

UNIVERZITET U BEOGRADU

BIOLOŠKI FAKULTET

Dejan Lj. Mirčić

Uticaj kadmijuma na sistem
antioksidativne zaštite i varijabilnost
komponenti adaptivne vrednosti gubara
Lymantria dispar L.

DOKTORSKA DISERTACIJA

Beograd, 2013.

UNIVERSITY OF BELGRADE
FACULTY OF BIOLOGY

Dejan Lj. Mirčić

Cadmium effects on antioxidative
defense system and on variability of
fitness-related traits in *Lymantria dispar*
L. gipsy moth

DOCTORAL DISSERTATION

Belgrade 2013.

Mentori:

Naučni savetnik Dr Jelica Lazarević, Univerzitet u Beogradu, Institut za biološka istraživanja „Siniša Stanković“

Docent Dr Biljana Stojković, Univerzitet u Beogradu, Biološki fakultet

Član komisije:

Naučni savetnik Dr Duško Blagojević, Univerzitet u Beogradu, Institut za biološka istraživanja „Siniša Stanković“

Datum odbrane: _____

Zahvalnica

Doktorska disertacija je urađena u Odeljenju za fiziologiju i biohemiju insekata Instituta za biološka istraživanja „Siniša Stanković“ Univerziteta u Beogradu, u okviru prethodnog projekta 143033 “Fiziološki i evolucionni aspekti stresnog odgovora u prirodnim i laboratorijskim populacijama“, i sadašnjeg projekta 173027 „Uticaj magnetnih polja i drugih sredinskih stresora na fiziološke odgovore i ponašanje različitih vrsta“.

Zahvaljujem se mentorkama, naučnoj savetnici dr Jelici Lazarević i docentkinji dr Biljani Stojković, kao i članu komisije naučnom savetniku dr Dušku Blagojeviću, na korisnim sugestijama i pomoći tokom izrade i pisanja doktorske disertacije.

Veliko hvala koleginicama i kolegama Instituta za biološka istraživanja „Siniša Stanković“ Univerziteta u Beogradu a posebno šefici Odeljenja za biohemiju i fiziologiju insekata dr Veri Nenadović, šefici podprojekta dr Vesni Perić Mataruga, kao i članovima Odeljenja za fiziologiju i biohemiju insekata dr Mileni Vlahović, dr Larisi Ilijin, dr Mariji Mrdaković, mr Dajani Todorović, Dragani Matić, Anji Gavrilović i dr Zlatku Proliću na kolegijalnosti i korisnim savetima!

Zahvalnost takođe dugujem studentima i kolegama Državnog Univerziteta u Novom Pazaru, a posebno doc. dr Milanki Radulović, i prof. dr Izetu Eminoviću na neprestanoj podršci i razumevanju!

Na velikoj pomoći i podršci zahvaljujem se i svojim prijateljima Snežani, Ljiljani, Mirzeti, Aleksandru, Dragoslavu, Daliboru, Irfanu, Milošu i mnogim drugima, koji su se iskreno radovali svakom mom koraku napred kao što to pravi prijatelji i čine.

Na kraju, mojoj porodici Dariji, Tadiji, Gorjani, Veri, Ljubomiru i Nenadu beskrajno hvala na svemu što su učinili i što čine za mene.

Vaš

Dejan Mirčić

Podaci o doktorskoj disertaciji:

Naslov: Uticaj kadmijuma na sistem antioksidativne zaštite i komponente adaptivne vrednosti gubara *Lymantria dispar* L.

Rezime:

Kadmijum je jedan od najpotentnijih polutanata koji dospeva u životnu sredinu, iz prirodnih i/ili antropogenih izvora, i ulazi u žive sisteme preko lanaca ishrane, ostvarujući svoj toksični efekat na svim nivoima biološke organizacije. U ovom radu ispitivan je uticaj kadmijuma u koncentracijama od 10 (C1), 30 (C2) i 50 $\mu\text{g Cd/g}$ (C3) suve hrane na komponente adaptivne vrednosti, heritabilnost u širem smislu, genetičke i fenotipske korelacije, fenotipsku plastičnost, cenu plastičnosti, i na obim i pravce delovanja selekcije, kao i uticaj 50 $\mu\text{g Cd/g}$ suve hrane na sistem antioksidativne zaštite kod gubara tokom larvenog razvića, razvića lutke i adultnog perioda. Gubar, *Lymantria dispar* L., je polifagna, invazivna vrsta koja zbog svog štetnog delovanja na šumske ekosisteme spada u grupu organizama od posebnog interesa za istraživanja fizioloških i evoluciono-genetičkih odgovora koji utiču na promenu brojnosti populacije ove vrste.

