×10^{18} Hz) (*sl.1.4*). Međutim, iako postoji ovakva podela, elektromagnetni spektar je kontinualan.

Spektar zračenja EMP prikazan je na *Slici 1.4*. Istraženi opseg elektromagnetnih talasa obuhvata područje talasnih dužina od 10^7 do 10^{-14} cm i frekvencije od 0 do 10^{24} Hz, i većih frekvencija od 10^{24} Hz za kosmička zračenja. Konstantna magnetna polja imaju frekvenciju od 0 Hz, i talasnu dužinu koja teži beskonačnosti.



Slika 1.4. Spektar elektromagnetnog zračenja

U delu spektra elektromagnetnog zračenja sa frekvencijom iznad 100 kHz, efekti električnih i magnetnih polja se obično posmatraju zajedno kao elektromagnetna polja i u skladu sa osnovnom Maksvelovom jednačinom propagirajućeg polja, ali u delu spektra sa frekvencijom ispod 100 kHz, električna i magnetna polja nisu obavezno normalna jedna u odnosu na drugu i ne ponašaju kao talasi, zbog čega se mogu posmatrati posebno, kao odvojena, vremenski sporo - varirajuća polja.

Sva zračenja elektromagnetnog spektra su iste prirode, pa imaju istu brzinu prostiranja koja odgovara brzini svetlosti, ali sa povećanjem frekvencije elektromagnetnog talasa se povećava i energija emitujućeg zračenja. Tačan odnos je opisan Plankovom relacijom, $E = h \nu$, gde je h Plankova konstanta: $6.624 \times 10^{-34} \text{ Jsec}$, a ν frekvencija talasa u hercima (Hz). Energija se izražava u džulima (J) ili elektron-Voltima (eV), gde je $1 \text{ J} = 6.24 \times 10^{18} \text{ eV}$.

Na osnovu energije koju nosi elektromagnetni talas, spektar zračenja EMP se može podeliti na jonizujuća i nejonizujuća zračenja. Elektromagnetni talasi veoma velike energije označeni su i kao jonizujuća zračenja jer imaju energiju zračenja koja u interakciji sa materijom može da prouzrokuje promene na nivou atoma i molekula izazivajući jonizaciju okolnih medijuma. U jonizirajuća zračenja spadaju: γ i x zranci, kao i deo ultravioletnog zračenja sa frekvencijom većom od 3×10^{15} Hz i talasnom dužinom manjom od 10^{-7} m. Ostali oblici elektromagnetnih talasa imaju energiju fotona manju od 12,4 eV, što nije dovoljno da izazove stvaranje slobodnih radikala, pa se često

nazivaju i nejonizujuća zračenja. U nejonizujuća zračenja ubrajaju se: deo ultraljubičastog (UV) zračenja sa frekvencijom manjom od 3×10^{15} Hz, vidljivi deo spektra, infra-crveno zračenje, radiofrekventno i mikrotalasno zračenje, i elektromagnetna polja frekvencije ispod 3×10^9 Hz. U nejonizujuća zračenja, iz praktičnih razloga se uključuju i elektrostatična i magnetnostatična polja, kao i mehanički ultrazvučni talasi, zbog njihovog uticaja na živu materiju.

Do početka XX veka živi svet je bio izložen samo prirodnim EMP, na koje su se organizmi prilagodili tokom svoje evolucije. Teslinim pronalaskom naizmeničnih struja praktično je rešeno dobijanje, prenošenje i korišćenje naizmenične struje u industriji i svim vidovima života, ali je time živi svet izložen daleko većem intenzitetu EMP, različitih frekvencija i amplituda koja potiču od sve brojnijih veštačkih izvora.

Prirodni izvori EMP nejonizujućeg zračenja

Prirodne izvore EMP nejonizujućeg zračenja predstavljaju električna i magnetna polja koje stvara Zemlja svojim magnetizmom, aktivnost Sunca, atmosferska pražnjenja (statički elektricitet, munje), kao i zračenja iz svemira (nove i supernove, sinhrotrona polja, radio galaksije, i dr). Prirodna nejonizujuća EMP su slabog intenziteta, i to su statička ili veoma sporovarirajuća polja. Prirodni fenomeni, kao što su oluje i solarna aktivnost proizvode vremenski promenljivo EMP u opsegu ekstremno niske frekvencije. Ova EMP su generalno male indukcije, približno oko $0,1 \mu\text{T}$. Međutim, tokom intenzivnih magnetnih bura intenzitet ovih polja se pojačava za 10 i više puta, i dostiže i do $1 \mu\text{T}$ za nekoliko minuta, mada su ovakve brze promene dosta retke i u korelaciji su sa solarnim ciklusom.

Prirodno EMP Zemlje potiče pre svega od naelektrisanja Zemlje i njenog omotača, i procesa vezanih za ta naelektrisanja. Jačina elektromagnetnog polja Zemlje nije konstantna, zavisi od prirodnih procesa koji se odvijaju u njenoj unutrašnjosti, na površini i u okolnom prostoru, pre svega od atmosferskog elektriciteta, radio-emisija Sunca i kosmosa. Ovi faktori su promenljivi, a njihova kolebanja zavise od brojnih

činilaca, pa tako na primer na jačinu prirodnog elektromagnetnog polja Zemlje utiče i spektar radioemisija kosmosa koji je ujednačeniji, ali i spektar radioemisija sa Sunca, koji zavisi od učestalosti i jačine Sunčevih protuberanci i pega. I pored toga, promene u variranju jačine geomagnetnog polja se najčešće odigravaju tokom dužeg perioda vremena, pa se zato ono posmatra kao statičko polje.

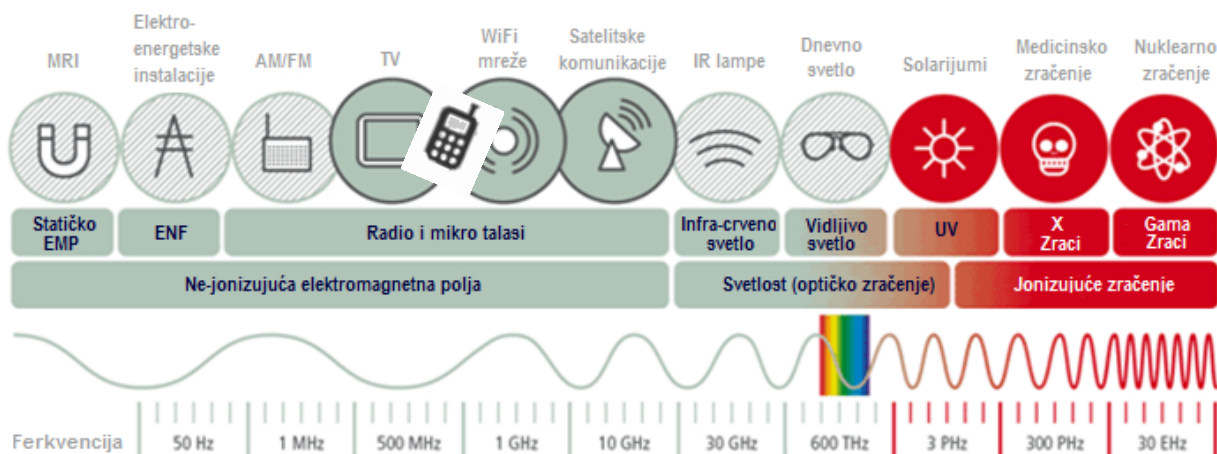
Zemljino EMP je primarno dipolarno, ali polovi ne odgovaraju geografskom severnom i južnom polu. Od početka XIX veka, Zemljin magnetni severni pol se pomerio ka severu za više od 1.100 kilometara, a stopa pomeranja je povećana na oko 64 km godišnje, trenutno, u poređenju sa 16 km godišnje koliko je procenjeno da je iznosila u XX veku. Horizontalna komponenta prirodnog geomagnetnog polja je maksimalna na Ekvatoru i iznosi oko 28 A/m, što odgovara magnetnoj indukciji od 35 μ T u vazduhu, dok na magnetnim polovima ova komponenta polja iznosi svega nekoliko A/m, što zavisi od kretanja električne struje pod zemljinom korom. Vertikalna komponenta je najizraženija na magnetnim polovima (48 - 56 A/m, ili 70 μ T) i opada ka Ekvatoru, gde je skoro jednaka nuli. Magnetna indukcija Zemljinog magnetnog polja je relativno konstantna i kreće se od 20 do 50 μ T, ali se menja u velikim vremenskim razmacima, a opada za 20 nT godišnje. Postoje magnetski mirni i magnetski aktivni dani, što zavisi od sunčeve i mesečeve aktivnosti (Deno i Carpenter, 1994). Srednja vrednost jačine prirodnog električnog polja pri vedrom vremenu iznosi oko 130 V/m, a zavisi od vremenskih prilika, doba dana, nadmorske sredine i sezone, tako da zimi dostiže nivo od 150 - 200 V/m, tokom leta je prosečna jačina polja 100 - 120 V/m, a u toku atmosferskih padavina i grmljavina, jačina električnog polja može da iznosi i 3 - 20 KV/m. Do promena prirodnih polja dolazi u vreme neposredno pre zemljotresa i u vreme promena na Suncu.

Od svog nastanka život na Zemlji se odvijao u prisustvu prirodnih EMP koja su relativno jednostavna i potiču od malobrojnih emitera elektromagnetne energije. Živa bića su se prilagodila ovom konstantnom sredinskom faktoru, a mnogi koriste prirodna EMP u regulaciji brojnih bioloških sistema kao što su cirkadijalni ritam, vizuelni sistemi, sistemi za orijentaciju, navigaciju, migraciju. Pokazano je da Zemljino EMP ima ulogu u kompleksnim ponašajnim odgovorima kod različitih vrsta insekata (Kirschvink i sar., 1981; Wiltschko i Wiltschko, 1995; Hsu i sar., 2007; Dommer i sar., 2008; Yoshii

i sar., 2009; Paz i sar., 2012; Fedele i sar., 2014). Pokazano je da je *D. melanogaster* sposobna da odgovori na slaba EMP ENF, slične jačine kao geomagnetno polje (Picton, 1966), a za medonosne pčele da su u stanju da detektuju variranja u intenzitetu magnetnih polja od samo 26 nT, odnosno promene u jačini geomagnetnog polja od oko 0,6% (Walker i Bitterman, 1989).

Veštački izvori EMP

Pored prirodnih, danas je živi svet u većoj meri izložen nejonizujućim EMP poreklom od izvora koje je stvorio čovek. Intenzitet ovih polja je daleko veći u odnosu na polja prirodnog porekla, a tu spadaju najvećim delom EMP mrežne frekvencije (50-60 Hz), polja koji potiču od sredstava masovnih (RTV predajnici, 100-500 MHz) i mobilnih komunikacija (800-900 MHz i 1800-2200 MHz) (*Slika 1.5.*). Ljudi su izloženi ovim različitim nejonizujućim EMP usled primene novih tehnologija, a najčešća izloženost elektromagnetnim poljima antropogenog porekla javlja se prilikom korišćenja zračenja u medicinskim, industrijskim i vojnim aktivnostima.



Slika 1.5. Primeri veštačkih izvora EMP u okviru određenog dela elektromagnetnog spektra, uključujući fekvenciju od 50 Hz u ENF delu spektra, koja se koristi za distribuciju električne energije, radiofrekvenciju - deo od 30 do 300 GHz koji se koristi za radio i TV emitovanje, i za mobilnu telefoniju, X-zračenje u medicinskoj dijagnostici, gama zračenje u terapiji kancera (<http://www.gsma.com/publicpolicy/wp-content/uploads/2012/04/electromagneticspectrum.gif>)

Danas se zna da nije zanemarljiv ni procenat prosečne godišnje izloženosti zračenju koje potiče od aparata u domaćinstvu, kao i od elektromagnetnih polja iz okruženja koja potiču od radara, baznih stanica mobilne telefonije, radio i televizijskih predajnika, Wi-Fi mreža, dalekovoda visokog napona, transformatora, i drugih izvora. Samo u poslednjih 20–25 godina, izloženost EMP u radiofrekventnom opsegu je porasla nekoliko hiljada puta, zbog masovne upotrebe bežičnih sistema. To daje dodatnu kompleksnost, jer se u realnosti ove dve kategorije EMP obično mešaju u urbanoj sredini, pa novije studije istražuju interakcije EMP ENF i RF na žive organizme (Murbah i sar., 2012). Takođe se i brojnost izvora EMP kojima su živa bića izložena progresivno povećava, i to u opsegu frekvencija od 0 do nekoliko stotina GHz, a posebno 30 – 300 Hz, čime se stvara tzv. elektromagnetni smog (Anderson i Kaune, 1989). Pokazano je da elektromagnetni smog predstavlja ometajući i štetni faktor za živi svet, pre svega insekte i ptice (Balmori, 2014). Elektromagnetni smog u frekventnom opsegu od 50 kHz do 5 MHz narušava magnetni kompas i orijentaciju kod ptica selica (Engels i sar., 2014), dok migratorne ribe koje koriste geomagnetno polje kao orijentir, prilikom prolaska kroz EMP koje proizvode kablovi podmornica, privremeno menjaju svoj pravac kretanja (Gill i sar., 2012).

Elektromagnetna polja ekstremno niske frekvencije (EMP ENF), obuhvataju polja frekvencije do 300 Hz, i u njih spadaju sva polja koja stvaraju električni uređaji, uključujući i aparate u domaćinstvu, zatim polja oko elektro-energetskih instalacija i osvetljenja, i oko električnih postrojenja. Jaka izloženost EMP ENF može da se desi samo u blizini visokovoltaznih električnih vodova, u blizini generatora, transformatora, podzemnih i nadzemnih kablova, kao i u blizini velikih električnih mašina u nekim profesionalnim okruženjima. U njihovoj blizini ponekad se produkuju vrlo jaka polja indukcije, koja sa udaljenjem od izvora primetno slabe. Prosečne vrednosti polja kojima su ljudi svakodnevno izloženi se kreću od 5–50 V/m za električna polja i 0.01–0.2 μ T za magnetna polja, dok se značajno viša izloženost dešava samo u kraćim vremenskim periodima u velikoj blizini nekih kućnih aparata, što je prikazano u Tabeli 1.2. (IARC Monograph, 2002). Od 2002. godine EMP ENF su, prema međunarodnoj agenciji za istraživanje kancera klasifikovana kao mogući kancerogen (IARC, 2002).

Tabela 1.2. Vrednosti magnetnog polja za različite električne aparate u domaćinstvu

TIP ELEKTRIČNOG APARATA	Vrednosti magnetnog polja (μT) na određenim distancama od površine aparata						
	N	5 cm	SD	50 cm	SD	100 cm	SD
televizor	73	2,69	1,08	0,26	0,11	0,07	0,04
ketler	49	2,82	1,51	0,05	0,06	0,01	0,02
usisivač	42	39,53	74,58	0,78	0,74	0,16	0,12
fen	39	17,44	15,56	0,12	0,10	0,02	0,02
mikrotalasna rerna	34	27,25	16,74	1,66	0,63	0,37	0,14
mašina za pranje veša	34	7,73	7,03	0,96	0,56	0,27	0,14
pegla	33	1,84	1,21	0,03	0,02	0,01	0,00
radio-budilnik	32	2,34	1,96	0,05	0,05	0,01	0,01
frižider ili zamrzivač	23	0,21	0,14	0,05	0,03	0,02	0,01
radio	23	3,00	3,26	0,06	0,04	0,01	0,01
mašina za pranje sudova	13	5,93	4,99	0,80	0,46	0,13	0,13
rerna	13	1,79	0,89	0,39	0,23	0,13	0,09
mašina za sušenje veša	7	3,93	5,45	0,34	0,42	0,10	0,10
kompjuter	6	1,82	1,96	0,14	0,07	0,04	0,02
električni brijač	1	164,75	-	0,84	-	0,12	-

N - ukupan broj merenja, SD - standardna devijacija

Podaci preuzeti iz monografije međunarodne agencije za istraživanje kancera (IARC, 2002).

Biološki efekti EMP frekvencije 50/60 Hz

Elektromagnetna polja ekstremno niske frekvencije (EMP ENF) od 50/60 Hz predstavljaju EMP koja se kao sredinski faktor svakodnevno sreću u savremenom društvu, pošto frekvencija od 50 Hz u Evropi i 60 Hz u Americi služi za distribuciju električne energije, i svi električni aparati su priključeni na ovu mrežnu frekvenciju. Izučavanje efekata EMP ENF ima relativno dugu istoriju, pošto prvi rezultati o njihovom uticaju potiču još iz 1960-tih, praćenjem radnika koji su profesionalno bili izloženi uticaju EMP ENF polja. Interesovanje za biološke efekte EMP ENF je sve veće, pre svega zbog mogućih posledica po zdravlje ljudi usled svakodnevne i hronične izloženosti. Stručnjaci iz ove oblasti se slažu da izloženost visokim dozama EMP ENF izaziva štetne posledice po zdravlje, ali se njihovi stavovi razlikuju po pitanju da li su efekti EMP na nivoima koja su obično prisutna u svakodnevnom okruženju, takođe štetna. Izražene nedoumice se ne odnose samo na moguće posledice po zdravlje, već i na mehanizme pomoću kojih se ti efekti javljaju.

Biološki efekti zračenja se mogu sagledati na više nivoa, ali se kao jedan od glavnih podrazumevaju oštećenja na molekulima DNK. Široko je prihvaćeno da EMP od 50/60 Hz imaju veoma malu, nejonizujuću energiju nedovoljnu da bi direktno delovala na DNK molekul, a ispitivanja standardnih genotoksičnih mehanizama kao potencijalno odgovornih za manifestacije na kojima se zasniva interakcija EMP ENF sa biološkim sistemima, pokazala su kontradiktorne rezultate. Tako su oštećenja na molekulu DNK (*in vitro* i *in vivo*) uočena mikrosatelitskom analizom (Mairs i sar., 2007), testom somatskih mutacija i rekombinacija (Koana i sar., 2001), testom razmene sestrinskih hromatida (Wahab i sar., 2007), testom polno vezanih recesivnih letalnih mutacija (Otake i sar., 1992), mikronuleus testom i testom hromozomskih aberacija (Erdal i sar., 2007), promenom hromatinske konformacije (Sarimov i sar., 2011), komet testom (npr. Lai i Singh, 2004; Paulraj i Behari, 2006; Phillips i sar., 2009; Villarinia i sar., 2013; Mihai i sar., 2014). Nasuprot ovim rezultatima, stoje rezultati *in vitro* istraživanja u kojima EMP ENF nisu imala genotoksični ili mutageni efekat (Livingston i sar., 1991; Scarfi i sar., 1993; Fairbairn i O'Neill, 1994; Ansari i Hei, 2000; Ikehata i sar., 2001; Verschaeve i sar., 2011). Ivancsits i saradnici (2003 a, b; 2005) su ispitivali efekat EMP od 50 Hz i 1 mT, u trajanju od 1 do 24 h na različite

tipove ćelija. Njihovi rezultati pokazuju da genotoksični efekat EMP ENF zavisi pre svega od starosti i tipa ćelija na koje deluje. Ipak, mehanizam dejstva ovih relativno slabih EMP na molekul DNK još uvek nije jasan, a teorijski i eksperimentalni rezultati sugerišu da EMP ENF deluje na molekul DNK pre svega indirektno, preko drugih ćelijskih mehanizama, stvarajući jednolančane i dvolančane prekide i druge hromozomske aberacije, utičući na DNK reparaciju ili izazivajući citotoksični efekat i ćelijsku smrt.

Fizički procesi na nivou atoma predstavljaju osnovu za reakcije između EMP ENF i molekula, pošto ova polja utiču i na hemijske veze između susednih atoma, kao i na energiju i orijentaciju elektrona. Predloženo je nekoliko hipoteza na osnovu dosadašnjih rezultata istraživanja koja su pokazala da je veliki broj različitih ćelijskih komponenti, ćelijskih procesa i ćelijskih sistema uključen u odgovor na EMP ENF. Ti složeni odgovori obuhvataju promene u ćelijskom ciklusu, modifikacije ćelijskih membrana, jonskog fluksa, proteinske ekspresije, signalnih puteva, nivoa oksidativnog stresa i povećanje slobodnih radikala u ćeliji (za opširnije podatke videti: Santini i sar., 2009; Maes i sar., 2012; Consales i sar., 2012). Jedan od predloženih mehanizama uključuje hiperprodukciju slobodnih radikala kiseonika (ROS) pod uticajem EMP ENF, pošto je pokazano da izlaganje EMP ENF podiže nivo slobodnih radikala u ćeliji (Simkó i sar., 2001; Lupke i sar., 2004; Rollwitz i sar., 2004; Simkó, 2007; Canseven i sar., 2008; Eleuteri i sar., 2009). Slobodni radikali su kratkoživeća reaktivna hemijska jedinjenja (atomi ili molekuli) koja poseduju jedan nespareni elektron, a generišu se tokom različitih metaboličkih procesa, pre svega u mitohondrijama, ali i pod uticajem nekih spoljašnjih faktora. Slobodni radikali kiseonika mogu oštetiti ćelijske komponente, pre svega lipide membrana i nukleinske kiseline tokom procesa oksidacije, jer su u stanju da difunduju dovoljno daleko u ćeliji i da direktno interaguju sa DNK molekulima ili proteinima, što može smanjiti enzimatske i ne-enzimatske antioksidanse, dovodeći do progresivne disfunkcije u ćeliji, a indirektno do genotoksičnog događaja (Wolf i sar., 2005; Harakawa i sar., 2005; Valko i sar., 2007; Kong i Lin, 2010). Osim toga, EMP ENF produžavaju vek slobodnih radikala koji su veoma reaktivni i reaguju sa organskim molekulima, čime nastaju kratkoživeći organski radikali koji dalje generišu nove hemijske reakcije (Scaiano i sar., 1994; Cozens i Scaiano, 1993; Roy i sar., 1995). Takođe je pokazano da EMP ENF menjaju sekundarne signalne puteve, kao

što su kalcijumom vođeni signalni procesi, što dalje vodi ka drugim fiziološkim efektima, pa i kancerogenezi. Jedan od predloženih mehanizama delovanja EMP je promena fluksa kalcijumovih jona. Velika količina kalcijuma koja se nalazi u telu je smeštena u međucelijski prostor, dok je unutar citoplazme niska koncentracija ovog elementa pošto se radom aktivnih membranskih pumpi izbacuje iz ćelije. Upravo ta velika razlika u koncentraciji omogućava njegovu važnu i aktivnu ulogu u prenosu informacija. Pokazano je da nakon izlaganja EMP ENF vrlo brzo dolazi do povećanja nivoa unutarćelijskog kalcijuma (Liburdy i sar., 1993; Lindstrom i sar., 1993; Löschinger i sar., 1999; Mattsson i sar., 2001; McNamee i sar., 2009; Pilla, 2012; Pall, 2013; Luo i sar., 2014), što je kritično za njegovu funkciju sekundarnog glasnika. Pored toga, menja se i oscilatorna aktivnost Ca^{2+} jona (Löschinger i sar., 1999; Zhao i sar., 2008), što za posledicu ima, između ostalog smanjenje ćelijske citoskeletne mreže (Lisi i sar., 2006). Univerzalni intracelularni receptor za Ca^{2+} jone je kalmodulin, i on posreduje u mnogim procesima koje regulišu kalcijumovi joni. Jedan važan primer kalcijum-signalne kaskade je aktivacija kalmodulin ciklične nukleotidne fosfodiesteraze koja dalje razgrađuje cAMP (ciklični adenzin-monofosfat) i formira neorganski fosfat. Ova reakcija uključuje dva sveprisutna sekundarna intracelularna signalna glasnika, kalcijum i cAMP, čime se utiče na kaskadni prenos informacija u signalnoj mreži, i konačno na aktivaciju ili inhibiranje mnogih enzima, regulaciju ekspresije gena, metaboličke puteve i fiziološke procese. Pretpostavlja se da EMP ENF utiče na ekspresiju i aktivnost katalaze, citohrom P450 i inducibilne azot-oksida sintetaze, kao i na redoks stanje ćelije i kinetičku aktivnost ovih enzima upravo preko fluksa Ca^{2+} jona. Na ovaj način se može uspostaviti veza između EMP ENF i ćelijskog metabolizma (Patruno i sar., 2015).

Rezultati studija na molekularnom nivou pokazuju da ćelijski odgovor na delovanje EMP ENF uključuje i ekspresiju određene grupe regulatornih gena i sintezu specifičnih proteina, kao što su familije gena za proteine termalnog stresa (eng. *heat-shock proteins*, *hsp*), pre svega *hsp70* i transkripcionog faktora *hsf1*. Ćelijski odgovor koji uključuje ekspresiju ovih gena i sintezu specifičnih proteina je prvi put opisan kao odgovor na temperaturne promene (Ritossa, 1962), jer ovi proteini štite ćelije i ceo organizam od temperaturnog stresa, ali i od drugih fizičkih i hemijskih stresora, npr. od promena u osmotskom pritisku, pH vrednostima ćelije, prisustva etanola i jona teških

metala. Hsp proteini funkcionišu kao molekularni pratioci koji se kratkotrajno i nekovalentno vezuju za denaturisane proteine i sprovode ih do lizozoma (Chiang i sar., 1994; Feder i Hofmann, 1999; Mayer i Bukau, 2005), ili se vezuju za nativne proteine i pomažu u uspostavljanju tercijarne strukture nakon vraćanja u optimalne uslove (Parsell i Lindquist, 1994). Ovaj ćelijski odgovor na stres ima protektivnu ulogu u slučaju potencijalno štetnih stimulusa iz spoljašnje sredine, i dešava se u pojedinačnim ćelijama, za razliku od odgovora celog organizma na stres koji uključuje sekreciju kortizola i adrenalina, čiji je rezultat aktivacija različitih sistema u telu. Zbog toga, hsp proteini služe i kao hemijski marker stresa na ćelijskom nivou. Pretpostavlja se da ćelije odgovaraju na EMP ENF kao na nespecifičan stresor (Goodman i Blank, 1998; Goodman i sar., 1994, 2009; Lin i sar., 1998, 1999, 2001; Carmody i sar., 2000; Tokalov i Gutzeit, 2004; Frisch i sar., 2013), ali je pokazano da su ćelije daleko senzitivnije na EMP u odnosu na termalni stres (Blank i sar., 1992, 1994). Pretpostavlja se da su ćelije daleko senzitivnije na veštački stvorena EMP u odnosu na druge tipove stresa koji su od ranije poznati, jer je to relativno novi tip stresa za koje ćelija nije razvila zaštitne mehanizme.

EMP ENF pokazuju različite biološke efekte, koji u nekim uslovima mogu biti i pozitivni, stimulativni efekti. Tako su u ispitivanjima efekta EMP od 50 Hz na neuralne progenitorske ćelije zabeleženi stimulativni efekti u adultnoj neurogenezi, koji bi mogli da imaju i aplikativnu stranu u medicinskoj terapiji neurodegenerativnih oboljenja (Piacentini i sar., 2008; Podda i sar., 2014; Rauš Balind i sar., 2014). Takođe su dobijeni i rezultati koji potvrđuju da EMP ENF ima ulogu u ćelijskoj proliferaciji i diferencijaciji, pa ova polja mogu da predstavljaju i neinvazivnu metodu za proliferaciju i diferencijaciju ćelija, npr. u regeneraciji i transplantaciji tkiva i organa, iako mehanizam koji leži u osnovi ovog procesa nije do kraja poznat (Pilla i sar., 2011; Yang i sar., 2010, 2012; Bai i sar., 2013). EMP ENF mogu da regulišu proizvodnju hemokina i rast keratinocita, čineći ih potencijalnim terapijskim tretmanom za povrede kože (Vianale i sar., 2008; Patruno i sar., 2010; Manjhi i sar., 2013; Huang i sar., 2014). Pokazano je da EMP ENF sa ili bez dodatnih citostatika, omogućavaju anti-tumorski imuni odgovor, inhibiranje rasta tumora i produžavanje vremena preživljavanja kod miševa, kao i nekrozu ćelija kancera (Williams i sar., 2001; Tofani i sar., 2002; Berg, 2005; Berg i sar., 2010; Tatarov i sar., 2010; Hanafy i sar., 2013; Nie i sar., 2013;

Cameron i sar., 2014), što pruža mogućnost za uspešnu, neinvazivnu primenu u onkologiji.

Eksperimentalno izlaganje ćelija i organizma EMP ENF izaziva različite odgovore koji su često kontradiktorni, jer efekat delovanja ENF EMP na rast i metabolizam organizama, bilo inhibitorni, bilo stimulatívni, zavisi od kompleksnih veza između frekvencije, jačine polja, dužine izlaganja, i stanja i tipa ćelije ili organizma (Sul i sar., 2006; Simkó, 2007; Sarimov i sar., 2011; Huang i sar., 2014; Bayır i sar. 2015). Deo razloga za ove razlike leži u velikim razlikama u metodologiji, eksperimentalnom dizajnu, izvoru EMP, i/ili tipovima izloženih ćelija. Različiti uslovi sredine mogu takođe da doprinesu i objasne razlike, pošto EMP deluju na fizičko-hemijske osobine vode i to različito zavisno od temperature, osvetljenja, itd (Naira i sar., 2013). Pored toga, EMF efekti mogu biti suprotnog smera u zavisnosti od dužine izlaganja (Bae i sar., 2013), što dodatno povećava neslaganja dobijenih rezultata.

Najnovija istraživanja o uticaju EMP ENF na živi svet pokazuju da deo razloga za uočene razlike u odgovorima na delovanje EMP leži u epigenetičkom uticaju ovog faktora. Poslednjih godina je na osnovu brojnih dokaza postalo jasno da je razviće na nivou ćelije i organizma delom i pod epigenetičkom kontrolom (Kiefer, 2007). Najbolje proučene nasledne promene u genskoj funkciji koje se dešavaju nezavisno od promena u primarnoj DNK sekvenci je DNK metilacija, promene u strukturi hromatina histonskim modifikacijama. Histonske modifikacije u određenom promotorskom regionu definišu specifično epigenetsko stanje koje kodira aktiviranje ili utišavanje gena. Epigenetske modifikacije su ključni regulatori važnih razvojnih događaja, uključujući inaktivaciju X hromozoma, genomsko utiskivanje, diferenciranje *Hox* genima, kao i u procesima neurogeneze. Promene u histonskoj modifikaciji i/ili DNK metilaciji su u osnovi mnogih dugoročnih promena indukovanih transkripcionim faktorima (Kiefer, 2007).

Rezultati Leone i saradnika (2014) pokazuju da EMP od 50 Hz i 1 mT poboljšava proliferaciju i neuronsku diferencijaciju hipokampalnih neuralnih stem ćelija *in vitro* epigenetskim mehanizmima regulacije genske ekspresije, pre svega histonskim modifikacijama u promotorskim regionima. EMP ENF povećava acetilaciju histona 3 na poziciji lizina 9 (H3K9) i fosforilacija transkripcionog faktora CREB (*eng. cAMP response element-binding protein*). CREB protein se vezuje za promotorsku sekvencu neuralnih gena i ima važnu ulogu u adultnoj neurogenezi i učenju. Za ove epigenetske

dogadaje tokom razvoja neurona bitan je kalcijumov signalni put preko voltažno zavisnih Ca^{2+} kanala.

EMP ENF direktno reguliše dinamičke epigenetičke promene reprogramiranjem ćelija i ima ulogu u održavanju epigenetičke plastičnosti (Baek i sar., 2014). Izlaganje somatskih ćelija EMP od 50 Hz i 1 mT dovodi do povećanja reprogramiranja transformacijom somatskih ćelija u pluripotentne matične ćelije. Proces reprogramiranja somatskih ćelija pod uticajem EMP ENF odigrava se indukcijom histonske lizin N-metil-transferaze Mll2, za koju je poznato da doprinosi metilaciji histona 3 na poziciji lizina 4 (H3K4me3) tokom razvića. EMP od 50 Hz i 1mT povećava nivo Mll2, što je povezano sa povećanjem hromatinske modifikacije, kao i sa aktivacijom genske ekspresije i povećanja transkripcije na nekoliko lokusa odgovornih za pluripotentnost tokom razvića. Interesantno je da nisu sve ćelije pod značajnim uticajem EMP, već na uticaj EMP posebno reaguju ćelije koje su u procesu razvića i epigenetičkih promena. Pored toga Baek i saradnici (2014) su postavljanjem eksperimenta u prostor bez veštačkog i prirodnog Zemljinog EMP, pokazali da je za epigenetičko reprogramiranje glavni faktor upravo prisustvo sredinskog EMP. Ovi rezultati otvaraju i mogućnost da je za ćelije prirodno Zemljino EMP katalizator bioloških procesa, za brz i precizan odgovor kroz epigenetičke promene na signale iz spoljašnje sredine, kao i da EMP ima fundamentalnu ulogu u uspostavljanju ćelijskog identiteta ćelijskim reprogramiranjem.

Pored ovih epigenetičkih procesa pod uticajem EMP ENF, indukcija Hsp proteina predstavlja još jedan mehanizam kojim bi ovaj faktor mogao izazvati epigenetičke promene. Hsp proteini, pre svega Hsp 90, osim uloge koje imaju u odgovoru na ćelijski stres, olakšavaju konformaciju raznolikih proteina u signalnim putevima tokom razvića, i imaju ulogu u regulaciji hromatinske kondenzacije i genske ekspresije, čime izazivaju epigenetičke promene (Csermely i sar.,1994; Sollars i sar., 2003; Wang i Brock, 2003; Tariq i sar., 2009; Gangaraju i sar 2011; Khurana i Bhattacharyya, 2015). Pošto EMP ENF utiču na količinu Hsp proteina u ćeliji, može se očekivati da bi pod uticajem EMP ENF moglo doći do promena u konformaciji hromatina, u regulaciji transkripcije, a time i do epigenetičkih promena, što je pokazano za temperaturni stres (Gibert i sar., 2007).

***Drosophila* kao eksperimentalni model u istraživanjima uticaja EMP ENF**

Jedinke roda *Drosophila* su dobar model-sistem za ispitivanje različitih odgovora na veliki broj sredinskih i genetičkih faktora, što je posledica generalno male veličine tela i ektotermne prirode, brzog metabolizma i kratkog životnog ciklusa, kao i jednostavnog izlaganja velikom broju specifičnih sredinskih faktora. Znanja iz genetike vrsta roda *Drosophila*, koja su akumulirana u poslednjih sto godina istraživanja, učinila su ove mušice jedinstvenim eksperimentalnim sistemom u skoro svim aspektima genetičkih istraživanja višćelijskih eukariota. Genetička istraživanja na *Drosophila* traju od 1910. godine, kada je Morgan odabrao *D. melanogaster* za svoja eksperimentalna proučavanja nasleđivanja, da bi na ovoj vrsti, Morgan, Muller, Bridges, Sturtevant i Dobzhansky, početkom XX veka, svojim pionirskim radovima napravili ogromne pomake u genetici. Ovo je ujedno i prva vrsta čiji je genom kompletno mapiran (Adams i sar., 2000), i predstavlja jedan od najbolje genetički proučenih organizama koji se kao model koristi u različitim oblastima biologije, biomedicine, ekologije.

U poslednjih tridesetak godina sprovedene su brojne studije na *D. melanogaster* sa ciljem utvrđivanja različitih bioloških efekta koje izaziva izlaganje EMP ENF. Rezultati koji su dobijeni u tim studijama su često oprečni, što je slučaj i sa ispitivanim genotoksičnim efektima pri akutnom i hroničnom izlaganju EMP ENF, u jednoj ili više generacija na larvama i adultima *D. melanogaster*. Tako je blagi porast (ali ne statistički značajan) stope recesivnih letalnih mutacija detektovan posle 13 - 14 dana izlaganja odraslih mušica EMP ENF od 500 μ T i 5 mT (Otaka i sar., 1992), dok je kontinuirano izlaganje tokom 40 generacija *D. melanogaster* EMP istih karakteristika dovelo do značajne akumulacije mutacija (Kikuchi i sar., 1993). Koana i saradnici (2001) su pokazali mutageno dejstvo EMP 50 Hz i 20 mT, testom somatskih mutacija i rekombinacija, a mutacije su izazvane somatskom rekombinacijom i terminalnom delecijom. U *in vitro* gajenim embrionalnim ćelijama *Drosophila* nisu uočeni teratogeni efekti elektromagnetnih polja od 60 Hz, i 10 μ T i 100 μ T (Nguen i sar., 1995). EMP ENF utiče na transkripciju, povećavajući broj transkripata u ćelijama *Drosophila melanogaster* (Goodman i sar., 1992), a poznato je da je abiotički stres povezan sa promenom ekspresije gena (Kristensen i sar., 2006; Cossins i sar., 2006; Laayouni i sar., 2007; Roelofs i sar., 2008). Kao posledica promena u ekspresiji gena nastaju fiziološke

promene koje povratno utiču na otpornost na stres, kao i na komponente adaptivne vrednosti (Feder i Hofmann, 1999; Silbermann i Tatar 2000; Hercus i sar., 2003).

Efekti EMP ENF su praćeni i na komponentama adaptivne vrednosti *D. melanogaster*, pre svega kroz fekunditet i preživljavanje, ali i kroz dinamiku polaganja jaja i dužinu razvića, ali su i ovde dobijeni oprečni rezultati (Ramirez i sar., 1983; Walter i Carstensten, 1987; Ma i Chu, 1993; Michel i Gutzeit, 1999; Panagopoulos i Margaritis, 2003). Tako je pokazano da izlaganje jaja *D. melanogaster* EMP od 100 Hz i 1,76 mT, kao i EMP od 50 Hz i 1 mT tokom 48 sati, vodi ka smanjenju polaganja jaja (Ramirez i sar., 1983), dok rezultati dobijeni u ponovljenom eksperimentu to opovrgavaju (Walter i Carstensten, 1987). Kontinuirano izlaganje ženki *D. melanogaster* iz roditeljske (P) i jedinki iz prve (F1) generacije tokom svih faza razvića EMP od 50 Hz i 2mT, dovodi do smanjenja broja položenih jaja, a to smanjenje uključuje i naredne generacije koje nisu bile izložene EMP (Gonet i sar., 2009). Izlaganje ženki i mužjaka tokom prvih pet dana adultnog života, EMP ENF (50 Hz, 7 mT) u kontinuitetu, smanjuje broj položenih jaja u proseku za 6,16% u odnosu na kontrolu (Panagopoulos i Margaritis, 2002). Ženke i mužjaci koji su kontinuirano od prvog do petog dana starosti proveli u EMP od 50 Hz, jačine 0,1 mT, 1,1 mT i 2,1 mT, pokazali su u sve tri EMP grupe redukciju reproduktivnog kapaciteta, mereno brojem lutki, i povećanje fragmentacije DNK u jajima i ovariolama ženki, u poređenju sa kontrolnom grupom. Efekat redukcije reproduktivnog kapaciteta je bio veći što je jači intenzitet polja kome su ženke bile izložene, mada redukcija nije bila značajna u grupi EMP ENF od 0,1 mT (Panagopoulos i sar., 2013). Pokazano je da EMP ENF deluju i na reproduktivni kapacitet mužjaka *Drosophila*, ali i tu postoji razlika u odgovoru u odnosu na dužinu izlaganja. Kratkoročno izlaganje tokom prva tri dana adultnog života od 8, 16, 24, 48 i 72 sata u EMP (50 Hz, 3 mT) može smanjiti reproduktivnu sposobnost mužjaka, dok dugoročna izloženost polju ovih karakteristika, od jaja do četvrtog dana starosti mužjaka, ne utiče na njihovu reproduktivnu sposobnost (Li i sar., 2013).

Dužina razvića je generalno za sve vrste, bitna komponenta adaptivne vrednosti, relevantna za razviće i fitnes jedinke. Pod uticajem veštačkih EMP ENF dužina razvića se menja, a ta promena može da vodi i ka skraćivanju i ka produžavanju dužine razvića od jaja do adulta, odnosno ka smanjenom ili povećanom rastu. Ektotermni organizami

prilagođavaju dužinu razvića različitim mehanizmima koji podrazumevaju uzajamna ograničenja i cenu plastičnosti (Gotthard, 2001). Sposobnost organizma da plastično odovori na variranja životne sredine može biti ograničena cenom održavanja plastičnog odgovora. Indukcija ekspresije gena *heat shock* proteina pod uticajem EMP ENF predstavlja primer *trade-off*-a. Čelije aktiviraju *hsp* gene da bi se zaštitile od EMP ENF, ali u slučaju EMP ENF ekspresija *hsp* gena se dešava u daleko većem obimu nego u slučaju samog termalnog stresa, što je potencijalno štetno. Učestala pojava stresa vodi ka kontinuiranoj ekspresiji različitih *hsp* gena, što može da dovede do indukcije proliferacije ćelija (French i sar., 2001), a pokazano je kod *Drosophila* i do slabijeg preživljavanja i pada fekunditeta, inhibicije rasta, produženog trajanja razvića i skraćivanja dužine života (Krebs i Loeschcke, 1994; Krebs i Feder, 1987, 1998; Silbermann i Tatar, 2000; Yang i Tower, 2009). Stoga nivo ekspresije *hsp*-a predstavlja balans između „cene” i „koristi” za adaptivnu vrednost organizma (Hercus i sar., 2003; Sorensen i sar., 2003; Sorensen, 2010).

Pokazano je da izlaganje embriona *D. melanogaster* EMP ENF u nekim slučajevima ima za posledicu i pojavu morfoloških abnormalnosti kod adulta (Ho i sar., 1992; Michel i Gutzeit, 1999; Mirabolghasemi i Azarnia, 2002; Okada i Koana, 2002). Mirabolghasemi i Azarnia (2002) su ustanovili da se iz larvi koje su bile izlagane EMP ENF (50 Hz, 11 mT) razvija značajno više adulta koji imaju neke morfološke abnormalnosti, što nije slučaj sa adultima koji su se razvili iz jaja izlaganih EMP istih karakteristika. Takođe, isti autori su ustanovili i da je broj abnormalnih mušica u korelaciji sa dužinom izlaganja EMP. EMP ENF utiče i na rast i telesnu masu adulta, jer su jединke koje su bile izlagane slabom EMP značajno manje težine, mada je uticaj na razvojnu stabilnost posmatranu preko fluktuirajuće asimetrije krila različit u zavisnosti od magnetne komponente polja (Graham i sar., 2000). Stamenković-Radak i saradnici (2001) su pokazali da jединke *D. melanogaster* gajene tokom šest generacija u permanentnom magnetnom polju jačine 35 mT pokazuju smanjenje veličine krila u kasnijim generacijama, dok se bilateralna simetrija, kao parametar razvojne stabilnosti krila, ne menja.

Ovi radovi daju podatke o narušavanju procesa razvića kod *Drosophila* usled kratkotrajnog ili dugotrajnog izlaganja EMP od 50/60 Hz.

Efekat
elektromagnetnog polja (50 Hz, 0,25 mT)
na komponente adaptivne vrednosti
i morfometriju krila
kod *Drosophila subobscura*
Collin, 1936 (Insecta, Diptera)

C I L J E V I
I S T R A Ź I V A N J A

Na osnovu sve većeg prisustva elektromagnetnih polja u životnoj sredini, kao i sve većeg broja podataka o uticaju EMP na različite biološke sisteme, postavljeni cilj ovog istraživanja je procena uticaja EMP iz opsega “komercijalnog” dela spektra (ENF: 50 Hz, 0,25 mT) analizom fenotipske varijabilnosti različitih linija vrste *Drosophila subobscura*.

U skladu sa tim ciljem jeste sagledavanje pravca i obima promena pod uticajem EMP preko komponenti adaptivne vrednosti i geometrijsko-morfometrijske analize krila nakon izlaganja jedinki *D. subobscura* EMP ENF tokom embrionalnog i ranog postembrionalnog perioda razvića.

Komponente adaptivne vrednosti su pod različitom genetičkom kontrolom, i različito su osetljive na promene u spoljašnjoj sredini. Odabrane komponente adaptivne vrednosti, fekunditet, preživljavanje, stopa polaganja jaja, dužina razvića i dužina života ženki, korišćene su sa ciljem procene efekata EMP i stepena adaptabilnog odgovora jedinki *D. subobscura* različitih genotipova kroz tri sukcesivne generacije.

Geometrijsko-morfometrijska analiza ima aplikativni potencijal u ispitivanju potencijalnih stresogenih faktora. Krila *Drosophila* predstavljaju pogodan model-sistem za ispitivanje uticaja sredinskih faktora, jer je razviće ovih struktura kod *Drosophila* dobro proučeno, određeni delovi krila su tokom razvića pod različitom genetičkom kontrolom i ponašaju se kao odvojene selekzione jedinice. U ovom istraživanju uticaja EMP ENF u laboratorijskim uslovima, analiziraće se promene veličine i oblika krila jedinki *D. subobscura* nakon dejstva EMP ENF (50 Hz, 0,25 mT) u prvoj i u trećoj eksperimentalnoj generaciji.

Efekat
elektromagnetnog polja (50 Hz, 0,25 mT)
na komponente adaptivne vrednosti
i morfometriju krila
kod *Drosophila subobscura*
Collin, 1936 (Insecta, Diptera)

M A T E R I J A L
i M E T O D E

Drosophila subobscura

U ovom istraživanju, kao model organizam, korišćena je vrsta *Drosophila subobscura* (Collin, 1936). *Drosophila subobscura* je palearktički član *obscura* grupe, i pripada podrodu *Sophophora*, rodu *Drosophila*. Ova vrsta naseljava vlažna, umereno osvetljena staništa, na ivicama šuma, a sreće se na nadmorskim visinama od nivoa mora pa do gornje šumske granice na planinama. *D. subobscura* se smatra vrstom koja je dobro adaptirana na hladnoću, sa temperaturnim opsegom između 6° i 26° C (Moreteau i sar., 1997), a najveća aktivnost ove vrste je u zoru i sumrak, na temperaturi između 15° i 20° C (Noor, 1998). Široko je rasprostranjena po celoj Evropi (izuzev krajnjeg severa Evrope: Islanda i srednjih i severnih delova Skandinavije), i na Srednjem Istoku i severnoj Africi. U centralnim delovima areala rasprostranjenja ova vrsta predstavlja dominantnu vrstu iz roda *Drosophila* (Krimbas, 1993). Od polovine sedamdesetih godina prošlog veka, *D. subobscura* se može naći i na oba američka kontinenta, koje je uspešno i u relativno kratkom vremenskom roku kolonizovala (Ayala i sar., 1989). Danas je poznato da je prvo introdukovana u Južnu Ameriku, a nakon toga je nadjena i u Severnoj Americi. Pretpostavlja se da se radi o odvojenim osnivačkim događajima ili se, verovatnije, iz Južne Amerike proširila u Severnu (Pascual i sar., 2007). Eksperimentima hvatanja, obeležavanja i ponovnog hvatanja jedinki (eng. *mark-recapture*), je utvrđeno da je disperzija ove vrste visoka: rastojanje koje jedinke prelete tokom jednog perioda aktivnosti u proseku je 160 m (Taylor i sar., 1984; Serra i sar., 1987). Kolonizacija Južne Amerike je pokazala da disperzija ove vrste može biti i veoma brza, pošto je za manje od godinu dana osvojila 2000 km transekta u pravcu sever-jug (Prevosti i sar., 1988), a pri tome je i protok gena visok (Pascual i sar., 2001). Ovo je vrsta sa velikom adaptivnom fleksibilnošću, pošto su primerci ove vrste nađeni u oblastima sa različitim uslovima staništa i klime.

Jedinke vrste *D. subobscura* imaju holometabolno razviće, tako da ciklus razvića čine stadijumi: jaje, larva, lutka i imago (adult). Adulti su veličine oko 3 mm, i jasno je izražen polni dimorfizam: ženke su većih telesnih dimenzija u odnosu na mužjake. Poseduju po jedan par krila koji se razvija od ćelija imaginalnog diska krila, i pripadaju grupi endopterigotnih insekata koji prolaze kroz značajne morfološke promene tokom

metamorfoze u post-embriionalnoj fazi razvića (larva i lutka). Razviće od jaja do adulta kod ove vrste traje između 20 i 24 dana, u optimalnim laboratorijskim uslovima, a temperaturni optimum za ovu vrstu je 18° C (Krimbas, 1993). Istraživanja ponašanja su pokazala da ova vrsta ima termalnu preferenciju za 16,6° C, kada se stavi u linearni termalni gradijent (Rego i sar., 2010), a slična vrednost je dobijena i korišćenjem povezanih populacionih kaveza postavljenih na različitim temperaturama (Davis i sar., 1998). *D. subobscura* se opisuje kao monandrična, tj. ženke se pare samo jednom tokom života, dok se mužjaci pare više puta (Maynard Smith, 1956; Holman i sar., 2008), a karakteristično je da se ne pare u mraku (Anđelković i Marinković, 1983). Ova vrsta je polifagna vrsta kada je u pitanju ishrana larvi i može se smatrati generalistom (Krimbas, 1993).

Genom vrste *D. subobscura* sastoji se od akrocentrični hromozoma: jednog para tačkastih i pet pari štapićastih (Krimbas i Loukas, 1980). Genetička struktura prirodnih populacija ove vrste je opisana upotrebom nekoliko genetičkih markera (Anđelković i sar., 2003; Jelić i sar., 2009; Stamenković-Radak i sar., 2008 b, 2012), a najtemeljnije je izučena velika varijabilnost hromozomskog inverzionog polimorfizma, na svih pet štapićastih hromozoma, i njegov adaptivni značaj.

Zbog svojih osobina *Drosophila subobscura* je intenzivno korišćena vrsta u mnogim studijama populacione genetike, ali i u konzervacionoj, kvantitativnoj i evolucionoj genetici, ekologiji i fiziologiji insekata, genetici ponašanja, i u biologiji generalno (npr. Powell, 1997; Frankham, 2000; Prasad i Joshi, 2003; Burke i Rose, 2009).