Kadmijum dovodi do produžetka razvića kod mlađih larvenih stupnjeva, do smanjenja mase lutke kod oba pola i skraćivanja razvića lutke i života adultnih ženki. Polovi se značajno razlikuju u trajanju pojedinih faza larvenog razvića, naročito u C3 grupi. Za većinu ispitivanih osobina postoji značajan nivo heritabilnosti u širem smislu. Pri tome, prisustvo kadmijuma u C3 grupi dovodi do značajnog povećanja heritabilnosti trajanja razvića larvi četvrtog stupnja i kod mužjaka za trajanje larvenog razvića do 5. stupnja u odnosu na kontrolu i u odnosu na ženke.

Značajna varijabilnost fenotipske plastičnosti postoji kod svih mlađih larvenih stupnjeva u svim grupama, i kod oba pola za pojedine osobine u okviru različitih sredina ukazujući na potencijal evolucije adaptivnog plastičnog

odgovora u stresnim uslovima sredine. Indeksi fenotipske plastičnosti po Čeplikovoj i Lijovoj metodi pokazuju značajne vrednosti kod većine osobina, što upućuje na moguć pravac odgovora familija za određene osobine na prisustvo kadmijuma. Tokom razvića uočene su i značajno veće vrednosti heritabilnosti plastičnosti u odnosu na heritabilnost svojstva za pojedine osobine što ukazuje da je u heterogenoj sredini, koja je karakteristična za polifagne insekte, verovatnija evolucija generalista.

Selekciona analiza je pokazala da postoji značajan potencijal populacija da odgovore plastično na stresne uslove životne sredine. Selekcija favorizuje u C3 grupi mužjake koji imaju kraće larveno razviće, a u kontrolnoj, C1 i C2 grupi ženke koje imaju duže razviće larve i lutke. Krupnije ženke su u selektivnoj prednosti u stresnoj sredini, a mužjaci u optimalnim uslovima.

Većina fenotipskih i genetičkih korelacija između ispitivanih osobina je bila pozitivna, pri čemu se broj korelisanih osobina smanjivao sa povećanjem koncentracije kadmijuma u ishrani. Većina genetičkih korelacija za određene osobine u okviru različitih sredina je bila takođe značajna i pozitivna, što je karakteristično za generaliste.

Aktivnost superoksid dismutaze, katalaze, askorbat peroksidaze, glutathion S transferaze, glutathion reduktaze i količina ukupnog glutathiona i slobodnih SH grupa tokom razvića gubara su pokazale varijabilnost u aktivnosti i količini zavisno od stupnja razvića, ukazujući na postojanje oksidativnog stresa nastalog prisustvom kadmijuma.

Ključne reči: Kadmijum, *Lymantria dispar* L., komponente adaptivne vrednosti, fenotipska plastičnost, antioksidativna odbrana.

Naučna oblast: Biologija

Uža naučna oblast: Kvantitativna genetika i fiziologija

UDK broj:

Doctoral Dissertation Information:

Title: Cadmium effects on antioxidative defense system and on variability of fitness-related traits in *Lymantria dispar* L. gypsy moth

Resume:

Cadmium is one of the most potent pollutants which enters the environment through natural and/or anthropological sources and into the living organisms through the food chain thus realizing its toxic effect in all levels of biological organization. This work examines cadmium effects at 10 (C1), 30 (C2) and 50 $\mu\text{g Cd/g}$ (C3) concentrations of dry food on the fitness-related traits, broad-sense heritability, genetic and phenotypic correlations, phenotypic plasticity, cost of plasticity and on direction of selection force. Also, this work examines the effects of 50 $\mu\text{g Cd/g}$ of dry food on antioxidative defense system in gypsy moth during larval development, pupal development and the adult period. *Lymantria dispar* L. gypsy moth is a polyphagous, invasive species which, due to its detrimental influence on forest ecosystems, is considered an organism of particular interest for researches of physiological and evolutionary-genetic responses which can influence population dynamics of this species.

Cadmium prolongs the development duration in early larval instars, it also reduces larval mass in both genders and larval development and life expectancy in adult females. Duration of certain larval instars is significantly different between genders, especially in C3 group. Most of the examined traits showed a significant level of broad-sense heritability. Thus, the presence of cadmium in C3 group significantly increases the heritability of the fourth instar duration and the heritability of development duration of male larvae from hatching until the 5th instar in comparison with control and female larvae, respectively.

Significant variability of phenotypic plasticity is present in all of the early instars regardless of the group, as well as in both genders for certain traits depending on different environments which points to the potential of the evolution of adaptive plastic response in stressful environments. An index of

phenotypic plasticity according to Cheplik and Li's method shows significant values for most of the traits pointing to the possible direction of the families' response for certain traits in the presence of cadmium. Significantly higher values of heritability for plasticity compared to heritability of the traits indicate that in heterogeneous environment, which is common for polyphagous insects, evolution of generalist strategy is expected.

Selection analysis has proved that population has significant potential for plastic response to stressful environment. When it comes to C3 group, the selection favours male individuals characterized by shorter larval development, while the female individuals which have longer larval and pupal development are favoured in control group, C1 and C2 group. Larger females have selective advantage in stressful environments, while large male individuals have the advantage in optimal conditions.

Most of the phenotypic and genetic correlations among the analyzed traits were positive ones, whereas the number of correlated traits tends to decrease along with the increase of Cadmium in diets. Most of the genetic correlations between traits within different environments were also significant and positive, which is characteristic of generalists.

The activities of superoxide dismutase, catalase, ascorbat peroxidase, glutathione-S-transferase, glutathione reductase, total glutathione amount and the amount of free SH groups during gypsy moth development showed variability in the activity and the amount depending on the instar pointing to the existence of the oxidative stress incurred by the presence of cadmium.

Key words: Cadmium, *Lymantria dispar* L., fitness traits, phenotypic plasticity, antioxidative defense.

Scientific field: Biology

Narrow scientific field: Quantitative genetics and physiology

UDK number:

SADRŽAJ

1. <u>UVOD</u>	1
1.1. Fizičko- hemijske osobine, prirodni i antropogeni izvori kadmijuma	2
1.2. Efekti kadmijuma na ćelijskom nivou	4
1.2.1. Promene na molekularnom i biohemijskom nivou kao posledica toksičnog delovanja kadmijuma	4
1.2.2. Uticaj kadmijuma na sistem antioksidativne zaštite	6
1.2.3. Toksični efekti kadmijuma na ćelijskom nivou	11
1.3. Uticaj kadmijuma na komponente adaptivne vrednosti	13
1.4. Evoluciono-genetičke posledice prisustva kadmijuma u životnoj sredini	15
2. <u>CILJEVI</u>	25
3. <u>MATERIJAL I METODE</u>	27
3.1. Biologija vrste - <i>Lymantria dispar</i>	27
3.2. Eksperimentalne grupe i uslovi gajenja	29
3.3. Biohemijske metode	32
3.3.1. Priprema homogenata	32
3.3.2. Određivanje koncentracije proteina u uzorcima	32
3.3.3. Određivanje aktivnosti komponenti antioksidativne zaštite	32
3.3.3.1. <i>Određivanje aktivnosti superoksid dismutase</i>	32
3.3.3.2. <i>Određivanje aktivnosti katalaze</i>	33
3.3.3.3. <i>Određivanje aktivnosti askorbat peroksidaze</i>	33
3.3.3.4. <i>Određivanje količine ukupnog glutationa</i>	33
3.3.3.5. <i>Određivanje aktivnosti glutation S transferaze</i>	34
3.3.3.6. <i>Određivanje aktivnosti glutation reduktaze</i>	34
3.3.3.7. <i>Određivanje aktivnosti slobodnih SH grupa</i>	34
3.3.4. Statističke metode	34

4.	<u>REZULTATI</u>	38
4.1.	Uticaj kadmijuma na komponente adaptivne vrednosti	38
4.2.	Heritabilnost u širem smislu	46
4.3.	Plastičnost	50
4.3.1.	Varijabilnost fenotipske plastičnosti	50
4.3.2.	Plastičnost, heritabilnost plastičnosti i heritabilnost svojstva	57
4.3.3.	Indeks fenotipske plastičnosti	61
4.4.	Fenotipske i genetičke korelacije	70
4.5.	Cena fenotipske plastičnosti i selekciona analiza	79
4.6.	Uticaj kadmijuma na sistem antioksidativne zaštite	85
5.	<u>DISKUSIJA</u>	107
5.1.	Uticaj kadmijuma na komponente adaptivne vrednosti	107
5.2.	Heritabilnost u širem smislu	112
5.3.	Plastičnost	116
5.3.1.	Varijabilnost fenotipske plastičnosti	116
5.3.2.	Plastičnost, heritabilnost plastičnosti i heritabilnost svojstva	121
5.3.3.	Indeks fenotipske plastičnosti	124
5.4.	Fenotipske i genetičke korelacije	128
5.5.	Cena fenotipske plastičnosti i selekciona analiza	135
5.6.	Uticaj kadmijuma na sistem antioksidativne zaštite	140
6.	<u>ZAKLJUČCI</u>	147
7.	<u>LITERATURA</u>	151
8.	<u>BIOGRAFIJA AUTORA</u>	

9. PRILOZI DOKTORSKOJ DISERTACIJI

- 9.1. Izjava o autorstvu
- 9.2. Izjava o istovetnosti štampane i elektronske verzije doktorskog rada
- 9.3. Izjava o korišćenju
- 9.4. Objavljeni naučni radovi proistekli iz doktorske disertacije