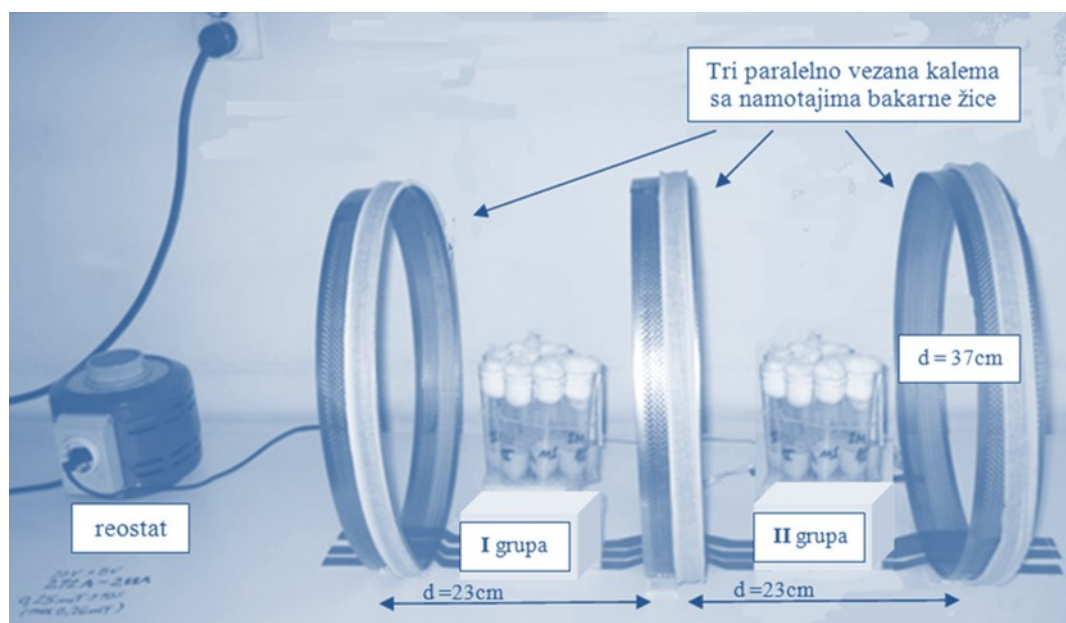
Formiranje laboratorijskih linija Drosophila subobscura

Jedinke vrste *Drosophila subobscura* korišćene u ovom radu su ulovljene u bukovo-jelovoj šumi na lokalitetu Gvozdac, na planini Goč (*Abieto-fagetum*, N 43°33'28.43" i E 20°45'10.96"). Mušice su uzorkovane iz prirode korišćenjem fermentisanih voćnih trapova, pomoću entomoloških mrežica, u periodu od 18-20 h. Ženke oplodene u prirodi su poslužile za formiranje pojedinačnih *isofemale* (IF) linija u laboratorijskim uslovima. One su pojedinačno stavljene u flakon sa po 15 ml, standardnog kukuruznog supstrata za *Drosophila*. Jedinke F1 generacije iz jednog flakona smatraju se potomcima u punom srodstvu (eng. „full-sibs“, braća i sestre), jer je utvrđeno da je višestruka inseminacija ženki vrste *D. subobscura* izuzetno retka (Loukas i sar., 1981). Potomstvo iz svake IF linije je masovno održavano kroz sedam generacija, a nakon izleganja potomstva sedme generacije, unutar svake IF linije su sakupljane neoplođene ženke i mužjaci, koji se nisu parili. Nakon parenja ženke sa jednim od pet ponuđenih mužjaka, po principu slučajnosti u okviru IF linije, pojedinačne oplodene ženke stavljane su na nov kukuruzni supstrat u flakon u cilju ostavljanja potomstva. Ukrštanja u punom srodstvu („full-sibs“) ponovljena su još tri puta u uzastopnim generacijama, u cilju dobijanja inbridingovanih linija $F_{S4} > 0.5$. Dobijene IF linije su predstavljale roditeljsku generaciju (P) sa kojima je dalje realizovan eksperiment.

Eksperimentalna procedura odvijala se u celosti u kontrolisanim, laboratorijskim uslovima optimalnim za vrstu *D. subobscura* na temperaturi od $19^{\circ}\text{C} \pm 0,5^{\circ}\text{C}$, pri relativnoj vlažnosti vazduha oko 60%, i intenzitetu svetlosti od 300 lux sa svetlosnim režimom 12h svetlost/ 12h mrak. Standardni kukuruzni supstrat za *Drosophila*, koji je korišćen kao hranljiva podloga, sastoji se od kukuruznog griza (8,54%), šećera (9,45%) agara (0,64%), suvog kvasca (1,82%) i fungicida (rastvor metil-4-hidroksibenzoata-Nipagin® u 96% etanolu).

Sistem za izlaganje elektromagnetnom polju

U eksperimentu je korišćeno homogeno elektromagnetno polje (50 Hz, 0,25 mT) generisano pomoću tri istovetna cilindrična kalema, prečnika od 37 cm, sa namotanom lakiranom bakarnom žicom. (Slika 3.1.). Kalemovi su paralelno povezani na rastojanju od 23 cm, a vezani su za reostat koji ih je napajao naizmeničnom strujom jačine 2,8 A, napona 25 V i frekvencije 50 Hz. Frekvencija od 50 Hz predstavlja “komercijalni” deo elektromagnetnog spektra u Evropi, pa je EMP pomenutih karakteristika izabrano s obzirom na činjenicu da se glavni izvori EMP ENF koji nas okružuju napajaju naponom sinusoidalnog oblika i frekvencije 50 Hz (dok se u severnoj Americi koristi frekvencija od 60 Hz). Unutar kalemova stvoreno je relativno homogeno magnetno polje sa vrednošću magnetne indukcije od 0,25 mT. Odstupanje unutar centralnog dela polja je bilo manje od $\pm 0,01$ mT. Intenzitet magnetne indukcije je meren i proveravan pomoću GM05 digitalnog gausmetra sa PT2837 sondom (Hirst Magnetic Instruments, Cornwall, UK). Tokom celog eksperimenta kontinuirano je praćena temperatura, i nije dolazilo do pregrevanja namotaja, niti do izazivanja neželjenih termičkih efekata.



Slika 3.1. Prikaz sistema za generisanje homogenog EMP ENF od 50 Hz i 0,25 mT, unutar koga su u smeštene ženke *D. subobscura* koje su polagale jaja (I grupa flakona) tokom 24h, i jaja i prvi stupnjevi larvalnog razvića (II grupa flakona) izlagani narednih 24h.

Dizajn eksperimenta

U cilju analiziranja uticaja EMP na jedinke *D. subobscura*, eksperimentalni dizajn je obuhvatao dve eksperimentalne grupe: jednu grupu su činile jedinke koje su deo svog razvića provele u elektromagnetnom polju od 50 Hz i 0,25 mT (u daljem tekstu: EMP grupa), a drugu su predstavljale jedinke smeštene u iste laboratorijske uslove, ali na dovoljno velikoj udaljenosti od primenjenog elektromagneta, gde se nije registrovao uticaj dodatnog elektromagnetnog polja (u daljem tekstu: kontrola).

Iz IF linija roditeljske generacije sakupljani su nevini mužjaci i ženke, koji su u okviru linije sparivani osmog dana starosti. Oplođene ženke su stavljane pojedinačno u flakone koji su smeštani ili u sistem za izlaganje elektromagnetnom polju (EMP grupa) ili izvan njegovog dejstva (kontrola). Tokom izlaganja EMP od 50 Hz oplođene ženke su držane u flakonima sa standardnim supstratom. Flakoni su postavljani na plastična postolja da bi bili smešteni u centralni deo magnetnog polja, a time se izbegao i kontakt flakona sa delovima sistema. Pošto je veći broj flakona stavljan u polje, da bi svi flakoni bili ravnomerno izloženi dejstvu polja, jednom dnevno su premeštani flakoni iz centra na obod grupacije flakona, i obrnuto. Sistem za izlaganje promenljivom EMP smešten je u prostoriju sa opisanim optimalnim laboratorijskim uslovima za *D. subobscura*.

Ženke su svakog dana prebacivane u flakone sa svežim supstratom, od trenutka uspešnog parenja sve do uginuća ženke. Flakoni sa supstratom u kojima su ženke iz EMP grupe 24 časa polagale jaja, nakon prebrojavanja jaja su vraćani u EMP, i u tim uslovima su ostavljani i naredna 24 časa. Na taj način je potomstvo ženki iz EMP grupe tokom embrionalne i rane postembrionalne faze razvića provelo ukupno 48 časova u EMP. Po završenom izlaganju u EMP ENF, flakoni sa tretiranim potomstvom su smeštani izvan dejstva EMP, gde je potomstvo kompletiralo svoje razviće. Ovaj postupak je ponovljen i u drugoj, i u trećoj eksperimentalnoj generaciji. Izleženo potomstvo iz prve generacije parentalna je generacija drugoj generaciji, čije je potomstvo parentalna generacija trećoj generaciji. Potomstvo je postavljano u okviru roditeljske eksperimentalne grupe, sa istom eksperimentalnom procedurom kako je opisano. Kontrolna i EMP eksperimentalna grupa su istovremeno postavljene i obe su prošle kroz isti proces manipulacija u istoj geomagnetnoj aktivnosti, i svi parametri su uporedo praćeni kroz tri sukcesivne generacije.

Komponente adaptivne vrednosti

Komponente adaptivne vrednosti koje su pojedinačno praćene su: fekunditet, dinamika polaganja jaja, dužina razvića, preživljavanje od jaja do adulta i dužina života ženki. Od ovih osobina fekunditet, stopa polaganja jaja i dužina života su osobine vezane za ženke, a za utvrđivanje produktivnosti tih ženki praćene su osobine dužina razvića i preživljavanje, koje su vezane za njihovo potomstvo. Ove komponente adaptivne vrednosti su analizirane u tri uzastopne generacije, za obe eksperimentalne grupe i u okviru svake zasebne IF linije, osim dužine života ženki, koja nije praćena u drugoj generaciji iz tehničkih razloga.

- *Fekunditet* predstavlja broj jaja koje ženka položi tokom životnog ciklusa. U ovom radu fekunditet je praćen od prvog do devetog dana nakon parenja ženki. Broj jaja koji su ženke položile tokom 24 h prebrojavan je pod binokularnom lupom. Za svaku ženku je kao vrednost fekunditeta korišćen ukupan broj položenih jaja tokom prvih devet dana nakon parenja.

- Na osnovu podataka o broju položenih jaja tokom 24 h izračunata je i *stopa polaganja jaja* (eng. *oviposition rate*), osobina koja ukazuje na period u kom ženke polažu veći broj jaja, a predstavljena je vrednošću broj dana po ženki. Ova vrednost je računata po formuli za aritmetičku sredinu podataka grupisanih u klase: $\sum f_i X_i / \sum f_i$, gde f_i predstavlja broj položenih jaja određenog i -tog dana, a X_i određeni dan, sa vrednostima od 1 do 9.

- *Dužina razvića* je praćena od 15-og dana nakon polaganja jaja. Nakon utvrđivanja broja položenih jaja, za svaku ženku su odabrana po tri uzastopna flakona sa ukupnim brojem položenih jaja preko 50. U svakom flakonu je beleženo vreme pojave prvog adulta, kao i dinamika izleganja adulta (broj izleglih jedinki) svaki dan u isto vreme. Smatra se da je izleganje adulta u jednom flakonu završeno kada nema novih adulta tokom perioda od 72 h. Prosečna vrednost broja dana izleganja adulta je izračunata na osnovu tri replike, za svaku ženku posebno. Dužina razvića računata je kao aritmetička sredina broja izleženih jedinki svakog dana (f_i), po formuli kao i za stopu polaganja jaja.

- *Preživljavanje jaje-adult* predstavlja odnos broja izleženih jedinki i broja položenih jaja, izražen u procentima. Veličina uzorka je jednaka kao i u slučaju brzine razvića, jer se prati odnos jaja i izleženih adulta u istim flakonima u kojima se prati i dužina razvića. Za svaku ženku je izračunata prosečna vrednost preživljavanja na osnovu vrednosti iz tri flakona sa položenim jajima, a koje predstavljaju takozvane *tehničke replike*.

- *Dužina života ženki* koje su korišćene za praćenje fekunditeta je praćena u prvoj i trećoj generaciji u slučaju obe eksperimentalne grupe. Ženke iz EMP grupe su od osmog dana života, nakon parenja, do kraja života izlagane EMP ENF. Dužina života je računata kao broj dana između prvog dana kada je položeno jaje (prvi dan života) i dana kada je utvrđeno da je jedinka uginula, računato sa tim poslednjim danom života. Mali broj podataka o dužini života ženki koje su pobile ili su usmrćene u toku manipulisanja sa njima, izuzet je iz analiza. Iz analize su izuzete i ženke koje su uginule pre 20-tog dana života, pošto predstavljaju mali procenat u uzorku, a njihova dužina života odstupa od ukupne distribucije vrednosti ove osobine.

Fenotipske korelacije

Većina osobina organizama varira zavisno jedna od druge, ali su određene kombinacije morfoloških, fizioloških osobina kao i osobina životne istorije povezane u većem stepenu nego što se može očekivati po principu slučajnosti. Postojanje određenih obrazaca korelacija između osobina može biti svojstveno zajedničkim obrascima razvića tih osobina koje ograničavaju promene u korelacionom odnosu tih osobina. Sa druge strane, selekcija može uticati na korelacione odnose, jer same genetičke korelacije nastaju delovanjem prirodne selekcije, pa se pre mogu smatrati adaptacijama nego ograničenjima (Cheverud, 1984).

Cilj korelacione analize je merenje intenziteta povezanosti između analiziranih komponenti adaptivne vrednosti i testiranje hipoteze da li je intenzitet veći nego što se

očekuje samo na osnovu slučajnosti. Pokazatelj stepena kvantitativnog slaganja između promenljivih predstavlja se koeficijentom korelacije, i u slučaju proste linearne veze, kao što su fenotipske korelacije, koristi se Pearson-ov koeficijent korelacije.

Za procenu fenotipskih korelacija između dve osobine unutar svake eksperimentalne grupe korišćen je Pearson-ov koeficijent korelacije izračunat na osnovu pojedinačnih vrednosti dve osobine. Koeficijent korelacije ukazuje na smer i stepen linearne povezanosti između dve osobine, i kreće se između vrednosti +1 do -1. Pozitivan znak ukazuje na pozitivnu vezu između posmatranih osobina, odnosno porast/pad vrednosti jedne varijable prati porast/pad vrednosti druge varijable. Negativan znak ukazuje na negativnu vezu između dve pojave, odnosno porast/pad vrednosti jedne varijable prati pad/porast vrednosti druge varijable. Pearsonov koeficijent korelacije predstavlja meru linearne zavisnosti, tj. jačine i smera povezanosti jedne promenljive od druge, a vrednosti Pearsonovog koeficijenta su testirane sa nivoom značajnosti $p < 0,05$.

Fenotipska plastičnost

Kvantifikovanje fenotipske plastičnosti se može izvršiti preko jednostavnih numeričkih mera plastičnosti, po metodi Schlichting-a (1986) kroz opseg, varijansu i koeficijent varijacije određene osobine između sredina, ili po metodi Cheplick-a (1995) preko indeksa plastičnosti i koeficijenta varijacije indeksa plastičnosti. Glavni statistički metod analize fenotipske plastičnosti je analiza varijanse (Pigliucci, 2001).

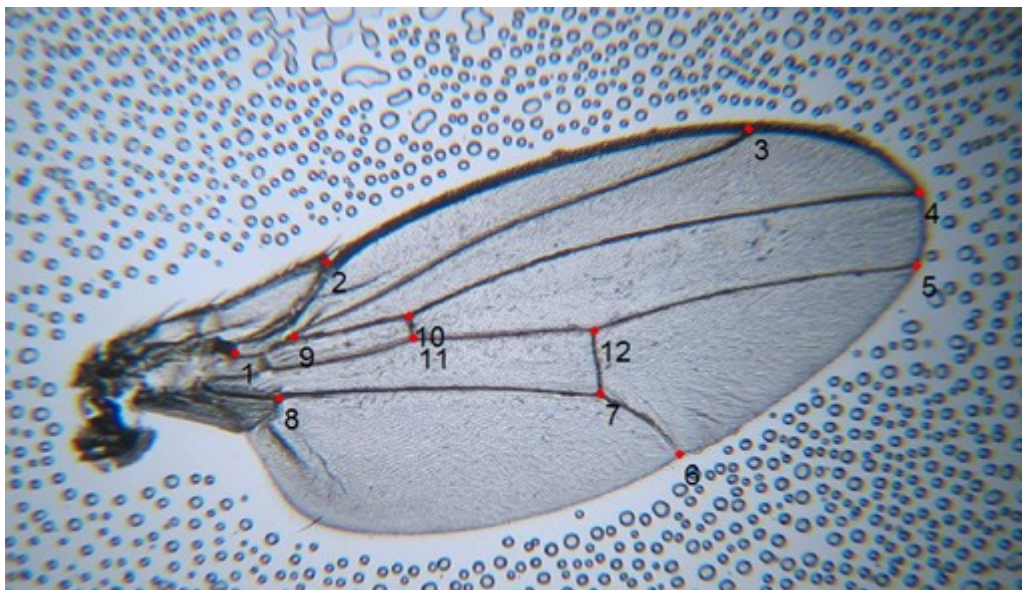
Fenotipska plastičnost predstavlja merljivu varijaciju, a statističko merenje te varijacije je analiza varijanse koja kvantifikuje odstupanja od srednje vrednosti. Ukupna fenotipska varijansa neke osobine može biti podeljena na genetičku varijansu (deo fenotipske varijacije pripisan genima), sredinsku varijansu (udeo varijacije uzrokovan spoljašnjom sredinom), interakciju genotipa i sredine (genetička varijabilnost fenotipske plastičnosti), i varijansu iz drugih izvora (uključuje varijansu razvojnog šumu, greške merenja i ostalo).

Geometrijsko-morfometrijska analiza veličine i oblika krila

U analizi varijabilnosti komponenti metričkih karaktera, geometrijska morfometrija predstavlja pristup koji se pokazao veoma uspešnim u kvantifikovanju suptilnih fenotipskih varijacija forme, što je korisno u definisanju i rešavanju širokog spektra bioloških problema. Dvodimenzionalna geometrijsko-morfometrijska analiza je posebno pogodna za analizu ravnih struktura kakva su krila insekata. Proučavanjem oblika i veličine krila ustanovljeno je da su metrički parametri krila, veličina i oblik, uključujući raspored vena na krilu, dovoljno konzervativni i stabilni karakteri, pa je ova metoda korisna u taksonomiji, u ispitivanju procesa razvića, a predstavlja i pogodan sistem i za praćenje uticaja sredinskih faktora.

Za analizu fenotipske varijabilnosti krila korišćeni su odvojeno mužjaci i ženke svih IF linija iz obe eksperimentalne grupe, zbog jasno definisanog polnog dimorfizma kod ove vrste. Analizirano je od 30 do 50 jedinki za svaki pol odvojeno, po svakoj IF liniji u obe eksperimentalne grupe u potomstvu P i F₂ generacije. Na svakom pojedinačnom krilu analizirana su dva metrička karaktera: veličina i oblik krila. Odrasle jedinke su sakupljane za svaku IF liniju i zamrzavane na -20°C. Desno krilo je pincetama odvajano od ostatka tela mušice i fiksirano na predmetno staklo sa dvostrano-lepljivom trakom, pa su krila koja su poređana na jednoj pločici zaštićena pokrovnim ljuspicama. Na taj način su napravljeni trajni preparati krila. Svako krilo je fotografisano uz pomoć sistema Cannon digitalne kamere i Leica stereomikroskopa, uveličanjem od 40x. Određivanje morfometrijskih parametara krila je izvršeno na digitalnim fotografijama rezolucije 96x96 dpi, pomoću različitih programa iz Tps softverskog paketa, koji su dostupni na internet adresi: <http://life.bio.sunysb.edu/morph>. Vrednosti krila beležene su u pikselima.

Za poređenje veličine i oblika krila potomstva tretiranih i netretiranih jedinki iz prve i treće eksperimentalne generacije korišćeno je dvanaest tačaka (landmarks), na svakom krilu obeleženih u programu tps Dig2, verzija 2.17. Tačke su raspoređene određenim redosledom, na mestima ukrštanja i završetka krilnih vena, tako da je ovim tačkama oduhvaćena cela površina krila (*Slika 3.2.*).



Slika 3.2. Fotografija uvećanog desnog krila D. subobscura sa fiksiranim rasporedom 12 tačka korišćenih u geometrijsko - morfometrijskoj analizi krila

Statistička analiza podataka

Kompletna statistička analiza podataka dobijenih u ovom eksperimentu je sprovedena korišćenjem programa Statistica for Windows 5.0 (StatSoft Inc., USA).

Pregled osnovnih komponenti deskriptivne statistike za obe eksperimentalne grupe kroz generacije, a za veličinu i oblik krila i po polovima, obuhvata: srednju vrednost osobine sa standardnom greškom ($\bar{X} \pm S.E.$), opseg registrovanja date osobine predstavljen najmanjom i najvećom zabeleženom vrednošću osobine (min – max), kao i koeficijent varijacije (CV) koji predstavlja standardizovanu meru varijacije date osobine u odnosu na njenu srednju vrednost, čime se dobija informacija o veličini variranja osobina uz eliminisanje uticaja „skale merenja”, tj. srednje vrednosti osobine. Srednja vrednost je prikazana kao mera centralne tendencije, dok su standardna greška i koeficijent varijacije prikazani kao mera disperzije. Za poređenje koeficijenata varijacije je korišćen Fligner-Killeen test (Fligner i Killeen, 1976; Donnelly i Kramer, 1999), u PAST programu (Hammer et al., 2001).

- *Statistička analiza komponenti adaptivne vrednosti*

Statistička obrada rezultata dobijenih u analizi komponenti adaptivne vrednosti bazirana je na vrednostima za svaku ženku, na uzorku od tri do šest ženki za svaku IF liniju, u tri generacije u kontrolnoj i EMP eksperimentalnoj grupi. Podaci za sve komponente adaptivne vrednosti su prvo testirane na normalnost raspodele. Za testiranje normalne distribucije nizova podataka u okviru grupa korišćen je neparametarski Jarque-Berra test, a pošto su dobijeni podaci za posmatrane komponente adaptivne vrednosti imali normalnu raspodelu nije bila potrebna njihova transformacija.

Za svaku od komponenti adaptivne vrednosti urađena je analiza varijanse (ANOVA). Prvo je urađena dvofaktorska analiza varijanse, za faktore *tretman* i *IF linija* kao mogućim izvorima varijabilnosti. Da bi se utvrdila mogućnost postojanja razlika između generacija, urađena je i trofaktorska analiza varijanse u koju je kao mogući izvor varijabilnosti uveden i faktor *generacija*. U razmatranju značajnosti rezultata u dvo- i trofaktorskoj analizi varijanse primenjen je post-hoc Fisherov LSD test, koji predstavlja test najmanje značajne razlike (eng. *least significant difference test*) između bilo kog para srednjih vrednosti za stepen značajnosti od 0,05.

Fenotipska plastičnost odabranih komponenti adaptivne vrednosti procenjena je dvofaktorskom analizom varijanse u pojedinačnim generacijama. Statistička značajnost faktora *tretman* ukazuje na plastičnost genotipova, odnosno pokazuje da genotipovi ispoljavaju različit fenotip u sredini sa EMP ENF u odnosu na kontrolne uslove. Statistička značajnost za interakciju faktora *tretman* (sredina, E) i *IF linija* (genotipa, G) ukazuje na postojanje varijabilnosti fenotipske plastičnosti analizirane osobine.

Kao grafički prikaz fenotipske plastičnosti prikazane su norme reakcije za posmatrane komponente adaptivne vrednosti, da bi se sagledala interakcija analiziranih genotipova i sredinskih uslova. Norme reakcije su predstavljene srednjim vrednostima analizirane osobine svake IF linije, odnosno pojedinačnog genotipa, ispoljene u obe eksperimentalne grupe: u kontroli i EMP ENF. Stepennagiba norme reakcije ukazuje na veličinu fenotipske plastičnosti analizirane osobine i ukazuje na značajan efekat sredinskih uslova u formiranju fenotipa, dok pravac funkcionalne zavisnosti osobine od sredinskih faktora (pozitivan ili negativan nagib) opisuje obrazac plastičnosti svakog genotipa.

- *Statistička analiza u geometrijskoj-morfometriji krila*

Promena veličine krila usled dejstva promenljivog elektromagnetnog polja kao sredinskog faktora, analizirana je parametrom veličina centroida (eng. *centroid size*, CS). Centroidna veličina predstavlja geometrijsku meru veličine nekog objekta, a računa se kao kvadratni koren zbira kvadrata rastojanja između svake tačke i centra konfiguracije, u programu tps Relw 1.44 (Rohlf, 2006).

U analizi varijanse veličine krila primenjena je trofaktorska ANOVA za faktore *tretman*, *IF linija* i *pol*, kao mogućim izvorima varijabilnosti, u okviru prve i treće generacije. Urađena je i četvorofaktorska ANOVA u koju je kao mogući izvor varijabilnosti uveden i faktor *generacija*, da bi se utvrdile eventualne razlike u veličini krila između posmatranih generacija.

Varijabilnost oblika krila analizirana je Prokrustes analizom kojom se upoređuju tačke na desnom krilu svake jedinke, na osnovu w matrice (eng. *weight matrix*, wm). dobijene programom tps Relw 1.44. Krila su prvo GPA procedurom (Generalized Procrustean Analysis) rotirana, postavljena u isti položaj i skalirana u cilju eliminisanja veličinske komponente i dobijanja usaglašenog oblika (*consensus configuration*). Potom je ukupna varijabilnost oblika krila razdvojena na globalnu i lokalizovanu komponentu oblika. Izračunati ortogonalni vektori obe komponente (*principal* i *partial warps*) koji reflektuju sva moguća odstupanja pojedinačnih krila od usaglašenog oblika, su zabeleženi u matricama. Te dobijene nove koordinate iz w matrice su korišćene kao varijable oblika krila u multivarijantnoj analizi varijanse (MANOVA). MANOVA sa faktorima *tretman*, *IF linija* i *pol*, kao mogućim izvorom varijabilnosti oblika krila primenjena je u prvoj i trećoj generaciji, dok je četvorofaktorska MANOVA sa dodatim faktorom *generacija* korišćena da bi se pokazale promene u obliku krila između tretmana, IF linija, pola i generacija.

Da bi se stekao utisak o ukupnoj varijabilnosti uzorka primenjena je analiza glavnih komponenti (PCA) na osnovu kovarijacionih matrica u MORPHOJ v. 1.06a (Klingenberg, 2011). Ova analiza prevodi skup promenljivih koje opisuju uzorak u skup novih promenljivih, koje se označavaju kao glavne komponente. Ove komponente nisu međusobno korelisane i sukcesivno opisuju sve manji procenat ukupne varijabilnosti.

Efekat
elektromagnetnog polja (50 Hz, 0,25 mT)
na komponente adaptivne vrednosti
i morfometriju krila
kod *Drosophila subobscura*
Collin, 1936 (Insecta, Diptera)

R E Z U L T A T I

U ovoj studiji prikazane su dve grupe rezultata koje se odnose na *in vivo* ispitivanje uticaja EMP ENF (0,25 mT, 50 Hz) na komponente adaptivne vrednosti i morfometrijske karakteristike krila jedinki IF linija *Drosophila subobscura*.

U prvu grupu spadaju rezultati dobijeni u okviru ispitivanja uticaja EMP ENF na komponente adaptivne vrednosti jedinki IF linija *D. subobscura*: fekunditet, stopa polaganja jaja, dužina razvića, preživljavanje i dužina života ženki, praćeni kroz sve tri generacije, osim u slučaju dužine života ženki koje su posmatrane u prvoj i trećoj generaciji. U okviru ove grupe rezultata analizirane su i fenotipske korelacije između datih komponenti adaptivne vrednosti unutar svake eksperimentalne grupe, kao i varijabilnost fenotipske plastičnosti analiziranih komponenti adaptivne vrednosti.

Drugu grupu čine rezultati morfometrijske analize krila jedinki IF linija *D. subobscura* u pogledu fenotipskih karakteristika veličine i oblika krila jedinki iz prve i treće generacije iz kontrolnih uslova i u prisustvu EMP ENF.

Za sve posmatrane komponente adaptivne vrednosti i morfometrijske osobine dat je tabelaran pregled deskriptivne statistike, kao i rezultati analize varijanse.

Analiza komponenti adaptivne vrednosti

U ovom delu eksperimenta u analizu podaca su ušli rezultati dobijeni iz devet IF linija *D. subobscura*, sa tri do šest ženki unutar svake linije koje predstavljaju biološke replike. Eksperiment je postavljen sa 15 IF linija u obe eksperimentalne grupe, ali je broj linija i njihovih bioloških replika opadao tokom generacija. Na kraju eksperimenta su izabrani kao adekvatni podaci devet IF linija koje su imale u sve tri generacije i u svim analiziranim osobinama najmanje po tri biološke replike za statističku analizu rezultata. Tokom tri sukcesivne generacije podaci od ukupno 106 ženki u kontrolnoj i 115 ženki u EMP grupi su korišćeni u statističkoj obradi podataka. Za osobine dužina razvića i preživljavanje od jaja do adulta u analizu su bile uključene i po tri tehničke replike po svakoj ženki.

Fekunditet

Fekunditet predstavlja jednu od osnovnih komponenti adaptivne vrednosti, a koja je ovde predstavljena ukupnim brojem položenih jaja u prvih devet dana nakon oplodnje, za svaku analiziranu ženku. Pregled srednjih vrednosti, opsega minimalne i maksimalne zabeležene vrednosti i koeficijenta varijacije za fekunditet ženki iz kontrolne i grupe tretirane EMP ENF, u prvoj, drugoj i trećoj generaciji je prikazan u Tabeli 4.1.

Tabela 4.1. Deskriptivna statistika za fekunditet (ukupan broj položenih jaja tokom devet dana) u tri sukcesivne generacije grupe jedinki *D. subobscura* gajenih u standardnim uslovima (kontrolna grupa) i grupe gajene u uslovima EMP ENF (0,25 mT, 50 Hz) (EMP grupa)

eksperimentalna grupa	generacija	$\bar{X} \pm S.E.$	min - max	CV (%)
Kontrola	I	173,32 \pm 9,84	61 - 307	36,34
	II	220,26 \pm 15,84	69 - 388	42,54
	III	191,82 \pm 13,81	60 - 373	38,78
EMP	I	197,93 \pm 11,90	38 - 385	39,89
	II	222,41 \pm 15,53	87 - 417	40,71
	III	174,00 \pm 12,26	35 - 307	41,08

\bar{X} - srednja vrednost; S.E. - standardna greška; CV - koeficijent varijacije

U Tabeli 4.1. se može uočiti da dobijene vrednosti fekunditeta variraju između eksperimentalnih grupa i posmatranih generacija. Kontrolna i EMP grupa imaju različiti trend za vrednost fekunditeta tokom generacija: u prvoj generaciji jedinke iz EMP grupe imaju veću prosečnu vrednost fekunditeta u odnosu na jedinke iz kontrole. U drugoj generaciji, prosečne vrednosti fekunditeta su slične, ali je u trećoj generaciji u EMP grupi prosečna vrednost broja položenih jaja niža nego u kontrolnoj grupi.

Jedinke iz EMP grupe u prvoj generaciji imaju veći opseg između zabeležene minimalne i maksimalne vrednosti u odnosu na kontrolnu grupu. U prvoj i trećoj eksperimentalnoj generaciji jedinke iz EMP grupe imaju značajno niže minimalne vrednosti, dok u slučaju prve i druge generacije imaju više maksimalne vrednosti za broj položenih jaja u prvih devet dana nakon oplodnje. Koeficijent varijacije za ovu osobinu je relativno visok u svim analiziranim grupama, ali je i dosta ujednačen, pa Fligner-Killeen testom nisu dobijene statistički značajne razlike za CV, ni unutar ni

između eksperimentalnih grupa. U ovom radu najniža vrednost koeficijenta varijacije za fekunditet je u kontrolnoj grupi u prvoj generaciji (36,34%), dok je najviša vrednost (42,54%) takođe u kontrolnoj grupi u drugoj generaciji. Dobijene vrednosti CV u EMP grupi se kreću u okviru tih vrednosti, ali se može uočiti da imaju međusobno bliske vrednosti tokom generacija, koje pokazuju slabi trend rasta.

Pregled srednjih vrednosti fekunditeta za svaku analiziranu IF liniju *D. subobscura* posebno dat je u Tabeli 4.2., gde se mogu uočiti vrednosti za pojedinačne IF linije u pogledu ukupnog broja položenih jaja u prvih devet dana u kontrolnoj i EMP grupi kroz sve tri sukcesivne generacije.

Tabela 4.2. Srednja vrednost i standardna greška ($\bar{X} \pm S.E.$) fekunditeta (broj jaja) pojedinačnih IF linija *D. subobscura*, u tri uzastopne generacije u kontrolnoj i EMP grupi

IF linija	I generacija		II generacija		III generacija	
	kontrola	EMP	kontrola	EMP	kontrola	EMP
3	162,80 ± 30,82	234,00 ± 14,63	226,25 ± 43,00	227,50 ± 25,27	192,33 ± 47,85	160,50 ± 32,09
12	162,00 ± 6,15	141,80 ± 34,02	162,33 ± 64,06	299,67 ± 27,82	191,33 ± 9,39	138,50 ± 20,50
29	150,60 ± 18,54	192,00 ± 33,99	171,25 ± 41,42	204,67 ± 20,92	121,00 ± 8,66	185,60 ± 32,14
52	129,50 ± 20,19	138,50 ± 36,45	153,50 ± 35,93	211,20 ± 27,72	101,33 ± 33,65	144,33 ± 36,97
56	196,60 ± 31,83	237,00 ± 28,66	322,60 ± 30,45	200,25 ± 72,67	205,00 ± 24,43	208,75 ± 24,73
76	276,75 ± 26,00	278,80 ± 31,26	294,50 ± 3,95	190,67 ± 87,46	218,75 ± 44,96	152,67 ± 76,80
124	213,00 ± 25,94	247,75 ± 31,18	313,67 ± 41,60	287,00 ± 61,27	229,00 ± 73,43	203,25 ± 52,95
141	147,20 ± 23,88	116,80 ± 25,58	139,00 ± 21,86	132,33 ± 30,37	214,75 ± 31,72	184,00 ± 39,99
143	169,20 ± 28,34	193,67 ± 26,47	182,50 ± 29,5	242,00 ± 36,11	236,33 ± 31,50	158,80 ± 25,70

Za ispitivanje razlika u vrednostima fekunditeta korišćena je dvofaktorska ANOVA kojom je testiran efekat tretmana i IF linija u okviru svake generacije. Rezultati dvofaktorske analize varijanse za vrednosti fekunditeta za svaku generaciju posebno su prikazani u Tabeli 4.3., 4.4. i 4.5.

Tabela 4.3. Dvofaktorska ANOVA za fekunditet jedinki IF linija *D. subobscura* iz kontrolne i EMP grupe u prvoj generaciji

izvor varijabilnosti	df efekat	MS efekat	F	p-nivo
tretman	1	7621	2,14	0,148
IF linija	8	20769	5,83	0,000 ***
tretman x IF linija	8	2499	0,70	0,689
greška	67	3560		

df- stepeni slobode; MS - srednja vrednost kvadrata; F - vrednost F testa; p-nivo - nivo značajnosti, p<0,001***

Tabela 4.4. Dvofaktorska ANOVA za fekunditet jedinki IF linija *D. subobscura* iz kontrolne i EMP grupe u drugoj generaciji

izvor varijabilnosti	df efekat	MS efekat	F	p-nivo
tretman	1	180	0,03	0,869
IF linija	8	15933	2,43	0,026 *
tretman x IF linija	8	12365	1,88	0,083
greška	51	6567		

df- stepeni slobode; MS -srednja vrednost kvadrata; F -vrednost F testa;
p-nivo -nivo značajnosti, $p < 0,05^*$

Tabela 4.5. Dvofaktorska ANOVA za fekunditet jedinki IF linija *D. subobscura* iz kontrolne i EMP grupe u trećoj generaciji

izvor varijabilnosti	df efekat	MS efekat	F	p-nivo
tretman	1	5570	1,00	0,323
IF linija	8	5669	1,02	0,436
tretman x IF linija	8	3999	0,72	0,674
greška	45	5568		

df- stepeni slobode; MS - srednja vrednost kvadrata; F - vrednost F testa;
p-nivo - nivo značajnosti

Dobijeni rezultati pokazuju da u prvoj i drugoj generaciji postoje statistički značajne razlike u pogledu fekunditeta između IF linija, dok u trećoj generaciji razlike između analiziranih IF linija ne postoje. LSD post-hoc analize za faktor *IF linija* u prvoj i u drugoj generaciji su pokazale postojanje razlika između pojedinačnih IF linija u njihovim vrednostima za fekunditet, i to pre svega, u prvoj generaciji za liniju 76 sa najvišom srednjom vrednošću fekunditeta, a u drugoj generaciji za liniju 141 sa najmanjom srednjom vrednošću fekunditeta u odnosu na vrednosti fekunditeta ostalih analiziranih IF linija (Tabela 4.2.).

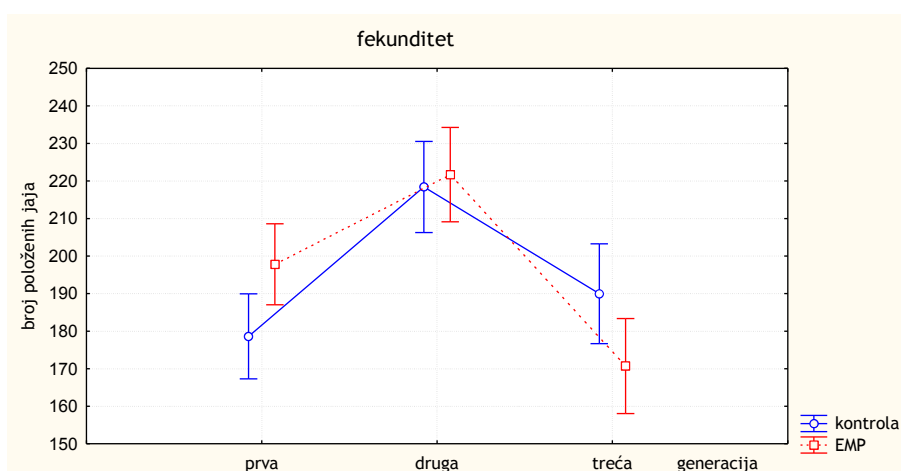
Rezultati trofaktorske analize varijanse fekunditeta, u koju je pored faktora *tretman* i *IF linija*, uključen i faktor *generacija*, prikazani su u Tabeli 4.6. Dobijeni rezultati pokazuju da između kontrolne i EMP grupe nema značajne razlike u fekunditetu, da EMP kao sredinski faktor ne utiče na ovu osobinu, a da značajan efekat na vrednost fekunditeta imaju genetička osnova analiziranih IF linija i posmatrana generacija.

Tabela 4.6. Trofaktorska analiza varijanse za osobinu fekunditet jedinki *D. subobscura* iz kontrolne i EMP grupe iz sve tri sukcesivne generacije

izvor varijabilnosti	df efekat	MS efekat	F	p-nivo
tretman	1	59	0,01	0,914
generacija	2	28979	5,73	0,004 **
IF linija	8	28865	5,71	0,000 ***
tretman x generacija	2	6433	1,27	0,283
tretman x IF linija	8	6086	1,20	0,300
generacija x IF linija	16	6194	1,22	0,254
tretman x generacija x IF linija	16	6485	1,28	0,214
greška	163	5055		

df- stepeni slobode; MS - srednja vrednost kvadrata; F - vrednost F testa; p-nivo - nivo značajnosti: $p < 0,01$ **; $p < 0,001$ ***

IF linije se među sobom značajno razlikuju po srednjim vrednostima za broj položenih jaja ($p < 0,001$), i post-hoc analiza LSD testom za faktor *IF linija* je pokazala da najveće razlike u fekunditetu u odnosu na druge linije pokazuju linije 76 i 124. Post-hoc analiza varijanse za faktor *generacija* je pokazala značajne međugeneracijske razlike: vrednosti fekunditeta u drugoj generaciji su značajno veće u poređenju sa prvom i trećom generacijom ($p < 0,01$), što se može videti na *Slici 4.1*. Na istoj slici se uočava da, iako postoje razlike između generacija u srednjim vrednostima fekunditeta, obe eksperimentalne grupe imaju isti trend kroz sve tri generacije, kao i da u prvoj generaciji nešto više vrednosti fekunditeta imaju jedinke iz EMP grupe, a u trećoj generaciji jedinke iz kontrolne grupe, ali i da izlaganje EMP nema statistički značajan efekat na ovu komponentu adaptivne vrednosti.



Slika 4.1. Srednje vrednosti fekunditeta (broj jaja) jedinki *D. subobscura* iz kontrolne i EMP eksperimentalne grupe kroz tri sukcesivne generacije

Stopa polaganja jaja

Pregled srednjih vrednosti, opsega od minimalne do maksimalne zabeležene vrednosti i koeficijenta varijacije za osobinu stopa polaganja jaja za jedinke *D. subobscura* iz kontrolne i EMP grupe kroz tri sukcesivne generacije, dat je u Tabeli 4.7. Stopa polaganja jaja (eng. *oviposition rate*) je komponenta adaptivne vrednosti koja ukazuje na vremenski period u kom ženke polažu veći broj jaja. U slučaju da ženka polaže jaja vremenski potpuno ravnomerno tokom posmatranog perioda, od prvog do devetog dana, taj broj bi bio 4,5 dana. U Tabeli 4.7. se uočava da su prosečne vrednosti za stopu polaganja jaja u obe eksperimentalne grupe kroz sve tri generacije oko šestog dana, pošto su jedinke *D. subobscura* polagale veći broj jaja u drugoj polovini posmatranog devetodnevnog perioda.

Tabela 4.7. Deskriptivna statistika za stopu polaganja jaja (izraženo brojem dana) u tri uzastopne generacije grupe jedinki *D. subobscura* gajenih u standardnim uslovima (kontrola) i grupe gajene u uslovima EMP ENF (0,25 mT, 50 Hz) (EMP grupa).

eksperimentalna grupa	generacija	$\bar{X} \pm S.E.$	min - max	CV (%)
Kontrola	I	6,45 \pm 0,11	4,59 - 7,92	11,2
	II	5,41 \pm 0,09	3,94 - 6,35	9,26
	III	5,62 \pm 0,13	3,66 - 7,00	12,76
EMP	I	6,24 \pm 0,09	5,24 - 7,80	9,03
	II	5,48 \pm 0,10	3,91 - 6,68	11,32
	III	5,84 \pm 0,11	4,32 - 6,84	9,96

\bar{X} - srednja vrednost; S.E. - standardna greška; CV - koeficijent varijacije

U obe eksperimentalne grupe srednja vrednost stope polaganja jaja posmatrana kroz generacije je najveća u prvoj, značajno opada u drugoj, a slabije raste u trećoj generaciji. Koeficijent varijacije ove osobine ima različit obrazac u obe eksperimentalne grupe. Vrednost CV odstupa u drugoj generaciji, ali je ona u kontrolnoj grupi niža, dok je u EMP grupi viša, u odnosu na unutargrupne vrednosti CV za prvu i treću generaciju. Statistički značajne razlike između koeficijenata varijacije za stopu polaganja jaja između kontrolne i EMP grupe ne postoje, kao ni unutar eksperimentalnih grupa između generacija.

Pregled srednjih vrednosti za stopu polaganja jaja za svaku analiziranu IF liniju *D. subobscura* u obe eksperimentalne grupe kroz tri generacije dat je u Tabeli 4.8.

Tabela 4.8. Srednje vrednosti \pm standardna greška ($\bar{X} \pm S.E.$, u danima) za stopu polaganja jaja (u danima) pojedinačnih IF linija *D. subobscura*, u tri uzastopne generacije u kontrolnoj i EMP eksperimentalnoj grupi

IF linija	I generacija		II generacija		III generacija	
	kontrola	EMP	kontrola	EMP	kontrola	EMP
3	7,00 \pm 0,33	6,60 \pm 0,18	5,54 \pm 0,04	5,45 \pm 0,26	5,65 \pm 0,50	6,26 \pm 0,30
12	6,39 \pm 0,45	6,50 \pm 0,23	5,30 \pm 0,29	5,72 \pm 0,33	5,50 \pm 0,30	5,43 \pm 0,02
29	6,47 \pm 0,20	6,24 \pm 0,30	5,91 \pm 0,27	5,76 \pm 0,28	5,91 \pm 0,40	6,08 \pm 0,21
52	6,68 \pm 0,48	6,31 \pm 0,74	5,90 \pm 0,14	6,01 \pm 0,17	6,03 \pm 0,43	6,11 \pm 0,25
56	6,44 \pm 0,32	6,40 \pm 0,22	5,38 \pm 0,16	4,97 \pm 0,48	5,47 \pm 0,26	5,99 \pm 0,30
76	5,58 \pm 0,34	5,90 \pm 0,15	5,41 \pm 0,22	5,29 \pm 0,15	5,26 \pm 0,41	5,50 \pm 0,55
124	6,32 \pm 0,07	5,84 \pm 0,04	5,18 \pm 0,11	5,43 \pm 0,67	6,03 \pm 0,33	6,25 \pm 0,18
141	6,34 \pm 0,08	6,30 \pm 0,26	5,61 \pm 0,34	5,16 \pm 0,33	5,79 \pm 0,11	5,46 \pm 0,26
143	6,53 \pm 0,16	6,04 \pm 0,19	5,11 \pm 0,39	5,48 \pm 0,17	4,99 \pm 0,50	5,39 \pm 0,22

U Tabelama 4.9., 4.10. i 4.11. su prikazani rezultati dvofaktorske analize varijanse za analiziranu komponentu adaptivne vrednosti sa faktorima *tretman* i *IF linija*, za jedinke IF linija *D. subobscura* iz kontrolne i EMP eksperimentalne grupe u svakoj generaciji posebno.

Tabela 4.9. Dvofaktorska ANOVA za stopu polaganja jaja jedinki IF linija *D. subobscura* iz kontrolne i EMP grupe u prvoj generaciji

izvor varijabilnosti	df efekat	MS efekat	F	p-nivo
tretman	1	0,65	1,60	0,210
IF linija	8	0,78	1,92	0,071
tretman x IF linija	8	0,18	0,46	0,881
greška	67	0,40		

df- stepeni slobode; MS - srednja vrednost kvadrata; F - vrednost F testa;
p-nivo - nivo značajnosti

Tabela 4.10. Dvofaktorska ANOVA za stopu polaganja jaja jedinki IF linija *D. subobscura* iz kontrolne i EMP grupe u drugoj generaciji

izvor varijabilnosti	df efekat	MS efekat	F	p-nivo
tretman	1	0,01	0,00	0,958
IF linija	8	0,55	1,79	0,100
tretman x IF linija	8	0,19	0,61	0,762
greška	51	0,31		

df- stepeni slobode; MS - srednja vrednost kvadrata; F - vrednost F testa;
p-nivo - nivo značajnosti

Tabela 4.11. Dvofaktorska ANOVA za stopu polaganja jaja jedinki IF linija *D. subobscura* iz kontrolne i EMP grupe u trećoj generaciji

izvor varijabilnosti	df efekat	MS efekat	F	p-nivo
tretman	1	0,51	1,30	0,260
IF linija	8	0,80	2,04	0,063
tretman x IF linija	8	0,15	0,38	0,923
greška	44	0,39		

df- stepeni slobode; MS - srednja vrednost kvadrata; F - vrednost F testa;
p-nivo - nivo značajnosti, $p < 0,05^*$

Rezultati dvofaktorske analize varijanse za svaku generaciju pojedinačno pokazuju da za posmatranu osobinu nema razlike ni usled dejstva EMP ENF (faktor *tretman*), ni zbog različite genetičke strukture linija (faktor *IF linija*).

Da bi testirali i međugeneracijski efekat za stopu polaganja jaja jedinki IF linija *D. subobscura* iz kontrolnih i uslova veštačkog EMP urađena je trofaktorska analiza varijanse, sa faktorima *tretman*, *IF linija* i *generacija*, a rezultati su prikazani u Tabeli 4.12. Kao i u slučaju fekunditeta, trofaktorska ANOVA je pokazala da statistički značajna razlika u stopi polaganja jaja postoji za faktore *generacija* i *IF linija*.

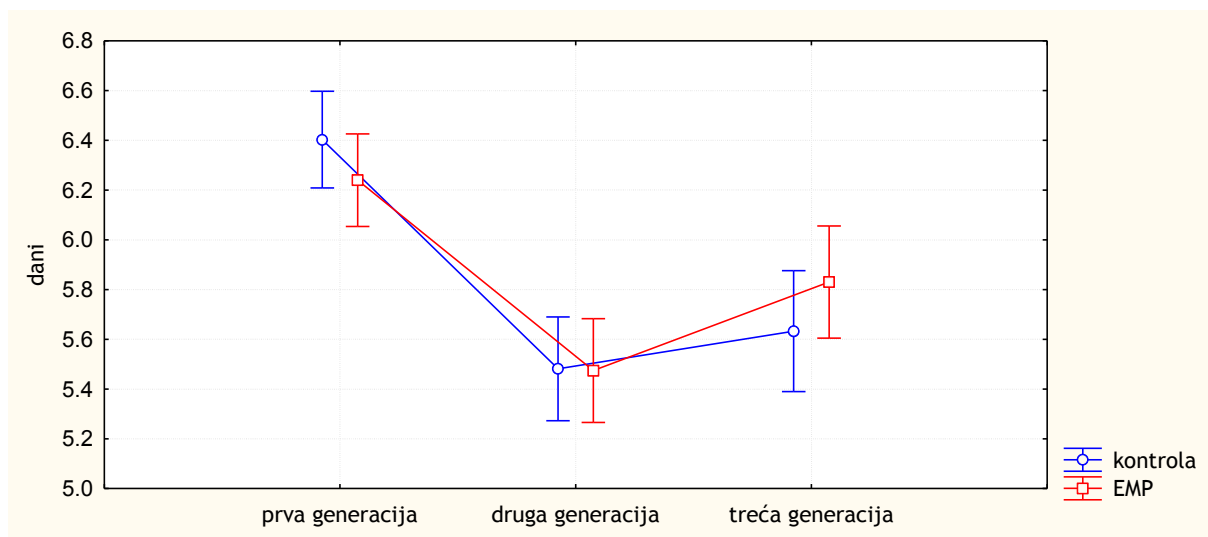
Tabela 4.12. Trofaktorska analiza varijanse za osobinu stopa polaganja jaja jedinki *D. subobscura* iz kontrolne i EMP grupe iz sve tri generacije

izvor varijabilnosti	df efekat	MS efekat	F	p-nivo
tretman	1	0,001	0,00	0,961
generacija	2	14,15	34,85	0,000 ***
IF linija	8	1,20	3,56	0,002 ***
tretman x generacija	2	0,56	1,74	0,221
tretman x IF linija	8	0,10	0,26	0,978
generacija x IF linija	16	0,43	1,25	0,314
tretman x generacija x IF linija	16	0,21	0,73	0,909
greška	162	0,37		

df- stepeni slobode; MS - srednja vrednost kvadrata; F - vrednost F testa;
p-nivo - nivo značajnosti, $p < 0,001^{***}$

Post-hoc analiza faktora *generacija* je pokazala da postoji statistički značajna razlika u stopi polaganja jaja između generacija, i to sa nivoom značajnosti $p < 0,001$ između prve i druge, kao i prve i treće, i sa nivoom značajnosti $p < 0,01$ između druge i treće generacije. Kada se analizira LSD testom interakcija *tretman x generacija* rezultati pokazuju da u okviru generacije između kontrole i EMP grupe ne postoji statistički značajna razlika u pogledu stope polaganja jaja.