1. UVOD

Naša životna sredina je neprestano suočena sa kontinuiranim povećanjem koncentracije različitih vrsta polutanata koji u nju dospevaju iz prirodnih i antropogenih izvora. Deo polutanata koji dospeva iz prirodnih izvora je obično izbalansiran sa kapacitetom ekosistema da neutrališe štetno dejstvo toksičnih materija i održi u ravnoteži funkcionisanje čitavog sistema. Međutim, deo polutanata koji dospeva u životnu sredinu antropogenim delovanjem predstavlja višak, koji dovodi do disbalansa i poremećaja u funkcionisanju ekosistema preko negativnog delovanja na biljke i životinje koje su njegov sastavni deo. Osim toga, preko lanaca ishrane, polutanti prisutni najvećim delom u zemljištu a zatim i u atmosferi, dospevaju preko biljaka i životinja i do samog čoveka postajući tako ne samo problem u zaštiti životne sredine već i veliki zdravstveni problem.

U velikoj raznovrsnosti fizičkih i hemijskih agenasa, čije se delovanje na životnu sredinu danas intenzivno proučava, posebno značajno mesto zauzimaju teški metali. Veliki interes za proučavanjem delovanja teških metala na organizme pre svega je zasnovan na njihovoj sve većoj upotrebi u industrijskoj proizvodnji i posledičnim akumuliranjem nus-proizvoda industrijske proizvodnje u životnoj sredini. Drugi važan razlog intenzivnog proučavanja dejstva teških metala nalazimo u činjenici da oni imaju izuzetno toksično dejstvo na akvatične i terestrične organizme, a samim tim i na čoveka (Maley, 1996).

Jedan od najčešće ispitivanih teških metala svakako je i kadmijum. Razlozi za tako veliki istraživački interes toksičnog dejstva kadmijuma su brojni, ali se mogu svesti na činjenice da kadmijum u svojoj metilovanoj formi pokazuje veći stepen toksičnosti u odnosu na živu, da u vodenim ekosistemima njegov štetni uticaj prevazilazi štetno dejstvo cinka, bakra i olova, kao i da u odnosu na bakar i cink duže opstaje u atmosferi i transportuje se na veće udaljenosti kretanjem vazdušnih masa (Maley, 1996). Smatra se, takođe, da se u odnosu na globalne prirodne procese kojima kadmijum dospeva u atmosferu (procenjena količina kadmijuma je 1300t godišnje), antropogenom aktivnošću ta količina

uvećava 3 do 10 puta, odnosno, na 3100 do 12000t po godini (Yeats and Bewers, 1987). Globalno oslobađanje kadmijuma u zemljište, računajući tu i atomsfersku depoziciju, procenjuje se na 5600 do 38000 tona godišnje (Nriagu and Pacyna, 1988). Otuda ne čudi interes istraživača za ispitivanjem toksičnog dejstva kadmijuma kako na žive organizme tako i na životnu sredinu generalno.

1.1. Fizičko- hemijske osobine, prirodni i antropogeni izvori kadmijuma

Kadmijum (Cd, Z 48, Ar 112.40) je prelazni metal plavičastobeje boje, koji pripada, zajedno sa cinkom i živom, IIb grupi periodnog sistema elemenata. U prirodi je široko rasprostranjen u zemljinoj kori (0.1mg/kg), vodi, uglju, nafti i morskim fosfatnim sedimentnim stenama (15mg/kg) (GESAMP, 1984). Klimatski uslovi i erozija zemljišta doprinose transportu kadmijuma, putem rečnih tokova, do morskih ekosistema u kojima se odvija najveći deo kadmijumovog ciklusa kruženja. U prirodi, kadmijum najčešće ulazi u sastav ruda cinka, i nešto manje olova i bakra, dok su nalazi čistog kadmijuma retki. U atmosferu dospeva vulkanskim aktivnostima i njegova globalna emisija, putem vulkanskih erupcija, procenjuje se na 100 do 500 tona godišnje (Nriagu, 1989).

Kadmijum može da gradi brojne soli. Njegova mobilnost u životnoj sredini i efekti na ekosisteme pre svega su posledica velike zastupljenosti njegovih soli u prirodi. Kadmijum na vazduhu brzo oksidiše i formira kadmijum oksid. U prisustvu gasova, kao što su ugljen dioksid, vodena para, sumpor dioksid, sumpor trioksid ili hidrohlorid, kadmijum reaguje i gradi kadmijum karbonat, hidroksid, sulfit, sulfat ili hlorid. Ove soli se mogu formirati u velikim količinama i perzistirati u životnoj sredini. Neke kadmijumove soli (sulfidi, karbonati, oksidi) su praktično nerastvorne u vodi, ali u prirodi mogu biti konvertovane u soli koje su rastvorne u vodi dejstvom kiseonika ili određenih kiselina, dok su sulfati i nitrati rastvorni u vodi. U prirodnim uslovima nisu zabeležena organska jedinjenja koja sadrže kadmijum. Ipak, kadmijum može da se vezuje za proteine i druge organske molekule i gradi soli sa organskim kiselinama.

Da se koncentracija kadmijuma bitno razlikuje između područja koja su zahvaćena antropogenom aktivnošću u odnosu na prirodna, svedoče i podaci da je njegova koncentracija u morskoj vodi oko 0.1µg/l (Korte, 1983), u slatkoj vodi između 1 i 13.5 ng/l (Shiller and Boyle, 1987), u udaljenim, nenaseljenim područjima, koncentracija je obično manja od 1 ng/m³, a u područjima za koje nije procenjen obim ukupnog zagađenja, procenjena koncentracija kadmijuma u zemljištu kreće se od 0.2 do 0.4 mg/kg. Nasuprot tome, na mestima intenzivnog zagađenja, koncentracija kadmijuma iznosi čak i do 160 mg po kilogramu zemljišta (Korte, 1983).

Kadmijum ima široku primenu u industriji. Koristi se za zaštitno oblaganje čelika, stabilizaciju PVC materijala, kao pigment za plastiku i staklo, materijal za elektrode u nikal-kadmijumskim baterijama i kao važna komponenta različitih legura (Wilson, 1988). Industrijskom eksploatacijom kadmijuma, njegov udeo u atmosferi, vodi i zemljištu povećava se i negativno odražava na prirodnu dinamiku životne sredine.

Velika količina čvrstog otpada u okolini gradova takođe povećava udeo kadmijuma u životnoj sredini i predstavlja globalni problem (Hutton and Symon, 1986). Izvori kadmijuma uključuju i pepeo iz prerade fosilnog goriva, otpad iz industrije cementa, gradski otpad i kanalizacioni mulj. Ipak, najveći značaj za zaštitu životne sredine pridaje se čvrstom otpadu koji nastaje u industrijama obojene metalurgije i u fabrikama koje se bave proizvodnjom artikala koji sadrže kadmijum, kao i ostataka sagorevanja otpada i fosilnih goriva. Ove tri poslednje kategorije u najvećoj meri doprinose povećanju emisije kadmijuma u životnu sredinu i predstavljaju glavni problem u kontroli i ograničavanju oslobađanja kadmijuma u životnu sredinu.

Primena fosfatnih đubriva u agronomiji je takođe primer direktnog povećavanja količine kadmijuma i to na obradivim površinama. Količina kadmijuma u fosfatnim đubrivima varira i zavisi od porekla fosfata. Uprkos relativno malom udelu kadmijuma u fosfatnim đubrivima, njihova dugotrajna

kontinuirana aplikacija dovodi do povećavanja koncentracije kadmijuma i u obradivom zemljištu (Andersson and Hahlin, 1981).

1.2. Efekti kadmijuma na ćelijskom nivou

1.2.1. Promene na molekularnom i biohemijskom nivou kao posledica toksičnog delovanja kadmijuma

Toksični efekti kadmijuma na žive organizme, i njime prouzrokovani stres, mogu se pratiti na svim nivoima biološke organizacije, a to važi i za mehanizme odbrane koji su njegovim prisustvom aktivirani. Međutim, specifični mehanizam delovanja na molekularnom nivou još uvek nije do kraja rasvetljen. Na molekularnom i biohemijskom nivou efekti kadmijuma uključuju indirektno generisanje reaktivnih vrsta kiseonika koji dovode do oštećenja DNK, promene u ekspresiji gena uključenih u reparaciju DNK molekula i promenu u biohemijskom sastavu ćelije. Poznato je da kadmijum ulazi u ćeliju, da se vezuje za veliki broj molekula i da indirektno indukuje oksidativni stres. Kadmijum ne generiše slobodne radikale ali povećava nivo lipidne peroksidacije u tkivima ubrzo nakon izlaganja (Ochi et al., 1987; Muller, 1986).