Na *Slici 4.2.* su grafički prikazane srednje vrednosti sa standardnom greškom za stopu polaganja jaja kontrolne i EMP eksperimentalne grupe u tri generacije. Može se uočiti da postoji isti trend u obe eksperimentalne grupe kroz generacije, kao i da EMP ENF na ovu komponentu adaptivne vrednosti kod jedinki *D. subobscura* nema uticaja.



Slika 4.2. Srednje vrednosti za stopu polaganja jaja, jedinki *D. subobscura* za kontrolnu i EMP eksperimentalnu grupu, kroz tri sukcesivne generacije

Uočeni trend stope polaganja jaja kroz tri uzastopne generacije je recipročan u odnosu na uočeni trend kod fekunditeta: u drugoj generaciji fekunditet značajno raste dok stopa polaganja jaja značajno opada. To pokazuje da u drugoj generaciji raste broj polaženih jaja u obe eksperimentalne grupe, i da se jaja ravnomernije polažu tokom posmatranog perioda, pa su vrednosti za stopu polaganja jaja značajno niže u odnosu na prvu i treću generaciju, kada je polagano više jaja tokom poslednjih dana posmatranog perioda.

Dužina razvića

Pregled deskriptivne statistike sa srednjom vrednošću, opsegom minimalne i maksimalne zabeležene vrednosti i koeficijentom varijacije za dužinu razvića jedinki *D. subobscura* iz kontrolne i EMP eksperimentalne grupe, u okviru prve, druge i treće generacije dat je u Tabeli 4.13. Prikazan pregled srednjih vrednosti ove osobine pokazuje da i ova osobina fitnesa varira kroz generacije, i da se u okviru iste generacije razlikuje između eksperimentalnih grupa. Jedinke iz EMP grupe u prvoj generaciji imaju duže razviće u odnosu na jedinke iz kontrole, dok u naredne dve generacije jedinke izložene EMP ENF imaju kraće razviće u odnosu na jedinke iz kontrolne grupe.

Srednja vrednost dužine razvića je najniža u prvoj generaciji kod jedinki iz kontrolnih uslova, koje za najkraće vreme kompletiraju svoje razviće od jaja do adulta, a zatim u kontrolnoj grupi kroz generacije rastu vrednosti za dužinu razvića, značajno u drugoj i nešto slabije u trećoj generaciji. Razviće jedinki izlagane EMP ENF u prvoj eksperimentalnoj generaciji je značajno duže - za jedan ceo dan u odnosu na jedinke iz kontrolne grupe, ali jedinke izložene EMP ENF u drugoj i trećoj generaciji imaju kraće razviće u poređenju sa jedinkama u kontrolnoj grupi. Ako pogledamo vrednosti za dužinu razvića unutar EMP grupe, uočava se da vrednosti za dužinu razvića jedinki iz EMP grupe tokom generacija opadaju, da je najkraće razviće u prisustvu EMP ENF u trećoj generaciji.

Tabela 4.13. Pregled srednjih vrednosti i standardne greške, opsega zabeleženih vrednosti i koeficijenta varijacije za dužinu razvića (izražena brojem dana) jedinki *D. subobscura* iz kontrolne grupe i grupe čije jedinke su izlagane EMP (50 Hz, 0,25 mT) u analiziranim generacijama

eksperimentalna grupa	generacija	$\bar{X} \pm S.E.$	min - max	CV (%)
Kontrola	I	21,42 ± 0,11	19,72 - 23,64	3,27
	II	22,66 ± 0,09	20,88 - 23,62	2,42
	III	22,73 ± 0,15	21,40 - 24,60	3,63
EMP	I	22,31 ± 0,13	20,52 - 24,50	3,78
	II	22,28 ± 0,21	19,64 - 24,35	5,40
	III	22,00 ± 0,12	20,33 - 25,30	5,09

\bar{X} - srednja vrednost; S.E. - standardna greška; CV - koeficijent varijacije

Vrednosti koeficijenta varijacije za dužinu razvića su generalno niske, i u ovom radu kreću se od 2,42 % za kontrolnu grupu u drugoj generaciji, do 5,40 % u EMP grupi takođe u drugoj generaciji. Uočava se da je koeficijent varijacije u EMP grupi tokom generacija veći (5,40% u drugoj i 5,09% u trećoj generaciji) u odnosu na vrednosti koeficijenta varijacije u kontrolnoj grupi relevantnih generacija (2,42% i 3,57%). Testiranjem koeficijenta varijacije za dužinu razvića Fligner-Killeen testom pokazano je da statistički značajne razlike između kontrolne i EMP grupe postoje u drugoj generaciji ($p < 0,001$), dok je unutar eksperimentalnih grupa značajna razlika uočena između druge i treće generacije u kontrolnoj grupi ($p < 0,05$), i između prve i druge generacije u EMP grupi ($p < 0,05$).

Pregled srednjih vrednosti za dužinu razvića za pojedinačne IF linije *D. subobscura* u obe eksperimentalne grupe u tri uzastopne generacije dat je u Tabeli 4.14.

Tabela 4.14. Srednja vrednost \pm standardna greška za dužinu razvića (u danima) po IF linijama *D. subobscura*, u kontroli i u eksperimentalnoj grupi izloženoj EMP, u tri sukcesivne generacije

IF linija	I generacija		II generacija		III generacija	
	kontrola	EMP	kontrola	EMP	kontrola	EMP
3	21,32 \pm 0,16	22,40 \pm 0,16	22,75 \pm 0,20	21,75 \pm 0,31	22,35 \pm 0,19	21,43 \pm 0,15
12	21,93 \pm 0,66	22,87 \pm 0,45	23,09 \pm 0,16	23,51 \pm 0,47	23,25 \pm 0,35	22,40 \pm 0,16
29	21,22 \pm 0,39	22,37 \pm 0,48	22,04 \pm 0,44	23,05 \pm 0,41	22,20 \pm 0,55	24,07 \pm 0,62
52	21,72 \pm 0,21	22,53 \pm 0,29	22,87 \pm 0,26	20,49 \pm 0,48	22,51 \pm 0,24	21,27 \pm 0,50
56	21,64 \pm 0,25	22,38 \pm 0,20	22,98 \pm 0,13	23,41 \pm 0,21	23,07 \pm 0,79	22,24 \pm 0,31
76	21,60 \pm 0,33	21,95 \pm 0,32	22,67 \pm 0,22	22,55 \pm 0,47	22,77 \pm 0,35	21,91 \pm 0,38
124	21,31 \pm 0,54	22,01 \pm 0,27	22,95 \pm 0,40	21,51 \pm 0,06	23,54 \pm 0,32	21,82 \pm 0,21
141	21,28 \pm 0,26	22,65 \pm 0,40	22,31 \pm 0,22	21,84 \pm 0,86	22,57 \pm 0,52	21,70 \pm 0,10
143	20,81 \pm 0,12	21,75 \pm 0,52	22,37 \pm 0,10	22,17 \pm 0,55	22,54 \pm 0,24	21,13 \pm 0,22

Uticaoj veštačkog EMP (50 Hz, 0,25 mT) i genetičke konstitucije linija na variranje dužine razvića *D. subobscura* za svaku generaciju posebno ispitivan je dvofaktorskom analizom varijanse, a rezultati su prikazani u Tabeli 4.15., 4.16. i 4.17. za prvu, drugu i treću generaciju pojedinačno, i može se primetiti da značajan uticaj na dužinu razvića jedinki, u sve tri generacije ima faktor *tretman*, odnosno EMP korišćeno u ovom eksperimentu.

Tabela 4.15. Dvofaktorska ANOVA za dužinu razvića jedinki IF linija *D. subobscura* iz kontrolne i EMP grupe u prvoj generaciji

izvor varijabilnosti	df efekat	MS efekat	F	p-nivo
tretman	1	16,90	27,84	0,000 ***
IF linija	8	0,95	1,57	0,151
tretman x IF linija	8	0,20	0,33	0,950
greška	68	0,61		

df- stepeni slobode; MS - srednja vrednost kvadrata; F - vrednost F testa;
p-nivo - nivo značajnosti, $p < 0,001$ ***

Tabela 4.16. Dvofaktorska ANOVA za dužinu razvića jedinki IF linija *D. subobscura* iz kontrolne i EMP grupe u drugoj generaciji

izvor varijabilnosti	df efekat	MS efekat	F	p-nivo
tretman	1	2,84	5,10	0,029 *
IF linija	8	1,94	3,48	0,003 **
tretman x IF linija	8	1,90	3,42	0,003 **
greška	50	0,56		

df- stepeni slobode; MS - srednja vrednost kvadrata; F - vrednost F testa;
p-nivo - nivo značajnosti, $p < 0,05$ *; $p < 0,01$ **

Tabela 4.17. Dvofaktorska ANOVA za dužinu razvića jedinki IF linija *D. subobscura* iz kontrolne i EMP grupe u trećoj generaciji

izvor varijabilnosti	df efekat	MS efekat	F	p-nivo
tretman	1	9,01	15,47	0,000 ***
IF linija	8	1,70	2,91	0,010 **
tretman x IF linija	8	2,30	3,95	0,001 **
greška	49	0,58		

df- stepeni slobode; MS - srednja vrednost kvadrata; F - vrednost F testa;
p-nivo - nivo značajnosti, $p < 0,01$ **; $p < 0,001$ ***

Rezultati dvofaktorske analize varijanse pokazuju da se jedinke u svakoj analiziranoj generaciji razlikuju po vrednostima za dužinu razvića pod uticajem EMP. U grupi jedinki koje su deo svog razvića provele u uslovima EMP ENF analizirana komponenta adaptivne vrednosti značajno se menja: drastično se usporava u prvoj generaciji, pa jedinke koje su izlagane EMP ENF imaju duže razviće u odnosu na jedinke iz kontrolne grupe, sa nivoom značajnosti $p < 0,001$ (Tabela 4.13. i Tabela 4.15.). U drugoj i trećoj generaciji razviće jedinki izlaganih EMP se skraćuje, vrednosti za broj dana koji protekne od polaganja jaja do izleganja adulta u odnosu na jedinke iz

kontrolne grupe su značajno manje, sa nivoom značajnosti $p < 0,05$ u drugoj, i sa nivoom značajnosti $p < 0,001$ u trećoj generaciji (Tabela 4.13., Tabela 4.16. i Tabela 4.17.). Takođe postoji razlika u vrednostima za dužinu razvića, i u drugoj i u trećoj generaciji u odnosu na genetičku strukturu IF linija, kao i za interakciju faktora *tretman x IF linija*, sa istim nivoom značajnosti od $p < 0,01$. Post-hoc analize LSD testom interakcije *tretman x IF linija* u drugoj i u trećoj generaciji odvojeno, za obe generacije su pokazale da u okviru kontrolne grupe ne postoje statistički značajne razlike u dužini razvića između IF linija, jer su njihove vrednosti u kontroli dosta ujednačene. Za razliku od kontrolne grupe, dobijeni rezultati u post-hoc analizi interakcije faktora *tretman i IF linija* u okviru EMP grupe pokazuju da su vrednosti dužine razvića statistički značajno različite između IF linija, a razlike u dužini razvića između IF linija još su veće kada se porede vrednosti za dužinu razvića između linija iz kontrolne i EMP grupe.

Ako u analizu varijanse uključimo i generacije, rezultati trofaktorske analize varijanse pokazuju da na ovu komponentu adaptivne vrednosti sa visokim nivoom značajnosti utiču faktori *generacija i IF linija* ($p < 0,001$), kao i interakcije faktora *tretman* sa faktorima *generacija i IF linija*, i interakcija sva tri faktora. Međutim, ako se podaci za dužinu razvića analiziraju na ovaj način gubi se značajnost efekta EMP korišćenog u ovom radu (Tabela 4.18).

Tabela 4.18. Rezultati trofaktorske analize varijanse za dužinu razvića od jaja do adulta jedinki IF linija *D. subobscura* iz kontrolne i EMP grupe tokom tri sukcesivne generacije

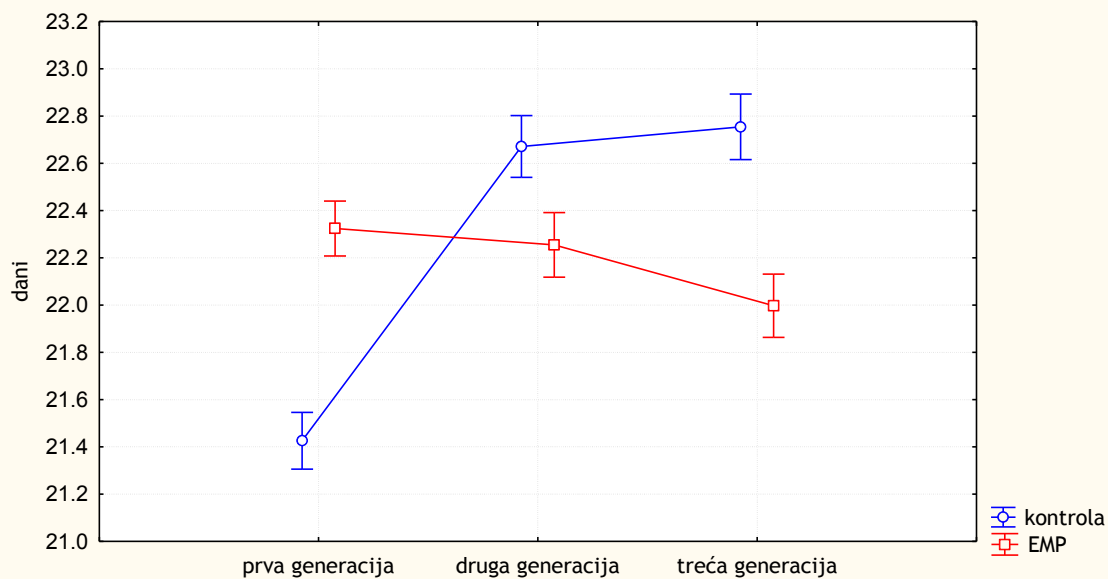
izvor varijabilnosti	df efekat	MS efekat	F	p-nivo
tretman	1	0,44	0,75	0,387
generacija	2	7,66	13,09	0,000 ***
IF linija	8	2,81	4,81	0,000 ***
tretman x generacija	2	14,37	24,58	0,000 ***
tretman x IF linija	8	2,55	4,36	0,000 ***
generacija x IF linija	16	0,93	1,59	0,076
tretman x generacija x IF linija	16	1,01	1,72	0,047 *
greška	167	0,58		

df- stepeni slobode; MS - srednja vrednost kvadrata; F - vrednost F testa;
p-nivo - nivo značajnosti, $p < 0,05^*$; $p < 0,001^{***}$

Detaljna analiza uticaja interakcije pojedinačnih faktora na dužinu razvića urađena je LSD testom. Interakcija *tretman x IF linija x generacija* pokazuje da postoje statistički značajne razlike u dužini razvića između linija pod uticajem veštačkog EMP, i da se nakon izlaganja EMP ENF vrednosti za dužinu razvića značajno razlikuju u odnosu na kontrolu, u slučaju IF linija 3, 29, 141 i 143 u prvoj generaciji, linija 52 i 124 u drugoj generaciji, i linija 29, 52, 124 i 143 u trećoj.

Fišerov LSD test za interakciju *tretman x generacija* ukazuje na međugeneracijske razlike između vrednosti dužine razvića jedinki iz kontrolne i EMP grupe. Rezultati pokazuju da su sva poređenja dužine razvića iz kontrolne i EMP grupe značajna između generacija ($p < 0,05$), ali u okviru EMP grupe između generacija nema značajnih razlika, dok se u kontrolnoj grupi vrednosti dužine razvića iz prve generacije razlikuju od vrednosti ove osobine u ostalim generacijama u kontroli. Ovi post-hoc rezultati potvrđuju da se dužina razvića u EMP grupi ne razlikuje između generacija, ali se u svakoj eksperimentalnoj generaciji značajno razlikuje u poređenju sa dužinom razvića iz kontrolne grupe, odnosno da u svim generacijama EMP ENF ima uticaj na ovu komponentu adaptivne vrednosti.

Na *Slici 4.3.* je dat prikaz srednjih vrednosti za dužinu razvića obe eksperimentalne grupe u sve tri generacije. Jasno se mogu uočiti razlike u vrednostima za ovu osobinu pod uticajem EMP ENF, kao i različit obrazac promene dužine razvića kroz generacije za kontrolnu i EMP grupu.



Slika 4.3. Prosečne vrednosti dužine razvića jedinki *D. subobscura* iz obe eksperimentalne grupe (kontrola i EMP) u tri sukcesivne generacije

Preživljavanje jaje - adult

Pored fekunditeta, preživljavanje predstavlja osnovnu komponentu adaptivne vrednosti koja može biti izračunata u različitim stupnjevima razvića, a u ovom radu je praćeno preživljavanje od stadijuma jaja do adulta, i izraženo je procentualno. Srednje vrednosti, opseg zabeleženih vrednosti i koeficijent varijacije preživljavanja jedinki *D. subobscura* iz tri sukcesivne generacije u okviru kontrolne i EMP grupe prikazane su u Tabeli 4.19. Prosečno preživljavanje jedinki izloženih EMP ENF tokom generacija opada, tako da najniže srednje vrednosti vijabiliteta imaju jedinke iz ove eksperimentalne grupe u trećoj generaciji. Unutar kontrolne grupe postoji pad vrednosti preživljavanja u drugoj generaciji, i može se primetiti da jedinke iz kontrolne i EMP grupe imaju različit obrazac promena za ovu osobinu kroz generacije.

Tabela 4.19. Deskriptivna statistika za osobinu preživljavanje (u procentima) jedinki *D. subobscura* kroz prve tri sukcesivne generacije u obe eksperimentalne grupe

eksperimentalna grupa	generacija	$\bar{X} \pm S.E.$	min - max	CV (%)
Kontrola	I	53,38 ± 2,99	9,82-92,08	36,30
	II	37,71 ± 2,78	12,88-74,51	43,69
	III	43,98 ± 4,77	1,77-89,80	60,39
EMP	I	43,04 ± 3,73	3,60-89,89	57,56
	II	38,53 ± 3,21	1,95-73,63	47,81
	III	32,60 ± 3,99	1,82-80,99	73,54

\bar{X} – srednja vrednost; S.E. - standardna greška; CV - koeficijent varijacije

Pregledom deskriptivne statistike za ovu osobinu (Tabela 4.19) može se uočiti i veoma širok opseg zabeleženih vrednosti za ovu osobinu, od 1,77 do 92,08 %, a u tehničkim replikama su se vrednosti preživljavanja kretale od 0 do 100 %. Ovako velika varijabilnost u vrednostima preživljavanja se ogleda i u vrednostima koeficijenta varijacije, koje su visoke i koje se razlikuju između eksperimentalnih grupa, kao i između generacija unutar grupa. U kontrolnoj grupi vrednosti CV rastu kroz generacije, od 36,30% u prvoj, gde je i najniža vrednost CV za ovu osobinu, 43,69% u drugoj, do 60,39% u trećoj generaciji. U slučaju jedinki iz EMP grupe vrednost koeficijenta varijacije u prvoj generaciji je 57,56%, zatim se smanjuje u drugoj na 47,81%, a u trećoj generaciji ima najvišu zabeleženu vrednost - 73,54%. Poređenje koeficijenata varijacije

za ovu osobinu između eksperimentalnih grupa u okviru svake generacije Fligner-Killeen testom pokazano je da statistički značajne razlike postoje između koeficijenta varijacije kontrolne i EMP eksperimentalne grupe u prvoj generaciji ($p < 0,001$). Poređenjem unutar eksperimentalnih grupa je pokazano da se značajno razlikuje CV treće generacije u odnosu na vrednosti iz prve ($p < 0,001$) i druge ($p < 0,01$) generacije u kontrolnoj grupi, a u EMP grupi od koeficijenta varijacije u drugoj generaciji ($p < 0,01$).

Pregled srednjih vrednosti za preživljavanje po IF linijama *D. subobscura* u tri sukcesivne generacije u okviru svakog tretmana dat je u Tabeli 4.20.

Tabela 4.20. Srednje vrednosti i standardne greške preživljavanja od jaja do adulta (u %), za IF linije *D. subobscura* iz kontrolne i EMP grupe, u tri sukcesivne generacije

IF linija	I generacija		II generacija		III generacija	
	kontrola	EMP	kontrola	EMP	kontrola	EMP
3	47,67 ± 5,85	19,25 ± 6,37	22,31 ± 2,72	22,39 ± 8,78	37,40 ± 4,65	18,92 ± 6,67
12	46,16 ± 13,82	45,80 ± 10,95	44,57 ± 7,06	48,19 ± 10,92	43,43 ± 12,36	38,74 ± 20,18
29	53,54 ± 8,61	63,23 ± 8,99	52,05 ± 4,64	69,09 ± 4,19	61,48 ± 17,75	53,69 ± 8,84
52	61,37 ± 5,03	43,63 ± 16,22	38,55 ± 8,98	25,93 ± 7,51	55,50 ± 6,51	22,11 ± 11,63
56	49,57 ± 10,19	33,62 ± 7,71	43,41 ± 8,72	37,83 ± 13,02	26,27 ± 10,18	35,33 ± 18,92
76	46,29 ± 5,97	27,39 ± 6,00	31,18 ± 2,12	26,92 ± 5,36	33,20 ± 12,00	25,09 ± 3,36
124	55,38 ± 15,92	34,41 ± 15,23	27,97 ± 8,92	34,84 ± 8,77	39,44 ± 18,40	43,26 ± 13,18
141	76,88 ± 4,72	61,68 ± 8,69	50,59 ± 11,79	42,06 ± 1,55	76,25 ± 2,38	46,92 ± 9,22
143	39,91 ± 7,04	54,44 ± 9,66	26,58 ± 4,06	43,75 ± 4,21	18,42 ± 11,67	10,23 ± 2,46

Za ispitivanje razlika u variranju ove osobine između eksperimentalnih grupa i pojedinačnih IF linija, korišćena je dvofaktorska ANOVA, a rezultati su prikazani u Tabeli 4.21 za prvu, u Tabeli 4.22 za drugu, i u Tabeli 4.23 za treću generaciju. Statistički značajne razlike u preživljavanju u sve tri generacije uslovljene su genetičkim razlikama između IF linija, dok je samo u prvoj generaciji značajan uticaj na preživljavanje imalo i dejstvo EMP ENF ($p < 0,05$).

Tabela 4.21. Rezultati dvofaktorske analize varijanse za preživljavanje od jaja do adulta, jedinki IF linija *D. subobscura* iz kontrolne i EMP grupe u prvoj generaciji

izvor varijabilnosti	df efekat	MS efekat	F	p-nivo
tretman	1	2252	5,53	0,021 *
IF linija	8	1193	2,93	0,007 **
tretman x IF linija	8	543	1,33	0,241
Greška	68	407		

df- stepeni slobode; MS - srednja vrednost kvadrata; F - vrednost F testa;
p-nivo - nivo značajnosti $p < 0,05^*$; $p < 0,01^*$

Tabela 4.22. Rezultati dvofaktorske analize varijanse za preživljavanje od jaja do adulta, jedinki IF linija *D. subobscura* iz kontrolne i EMP grupe u drugoj generaciji

izvor varijabilnosti	df efekat	MS efekat	F	p-nivo
tretman	1	38	0,17	0,677
IF linija	8	952	4,32	0,000 ***
tretman x IF linija	8	219	0,99	0,453
Greška	50	220		

df- stepeni slobode; MS - srednja vrednost kvadrata; F - vrednost F testa;
p-nivo - nivo značajnosti $p < 0,001$ ***

Tabela 4.23. Rezultati dvofaktorske analize varijanse za preživljavanje od jaja do adulta jedinki IF linija *D. subobscura* iz kontrolne i EMP grupe u trećoj generaciji

izvor varijabilnosti	df efekat	MS efekat	F	p-nivo
tretman	1	1831	3,86	0,055
IF linija	8	1926	4,06	0,001 ***
tretman x IF linija	8	346	0,73	0,665
Greška	49	474		

df- stepeni slobode; MS - srednja vrednost kvadrata; F - vrednost F testa;
p-nivo - nivo značajnosti $p < 0,001$ ***

Izlaganje jedinki u ranim fazama razvića EMP ENF rezultuje slabijim preživljavanjem od jaja do adulta u prvoj generaciji ($p < 0,05$). Rezultati post-hoc LSD testa za faktor *tretman* u okviru svake generacije su pokazali statistički značajne razlike u preživljanju između eksperimentalnih grupa u prvoj ($p = 0,02$) i trećoj generaciji ($p = 0,038$).

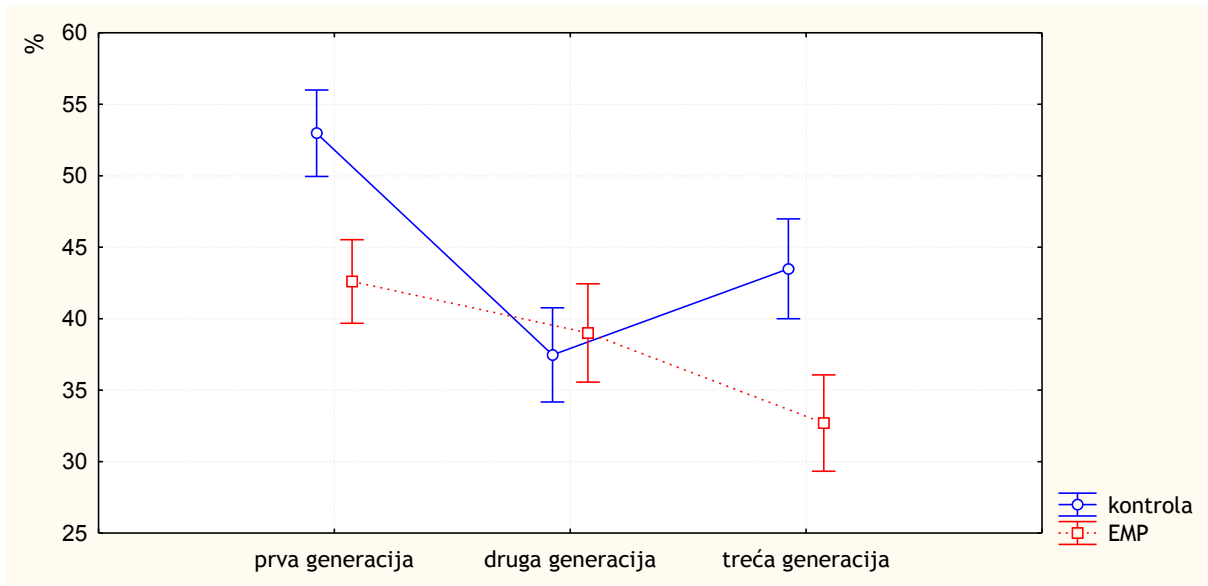
Trofaktorijalna ANOVA koja uključuje i faktor *generacija* kao mogući izvor varijabilnosti u preživljavanju korišćena je da bi se utvrdile međugeneracijske razlike u vrednostima preživljavanja između eksperimentalnih grupa i IF linija, a rezultati su prikazani u Tabela 4.24. Rezultati pokazuju da svi analizirani faktori izvora varijabilnosti imaju statistički značajan uticaj na preživljavanje, ali to nije slučaj i sa njihovim interakcijama.

Tabela 4.24. Rezultati trofaktorske analize varijanse za preživljavanje od jaja do adulta, jedinki IF linija *D. subobscura* iz kontrolne i EMP grupe tokom tri sukcesivne generacije

izvor varijabilnosti	df efekat	MS efekat	F	p-nivo
tretman	1	2233	6,02	0,015 *
generacija	2	2349	6,33	0,002 **
IF linija	8	3151	8,50	0,000 ***
tretman x generacija	2	827	2,23	0,111
tretman x IF linija	8	671	1,81	0,078
generacija x IF linija	16	417	1,13	0,335
tretman x generacija x IF linija	16	208	0,56	0,908
Greška	167	371		

df- stepeni slobode; MS - srednja vrednost kvadrata; F - vrednost F testa;
p-nivo - nivo značajnosti p<0,05*; p<0,01**; p<0,001***

Da bi se raščlanili statistički značajni rezultati u okviru svakog faktora urađena je post-hoc analiza LSD testom. Rezultati ove analize za faktor *tretman* pokazuju statistički značajnu razliku između dve eksperimentalne grupe. Prosečno preživljavanje jedinki izlaganih EMP ENF u toku embrionalne i rane postembrionalne faze razvića je značajno slabije (38,4%) u odnosu na jedinke u kontrolnoj grupi (45,6%). Razlika se uočava i između generacija što se potvrđuje LSD testom za faktor *generacija*. Prva generacija ima najvišu srednju vrednost preživljavanja i značajno se razlikuje i od druge (p<0,01) i od treće (p<0,001) generacije. Ako se pogledaju rezultati post-hoc testa za interakciju *tretman x generacija* jasno se izdvajaju vrednosti preživljavanja prve generacije u kontroli, koje su više, i značajno različite od vrednosti preživljavanja ostalih generacija obe eksperimentalne grupe. Takođe se značajno razlikuje preživljavanje između prve i treće generacije u EMP grupi (p=0,017). Kad posmatramo vrednosti preživljavanja EMP grupe u odnosu na kontrolu, značajne razlike između eksperimentalnih grupa postoje i u prvoj (p=0,014) i u trećoj (p=0,017) generaciji, i u oba slučaja su vrednosti preživljavanja u EMP grupi značajno niže. Razlike u preživljavanju između eksperimentalnih grupa i generacija prikazane su na *Slici 4.4*.



*Slika 4.4. Srednje vrednosti preživljavanja od jaja do adulta jedinki *D. subobscura* iz kontrolne i EMP eksperimentalne grupe u tri sukcesivne generacije*

Dužina života ženki

Osobina dužina života posmatrana je kod ženki *D. subobscura* koje su u ovom eksperimentu korišćene za predhodno analizirane komponente adaptivne vrednosti, tako da su sve ženke čije su vrednosti za dužinu života ušle u analizu parene sa osam dana starosti, i polagale su jaja tokom života. Iz tehničkih razloga je dugovečnost analizirana samo kod ženki iz prve i treće generacije eksperimenta. Pregled podataka o varijabilnosti ove osobine u prvoj i trećoj generaciji ženki *D. subobscura* koje su provele svoj život u kontrolnim uslovima (kontrolna grupa) ili u uslovima veštačkog EMP (50 Hz, 0,25 mT) od osmog dana starosti pa do kraja života (EMP eksperimentalna grupa), prikazan je u Tabeli 4.25. Ovaj pregled obuhvata srednje vrednosti, opseg vrednosti, kao i koeficijent varijacije.

Tabela 4.25. Pregled deskriptivne statistike za osobinu dužinu života ženki (u danima) *D. subobscura* u prvoj i trećoj generaciji u kontrolnoj i EMP eksperimentalnoj grupi

eksperimentalna grupa	generacija	$\bar{X} \pm S.E.$	min - max	CV
Kontrola	I	97,19 ± 7,08	28-181	44,30
	III	109,86 ± 7,76	28-176	37,36
EMP	I	81,09 ± 5,75	27-151	46,49
	III	89,51 ± 7,89	29-183	52,17

\bar{X} – srednja vrednost; S.E. - standardna greška; CV - koeficijent varijacije

Srednje vrednosti za dužinu života ženki *D. subobscura* se kreću od 81,09 u prvoj generaciji EMP grupe, do 109,86 dana u trećoj generaciji kontrolne grupe. Ženke koje su veći deo života provele u EMP ENF imaju niže srednje vrednosti za dužinu života, i to za 15 i više dana kada se porede sa vrednostima odgovarajućih generacija iz kontrolne grupe. Minimalne zabeležene vrednosti za dužina života ženki su ujednačene u svim grupama, i kreću se od 27 do 29 dana, mada su vrednosti za dužinu života ženki manje od 20 dana isključene iz analize. Maksimalne vrednosti dužine života ženki *D. subobscura* se kreću od 151 dana, zabeleženo za ženku iz prve generacije u EMP grupi, do 183 dana, koliko je živela ženka iz treće generacije u istoj eksperimentalnoj grupi. Vrednosti koeficijenta varijacije za ovu osobinu su slične u obe eksperimentalne grupe u

prvoj generaciji, i iznose 44,30 % u kontroli i 46,49 % u EMP grupi. Vrednost CV za dužinu života ženki u trećoj generaciji je viša za EMP grupu (52,17%), u odnosu na vrednost iz kontrolne grupe (37,36%). Međutim, poređenje koeficijenata varijacije Fligner-Killeen testom, između i unutar eksperimentalnih grupa, je pokazalo da ne postoje značajne razlike između CV za ovu osobinu.

Pregled srednjih vrednosti dužine života ženki IF linija u prvoj i trećoj generaciji u kontrolnoj i eksperimentalnoj grupi u kojoj su jedinke tokom embrionalnog i ranog posembrionalnog razvića bile izožene EMP od 50 Hz i 0,25 mT, dat je u Tabeli 4.26.

Tabela 4.26. Srednja vrednost sa standardnom greškom za dužinu života (u danima) ženki iz IF linija *D. subobscura* u kontrolnoj i u EMP grupi, u prvoj i trećoj generaciji

IF linija	I generacija		III generacija	
	Kontrola	EMP	Kontrola	EMP
3	123,25 ± 9,38	121,60 ± 12,23	109,33 ± 27,51	118,25 ± 20,71
12	128,00 ± 30,29	107,60 ± 11,23	120,67 ± 38,49	83,00 ± 5,00
29	122,50 ± 21,71	99,20 ± 17,30	119,25 ± 20,98	151,60 ± 15,48
52	85,67 ± 17,32	44,50 ± 8,55	87,00 ± 30,34	69,00 ± 24,66
56	86,33 ± 31,22	51,50 ± 21,23	86,33 ± 10,93	74,50 ± 22,94
76	88,33 ± 24,21	80,00 ± 20,19	126,67 ± 10,33	96,00 ± 29,50
124	56,00 ± 19,00	57,50 ± 10,31	61,00 ± 5,00	75,25 ± 23,92
141	93,60 ± 19,64	91,00 ± 11,77	141,00 ± 15,45	45,00 ± 5,68
143	85,40 ± 14,19	62,67 ± 9,56	107,67 ± 18,62	83,40 ± 16,72

\bar{x} - srednja vrednost; S.E. - standardna greška

Variranje dužine života ženki između pojedinačnih IF linija, kao i između eksperimentalnih grupa analizirano je dvofaktorskom analizom varijanse u okviru svake generacije. Rezultati te analize prikazani su u Tabeli 4.27 za prvu, u Tabeli 4.28 za treću generaciju. Analizirani faktori *tretman* i *IF linija* imaju statistički značajan uticaj na variranje ove osobine u prvoj generaciji, dok u trećoj generaciji ne postoje značajne razlike u vrednostima dužine života ženki ni između IF linija, ni eksperimentalnih grupa.

Tabela 4.27. Dvofaktorska ANOVA za dužinu života ženki IF linija *D. subobscura* iz kontrolne i EMP grupe, u prvoj generaciji

izvor varijabilnosti	df efekat	MS efekat	F	p- nivo
tretman	1	5567	4,15	0,046 *
IF linija	8	4956	3,70	0,001 ***
tretman x IF linija	8	490	0,37	0,935
greška	62	1341		

df- stepeni slobode; MS - srednja vrednost kvadrata; F - vrednost F testa;
p-nivo - nivo značajnosti $p < 0,05^*$; $p < 0,001^{***}$

Tabela 4.28. Dvofaktorska ANOVA za dužinu života ženki IF linija *D. subobscura* iz kontrolne i EMP grupe, u trećoj generaciji

izvor varijabilnosti	df efekat	MS efekat	F	p- nivo
tretman	1	4811	3,08	0,086
IF linija	8	3094	1,98	0,071
tretman x IF linija	8	2826	1,81	0,100
greška	45	1562		

df- stepeni slobode; MS - srednja vrednost kvadrata; F - vrednost F testa;
p-nivo - nivo značajnosti

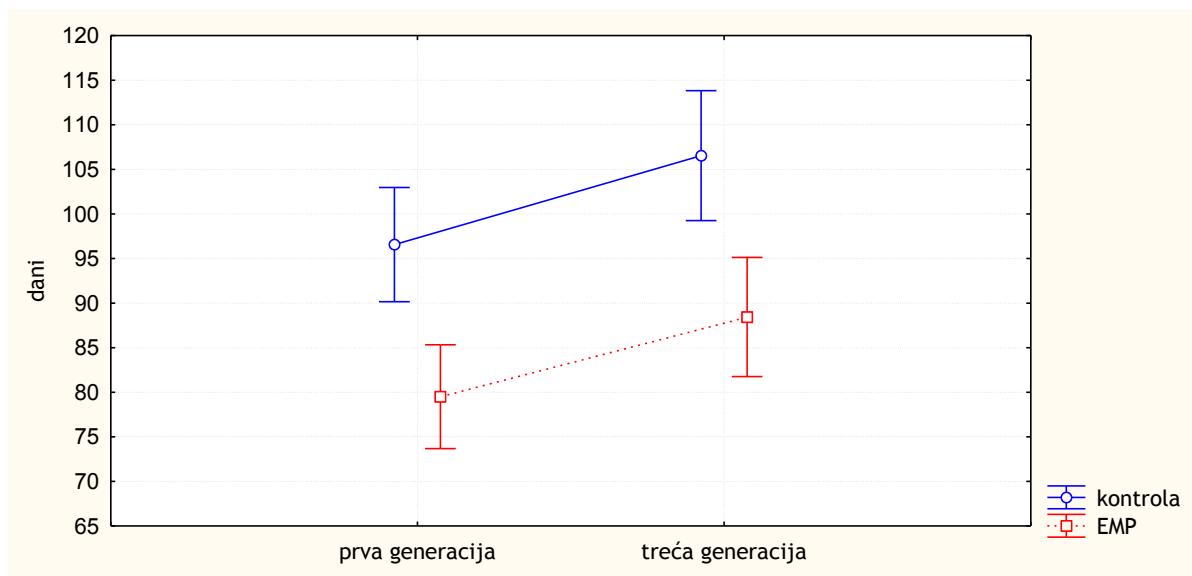
Za ispitivanje razlika u variranju dužine života ženki kroz generacije korišćena je trofaktorska analiza varijanse. Rezultati su predstavljeni u Tabeli 4.29., i značajan uticaj na variranje ove komponente adaptivne vrednosti imaju faktori *tretman* i *IF linija*.

Tabela 4.29. Trofaktorska analiza varijanse za dužinu života ženki IF linija *D. subobscura* iz kontrolne i EMP grupe, u prvoj i trećoj generaciji

izvor varijabilnosti	df efekat	MS efekat	F	p- nivo
tretman	1	10270	7,16	0,009 **
generacija	1	2973	2,07	0,153
IF linija	8	6684	4,66	0,000 ***
tretman x generacija	1	9	0,01	0,937
tretman x IF linija	8	1475	1,03	0,420
generacija x IF linija	8	801	0,56	0,809
tretman x generacija x IF linija	8	1935	1,35	0,227
greška	107	1434		

df- stepeni slobode; MS - srednja vrednost kvadrata; F - vrednost F testa; p-nivo - nivo značajnosti $p < 0,01^{**}$; $p < 0,001^{***}$

Korišćenjem post-hoc testa interakcije *tretman x generacija* analizirane su razlike u vrednostima dužine života ženki obe eksperimentalne grupe iz prve i treće generacije. Statistički značajna razlika postoji između treće generacije iz kontrolne grupe i prve ($p < 0,01$) i treće generacije ($p < 0,05$) iz EMP grupe. Obe eksperimentalne grupe imaju isti trend u srednjim vrednostima za dužinu života ženki kroz generacije, koji se ogleda u povećanju srednje vrednosti dužine života u trećoj generaciji, što je prikazano i grafički na *Slici 4.5*.



Slika 4.5. Srednje vrednosti dužine života ženki *D. subobscura* u prvoj i trećoj generaciji u kontrolnoj i EMP grupi

Fenotipske korelacije komponenti adaptivne vrednosti

Analiza fenotipskih korelacija između komponenti adaptivne vrednosti jedinki *D. subobscura* unutar kontrolne i EMP eksperimentalne grupe, pokazala je razlike u veličini, znaku i statističkoj značajnosti koeficijenta korelacije između ove dve eksperimentalne grupe. Vrednosti Pirsonovog koeficijenta korelacije za svaki par analiziranih komponenti adaptivne vrednosti u okviru kontrolne i u okviru EMP eksperimentalne grupe date su u Tabeli 4.30 i Tabeli 4.31. Za jedinke iz kontrolne grupe dobijene su četiri statistički značajne korelacije, od kojih su čak tri vezane za fekunditet, i značajno fenotipsko kovariranje postoji između fekunditeta i preživljavanja, dužine razvića i brzine polaganja jaja. Značajna negativna korelacija ($p < 0.0001$) je dobijena između dužine razvića i stope polaganja jaja. U kontrolnoj grupi su uočene i dve granične p vrednosti za korelaciju između fekunditeta i dužine života ženki ($p = 0,058$), kao i između preživljavanja i stope polaganja jaja ($p = 0,058$). Statistički značajna korelacija u EMP eksperimentalnoj grupi postoji samo između dužine razvića i dužine života ženki, a granična p vrednost negativne fenotipske korelacije je uočena između fekunditeta i stope polaganja jaja ($p = 0,051$) (Tabeli 4.31).

Tabela 4.30. Vrednosti Pirsonovog koeficijenta za fenotipske korelacije između komponenti adaptivne vrednosti *D. subobscura* iz kontrolne grupe (U tamno sivo obojenim poljima se nalaze statistički značajne korelacije, a u svetlo sivim su granične vrednosti statističke značajnosti)

kontrola	fekunditet	preživljavanje	dužina razvića	stopa polaganja jaja	dužina života ♀
fekunditet					
preživljavanje	-0,258**				
dužina razvića	0,215 *	-0,162			
stopa polaganja jaja	-0,242**	0,185	-0,429***		
dužina života ♀	0,240	0,169	-0,062	0,073	

* $p < 0,05$; ** $p < 0,01$; *** $p < 0,001$

Tabela 4.31. Vrednosti Pirsonovog koeficijenta za fenotipske korelacije između analiziranih komponenti adaptivne vrednosti *D. subobscura* gajenih u uslovima EMP od 50 Hz i 0,25 mT (U tamno sivo obojenim poljima se nalaze statistički značajne korelacije, a u svetlo sivim su granične vrednosti statističke značajnosti)

EMP	fekunditet	preživljavanje	dužina razvića	stopa polaganja jaja	dužina života ♀
fekunditet					
preživljavanje	0,051				
dužina razvića	-0,048	0,073			
stopa polaganja jaja	-0,187	-0,001	0,016		
dužina života ♀	0,108	0,013	0,245*	0,005	

* $p < 0,05$;

Numeričke vrednosti koeficijenta korelacija variraju između različitih parova osobina komponenti adaptivne vrednosti, ali su one veće u kontrolnoj grupi za sve analizirane parove, osim u slučaju korelacije dužine razvića i dužine života ženki. Koeficijenti fenotipske korelacije za analizirane parove osobina u EMP grupi su manji, i bliži nuli. Veći udeo značajnih korelacija ima negativni predznak.

S obzirom da smanjenje stope polaganja jaja predstavlja polaganje većeg broja jaja ranije tokom posmatranog devetodnevnog perioda, tada negativna fenotipska korelacija u kontrolnim uslovima između fekunditeta i ove osobine govori da u slučaju većeg fekunditeta, ženke ravnomernije i ranije polažu jaja. U slučaju slabijeg fekunditeta, ženke polažu manji broj jaja pretežno u kasnijem delu posmatranog perioda. Negativna fenotipska korelacija između ovih osobina potvrđena je i u eksperimentalnoj grupi jedinki gajenih u uslovima EMP ENF, sa graničnom vrednošću značajnosti. U ovom slučaju ne možemo govoriti o generalnom fenotipskom *trade-off*-u, pošto se rezultati dobijeni u ovom eksperimentu odnose samo na period od devet dana od oplodjenja ženke, tako da je pitanje da li bi negativna fenotipska korelacija bila dobijena i analizom podataka dobijenih za ceo životni vek ženki.

Značajna negativna fenotipska korelacija između stope polaganja jaja i dužine razvića ukazuje na vezu između ravnomernijeg i ranijeg polaganja jaja i dužeg razvića. U slučaju kasnijeg polaganja jaja, odnosno u drugoj polovini posmatranog devetodnevnog perioda, izležene jedinice imaju kraće razviće od jaja do adulta. Ova korelacija je najverovatnije povezana sa fenotipskom korelacijom između fekunditeta i dužine razvića, koja je statistički značajna takođe samo u kontrolnoj grupi, a koja pokazuje da ženke sa većim fekunditetom imaju potomstvo čije je vreme razvića kraće, i obrnuto: u slučaju manjeg fekunditeta ženki duže je razviće potomstva od jaja do adulta.

Tipičnu negativnu fenotipsku korelaciju predstavlja negativna korelacija između fekunditeta i preživljavanja, kada u slučaju polaganja manjeg broj jaja: položena jaja imaju bolje preživljavanje, i obrnuto. Ova negativna korelacija je prisutna u obe eksperimentalne grupe, ali je značajna samo u kontrolnoj grupi ($p < 0,01$).

Za korelaciju između fekunditeta i dužine života ženki u ovom radu dobijen je pozitivan koeficijent u obe grupe, iako bi se mogla očekivati negativna korelacije ove dve osobine kao tipičan primer alokacije resursa.

Fenotipska plastičnost komponenti adaptivne vrednosti

Fenotipska plastičnost je svojstvo genotipa da dá fenotipski različit odgovor u različim sredinama, i u ovom radu fenotipska plastičnost analiziranih komponenti adaptivne vrednosti procenjena je na osnovu odgovora genotipa, odnosno srodničkih jedinki IF linija, koje su se razvijale u dve različite sredine: kontrolnoj i sredini sa EMP od 50 Hz i 0,25 mT.

Statistički značajni izvori varijabilnosti za analizirane komponente adaptivne vrednosti prikazani su u Tabeli 4.32. za svaku eksperimentalnu generaciju posebno, gde su izvori varijabilnosti genetička osnova IF linija (G), sredinska promena koju u ovom eksperimentu predstavlja EMP ENF (E), ili interakcija genotipa i sredine (G x E). Značajnost dobijena za genotip (G) potvrđuje da postoje razlike između IF linija u odgovoru kao rezultat razlike u genetičkoj osnovi, značajnost dobijena u pogledu sredinskih promena (E) pokazuje da postoji plastičnost genotipova, odnosno genotipovi ispoljavaju drugačije fenotipove u tretmanu sa EMP ENF u odnosu na kontrolne uslove, dok dobijena značajnost za interakciju *IF linija x tretman* (G x E) ukazuje na postojanje varijabilnosti fenotipske plastičnosti analiziranih osobina i da plastični odgovor na promenjene uslove sredine nije uniforman za sve analizirane genotipove.

Rezultati prikazani u Tabeli 4.32. predstavljaju rezultate dobijene u dvofaktorskoj analizi varijanse za svaku analiziranu komponentu adaptivne vrednosti. Može se uočiti postojanje obrasca fenotipske plastičnosti za analizirane osobine tokom generacija. Tako jedinke *D. subobscura* pokazuju plastičan odgovor za dužinu razvića tokom sve tri sukcesivne generacije eksperimenta, dok su fekunditet i stopa polaganja jaja osobine za koje analizirane jedinke nisu pokazale plastični odgovor ni u jednoj od analiziranih eksperimentalnih generacija. Preživljavanje i dužina života ženki su osobine za koju je fenotipska plastičnost zabeležena samo kod jedinki iz prve generacije.

Dužina razvića je jedina od analiziranih komponenti adaptivne vrednosti pokazala varijabilnost fenotipske plastičnosti u drugoj i trećoj generaciji, što je pokazano sa značajnošću od $p < 0,01$ za interakciju *IF linija x tretman* (Tabela 4.32.).

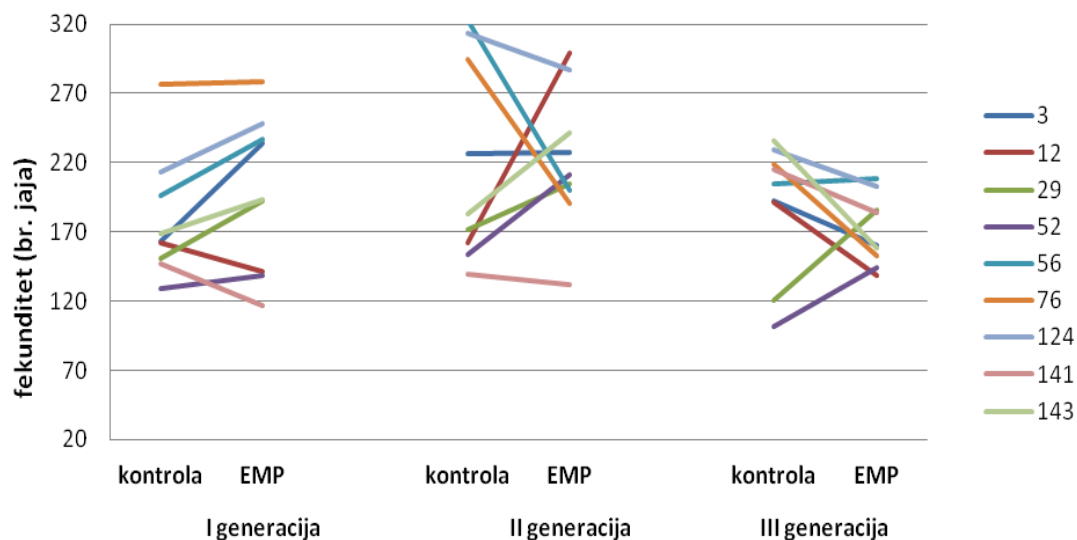
Tabela 4.32. Zbirni prikaz rezultata dvofaktorske analize varijanse za efekte izvora varijabilnosti u odgovoru jedinki IF linija *D. subobscura* gajenih u EMP ENF (50 Hz, 0,25 mT) za komponente adaptivne vrednosti analizirane u I, II i III generaciji.

komponente adaptivne vrednosti	prva generacija			druga generacija			treća generacija		
	G	E	G x E	G	E	G x E	G	E	G x E
fekunditet	***	-	-	*	-	-	-	-	-
stopa polaganja jaja	-	-	-	-	-	-	-	-	-
dužina razvića	-	***	-	*	**	**	***	**	**
preživljavanje	**	*	-	***	-	-	***	-	-
dužina života ♀	***	*	-	/	/	/	-	-	-

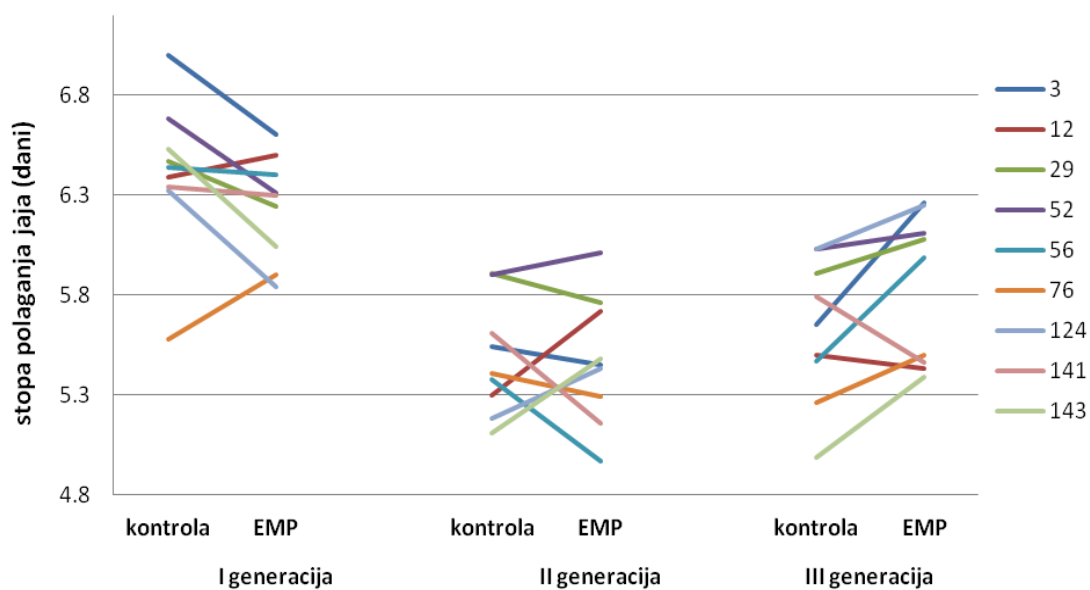
G - IF linija, E - tretman;
* p<0,05; ** p<0,01; *** p<0,001;

Odgovor jedinki u dve sredine može se ilustrativno prikazati dijagramom normi reakcija, odnosno srednjim vrednostima posmatrane osobine za analizirane IF linije u obe sredine: u kontrolnoj i u sredini sa dodatnim EMP. Dobijene norme reakcije kroz tri sukcesivne generacije prikazane su na *Slikama 4.6., 4.7., 4.8., 4.9. i 4.10.* za svaku analiziranu osobinu pojedinačno.

Na *Slici 4.6.* prikazane su norme reakcija za fekunditet, a na *Slici 4.7.* za stopu polaganja jaja. Ove dve osobine nisu pokazale fenotipsku plastičnost u sredini sa EMP ENF. Na dijagramu normi reakcija za fekunditet može se uočiti da u prvoj generaciji veći broj analiziranih linija na prisustvo EMP ENF odgovara povećanom produkcijom jaja, dok dve linije odgovaraju smanjenjem vrednosti fekunditeta, a opseg zabeleženih vrednosti im je sličan, bez promene u sredini sa EMP. U drugoj generaciji se zadržava velika varijabilnost ove osobine u obe sredine, ali su norme reakcija većine analiziranih genotipova sa većim nagibom i promenjenog smera. Dijagram normi reakcija u trećoj generaciji pokazuje smanjenje varijabilnosti ove karakteristike u obe sredine, ali je to smanjenje izraženo u sredini sa dodatnim EMP. Sužavanje opsega zabeleženih vrednosti u EMP grupi može biti indikacija da ovaj sredinski faktor nakon više generacija uniformiše odgovor različitih genotipova na vrednosti fekunditeta koje se kreću oko srednje vrednosti. Osim toga većina analiziranih genotipova pokazuje i smanjenje vrednosti fekunditeta u sredini sa dodatnim EMP.



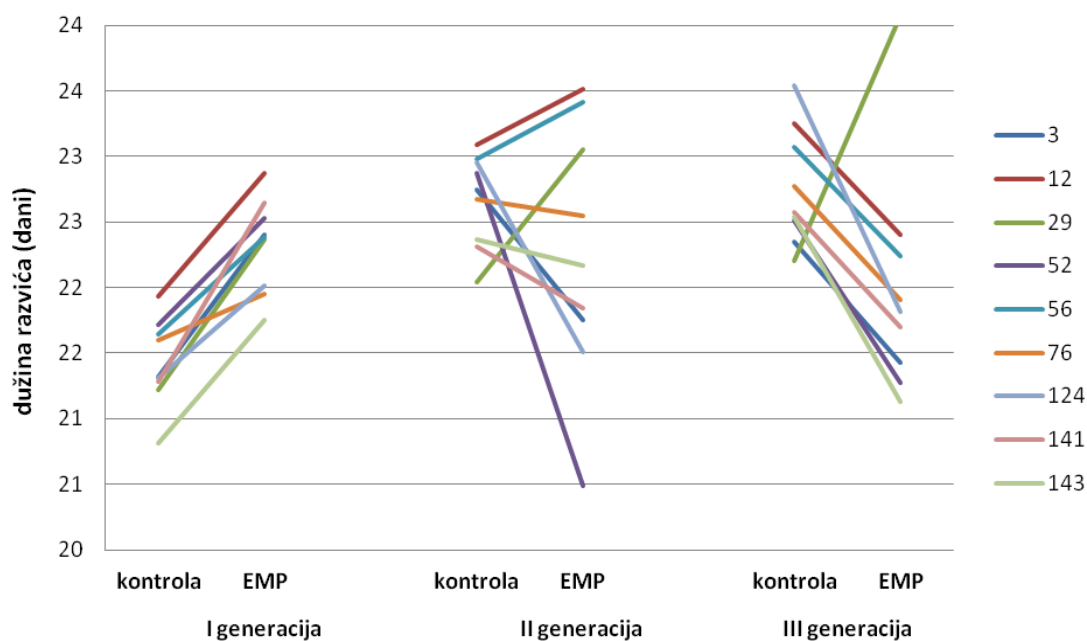
Slika 4.6. Dijagram normi reakcija za fekunditet devet analiziranih IF linija D. subobscura u kontrolnim i u uslovima veštačkog EMP tokom tri generacije



Slika 4.7. Dijagram normi reakcija za stopu polaganja jaja devet analiziranih IF linija D. subobscura u kontrolnim i u uslovima veštačkog EMP tokom tri generacije

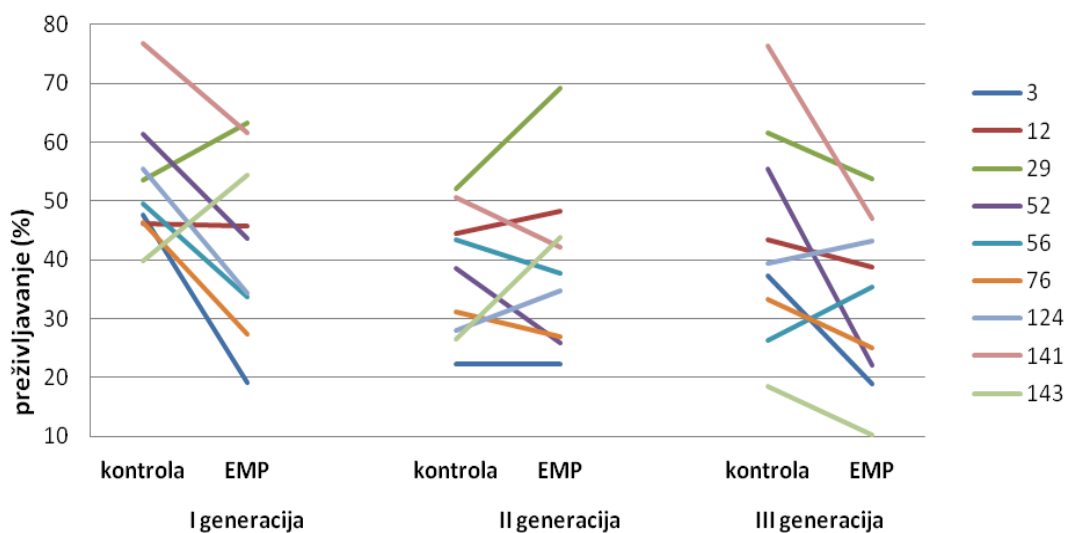
Na *Slici 4.8.* su prikazane norme reakcija za dužinu razvića, i može se videti da je obrazac normi reakcija za dužinu razvića analiziranih IF linija specifičan za svaku generaciju, osim u slučaju IF linije 29. IF linija 29 ima isti obrazac odgovora u prisustvu

EMP kroz sve tri generacije, i razviće jedinki ovog genotipa u sredini sa EMP ENF je produženo. Svi analizirani genotipovi u prvoj generaciji fenotipski plastično odgovaraju sličnim odgovorom - produžavanjem razvića u uslovima veštačkog EMP, pa su im i norme reakcija za dužinu razvića gotovo paralelne, što ukazuje na značajan efekat sredinskih uslova u formiranju fenotipa. U drugoj generaciji dolazi do promena u variranju normi reakcija u odnosu na veštačko EMP: norme reakcija imaju složen obrazac promene ranga i pravca fenotipskih vrednosti u prisustvu EMP ENF. Vrednosti dužine razvića u drugoj generaciji u prisustvu EMP ENF su različite za analizirane linije: dolazi do usporavanja, ubrzavanja ili nema promena, pa je opseg zabeleženih vrednosti dužine razvića mnogo veći u sredini sa dodatnim EMP. U trećoj generaciji, gotovo svi analizirani genotipovi (osim IF linije 29) pokazuju isti pravac i opseg fenotipske promene, njihove norme reakcije su paralelne, jer na prisustvo EMP ENF odgovaraju skraćivanjem dužine razvića. Rezultati dvofaktorske analize varijanse za dužinu razvića u drugoj i u trećoj generaciji pokazuju da genotip, sredina i njihova interakcija imaju statistički značajan efekat na dužinu razvića (Tabela 4.32.), odnosno da ova osobina i u drugoj i u trećoj generaciji pokazuje i varijabilnost fenotipske plastičnosti.



Slika 4.8. Dijagram norme reakcija za dužinu razvića devet analiziranih IF linija *D. subobscura* u kontrolnim i u uslovima veštačkog EMP tokom tri generacije

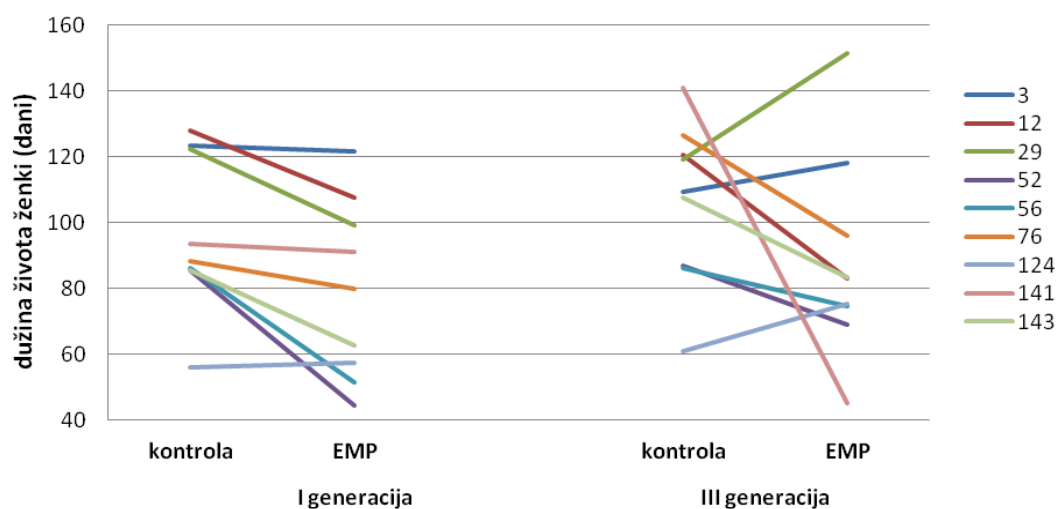
Preživljavanje od jaja do adulta je komponenta adaptivne vrednosti koja u ovom radu pokazuje fenotipsku plastičnost u prvoj generaciji (*Slika 4.9.*). Odgovor analiziranih IF linija na EMP ENF u prvoj generaciji je gotovo uniforman (osim u slučaju linija 29 i 143) i predstavljen je smanjenjem preživljavanja, pa su na dijagramu norme reakcija za većinu genotipova skoro paralelne. Linija 141 ima najviše vrednosti preživljavanja u I generaciji - 76,88% u kontroli, dok se sve ostale IF linije nalaze u opsegu od oko 40 do 60%. U prisustvu EMP ENF opseg zabeleženih srednjih vrednosti preživljavanja ovih linija je veći: od oko 20 do 65%. U drugoj i trećoj generaciji se zadržava velika genetička varijabilnost ove osobine, i postoji različiti odgovor genotipova na EMP koji uključuje i smanjenje i povećanje procenta preživljavanja u sredini sa EMP ENF. Tako je u trećoj generaciji opseg zabeleženih vrednosti i u kontroli i u magnetu dosta veći, i pomećen je ka manjim vrednostima, pa se u kontroli kreće od oko 20 do 75%, a u EMP od 10 do 55%. Takođe su nagibi normi različiti i veliki broj linija se seče, što ukazuje na različiti obrazac promena u preživljavanju od jaja do adulta u sredini sa dodatnima EMP.



Slika 4.9. Dijagram normi reakcija za preživljanje devet analiziranih IF linija *D. subobscura* u kontrolnim i u uslovima veštačkog EMP tokom tri generacije

Dijagram normi reakcija za dužinu života ženki (*Slika 4.10.*) pokazuju da svi analizirani genotipovi u kontrolnim uslovima mogu grupisati u tri grupe na osnovu

zabeleženih vrednosti za dužinu života ženki: genotipovi čija je srednja vrednost dužine života ženki oko 87 dana, genotipovi kod kojih je ta vrednost oko 125 u I, odnosno od 110 do 140 dana u III generaciji, i posebno linija 124 sa najnižom vrednošću dužine života ženki – oko 60 dana. Ovakav raspored se ne zadržava u grupi gde su jedinke gajene u EMP ENF, pošto ovakvi sredinski uslovi u I i III generaciji dovode do promene opsega i pravca zabeleženih vrednosti dužine života ženki i njihovog ravnomernijeg rasporeda. Svi analizirani genotipovi u prvoj generaciji odgovaraju na sredinu sa dodatnim EMP manjim ili većim skraćivanjem dužine života, odnosno fenotipski plastičnim odgovorom na promenjene uslove sredine, dok se u III generaciji ne uočava tako jasan obrazac promene pravca fenotipskih vrednosti u prisustvu EMP ENF. Vrednosti dužine života ženki u sredini sa EMP ENF u III generaciji se za šest IF linija smanjuju, ali se u slučaju linija 3, 29 i 124 povećavaju za 10 do 30 dana (Slika 4.10.). U obe generacije i u obe eksperimentalne grupe zadržava se velika varijabilnost u vrednostima za dužinu života ženki.



Slika 4.10. Dijagram normi reakcija za dužinu života ženki devet analiziranih IF linija *D. subobscura* u kontrolnim i u uslovima veštačkog EMP u I i III generaciji

Geometrijsko-morfometrijska analiza veličine i oblika krila

Geometrijsko morfometrijskom analizom parametara krila (veličina i oblik) analizirana je fenotipska varijabilnost između eksperimentalnih grupa nakon prve i treće generacije. U radu je izvršena morfometrijska analiza desnih krila 2523 jedinki, 1245 jedinki iz kontrolne grupe i 1278 jedinki iz grupe tretirane EMP. Analizirana su desna krila oba pola u odnosu približno 1:1 (1256 ženki i 1267 mužjaka), a broj analiziranih jedinki po eksperimentalnim grupama, generacijama i polovima je prikazan u Tabeli 4.33. Parametri krila upotrebljeni za geometrijsko-morfometrijsku analizu su bazirani na položajima dvanaest tačaka (landmarks), postavljenih na mestima ukrštanja i završetka krilnih vena, u pravouglom koordinatnom sistemu (*Slika 3.2*).

Tabela 4.33. Pregled broja analiziranih jedinki u geometrijsko-morfometrijskoj analizi veličine i oblika desnog krila po eksperimentalnim grupama, generaciji i polu

eksperimentalna grupa	generacija	br. analiziranih jedinki	ženke	mužjaci
Kontrola (1245 jedinki)	I	676	335	341
	III	569	286	283
EMP (1275 jedinki)	I	647	322	325
	III	631	313	318

Veličina krila

Veličina krila svake analizirane jedinke je određena pomoću parametra *centroide size* (CS), koja je merena i računata u pikselima. Jedinke vrste *D. subobscura* imaju izraženi polni dimorfizam u pogledu veličine tela, pa je ova osobina analizirana posebno za ženke i posebno za mužjake. U Tabeli 4.34. je dat pregled deskriptivne statistike za CS u obe eksperimentalne grupe po polovima, u prvoj i trećoj generaciji. Može se uočiti da se srednje vrednosti za veličinu krila razlikuju po generacijama, i da u prvoj generaciji jedinke koje su bile izložene EMP ENF imaju veća krila u odnosu na jedinke istog pola iz kontrolne grupe. U trećoj generaciji je situacija drugačija, pošto su vrednosti za veličinu krila kod ženki izloženih EMP manje (Tabela 4.34.).

Zabeležene vrednosti koeficijenta varijacije su dosta niske, kreću se od 3,14 do 4,29 %. Vrednosti koeficijenta varijacije su u prvoj generaciji veće u kontroli, a u trećoj generaciji su veće u EMP grupi. Najmanja i najveća vrednost koeficijenta varijacije za veličinu krila su zabeležene u trećoj generaciji: najmanja vrednost CV kod mužjaka u kontrolnoj grupi (3,14 %) a najveća kod ženki u EMP grupi (4,29 %) (Tabela 4.34.). Fligner-Killeen testom je pokazano da ne postoje statistički značajne razlike u varijacijama zabeleženih vrednosti veličine krila unutar eksperimentalnih grupa, ni u prvoj, ni u trećoj generaciji između mužjaka i ženki. Kada se porede jedinke iz I i III generacije, statistički značajne razlike u varijabilnosti zabeleženih vrednosti veličine krila unutar eksperimentalnih grupa postoje samo u kontrolnoj grupi, i kod mužjaka i kod ženki ($p < 0,001$). Kada poredimo varijabilnost u veličini krila između jedinki iz kontrolne i EMP grupe statistički značajna razlika nije uočena u prvoj generaciji, ali je ta razlika značajna u trećoj generaciji, kod oba pola: sa značajnošću od $p < 0,001$ za mužjake, i $p < 0,001$ za ženke.

Tabela 4.34. Srednja vrednost i standardna greška ($\bar{X} \pm S.E.$), opseg zabeleženih vrednosti (min – max) i koeficijenti varijacije (CV) za veličinu krila jedinki *D. subobscura* oba pola iz kontrolne i EMP grupe (50 Hz, 0,25 mT) u prvoj i trećoj generaciji

eksperimentalna grupa	generacija	pol	$\bar{X} \pm S.E.$	min - max	CV (%)
Kontrola	I	♀	631,54 ± 1,39	532,91 - 681,75	4,03
		♂	576,05 ± 1,28	512,97 - 656,43	4,11
	III	♀	643,60 ± 1,25	579,30 - 693,60	3,29
		♂	582,53 ± 1,09	514,83 - 666,17	3,14
EMP	I	♀	637,70 ± 1,40	553,48 - 684,99	3,93
		♂	584,76 ± 1,20	527,81 - 667,04	3,72
	III	♀	631,61 ± 1,53	558,11 - 696,78	4,29
		♂	578,28 ± 1,27	520,68 - 648,61	3,91

\bar{X} – srednja vrednost; S.E. - standardna greška; CV - koeficijent varijacije;

♀ - ženke; ♂ - mužjaci

Srednje vrednosti veličine krila za svaku IF liniju po polovima, u obe eksperimentalne grupe, u prvoj i trećoj generaciji date su u Tabeli 4.35. i Tabeli 4.36.

Tabela 4.35. Srednja vrednost \pm standardna greška za veličinu krila oba pola po IF linijama *D. subobscura*, u kontrolnoj i u EMP grupi (50 Hz, 0,25 mT) u prvoj generaciji

IF linija	kontrola		EMP	
	♀ $\bar{X} \pm S.E.$	♂ $\bar{X} \pm S.E.$	♀ $\bar{X} \pm S.E.$	♂ $\bar{X} \pm S.E.$
3	651,90 \pm 2,41	589,90 \pm 3,16	665,87 \pm 1,85	597,69 \pm 2,83
12	606,11 \pm 2,67	548,63 \pm 2,89	612,37 \pm 3,46	563,57 \pm 2,89
29	637,54 \pm 4,69	573,08 \pm 2,77	640,18 \pm 3,63	575,59 \pm 3,28
52	649,42 \pm 3,86	590,46 \pm 2,57	662,27 \pm 3,11	601,75 \pm 2,24
56	636,60 \pm 3,96	595,94 \pm 4,59	653,92 \pm 2,63	597,12 \pm 3,09
76	636,37 \pm 3,29	580,37 \pm 2,75	631,77 \pm 3,16	593,11 \pm 5,57
124	622,98 \pm 4,64	571,41 \pm 3,14	624,95 \pm 3,03	583,13 \pm 2,80
141	620,15 \pm 2,87	567,75 \pm 2,49	624,71 \pm 2,69	577,88 \pm 1,81
143	622,14 \pm 3,25	570,37 \pm 2,85	626,69 \pm 3,08	571,65 \pm 3,02

\bar{X} - srednja vrednost; S.E. - standardna greška; ♀ - ženke; ♂ - mužjaci

Tabela 4.36. Srednja vrednost \pm standardna greška za veličinu krila oba pola po IF linijama *D. subobscura*, u kontrolnoj i u EMP grupi (50 Hz, 0,25 mT) u trećoj generaciji

IF linija	kontrola		EMP	
	♀ $\bar{X} \pm S.E.$	♂ $\bar{X} \pm S.E.$	♀ $\bar{X} \pm S.E.$	♂ $\bar{X} \pm S.E.$
3	644,73 \pm 3,05	587,15 \pm 3,05	643,40 \pm 4,96	591,31 \pm 4,17
12	624,74 \pm 3,09	571,09 \pm 2,31	597,17 \pm 2,75	544,51 \pm 1,93
29	651,50 \pm 3,35	579,82 \pm 3,67	633,89 \pm 3,10	582,21 \pm 3,46
52	665,11 \pm 2,61	596,66 \pm 2,95	665,48 \pm 3,84	594,35 \pm 3,12
56	641,72 \pm 3,68	577,28 \pm 3,02	617,74 \pm 3,50	576,72 \pm 2,73
76	637,30 \pm 3,24	588,36 \pm 1,85	627,99 \pm 2,78	581,20 \pm 3,62
124	650,27 \pm 4,10	592,06 \pm 3,69	640,12 \pm 2,40	586,70 \pm 2,05
141	633,79 \pm 2,68	578,00 \pm 1,68	633,59 \pm 2,21	590,26 \pm 2,32
143	633,38 \pm 2,30	569,25 \pm 2,41	620,19 \pm 3,06	564,10 \pm 2,44

\bar{X} - srednja vrednost; S.E. - standardna greška; ♀ - ženke; ♂ - mužjaci

Varijabilnost veličine krila između eksperimentalnih grupa, kao i IF linija i pola, analizirana je za svaku generaciju posebno trofaktorskom analizom varijanse. Rezultati su predstavljeni u Tabeli 4.36. za I generaciju i Tabeli 4.37. za III generaciju. Utvrđene su značajne razlike u veličini krila, a značajan uticaj na variranje ove komponente adaptivne vrednosti imaju svi analizirani faktori ($p < 0,001$) i neke od njihovih interakcija u prvoj generaciji (Tabeli 4.36), odnosno sve njihove interakcije u trećoj generaciji eksperimenta (Tabeli 4.37).

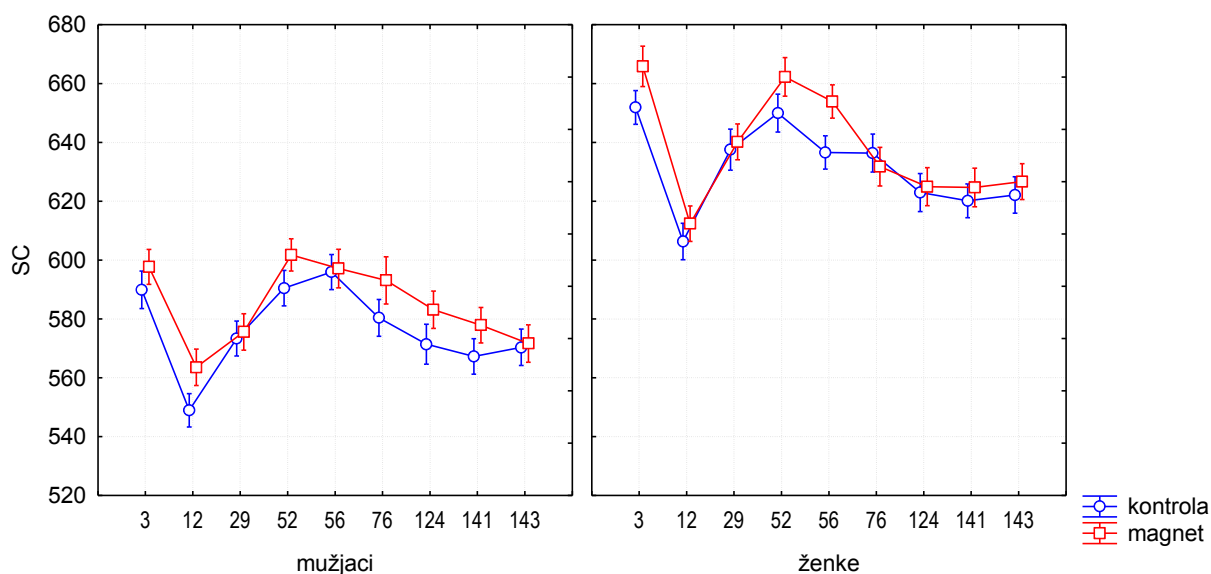
Tabela 4.37. Trofaktorska analiza varijanse za veličinu krila jedinki oba pola *D. subobscura* iz kontrolne i EMP (50 Hz, 0,25 mT) grupe iz prve generacije

izvor varijabilnosti	df efekat	MS efekat	F	p-nivo
tretman	1	17506	47,55	0,000 ***
IF linija	8	33008	89,67	0,000 ***
pol	1	955720	2596,31	0,000 ***
tretman x IF linija	8	448	1,22	0,284
tretman x pol	1	217	0,59	0,442
IF linija x pol	8	1816	4,93	0,000 ***
tretman x IF linija x pol	8	882	2,40	0,014 *
greška	1287	368		

df- stepeni slobode; MS - srednja vrednost kvadrata; F - vrednost F testa;
p-nivo - nivo značajnosti: p<0,05*; p<0,001***

U prvoj generaciji postoji statički značajna razlika u pogledu veličine krila, i to usled dejstva EMP, usled genetičkih razlika između IF linija i očekivano među polovima ($p < 0,001$). Jedinke oba pola, koje su deo svog embrionalnog i postembrionalnog razvića provele u EMP ENF imaju krila čije su vrednosti centroidne veličine veće u poređenju sa jedinkama istog pola iz kontrolne grupe.

Post-hoc analiza LSD testom interakcije *tretman x IF linija x pol* je pokazala da ženke pokazuju manji broj statistički značajnih razlika u veličini krila kada se porede vrednosti IF linije u kontrolnoj i EMP grupi. Ženke iz IF linija 12, 29, 76, 124, 141 i 143 imaju krila iste veličine u obe eksperimentalne grupe, dok je to kod mužjaka slučaj samo za linije 3, 29, 56 i 143. Ovo pokazuje da su u prvoj generaciji mužjaci osetljiviji na veštačko EMP, i da ovaj sredinski faktor deluje i na mužjake, i nešto manje na ženke, povećanjem veličine krila, što je grafički prikazano i na *Slici 4.11*.



Slika 4.11. Srednje vrednosti veličine krila jedinki *D. subobscura* u prvoj generaciji iz obe eksperimentalne grupe, razdvojenih po IF linijama i polovima

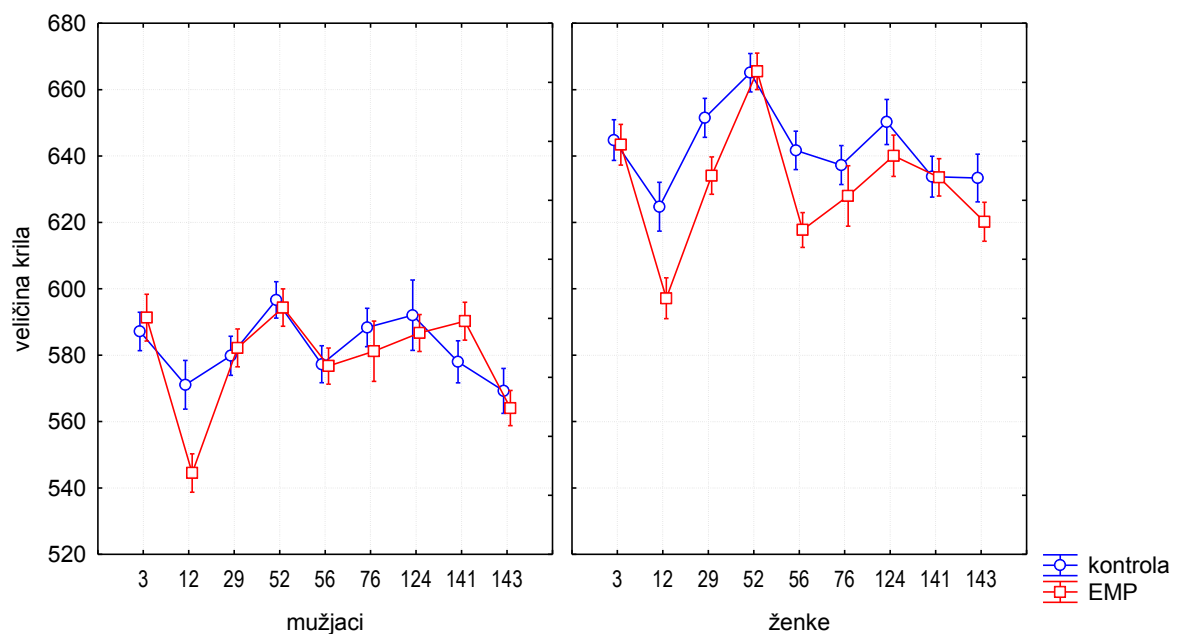
Rezultati trofaktorske analize varijanse veličine krila u trećoj eksperimentalnoj generaciji su prikazani u Tabeli 4.38., a dobijeni rezultati ukazuju na statističku značajnost svih analiziranih faktora, kao i svih njihovih interakcija, kao izvora varijabilnosti veličine krila. I u trećoj generaciji su dobijene značajne razlike za veličinu krila između eksperimentalnih grupa ($p < 0,001$), ali u ovoj generaciji jedinke iz EMP grupe imaju manja krila u poređenju sa veličinom krila jedinki iz kontrolne grupe.

Tabela 4.38. Trofaktorska analiza varijanse za veličinu krila jedinki oba pola *D. subobscura* iz kontrolne i EMP (50 Hz, 0,25 mT) grupe iz treće generacije

izvor varijabilnosti	df efekat	MS efekat	F	p-nivo
tretman	1	14384	44,63	0,000 ***
IF linija	8	22239	69,00	0,000 ***
pol	1	856066	2656,18	0,000 ***
tretman x IF linija	8	2759	8,56	0,000 ***
tretman x pol	1	4643	14,41	0,000 ***
IF linija x pol	8	1581	4,91	0,000 ***
tretman x IF linija x pol	8	693	2,15	0,029 *
greška	1164	322		

df- stepeni slobode; MS - srednja vrednost kvadrata; F - vrednost F testa; p-nivo - nivo značajnosti: $p < 0,05^*$; $p < 0,001^{***}$

Analizom interakcije *tretman x pol* Fišerovim LSD testom je utvrđeno da značajne razlike u veličini krila postoje između ženki ($p < 0,0001$) i mužjaka ($p < 0,01$) iz kontrolne i EMP grupe. Dok u prvoj generaciji postoji isti trend u odgovoru jedinki iz različitih IF linija na EMP, koji se ogleda u značajnom povećanju veličine krila u EMP grupi, u trećoj generaciji ne postoji uniforman odgovor IF linija na dejstvo EMP u pogledu veličine krila, a prisutno je i značajno smanjenje veličine krila ženki u EMP grupi. Da bi utvrdili kakav je odgovor u veličini krila u trećoj generaciji pojedinačnih IF linija odvojenih po polovima, u prisustvu EMP, urađena je post-hoc analiza za interakciju *tretman x IF linija x pol*. Mužjaci iz IF linija 3, 29, 52, 56, 76, 124 i 143 imaju krila iste veličine i u kontroli i u EMP grupi, dok je takav slučaj kod ženki iz linija 3, 52, 76 i 141, a ženke ostalih IF linija imaju manja krila u prisustvu EMP ENF. Ovi rezultati se razlikuju od rezultata dobijenih u prvoj generaciji gde su mužjaci bili osetljiviji, i pokazuju da je efekat EMP ENF nakon tri generacije izraženiji kod ženki. Ove razlike u veličini krila, po IF liniji i polu, kao odgovor na veštačko EMP kom su jedinke iz EMP grupe bile izložene, mogu se videti na *Slici 4.12*.



Slika 4.12. Srednje vrednosti veličine krila jedinki *D. subobscura* u trećoj generaciji iz obe eksperimentalne grupe, za svaku IF liniju i pol posebno

Rezultati analize varijanse veličine krila za četiri faktora *tretman*, *generacija*, *IF linija* i *pol* predstavljeni su u Tabeli 4.39. Kad se u analizu varijanse uvede i faktor *generacija*, faktor *tretman* gubi statističku značajnost, jer se razlike u veličini krila kontrolne i EMP grupe iz prve i treće generacije gube. Značajna razlika u veličini krila utvrđena je između analiziranih linija i pola, kao i velikog broja interakcija analiziranih faktora.

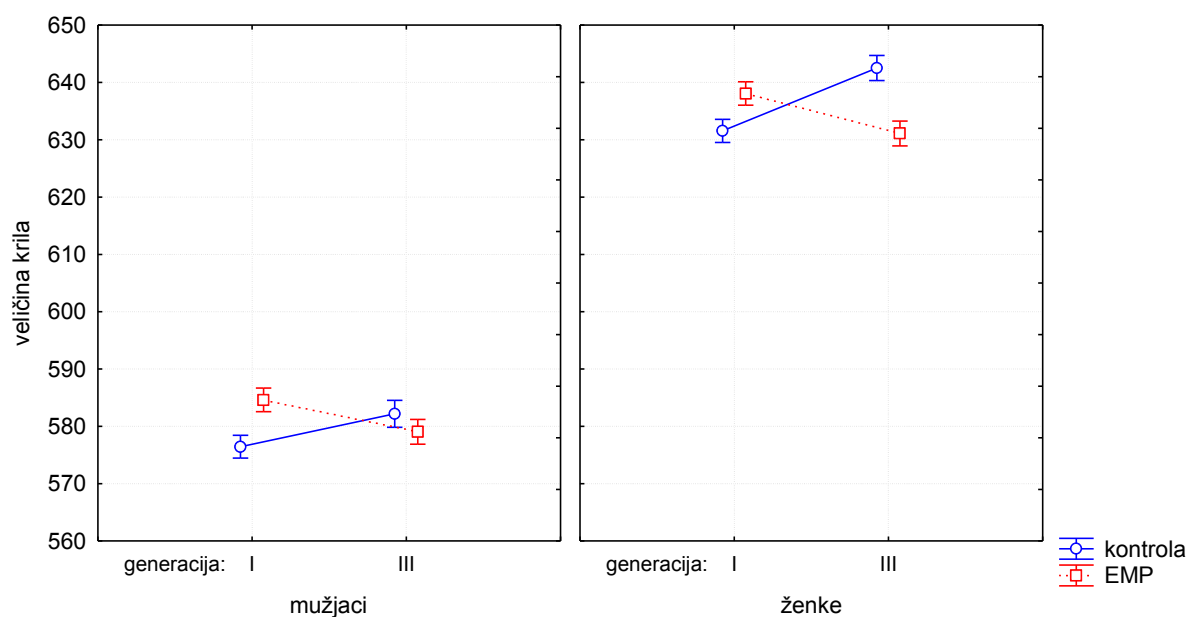
Tabela 4.39. Četvorofaktorska analiza varijanse veličine krila jedinki oba pola *D. subobscura* kontrolne i EMP grupe (50 Hz i 0,25 mT) iz prve i treće generacije

izvor varijabilnosti	df efekat	MS efekat	F	p-nivo
tretman	1	0,603	0,00	0,967
generacija	1	633	1,828	0,176
IF linija	8	46705	134,85	0,000 ***
pol	1	1802358	5203,88	0,000 ***
tretman x generacija	1	31611	91,27	0,000 ***
tretman x IF linija	8	1778	5,13	0,000 ***
generacija x IF linija	8	7348	21,21	0,000 ***
tretman x pol	1	3628	10,47	0,001**
generacija x pol	1	534	1,54	0,214
IF linija x pol	8	2644	7,63	0,000 ***
tretman x generacija x IF linija	8	1696	4,90	0,000 ***
tretman x generacija x pol	1	1627	4,70	0,030*
tretman x IF linija x pol	8	325	0,94	0,483
generacija x IF linija x pol	8	670	1,94	0,051
tretman x generacija x IF linija x pol	8	1183	3,41	0,001 **
greška	2451	346		

df- stepeni slobode; MS - srednja vrednost kvadrata; F - vrednost F testa;
p-nivo - nivo značajnosti: p<0,05*; p<0,01**; p<0,001***

Da bi se utvrdilo koje se eksperimentalne grupe značajno razlikuju uključivanjem u analizu i faktora *generacija* kao izvora variranja veličine krila, urađena je Post-hoc analiza za interakciju *tretman x generacija x pol*, koja je pokazala značajne razlike u veličini krila jedinki u zavisnosti od eksperimentalne grupe, generacije i pola. Tako se unutar obe eksperimentalne grupe, ženke iz prve i ženke iz treće generacije statistički značajno razlikuju po veličini krila ($p < 0,0001$), što je slučaj i sa mužjacima ($p < 0,0001$). Kada se uporede veličine krila jedinki odvojenih po polovima, iz kontrolne i iz EMP grupe unutar generacija, rezultati se razlikuju kroz generacije. ELM od 50 Hz i

0,25 mT značajno deluje na veličinu krila izloženih jedinki u prvoj generaciji, pa i ženke i mužjaci iz EMP grupe u prvoj generaciji imaju značajno veća krila od jedinki istog pola iz kontrolne grupe ($p < 0,001$). U trećoj eksperimentalnoj generaciji EMP ne deluje podjednako na jedinke oba pola. Značajna razlika u veličini krila pod uticajem EMP uočena je u trećoj generaciji za ženke ($p < 0,001$), pošto ženke iz EMP grupe imaju značajno manja krila u odnosu na ženke iz kontrolne grupe. I kod mužjaka iz kontrolne i EMP grupe u trećoj generaciji postoji razlika u veličini krila ($p < 0,01$), ali ta razlika u veličini nije tako jasna kao kod ženki, jer kod mužjaka iz EMP grupe iz treće generacije u manjem broju IF linija dolazi do promene veličine krila, a koja vodi kod jedne linije ka smanjenju, a kod druge ka povećanju krila. Na *Slici 4.13.* se mogu videti prosečne vrednosti veličine krila za ženke i mužjake odvojeno, u obe eksperimentalne grupe u prvoj i trećoj generaciji eksperimenta.



Slika 4.13. Srednje vrednosti veličine krila ženki i mužjaka *D. subobscura* iz kontrolne i EMP grupe u prvoj i trećoj generaciji eksperimenta

Oblik krila

Pored veličine krila, geometrijskom morfometrijom su analizirane i fenotipske varijacije oblika desnog krila jedinki *D. subobscura*. Varijabilnost oblika krila između eksperimentalnih grupa, kao i IF linija i pola, analizirana je za svaku generaciju posebno trofaktorskom analizom varijanse w -matricom svih 12 analiziranih tačaka. Rezultati MANOVE su predstavljeni u Tabeli 4.40. za I generaciju i Tabeli 4.41. za III generaciju. Nisu utvrđene značajne razlike u obliku krila, ni za jedan analizirani faktor ili njihove interakcije.

Tabela 4.40. Trofaktorska MANOVA varijabli oblika krila jedinki oba pola *D. subobscura* iz kontrolne i EMP (50 Hz, 0,25 mT) grupe iz prve generacije

izvor varijabilnosti	Wilks λ	F	df 1	df 2	p-nivo
tretman	1,0000	0,0013	20	1265,00	1,000
IF linija	0,9998	0,0013	160	9460,83	1,000
pol	1,0000	0,0013	20	1265,00	1,000
tretman x IF linija	0,9998	0,0013	160	9460,83	1,000
tretman x pol	1,0000	0,0013	20	1265,00	1,000
IF linija x pol	0,9998	0,0013	160	9460,83	1,000
tretman x IF linija x pol	0,9998	0,0013	160	9460,83	1,000

Wilks λ - vrednost Wilks' Lambda testa; df- stepeni slobode; F - vrednost F testa; p-nivo - nivo značajnosti

Tabela 4.41. Trofaktorska MANOVA varijabli oblika krila jedinki oba pola *D. subobscura* iz kontrolne i EMP (50 Hz, 0,25 mT) grupe iz treće generacije

izvor varijabilnosti	Wilks λ	F	df 1	df 2	p-nivo
tretman	0,9985	0,0886	20	1144,00	1,000
IF linija	0,9985	0,0886	20	1144,00	1,000
pol	0,9874	0,0910	160	8557,25	1,000
tretman x IF linija	0,9985	0,0886	20	1144,00	1,000
tretman x pol	0,9874	0,0910	160	8557,25	1,000
IF linija x pol	0,9985	0,0886	20	1144,00	1,000
tretman x IF linija x pol	0,9874	0,0910	160	8557,25	1,000

Wilks λ - vrednost Wilks' Lambda testa; df- stepeni slobode; F - vrednost F testa; p-nivo - nivo značajnosti

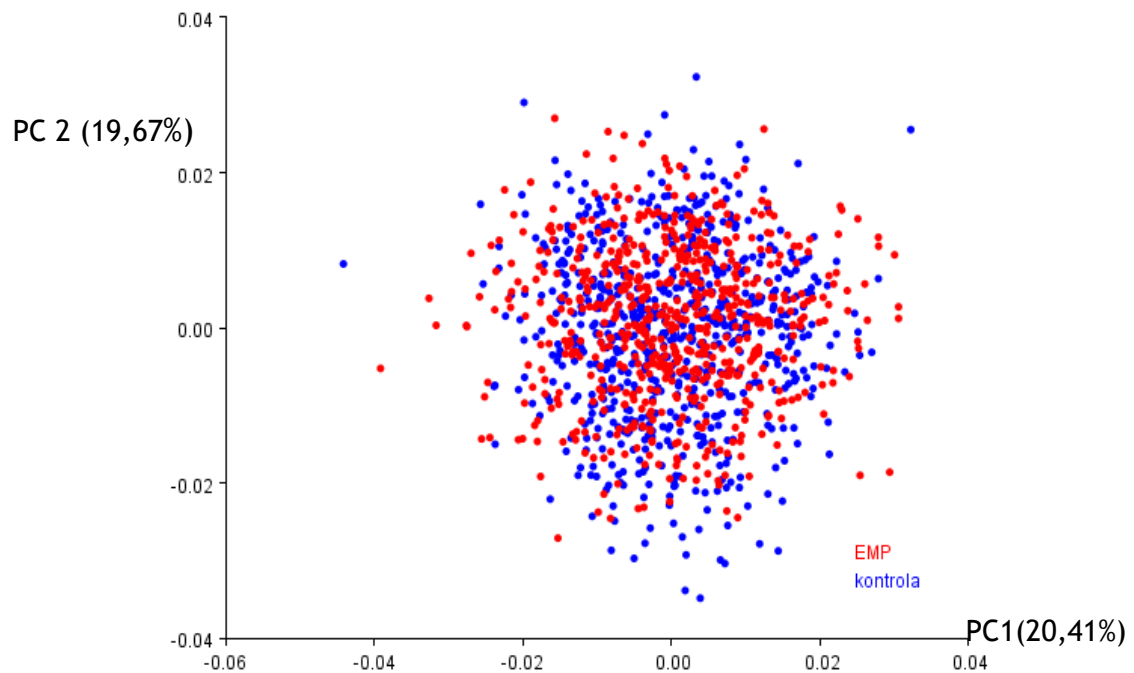
Rezultati analize varijanse oblika krila za sva četiri faktora *tretman*, *generacija*, *IF linija* i *pol* predstavljeni su u Tabeli 4.42. Ni u ovom slučaju, kada je u analizu varijanse uveden i faktor *generacija*, nije zabeležena značajna promena oblika krila.

Tabela 4.42. Četvorofaktorska MANOVA varijabli oblika krila jedinki oba pola *D. subobscura* iz kontrolne i EMP (50 Hz, 0,25 mT) grupe za prvu i treću generaciju

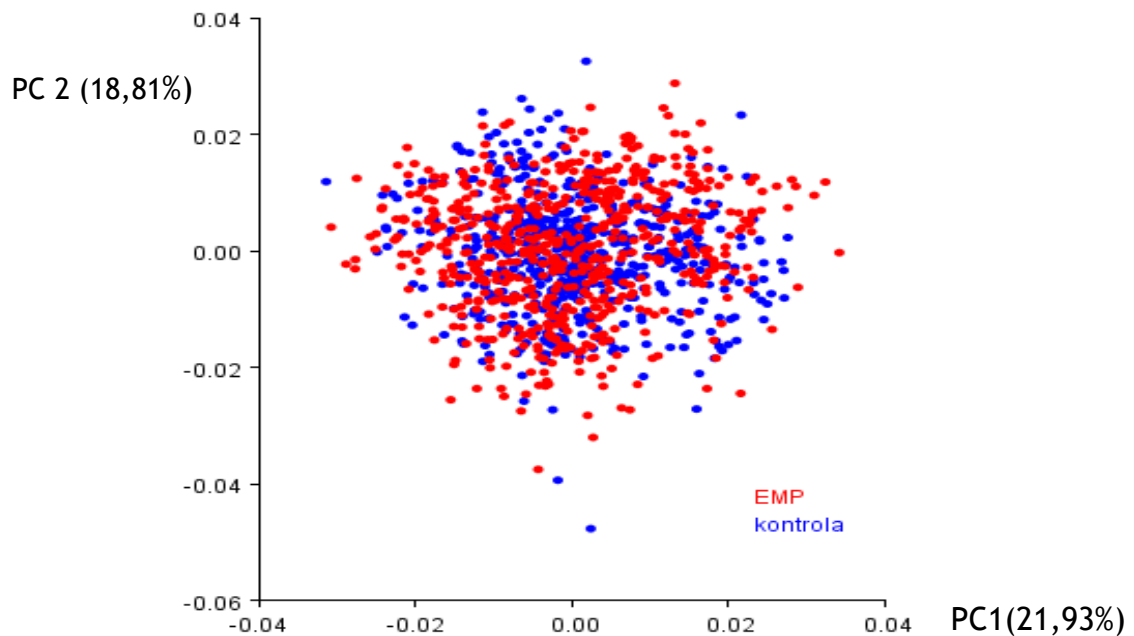
izvor varijabilnosti	Wilks λ	F	df 1	df 2	p-nivo
tretman	0,99916	0,10234	20	2428	1,000
generacija	0,99916	0,10234	20	2428	1,000
IF linija	0,99319	0,10380	160	18145,62	1,000
pol	0,99916	0,10234	20	2428	1,000
tretman x generacija	0,99916	0,10234	20	2428	1,000
tretman x IF linija	0,99319	0,10380	160	18145,62	1,000
generacija x IF linija	0,99319	0,10380	160	18145,62	1,000
tretman x pol	0,99916	0,10234	20	2428	1,000
generacija x pol	0,99916	0,10234	20	2428	1,000
IF linija x pol	0,99319	0,10380	160	18145,62	1,000
tretman x generacija x IF linija	0,99319	0,10380	160	18145,62	1,000
tretman x generacija x pol	0,99916	0,10234	20	2428	1,000
tretman x IF linija x pol	0,99319	0,10380	160	18145,62	1,000
generacija x IF linija x pol	0,99319	0,10380	160	18145,62	1,000
tretman x generacija x IF linija x pol	0,99319	0,10380	160	18145,62	1,000

Wilks λ - vrednost Wilks' Lambda testa; df- stepeni slobode; F - vrednost F testa; p-nivo - nivo značajnosti

Dobijeni rezultati pokazuju da ne postoje razlike u obliku krila pod uticajem EMP ENF ni u jednoj generaciji, a PCA analizom je grafički prikazan položaj jedinki u prostoru definisanom prvom i drugom PC osom. Sa grafika se može uočiti da ne postoji izdvajanje jedinki iz kontrolne i EMP grupe ni u prvoj (Slika 4.14), ni u trećoj (Slika 4.15) generaciji, ni po prvoj ni po drugoj glavnoj komponenti. U prvoj generaciji prva PC osa opisuje 20,42 %, a druga 19,67 % varijabilnosti. Slično je i u trećoj generaciji, gde PC1 opisuje 21,93%, a PC2 18,81% varijabilnosti, i ne postoji razdvajanje po osama.



*Slika 4.14. Grafički prikaz analize glavnih komponenti (PCA) krila jedinki *D. subobscura* iz kontrolne i EMP grupe iz prve eksperimentalne generacije*



*Slika 4.15. Grafički prikaz analize glavnih komponenti (PCA) krila jedinki *D. subobscura* iz kontrolne i EMP grupe iz treće eksperimentalne generacije*

Efekat
elektromagnetnog polja (50 Hz, 0,25 mT)
na komponente adaptivne vrednosti
i morfometriju krila
kod *Drosophila subobscura*
Collin, 1936 (Insecta, Diptera)

D I S K U S I J A

When evaluating scientific evidence we do not only need to determine what we know, but also we need to determine where there are substantial gaps in our knowledge...