Hronično prisustvo kadmijuma u hrani kod gubara *Lymantria dispar* dovodi do redukcije nivoa trehaloze, ukupnih proteina i lipida u hemolimfi, ali i u čitavom organizmu, dok se istovremeno beleži povećanje koncentracije glikogena, glukoze, ukupnih slobodnih aminokiselina i ukupnih proteina (Ortel, 1996; Ortel, 1995). Do sličnih rezultata došao je i Shin sa saradnicima (2001) dodajući kadmijum hlorid u hranu *Galleria mellonella*, nakon čega je zabeleženo značajno opadanje ukupnog sadržaja lipida kako kod larvi tako i kod lutki. Sadržaj palmitinske, oleinske i linoleinske kiseline se povećao dok je nivo stearinske kiseline bio smanjen u tretiranim grupama. Tretiranje gubara kadmijumom u koncentraciji od 10 i 30 µg/g suve podloge dovodi i do značajnih promena u aktivnosti alkalne fosfataze, promena u nivou njenih izozimskih formi i povećanja variranja u plastičnosti njene aktivnosti (Vlahović et al., 2009). Kod

larvi *Boettcherisca peregrina* ukupan sadržaj solubilnih proteina i ukupnih lipida u hemolimfi se smanjio nakon 120 sati izlaganja kadmijumu, nasuprot koncentraciji šećera koja je porasla (Wu i sar., 2006). Osim toga, kadmijum modulira gensku ekspresiju i signalnu transdukciju, redukuje aktivnost proteina uključenih u antioksidativnu odbranu, a takođe ometa i DNK reparaciju (Bertin and Averbeck, 2006).

Posledično, neposredno nakon izlaganja ćelija ili celih životinja kadmijumu, dolazi do indukcije ekspresije nekoliko gena odgovornih za odbranu od stresa, pre svega gena za sintezu metalotioneina (Vasconcelos et al., 2002; Ren et al., 2003), HS proteina (engl. *Heat Shock Proteins*) (Goering et al., 1993) ili gena koji su uključeni u odbranu od oksidativnog stresa i sintezu glutaciona (Singhal et al., 1987).

Metalotioneini pokazuju visok afinitet za vezivanje jona teških metala kao što su cink, bakar i kadmijum i predstavljaju važne komponente prve linije odbrane organizama od toksičnog dejstva teških metala. Samo prisustvo metala u organizmu dovodi do pojačane ekspresije gena za metalotioneine i njihove obilnije produkcije. Tako su kod larvi *Musca domestica*, koje su bile izložene delovanju kadmijuma, otkrivena dva metalotioneina različite molekulske mase, visoke temperaturne stabilnosti i velike sličnosti sa sisarskim metalotioneinima (Niu i sar., 2000). Kod vrste *Orchesella cincta* dodavanje različitih koncentracija kadmijuma takođe je dovelo do povećane ekspresije gena za metalotioneine (Roelofs et al., 2007; Sternborg and Roelofs, 2003). Ovi podaci ukazuju na činjenicu da je kadmijum potentniji induktor sinteze metalotioneina u odnosu na druge metale kao što su cink, olovo, živa i arsen, te da metalotioneini imaju značajnu ulogu u ćelijskoj odbrani od stresa izazvanog prisustvom kadmijuma (Park i sar., 2001).

U ćelijama, kadmijum može indukovati nastanak denaturisanih ili abnormalnih proteina preko reakcije sa slobodnim tiolnim grupama ili preko supstitucije cinka u proteinima, što je signal za produkciju HS proteina (Parsell, 1994). Većina HS proteina funkcioniše u vidu molekulskih šaperona koji pomažu

organizmima da se izbore sa stresom, nezavisno od toga da li je izazvan spoljašnjim ili unutrašnjim faktorima. Utvrđeno je da izlaganje ćelija ili jedinki pacova kadmijumu rezultira u značajnoj indukciji gena za HSP10, HSP32, HSP40, HSP60, HSP70, HSP89, HSP90 i HSP110 (Waisberg et al., 2003). Warchalowska-Sliva i saradnici (2005), upoređujući jedinke pravokrilca *Tetrix tenuicornis* sa kontrolnih i područja zagađenih teškim metalima, nalaze povećanje koncentracije HS proteina, Hsp72 i Hsp70, na istom području godinu dana kasnije. Generalno, postoje dokazi da predstavnici Hsp70 familije, ali i drugi molekularni šaperoni, igraju značajnu ulogu u ćelijskoj odbrani od stresa (Sørensen et al., 2003, Korsloot et al., 2004).

1.2.2. Uticaj kadmijuma na sistem antioksidativne zaštite

Brojna prethodna istraživanja su potvrdila da tretman ćelija kadmijumom rezultira i u specifičnim promenama u mitohondrijama (Early et al., 1992; Toury et al., 1985; Dudley et al., 1984; Koizumi et al., 1994) koje dovode do njihove disfunkcije (Tang et al., 2001). Wang i saradnici (2004) su pokazali da kadmijum utiče na inhibiciju elektron-transportnog lanca u mitohondrijama i da tako stimuliše produkciju reaktivnih vrsta kiseonika u jetri, mozgu i srcu pacova. Ovi podaci su važni zato što se u mitohondrijama odvija najveći deo oksidativnog metabolizma. I u stanju homeostaze mitohondrije su glavni izvori reaktivnih vrsta kiseonika u ćelijama, koje opet dovode do nastanka oksidativnog stresa.