Organizmi predstavljaju kompleksne sisteme povezane sa spoljašnjom sredinom u kojoj žive, čime su izloženi značajnim sredinskim promenama, i stoga su, kao i populacije koje čine, u stalnoj interakciji i adaptaciji na uslove sredine. Prirodna EMP su formirana od samog nastanka planete i očekivano je da su imala ulogu u evoluciji živog sveta, kao i da su se organizmi adaptirali na prisutna EMP. Međutim sveprisutnija veštačka EMP ENF, koja su predmet istraživanja ovog rada, predstavljaju novi abiotički faktor sredine. Na osnovu dosadašnjih podataka o uticaju EMP ENF na živi svet evidentno je da će ona delovati na različitim nivoima organizacije, od unutarćelijskih signalnih puteva do komponenti adaptivne vrednosti. Što bolje razumevanje ove problematike je veoma važno sa medicinskog aspekta, zbog potrebe za zaštitom ljudskog zdravlja, ali i sa aspekta populacione biologije, kao i ekologije, jer promena u sredinskim uslovima može da dovede i do značajne promene genetičke varijabilnosti populacija, što može rezultirati različitim evolucionim scenarijima. Ako govorimo samo o insektima, neophodno je sagledati i činjenicu da oni imaju veliki udeo u biomasi, kao i da u različitim ekosistemima insekti predstavljaju osnovnu i važnu kariku u lancima ishrane. Narušavanje brojnosti insekata može za posledicu da ima i narušavanje stabilnosti ekosistema, a sa antropogenog stanovišta gubitke u poljoprivredi nedostatkom insekata oprašivača ili povećanjem brojnosti štetočina u uslovima narušenih interspecijskih odnosa. Dobijeni podaci o uticaju EMP ENF na razviće, reprodukciju, vijabilitet i druge fitnes komponente, praćeni u laboratorijskim uslovima na različitim vrstama insekata, mogli bi se aproksimirati i na populaciono-ekološki nivo, čime bi pružili ekološki relevantne dokaze o uticaju EMP ENF.

Rezultati ovog rada su pokazali da je EMP ENF (50 Hz, 0,2 5mT) dovoljan stimulus spoljašnje sredine koji ima uticaj na rast, razviće i veličinu tela *Drosophila subobscura*, a efekti EMP navedenih karakteristika se ogledaju u smanjivanju vrednosti pojedinih komponenti adaptivne vrednosti.

Uticaj EMP ENF (50 Hz, 0,25 mT) na komponente adaptivne vrednosti

Mogući biološki efekat EMP ENF (50 Hz, 0,25 mT) ispitivan je kroz komponente adaptivne vrednosti, na nivou pojedinačnih jedinki *D. subobscura* tokom njihovog života, kroz tri sukcesivne generacije. Ovakav individualni pristup se veoma retko koristi jer je vremenski i tehnički veoma zahtevan, ali omogućava precizniji uvid u analizirane osobine slučajno izabranih genotipova zastupljenih unutar populacije.

Dobijeni rezultati u ovom radu pokazuju da EMP ENF ima uticaja na preživljavanje, razviće i dužinu života izloženih jedinki, kao i na fenotipske korelacije između analiziranih komponenti. Tako je kod jedinki iz prve generacije koje su embrionalni i deo post-embrionalnog razvića provele u EMP ENF uočen trend rasta fekunditeta, značajno duže razviće i slabije preživljavanje, a ženke izlagane do kraja života imaju kraći životni vek, u odnosu na jedinke iz kontrolnih uslova. U trećoj generaciji je kod jedinki koje su bile izložene EMP ENF uočen trend snižavanja fekunditeta i značajno kraće razviće, i kao i u prvoj generaciji: slabije preživljavanje i kraći životni vek izlaganih ženki kada se uporede sa jedinkama iste generacije iz kontrolne grupe. U trećoj generaciji uticaj EMP ENF delom je drugačiji u odnosu na rezultate dobijene za prvu generaciju, što može biti rezultat višegeneracijskog, kumulativnog delovanja ovog faktora na jedinke *D. subobscura*.

Uočene promene u komponentama adaptivne vrednosti u prisustvu EMP ENF (50 Hz, 0,25 mT) tokom tri generacije, pokazuju da EMP ENF dovodi do pada prosečnih vrednosti pojedinih komponenti adaptivne vrednosti. Može se reći da u ovom slučaju EMP ENF predstavlja nepovoljni, stresogeni sredinski faktor za *D. subobscura*, pošto se stres upravo definiše kao sredinska promena koja dovodi do snižavanja adaptivne vrednosti organizama, ili dovodi do potencijalno štetnih promena u biološkim sistemima (Koehn i Bayne, 1989; Hoffman i Parsons, 1991).

Kod holometabolnih insekata, kao što je *Drosophila*, mnogi odgovori na promenjene uslove sredine uključuju i promene u fiziologiji i ponašanju na jednom stupnju razvića, što može uticati i na druge faze životnog ciklusa (Partridge i sar., 1994; Joshi i Mueller, 1996; Santos i sar., 1997). U ovom radu izlaganje jedinki *D. subobscura* EMP ENF vršeno je tokom embrionalnog i ranog postembrionalnog

razvića, a efekti su praćeni na adultima. Kod svih životinja jedna od osetljivijih faza u razviću je gametogeneza, kao i embrionalni i postembrionalni stadijumi razvića, zbog velike metaboličke aktivnosti i energetske zahtevnih procesa koji se tokom nje odigravaju, pa su zato veoma pogodni za ispitivanje uticaja sredinskih faktora. Kod *Drosophila* je pokazano da je gametogeneza, a posebno oogeneza, veoma osetljiva na spoljašnje nepovoljne faktore, kao što su različita EMP, hemikalije, snižena ili povišena temperatura, smanjena količina hrane, što pokazuje i direktna veza između broja ovariole i sredinskih uslova (Nezis i sar., 2000; McCall, 2004; Terashima i Bownes, 2004; Panagopoulos i sar., 2007; Panagopoulos, 2012). Proces oogeneze kod *Drosophila melanogaster* počinje u poslednjim stadijumima lutke i pri izleganju, pa u jajnicima novoizleženih ženki već postoje jaja u prvoj predvitelusnoj fazi (Panagopoulos, 2012). Tokom oogeneze, jaja se razvijaju kroz 14 različitih stupnjeva. Ceo proces oogeneze za svako jaje traje oko 48 sati, tako da na kraju drugog dana adultnog života ženke imaju u svojim ovipozitorima jaja zrela za oplodjenje i polaganje. Zahvaljujući postojanju specijalnih kontrolnih tačaka tokom rane i srednje oogeneze, sve oocite koje se nepravilno razvijaju eliminišu se indukovanom ćelijskom smrću folikularnih i trofičkih ćelija što vodi destrukciji cele folikule (Nezis i sar., 2000; McCall, 2004). Ovakav vid kontrole predstavlja jedno od objašnjenja zašto sredinski faktori nemaju efekat na genom i morfologiju potomstva, već pre na broj položenih jaja, odnosno na fekunditet. Kontrolne tačke tokom ranog i srednjeg stupnja oogeneze mogu se smatrati kritičnim periodom intergracije informacija iz spoljašnje sredine, kada se bira između energetske ulaganja u produkciju jaja i njene obustave. Na obustavu produkcije jaja utiču i sredinski uslovi, a pokazano je da je za EMP ENF osetljivija druga kontrolna tačka na 7-8 stupnju oogeneze (Panagopoulos i sar., 2013). U povoljnim uslovima oogeneza se nastavlja nakon prolaska kroz kontrolne tačke, dok se u nepovoljnim sredinskim uslovima ona obustavlja i dolazi do ćelijske smrti autofagijom. Autofagija je normalan proces za folikularne i trofičke ćelije u folikulama krajem oogeneze u 12. stupnju, ali se u nepovoljnim uslovima to dešava u dve kontrolne tačke, na početku i u 7-8. stupnju oogeneze, pre konačnog razvijanja oocite. Zbog ovoga broj položenih jaja kod *Drosophila* može da ukaže na biološke promene izazvane spoljašnjim faktorima.

U ovom radu korišćene su ženke *D. subobscura* iste starosti, kod kojih je parenje trajalo više minuta, što je vizuelno praćeno, i samo su uspešno spareni parovi korišćeni u daljem toku eksperimenta. Ovim postupkom su izbegnute greške izazvane polaganjem neoplođenih jaja, ili razlike u produkciji jaja između ženki različite starosti. Međutim, u prvoj generaciji ženke su parene sa mužjacima i tek onda stavljane u EMP ENF, čime je tek osmog dana starosti počelo delovanje EMP ENF na spermatozoide smeštene u seminalnoj vezikuli ženki i jajne ćelije koje su prošle veći deo stadijuma oogeneze. U drugoj i trećoj generaciji korišćeni adulti su bili izloženi EMP ENF tokom svog embrionalnog i ranog postembrionalnog razvića, što obuhvata 48 sati koliko su bili u EMP od 50 Hz, čime nisu bili izloženi osetljiviji stadijumi u oogenezi, kao ni tokom naknadnog izlaganja ovih ženki, pošto su dostigle starost od osam dana kada su parene i praćene u EMP ENF do kraja života. Embriogeneza je najverovatnije faza razvića koja je manje osetljiva na spoljašnje nepovoljne faktore nego gametogeneza (Panagopoulos i Margaritis, 2003; Panagopoulos, 2012), a zbog izlaganja ženki od osmog dana starosti izostalo je delovanje EMP ENF tokom znatnog dela oogeneze, pa verovatno iz navedenih razloga u ovom eksperimentu mogući jasniji uticaj EMP ENF na fekunditet jedinki nije detektovan. Jasna i uniformna slika o uticaja EMP od 50/60 Hz na fekunditet jedinki *Drosophila* ne postoji zbog prilično velike raznolikosti rezultata u radovima. Dobijeni rezultati u ispitivanju efekata EMP ENF su pokazali da ovaj abiotički faktor utiče kako na ženke, tako i na mužjake *D. melanogaster*, a da odgovor zavisi i od dužine izlaganja, od jačine polja koje je primenjeno, ali i od starosti ženki i faze razvića izloženih jedinki na koje je polje delovalo (Ramirez i sar., 1983; Panagopoulos i Margaritis, 2002; Gonet i sar., 2009; Panagopoulos i sar., 2013; Li i sar., 2013). Rezultati navedenih eksperimenata, kao i ovog rada, ukazuju da u slučaju delovanja EMP ENF, uticaj na fekunditet, pored EMP ENF imaju i brojni drugi činioci.

Ako se analizirane komponente adaptivne vrednosti posmatraju sa aspekta teorije životne istorije, može se izvesti zaključak o postojanju zakonitosti u pravcu promena njihovih vrednosti. Veliki deo teorije životne istorije je usmeren ka objašnjavanju i predviđanju varijacija u rastu, razviću i veličini organizama, odnosno u osobinama životne istorije, pod uticajem različitih ograničenja i sredinskih uslova (Roff, 1980, 1992; Stearns, 1992). Sredinski uslovi ne utiču samo na jednu ili više osobina izolovano, već pre mogu da utiču na ravnotežu raspodele resursa u širokom opsegu

osobina životne istorije. Stoga pri promeni u komponentama adaptivne vrednosti redukovane vrednosti jedne osobine mogu biti kompenzovane povećanjem vrednosti neke druge. Ovakve promene ne zavise samo od faktora koji deluje, već i od nivoa genetičke varijabilnosti prisutne u populaciji i od obrazaca cene adaptivne vrednosti vezane za osobine životne istorije (Falconer, 1996).

Iako nisu statistički značajni, efekti EMP ENF u ovom radu za dobijene vrednosti fekunditeta pokazuju trend koji se razlikuje u eksperimentalnim generacijama, pošto postoji rast vrednosti fekunditeta u prvoj, a pad vrednosti fekunditeta u trećoj generaciji u grupi jedinki izloženih EMP u odnosu na jedinke iz kontrolne grupe. Uočeni trend je u saglasnosti sa predviđanjima da se u sredinama koje su nepovoljne očekuje povećano reproduktivno ulaganje, jer produkcija većeg broja jaja obezbeđuje veći broj potencijalnih potomaka koji dostižu polnu zrelost u stresnim uslovima, što predstavlja mehanizam kojim se minimalizuje efekat štetnog faktora. Ovo je potvrđeno radovima u kojima je povećana produkcija jaja uočena nakon izlaganja jedinki većem stepenu stresa ili sredinskog zagađenja (Sibly i Calow, 1989; Tranvik i sar., 1993; Postma i Davids, 1995; Lagisz i Laskowski., 2008). S obzirom na to da je taj obrazac svojstven većem broju vrsta, moguće je da predstavlja opšti odgovor na štetne, stresne faktore u životnoj sredini. U ovom radu, uticaj EMP ENF ni u trećoj generaciji nije bio statistički značajan za fekunditet, ali se uočava trend smanjenja broja položenih jaja u EMP grupi u odnosu na kontrolnu grupu, što je verovatno rezultat kumulativnog, višegeneracijskog delovanja na jedinke. Višegeneracijske analize izloženosti stresu su pokazale da nakon rasta fekunditeta u prvoj generaciji dolazi do naglog pada vrednosti fekunditeta u kasnijim generacijama izloženim npr. teškim metalima, pesticidima, kao i drugim polutantima životne sredine, što se objašnjava ulaganjem u fiziološke mehanizme otpornosti ovih grupa organizama, kao i izazivanjem promena u obrascima životne istorije. Raspodela ograničenih resursa tokom razvića između mehanizama otpornosti i drugih komponenti adaptivne vrednosti može ograničavati opseg mogućih evolucionih odgovora. Iako nisu detaljno poznati svi mehanizmi dejstva EMP ENF, kao ni svi mehanizmi neutralisanja ili smanjenja eventualnog štetnog delovanja ovog sredinskog faktora, dosadašnji radovi su pokazali da se u slučaju akutnih izlaganja EMP, do 72 h, kao i hroničnih izlaganja EMP, tokom celog preadultnog razvića jedinki *Drosophila*, uključuju različiti fiziološki mehanizmi odbrane. Ti mehanizmi kod

insekata obuhvataju ekspresiju *hsp 22* gena koji učestvuje u ćelijskom odgovoru na sredinski stres, zatim produkciju enzima koji učestvuju u antioksidativnoj zaštiti, kao i neurosintezu insulin-sličnom hormonu, što sve zajedno ukazuje da izložene jedinke indukuju *in vivo* imuni odgovor da bi prevazišle negativne efekte sa kojima su se susretale tokom izlaganja uticaju EMP ENF (Nenadović i sar., 2005; Ilijin i sar., 2011; Todorović i sar., 2011; Li i sar., 2013; Rauš Baldin i sar., 2014). Svi ovi mehanizmi koriste energiju i resurse, koji zbog toga postaju nedostupni za ulaganje u reprodukciju, rast i druge procese. Zbog preraspodele resursa u fiziološke mehanizme odbrane nakon više generacija izloženosti negativnim faktorima dolazi do smanjenja reproduktivnog ulaganja što podrazumeva smanjenje fekunditeta i slabije preživljavanje, kao i do promene u dužini razvića (Charlesworth, 1980; Maltby i sar., 1987; Sibly i Calow, 1989; Reznick i sar., 1990; Posthuma i sar., 1993; Teschner, 1995; Forbes i Calow, 1997; Stamenković-Radak i sar., 2008; Kenig i sar., 2013).

Rezultati dobijeni u ovom radu za dužinu razvića od jaja do adulta pod uticajem EMP ENF pokazuju da postoji jasan odgovor ove komponente adaptivne vrednosti koji se ogleda u prilagođavanju dužine razvića na ovaj sredinski faktor, pošto u prvoj eksperimentalnoj generaciji pod uticajem EMP ENF dolazi do značajnog produžavanja razvića, dok u trećoj generaciji dolazi do značajnog skraćivanja razvića u poređenju sa kontrolnom grupom. Takođe se može primetiti da se dužina razvića skraćuje tokom generacija kod jedinki koje su embrionalno i deo postembrionalnog razvića provele u EMP ENF. Dosadašnji rezultati pokazuju da je varijabilnost dužine razvića i preživljavanja od larve do adulta kod *Drosophila* u uslovima velikog stresa, kao što su ekstremne temperature ili restriktivna ishrana značajno veća nego u optimalnijim uslovima (Krebs i Loeschke 1999; Bublly i Loeschke 2001, 2002; Sgrò i Hoffmann, 2004). Koristeći biofizički model, de Jong i Imasheva (2001) su pokazale značajnu mogućnost odgovora u ekstremnim uslovima modifikacijom dužine trajanja razvića.

Studije o uticaju EMP ENF na dužinu preadultnog razvića kod insekata pokazuju da EMP ENF kao spoljašni sredinski faktor može da dovede i do skraćivanja razvića, ali i do njegovog produžavanja (Graham i sar., 2000; Stanojević i sar., 2005; Starick i sar., 2005; Todorović i sar., 2012; Dimitrijević i sar., 2014). Dobijeni rezultati za jedinke *D. melanogaster* izložene EMP od 60 Hz i 80 mT ukazuju na ubrzano razviće i skraćanje vremena potrebnog za preadultno razviće (Graham i sar., 2000), što je

zabeleženo i kod *D. subobscura* izložene EMP od 50 Hz i 0.5 mT (Dimitrijević i sar., 2014) i kod vrste *Baculum extradentatum* (Phasmatodea) u EMP od 50 Hz i 6 mT (Todorović i sar., 2012). Ali za vrstu *Musca domestica* (Diptera) je pokazano da EMP istih karakteristika (50 Hz, 6 mT), dovodi do produžavanja vremena razvića od lutke do adulta, i usporavanja metamorfoze (Stanojević i sar., 2005), kao i u slučaju jedinki *Rhyzopertha dominica* (Coleoptera) gajenih u EMP od 50 Hz i 0,2 mT (Starick i sar., 2005). Kod *D. melanogaster* je uočena značajna povezanost između stresa, dužine trajanja larvalnog razvića i pokazatelja energetskeg metabolizma: količine kofaktora nikotinamid adenin dinukleotid (NAD) i odnosa ATP/ADP (Kohane, 1994). EMP viših frekvencija, od 5 do 9,3 MHz, produžavaju razviće *D. melanogaster* i menjaju odnos ADP/ATP, modifikacijom aktivnosti elektron transportnog lanca, promenom nivoa NAD i dostupnosti elektrona, ali bez promena u drugim fitnes komponentama: larvalnoj težini, preživljavanju od jaja do adulta, i težini adulta (Kohane i Tiller, 2000).

Kod *D. melanogaster* i *D. subobscura*, kratko vreme razvića je u korelaciji sa većom aktivnošću većine analiziranih enzima, pošto je selekcija za preadultno razviće dala liniju sa kraćim vremenom razvića u kojoj su aktivnosti pojedinih enzima veće nego u slučaju linija sa dužim trajanjem razvića (Marinković i sar., 1986). Cluster i saradnici (1987) su zaključili da "se može očekivati da se produkcija ribozoma, translacioni kapacitet, enzimska aktivnost, bazalni metabolizam, stope razvića i adaptacija menjaju na korelisan način". Generalno, u osnovi brzog razvića može biti metabolički fenotip sa relativno većom enzimskom aktivnošću (Parson, 2004). Ubrzani metabolički procesi i veća potrošnja kiseonika povezani su sa većom proizvodnjom reaktivnih radikala kiseonika koji oštećuju ključne molekule kao što su DNK, proteini i lipidi (Loft i sar., 1994; De Block i Stoks, 2005), dok se kao nusproizvodi metabolizma kiseonika javljaju i drugi slobodni radikali (Finkel i Holbrook, 2000). Poznato je da je jedan od efekata izlaganja EMP ENF povećanje reaktivnih slobodnih radikala u ćeliji. Tako ubrzanje embrionalnog razvića u uslovima veštačkog EMP ENF može dovesti do neravnoteže između selekcije za energetske i metaboličku efikasnost i štetnih efekata reaktivnih radikala kiseonika. Pored toga, EMP ENF utiču na biološki važne kalcijumove signalne puteve, preko promena u katjonskim kanalima membrane, unutarćelijske koncentracije jona kalcijuma, kao i uticajem na endogena električna polja koja su takođe povezana i sa tokom Ca^{2+} jona i depolarizacijom membrane (Pall, 2013).

Kalcijum, slično natrijumu i drugim jonima, igra važnu ulogu u razviću (Spitzer, 1979), naročito u ranim embrionalnim procesima (Warner, 1973; Barth i Barth, 1974; Messenger i Warner, 1979; OShea, 1982; Shirayoshi i sar., 1983; Smedley i Stanisstreet, 1985, 1986). Direktno izlaganje EMP utiče preko unutarćelijske koncentracije na Ca^{2+} na stope sinteze DNK, RNK i proteina, stopu ćelijske proliferacije, skraćivanje ćelijskog ciklusa, i ubrzavanje deobe ćelija (Blank i Goodman, 1997). Tokom razvića jedinki, kao i tokom gametogeneze, nabrojani ćelijski procesi se odvijaju konstantno, i sve promene u stopama proliferacije ćelija i sintezi navedenih biomolekula će rezultovati promenom u dužini razvića, bilo skraćanjem bilo produžavanjem trajanja preadultnog razvića. Osim toga, EMP ENF mogu uzajamno delovati sa unutrašnjim fiziološkim električnim poljima, za koje se zna da kontrolišu proliferaciju, diferencijaciju i kretanje ćelija na različite lokacije (Weisenseel, 1983; Nuccitelli, 1988; McCaig i Zhao, 1997).

Kraće razviće se obično smatra štetnim zbog kraćeg vremena dostupnog za rast i razviće i za akumulaciju rezervnih materija, ali može doneti adaptivnu prednost jer skraćuje vreme izloženosti predatorima, infekcijama i/ ili stresu, omogućava prednost u ranoj reprodukciji i omogućava veći broj generacija u datom periodu vremena (Sibly i Calow 1986, 1999; Stearns, 1992; Gotthard i sar. 1994; James i Partridge, 1995; Berney i Denno, 1997; Nylín i Gotthard, 1998; Kenig i sar., 2013). Ubrzani rast i razviće insekata može biti povezano sa smanjenjem preadultnog preživljavanja, usled visokog nivoa razvojne nestabilnosti zbog povećanja oštećenja na molekulu DNK, razvojnih grešaka tokom razvića (Arendt, 1997; De Block i sar., 2008), kao i usled velikih energetske ograničenja, što predstavlja fiziološku cenu ubrzanog razvića (Stockhoff, 1991; Gotthard i sar. 1994; Gotthard, 2001; Stoks i sar., 2006). Sa druge strane, duže razviće kod *Drosophila* može dovesti do slabijeg preživljavanja i snižavanja kompetitivne sposobnosti larvi, zbog kašnjenja u vremenskim okvirima kada se prelazi u fazu lutke (Bakker, 1969).

Slabije preadultno preživljavanje je zabeleženo i u ovom radu, pošto je kod jedinki *D. subobscura* izloženih EMP ENF preživljavanje od jaja do adulta slabije tokom generacija, pa je najmanja prosečna vrednost preživljavanja zabeležena u EMP grupi u trećoj eksperimentalnoj generaciji. Pod uticajem EMP od 50 Hz zabeleženo je kako smanjeno preživljavanje jedinki *D. melanogaster* (Ramirez i sar., 1983; Ma i Chu, 1993), tako i bolje preživljavanje jedinki *D. subobscura* (Dimitrijević i sar., 2014), dok

u drugim studijama nisu zabeležene statistički značajne promene (Walters i Carstensen, 1987; Todorović i sar., 2012). Promene u stopi mortaliteta mogu predstavljati selekcionu pritisak koji vodi ka adaptivnim promenama u osobinama životne istorije (Stearns, 1983a, b; Reznick i sar., 1990; Till-Bottraud i sar., 1990), morfologiji (Seeley, 1986), koloraciji (Endler, 1980), kao i u anti-predatorskom ponašanju (Cruz i Wiley, 1989; Magurran i sar., 1992). Navedene studije predstavljaju primere brze evolucije, jer promene u stopi mortaliteta mogu nametnuti direkcionu selekciju za one osobine koje npr. povećavaju verovatnoću reproduktivnog uspeha pojedinih genotipova. Nizak procenat preživljavanja u grupi jedinki *D. subobscura* izloženih EMP u embrionalnom i ranom postembrionalnom razviću, zajedno sa trendom opadanja vrednosti fekunditeta, pogotovo u trećoj generaciji, ukazuju da je efekat EMP ENF kumulativan i negativan, pošto je samo trećina izloženih jedinki u trećoj generaciji uspela da kompletira razviće od jaja do adulta.

EMP ENF značajno utiče i na dužinu života adultnih ženki *D. subobscura*. Dobijeni rezultati pokazuju da ženke izložene EMP žive značajno kraće, u proseku za 17,31% u poređenju sa kontrolnom grupom. Srednja vrednost za dužinu života ženki u kontrolnoj grupi iznosi 102,64 dana, dok dužina života ženki koje su tokom celog života od osmog dana starosti bile izložene veštačkom EMP iznosi u proseku 84,87 dana. Za jedinke *D. subobscura* zabeležena dužina života u laboratorijskim uslovima pri temperaturi od 20 °C, posmatrano od trenutka izleganja adulta, iznosi 67,4 dana za mužjake i 55,9 dana za ženke (Maynard Smith, 1958). Kada se na ove vrednosti dužine života doda i prosečna preadultna dužina života za *D. subobscura*, prosečni ukupni životni vek iznosi 88,5 dana za mužjake i 77 dana za ženke. Ova vrednost može biti produžena i na preko tri meseca, od 80 do 153 dana za ženke *D. melanogaster*, što zavisi od sredinskih uslova, kao što su gustina larvi, ishrana, temperatura. Srednje vrednosti dužine života ženki *D. subobscura* koje su zabeležene tokom višegeneracijske adaptacije na laboratorijske uslove, pokazuju da se na 18 °C prosečna dužina života od izleganja ženki do njihove smrti kreće od 81,19 dana u petnaestoj generaciji, do 95,48 dana u desetoj generaciji (Matos i sar., 2000). Kada se doda preadultna dužina života, ove vrednosti su u saglasnosti sa vrednostima za dužinu života ženki koje su dobijene u ovom radu u kontrolisanim uslovima na 19 °C.

Životni vek *Drosophila* u laboratorijskim uslovima može biti značajno duži u odnosu na životni vek u prirodi, pre svega zbog visokog mortaliteta prisutnog u prirodnim uslovima (Rosewell i Shorrocks, 1987). Usled gajenja u laboratorijskim uslovima mušice su ograničene na životni prostor veličine flakona u kome se njihove aktivnosti svode na minimum. Dodatno, zbog optimalnih uslova u pogledu temperature, ishrane i dostupnosti partnera za parenje, postaju letargične, pa se usled slabije aktivnosti potencijalno akumuliraju rezerve masti i glikogena (Harshman i Hoffmann, 2000). Dobijene visoke vrednosti za dužinu života *D. subobscura* mogu delom biti posledica i produžene post-reproduktivne faze usled laboratorijskog gajenja mušica (Reznick i sar., 2006; Kirkwood i Shanley, 2010). Klepsatel i saradnici (2013) su utvrdili da ženke iz prirodnih populacija *D. melanogaster* gajene u laboratoriji, imaju izraženu post-reproduktivnu fazu, koja u proseku čini 40% njihovog ukupnog životnog veka. Pošto ženke *Drosophila* ne pružaju materinski postreproduktivni doprinos fitnesu potomstva, niti reproduktivnoj komponenti individualnog fitnesa, može se pretpostaviti da kod njih post-reproduktivni deo životnog veka verovatno predstavlja neadaptivni, varijabilni i slučajni dodatak u životnoj istoriji (Reznick i sar., 2006), koji može ostati van dejstva selekcije. Takođe, prema glavnim evolucionim teorijama starenja (Medawar, 1952; Williams, 1957; Kirkwood, 1977), smatra se da selekcija prvenstveno deluje na adulte u njihovom ranom životnom dobu, što ima uticaj na životnu istoriju, jer je fiksiranjem osobina životne istorije kod vrlo mladih jedinki veća verovatnoća da će one biti adaptivne tokom ranog adultnog života nego u kasnijem životnom dobu. Svakodnevnim posmatranjem jedinki *D. subobscura* u ovom radu, uočeno je izrazito produžavanje post-reproduktivne faze, kao i letargičnost i smanjeno kretanja, pa je stečen utisak da u optimalnim uslovima ne dolazi do produžavanja aktivne, reproduktivne faze, već da se produžava post-reproduktivna faza.

Zabeleženo značajno skraćivanje dužine života ženki *D. subobscura* pod uticajem EMP od 50 Hz i 0,25 mT, može biti direktna posledica povećanja slobodnih radikala i oksidativnih oštećenja, akumulacije mutacija, kao i moduliranja signalnih puteva povezanih sa starenjem. Oksidativna oštećenja i slobodni radikali predstavljaju važan faktor za dužinu života, pošto je brojnim studijama na *D. melanogaster* i drugim organizmima, pokazano da oksidativna oštećenja ozbiljno doprinose procesu starenja (Finkel i Holbrook, 2000; Speakman i Garratt, 2014). Takođe i povećana količina

oštećenja na molekulu DNK usled dejstva EMP može doprineti ubrzanju procesa starenja, pošto jedna od osnovnih teorija starenja upravo postulira akumulaciju štetnih mutacija tokom vremena. Istraživanja u oblasti starenja su pokazala da *Drosophila* i drugi model organizmi dele konzervativne puteve koji moduliraju dužinu života i starenje, kao što su insulinski i insulinski-slični signalni putevi (Longo i Finch, 2003). Zna se da pod uticajem EMP od 50 Hz neurosekretorni neuroni insekata povećavaju sintezu juvenilnog hormona (Nenadović i sar., 2005) i insulin-sličnih neuropeptida (Ilijin i sar., 2011) koji učestvuju u signalnim putevima odgovornim za reprodukciju, dužinu života i oogenezu preko kontrolnih tačaka u prenosu informacija iz spoljašnje sredine. Može se pretpostaviti da EMP ENF preko ovih signalnih puteva utiče i na proces starenja (Flatt i Kawecki, 2007; Alcedo i sar., 2013).

Postavlja se pitanje da li bi tolika razlika u dužini života između jedinki iz EMP i kontrolne grupe bila zabeležena da je praćena dužinu života i kod izloženih mužjaka, pošto podaci iz oblasti dugovečnosti i starenja pokazuju da postoje razlike u dužini života između ženki i mužjaka. Smrtnost oba pola je sredinski specifična i odgovor jednog pola u dužini života se može bitno razlikovati od odgovora drugog, što ukazuje da se dobijeni rezultat o uticaju EMP ENF na životni vek ženki ne može primeniti na mužjake (Chippindale i sar., 1996). Ženke pokazuju veću osetljivost na promene uslova u spoljašnjoj sredini, pa je tako dužina života ženki pod većim uticajem statusa parenja (Partridge i Fowler, 1992), ishrane (Zajitschek i sar., 2014), povremenog gladovanja (Carey i sar., 1999), brojnosti larvi (Graves i Mueller, 1993), temperature (Pegueroles i sar., 1999), jonizujućeg zračenja (Carey i Liedo, 1995), i različitih svetlosnih režima (Sheeba i sar., 2000), u odnosu na mužjake (Vaupel i sar., 1998). Čak i u post-reproduktivnoj fazi života postoji polna razlika u stopi smrtnosti. Kod *D. melanogaster* stopa smrtnosti tokom kasnih faza života je zavisna od pola i ishrane (Zajitschek i sar., 2014). Pored toga, prisutne su i polne razlike u energetsom i proteinskom ulaganju u reprodukciju: dok ženke *Drosophila* stvaraju veliku količinu jaja sa visokim proteinskim sadržajem, mužjaci moraju da proizvedu samo relativno mali volumen sperme koja se sastoji od minimalnih količina proteina (Reznick, 1985; Partridge i Harvey, 1985; Carlson i Harshman, 1999; Partridge i Mangel, 1999). Zbog toga su dobijene razlike u dužini života ženki posledica, između ostalog, i većeg ulaganja ženki u reprodukciju i veće osetljivost ženki na stresne uslove, u ovom slučaju EMP od 50 Hz.

Uticaj EMP ENF (50 Hz, 0,25 mT) na fenotipske korelacije

Posmatrane analizirane osobine pokazuju promene u vrednostima usled dejstva EMP od 50 Hz i 0,25 mT. Evolucija neke osobine zavisi od jačine selekcionog pritiska, prisutne genetičke varijabilnosti za tu osobinu, ali u velikoj meri i od genetičkih odnosa sa drugim osobinama. Stoga u slučajevima kada je došlo do promena u osobinama životne istorije veoma retko dolazi promena u pojedinačnim osobinama, već se češće dešava da različite osobine adaptivne vrednosti imaju korelisane odgovore na selekcionu pritisak (Kellermann i sar., 2013). Korelacije osobina mogu nastati iz više razloga, ali u osnovi, korelacije mogu biti uzrokovane istim genima i mehanizmima koje su u osnovi konkretnih skupova osobina (genske interakcije), ili se mogu javiti kada specifična sredina vrši selekcionu pritisak za više osobina istovremeno (korelaciona selekcija). U prvom slučaju evolucija različitih osobina neće biti nezavisna i smer evolucije može biti ograničen (Etterson i Shaw, 2001; Blows i Hoffmann, 2005). U drugom slučaju, osobine se razvijaju u bilo kom pravcu sa korelacionim selekcionim pritiskom koji "gura" skup korelisanih osobina. Fenotipske korelacije mogu da objasne funkcionalnu vezu ili uzajamna ograničenja koja postoje u vrednostima određenih osobina životne istorije u posmatranoj sredini, pa predstavljaju fundamentalni aspekt evolucione ekologije. Fenotipske korelacije između kvantitativnih osobina obuhvataju sredinsku i genetičku komponentu, i one su pokazatelj i postojećih genetičkih korelacija, mada to ne mora uvek da bude slučaj (Roff i Fairbairn, 2007, 2012). Vrednosti fenotipskih korelacija između analiziranih osobina u obe eksperimentalne sredine, pokazuju da nisu dobijeni dokazi o tipičnim ograničenjima na fenotipskom nivou, u koje kao najvažnije spada *trade-off* između fekunditeta i dužine života ženki. U kontrolnoj grupi je uočena granična p-vrednost za fenotipsku korelaciju između ranog fekunditeta i dužine života ženki, ali je koeficijent korelacije pozitivan. Očekivana korelacija za ovaj par osobina je negativnog smera, i može se posmatrati na genetičkom, fiziološkom ili fenotipskom nivou (Reznick, 1985, 1992; Bell i Koufopanou, 1986; Roff, 1992; Charlesworth, 1990; Houle, 1991; Stearns, 1992; Flatt i sar., 2008). Negativna genetička korelacija između ovih osobina kod *Drosophila* dokumentovana je brojnim eksperimentima u kojima je vršena selekcija za duži životni vek, ili kada su genetičke korelacije procenjene na osnovu srodničkih studija (Partridge i sar., 1987; Sgro i Partridge, 1999; Stearns i Partridge, 2001; Flatt, 2011). Međutim, često u studijama u kojima su merene

fenotipske, pre nego genetičke korelacije između ranog fekunditeta i dužine života, nisu pronađeni dokazi za postojanje ovog ograničenja (Giesel i sar., 1982; Giesel, 1986; Stearns, 1992; Partridge i Fowler, 1992), i sve je veći broj primera koji sugerišu da *trade-off* između reprodukcije i dužine života može biti razdvojen pod određenim uslovima (Grandison i sar., 2009; Flatt, 2011; Khazaeli i Curtsinger, 2012). Ovakav rezultat se obično pripisuje združenim efektima inbridinga, akumulaciji mutacija ili interakciji $G \times E$ (Service i Rose, 1985; Clark, 1987), i najverovatnije je da su mešoviti efekti ovih faktora maskirali negativne fenotipske korelacije i u ovom eksperimentu. Da li su pretežno pozitivne korelacije osobina životne istorije u ovom radu rezultat inbridinga, akumulacije mutacija ili laboratorijske adaptacije ostaje nejasno pošto ovakav eksperimentalni dizajn onemogućava da se isključi efekat nekog od nabrojanih faktora. U slučaju akumulacije mutacija, efekti *de novo* mutacija često pokazuju pozitivne plejotropne efekte za komponente adaptivne vrednosti (Houle i sar., 1994). Inbriding u IF linijama izaziva nagomilavanje homozigotnih alela, što verovatno dovodi do pozitivnih genetičkih korelacija između osobina koje su uključene u odgovor na stres, a ne do *trade-off*-a. Nova laboratorijska sredina može generisati pozitivne korelacije na dva načina koja se međusobno ne isključuju. Prva mogućnost je da su genotipovi koji su ili slučajno preadaptivni ili maladaptivni na novu sredinu generalno poboljšali ili smanjili fitness, što bi dalo pozitivne korelacije (Service i Rose, 1985; Ackerman i sar., 2001). Druga mogućnost je da su negativne korelacije odsutne ili maskirane usled optimalnih laboratorijskih uslova, jer resursi nisu limitirani (van Noordwijk i de Jong, 1986). Ipak, odsustvo negativnih fenotipskih korelacija ne mora da znači i odsustvo genetičkog *trade-off*-a, a uočavanje pozitivnih fenotipskih korelacija u ovom eksperimentu, u većem broju u sredini sa EMP ENF, podržava ideju da nove sredine pomeraju korelacije osobina životne istorije prema pozitivnim vrednostima, pre svega kroz genetičku varijabilnost fenotipske plastičnosti, tj. interakcije genotipa i sredine (Service i Rose, 1985).

Jedina statistički značajna korelacija između osobina u EMP grupi dobijena je za dužinu razvića i dužinu života ženki, a pri tome ova korelacija nije uočena u kontrolnoj grupi. U EMP grupi jединke imaju značajno kraći životni vek u odnosu na jединke iz kontrole, a uočena korelacija pokazuje da postoji jasna pozitivna veza između dužine preadultnog razvića i dužine života kod jединki koje su deo svog embrionalnog i

postembrionalnog razvića provele u prisustvu EMP ENF. Veštačko EMP ENF predstavlja stresni, nepovoljni faktor u čijem prisustvu su preadultno razviće i dužina života jasno korelisane. Moguće objašnjenje predstavlja preraspodela resursa u različite mehanizme odbrane u prisustvu EMP ENF, čime se smanjuju dostupni resursi kojima se u optimalnim uslovima može uticati na dužinu života bez obzira na dužinu preadultnog razvića. Zbog toga ove osobine nisu korelisane u kontrolnoj grupi, dok u je prisustvu EMP jasna korelisanost preadultnog razvića i dužine života. Duže preadultno razviće omogućava reproduktivne prednosti kasnije u životu, uprkos ceni koja se ogleda u smanjenom preadultnom preživljavanju i kasnijem ulasku u reprodukciju (Rowe i Ludwig, 1991; Abrams i Rowe, 1996; Nylin i Gotthard, 1998). Produženim periodom razvića u preadultnoj fazi, adultna veličina tela je veća, što omogućava veći fekunditet i dužu dužinu života jedinki, kroz obrazovanje dugovečnijih somatskih ćelija i povećanu akumulaciju resursa kod adulta (Honek, 1993; Blanckenhorn, 2000).

Negativna korelacija između fekunditeta i preživljavanja od jaja do adulta uočena je u obe eksperimentalne grupe, a značajnost te korelacije u kontrolnoj grupi ukazuje na jedan od načina održavanja genetičke varijabilnosti osobina fitnesa u populaciji. Genotipovi sa višim fekunditetom imaju slabije preadultno preživljavanje, dok genotipovi sa nižim vrednostima fekunditeta imaju bolje preživljavanje od jaja do adulta, čime je doprinos različitih genotipova sledećoj generaciji sličan i genetička varijabilnost za ove osobine fitnesa ostaje očuvana u populaciji. Genetička varijabilnost osnovnih osobina fitnesa, pre svega fekunditeta i preadultnog preživljavanja, je sveprisutna u prirodnim populacijama (Mousseau i Roff, 1987; Shaw i sar., 1995; Burt, 1995; Fowler i sar., 1997; Merila i Sheldon, 2000). U nekim merenjima premašuje i uočenu varijabilnost morfometrijskih osobina (Houle, 1992), iako je za očekivati da pod direkcionom selekcijom genetička varijabilnost za osobine usko vezane za fitnes bude manja u odnosu na genetičku varijabilnost osobina koje nisu vezane za fitnes i koje su uglavnom pod uticajem slabe, stabilizacione selekcije (Merila i Sheldon, 1999). Takođe, osobine fitnesa u odnosu na osobine koje su slabije povezane sa fitnessom imaju nižu heritabilnost, uprkos njihovoj genetičkoj varijabilnosti i višoj aditivnoj genetičkoj varijansi, što je u suprotnosti sa prihvaćenim stavom zasnovanim na heritabilnosti osobina (Houle, 1992; Merila i Sheldon, 1999). To se najbolje objašnjava njihovom visokom rezidualnom varijansom poreklom od neaditivno-genetičke i sredinske

varijabilnosti, i materinskog efekta (Price i Schluter, 1991; McCleery i sar., 2004). Visoka aditivna i rezidualna varijabilnost osobina fitnesa može biti objašnjena i postojanjem većeg broja lokusa uključenih u determinaciju osobine, kao i složenim matriksom genetičkih i sredinskih interakcija, ili nedostatkom stabilizacione selekcije koja bi redukovala njihovu fenotipsku varijansu (Houle, 1992; Merila i Sheldon, 1999).

Dobijeni rezultati ukazuju da je veći broj statistički značajnih fenotipski koreliranih odgovora dobijen u optimalnim, kontrolnim uslovima, da većinom uključuju fekunditet, i da nisu prisutne u EMP grupi. Ovo pokazuje da EMP od 50 Hz i 0,25 mT kao sredinski faktor utiče na kovariranje analiziranih osobina, menjajući smer korelacije, i značajno smanjujući koeficijent fenotipskih korelacija, odnosno stepen povezanosti osobina. Dobijene vrednosti koeficijenta korelacije za sve parove analiziranih osobina u EMP grupi su niže nego dobijene vrednosti korelacije u kontrolnoj grupi, osim za fenotipsku korelaciju dužine razvića i dužine života ženki, i bliske su nuli. Smanjenje koeficijenta fenotipske korelacije u EMP grupi u odnosu na koeficijente u kontrolnoj grupi može da ukaže na specifične promene u fenotipskom ispoljavanju osobina u prisustvu EMP ENF. Pretpostavka je da u nepovoljnim sredinskim uslovima manja korelisanost osobina može da omogući efikasnije prilagođavanje jedinki na nepovoljne efekte EMP od 50 Hz. Laboratorijski dokazi ukazuju da sredina može uticati na genetičku vezu između osobina (Sgro i Hoffmann, 2004), ali procene dobijene u kontrolisanom ili u proizvoljnom opsegu uslova pokazuju nedostatak saglasnosti sa onima dobijenim u prirodnim staništima (Conner i sar., 2003). Kao rezultat toga, dobijene procene korelacija osobina mogu predstavljati predviđanja evolucije osobina, ali su one validne samo za populaciju i sredinu u kojoj su merene. Stoga je teško dati generalni zaključak o evoluciji posmatranih osobina, ali možemo pretpostaviti da sredina sa EMP ENF (50 Hz i 0,25 mT) predstavlja selekcionni pritisak na komponente adaptivne vrednosti.

Fenotipska plastičnost na nivou komponenti adaptivne vrednosti

Ekspresija mnogih osobina se fenotipski menja u zavisnosti od sredinskih uslova, i generalno se očekuje da genotipovi ispolje fleksibilne reakcije u sveprisutnim, i često nepredvidivim, prostorno-vremenskim varijacijama sredinskih faktora. Stoga su ostvarene fenotipske vrednosti osobina rezultat postojećeg genotipa, sredine u kojoj se genotip nalazi i interakcije između genotipa i sredine (G x E). Kod *Drosophila* mnoge posmatrane osobine pokazuju fenotipsku plastičnost u odgovoru na različite sredinske uslove (npr. Zhou i sar., 2012; Bublly i sar., 2013), a u ovom radu preživljavanje od jaja do adulta i dužina života ženki u prvoj generaciji, i dužina razvića u sve tri generacije, ispoljavaju fenotipsku plastičnost u sredini sa EMP od 50 Hz i 0,25 mT. Fekunditet i stopa polaganja jaja su dve analizirane komponente adaptivne vrednosti koje u ovom radu ni u jednoj generaciji ne pokazuju fenotipski plastičan odgovor, niti interakciju genotipa i sredine, a rezultati su pokazali da ove osobine imaju veliku širinu opsega odgovora na promenjene uslove sredine, kao i da mogu da održavaju vrednosti u uslovima promenjene životne sredine.

Jedina osobina od svih analiziranih komponenti adaptivne vrednosti u ovom radu koja je pokazala značajnu interakciju genotip – sredina u odgovoru na EMP ENF je dužina razvića. Ostvarena dužina razvića je zavisna od genetičkih i sredinskih faktora, kao i od njihove interakcije. Uočena varijabilnost fenotipske plastičnosti za dužinu razvića pod uticajem EMP ENF odgovara periodu tokom ontogenije kada je organizam sklon da modifikuje razviće u odgovoru na promene u spoljašnjoj sredini (Kaiser i sar., 1995). Pošto adultne jedinke *Drosophila* zavise prvenstveno od informacija iz larvalnih stupnjeva jer ne mogu da registruju sve promene u okruženju tokom stadijuma lutke, za njih, kao kratkoživeće organizme, je od značaja da mogu da utiču na razvojne puteve i time utiču na osobine životne istorije u zavisnosti od veoma ranog iskustva (Van den Heuvel i sar., 2014). Mada su ove promene perzistentne, verovatno će se njihova adaptivna vrednost ispoljiti na kratkoj vremenskoj skali, pošto voćne mušice imaju visoku stopu smrtnosti i kratak životni vek (Dobzhansky i Wright, 1947; Crumpacker i Williams, 1973).

Prisutna varijabilnost fenotipske plastičnosti dužine razvića može da ukaže i na veći evolucioni potencijal ove komponente adaptivne vrednosti u odnosu na promenu frekvencije i intenziteta EMP. Varijabilnost fenotipske plastičnosti dužine razvića može

biti važna u adaptaciji na EMP ENF, jer omogućava genotipovima posmatranih IF linija da menjajući dužinu razvića bar delimično amortizuju izazvani sredinski stres usled uticaja EMP od 50 Hz i 0,25 mT. Fenotipska plastičnost koja omogućava jedinkama da se prilagode promenama u uslovima životne sredine na način koji će im povećati fitness je adaptivna. Sa druge strane, usled povećane energetske zahtevnosti organizama za realizovanjem fenotipske plastičnosti, ona može imati i negativni efekat na fitness jedinki u promenjenoj sredini, jer utrošena energija nije usmerena prema drugim važnim somatskim procesima, kao što su rast, sazrevanje i reprodukcija (Whitman i Agrawal, 2009). Pošto rezultati u ovom radu pokazuju da je efekat prisutnog EMP ENF u sredini tokom razvića nepovoljan jer dovodi do pada prosečnih vrednosti analiziranih komponenti adaptivne vrednosti, teško se može tvrditi da je iskazana varijabilnost fenotipske plastičnosti za dužinu razvića adaptivna. Odnos cene i koristi od plastičnog odgovora je obuhvaćen *trade-off*-om između povećane otpornosti, koja omogućava neposredan opstanak, i smanjene reprodukcije i dužine života jedinke. Rezultat navedenih kompromisa, kao i to da određene osobine mogu evoluirati da budu plastične ili kanalisane, zasnovan je verovatno na relativnim prednostima različitih strategija u različitim staništima, odnosno fenotip izazvan određenim skupom sredinskih uslova rezultuje uspehom u fitnessu koji je specifičan za te uslove (Whitman i Agrawal, 2009).

Važno je proceniti varijabilnost fenotipske plastičnosti na nivou svih osobina fenotipa bez obzira na to da li je uočena plastičnost adaptivna ili ne. Razlog leži u činjenici da bile adaptivne ili ne, sve sredinski indukovane promene fenotipa su slične po tome što one postavljaju jedinke u drugačiji selektivni režim, što može imati posledice u osobinama fitnessa i u evoluciji (Whitman i Agrawal, 2009). Evolucija brojnih oblika adaptivne plastičnosti, kao što su dijapauza, alternativna morfologija, strategije parenja i životne istorije, pa čak i nivo socijalne organizacije, mogu biti podstaknuti odgovorom na nepovoljne faktore kao što su niske temperature ili uslovi loše ishrane (West-Eberhard 2003, Emlen i sar., 2006). Osim toga, ono što na prvi pogled može da izgleda kao neadaptivni odgovor, kao što je u ovom radu promenjena dužina razvića u uslovima veštačkog EMP, zapravo može biti plastični odgovor koji ima za cilj da održi veličinu ili broj položenih jaja, ili preživljavanje ženki.

Moguće objašnjenje prisutne varijabilnosti fenotipske plastičnosti dužine razvića predstavlja ispoljena skrivena genetička varijabilnost tokom razvića izazvana EMP od 50 Hz i 0,25 mT. U uslovima genetičke ili sredinske preturbacije može doći do gubitka kanalisnosti ("dekanalisanost") i oslobađanja prethodno skrivene ili "kriptične" genetičke varijabilnosti. Možda najbolji primer za proces dekanalisanosti izazvan genetičkim promenama dolazi iz niza eksperimenata čiji fokus je smanjenje funkcije šaperona *hsp90* (Rutherford i Lindquist, 1998; Jarosz i Lindquist, 2010; Rohner i sar., 2013), ali su kod *Drosophila* opisani i drugi primeri dekanalisanosti (Gibson i Hogness, 1996; Lott i sar., 2007; Gavin-Smyth i sar., 2013; Chen i sar., 2015). Mnogi autori pretpostavljaju da u populacijama koje su izložene novom ili stresnom okruženju, dekanalisanost i oslobađanje kriptične genetičke varijabilnosti može da olakša fenotipsku adaptaciju i prilagođavanje, i dovede do neočekivano brze evolucije u osobinama koje izgledaju kao relativno nepromenljive, mada je pretpostavka da je ispoljavanje kriptične varijabilnosti većim delom nepovoljno (Schlichting, 2008; McGuigan i Sgrò, 2009; Paaby i Rockman, 2014). Pretpostavka o ispoljavanju kriptičke genetičke varijabilnosti vezane za dužinu razvića u ovom radu se potvrđuje kroz analizu koeficijenta varijacije (CV) za ovu osobinu. Dužina razvića je veoma kompleksna osobina sa velikim brojem razvojnih puteva i mreža koje učestvuju u njenom formiranju. Obim kanalisnosti zavisi od kompleksnosti razvojnih mreža koje učestvuju u formiranju te osobine, jer u situaciji kada veći broj visoko povezanih mreža učestvuje u jednoj osobini one evoluiraju tako da budu visoko kanalisane (Siegal i Bergman, 2002). Takođe se fenotipske osobine kanalisano razvijaju usled dugotrajnog i konzistentnog delovanja prirodne selekcije. Ovakvi uslovi favorizuju optimalne fenotipove, pa je njihova genetička varijabilnost neznatna. U tom slučaju evoluiraju i optimalna norma reakcije za te osobine, pa je varijabilnost plastičnosti, koja je evidentna u značajnoj interakciji genotip – sredina, iscrpljena (Via i Lande, 1985). Visoka kanalisnost za dužinu razvića, kao i odsustvo značajne genotip – sredina interakcije uočava se u prvoj eksperimentalnoj generaciji. Dobijene vrednosti koeficijenta varijacije ove analizirane osobine su generalno niske, i u prvoj generaciji u obe eksperimentalne grupe iznose oko 3,5%, ukazujući na uniforman odgovor svih analiziranih genotipova, bez značajnosti genetičkog faktora u analizi. Međutim, dobijene vrednosti koeficijenta varijacije za dužinu razvića u EMP grupi tokom druge i

treće generacije su veće u odnosu na vrednosti CV u kontrolnoj grupi odgovarajućih generacija, a značajna razlika je zabeležena u drugoj generaciji kada dolazi do značajnog povećanja vrednosti CV u EMP grupi (5,40%) u odnosu na vrednost CV u kontrolnoj grupi (2,42%). Zabeležene promene u vrednostima koeficijenta varijacije za dužinu razvića u drugoj generaciji ukazuju na proces dekanalisanosti, čime se oslobađa skrivena kriptička varijabilnost pa je uočeno i povećanje genetičke varijabilnosti ove osobine, kao i značajna interakcija genotip - sredina, odnosno varijabilnosti fenotipske plastičnosti, pošto različiti genotipovi imaju različite dužine razvića u sredini sa EMP. Ovakva situacija se zadržava i u trećoj eksperimentalnoj generaciji.