Reaktivne vrste kiseonika mogu se podeliti na slobodne radikale i reaktivne neradikalske agense, odnosno elemente i jedinjenja sa jednim ili više nesparenih elektrona u spoljašnjoj orbitali (slobodni radikali), i elemente i jedinjenja bez nesparenih elektrona u spoljašnjoj orbitali (reaktivni neradikalni agensi). U radikale se ubrajaju superoksid radikal ($O^{\circ-}_2$), hidroksil radikal (OH°), peroksil (RO_2), alkoksil (RO) i hidroksiperoksil (HO_2) dok u neradikale spadaju hidrogen peroksid (H_2O_2), hipohlorna kiselina ($HOCl$), ozon (O_3) i singlet kiseonik (1O_2). Važna fiziološka funkcija slobodnih radikala i njihovih derivata

ogleda se u regulaciji vaskularnog pritiska, uticaju na pritisak kiseonika i regulaciji funkcija koje su kontrolisane preko dostupne koncentracije kiseonika, pospešivanju signalne transdukcije od strane različitih membranskih receptora uključujući i antigenske receptore limfocita, ali i odgovorima na oksidativni stres koji će, putem mehanizama zaštite od oksidativnih oštećenja, pokušavati da održe redoks homeostazu (Droge, 2002). Ono što je zajedničko svim reaktivnim vrstama kiseonika jeste da u prisustvu prooksidanata dolazi do njihove pojačane produkcije i nastanka oksidativnog stresa. Oksidativni stres se može definisati kao ozbiljno narušeni balans između produkcije reaktivnih vrsta kiseonika i azota sa jedne strane, i antioksidativne zaštite sa druge strane (Halliwell and Gutteridge, 1999). Sies (1991) definiše oksidativni stres kao poremećaj prooksidaciono-antioksidacione ravnoteže u pravcu prve, što dovodi do potencijalnih oštećenja.

Oksidativni stres, koji nastaje kao posledica prisustva povećane koncentracije teških metala u organizmu, dovodi do aktiviranja antioksidativnog sistema zaštite. Primarna redukcija kiseonika do molekula vode uz pomoć četiri elektrona i citohrom-oksidaze bez stvaranja slobodnih kiseoničnih vrsta kao nusprodukata, deo je regularnog ćelijskog metabolizma. Antioksidativna zaštita obuhvata enzime kao što su superoksid dismutaza (SOD), katalaza (CAT), askorbat peroksidaza (APx), glutation peroksidaza (GSH-Px), glutation-S-transferaza (GST), i glutation reduktaza (GR). Ulogu u antioksidativnoj zaštiti imaju i mali molekuli kao što su vitamini C, A, E, glutation (GSH), koenzim Q₁₀, cistein, glukoza, bilirubin, albumin, transferin i ceruloplazmin (Franco and Cidlowski, 2009).

Superoksid dismutaza je metaloprotein koji katalizuje konverziju superoksid anjon radikala u molekularni kiseonik i vodonik peroksid (Fridovich, 1995). Postoje četiri vrste SODa koje sadrže gvožđe, mangan, bakar i cink u aktivnom centru i ekstracelularna SOD. Katalaza je tetramerni hemoprotein koji se sastoji od četiri identične subjednice i hematin (hem – Fe⁺³ protoporfirin) grupe vezane u aktivnom centru, i katalizuje razgradnju vodonik peroksida do vode i molekularnog kiseonika (Halliwell and Gutteridge, 1999).

Glutation peroksidaza katalizuje glutacion-zavisnu redukciju vodonik peroksida u vodu i organskih hidropoksida u odgovarajuće alkohole. Utvrđeno je da postoji više vrsta ovog enzima koji je prisutan u svim ćelijama kičmenjaka dok ga kod insekata nema (Pritstos et al., 1988). Glutation-S-transferaza je dimer, multifunkcionalni enzim široko rasprostranjen u citosolu ćelija različitih organizama. Glutation-S-transferaza katalizuje reakcije konjugacije redukovanog glutaciona sa različitim elektrofilima (Beutler and Eaton, 1992), deluje kao vezujući protein za različite supstance olakšavajući njihov transport (Listowski, 1993) i kovalentno vezuje neke kancerogene, pesticide i potencijalno toksične supstance (Bolt, 1994, 1996). Glutation reduktaza je dimer sastavljen od dve proteinske subjediniće, od kojih svaka sadrži po jedan molekul FADa u aktivnom centru. Glutation reduktaza katalizuje reakciju redukcije oksidovanog glutaciona u redukovanu glutacionu, uz učešće NADPH kao redukujućeg kofaktora (Heffner i Repine, 1989).