Rezultati u ovom radu pokazuju odsustvo plastičnog odgovora, kao i odsustvo varijabilnosti fenotipske plastičnosti nakon tri generacije za sve analizirane komponente adaptivne vrednosti osim u slučaju dužine razvića, ukazujući da je izbor za plastični odgovor u sredini sa EMP ograničen. Iako adaptivni značaj promena u dužini razvića izazvanih EMP ostaje neuhvatljiv, rezultati fenotipske plastičnosti i fenotipske korelisanosti osobina pokazuju da je ova osobina visoko kanalisana i sredinski osetljiva, i da promena u ovoj osobini vodi i ka promenama u drugim osobinama, i to na sredinski specifičan način.

Uticaj EMP ENF (50 Hz, 0,25 mT) na morfometrijske karakteristike krila

Efekat EMP ENF od 50 Hz i 0,25 mT na embrionalno i rano post-embrionalno razviće jedinki *D. subobscura* je vidljiv i kroz promenu veličine, ali ne i kroz promenu oblika krila. Tako jedinke oba pola, iz prve generacije koje su bile izlagane veštačkom EMP ENF imaju statistički značajno veća krila u odnosu na jedinke iz kontrolne grupe, dok kod jedinki iz treće generacije značajna promena u veličini krila se odigrala u drugom smeru, pošto su krila izlaganih jedinki manje veličine u odnosu na krila jedinki iz kontrolne grupe. Oblik krila ostao je nepromenjen, bez obzira na uticaj EMP ENF i generaciju izlaganja u eksperimentu. Jasno je da EMP ENF mogu da utiču na procese razvića tokom embrionalne i larvalne faze brojnim mehanizmima, koji su ranije pomenuti.

Razviće ima centralnu ulogu u evoluciji, pošto se kroz proces razvića genotipovi ostvaruju kao fenotipovi, a genetički ili sredinski izazvane promene u razviću mogu uticati na konačni izgled organizma, odnosno njegov fenotip, stvarajući evolutivno važne fenotipske razlike u populacijama. Kod višćelijskih organizama, tokom razvića, mora doći do kordinisanog rasta i diferenciranja ćelija u prostoru i vremenu da bi postigli pravu veličinu i oblik (Mirth i Shingleton, 2012). Krilo *Drosophila* se razvija iz grupa epitelijanih ćelija određenih tokom embriogeneze, a imaginalni diskovi krila na nivou embriona se sastoje od oko deset ćelija, a zatim dostižu, tokom intenzivne proliferacije u larvalnom periodu nekoliko hiljada ćelija. Rigidni egzoskelet tela adulta koji ograničava naknadno povećanje dimenzija organizma diferencira se tokom metamorfoze, pa je konačna veličina tela, a time i veličina krila, regulisana stopom i trajanjem larvnog rasta. Rast insekata je eksponencijalan, tako da 90 % povećanja mase dolazi tokom poslednjeg larvog stupnja (Davidowitz i sar., 2003). Dramatično povećanje u veličini i broju ćelija imaginalnih diskova krila tokom larvalnih faza kontroliše se selektivnom genskom ekspresijom i kordinisanom kontrolom nekoliko signalnih puteva koji su kompleksno povezani. Važnu ulogu u regulaciji stope rasta, a samim tim i trajanja rasta larvi, imaju insulinski i ripamicinski-target (TOR) signalni putevi, kao i njihova interakcija sa hormonalnim sistemom, pre svega sa egdizonom i juvenilnim hormonom. Ovi hormoni su pod kontrolom neuroendokrinog sistema (Davidowitz i sar., 2003), a regulisani su neuropeptidima i signalima iz spoljašnje

sredine (De Loof, 2008; Yamanaka i sar., 2013). Ova interakcija omogućava larvama da integrišu signale iz okruženja kako bi se osiguralo da se postignu optimalne veličine i proporcije u skladu sa spoljašnjim uslovima, a svaka promena koja menja jedan od tih razvojnih mehanizama može da promeni konačni fenotip organizma.

Shodno predhodno navedenom, optimalna stopa rasta će se razlikovati u promenljivim sredinama, dovodeći do selekcije za plastičnost u stopi rasta (Relyea, 2002; Fischer i sar., 2009). Praktično svi organizmi pokazuju plastičnost rasta, što omogućava organizmima da se nose sa sredinskim stresom kao što su nedostatak hrane ili da završe razviće u sezonski nametnutim rokovima. Stopa rasta znatno varira u odgovoru na različite uslove, uključujući kompeticiju, dostupnost resursa, predatorstvo, sezonske uslove i temperaturu (Lima i Dill, 1990; Rowe i Ludwig, 1991; Arendt, 1997; Flatt i Heyland, 2011). U ovom radu je pokazano da EMP od 50 Hz i 0,25 mT predstavlja faktor koji utiče na veličinu krila *D. subobscura*. Jedinke oba pola koje su izložene u prvoj generaciji, EMP tokom embrionalne i rane post-embrionalne faze, imaju krila veće površine. Veća krila, odnosno veće telo, mogu predstavljati prednost jer je veće telo povezano sa povećanim reproduktivnim uspehom, što se u ovom radu poklapa sa trendom povećanja ranog fekunditeta jedinki iz EMP grupe u prvoj generaciji. Plastičnost veličine krila se može videti i u prvoj i u trećoj generaciji gde se pod uticaj EMP menja realizovana veličina krila izlaganih jedinki. Nakon tri generacije izlaganja veštačkog EMP veličina krila izlaganih jedinki se smanjuje i to kod izlaganih ženki, ukazujući na kumulativni efekat ovog faktora, ali i da višegeneracijsko delovanje EMP ENF predstavlja ograničavajući faktor za rast i razviće. Ovo ukazuje da u optimalnim uslovima, gde su svi neophodni resursi za *D. subobscura* prisutni, veštačko EMP menja unutrašnja ograničenja koja nastaju iz distribucije konačne količine resursa između konkurentskih osobina i funkcija kod izlaganih jedinki. Razlog te promene je što je rast energetski izuzetno skup proces, a EMP ENF utiču na unutrašnje uslove smanjujući dostupne resurse i energiju, dovodeći do alokacije resursa u različite mehanizme odbrane u ćeliji i organizmu.

Veličina tela je povezana sa fitnessom, bilo direktno ili indirektno, kroz brojne osobine životne istorije sa kojima je genetički korelisana. Prema teoriji životne istorije, veličina tela je pod jakom direkcionom selekcijom usled prednosti u reprodukciji i

preživljavanju koja je povezana sa većom veličinom tela. Ali, uopšteno, pretpostavka je da se fitnes povećava sa veličinom tela, odnosno većim fekunditetom, ali da opada sa dužinom razvića. *Trade-off* između dužine razvića i veličine tela je predmet opsežnih teorijskih analiza (npr. Roff, 1992; Stearns 1989, 1992; Day i Rowe, 2002). Kod insekata su veličina tela i dužina razvića dve kritične fenotipske osobine koje često variraju između populacija, i generalno se smatraju bitnim pri specifičnim sredinskim adaptacijama (Nylin i Gotthard, 1998). Tako je najverovatnije obrazac klinalne distribucije veličine tela *Drosophila* pod snažnom direkcionom selekcijom: prilagođavanje hladnijim uslovima se vrši smanjenjem veličine tela kao i povećanjem brzine razvića (Partridge i French, 1996). Takođe je pokazano da je selekcija za sporo larvalno razviće - selekcija za veću adultnu veličinu tela kod oba pola (Partridge i sar., 1999), jer je veštačka selekcija za povećanje veličine tela adulta povezana sa produžavanjem preadultnog razvića (Robertson, 1959; Partridge i Fowler, 1993). Pošto oba faktora, i sredinski i genetički utiču na veličinu tela adulta i dužinu razvića, stope rasta mogu varirati unutar i između populacija (npr. Berven i Gill, 1983), a različite stope rasta mogu odražavati kompromis između troškova i koristi od alternativnih putanja rasta (Arendt, 1997).

Veličinu tela i dužinu razvića određuje identičan skup osnovnih faktora, tako da ove osobine nisu nezavisne, ali pošto su mehanizmi pomoću kojih ovi faktori proizvode svaki fenotip različiti, dva fenotipa su povezana korelacijom koja zavisi od genetičkog i sredinskog konteksta u populaciji. Generalno, unutar populacija, kratko razviće i mala veličina tela su genetički korelisane osobine. I u ovom radu se može uočiti da se odnos između veličine tela i dužine razvića zadržava i u uslovima EMP ENF, kao i da se ne menjaju evolutivne putanje stope rasta. Prilagođavanje EMP u prvoj generaciji nakon izlaganja odvija se značajnim produžavanjem razvića i povećanjem veličine krila izlaganih jedinki. Povećanje veličine tela, odnosno krila, kroz produženo razviće odvija se uglavnom povećanjem broja ćelija (Vijendravarma i sar., 2011). U trećoj generaciji, usled kumulativnog i nepovoljnog dejstva EMP tokom embrionalnog i ranog post-embrionalnog razvića, izložene jedinke ranije kompletiraju svoje razviće i imaju krila manje veličine. Značajno smanjenje veličine krila usled dejstva EMP ENF u trećoj eksperimentalnoj generaciji zabeleženo je kod ženki većeg boja IF linija koje imaju manja krila od ženki iz kontrolne grupe iz treće generacije, i od ženki iz EMP grupe iz

prve generacije. To smanjenje veličine krila ženki iz treće generacije, koje je značajno samo kod mužjaka iz dve IF linije iste generacije, može se pripisati preraspodeli resursa između rasta i reprodukcije, dva energetska veoma zahtevna procesa u slučaju ženskog pola.

Iako je došlo do promene u veličini krila, u ovom radu nisu zabeležene promene u obliku krila nakon eksperimentalnog izlaganja EMP ENF. Pošto je veličina krila funkcija broja, veličine i distribucije ćelija, očekivano je da svaka promena u ovim ćelijskim parametrima dovede do promene u obliku krila. Međutim, primećeno je potpuno suprotno, deoba ćelija, migracija i rast da bi se postigao genetički definisan oblik (Birdsall i sar., 2000). U ovom radu promene u veličini krila su ravnomerno raspoređene na celo krilo, pa se oblik krila proporcionalno menjao kroz sveobuhvatnu izometričku promenu površine krila. Oblik krila je u odnosu na veličinu krila u okviru vrste stabilniji, i pod jakim razvojnim i filogenetskim ograničenjima. Veliki deo genoma ima ulogu u ekspresiji krila, ali su mnogi od tih gena polno-specifični, i specifični samo za oblik, a nezavisni od veličine krila (Carreira i sar., 2011), što se potvrđuje i kroz rezultate dobijene u ovom radu. Pokazano je da je oblik krila pod uticajem i prirodne i seksualne selekcije (Gidaszewski i sar., 2009; Abbott i sar., 2010), ali dok je veličina pod direkcionom selekcijom, oblik je pod stabilizacionom selekcijom (Pezzoli i sar., 1997; Gilchrist i Partridge, 2001). Oblik krila 25 vrsta *Drosophila* veoma malo varira unutar taksona, ali skoro sve vrste se dijagnostički razlikuju međusobno po obliku krila (Houle i sar., 2003). Iako su brojna istraživanja dokumentovala promenu oblika krila kod niza vrsta roda *Drosophila* (Cavicchi i sar., 1991; Bitner-Mathé i sar., 1995; Pezzoli i sar., 1997; Huey i sar., 2000; Santos i sar., 2004), oblik krila je izuzetno otporan na sredinske uticaje (Weber, 1990; Birdsall i sar., 2000), i postoji malo dokaza da je promena oblika krila adaptivna. Rezultati dobijeni u ovom radu, kao i rezultati dobijeni kroz i tradicionalnu i geometrijsku morfometriju, kvantitativnu genetiku i QTL analizu oblika krila *Drosophila* (Weber, 1990, 1992; Bitner-Mathé i Klaczko, 1999; Weber i sar., 1999, 2001; Birdsall i sar., 2000; Klingenberg i Zaklan, 2000; Zimmerman i sar., 2000; Gilchrist i Partridge, 2001), sugerišu da veličina i oblik krila imaju različitu genetičku osnovu i da ne odgovaraju podjednako na različite sredinske faktore. O uticaju EMP kao sredinskog faktora na morfologiju krila *Drosophila* nema mnogo objavljenih studija, pri čemu su vezane isključivo za veličinu krila. Objavljeni radovi

pokazuju da EMP utiče na rast i veličinu izlaganih jedinki *D. melanogaster*, te su jedinke izlagane EMP od 60 Hz i 80 μ T imale značajno manju težinu (Graham i sar., 2000), a jedinke gajene u permanentnom magnetnom polju od 35 mT tokom šest generacija su imale krila manje veličine u odnosu na kontrolu (Stamenković-Radak i sar., 2001). Sa druge strane, jedinke *D. subobscura* izložene tokom jedne generacije EMP ENF od 50 Hz i 0,25 mT pokazuju značajno povećanje dužine i širine krila, zajedno sa produžavanjem razvića (Patenković i sar., 2015). Povećanje veličine krila kod jedinki *D. melanogaster* zabeleženo je i nakon izlaganja statičkom magnetnom polju 10-12 puta većeg intenziteta od intenziteta Zemljinog magnetnog polja (Giorgi i sar., 1992). Ovo povećanje veličine tela se zadržava čak i nakon nekoliko generacija posle izlaganja MP, i prvenstveno je povezano sa povećanjem broja ćelija, pa su autori zaključili da statičko MP utiče na gene koji kontrolišu ćelijsku proliferaciju. Promena veličine krila može biti postignuta promenom ili u veličini ili u broju ćelija, i različiti obrasci su pronađeni i u prirodnim populacijama (James i sar., 1995), i kao rezultat selekcionih eksperimenata (Partridge i sar., 1994). Pošto ne postoje snažna ograničenja u evoluciji veličine krila *Drosophila* (Gidaszewski i sar., 2009) ovi primeri o funkcionalno sličnim vrednostima veličine krila postignutim na različite načine su verovatno posledica razlike u vremenskoj skali. Razilaženje u kratkim vremenskim intervalima, odnosno u laboratoriji ili u novim sredinama, trebalo bi da se odvija u pravcu najlakše dostupne genetičke varijacije, što se uklapa u radijaciju duž „evolucioni linija manjeg otpora“ (Schluter, 1996), dok bi razilaženje u evoluciono dužoj vremenskoj skali trebalo da rezultira u optimizaciji vrednosti osobine.

Sve promene u veličini krila pod uticajem EMP su uočene na kratkoj vremenskoj skali, često nakon jedne generacije, što se podudara sa rezultatima zabeleženim u slučaju promene veličine krila pod uticajem različitih sredinskih faktora. Brza promena u veličini tela/ krila ukazuje na ekološku adaptaciju na nove sredinske uslove, što u ovom slučaju predstavlja EMP od 50 Hz i 0,25 mT.

Efekat
elektromagnetnog polja (50 Hz, 0,25 mT)
na komponente adaptivne vrednosti
i morfometriju krila
kod *Drosophila subobscura*
Collin, 1936 (Insecta, Diptera)

Z A K L J U Č C I

Na osnovu rezultata dobijenih u ovom radu izvedeni su sledeći zaključci:

1. Analiza komponenti adaptivne vrednosti, fekunditeta, preživljavanja, stope polaganja jaja, dužine razvića i dužine života, koje su pod različitom genetičkom kontrolom i različite osetljivosti na promene u spoljašnjoj sredini, pokazuje značajan efekat ispitivanog EMP već nakon prve generacije izlaganja jedinki *D. subobscura* različitih genotipova. Nakon izlaganja EMP od 0,25 mT i 50 Hz tokom embrionalnog i ranog post-embrionalnog razvića kod jedinki iz prve generacije zabeležen je pad preživljavanja, produžavanje razvića, skraćivanje dužine života, kao i trend rasta fekunditeta u odnosu na jedinke iz kontrolnih uslova, što ukazuje na sniženje prosečne adaptivne vrednosti pod uticajem EMP ENF.
2. Nakon treće generacije izlaganja EMP od 50 Hz i 0,25 mT tokom embrionalnog i ranog post-embrionalnog razvića, izložene jedinke imaju smanjeno preživljavanje i kraći životni vek, ali njihovo razviće kraće traje, a fekunditet pokazuje trend pada, u poređenju sa jedinkama iste generacije iz kontrolne grupe koje su čitavo razviće provele izvan dejstva EMP. Delom drugačiji rezultati u trećoj generaciji u odnosu na rezultate dobijene za prvu generaciju, ukazuju na to višegeneracijski uticaj EMP ELF predstavlja rezultat kumulativnog delovanja ovog faktora na izložene jedinke. Smanjenje prosečne adaptivne vrednosti određenih komponenti uočeno u prvoj generaciji još više je izraženo u trećoj generaciji kod jedinki izloženih EMP od 50 Hz i 0,25 mT, što se jasno oslikava u padu preživljavanja od jaja do adulta tokom tri sukcesivne generacije.
3. Rezultati analize fenotipske korelacije komponenti adaptivne vrednosti ukazuju da je veći broj statistički značajnih odgovora dobijen u optimalnim, kontrolnim uslovima, kao i da su dobijene vrednosti korelacionog koeficijenta u EMP grupi niže za sve parove analiziranih osobina nego dobijene vrednosti u kontrolnoj grupi, osim za fenotipsku korelaciju brzine razvića i dužine života ženki. Snižene vrednosti korelacionog koeficijenta, bliske nuli, i suprotnog smera u EMP grupi, pokazuju da EMP ENF kao sredinski faktor utiče na

kovariranje analiziranih osobina, menjajući smer i smanjujući stepen povezanosti osobina. Ovi rezultati ukazuju na mogućnost specifičnih promena u fenotipskom ispoljavanju osobina u prisustvu EMP.

4. Dužina preadultnog razvića, preživljavanje od jaja do adulta i dužina života ženki ispoljavaju fenotipsku plastičnost koja je rezultat uticaja sredine sa antropogenim EMP ENF. Ostale analizirane komponente adaptivne vrednosti, fekunditet i stopa polaganja jaja, ni u jednoj generaciji ne pokazu fenotipski plastičan odgovor, niti inerciju genotipa i sredine. One pokazuju samo razlike u vrednostima zavisne od genotipa jedinke, jer ove osobine imaju veliku širinu u opsegu performansi, i mogu da održavaju vrednosti kroz širi spektar uslova životne sredine.
5. Od svih analiziranih komponenti adaptivne vrednosti tokom tri sukcesivne generacije dužina razvića je jedina osobina koja je u odgovoru na EMP ENF pokazala genetičku varijabilnost plastičnosti, odnosno prisutnu genotip – sredina interakciju. Dužina razvića je direktno povezana sa veličinom tela i individualnim fitnessom, i stoga se može pretpostaviti da je varijabilnost fenotipske plastičnosti brzine razvića važna u odgovoru na veštačka EMP ENF. Genotipovi posmatranih IF linija, koji se međusobno razlikuju u odgovoru na dejstvo EMP ENF, menjajući dužinu razvića delimično kompenzuju izazvani sredinski stres usled uticaja veštačkog EMP.
6. Jedinke analiziranih genotipova u sredini sa EMP ENF pokazuju povećanje kvantitativne genetičke varijabilnosti za osobinu dužina razvića kroz procenjene vrednosti koeficijenta varijacije za dužinu razvića, a ta promena kvantitativne genetičke varijabilnosti bi mogla biti pripisana procesu dekanalisanosti i oslobađanju kriptičke varijabilnost u uslovima stresa.
7. Uticaj EMP ENF od 50 Hz i 0,25 mT na jedinke *D. subobscura* izlagane tokom dela embrionalnog i ranog post-embrionalnog razvića se ogleda i kroz promenu veličine krila. Tako jedinke izlagane EMP ENF u prvoj generaciji imaju veća krila u odnosu na jedinke iz kontrolne grupe, i to kod oba pola. Kod jedinki iz treće generacije zabeležena je promena veličine krila izlaganih jedinki oba

pola, ali je kod ženki iz najvećeg broja IF linija došlo do smanjivanja veličine krila, dok je kod mužjaka do promene u veličini krila došlo samo kod nekoliko IF linija, i to i u pravcu smanjenja, i u pravcu povećanja krila.

8. Geometrijsko-morfometrijska analiza oblika krila jedinki *D. subobscura* u ispitivanju uticaja veštačkog EMP ENF u laboratorijskim uslovima je pokazala da je oblik krila konzervativna osobina na koju izlaganje jedinki EFM ENF tokom tri sukcesivne generacije nije imalo uticaja, ni unutar generacija, niti između prve i treće eksperimentalne generacije.
9. Dobijene promene u veličini krila i brzini razvića su konzistentne su sa pretpostavkom da su kod insekata veličina tela i dužina razvića dve kritične fenotipske osobine koje su bitne za specifične sredinske adaptacije.
10. Rezultati ovog rada su pokazali da je EMP ENF (50 Hz, 0,25mT) dovoljan stimulus iz spoljašnje sredine koji ima uticaj na rast, razviće i veličinu tela *Drosophila subobscura*. Pravac i obim promena pod uticajem EMP, analiziranih kroz komponente adaptivne vrednosti i geometrijsko-morfometrijske analize krila, pokazuje da kod izloženih jedinki dolazi do smanjenja prosečnih vrednosti određenih komponenti adaptivne vrednosti, na osnovu čega se može reći da EMP ENF predstavlja stresogeni faktor antropogenog porekla.

Rezultati pokazuju da višegeneracijsko delovanje EMP ENF predstavlja ograničavajući faktor za rast i razviće *D. subobscura*, što se ogleda kroz smanjenje fitnesa i promene u obrascu rasta izloženih jedinki. Logično je očekivati da će zabeležene promene u komponentama adaptivne vrednosti i veličini krila na individualnom nivou dovesti i do promena na nivou populacije, pošto se promene u fekunditetu, preživljavanju, dužini razvića, dužini života i veličini adulta, posledično odražavaju i na dinamiku populacija. Genotipovi jedinki koje imaju slabije preživljavanje i manji fekunditet, odnosno niži fitnes u uslovima višegeneracijskog izlaganja EMP EMF bi mogli biti eliminisani, što bi dovelo do smanjenja genetičke varijabilnosti u prirodnim populacijama.

Efekat
elektromagnetnog polja (50 Hz, 0,25 mT)
na komponente adaptivne vrednosti
i morfometriju krila
kod *Drosophila subobscura*
Collin, 1936 (Insecta, Diptera)

L I T E R A T U R A

- Abbott, J.K., Bedhomme, S., Chippindale A.K. (2010) Sexual conflict in wing size and shape in *Drosophila melanogaster*. *J. Evol. Biol.*, 23(9): 1989 - 1997.
- Abrams, P.A. i Rowe L. (1996) The effects of predation on the age and size of maturity of prey. *Evolution*, 50: 1052–1061.
- Ackerman, M., Bijlsma, R., James, A.C., Partridge, L., Zwann, B.J., Stearns, S.C. (2001) Effects of assay conditions in life history experiments with *Drosophila melanogaster*. *Journal of Evolutionary Biology*, 14: 199–209.
- Adams, M.D., Celniker, S.E., Holt, R.A., Evans, C.A., Gocayne, J.D., Amanatides, P.G., Scherer, S.E., Li, P.W., Hoskins, R.A., Galle, R.F., George, R.A., Lewis, S.E., Richards, S., *et al.* (2000) The genome sequence of *Drosophila melanogaster*. *Science*, 287(5461): 2185–95.
- Al Mamun, A.A., Lombardo, M.-J., Shee, C., Lisewski, A.M., Gonzalez, C., Lin, A.D., Nehring, R.B., Saint-Ruf, C., Gibson, J.L., Frisch, R.L., Lichtarge, O., Hastings, P.J., Rosenberg, S.M. (2012) Identity and function of a large gene network underlying mutagenic repair of DNA breaks. *Science*, 338: 1344–1348.
- Alcedo, J., Flatt, T., Pasyukova, E.G. (2013) The Role of the Nervous System in Aging and Longevity. *Front. Genet.*, 4: 124.
- Allendorf, F.W., England, P.R., Luikart, G., Ritchie, P.A., Ryman, N. (2008) Genetic effects of harvest on wild animal populations. *Trends in Ecology and Evolution*, 23: 327–337.
- Anderson, L.E. i Kaune, W.T. (1989) Electric and magnetic fields at ELF. In: Suess, M.J., Benwill, M. (eds.): NIR protection, Copenhagen WHO, WHO Regional Publications, European Series, 25: 175–243.
- Anderson, S., Sadinski, W., Shugart, L., Brussard, P., Depledge, M., Ford, T., Hose, J., Stegeman, J., Suk, W., Wirgin, I., Wogan, G. (1994). Genetic and Molecular Ecotoxicology: A Research Framework. *Environmental Health Perspectives*, 102: 3–8.
- Andelković, M. i Marinković, D. (1983) Selection for copulation ability of *Drosophila subobscura* in the absence of light. *Behavior Genetics*, 13: 411–419.
- Andelković, M., Savković, V., Kalajdžić, P. (2003) Inversion polymorphism in *Drosophila subobscura* from two different habitats from the mountain of Goc. *Hereditas*, 138: 241–243.
- Ansari, R.M. i Hei, T.K. (2000) Effects of 60 Hz extremely low frequency magnetic fields (EMF) on radiation - and chemical - induced mutagenesis in mammalian cells. *Carcinogenesis*, 21(6): 1221–1226.
- Arcese, P. (1989) Intrasexual competition, mating system, and natal dispersal in song sparrows. *Animal Behaviour*, 38: 958–979.
- Arendt, J.D. (1997) Adaptive growth rates: An integration across taxa. *Quart. Rev. Biol.*, 72: 149-177.

- Athrey, N.R.G., Leberg, P.L., Klerks, P.L. (2007) Laboratory culturing and selection for increased resistance to cadmium reduce genetic variation in the least killifish, *Heterandria formosa*. *Environ. Toxicol. Chem.*, 26: 1916-1921.
- Ayala, F.J., Serra, L., Prevosti, A. (1989) A grand experiment in evolution: the *D. subobscura* colonization of the Americas. *Genome*, 31: 246–255.
- Bae, J.E., Do, J.Y., Kwon, S.H., Lee, S.D., Jung, Y.W., Kim, S.C., Chae, K.S. (2013) Electromagnetic field-induced converse cell growth during a long-term observation. *Int. J. Radiat. Biol.*, 89: 1035–1044.
- Baek, S., Quan, X., Kim, S., Lengner, C., Park, J.-K., Kim, J. (2014) Electromagnetic Fields Mediate Efficient Cell Reprogramming into a Pluripotent State. *ACS Nano*, 8 (10): 10125–10138.
- Baena-López, L.A., Baonza, A., García-Bellido, A. (2005) The orientation of cell divisions determines the shape of *Drosophila* organs. *Current Biology*, 15: 1640–1644
- Bai, W.F., Xu, W.C., Feng, Y., Huang, H., Li, X.P., Deng, C.Y., Zhang, M.S. (2013) Fifty-Hertz electromagnetic fields facilitate the induction of rat bone mesenchymal stromal cells to differentiate into functional neurons. *Cytotherapy*, 15(8): 961–970.
- Bakker, K. (1969) An analysis of factors which determine success in competition for food among larvae of *Drosophila melanogaster*. *Arch. Neerl. Zool.*, 14: 200-281.
- Balmori, A. (2014) Electrosmog and species conservation. *Science of the Total Environment*, 496: 314–316.
- Barth, L.G. i Barth, L.J. (1974) Ionic regulation of embryonic induction and cell differentiation in *Rana pipens*. *Dev. Biol.*, 39: 1–22.
- Bayır, E., Bilgi, E., Sendemir-Ürkmez, A., Hameş-Kocabaş, E.E. (2015) The effects of different intensities, frequencies and exposure times of extremely low-frequency electromagnetic fields on the growth of *Staphylococcus aureus* and *Escherichia coli* O157:H7. *Electromagn. Biol. Med.*, 34(1): 14–18.
- Bell, G. i Koufopanou, V. (1986) The cost of reproduction. *Oxford Surveys in Evolutionary Biology*, 3: 83–131.
- Bennett, A.F. i Saunders, D.A. (2010) Habitat fragmentation and landscape change (chapter 5, pp. 88–106), *Conservation Biology for All*, ed.: Sodhi N.S. i Ehrlich P.R. Oxford University Press, Oxford, UK.
- Berg, H. (2005) Bioelectric and biomagnetic methods for cancer research and therapy a survey. *Electromag. Biol. Med.*, 24: 423–440.
- Berg, H., Gunther, B., Hilger, I., Radeva, M., Traitcheva, N., Wollweber, L. (2010) Bioelectromagnetic field effects on cancer cells and mice tumors. *Electromagnetic Biology and Medicine*, 29: 132–143.
- Berven, K.A. i Gill, D.E. (1983) Interpreting geographic variation in life-history traits. *American Zoologist*, 23: 85–97.

- Bier, E. (2000) Drawing lines in the *Drosophila* wing: initiation of wing vein development. *Curr. Opin. Genet. Dev.*, 10: 393–398.
- Bindra, R.S., Crosby, M.E., Glazer, P.M. (2007) Regulation of DNA repair in hypoxic cancer cells. *Cancer Metastasis Rev.*, 26: 249–260.
- Birdsall, K., Zimmerman, E., Teeter, K., Gibson, G. (2000) Genetic variation for the positioning of wing veins in *Drosophila melanogaster*. *Evolution and Development*, 2: 16–24.
- Bitner-Mathé, B., Peixoto, A.A., Klaczko, L.B. (1995) Morphological variation in a natural population of *Drosophila mediopunctata*: altitudinal cline, temporal changes and influence of chromosome inversions. *Heredity*, 75: 54–61.
- Bitner-Mathé, B.C. i Klaczko, L.B. (1999) Heritability, phenotypic and genetic correlations of size and shape of *Drosophila mediopunctata* wings. *Heredity*, 83: 688–696.
- Bjedov, I., Tenailon, O., Gérard, B., Souza, V., Denamur, E., Radman, M., Taddei, F., Matic, I. (2003) Stress-induced mutagenesis in bacteria. *Science*, 300: 1404–9.
- Blair, S.S. (2007) Wing vein patterning in *Drosophila* and the analysis of intercellular signaling. *Annu. Rev. Cell Dev. Biol.*, 23: 293–319.
- Blanckenhorn, W.U. (2000) The evolution of body size: What keeps organisms small? *Quarterly Review of Biology*, 75(4): 385–407.
- Blank, M. i Goodman, R. (1997) Do electromagnetic fields interact directly with DNA? *Bioelectromagnetics*, 18: 111–115.
- Blank, M., Khorkova, O., Goodman, R. (1994) Changes in polypeptide distribution stimulated by different levels of EM and thermal stress. *Bioelectrochemistry and Bioenergetics*, 33: 109–114.
- Blank, M., Soo, L., Lin, H., Henderson, A.S., Goodman, R. (1992) Changes in transcription in HL-60 cells following exposure to AC electric fields. *Bioelectrochemistry and Bioenergetics*, 28: 301–309.
- Blows, M.W. i Hoffmann, A.A. (2005) A reassessment of genetic limits to evolutionary change. *Ecology*, 86: 1371–1384.
- Boag, P.T. i Grant, P.R. (1981) Intense natural selection in a population of Darwin's finches (*Geospizinae*) in the Galápagos. *Science*, 214: 82–85.
- Boag, P.T. i Grant, P.R. (1984) The classical case of character release: Darwin's finches (*Geospiza*) on Isla Daphne Major, Galápagos. *Biol. J. Linn. Soc.*, 22: 243–287.
- Bouétard, A., Côte, J., Besnard, A.-L., Collinet, M., Coutellec, M.-A. (2014) Environmental versus Anthropogenic Effects on Population Adaptive Divergence in the Freshwater Snail *Lymnaea stagnalis*. *PLoS ONE*, 9(9): e106670.
- Bradshaw, A.D. (1965) Evolutionary significance of phenotypic plasticity in plants. *Advances in Genetics*, 13: 115–155.

- Bradshaw, W.E. i Holzapfel, C.M. (2006) Climate change - evolutionary response to rapid climate change. *Science*, 312: 1477–1478.
- Brandon, R.N. i Rausher, M.D. (1996) Testing Adaptationism: A Comment on Orzack and Sober. *The American Naturalist*, 148: 189–201.
- Breuker, C.J., Patterson, J.S., Klingenberg, C.P. (2006) A Single Basis for Developmental Buffering of *Drosophila* Wing Shape. *PLoS ONE*, 1: e7.
- Bristow, R.G. i Hill, R.P. (2008) Hypoxia and metabolism: Hypoxia, DNA repair and genetic instability. *Nat. Rev. Cancer*, 8: 180–92.
- Bubliy, O.A. i Loeschcke, V. (2001) High stressful temperature and genetic variation of five quantitative traits in *Drosophila melanogaster*. *Genetica*, 110: 79–85.
- Bubliy, O.A. i Loeschcke, V. (2002) Effect of low stressful temperature on genetic variation of five quantitative traits in *Drosophila melanogaster*. *Heredity*, 89: 70–75.
- Bubliy, O.A., Kristensen, T.N., Loeschcke, V. (2013) Stress-induced plastic responses in *Drosophila simulans* following exposure to combinations of temperature and humidity levels. *The Journal of Experimental Biology*, 216: 4601–4607.
- Burke, M.K. i Rose, M.R. (2009) Experimental evolution with *Drosophila*. *Am. J. Physiol. Regul. Integr. Comp. Physiol.*, 296: R1847–R1854.
- Burt, A. (1995) The evolution of fitness. *Evolution*, 49: 1-8.
- Calboli, F.C.F., Gilchrist, G.W., Partridge, L. (2003) Different cell size and cell number contribution in two newly established and one ancient body size cline of *Drosophila subobscura*. *Evolution*, 57: 566–573.
- Cameron, I.L., Markov, M.S., Hardman, W.E. (2014) Optimization of a therapeutic electromagnetic field (EMF) to retard breast cancer tumor growth and vascularity. *Cancer Cell Int.*, 14(1): 125.
- Campos, J.L., Halligan, D.L., Haddrill, P.R., Charlesworth, B. (2014) The relation between recombination rate and patterns of molecular evolution and variation in *Drosophila melanogaster*. *Mol. Biol. Evol.*, 31(4): 1010–1028.
- Canseven, A.G., Coskun, S., Seyhan, N. (2008) Effects of various extremely low frequency magnetic fields on the free radical processes, natural antioxidant system and respiratory burst system activities in the heart and liver tissues. *Indian J. Biochem. Biophys.*, 45: 326–231.
- Carey, J.R. i Liedo, P. (1995) Sex mortality differentials and selective survival in medfly cohorts: implications for human sex mortality differentials. *Gerontology*, 35: 588–596.
- Carey, J.R., Liedo, P., Müller, H.G., Wang, J.L., Chiou, J.M. (1999) Mortality oscillations induced by periodic starvation alter sex-mortality differentials in Mediterranean fruit flies. *J. Gerontol. Biol. Sci.*, 54A: B424–B431.

Carlson, K.A. i Harshman, L.G. (1999) Extended longevity lines of *Drosophila melanogaster*: abundance of yolk protein gene mRNA in fat body and ovary. *Exp. Gerontol.*, 34: 173–184.

Carmody, S., Wu, X.L., Lin, H., Blank, M., Skopicki, H., Goodman, R. (2000) Cytoprotection by electromagnetic field-induced hsp70: A model for clinical application. *Journal of Cellular Biochemistry*, 79: 453–459.

Carreira, V.P., Soto, I.M., Mensch, J., Fanara, J.J. (2011) Genetic basis of wing morphogenesis in *Drosophila*: sexual dimorphism and non-allometric effects of shape variation. *BMC Developmental Biology*, 11: 32.

Cavicchi, S., Giorgi, G., Natali, V., Guerra, D. (1991) Temperature-related divergence in experimental populations of *Drosophila melanogaster*. III. Fourier and centroid analysis of wing shape and relationship between shape variation and fitness. *J. Evol. Biol.*, 4: 141–159.

Cavicchi, S., Guerra, D., Giorgi, G., Pezzoli, M.C. (1985) Temperature-related divergence in experimental populations of *Drosophila melanogaster*. I. Genetic and developmental basis of wing size and shape variation. *Genetics*, 109: 65–689.

Charlesworth, B. (1980) *Evolution in Age-Structured Populations*. Cambridge Univ. Press, London.

Charlesworth, B. (1990) Optimization models, quantitative genetics, and mutation. *Evolution*, 44: 520–538.

Charlesworth, D. i Charlesworth, B. (1987) Inbreeding depression and its evolutionary consequences. *Ann. Rev. Ecol. Syst.*, 18: 237–268.

Chen, I.-C., Hill, J.K., Ohlemüller, R., Roy, D.B., Thomas, C.D. (2011) Rapid range shifts of species associated with high levels of climate warming. *Science*, 333: 1024–1026.

Chen, J., Nolte, V., Schlötterer, C. (2015) Temperature Stress Mediates Decanalization and Dominance of Gene Expression in *Drosophila melanogaster*. *PLoS Genet.*, 11(2): e1004883.

Cheplick, G.P. (1995) Genotypic variation and plasticity of clonal growth in relation to nutrient availability in *Amphibromus scabrivalis*. *Journal of Ecology*, 83: 459–468.

Cheverud, J.M. (1984) Evolution of kin selection: a quantitative genetic model illustrated by maternal performance in mice. *Evolution*, 38: 766–777.

Chiang, H., Terlecky, S.R., Plant, C.P., Dice, J.F. (1994) A role for a 70-kilodalton heat shock protein in lysosomal degradation of intracellular proteins. *Science*, 246: 382–385.

Chippindale, A.K., Chu, T.J.F., Rose, M.R. (1996) Complex trade-offs and the evolution of starvation resistance in *Drosophila melanogaster*. *Evolution*, 50: 753–766.

Clark, A.G. (1987) Senescence and the Genetic-Correlation Hang-Up. *The American Naturalist*, 129: 932–940.

Clobert, J., Danchin, E., Nichols, J., Dhondt, A. (2001) *Dispersal*. Oxford Univ. Press, Oxford, U.K.

Cluster, P.D., Marinković, D., Allard, R.W., Ayala, F.J. (1987) Correlations between development rates, enzyme activities, ribosomal DNA spacer-length phenotypes, and adaptation in *Drosophila melanogaster*. Proc. Natl. Acad. Sci. USA, 84: 610–614.

Cohan, F.M. (1984a) Genetic divergence under uniform selection. I Similarity among populations of *Drosophila melanogaster* in their responses to artificial selection for modifiers of *ci^D*. Evolution, 38: 55–71.

Cohan, F.M. (1984b) Can uniform selection retard random genetic divergence between isolated conspecific populations? Evolution, 38: 495–504.

Cohan, F.M. i Hoffmann, A.A. (1989) Uniform selection as a diversifying force in evolution: evidence from *Drosophila*. American Naturalist, 134: 613–637.

Coltman, D.W. (2008) Molecular ecological approaches to studying the evolutionary impact of selective harvesting in wildlife. Molecular Ecology, 17: 221–235.

Conner, J.K., Franks, R., Stewart, C. (2003) Expression of additive genetic variances and covariances for wild radish floral traits: comparison between field and greenhouse environments. Evolution, 57: 487–495.

Consales, C., Merla, C., Marino, C., Benassi, B. (2012) Electromagnetic Fields, Oxidative Stress, and Neurodegeneration. International Journal of Cell Biology, 683897.

Cossins, A., Fraser, J., Hughes, M., Gracey, A. (2006) Post-genomic approaches to understanding the mechanisms of environmentally induced phenotypic plasticity. J. Exp. Biol., 209: 2328–2336.

Cozens, F.L. i Scaiano, J.C. (1993) A comparative study of magnetic field effects on the dynamics of geminate and random radical pair processes in micelles. Journal of the American Chemical Society, 115: 5204–5211.

Crumpacker, D.W. i Williams, J.S. (1973) Density, dispersion, and population structure in *Drosophila-pseudoobscura*. Ecol. Monogr., 43: 499–538.

Cruz, A. i Wiley, J.W. (1989) The decline of an adaptation in the absence of a presumed selection pressure. Evolution, 43: 55–62.

Csermely, P., Kajtár, J., Hollósi, M., Oikarinen, J., Somogyi, J. (1994) The 90 kDa heat shock protein (hsp90) induces the condensation of the chromatin structure. Biochem. Biophys. Res. Commun., 202(3): 1657–63.

David, J.R., Araripe, L.O., Bitner-Mathé, B.C., Capy, P., Goñi, B., Klaczko, L.B., Legout, H., Martins, M.B., Voudibio, J., Yassin, A., Moreteau, B. (2006) Quantitative trait analysis and geographic variability of natural populations of *Zaprionus indianus*, a recent invader in Brazil. Heredity, 96: 53–62.

David, J.R., Gibert, P., Pétavy, G., Capy, P., Moreteau, B. (2005) Isofemale lines in *Drosophila*: an empirical approach to quantitative trait analysis in natural populations. Heredity, 94: 3–12.

Davidowitz, G., D'Amico, L.J., Nijhout, H.F. (2003) Critical weight in the development of insect body size. Evol. Dev., 5: 188–197.

Davis, A.J., Lawton, J.H., Shorrocks, B., Jenkinson L.S. (1998) Individualistic species responses invalidate simple physiological models of community dynamics under global environmental change. *J. Anim. Ecol.*, 67: 600–612.

Day, T. i Rowe, L. (2002) Developmental thresholds and the evolution of reaction norms for age and size at maturity. *American Naturalist*, 159: 338-350.

De Block, M. i Stoks, R. (2005) Fitness effects from egg to reproduction: Bridging the life history transition. *Ecology*, 86: 185–197.

De Block, M., McPeck, M.A., Stoks, R. (2008) Stronger compensatory growth in a permanent-pond *Lestes* damselfly relative to temporary-pond *Lestes*. *Oikos*, 117: 245–254.

de Celis, J.F. (2003) Pattern formation in the *Drosophila* wing: The development of the veins. *Bioessays*, 25: 443–451.

de Jong, G. (1990) Genotype-by-environment interaction and the genetic covariance between environments: multilocus genetics. *Genetica*, 81: 171–177.

de Jong, G. i Imasheva, A. (2001) Genetic variance in temperature dependent adult size deriving from physiological genetic variation at temperature boundaries. *Genetica*, 110: 195–207.

Deno, D.W. i Carpenter, D.O. (1994) Sources and characteristics of electromagnetic fields in the environment. In: Carpenter D. O. and Ayrapetyan S. (Eds.), *Biological Effects of Electric and Magnetic Fields* (pp. 3–51). Academic Press, San Diego, CA.

De Loof, A. (2008) Ecdysteroids, juvenile hormone and insect neuropeptides: recent successes and remaining major challenges. *Gen. Comp. Endocrinol.*, 155: 3–13.

DeWitt, T.J., Sih, A., Wilson, D.S. (1998) Costs and limitations of phenotypic plasticity. *Trends Ecol. Evol.*, 13: 77–81.

Dimitrijević, D., T. Savić, M. Anđelković, Z. Prolić and B. Janać (2014) Extremely low frequency magnetic field (50 Hz, 0.5 mT) modifies fitness components and locomotor activity of *Drosophila subobscura*. *International Journal of Radiation Biology*, 90(5): 337–343.

Dobzhansky, T. i Wright, S. (1947) Genetics of natural populations. 15. Rate of diffusion of a mutant gene through a population of *Drosophila-pseudoobscura*. *Genetics*, 32: 303–324.

Dommer, H.D., Gazzolo, J.P., Painter, S.M., Phillips, B.J. (2008) Magnetic compass orientation by larval *Drosophila melanogaster*. *Journal of Insect Physiology*, 54: 719–726.

Dworkin, I. i Gibson, G. (2006) Epidermal growth factor receptor and transforming growth factor-beta signaling contributes to variation for wing shape in *Drosophila melanogaster*. *Genetics*, 173: 1417–1431.

Dworkin, I. Palsson, A., Gibson, G. (2005) Replication of an *Egfr*-wing shape association in a wild-caught cohort of *Drosophila melanogaster*. *Genetics*, 169: 2115–2125.

Eleuteri, A.M., Amici, M., Bonfili, L., Cecarini, V., Cuccioloni, M., Grimaldi, S., Giuliani, L., Angeletti, M., Fioretti, E. (2009) 50Hz Extremely Low Frequency Electromagnetic

Fields Enhance Protein Carbonyl Groups Content in Cancer Cells: Effects on Proteasomal Systems. *Journal of Biomedicine and Biotechnology*, 2009: 834239.

Emlen, D.J., Szafran, Q., Corley, L.S., Dworkin, I. (2006) Insulin signaling and limb-patterning: candidate pathways for the origin and evolutionary diversification of beetle 'horns.' *Heredity*, 97: 179–191.

Endler, J.A. (1980) Natural selection on color patterns in *Poecilia reticulata*. *Evolution*, 34: 76–91.

Engels, S., Schneider, N.L., Lefeldt, N., Hein, C.M., Zapka, M., Michalik, A., Elbers, D., Kittel, A., Hore, P.J., Mouritsen, H. (2014) Anthropogenic electromagnetic noise disrupts magnetic compass orientation in a migratory bird. *Nature*, 509: 353–356.

England, P.R., Osler, G.H.R., Woodworth, L.M., Montgomery, M.E., Briscoe, D.A., Frankham, R. (2003) Effects of intense versus diffuse population bottlenecks on microsatellite genetic diversity and evolutionary potential. *Conservation Genetics*, 4: 595–604.

Erdal, N., Gürgül, S., Celik, A. (2007) Cytogenetic effects of extremely low frequency magnetic field on Wistar rat bone marrow. *Mutation Research*, 630: 69–77.

Espinosa-Soto, C., Martin, O.C., Wagner, A. (2011) Phenotypic plasticity can facilitate adaptive evolution in gene regulatory circuits. *BMC Evolutionary Biology*, 11: 5.

Etterson, J.R. i Shaw, R.G. (2001) Constraint to adaptive evolution in response to global warming. *Science*, 294: 151–154.

Eyre-Walker, A. i Keightley, P.D. (2007) The distribution of fitness effects of new mutations. *Nat. Rev. Genet.*, 8: 610–618.

Fairbairn, D.W. i O'Neill, K.L. (1994) The effect of electromagnetic field exposure on the formation of DNA single strand breaks in human cells. *Cellular and molecular biology (Noisy-le-Grand, France)*, 40(4): 561–567.

Falconer, D.S. i Mackay, T.F.C. (1996) *Introduction to quantitative genetics*. 4th edn. Longmans Green, Harlow, Essex, UK.

Fedele, G., Edwards, M.D., Bhutani, S., Hares, J.M., Murbach, M., Green, E.W., Dissel, S., Hastings, M.H., Rosato, E., Kyriacou, C.P. (2014) Genetic Analysis of Circadian Responses to Low Frequency Electromagnetic Fields in *Drosophila melanogaster*. *PLoS Genetics*, 10(12): e1004804.

Feder, M.E. i Hofmann, G.E. (1999) Heat-shock proteins, molecular chaperones, and the stress response: Evolutionary and ecological physiology. *Ann. Rev. Physiol.*, 61: 243–282.

Finkel, T. i Holbrook, N.J. (2000) Oxidants, oxidative stress and the biology of ageing. *Nature*, 408(6809): 239–247.

Fischer, B., Taborsky, B., Dieckmann, U. (2009) Unexpected patterns of plastic energy allocation in stochastic environments. *American Naturalist*, 173: E108-E120.

Flatt T (2005) The evolutionary genetics of canalization. *Q. Rev. Biol.*, 80: 287–316.

- Flatt, T. (2011) Survival costs of reproduction in *Drosophila*. *Experimental Gerontology*, 46: 369–375.
- Flatt, T. i Kawecki, T.J. (2007) Juvenile hormone as a regulator of the trade-off between reproduction and life span in *Drosophila melanogaster*. *Evolution*, 61: 1980–1991.
- Flatt, T., Min, K.J., D'Alterio, C., Villa-Cuesta, E., Cumbers, J., Lehmann, R., Jones, D.L., Tatar, M. (2008) *Drosophila* germ-line modulation of insulin signaling and lifespan. *Proc. Natl Acad. Sci. USA*, 105: 6368–6373.
- Flatt, T. i Schmidt, P.S. (2009) Integrating evolutionary and molecular genetics of aging. *Biochimica et Biophysica Acta*, 1790: 951–962.
- Flatt, T. i Heyland, A. (2011) *Mechanisms of Life History Evolution. The Genetics and Physiology of Life History Traits and Trade-Offs*. Oxford University Press, Oxford.
- Forbes, V.E. i Calow, P. (1997) Responses of aquatic organisms to pollutant stress: Theoretical and practical implications. In *Environmental Stress, Adaptation and Evolution* ed. by R. Bijlsma and V Loeschcke. Birkhauser Verlag Basel/Switzerland
- Foster, P.L. (2007) Stress-induced mutagenesis in bacteria. *Crit. Rev. Biochem. Mol. Biol.*, 42: 373–97.
- Fowler, K., Semple, C., Barton, N.H., Partridge, L. (1997) Genetic variation for total fitness in *Drosophila melanogaster*. *Proc. R. Soc. B*, 264: 191–199.
- Frankham, R. (2000) Modeling problems in conservation genetics using laboratory animals. In: *Quantitative Methods for Conservation Biology* (eds. Ferson S, Burgman M), pp. 259–273. Springer-Verlag, New York, NY.
- French, P.W., Penny, R., Laurence, J.A., McKenzie, D.R. (2001) Mobile phones, heat shock proteins and cancer. *Differentiation* 67(4–5): 93–97.
- Frisch, P., Li, G.C., McLeod, K., Laramée, C.B. (2013) Induction of heat shock gene expression in RAT1 primary fibroblast cells by ELF electric fields. *Bioelectromagnetics*, 34: 405–413.
- Fry, J.D. (1993) The 'general vigor' problem: can antagonistic pleiotropy be detected when genetic covariances are positive? *Evolution*, 47: 327–333.
- Fry, J.D. (2003) Detecting ecological trade-offs using selection experiments. *Ecology*, 84: 1672–1678.
- Fry, J.D., Heinsohn, S.L., Mackay, T.F.C. (1996) The contribution of new mutations to genotype–environment interaction for fitness in *Drosophila melanogaster*. *Evolution*, 50: 2316–2327.
- Fuller, A., Dawson, T., Helmuth, B., Hetem, R.S., Mitchell, D., Maloney, S.K. (2010) Physiological mechanisms in coping with climate change. *Physiol. Biochem. Zool.*, 83: 713–720.

- Gangaraju, V.K., Yin, H., Weiner, M.M., Wang, J., Huang, X.A., Lin, H. (2011) *Drosophila* Piwi functions in Hsp90-mediated suppression of phenotypic variation. *Nat. Genet.*, 43(2): 153–8.
- Garland, T.Jr. i Kelly, S.A. (2006) Phenotypic plasticity and experimental evolution. *The Journal of Experimental Biology*, 209: 2344–2361.
- Gavin-Smyth, J., Wang, Y.C., Butler, I., Ferguson, E.L. (2013) A genetic network conferring canalization to a bistable patterning system in *Drosophila*. *Current Biology*, 23: 2296–2302.
- Gibert, J.-M., Peronnet, F., Schlötterer, C. (2007) Phenotypic Plasticity in *Drosophila* Pigmentation Caused by Temperature Sensitivity of a Chromatin Regulator Network. *PLoS Genetics*, 3(2): e30.
- Gibson, G. i Hogness, DS (1996) Effect of polymorphism in the *Drosophila* regulatory gene Ultrabithorax on homeotic stability. *Science*, 271: 200–203.
- Gidaszewski, N.A., Baylac, M., Klingenberg, C.P. (2009) Evolution of sexual dimorphism of wing shape in the *Drosophila melanogaster* subgroup. *BMC Evol. Biol.*, 9: 110.
- Gienapp, P., Teplitsky, C., Alho, J.S., Mills, J.A., Merila, J. (2008) Climate change and evolution: disentangling environmental and genetic responses. *Molecular Ecology*, 17: 167–178.
- Giesel, J.T. (1986) Genetic correlation structure of life history variables in outbred, wild *Drosophila melanogaster*: effects of photoperiod regimen. *Am. Nat.*, 128: 593-603.
- Giesel, J.T., Murphy, P.A., Manlove, M.N. (1982) The influence of temperature on genetic interrelationships of life history traits in a population of *Drosophila melanogaster*: what tangled data sets we weave. *Am. Nat.*, 119: 464-479.
- Gilchrist, A.S. i Partridge, L. (2001) The contrasting genetic architecture of wing size and shape in *Drosophila melanogaster*. *Heredity*, 86: 144–152.
- Gilchrist, A.S., Azevedo R.B.R., Partridge L., O’Higgins P. (2000) Adaptation and constraint in the evolution of *Drosophila melanogaster* wing shape. *Evol. Dev.*, 2: 114–124
- Gilchrist, G.W. i Huey, R.B. (2004) Plastic and genetic variation in wing loading as a function of temperature within and among parallel clines in *Drosophila subobscura*. *Integr. Comp. Biol.*, 44: 461–470.
- Gill, A.B., Bartlett, M., Thomsen, F. (2012) Potential interactions between diadromous fishes of U.K. conservation importance and the electromagnetic fields and subsea noise from marine renewable energy developments. *J. Fish Biol.*, 81: 664–695.
- Giorgi, G., Guerra, D., Pezzoli, C., Cavicchi, S., Bersani, F. (1992) Genetic effects of static magnetic fields. Body size increase and lethal mutations induced in populations of *Drosophila melanogaster* after chronic exposure. *Genetics Selection Evolution*, 24: 1-21.
- Gonet, B., Kosik-Bogacka, D.I., Kuzna-Grygiel, W. (2009) Effects of extremely low-frequency magnetic fields on the oviposition of *Drosophila melanogaster* over three generations. *Bioelectromagnetics*, 30(8): 687–689.

- Gonzales-Gaitan, M., Capdevilla, M.P., Garcia-Bellido, A. (1994) Cell proliferation patterns in the wing imaginal disc of *Drosophila*. *Mechanisms of Development*, 40: 183–200.
- Goodman, R. i Blank, M. (1998) Magnetic field induces expression of hsp70. *Cell Stress and Chaperones*, 3: 79–88.
- Goodman, R., Blank, M., Lin, H., Khorkova, O., Soo, L., Weisbrot, D., Henderson, A.S. (1994) Increased levels of hsp70 transcripts are induced when cells are exposed to low frequency electromagnetic fields. *Bioelectrochemistry and Bioenergetics*, 33: 115–120.
- Goodman, R., Lin-Ye, A., Geddis, M.S., Wickramaratne, P.J., Hodge S.E., Pantazatos, S., Blank, M., Ambron, R.T. (2009) Electromagnetic fields activate the ERK cascade, increase hsp70 protein levels and promote regeneration in Planaria. *International Journal of Radiation Biology*, 85(10): 851–859.
- Goodman, R., Weisbrot, D., Uluc, A., Henderson, A. (1992) Transcription in *Drosophila melanogaster* salivary gland cells is altered following exposure to low-frequency electromagnetic fields: Analysis of chromosome 3R. *Bioelectromagnetics*, 13(2): 111–118.
- Gotthard, K. (2001) Growth strategies of ectothermic animals in temperate environments. In: *Environment and Animal Development: Genes, Life histories and Plasticity* (ed. by D. Atkinson i M. Thorndyke), 287–303.
- Gotthard, K. i Nylin, S. (1995) Adaptive plasticity and plasticity as an adaptation: a selective review of plasticity in animal morphology and life-history. *Oikos*, 74: 3–17.
- Gotthard, K., Nylin, S., Wiklund, C. (1994) Adaptive variation in growth rate—life history costs and consequences in the speckled wood butterfly, *Pararge aegeria*. *Oecologia*, 99: 281–289.
- Graham, J.H., Fletcher, D., Tigue J., McDonald, M. (2000) Growth and developmental stability of *Drosophila melanogaster* in low frequency magnetic fields. *Bioelectromagnetics*, 21: 465–472.
- Grandison, R.C., Piper, M.D., Partridge, L. (2009) Amino-acid imbalance explains extension of lifespan by dietary restriction in *Drosophila*. *Nature*, 462: 1061–1064.
- Grant, B.R. i Grant, P.R. (1995) Predicting microevolutionary responses to directional selection on heritable variation. *Evolution*, 49: 241–251.
- Grant, B.R. i Grant, P.R. (2003) What Darwin’s finches can teach us about the evolutionary origin and regulation of biodiversity. *BioScience*, 53: 965–975.
- Graves, J.L.Jr. i Mueller, L.D. (1993) Population density effects on longevity. *Genetica*, 91: 99–109.
- Grether, G.F. (2005) Environmental change, phenotypic plasticity, and genetic compensation. *American Naturalist*, 166: E115–E123.
- Guerra, D., Pezzoli, M.C., Giorgi, G., Garoia, F., Cavicchi, S. (1997) Developmental constraints in the *Drosophila* wings. *Heredity*, 79: 564–571.

- Guillemaud, T., Lenormand, T., Bourguet, D., Chevillon, C., Pasteur, N., Raymond, M. (1998) Evolution of resistance in *Culex pipiens*: allele replacement and changing environment. *Evolution*, 52: 443–453.
- Guzmán-Rincón, J., Ramírez-Victoria, P., Benitez, L. (2001) Somatic Mutation and Recombination Test in *Drosophila* Used for Biomonitoring of Environmental Pollutants (pp 221–237), *Biomonitoring and Biomarkers as Indicators of Environmental Change 2* (ed.: Butterworth, F.M., Gunatilaka A., Gensebatt M.E.), Springer US.
- Haeler, E., Fiedler, K., Grill, A. (2014) What prolongs a butterfly's life?: Trade-offs between dormancy, fecundity and body size. *PLoS One*, 9(11): e111955.
- Haldane, J.B.S. (1937) The effect of variation on fitness. *American Naturalist*, 71: 337–349.
- Hammer, Ø., Harper, D., Ryan, P.D. (2001) PAST: Paleontological statistics software package for education and data analysis. *Paleontol. Electron.*, 4: 9.
- Hanafy, M., Hussein, M., Hashem, M. (2013) Biophysical and Biological Studies on the Effect of Electromagnetic Field on the Ehrlich Tumor Cells Implanted In Mice. *J. Am. Sci.*, 9(12): 833–840.
- Harakawa, S., Inoue, N., Hori, T., Tochio, K., Kariya, T., Takahashi, K., Doge, F., Suzuki, H., Nagasawa, H. (2005) Effects of a 50 Hz electric field on plasma lipid peroxide level and antioxidant activity in rats. *Bioelectromagnetics*, 26: 589–594.
- Harshman, L.G. i Hoffmann, A.A. (2000) Laboratory selection experiments using *Drosophila*; what do they really tell us? *Trends. Ecol. Evol.*, 15: 32–36.
- Heidenreich, E. (2007) Adaptive mutation in *Saccharomyces cerevisiae*. *Crit. Rev. Biochem. Mol. Biol.*, 42: 285–311.
- Hendry, A.P. i Kinnison, M.T. (1999) The pace of modern life: measuring rates of contemporary microevolution. *Evolution*, 53: 1637–1653.
- Hendry, A.P., Kinnison, M.T., Heino, M., Day, T., Smith, T.B., Fitt, G., Bergstrom, C.T., Oakeshott, J., Jørgensen, P.S., Zalucki, M.P., Gilchrist, G., Southerton, S., Sih, A., Strauss, S., Denison, R.F., Carroll, S.P. (2011) Evolutionary principles and their practical application. *Evol. Appl.*, 4: 159–183.
- Hengeveld, R. (1994) Small step invasion research. *Trends in Ecology and Evolution*, 9: 3393–42.
- Hercus, M.J., Loeschke, V., Rattan, S.I.S. (2003) Life span extension of *Drosophila melanogaster* through hormesis by repeated mild heat stress. *Biogerontology*, 4: 149–156.
- Ho, M.W., Stone, T.A., Jerman, I., Bolton, J., Bolton, H., Goodwin, B.C., Saunders, P.T., Robertson, F. (1992) Brief exposure to weak static magnetic field during embryogenesis cause cuticular pattern abnormalities in *Drosophila*-larvae. *Phys. Med. Biol.*, 37(5): 1171–1179.
- Hoffman, A.A. i Parsons, P.A. (1991) *Evolutionary genetics and environmental stress*. Oxford University Press, Oxford, UK.

- Hoffmann, A.A. i Hercus, M.J. (2000) Environmental stress as an evolutionary force. *Bioscience*, 50: 217–226.
- Hofmann, E.G. i Todgham, A.E. (2010) Living in the Now: Physiological Mechanisms to Tolerate a Rapidly Changing Environment. *Annual Review of Physiology*, 72: 127–145.
- Holman, L., Freckleton, R.P., Snook, R.R. (2008) What use is an infertile sperm? A comparative study of sperm-heteromorphic *Drosophila*. *Evolution*, 62: 374–385.
- Honek, A. (1993) Intraspecific variation in body size and fecundity in insects: a general relationship. *Oikos*, 66: 483–492.
- Houle, D. (1991) Genetic covariance of fitness correlates: what genetic correlations are made of and why it matters. *Evolution*, 45: 630–648.
- Houle, D. (1992) Comparing evolvability and variability of quantitative traits. *Genetics*, 130: 195–204.
- Houle, D., Hughes, K.A., Hoffmaster, D.K., Ihara, J., Assimacopoulos, S., Canada, D. et al. (1994) The effects of spontaneous mutation on quantitative traits. I. Variances and covariances of life history traits. *Genetics*, 138: 773–785.
- Houle, D., Mezey, J.G., Galpern, P., Carter, A. (2003) Automated measurement of *Drosophila* wings. *BMC Evol. Biol.*, 3: 25.
- Hsu, C.Y., Ko, F.Y., Li, C.W., Fann, K., Lue, J.T. (2007) Magnetoreception System in Honeybees (*Apis mellifera*). *PLoS ONE*, 2(4): e395.
- Huang, C.-Y., Chang, C.-W., Chen, C.-R., Chuang, C.-Y., Chiang, C.-S., et al. (2014) Extremely Low-Frequency Electromagnetic Fields Cause G1 Phase Arrest through the Activation of the ATM-Chk2-p21 Pathway. *PLoS One* 9(8): e104732.
- Huang, C.Y., Chuang, C.Y., Shu, W.Y., Chang, C.W., Chen, C.R., Fan, T.C., Hsu, I.C. (2014) Distinct epidermal keratinocytes respond to extremely low-frequency electromagnetic fields differently. *PLoS One*, 9(11): e113424.
- Huey, R.B., Gilchrist, G. W., Carlson, M. L., Berrigan, D., Serra L. (2000) Rapid evolution of a geographic cline in size in an introduced fly. *Science*, 287: 308–309.
- IARC (International Agency for Research on Cancer) (2002) IARC Monograph on the Evaluation of Carcinogenic Risk to Humans, Vol. 80. Non-Ionizing Radiation, Part 1: Static and Extremely Low-Frequency (ELF) Electric and Magnetic Fields. IARC Press, Lyon, France.
- Ikehata, M., Takashima, Y., Suzuki, Y., Shimizu, H., Miyakoshi, J., Koana, T. (2001) Exposure to a power frequency magnetic field (50 Hz, 40 mT) did not cause point mutation in bacteria. *Environ Mut Res Commun*, 23(3): 215–222.
- Ilijin, L., Vlahović, M., Mrdaković, M., Mirčić, D., Prolić, Z., Lazarević, J., Perić-Mataruga, V. (2011) The effects of acute exposure to magnetic fields on morphometric characteristics of bombyxin-producing neurosecretory neurons in gypsy moth caterpillars. *Int. J. Radiat. Biol.*, 87: 461–471.

- Ivancsits, S., Diem, E., Jahn, O., Rüdiger H.W. (2003 a) Intermittent extremely low frequency electromagnetic fields cause DNA damage in a dose dependent way. *Int. Arch. Occup. Environ. Health*, 76: 431–436.
- Ivancsits, S., Diem, E., Jahn, O., Rüdiger, H.W. (2003 b) Age-related effects on induction of DNA strand breaks by intermittent exposure to electromagnetic fields. *Mech. Age Dev.*, 124: 847–850.
- Ivancsits, S., Pilger, A., Diem, E., Jahn, O., Rudiger, H.W. (2005) Cell type-specific genotoxic effects of intermittent extremely low-frequency electromagnetic fields. *Mutation Research*, 583: 184–188.
- Jalvingh, K.M., Chang, P.L., Nuzhdin, S.V., Wertheim, B. (2014) Genomic changes under rapid evolution: selection for parasitoid resistance. *Proc. Biol. Sci. R. Soc.*, 281: 20132303.
- James, A.C., Azevedo, R.B.R., Partridge, L. (1995) Cellular basis and developmental timing in a size cline of *Drosophila melanogaster*. *Genetics*, 140: 659–666.
- James, A.C. i Partridge, L. (1995) Thermal evolution of rate of larval development in *Drosophila melanogaster* in laboratory and field populations. *J. Evol. Biol.*, 8: 315-330.
- Jarosz, D.F. i Lindquist, S. (2010) Hsp90 and environmental stress transform the adaptive value of natural genetic variation. *Science*, 330: 1820–1824.
- Jelić, M., Kenig, B., Kurbalija, Z., Stamenković-Radak, M., Anđelković, M. (2009) Intra-species differentiation among *Drosophila subobscura* from different habitats in Serbia. *Archives of Biological Sciences*, 61: 513–521.
- Jiang, C., Mithani, A., Belfield, E.J., Mott, R., Hurst, L.D., Harberd, N.P. (2014) Environmentally responsive genome-wide accumulation of de novo *Arabidopsis thaliana* mutations and epimutations. *Genome Research*, 24(11): 1821–1829.
- Johnson, S.A. i Milner, M.J. (1987) The final stages of wing development in *Drosophila melanogaster*. *Tissue Cell*, 19: 505–513.
- Joshi, A. i Mueller, L.D. (1996) Density-dependent natural selection in *Drosophila*: trade-offs between larval food acquisition and utilization. *Evol. Ecol.*, 10: 463–474.
- Kaiser, H., Weyl, O., Hecht, T. (1995) Observations on agonistic behaviour of *Clarias gariepinus* larvae and juveniles under different densities and feeding frequencies in a controlled environment. *Journal of Applied Ichthyology*, 11: 25–36.
- Karasov, T., Messer P.W., Petrov D.A. (2010) Evidence that adaptation in *Drosophila* is not limited by mutation at single sites. *PLoS Genet.*, 6: e1000924.
- Kellermann, V., Overgaard, J., Loeschcke, V., Kristensen, T.N., Hoffmann, A.A. (2013) Trait Associations across Evolutionary Time within a *Drosophila* Phylogeny: Correlated Selection or Genetic Constraint? *PLoS ONE*, 8(8): e72072.
- Kenig, B., Stamenković-Radak M., Anđelković, M. (2013) Population specific fitness response of *Drosophila subobscura* to lead pollution. *Insect. Sci.*, 20: 245–253.
- Kerr, R.A. (2007) Global warming is changing the world. *Science*, 316: 188–190.

- Khazaeli, A.A. i Curtsinger, J.W. (2012) Pleiotropy and life history evolution in *Drosophila melanogaster*: Uncoupling life span and early fecundity. *Journals of Gerontology A, Biol Sci.*, 68(5): 546–553.
- Khurana, N. i Bhattacharyya, S. (2015) Hsp90, the concertmaster: tuning transcription. *Frontiers in Oncology*, 5: 100.
- Kiefer, J.C. (2007) Epigenetics in Development. *Developmental dynamics*, 236: 1144–1156.
- Kiger Jr., J.A, Natzle, J.E., Kimbrell, D.A., Paddy, M.R., Kleinhesselink, K., Green, M.M. (2007) Tissue remodeling during maturation of the *Drosophila* wing. *Dev. Biol.*, 301(1): 178–191.
- Kikuchi, T., Ogawa, M., Otaka, Y., Furuta, M. (1998) Multigeneration exposure test of *Drosophila melanogaster* to ELF magnetic fields. *Bioelectromagnetics*, 19(6): 335–340.
- Kimura, M. (1983) *The neutral theory of molecular evolution*. Cambridge University Press, Cambridge, United Kingdom
- Kirkwood, T.B. (1977) Evolution of ageing. *Nature*, 270: 301–304.
- Kirkwood, T.B.L. i Shanley, D.P. (2010) The connections between general and reproductive senescence and the evolutionary basis of menopause. *Ann. N. Y. Acad. Sci.*, 1204: 21–29.
- Kirschvink, J.L. i Gould, J.L. (1981) Biogenic magnetite as a basis for magnetic field detection in animals. *Biosystems*, 13: 181–201.
- Klepsatel, P., Galikova, M., De Maio, N., Ricci, S., Schlotterer, C., Flatt, T. (2013) Reproductive and post-reproductive life history of wild-caught *Drosophila melanogaster* under laboratory conditions. *J. Evol. Biol.*, 26: 1508–1520.
- Klingenberg, C.P. (2011) MorphoJ: an integrated software package for geometric morphometrics. *Molecular Ecology Resources*, 11: 353–357.
- Klingenberg C.P. i Zaklan, S.D. (2000) Morphological integration between developmental compartments in the *Drosophila* wing. *Evolution*, 54: 1273–1285.
- Koana T., Okada O.M., Takashima Y., Ikehata M., Miyakoshi J. (2001) Involvement of eddy currents in the mutagenicity of ELF magnetic fields. *Mutation Research*, 476: 55–62.
- Koana, T., Okada, O.M., Takashima, Y., Ikehata, M., Miyakoshi, J. (2001) Involvement of eddy currents in the mutagenicity of ELF magnetic fields. *Mutation Research*, 476: 55–62.
- Koehn, R.K. i Bayne, B.L. (1989) Towards a physiological and genetical understanding of the energetics of the stress response. *Biol. J. Linn. Soc.*, 37: 169–171.
- Kohane, M.J. (1994) Energy, development and fitness in *Drosophila melanogaster*. *Proceedings of the Royal Society (B)*, 257: 185–191.
- Kohane, M.J. i Tiller, W.A. (2000) Energy, Fitness, and Information-Augmented Electromagnetic Fields in *Drosophila melanogaster*. *Journal of Scientific Exploration*, 14: 217–231.

- Kölliker-Ott, U.M., Blows, M.W., Hoffmann, A.A. (2003) Are wing size, wing shape and asymmetry related to field fitness of *Trichogramma* egg parasitoids? *Oikos*, 100: 563–573.
- Kong, Q. i Lin, C.L.G. (2010) Oxidative damage to RNA: mechanisms, consequences, and diseases. *Cellular and Molecular Life Sciences*, 67: 1817–1829.
- Kraus, C., Pavard, S., Promislow, D.E. (2013) The size-life span trade-off decomposed: Why large dogs die young. *The American Naturalist*, 181(4): 492–505.
- Krebs R. A. i Feder M.E. (1997) Deleterious consequences of Hsp70 overexpression in *Drosophila melanogaster* larvae. *Cell Stress Chaperon.*, 2: 60–71.
- Krebs R.A. i Feder M.E. (1998) Hsp70 and larval thermotolerance in *Drosophila melanogaster*: how much is enough and when is more too much? *J. Insect Physiol.* 44: 1091–1101.
- Krebs, R.A. i Loeschcke, V. (1994) Costs and benefits of activation of the heat shock response in *Drosophila melanogaster*. *Funct. Ecol.*, 8: 730–737.
- Krebs, R.A. i Loeschcke, V. (1999) A genetic analysis of the relationship between life-history variation and heat-shock tolerance in *Drosophila buzzatii*. *Heredity*, 83: 46–53.
- Krimbas, C.B. (1993) *Drosophila subobscura*: biology, genetics, and inversion polymorphism. Verlag Dr. Kovac, Hamburg.
- Krimbas, C.B. i Loukas, M. (1980) The inversion polymorphism of *D. subobscura*. *Evol. Biol.*, 12: 163–234.
- Kristensen, T.N., Dahlgaard, J., Loeschcke, V. (2003) Effects of inbreeding and environmental stress on fitness – using *Drosophila buzzatii* as a model organism. *Con. Genet.*, 4: 453–465.
- Kristensen, T.N., Sørensen, P., Pedersen, K.S., Kruhøffer, M., Loeschcke, V. (2006) Inbreeding by environmental interactions affect gene expression in *Drosophila melanogaster*. *Genetics*, 173: 1329–1336.
- Kurbalija Novičić Z., Kenig, B., Ludoški, J., Stamenković-Radak, M., Anđelković, M. (2012) Lead-Induced Variation in Wing Size and Shape in Populations of *Drosophila subobscura*. *Environ. Entomol.*, 41: 979–988.
- Laayouni, H., García-Franco, F., Chávez-Sandoval, B.E., Trotta, V., Beltran, S., Corominas, M., Santos, M. (2007) Thermal evolution of gene expression profiles in *Drosophila subobscura*. *BMC Evolutionary Biology*, 7: 42.
- Lagisz, M. i Laskowski, R. (2008) Evidence for between-generation effects in carabids exposed to heavy metals pollution. *Ecotoxicology*, 17: 59–66.
- Lai, H. i Singh, P.N. (2004) Magnetic-field-induced DNA strand breaks in brain cells of the rat. *Environ. Health Perspect.*, 112(6): 687–694.
- Lande, R. i Shannon, S. (1996) The role of genetic variation in adaptation and population persistence in a changing environment. *Evolution*, 50: 434–437.

- Lecuit, T., Brook, W.J., Ng, M., Calleja, M., Sun, H., Cohen, S.M. (1996) Two distinct mechanisms for long-range patterning by Decapentaplegic in the *Drosophila* wing. *Nature*, 381: 387–393.
- Lenski, R.E. (1988) Experimental studies of pleiotropy and epistasis in *Escherichia coli*. I. Variation in competitive fitness among mutants resistant to virus T4. *Evolution*, 42: 425–432.
- Leone, L., Fusco, S., Mastrodonato, A., Piacentini, R., Barbati, S.A., Zaffina, S., Pani, G., Podda, M.V., Grassi, C. (2014) Epigenetic Modulation of Adult Hippocampal Neurogenesis by Extremely Low-Frequency Electromagnetic Fields. *Mol. Neurobiol.*, 49(3): 1472–86.
- Lewontin, R.C. (1970) The units of selection. *Annual Review of Ecology and Systematics*, 1: 1–18.
- Li, S.-s., Zhang, Z.-Y., Yang, C.-J., Lian, H.-Y., Cai, P. (2013) Gene expression and reproductive abilities of male *Drosophila melanogaster* subjected to ELF-EMF exposure. *Mutat. Res.*, 758(1-2): 95–103.
- Liburdy ,R.P., Sloma, T.R., Sokolic, R., Yaswen, P. (1993) ELF magnetic fields, breast cancer, and melatonin: 60 Hz fields block melatonin's oncostatic action on ER breast cancer cell proliferation. *J Pineal Res*, 14: 89–97.
- Lima, S.L. i Dill, L.M. (1990) Behavioural decisions made under the risk of predation- A review and prospectus. *Canadian Journal of Zoology*, 68: 619-640.
- Lin, H., Blank, M., Rossol-Haseroth, K., Goodman, R. (1999) A magnetic field responsive domain in the human HSP70 promoter. *Journal of Cellular Biochemistry*, 75: 170–176.
- Lin, H., Blank, M., Rossol-Haseroth, K., Goodman, R. (2001) Regulating genes with electromagnetic response elements. *Journal of Cellular Biochemistry*, 81: 143–148.
- Lin, H., Head, M., Blank, M., Han, L., Jin, M., Goodman, R. (1998) Myc-mediated transactivation of HSP70 expression following exposure to magnetic fields. *Journal of Cellular Biochemistry*, 69: 181–188.
- Lindström, E., Lindström, P., Berglund, A., Mild, K.H., Lundgren, E. (1993) Intracellular calcium oscillations induced in a T-cell line by weak 50-Hz magnetic-field. *J. Cell Physiol.*, 156: 395–398.
- Lisi, A., Foletti, A., Ledda, M., Rosola, E., Giuliani, L., D'Emilia, E., Grimaldi, S. (2006) Extremely low frequency 7 Hz 100 microT electromagnetic radiation promotes differentiation in the human epithelial cell line HaCaT. *Electromagnetic Biology and Medicine*, 25: 269–280.
- Livingston, G.K., Witt, K.L., Gandhi, O.P., Chatterjee, I., Roti, J.L. (1991) Reproductive integrity of mammalian cells exposed to power frequency electromagnetic fields. *Environ. Mol. Mutagen.*, 17: 49–58.
- Loft, S.A., Astrup, A., Buemann, B., Poulsen, H.E. (1994) Oxidative DNA damage correlates with oxygen consumption in humans. *Fed. Am. Soc. Exp. Biol. J.*, 8: 534–537.

- Longo, V.D. i Finch, C.E. (2003) Evolutionary medicine: from dwarf model systems to healthy centenarians? *Science*, 299: 1342–1346.
- Löschinger, M., Thumm, S., Hämmerle, H., Rodemann, H.P. (1999) Induction of intracellular calcium oscillations in human skin fibroblast populations by sinusoidal extremely low - frequency magnetic fields (20 Hz, 8 mT) is dependent on the differentiation state of the single cell. *Radiat. Res.*, 151(2): 195–200.
- Lott, S.E., Kreitman, M., Palsson, A., Alekseeva, E., Ludwig, M.Z. (2007) Canalization of segmentation and its evolution in *Drosophila*. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 104: 10926–10931.
- Loukas, M., Vergini, Y., Krimbas, C. B. (1981) The genetics of *Drosophila subobscura* populations. XVIII. Multiple insemination and sperm displacement in *Drosophila subobscura*. *Genetica*, 57: 29–37.
- Luo, F.L., Yang, N., He, C., Li, H.L., Li, C., Chen, F., Xiong, J.X., Hu, Z.A., Zhang, J. (2014) Exposure to extremely low frequency electromagnetic fields alters the calcium dynamics of cultured entorhinal cortex neurons. *Environ Res.*, 135: 236–46.
- Lupke, M., Rollwitz, J., Simkó, M. (2004) Cell activating capacity of 50 Hz magnetic fields to release reactive oxygen intermediates in human umbilical cord blood-derived monocytes and in mono mac 6 cells. *Free Radic. Res.*, 38(9): 985–993.
- Ma, T.H. i Chu, K.C. (1993) Effect of the extremely low frequency (ELF) electromagnetic field (EMF) on developing embryos of the fruit fly (*Drosophila melanogaster* L.). *Mutation Research*, 303(1): 35–39.
- Mack, R.N., Simberloff, D., Lonsdale, W.M., Evans, H., Clout, M., Bazzaz, F.A (2000) Biotic invasions: causes, epidemiology, global consequences, and control. *Ecological Applications*, 10: 689–710.
- Maes, A., Verschaeve, L. (2012) Can cytogenetics explain the possible association between exposure to extreme low-frequency magnetic fields and Alzheimer's disease? *J. Appl. Toxicol.*, 32: 81–87.
- Magurran, A.E., Seghers, B.H., Carvalho, G.R., Shaw, P.W. (1992) Behavioral consequences of an artificial introduction of guppies (*Poecilia reticulata*) in Trinidad – evidence for the evolution of anti-predator behavior in the wild. *Proc. Royal Soc. London, Series B*, 248: 117–122.
- Maharjan, R. i Ferenci, T. (2015) Mutational Signatures Indicative of Environmental Stress in Bacteria. *Molecular Biology and Evolution*, 32(2): 380–91.
- Mairs, R.J., Hughes, K., Fitzsimmons, S., Prise, K.M., Livingstone, A., Wilson, L., Baig, N., Clark, A.M., Timpson, A., Patel, G., Folkard, M., Angerson, W.J., Boyd, M. (2007) Microsatellite analysis for determination of the mutagenicity of extremely low-frequency electromagnetic fields and ionising radiation *in vitro*. *Mutation Research*, 626: 34–41.
- Maltby, L., Calow, P., Cosgrove, M., Pindar, L. (1987) Adaptation to acidification in aquatic invertebrates; speculation and preliminary observations. *Ann. Soc. R. Zool. Belgique*, 117: 105–115.

- Manjhi, J., Kumar, S., Behari, J., Mathur, R. (2013) Effect of extremely low frequency magnetic field in prevention of spinal cord injury-induced osteoporosis. *J. Rehabil. Res. Dev.*, 50(1): 17-30.
- Marinković, D., Milošević, M., Milanović, M. (1986) Enzyme activity and dynamics of *Drosophila* development. *Genetica*, 70: 43-52.
- Márquez, E.J., Moscarella, R.A., Aponte, D., Mio, W., Houle, D. (2013) A Dictionary of Genetic Effects as a Unified Representation of the Genotype-Phenotype Map. 54th Annual *Drosophila* Research Conference, Washington, DC.
- Matos, M., Avelar, T., Rose, M.R. (2002) Variation in the rate of convergent evolution: adaptation to a laboratory environment in *Drosophila subobscura*. *Journal of Evolutionary Biology*, 15: 673–682.
- Matos, M., Rose, M.R., Rocha Piteã, M.T., Rego, C., Avelar, T. (2000) Adaptation to the laboratory environment in *Drosophila subobscura*. *J. Evol. Biol.*, 13: 9-19.
- Matsuba, C., Ostrow, D.G., Saloman, M.P., Tolani, A., Baer, C.F. (2013) Temperature, stress and spontaneous mutations in *Caenorhabditis briggsae* and *Caenorhabditis elegans*. *Biol. Lett.*, 9: 20120334.
- Matter, S.F. (2006) Changes in landscape structure decrease mortality during migration. *Oecologia*, 150: 8–16.
- Mattsson, M.O., Lindstrom, E., Still, M., Lindstrom, P., Mild, K.H., Lundgren, E. (2001) $[Ca^{2+}]_i$ rise in Jurkat E6-1 cell lines from different sources as a response to 50 Hz magnetic field exposure is a reproducible effect and independent of poly-L-lysine treatment. *Cell Biol. Int.*, 25: 901–907.
- Mayer, M.P. i Bukau, B. (2005) Hsp70 chaperones: Cellular functions and molecular mechanism. *Cell. Mol. Life Sci.*, 62: 670–684.
- Maynard Smith, J. (1956) Fertility, mating behavior and sexual selection in *Drosophila subobscura*. *Journal of Genetics*, 54: 261–279.
- Maynard Smith, J. (1958) The effects of temperature and of egg laying on the longevity of *Drosophila subobscura*. *J. Exp. Biol.*, 35: 832-842.
- McCaig, C.D. i Zhao, M. (1997) Physiological electric fields modify cell behaviour. *Bioessays*, 19(9): 819-826.
- McCall, K. (2004) Eggs over easy: cell death in the *Drosophila* ovary. *Developmental Biology*, 274: 3-14.
- McCleery, R.H., Pettifor, R.A., Armbruster, P., Meyer, K., Sheldon, B.C., Perrins, C.M. (2004) Components of Variance Underlying Fitness in a Natural Population of the Great Tit *Parus major*. *The American Naturalist*, 164: E62-E72.
- McGuigan, K. i Blows, W.M. (2013) Joint allelic effects on fitness and metric traits. *Evolution*, 67: 1131–1142.

- McGuigan, K. i Sgrò, C.M. (2009) Evolutionary consequences of cryptic genetic variation. *Trends Ecol Evol.*, 24(6): 305–11.
- McNamee, D.A., Legros, A.G., Krewski, D.R., Wisenberg, G., Prato, F.S., Thomas, A.W. (2009) A literature review: the cardiovascular effects of exposure to extremely low frequency electromagnetic fields. *International Archives of Occupational and Environmental Health*, 82: 919–933.
- Medawar, P.B. (1952) *An Unsolved Problem of Biology*. Lewis, London.
- Merila, J. i Sheldon, B.C. (1999) Genetic architecture of fitness and nonfitness traits: empirical patterns and development of ideas. *Heredity*, 83: 103–109.
- Merilä, J., i Sheldon, B.C. (2000) Lifetime reproductive success and heritability in nature. *American Naturalist*, 155: 301–310.
- Messenger, E.A. i Warner, A.E. (1979) The function of the sodium pump during differentiation of amphibian embryonic neurones. *J. Physiol.*, 292: 85–105.
- Meyer, J.N. i Di Giulio, R.T. (2003) Heritable adaptation and fitness costs in killifish (*Fundulus heteroclitus*) inhabiting a polluted estuary. *Ecol. Applic.*, 13: 490–503.
- Michel, A. i Gutzeit, H.O. (1999) Electromagnetic fields in combination with elevated temperatures affect embryogenesis of *Drosophila*. *Biochemical and Biophysical Research Communications*, 265: 73–78.
- Michod, R.E. (1979) Evolution of life histories in response to age-specific mortality factors. *Am. Nat.*, 113: 531–550.
- Mihai, C.T., Rotinberg, P., Brinza, F., Vochita, G. (2014) Extremely low-frequency electromagnetic fields cause DNA strand breaks in normal cells. *Journal of Environmental Health Science & Engineering*, 12: 15.
- Mirabolghasemi, G. i Azarnia, M. (2002) Developmental changes in *Drosophila melanogaster* following exposure to alternating electromagnetic fields. *Bioelectromagnetics*, 23(6): 416–420.
- Mirth, C.K. I Shingleton, A.W. (2012) Integrating body and organ size in *Drosophila*: recent advances and outstanding problems. *Frontiers in Endocrinology*, 3: 00049.
- Misra, R.K. i Reeve, E.C.R. (1964) Clines in body dimensions in populations of *Drosophila subobscura*. *Genetics Research*, 5: 240–256.
- Monclus, M. i Prevosti, A. (1971) The relationship between mating speed and wing length in *Drosophila subobscura*. *Evolution*, 25: 214–217.
- Moraes, E. M., Spressola, V. L., Prado, P.R.R., Costa, L. F., Sene, F. M. (2004) Divergence in wing morphology among sibling species of *Drosophila buzzatii* cluster. *J. Zool. Syst. Evol. Res.*, 42: 154–158.
- Moreteau, B., Morin, J.P., Gibert, P., Petavy, G., Pla, E., David, J.R. (1997) Evolutionary changes of non linear reaction norms according to thermal adaptation : a comparison of two *Drosophila* species. *C. R. Acad. Sci.*, 320: 833–841.

- Moreto, B., Imasheva, A.G., Moren, Z.F., David, J.R. (1998) Wing shape and developmental temperature in two *Drosophila* species: different wing regions exhibit different reaction norms. *Genetika*, 34: 248–258.
- Moss, R.H., Edmonds, J.A., Hibbard, K.A., Manning, M.R., Rose, S.K., van Vuuren, D.P., Carter, T.R., Emori, S., Kainuma, M., Kram, T., Meehl, G.A., Mitchell, J.F.B., Nakicenovic, N., Riahi, K., Smith, S.J., Stouffer, R.J., Thomson, A.M., Weyant, J.P., Wilbanks, T.J. (2010) The next generation of scenarios for climate change research and assessment. *Nature*, 463: 747–756.
- Mousseau, T.A. i. Roff, D.A (1987) Natural selection and the heritability of fitness components. *Heredity*, 59: 181–197.
- Muller, H.J. (1950) Our load of mutations. *Am. J. Hum. Genet.*, 2: 111–176.
- Murbach, M., Christopoulou, M., Crespo-Valero, P., Achermann, P., Kuster, N. (2012) Exposure system to study hypotheses of ELF and RF electromagnetic field interactions of mobile phones with the central nervous system. *Bioelectromagnetics*, 33: 527–533.
- Naira, B., Yerazik, M., Anna, N., Sinerik, A. (2013) The impact of background radiation, illumination and temperature on EMF-induced changes of aqua medium properties. *Electromagn. Biol. Med.*, 32: 390–400.
- Neigel, J.E. i. Avise, J.C. (1993) Application of a random walk to geographic distributions of animal mitochondrial DNA variation. *Genetics*, 135: 1209–1220.
- Nellen, D., Bruke, R., Struhl, G., Basler, K. (1996) Direct and long-range action of a DPP morphogen gradient. *Cell*, 85: 357–368.
- Nenadović, V., Mrdaković, M., Lazarević, J., Mirčić, D., Todorović, D., Prolić, Z. (2005) Temperature and magnetic field effects on the activity of protocerebral neurosecretory neurons and corpora allata in *Cerambyx cerdo* L. larvae. *Arch. Biol. Sci.*, 57: 19–24.
- Nezis, I.P., Stravopodis, D.J., Papassideri, I., Robert-Nicoud, M., Margaritis, L.H. (2000) Stage-specific apoptotic patterns during *Drosophila* oogenesis. *Eur. J. Cell. Biol.*, 79(9): 610–20.
- Nguyen, P., Bournias-Vardiabasis, N., Haggren, W., Adey, W.R. Phillips, J.L. (1995) Exposure of *Drosophila melanogaster* embryonic cell cultures to 60-Hz sinusoidal magnetic fields: Assessment of potential teratogenic effects. *Teratology*, 51: 273–277.
- Nie, Y., Chen, Y., Mou, Y., Weng, L., Xu, Z., Du, Y., Wang, W., Hou, Y., Wang, T. (2013) Low frequency magnetic magnetic fields enhance antitumor immune response against mouse H22 hepatocellular carcinoma. *PLoS One*, 8(11): e72411.
- Noor, M.A.F. (1998) Diurnal Activity Patterns of *Drosophila subobscura* and *D. pseudoobscura* in Sympatric Populations. *American Midland Naturalist*, 140: 34–41.
- Nowak, C., Vogt, C., Pfenninger, M., Schwenk, K., Oehlmann, J., Streit, B. i Oetken, M. (2009) Rapid genetic erosion in pollutant-exposed experimental chironomid populations. *Environ. Pollut.*, 157: 881–886.
- Nuccitelli, R. (1988) Ionic currents in morphogenesis. *Experientia*, 44: 657–666.

- Nylin, S. i Gotthard, K. (1998) Plasticity in Life-History Traits. *Annual Review of Entomology*, 43: 63–83.
- O'Shea, K.S. (1982) Calcium and neural tube closure defects: An *in vitro* study. *Birth Defects*, 18: 95–106.
- Okada, M. i Koana, T. (2002) Developmental anomalies induced by the exposure to ELF magnetic fields. *Papers of technical meeting on magnetic*. IEE Japan MAG-02(66-77): 39–42.
- Orzack, S.H. i Sober, E. (1994) Optimality models and the test of adaptationism. *The American Naturalist*, 143: 361–380.
- Otaka, Y., Kitamura, S., Furuta, M., Shinohara, A. (1992) Sex-linked recessive lethal test of *Drosophila melanogaster* after exposure to 50 Hz magnetic fields. *Bioelectromagnetics*, 13: 67–74.
- Paaby, A.B. i Rockman, M.V. (2014) Cryptic genetic variation: evolution's hidden substrate. *Nat. Rev. Genet.*, 15: 247–258.
- Pall, L.M. (2013) Electromagnetic fields act via activation of voltage-gated calcium channels to produce beneficial or adverse effects. *J. Cell. Mol. Med.*, 17: 958–965.
- Palmer, A.R. (1994) Fluctuating asymmetry analyses: a primer. T.A Markow, *Developmental stability: Its Origins and Evolutionary Implications*, pp. 335-364. Kluwer, Dordrecht.
- Palsson, A. i Gibson, G. (2004) Association between nucleotide variation in *Egfr* and wing shape in *Drosophila melanogaster*. *Genetics*, 167: 1187–1198.
- Panagopoulos, D.J. (2012) Gametogenesis, embryonic and postembryonic development of *Drosophila melanogaster*, as a model system for the assessment of radiation and environmental genotoxicity. In M. Spindler-Barth (Ed.), *Drosophila melanogaster: Life cycle, genetics and development*. New York: Nova Science Publishers.
- Panagopoulos, D.J. i Margaritis, L.H. (2002) Effects of Different Kinds of EMFs on the Offspring Production of Insects. 2nd International Workshop on Biological effects of EMFs. Rhodes (Greece): 348–452.
- Panagopoulos, D.J. i Margaritis, L.H. (2003) Effects of electromagnetic fields on the reproductive capacity of *Drosophila melanogaster*. In P. Stavroulakis (Ed.), *Biological effects of electromagnetic fields*. Springer, pp 545–578.
- Panagopoulos, D.J., A. Karabarounis and C. Lioliousis (2013) ELF alternating magnetic field decreases reproduction by DNA damage induction. *Cell Biochem. Biophys.*, 67(2): 703–716.
- Panagopoulos, D.J., Chavdoula, E.D., Nezis, I.P., Margaritis, L.H. (2007) Cell death induced by GSM 900-MHz and DCS 1800-MHz mobile telephony radiation. *Mutat Res.*, 626: 69-78.
- Parker, I.M. i Gilbert, G.S. (2004) The evolutionary ecology of novel plant–pathogen interactions. *Annual Review of Ecology Evolution and Systematics*, 35: 675–700.

Parmesan, C. (2006) Ecological and evolutionary responses to recent climate change. *Annual Review of Ecology Evolution and Systematics*, 37: 637–669.

Parsell, D.A. i Lindquist, S. (1994) Heat shock proteins and stress tolerance. *The Biology of Heat Shock Proteins and Molecular Chaperones* (ed. by R.I. Morimoto, A. Tissieres and C. Georgopoulos), pp. 457–494. Cold Spring Harbor Laboratory Press, New York, New York.

Parsons, P.A. (2004) From energy efficiency under stress to rapid development and a long life in natural populations. *Biogerontology*, 5: 201–210.

Partridge, L. i Fowler, K. (1992) Direct and correlated responses to selection on age at reproduction in *Drosophila melanogaster*. *Evolution*, 46: 76–91.

Partridge, L. i Fowler, K. (1993) Responses and correlated responses to artificial selection on thorax length in *Drosophila melanogaster*. *Evolution*, 47: 213–226.

Partridge, L. i French, V. (1996) Thermal evolution of ectotherm body size: why get big in the cold?, pp. 265–292 in *Animals and Temperature: Phenotypic and Evolutionary Adaptation*, edited by I.A. Johnston i A.F. Bennett. Cambridge University Press, Cambridge, U.K.

Partridge, L. i Harvey, P.H. (1985) The cost of reproduction. *Evol. Biol.*, 316: 20.

Partridge, L. i Mangel, M. (1999) Messages from mortality: the evolution of death rates in the old. *Trends. Ecol. Evol.*, 11: 438–442.

Partridge, L., Barrie, B., Fowler, K., French, V. (1994) Evolution and development of body size and cell size in *Drosophila melanogaster* in response to temperature. *Evolution*, 48: 1269–1276.

Partridge, L., Gems, D., Withers, D. J. (2005) Sex and death: what is the connection? *Cell*, 120: 461–472.

Partridge, L., Green, A., Fowler, K. (1987) Effects of egg-production and of exposure to males on female survival in *Drosophila melanogaster*. *J. Insect Physiol.*, 33: 745–749.

Partridge, L., Langelan, R., Fowler, K., Zwaan, B., French, V. (1999) Correlated responses to selection on body size in *Drosophila melanogaster*. *Genetics Research*, 79: 43–54.

Pascual, M., Aquadro, F.C., Soto, V., Serra, L. (2001) Microsatellite Variation in Colonizing and Palearctic Populations of *Drosophila subobscura*. *Molecular Biology and Evolution*, 18: 731–740.

Pascual, M., Chapuis, M.P., Mestres, F., Balanyà, J., Huey, R.B., Gilchrist, G.W., Serra, L., Estoup, A. (2007) Introduction history of *Drosophila subobscura* in the New World: a microsatellite-based survey using ABC methods. *Mol. Ecol.*, 16: 3069–3083.

Patenković A., Savić, T., Kenig, B., Kurbalija-Novičić, Z., Anđelković, M (2015) The impact of extremely low frequency electromagnetic field (50Hz, 0.25 mT) on fitness components and wing traits of *Drosophila subobscura*. *Genetika*, 47(3): 967–982.

Patrino, A., Amerio, P., Pesce, M., Vianale, G., Di Luzio, S., Tulli, A., Franceschelli, S., Grilli, A., Muraro, R., Reale, M. (2010) Extremely low frequency electromagnetic fields

modulate expression of inducible nitric oxide synthase, endothelial nitric oxide synthase and cyclooxygenase-2 in the human keratinocyte cell line HaCat: potential therapeutic effects in wound healing. *Br. J. Dermatol.*, 162(2): 258–66.

Patruno, A., Tabrez, S., Pesce, M., Shakil, S., Kamal, M.A., Reale, M. (2015) Effects of extremely low frequency electromagnetic field (ELF-EMF) on catalase, cytochrome P450 and nitric oxide synthase in erythro-leukemic cells. *Life Sciences*, 121: 117–123.

Paulraj, R. i Behari, J. (2006) Single strand DNA breaks in rat brain cells exposed to microwave radiation. *Mutation Research /Fundamental and Molecular Mechanisms of Mutagenesis*, 596: 76–80.

Pauls, S.U., Nowak, C., Bálint, M., Pfenninger, M. (2013) The impact of global climate change on genetic diversity within populations and species. *Mol. Ecol.*, 22: 925–946.

Paz, H., Forero, O.A., Vargas, M.A., Pabón, J.F. (2012) Local distortion of the earth's magnetic field as a proposal for handling the leafcutter ant species *Atta* spp. (Hymenoptera: *Formicidae*). *Ingeniería e Investigación*, 32: 28–33.

Pegueroles, G., Mestres, F., Argemí M., Serra, L. (1999) Phenotypic plasticity in colonizing populations of *Drosophila subobscura*. *Genetics and Molecular Biology*, 22 (4): 511-516.

Pezzoli, M.C., Guerra, D., Giorgi, G., Garoia, F., Cavicchi, S. (1997) Developmental constraints and wing shape variation in natural populations of *Drosophila melanogaster*. *Heredity*, 79: 572–577.

Phillips, J.L., Singh, N.P., Lai, H. (2009) Electromagnetic fields and DNA damage. *Pathophysiology*, 16: 79–88.

Piacentini, R., Ripoli, C., Mezzogori, D., Azzena, G.B., Grassi, C. (2008) Extremely low-frequency electromagnetic fields promote in vitro neurogenesis via upregulation of Ca(v)1-channel activity. *J. Cell Physiol.*, 215(1): 129–139.

Picton, H.D. (1966) Some responses to weak magnetic and electrostatic fields. *Nature*, 211: 303–304.

Pigliucci, M., Murren, C.J., Schlichting, C.D. (2006) Phenotypic plasticity and evolution by genetic assimilation. *The Journal of Experimental Biology*, 209: 2362–2367.

Pilla, A., Fitzsimmons, R., Muehsam, D., Wu, J., Rohde, C., Casper, D. (2011) Electromagnetic fields as first messenger in biological signaling: Application to calmodulin-dependent signaling in tissue repair. *Biochimica et Biophysica Acta*, 1810: 1236–1245.

Pilla, A.A. (2012) Electromagnetic fields instantaneously modulate nitric oxide signaling in challenged biological systems. *Biochem. Biophys. Res. Commun.*, 426: 330–3.

Pimm, S.L., Jenkins, C.N., Abell, R., Brooks, T.M., Gittleman, J.L., Joppa, L.N., Raven, P.H., Roberts, C.M., Sexton, J.O. (2014) The biodiversity of species and their rates of extinction, distribution, and protection. *Science*, 344 (6187): 1246752.

Podda, M.V., Leone, L., Barbati, S.A., Mastrodonato, A., Li Puma, D.D., Piacentini, R., Grassi, C. (2014) Extremely low-frequency electromagnetic fields enhance the survival of newborn neurons in the mouse hippocampus. *Eur. J. Neurosci.*, 39(6): 893–903.

- Pomati, F. i Nizzetto, L. (2013) Assessing triclosan-induced ecological and transgenerational effects in natural phytoplankton communities: a trait-based field method. *Ecotoxicology*, 22: 779–794.
- Posthuma, L., Verweij, R.A., Widianarko, B., Zonneveld, C. (1993) Life-history patterns in metal-adapted Collembola. *Oikos*, 67: 235–249.
- Postma, J.F. i Davids, C. (1995) Tolerance Induction and Life Cycle Changes in Cadmium-Exposed *Chironomus riparius* (Diptera) during Consecutive Generations. *Ecotoxicology and Environmental Safety*, 30(2): 195–202.
- Powell, J.R. (1997) Progress and prospects in Evolutionary Biology: the *Drosophila* model. Oxford University Press, New York.
- Prasad, N.G. i Joshi, A. (2003) What have two decades of laboratory life-history evolution studies on *Drosophila melanogaster* taught us? *J. Genet.*, 82: 45–76.
- Prevosti, A., Ribó, G., Serra, L., Aguadé, M., Balañya, J., Monclús, M., Mestres, F. (1988) Colonization of America by *D. subobscura*: Experiment in natural populations that supports the adaptive role of chromosomal - inversion polymorphism. *Proc. Natl. Acad. Sci.*, 85: 5597–5600.
- Price, T. i Schluter, D. (1991) On the low heritability of life-history traits. *Evolution*, 45: 853–861.
- Ram, Y. i Hadany, L. (2014) Stress-Induced Mutagenesis and Complex Adaptation. *Proceedings of the Royal Society B: Biological Sciences*, 281: 45.
- Ramirez, E., Monteagudo, J.L., Garcia-Gracia, M., Delgado, J.M.R. (1983) Oviposition and development of *Drosophila* is modified by magnetic fields. *Bioelectromagnetics*, 4: 315–326.
- Rauš Balind, S., Selaković, V., Radenović, L., Prolić, Z., Janać, B. (2014) Extremely Low Frequency Magnetic Field (50 Hz, 0.5 mT) Reduces Oxidative Stress in the Brain of Gerbils Submitted to Global Cerebral Ischemia. *PLoS ONE*, 9(2): e88921.
- Reed, D.H., Lowe, E.H., Briscoe, D.A., Frankham, R. (2003) Fitness and adaptation in a novel environment: effect of inbreeding, prior environment, and lineage. *Evolution*, 57: 1822–1828.
- Reeve, M. W., Fowler, K., Partridge, L. (2000) Increased body size confers greater fitness at lower experimental temperature in male *Drosophila melanogaster*. *J. Evol. Biol.*, 13: 836–844.
- Rego, C., Balanya, J., Fragata, I., Matos, M., Rezende, E., Santos, M. (2010) Clinal patterns of chromosomal inversion polymorphisms in *Drosophila subobscura* are partly associated with thermal preferences and heat stress resistance. *Evolution*, 64: 385–397.
- Relyea, R.A. (2002) The costs of phenotypic plasticity. *The American Naturalist*, 159: 272–282.
- Reznick, D (1992) Measuring the costs of reproduction. *Trends Ecol. Evol.*, 7: 42–45.

Reznick, D. (1985) Costs of reproduction: an evaluation of the empirical evidence. *Oikos*, 44: 257–267.

Reznick, D., Bryant, M., Holmes, D. (2006) The evolution of senescence and post-reproductive lifespan in guppies (*Poecilia reticulata*). *PLoS Biol.*, 4: e7.

Reznick, D., Nunney, L., Tessier, A. (2000) Big houses, big cars, superfleas and the cost of reproduction. *Trends Ecol. Evol.*, 15: 421–425.

Reznick, D.A., Bryga, H., Endler, J.A. (1990) Experimentally induced life-history evolution in a natural population. *Nature*, 346: 357–359.

Reznick, D.N. i Ghalambor, C.K. (2001) The population ecology of contemporary adaptations: what empirical studies reveal about the conditions that promote adaptive evolution. *Genetica*, 112: 183–198.

Ritossa, F. (1962) A new puffing pattern induced by temperature shock and DNP in *Drosophila*. *Experientia*, 18: 571–573.

Robertson, F.W. (1959) Studies in quantitative inheritance. XII. Cell size and number in relation to genetic and environmental variation to body size in *Drosophila*. *Genetics*, 44: 869–895.

Robertson, F.W. i Reeve, E.C.R. (1952) Studies in quantitative inheritance. I. The effects of selection of wing and thorax length in *Drosophila melanogaster*. *Journal of Genetics*, 50: 414–448.

Rodriguez, G.P., Romanova, N.V, Bao, G., Rouf, N.C., Kow, Y.W. i Crouse, G.F. (2012) Mismatch repair-dependent mutagenesis in nondividing cells. *Proc. Natl. Acad. Sci.*, 109: 6153–8.

Roelofs, D., Aarts, M.G.M., Schat, H., van Straalen, N.M. (2008) Functional ecological genomics to demonstrate general and specific responses to abiotic stress. *Funct. Ecol.*, 2: 8–18.

Roff, D.A. (1980) Optimizing development time in a seasonal environment: the ups and downs of clinal variation. *Oecologia*, 45: 202–208

Roff, D.A. (1992) *The evolution of life histories: Theory and analysis*. Chapman & Hall. New York.

Roff, D.A. (2002) *Life History Evolution*. Sinauer Associates, Sunderland, MA, USA.

Roff, D.A. i Fairbairn, D.J. (2007) The evolution of trade-offs: where are we? *Journal of Evolutionary Biology*, 20: 433–447.

Roff, D.A. i Fairbairn, D.J. (2012) The evolution of trade-offs under directional and correlational selection. *Evolution*, 66: 2461–2474.

Rohlf, F.J. (2004) tpsDig - Thin plate spline digitizer, version 1.40. Department of Ecology and Evolution, State University of New York at Stony Brook, New York.

Rohlf, F.J. (2006) tpsRelw - Thin plate spline relative warp, version 1.44. Department of Ecology and Evolution, State University of New York at Stony Brook, New York.

Rohlf, F.J. (2009) tpsRegr, version 1.37. Department of Ecology and Evolution, State University of New York at Stony Brook, New York.

Rohner, N., Jarosz, D.F., Kowalko, J.E., Yoshizawa, M., Jeffery, W.R., Borowsky, R.L., Lindquist, S., Tabin, C.J. (2013) Cryptic variation in morphological evolution: HSP90 as a capacitor for loss of eyes in cavefish. *Science*, 342: 1372–1375.

Rollwitz, J., Lupke, M., Simkó, M. (2004) Fifty-hertz magnetic fields induce free radical formation in mouse bone marrow-derived promonocytes and macrophages. *Biochim. Biophys. Acta – General Subjects*, 1674: 231–238.

Ronce, O. (2007) How does it feel to be like a rolling stone? Ten questions about dispersal evolution. *Ann. Rev. Ecol. Evol. Syst.*, 38: 231–253.

Rose, M. (1984) Laboratory evolution of postponed senescence in *Drosophila melanogaster*. *Evolution*, 38: 1004–1010.

Rosenberg, S.M., Shee, C., Frisch, R.L., Hastings, P.J. (2012) Stress-induced mutation via DNA breaks in *Escherichia coli*: A molecular mechanism with implications for evolution and medicine. *BioEssays*, 1–8.

Rosewell, J. i Shorrocks, B. (1987) The implication of survival rates in natural populations of *Drosophila*: capture-recapture experiments on domestic species. *Biological Journal of the Linnean Society*, 32(4): 373-384.

Rowe, L. i Ludwig, D. (1991) Size and timing of metamorphosis in complex life cycles: Time constraints and variation. *Ecology*, 72: 413-427.

Roy, S., Noda, Y., Eckert, V., Traber, M.G., Mori, A., Liburdy, R., Packer, L. (1995) The phorbol 12-myristate 13-acetate (PMA)-induced oxidative burst in rat peritoneal neutrophils is increased by a 0.1 mT (60 Hz) magnetic field. *FEBS Letters*, 376: 164–166.

Rutherford, S.L. i Lindquist, S. (1998) Hsp90 as a capacitor for morphological evolution. *Nature*, 396: 336–342.

Sanen, K.R., Laurila, A., Merila, J. (2003) Geographic variation in acid stress tolerance of the moor frog, *Rana arvalis*. I. Local adaptation. *Evolution*, 57: 352–362.

Santini, T.M., Rainaldi, G., Indovina, L.P. (2009) Cellular effects of extremely low frequency (ELF) electromagnetic fields. *International Journal of Radiation Biology*, 85: 294–313.

Santos, M., Borash, D.J., Joshi, A., Bounlutay, N., Mueller, L.D. (1997) Density dependent natural selection in *Drosophila*: evolution of growth rate and body size. *Evolution*, 51: 420–432.

Santos, M., Céspedes, W., Balanyà, J., Trotta, V., Calboli, F.C.F., Fontdevila, A., Serra, L. (2005) Temperature-related genetic changes in laboratory populations of *Drosophila subobscura*: evidence against simple climatic-based explanations for latitudinal clines. *American Naturalist*, 165: 258–273.

Santos, M., Fragata, I., Santos, J., Simões, P., Marques, A., Lima, M., Matos, M. (2010) Playing Darwin. Part B. 20 years of domestication in *Drosophila subobscura*. *Theory Biosci.*, 129: 97–102.

Santos, M., Iriarte, P.F., Céspedes, W., Balanyà, J., Fontdevila, A., Serra, L. (2004) Swift laboratory thermal evolution of wing shape (but not size) in *Drosophila subobscura* and its relationship with chromosomal inversion polymorphism. *Journal of Evolutionary Biology*, 17: 841–855.

Sarimov, R., Alipov, E.D., Belyaev, I.Y. (2011) Fifty Hertz Magnetic Fields Individually Affect Chromatin Conformation in Human Lymphocytes: Dependence on Amplitude, Temperature, and Initial Chromatin State. *Bioelectromagnetics*, 32: 570–579.

Sarkar, S. (1999) From the Reaktionsnorm to the Adaptive Norm: The Norm of Reaction, 1909–1960. *Biology and Philosophy*, 14: 235–252.

Scaiano, J.C., Mohtat, N., Cozens, F.L., McLean, J., Thansandote, A. (1994) Application of the radical pair mechanism to free radicals in organized systems: can the effects of 60 Hz be predicted from studies under static fields? *Bioelectromagnetics*, 15: 549–554.

Scarfi, M.R., Bersani, F., Cossarizza, A., Monti, D., Zeni, O., Lioi, M.B., Franceschetti, G., Capri, M., Franceschi, C. (1993) 50 Hz AC sinusoidal electric fields do not exert genotoxic effects (micronucleus formation) in human lymphocytes. *Radiat. Res.*, 135: 64–68.

Scheiner, S.M. (1993) Genetics and Evolution of phenotypic plasticity. *Annual Review of Ecology and Systematics*, 24: 35–68.

Schlichting, C.D. (1986) The evolution of phenotypic plasticity in plants. *Annual Review of Ecology and Systematics*, 17: 667–693.

Schlichting, C.D. (2008) Hidden Reaction Norms, Cryptic Genetic Variation, and Evolvability. *Annals of the New York Academy of Sciences*, 1133: 187–203.

Schluter, D. (1996) Adaptive Radiation Along Genetic Lines of Least Resistance. *Evolution*, 50(5): 1766–1774.

Seeley, R.H. (1986) Intense natural selection caused a rapid morphological transition in a living marine snail. *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.*, 83: 6897–6901.

Serra, L., Pegueroles, G., Mestres, F. (1987) Capacity of dispersal of a colonizing species: *Drosophila subobscura*. *Genetica*, 73: 223–235.

Service, P.M. i Rose, M.R. (1985) Genetic covariation among life history components: the effect of novel environments. *Evolution*, 39: 943–945.

Sevenster, J.G. i van Alphen, J.J.M. (1993) A life history trade-off in *Drosophila* species and community structure in variable environments. *J. Anim. Ecol.*, 62: 720–736.

Sgro, C.M. i Hoffmann, A.A. (2004) Genetic correlations, tradeoffs and environmental variation. *Heredity*, 93: 241–248.

Sgro, C.M. i Partridge, L. (1999) A delayed wave of death from reproduction in *Drosophila*. *Science*, 286: 2521–2524.

- Sharp, N.P. i Agrawal, A.F. (2012) Evidence for elevated mutation rates in low-quality genotypes. *Proc. Natl. Acad. Sci.*, 109: 6142–6.
- Shaw, R.G., Platenkamp, G.A.J., Shaw, F.H., Podolsky, R.H. (1995) Quantitative genetics of response to competitors in *Nemophila menziesii*: A field experiment. *Genetics*, 139: 397–406.
- Sheeba, V., Sharma, V.K., Shubha, K., Chandrashekar, M.K., Joshi, A. (2000) The effect of different light regimes on adult lifespan in *Drosophila melanogaster* is partly mediated through reproductive output. *Journal of biological rhythms*, 15: 380–392.
- Shefferson, R.P., Proper, J., Beissinger, S.R., Simms E.L. (2003) Life history trade-offs in a rare orchid: the costs of flowering, dormancy, and sprouting. *Ecology*, 84: 1199–1206.
- Shirayoshi, Y., Okada, T.S., Takeichi, M. (1983) The calcium-dependent cell–cell adhesion system regulates inner cell mass formation and cell surface polarization in early mouse development. *Cell*, 35: 631–638.
- Shor, E., Fox, C.A., Broach, J.R. (2013) The yeast environmental stress response regulates mutagenesis induced by proteotoxic stress. *PLoS Genet*, 9: e1003680.
- Sibly, R.M. i P. Calow (1989) A life-cycle theory of responses to stress. *Biol. J. Linn. Soc.*, 37: 101–116.
- Siegal, M.L. i Bergman, A. (2002) Waddington’s canalization revisited: developmental stability and evolution. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 99: 10528–10532.
- Silbermann, R. i Tatar, M. (2000) Reproductive costs of heat shock protein in transgenic *Drosophila melanogaster*. *Evolution*, 54: 2038–2045.
- Silbiger, R.N., Leonard, A.C., Dimsoski, P., Foré, S., Guttman, S.I., Roth, A.C., Gordon, D.A., Wessendarp, T., Toth, G.P., Smith, M.K. (2001) Use of molecular markers to study the effect of environmental impacts on genetic diversity in brown bullhead (*Ameiurus nebulosus*) populations. *Environ. Toxicol. Chem.*, 20: 2580–2587.
- Simkó, M. (2007) Cell type specific redox status is responsible for diverse electromagnetic field effects. *Current Medicinal Chemistry*, 14: 1141–1152.
- Simkó, M., Droste, S., Kriehuber, R., Weiss, D.G. (2001) Stimulation of phagocytosis and free radical production in murine macrophages by 50 Hz electromagnetic fields. *European Journal of Cell Biology*, 80: 562–566.
- Simões, P., Rose, M.R., Duarte, A., Gonçalves, R., Matos, M. (2007) Evolutionary domestication in *Drosophila subobscura*. *Journal of Evolutionary Biology*, 20: 758–766.
- Simões, P., Santos, J., Fragata, I., Mueller, L.D., Rose, M.R., Matos, M., Travisano, M. (2008) How Repeatable is Adaptive Evolution? The Role of Geographical Origin and Founder Effects in Laboratory Adaptation. *Evolution*, 62: 1817–1829.
- Smedley, M.J i Stanisstreet, M. (1985) Calcium and neurulation in mammalian embryos. *J. Embryol. Morph.*, 89: 1–14.

Smedley, M.J. i Stanisstreet, M. (1986) Calcium and neurulation in mammalian embryos. II. Effects of cytoskeleton inhibitors and calcium antagonists on the neural folds of rat embryos. *J. Embryol. Exp. Morph.*, 93: 167–178.

Smith, T.B. i Bernatchez, L. (2008) Evolutionary change in human-altered environments. *Mol. Ecol.*, 17: 1–8.

Snow, A.A. i Whigham, D.F. (1989) Costs of Flower and Fruit Production in *Tipularia discolor* (Orchidaceae). *Ecology*, 70: 1286–1293.

Sollars, V., Lu, X., Xiao, L., Wang, X., Garfinkel, M.D., et al. (2003) Evidence for an epigenetic mechanism by which Hsp90 acts as a capacitor for morphological evolution. *Nat. Genet.*, 33: 70–74.

Sørensen, J.G. (2010) Application of heat shock protein expression for detecting natural adaptation and exposure to stress in natural populations. *Curr. Zool.*, 56: 703–713.

Sørensen, J.G., Kristensen, T.N., Loeschke V. (2003) The evolutionary and ecological role of heat shock proteins. *Ecol. Lett.*, 6: 1025–1037.

Soto, I.M., Carreira, V.P., Soto, E.M., Hasson, E. (2008) Wing morphology and fluctuating asymmetry depend on the host plant in cactophilic *Drosophila*. *J. Evol. Biol.*, 21(2): 598–609.

Speakman, J.R. i Garratt, M. (2014) Oxidative stress as a cost of reproduction: Beyond the simplistic trade-off model. *Bioessays*, 36: 93–106.

Spitzer, N.C. (1979) Ion channels in development. *Ann. Rev. Neurosci.*, 2: 363–397.

Stamenković-Radak, M., Jelić, M., Kurbalija Novičić, Z., Kenig, B., Tanasković, M. Anđelković, M. (2012) Balkan glacial history and modern *Drosophila subobscura* population genetics. *Evolutionary Ecology Research*, special issue, 14(7): 839–858.

Stamenković-Radak, M., Kalajdžić, P., Savić, T., Savić, M., Kurbalija, Z., Rašić, G., Anđelković, M. (2008a) The effect of lead on fitness components and developmental stability in *Drosophila subobscura*. *Acta. Biol. Hung.*, 59: 47-56.

Stamenković-Radak, M., Kitanović, I., Prolić, Z., Tomišić, I., Stojković, B., Anđelković, M. (2001) Effect of a permanent magnetic field on wing size parameters in *Drosophila melanogaster*. *Bioelectromagnetics*, 22: 365–369.

Stamenković-Radak, M., Rašić, G., Savić, T., Kalajdžić, P., Kurbalija, Z., Kenig, B., Anđelković, M. (2008b) Monitoring of the genetic structure of natural populations: change of the effective population size and inversion polymorphism in *Drosophila subobscura*. *Genetica* 133: 57–63.

Stanojević, V., Prolić, Z., Savić, T., Todorović D., Janać, B. (2005) Effects of Extremely Low Frequency (50 Hz) Magnetic Field on Development Dynamics of the Housefly (*Musca domestica* L.). *Electromagnetic Biology and Medicine*, 24: 99–107.

Starick, N.T., Longstaff, B.C., Condon, B. (2005) The influence of fluctuating low-level magnetic fields on the fecundity and behaviour of *Rhyzopertha dominica* (F.). *Journal of Stored Products Research*, 41(3): 255–270.

- Stearns, S.C. (1983a) The genetic basis of differences in life history traits among six populations of mosquitofish that shared ancestors in 1905. *Evolution*, 37: 618–627.
- Stearns, S.C. (1983b) A natural experiment in life history evolution: field data on the introduction of mosquitofish to Hawaii. *Evolution*, 37: 601–617.
- Stearns, S.C. (1989) Trade-offs in life-history evolution. *Functional Ecology*, 3: 259–268.
- Stearns, S.C. (1992) *The Evolution of Life Histories*. Oxford University Press, Oxford, U.K.
- Stearns, S.C. i Partridge, L. (2001) The genetics of aging in *Drosophila* (pp. 353–368), *Handbook of the biology of aging*, 5th ed., ed: E. J. Masoro i S. N. Austad. Academic Press (Elsevier), San Diego, CA.
- Steele, R.H. (1986) Courtship feeding in *Drosophila subobscura*. II. Courtship feeding by males influences female mate choice. *Animal Behaviour*, 34: 1099–1108.
- Steele, R.H. i Partridge, L. (1988) A courtship advantage for small males in *Drosophila subobscura*. *Animal Behaviour*, 36: 1190–1197.
- Stillman, J.H. (2003) Acclimation capacity underlies susceptibility to climate change. *Science*, 301: 65.
- Stockhoff, B.A. (1991) Starvation resistance of gypsy moth, *Lymantria dispar* (L.) (Lepidoptera: Lymantriidae): Tradeoffs among growth, body size, and survival. *Oecologia*, 88: 422–429.
- Stoks, R., De Block, M., McPeck, M.A. (2006) Physiological costs of compensatory growth in a damselfly. *Ecology*, 87: 1566–1574.
- Sul, A.R., Park, S.N., Suh, H. (2006) Effects of sinusoidal electromagnetic field on structure and function of different kinds of cell lines. *Yonsei Med. J.*, 47(6): 852–861.
- Sultan, S.E. (1987) Evolutionary implications of phenotypic plasticity in plants. *Evolutionary Biology*, 21: 127–176.
- Swingland, I.R. (1982) Intraspecific differences in movement (pp. 32–53), *The ecology of animal movement*, ed.: Swingland, I.R. i Greenwood, P.J. Oxford University Press, Oxford, UK.
- Tariq, M., Nussbaumer, U., Chen, Y., Beisel, C., Paro, R. (2009) Trithorax requires Hsp90 for maintenance of active chromatin at sites of gene expression. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 106(4): 1157–62.
- Tatarov, I., Panda, A., Petkov, D., Kolappaswamy, K., Thompson, K., Kavirayani, A., Lipsky, M.M., Elson, E., Davis, C.C., Martin, S.S., DeTolla, L.J. (2011) Effect of Magnetic Fields on Tumor Growth and Viability. *Comparative Medicine*, 61(4): 339–345.
- Taylor, C. E., Powell, J., R. Kekić, V., Anđelković, M., Burla, H. (1984) Dispersal Rates of Species of the *Drosophila obscura* Group: Implications for Population Structure. *Evolution*, 38: 1397–1401.

Terashima, J. i Bownes, M. (2004) Translating available food into the number of eggs laid by *Drosophila melanogaster*. *Genetics*, 167(4): 1711–1719.

Teschner, M. (1995) Effects of salinity on the life history and fitness of *Daphnia magna*: variability within and between populations. *Hydrobiologia*, 307: 33–41.

Tessier, A.J., Leibold, M.A., Tsao, J. (2000) A fundamental trade-off in resource exploitation by *Daphnia* and consequences to plankton communities. *Ecology*, 81: 826–841.

Till-Bottraud, I., Wu, L., Harding, J. (1990) Rapid evolution of life history traits in populations of *Poa annua* L. *J. Evol. Biol.*, 3: 205–224.

Todorović, D., Mirčić, D., Ilijin, L., Mrdaković, M., Vlahović, M., Prolić, Z., Mataruga, V.P. (2012) Effect of magnetic fields on antioxidative defense and fitness-related traits of *Baculum extradentatum* (Insecta, Phasmatodea). *Bioelectromagnetics*, 33(3): 265–273.

Tofani, G., Cintorino, M., Barone, D., Berardelli, M., De Santi, M.M., Ferrara, A., Orlassino, R., Ossola, P., Rolfo, K., Ronchetto, F., Tripodi, S.A., Tosi, P. (2002) Increased mouse survival, tumor growth inhibition, and decreased immunoreactive p-53 after exposure to magnetic fields. *Bioelectromagnetics*, 23: 230–238.

Tokalov, S.V. i Gutzeit, H.O. (2004) Weak Electromagnetic Fields (50 Hz) Elicit a Stress Response in Human Cells. *Environ. Res.*, 94: 145–151.

Trotta, V., Calboli, F.C.F., Ziosi, M., Cavicchi, S. (2007) Fitness variation in response to artificial selection for reduced cell area, cell number and wing area in natural populations of *Drosophila melanogaster*. *BMC Evolutionary Biology*, 7 (Suppl. 2): S10.

Trotta, V., Chavicchi, S., Guerra, D., Andersen, D.H., Babbitt, G.A., Kristensen, T.N., Pedersen, K.S., Loeschcke, V., Pertoldi, C. (2011) Allometric and non-allometric consequences of inbreeding on *Drosophila melanogaster* wings. *Biol. J. Linn. Soc.*, 102: 626–634.

Valko, M., Leibfritz, D., Moncol, J., Cronin, M.T.D., Mazur, M., Telser, J. (2007) Free radicals and antioxidants in normal physiological functions and human disease. *International Journal of Biochemistry and Cell Biology*, 39: 44–84.

van den Heuvel, J., Zandveld, J., Mulder, M., Brakefield, P.M., Kirkwood, T.B.L., Shanley, D.P., Zwaan, B.J. (2014) The plastic fly: the effect of sustained fluctuations in adult food supply on life-history traits. *Journal of Evolutionary Biology*, 27(11): 2322–2333.

Van Dongen, S. i Lens, L. (2000) The evolutionary potential of developmental instability. *Journal of Evolutionary Biology*, 13: 326–335.

van Noordwijk, A.J. i de Jong, G. (1986) Acquisition and allocation of resources: their influence on variation in life history tactics. *Am. Nat.*, 128: 137–4.

Vaupel, J.W., Carey, J.R., Christensen, K., Johnson, T.E., Yashin, A.I., Holm, N.V., Iachine, I.A., Kannisto, V., Khazaeli, A.A., Liedo, P., Longo, V.D., Zeng, Y., Manton, K.G., Curtsinger, J.W. (1998) Biodemographic trajectories of longevity. *Science*; 280: 855–890.

- Verschaeve, L., Anthonissen, R., Grudniewska, M., Wudarski, J., Gevaert, L., Maes, A. (2011) Genotoxicity investigation of ELF - magnetic fields in *Salmonella typhimurium* with the sensitive SOS - based VITOTOX test. *Bioelectromagnetics*, 32(7): 580–584.
- Via, S. (1993) Adaptive phenotypic plasticity: target or a by-product of selection in variable environment? *American Naturalist*, 142(2): 352–365.
- Via, S. i Lande, R. (1985) Genotype-environment interaction and the evolution of phenotypic plasticity. *Evolution*, 39: 505-522.
- Via, S. i Lande, R. (1987) Evolution of genetic variability in a spatially heterogeneous environment: effects of genotype-environment interaction. *Genet. Res.*, 49: 147–156.
- Vianale, G., Reale, M., Amerio, P., Stefanachi, M., Di Luzio, S., Muraro, R. (2008) Extremely low frequency electromagnetic field enhances human keratinocyte cell growth and decreases proinflammatory chemokine production. *Br. J. Dermatol.*, 158: 1189–1196.
- Vijendravarma, R.K., Narasimha, S., Kawecki, T.J. (2011) Plastic and evolutionary responses of cell size and number to larval malnutrition in *Drosophila melanogaster*. *Journal of Evolutionary Biology*, 24: 897–903.
- Villarini, M., Ambrosini, M.V., Moretti, M., Dominici, L., Taha, E., Piobbico, D., Gambelunghe, C., Mariucci, G. (2013) Brain hsp70 expression and DNA damage in mice exposed to extremely low frequency magnetic fields: a dose-response study. *Int. J. Radiat. Biol.*, 89: 562–70.
- Vogt, C., Heß, M., Nowak, C., Diogo, J.D., Oehlmann, J., Oeteken, M. (2010) Effects of cadmium on life cycle parameters in a multigenerational study with *Chironomus riparius* following pre-exposure of populations to two different tributyltin concentrations for several generations. *Ecotoxicology*, 19: 1174–1182.
- Wahab, M.A., Podd, J.V., Rapley, B.I., Rowland, R.E. (2007) Elevated Sister Chromatid Exchange Frequencies in Dividing Human Peripheral Blood Lymphocytes Exposed to 50 Hz Magnetic Fields. *Bioelectromagnetics*, 28: 281–288.
- Walker, M.M. i Bitterman, M.E. (1989) Honeybees can be trained to respond to very small changes in geomagnetic field intensity. *J. Exp. Biol.*, 145: 489–494.
- Walter, E. i Carstensen, E.L. (1987) Test for the effects of 60Hz magnetic, fields on fecundity and development in *Drosophila*. *Bioelectromagnetics*, 8: 351–354.
- Wang, Y.J. i Brock, H.W. (2003) Polyhomeotic stably associates with molecular chaperones Hsc4 and Droj2 in *Drosophila* Kc1 cells. *Dev. Biol.*, 262: 350–360.
- Warner, A.E. (1973) The electrical properties of the ectoderm in the amphibian embryo during induction and early development of the nervous system. *J. Physiol.*, 235: 267–286.
- Weber, K.E. (1990) Artificial selection on wing allometry in *Drosophila melanogaster*. *Genetics*, 126: 975–989.
- Weber, K.E. (1992) How small are the smallest selectable domains of form? *Genetics*, 130: 345–353.

Weber, K., Eisman, R., Higgins, S., Morey, L., Patty, A., Tausek, M., Zeng, Z.B. (2001) An analysis of polygenes affecting wing shape on chromosome 2 in *Drosophila melanogaster*. *Genetics*, 159: 1045–1057.

Weber, K., Eisman, S., Morey, L., Patty, A., Sparks J., Tausek, M., Zeng, Z.B. (1999) An analysis of polygenes affecting wing shape on chromosome 3 in *Drosophila melanogaster*. *Genetics*, 153: 773–786.

Weisenseel, M.H. (1983) Control of Differentiation and growth by Endogenous Electric Currents. in *Biophysics*, pp. 460-465. Eds. Hoppe, W., Lohmann, W., Markl, H. i Ziegler, H. Springer –Verlag, Berlin.

West-Eberhard, M.J. (1989) Phenotypic plasticity and the origin of diversity. *Annual Review of Ecology and Systematics*, 20: 249–278.

West-Eberhard, M.J. (2003) *Developmental Plasticity and Evolution*. Oxford University Press, Oxford.

Whitman, D.W. i Agrawal, A.A. (2009) What is Phenotypic Plasticity and Why is it Important? In: *Phenotypic Plasticity of Insects - Mechanisms and Consequences*. Edited by Whitman, D.W. and Ananthakrishnan, T.N. Science Publishers.

Wilkinson, G.S., Fowler, K., Partridge, L. (1990) Resistance of genetic correlation structure to directional selection in *Drosophila melanogaster*. *Evolution*, 44: 1990–2003.

Williams, C., Markov, M., Hardman, W., Cameron, I. (2001) Therapeutic electromagnetic field effects on angiogenesis and tumor growth. *Anticancer Res.*, 21: 3087–3092.

Williams, G.C. (1957) Pleiotropy, natural selection, and the evolution of senescence. *Evolution*, 11: 398–411.

Wiltschko, R. i Wiltschko, W. (1995) *Magnetic Orientation in Animals*. Springer Verlag, Berlin

Wolf, F.I., Torsello, A., Tedesco, B., Fasanella, S., Boninsegna, A., D'Ascenzo, M., Grassi, C., Azzena, G.B., Cittadini, A. (2005) 50-Hz extremely low frequency electromagnetic fields enhance cell proliferation and DNA damage: possible involvement of a redox mechanism. *Biochimica et Biophysica Acta*, 1743: 120–129.

Yamanaka, N., Rewitz, K.F., O'Connor, M.B., (2013) Ecdysone control of developmental transitions: lessons from *Drosophila* research. *Annu. Rev. Entomol.*, 58: 497–516.

Yang, J.S. i Tower, J. (2009) Expression of *hsp22* and *hsp70* transgenes is partially predictive of *Drosophila* survival under normal and stress conditions. *J. Gerontol.A: Biol.*, 64: 828–838.

Yang, Y., Li, L., Wang, Y.-G., Fei, Z., Zhong, J., Wei, L.-Z., Long, Q.-F., Liu, W.-P. (2012) Acute neuroprotective effects of extremely low-frequency electromagnetic fields after traumatic brain injury in rats. *Neuroscience Letters*, 516: 15–20.

Yang, Y., Tao, C., Zhao, D., Li, F., Zhao, W., Wu, H. (2010) EMF acts on rat bone marrow mesenchymal stem cells to promote differentiation to osteoblasts and to inhibit differentiation to adipocytes. *Bioelectromagnetics*, 31: 277–285.

Yoshii, T., Ahmad, M., Helfrich-Förster, C. (2009) Cryptochrome Mediates Light-Dependent Magnetosensitivity of *Drosophila's* Circadian Clock. PLoS Biol, 7(4): e1000086.

Zajitschek, F., Jin, T., Colchero, F., Maklakov, A.A. (2014) Aging Differently: Diet- and Sex-Dependent Late-Life Mortality Patterns in *Drosophila melanogaster*. Gerontol. A. Biol. Sci. Med. Sci., 69(6): 666–674.

Zhao, Y.L., Yang, J.C., Zhang, Y.H. (2008) Effects of magnetic fields on intracellular calcium oscillations. Conference Proceedings of the International Conf. Pro. IEEE Eng. Med. Biol. Soc. 2008, 2124–2127.

Zhou, S., Campbell, T.G., Stone, E.A., Mackay, T.F.C., Anholt, R.R.H. (2012) Phenotypic Plasticity of the *Drosophila* Transcriptome. PLoS Genet., 8(3): e1002593.

Zhuchenko, A.A., Korol, A.B., Kovtyukh, L.P. (1985) Change of the crossing-over frequency in *Drosophila* during selection for resistance to temperature fluctuations. Genetica, 67: 73–78.

Zimmerman, E., Palsson, A., Gibson, G. (2000) Quantitative trait loci affecting components of wing shape in *Drosophila melanogaster*. Genetics, 155: 671–683.

Efekat
elektromagnetnog polja (50 Hz, 0,25 mT)
na komponente adaptivne vrednosti
i morfometriju krila
kod *Drosophila subobscura*
Collin, 1936 (Insecta, Diptera)

BIOGRAFIJA AUTORA

Aleksandra Patenković je rođena 2. oktobra 1976. godine u Beogradu. Osnovnu školu i gimnaziju opšteg smera završila je u Staroj Pazovi. Biološki fakultet Univerziteta u Beogradu je upisala školske 1995/1996. godine na studijskoj grupi Biologija. Diplomirala je 2004. godine sa prosečnom ocenom 9,22. Poslediplomske studije na smeru Genetika na Biološkom fakultetu je upisala 2005. godine. Doktorske studije na istom fakultetu, na smeru Genetika, modulu Genetika populacija i zaštita sredine upisuje 2006. godine.

Od marta 2005. godine je zaposlena kao istraživač pripravnik na Odeljenju za genetiku populacija i ekogenotoksikologiju, a 2009. godine je izabrana u zvanje istraživač saradnik na istom odeljenju. Svoj naučno – istraživački rad Aleksandra Patenković je realizovala kroz tri nacionalna projekta: od 2005 do 2006. projekat 101527 Ministarstva za nauku i zaštitu životne sredine, od 2006 do 2010. projekat 143014 Ministarstva za nauku i tehnološki razvoj, i od 2011 do danas, projekat 173012 Ministarstva prosvete i nauke. Autor je i koautor deset naučnih radova objavljenih u međunarodnim i domaćim časopisima, jednog poglavlja u monografiji od nacionalnog i jednog poglavlja u monografiji od međunarodnog značaja. Učestvovala je i na brojnim skupovima međunarodnog i domaćeg značaja.

Od 2006. godine je angažovana kao saradnik Istraživačke stanice Petnica, a od 2007. godine je angažovana u popularizaciji nauke, kroz brojne aktivnosti: u okviru Festivala nauke, Noći istraživača, i naučno-popularnih predavanja i tekstova.

Član je Društva genetičara Srbije, Srpskog biološkog društva, European Environmental Mutagen Society i European Society for Evolutionary Biology. 2012. godine je bila član sekretarijata simpozijuma “II Symposium of population and Evolutionary Genetics, 9-12 May 2012, Belgrade”, a 2014. godine je bila član sekretarijata kongresa “V Congress of the Serbian Genetic Society, 28.09. – 02.10. 2014, Kladovo, Serbia“.

Efekat
elektromagnetnog polja (50 Hz, 0,25 mT)
na komponente adaptivne vrednosti
i morfometriju krila
kod *Drosophila subobscura*
Collin, 1936 (Insecta, Diptera)

P R I L O Z I

Lista tabela i slika

Tabela 1.1. Veličine koje opisuju EMP i njihove jedinice po međunarodnom sistemu (SI) jedinica

Tabela 1.2. Vrednosti magnetnog polja za različite električne aparate u domaćinstvu

Tabela 4.1. Deskriptivna statistika za fekunditet (ukupan broj položenih jaja tokom devet dana) u tri sukcesivne generacije grupe jedinki *D. subobscura* gajenih u standardnim uslovima (kontrolna grupa) i grupe gajene u uslovima EMP ENF (0,25 mT, 50 Hz) (EMP grupa)

Tabela 4.2. Srednja vrednost i standardna greška ($\bar{X} \pm S.E.$) fekunditeta (broj jaja) pojedinačnih IF linija *D. subobscura*, u tri uzastopne generacije u kontrolnoj i EMP grupi

Tabela 4.3. Dvofaktorska ANOVA za fekunditet jedinki IF linija *D. subobscura* iz kontrolne i EMP grupe u prvoj generaciji

Tabela 4.4. Dvofaktorska ANOVA za fekunditet jedinki IF linija *D. subobscura* iz kontrolne i EMP grupe u drugoj generaciji

Tabela 4.5. Dvofaktorska ANOVA za fekunditet jedinki IF linija *D. subobscura* iz kontrolne i EMP grupe u trećoj generaciji

Tabela 4.6. Trofaktorska analiza varijanse za osobinu fekunditet jedinki *D. subobscura* iz kontrolne i EMP grupe iz sve tri sukcesivne generacije

Tabela 4.7. Deskriptivna statistika za stopu polaganja jaja (izraženo brojem dana) u tri uzastopne generacije grupe jedinki *D. subobscura* gajenih u standardnim uslovima (kontrola) i grupe gajene u uslovima EMP ENF (0,25 mT, 50 Hz) (EMP grupa).

Tabela 4.8. Srednje vrednosti \pm standardna greška ($\bar{X} \pm S.E.$, u danima) za stopu polaganja jaja (u danima) pojedinačnih IF linija *D. subobscura*, u tri uzastopne generacije u kontrolnoj i EMP eksperimentalnoj grupi

Tabela 4.9. Dvofaktorska ANOVA za stopu polaganja jaja jedinki IF linija *D. subobscura* iz kontrolne i EMP grupe u prvoj generaciji

Tabela 4.10. Dvofaktorska ANOVA za stopu polaganja jaja jedinki IF linija *D. subobscura* iz kontrolne i EMP grupe u drugoj generaciji

Tabela 4.11. Dvofaktorska ANOVA za stopu polaganja jaja jedinki IF linija *D. subobscura* iz kontrolne i EMP grupe u trećoj generaciji

Tabela 4.12. Trofaktorska analiza varijanse za osobinu stopa polaganja jaja jedinki *D. subobscura* iz kontrolne i EMP grupe iz sve tri generacije

Tabela 4.13. Pregled srednjih vrednosti i standardne greške, opsega zabeleženih vrednosti i koeficijenta varijacije za dužinu razvića (izražena brojem dana) jedinki *D. subobscura* iz kontrolne grupe i grupe čije jedinke su izlagane EMP (50 Hz, 0,25 mT) u analiziranim generacijama

Tabela 4.14. Srednja vrednost \pm standardna greška za dužinu razvića (u danima) po IF linijama *D. subobscura*, u kontroli i u eksperimentalnoj grupi izloženoj EMP, u tri sukcesivne generacije

Tabela 4.15. Dvofaktorska ANOVA za dužinu razvića jedinki IF linija *D. subobscura* iz kontrolne i EMP grupe u prvoj generaciji

Tabela 4.16. Dvofaktorska ANOVA za dužinu razvića jedinki IF linija *D. subobscura* iz kontrolne i EMP grupe u drugoj generaciji

Tabela 4.17. Dvofaktorska ANOVA za dužinu razvića jedinki IF linija *D. subobscura* iz kontrolne i EMP grupe u trećoj generaciji

Tabela 4.18. Rezultati trofaktorske analize varijanse za dužinu razvića od jaja do adulta jedinki IF linija *D. subobscura* iz kontrolne i EMP grupe tokom tri sukcesivne generacije

Tabela 4.19. Deskriptivna statistika za osobinu preživljavanje (u procentima) jedinki *D. subobscura* kroz prve tri sukcesivne generacije u obe eksperimentalne grupe

Tabela 4.20. Srednje vrednosti i standardne greške preživljavanja od jaja do adulta (u %), za IF linija *D. subobscura* iz kontrolne i EMP grupe, u tri sukcesivne generacije

Tabela 4.21. Rezultati dvofaktorske analize varijanse za preživljavanje od jaja do adulta, jedinki IF linija *D. subobscura* iz kontrolne i EMP grupe u prvoj generaciji

Tabela 4.22. Rezultati dvofaktorske analize varijanse za preživljavanje od jaja do adulta, jedinki IF linija *D. subobscura* iz kontrolne i EMP grupe u drugoj generaciji

Tabela 4.23. Rezultati dvofaktorske analize varijanse za preživljavanje od jaja do adulta jedinki IF linija *D. subobscura* iz kontrolne i EMP grupe u trećoj generaciji

Tabela 4.24. Rezultati trofaktorske analize varijanse za preživljavanje od jaja do adulta, jedinki IF linija *D. subobscura* iz kontrolne i EMP grupe tokom tri sukcesivne generacije

Tabela 4.25. Pregled deskriptivne statistike za osobinu dužinu života ženki (u danima) *D. subobscura* u prvoj i trećoj generaciji u kontrolnoj i EMP eksperimentalnoj grupi

Tabela 4.26. Srednja vrednost sa standardnom greškom za dužinu života (u danima) ženki iz IF linija *D. subobscura* u kontrolnoj i u EMP grupi, u prvoj i trećoj generaciji

Tabela 4.27. Dvofaktorska ANOVA za dužinu života ženki IF linija *D. subobscura* iz kontrolne i EMP grupe, u prvoj generaciji

Tabela 4.28. Dvofaktorska ANOVA za dužinu života ženki IF linija *D. subobscura* iz kontrolne i EMP grupe, u trećoj generaciji

Tabela 4.29. Trofaktorska analiza varijanse za dužinu života ženki IF linija *D. subobscura* iz kontrolne i EMP grupe, u prvoj i trećoj generaciji

Tabela 4.30. Vrednosti Pirsonovog koeficijenta za fenotipske korelacije između komponenti adaptivne vrednosti *D. subobscura* iz kontrolne grupe. (U tamno sivo obojenim poljima se nalaze statistički značajne korelacije, a u svetlo sivim su granične vrednosti statističke značajnosti)

Tabela 4.31. Vrednosti Pirsonovog koeficijenta za fenotipske korelacije između analiziranih komponenti adaptivne vrednosti *D. subobscura* gajenih u uslovima EMP od 50 Hz i 0.25 mT. (U tamno sivo obojenim poljima se nalaze statistički značajne korelacije, a u svetlo sivim su granične vrednosti statističke značajnosti)

Tabela 4.32. Zbirni prikaz rezultata dvofaktorske analize varijanse za efekte izvora varijabilnosti u odgovoru jedinki IF linija *D. subobscura* gajenih u EMP ENF (50 Hz, 0,25 mT) za komponente adaptivne vrednosti analizirane u I, II i III generaciji.

Tabele 4.33. Pregled broja analiziranih jedinki u geometrijsko-morfometrijskoj analizi veličine i oblika desnog krila po eksperimentalnim grupama, generaciji i polu

Tabela 4.34. Srednja vrednost i standardna greška ($\bar{X} \pm S.E.$), opseg zabeleženih vrednosti (min – max) i koeficijenti varijacije (CV) za veličinu krila jedinki *D. subobscura* oba pola iz kontrolne i EMP grupe (50 Hz, 0,25 mT) u prvoj i trećoj generaciji

Tabela 4.35. Srednja vrednost \pm standardna greška za veličinu krila oba pola po IF linijama *D. subobscura*, u kontrolnoj i u EMP grupi (50 Hz, 0,25 mT) u prvoj generaciji

Tabela 4.36. Srednja vrednost \pm standardna greška za veličinu krila oba pola po IF linijama *D. subobscura*, u kontrolnoj i u EMP grupi (50 Hz, 0,25 mT) u trećoj generaciji

Tabela 4.37. Trofaktorska analiza varijanse za veličinu krila jedinki oba pola *D. subobscura* iz kontrolne i EMP (50 Hz, 0,25 mT) grupe iz prve generacije

Tabela 4.38. Trofaktorska analiza varijanse za veličinu krila jedinki oba pola *D. subobscura* iz kontrolne i EMP (50 Hz, 0,25 mT) grupe iz treće generacije

Tabela 4.39. Četvorofaktorska analiza varijanse veličine krila jedinki oba pola *D. subobscura* kontrolne i EMP grupe (50 Hz i 0,25 mT) iz prve i treće generacije

Tabela 4.40. Trofaktorska MANOVA varijabli oblika krila jedinki oba pola *D. subobscura* iz kontrolne i EMP (50 Hz, 0,25 mT) grupe iz prve generacije

Tabela 4.41. Trofaktorska MANOVA varijabli oblika krila jedinki oba pola *D. subobscura* iz kontrolne i EMP (50 Hz, 0,25 mT) grupe iz treće generacije

Tabela 4.42. Četvorofaktorska MANOVA varijabli oblika krila jedinki oba pola *D. subobscura* iz kontrolne i EMP (50 Hz, 0,25 mT) grupe za prvu i treću generaciju

Slika 1.1. Dijagrami normi reakcija. Na y-osi su predstavljene odgovarajuće srednje vrednosti analizirane fenotipske osobine, dok su na x-osi predstavljene dve različite životne sredine (E1 i E2). Svaka linija predstavlja pojedinačni genotip, i povezuje vrednost osobine u jednoj sredini sa vrednošću te osobine u drugoj sredini, ukazujući na fenotip koji genotip daje u različitim sredinama.

Slika 1.2. Shematski prikaz odnosa između razvića, genotipa, životne sredine i evolucije, faktora koji su uključeni u formiranje fenotipa i njihove uloge u pravcima delovanja prirodne selekcije, odnosno evolutivnih promena u populaciji (preuzeto iz Scheiner, 1993)

Slika 1.3. Prostiranje elektromagnetnog talasa

Slika 1.4. Spektar elektromagnetnog zračenja

Slika 1.5. Primeri veštačkih izvora EMP u okviru određenog dela elektromagnetnog spektra, uključujući frekvenciju od 50 Hz u ENF delu spektra, koja se koristi za distribuciju električne energije, radiofrekvenciju - deo od 30 do 300 GHz koji se koristi za radio i TV emitovanje, i za mobilnu telefoniju, X-zračenje u medicinskoj dijagnostici, gama zračenje u terapiji kancera (<http://www.gsma.com/publicpolicy/wp-content/uploads/2012/04/electromagneticspectrum.gif>)

Slika 3.1. Prikaz sistema za generisanje homogenog EMP ENF od 50 Hz i 0,25 mT, unutar koga su u smeštene ženke *D. subobscura* koje su polagale jaja (I grupa flakona) tokom 24h, i jaja i prvi stupnjevi larvalnog razvića (II grupa flakona) izlagani narednih 24h.

Slika 3.2. Fotografija uvećanog desnog krila *D. subobscura* sa fiksiranim rasporedom 12 tačka korišćenih u geometrijsko - morfometrijskoj analizi krila

Slika 4.1. Srednje vrednosti fekunditeta (broj jaja) jedinki *D. subobscura* iz kontrolne i EMP eksperimentalne grupe kroz tri sukcesivne generacije

Slika 4.2. Srednje vrednosti za stopu polaganja jaja, jedinki *D. subobscura* za kontrolnu i EMP eksperimentalnu grupu, kroz tri sukcesivne generacije

Slika 4.3. Prosečne vrednosti dužine razvića jedinki *D. subobscura* iz obe eksperimentalne grupe (kontrola i EMP) u tri sukcesivne generacije

Slika 4.4. Srednje vrednosti preživljavanja od jaja do adulta jedinki *D. subobscura* iz kontrolne i EMP eksperimentalne grupe u tri sukcesivne generacije

Slika 4.5. Srednje vrednosti dužine života ženki *D. subobscura* u prvoj i trećoj generaciji u kontrolnoj i EMP grupi

Slika 4.6. Dijagram normi reakcija za fekunditet devet analiziranih IF linija *D. subobscura* u kontrolnim i u uslovima veštačkog EMP tokom tri generacije

Slika 4.7. Dijagram normi reakcija za stopu polaganja jaja devet analiziranih IF linija *D. subobscura* u kontrolnim i u uslovima veštačkog EMP tokom tri generacije

Slika 4.8. Dijagram normi reakcija za dužinu razvića devet analiziranih IF linija *D. subobscura* u kontrolnim i u uslovima veštačkog EMP tokom tri generacije

Slika 4.9. Dijagram normi reakcija za preživljanje devet analiziranih IF linija *D. subobscura* u kontrolnim i u uslovima veštačkog EMP tokom tri generacije

Slika 4.10. Dijagram normi reakcija za dužinu života ženki devet analiziranih IF linija *D. subobscura* u kontrolnim i u uslovima veštačkog EMP u I i III generaciji

Slika 4.11. Srednje vrednosti veličine krila jedinki *D. subobscura* u prvoj generaciji iz obe eksperimentalne grupe, razdvojenih po IF linijama i polovima

Slika 4.12. Srednje vrednosti veličine krila jedinki *D. subobscura* u trećoj generaciji iz obe eksperimentalne grupe, za svaku IF liniju i pol posebno

Slika 4.13. Srednje vrednosti veličine krila ženki i mužjaka *D. subobscura* iz kontrolne i EMP grupe u prvoj i trećoj generaciji eksperimenta

Slika 4.14. Grafički prikaz analize glavnih komponenti (PCA) krila jedinki *D. subobscura* iz kontrolne i EMP grupe iz prve eksperimentalne generacije

Slika 4.15. Grafički prikaz analize glavnih komponenti (PCA) krila jedinki *D. subobscura* iz kontrolne i EMP grupe iz treće eksperimentalne generacije

Прилог 1.**Изјава о ауторству**Потписани-а Александра Патенковићброј уписа CG060086

Изјављујем

да је докторска дисертација под насловом

Ефекат електромагнетног поља (50 Hz, 0,25 mT) на компоненте адаптивне вредности и морфометрију крила код *Drosophila subobscura* Collin, 1936 (Insecta, Diptera)

- 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, 28.03.2016.

Прилог 2.

**Изјава о истоветности штампане и електронске верзије
докторског рада**Име и презиме аутора Александра ПатенковићБрој уписа CG060086Студијски програм Генетика популација и заштита срединеНаслов рада Ефекат електромагнетног поља (50 Hz, 0,25 mT)
на компоненте адаптивне вредности и морфометрију крила код
Drosophila subobscura Collin, 1936 (Insecta, Diptera)Ментор др Марина Стаменковић – Радак
редовни професор Биолошког факултета Универзитета у БеоградуПотписани Александра Патенковић

изјављујем да је штампана верзија мог докторског рада истоветна електронској верзији коју сам предао/ла 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, 28.03.2016.

Прилог 3.**Изјава о коришћењу**

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

Ефекат електромагнетног поља (50 Hz, 0,25 mT) на компоненте адаптивне вредности и морфометрију крила код *Drosophila subobscura* Collin, 1936 (Insecta, Diptera

која је моје ауторско дело.

Дисертацију са свим прилозима предао/ла 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/ла.

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, _____ 28.03.2016. _____



1. Ауторство - Дозвољавате 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. Дозвољавате 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. Дозвољавате 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. Дозвољавате 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. Дозвољавате 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. Дозвољавате 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.