S obzirom da insekti imaju nedostatak Selen-zavisne glutacion peroksidaze i da katalaza ima nizak afinitet za vodonik peroksid, kod njih askorbat peroksidaza ima značajnu ulogu u uklanjanju vodonik peroksida (Mathews et al., 1997). Naime, askorbat peroksidaza katalizuje oksidaciju askorbinske kiseline uz redukciju vodonik peroksida do vode. Ova reakcija predstavlja početak askorbinskog ciklusa koji se nastavlja regeneracijom oksidovanog askorbata, najpre njegovom transformacijom u monodehidroaskorbat uz pomoć monodehidroaskorbat reduktaze, a zatim u dehidroaskorbat delovanjem dehidroaskorbat reduktaze. U ovom delu ciklusa dolazi do preklapanja askorbinskog i glutacionskog ciklusa jer se redukcija dehidroaskorbata u askorbat vrši o trošku glutaciona koji prelazi u oksidovanu formu. Oksidovani glutacion se vraća u svoju redukovanu formu delovanjem glutacion reduktaze uz pomoć NADPH kao donora elektrona. Na ovaj način, zaokruživanjem ciklusa sprečava se trošenje askorbata i glutaciona, a protok elektrona ide od NADPH do vodonik peroksida (Noctor and Foyer, 1998).

Neenzimske komponente antioksidativnog sistema zaštite dele se na liposolubilne i hidrosolubilne, a jedna od najznačajnijih hidrosolubilnih komponenti je svakako glutathion. Glutathion je tripeptid koji se u ćelijama nalazi u milimolarnim koncentracijama kao tiol u redukovanom stanju, i, u manjoj količini, kao disulfid u oksidovanom obliku. Glutathion je neophodan u sintezi i degradaciji proteina, formiranju dezoksiribonukleotida, regulaciji ćelijskog redoks balansa, redukcionim procesima i regulaciji aktivnosti enzima (DeLeve and Kaplowitz, 1990; Anderson, 1996). Glutathion štiti ćelije od vodonik peroksida i organskih hidroperoksida, hidroksil radikala, organskih radikala, peroksi radikala i učestvuje u detoksifikaciji.

Treba napomenuti da se donedavno mislilo da se održavanje intracelularne redoks homeostaze postiže uglavnom preko kontrole odnosa između oksidovanog i redukovanog glutathiona. Sa glutathionom i njegovim enzimima kao glavnim faktorima, učešće slobodnih SH grupa proteina, kao molekularnih entiteta sposobnih da reaguju sa elektrofilima i derivatima kiseoničnih vrsta, smatralo se zanemarljivim. Ipak, nije se uzimalo u obzir da slobodne SH grupe proteina mogu imati antioksidativnu ulogu, slično glutathionu, i da u isto vreme mogu imati specifičnije (regulatorne) funkcije (Brigelius, 1985; Gilbert, 1990; Drodge et al., 1994). Veliki broj podataka ukazuje na to da ove grupe imaju reaktivnost sličnu ili višu od glutathiona (Di Simplicio et al., 1998). Proučavanje udela proteinskih SH grupa u antioksidativnoj odbrani ukazalo je na to da reaktivnost SH grupa u odnosu na GSH varira kod različitih vrsta životinja (Halliwell and Gutteridge, 2007). U nekoliko studija zaključeno je da izlaganje teškim metalima, kao što je kadmijum, dovodi do povećanja tiolnih jedinjenja u organizmu, i na osnovu toga je zaključeno da su SH grupe efikasni indikator zagađenja kadmijumom. Danas se količina sulfhidrilnih grupa uzima kao marker proteinske oksidacije nakon intoksikacije (Shacter, 2000).

Uticaj kadmijuma na promene nastale u nivou enzimskih i neenzimskih komponenti sistema antioksidativne zaštite kod različitih organizama potvrđen je i eksperimentalno. Tako su Schickler i Caspi (1999) ispitujući dejstvo kadmijuma

na enzime antioksidativne zaštite kod biljaka roda *Alyssum* utvrdili da se aktivnost SOD povećava na većim koncentracijama kadmijuma, aktivnost APx ostaje nepromenjena, dok se aktivnost GR-a smanjuje. Dixit i saradnici (2001) su ispitali uticaj kadmijuma na koren i lišće *Pisum sativum* i utvrdili da se aktivnost enzima menja sa promenom koncentracije kadmijuma, ali i zavisno od mesta gde se dešava oksidativni stres. Tako SOD i GST pokazuju veću aktivnost na višim koncentracijama kadmijuma i u korenu i u lišću, katalaza ima povećanu aktivnost samo u lišću, dok je askorbat peroksidaza i glutation reduktaza maksimalno aktivirana u korenu.

Kod pacova tretiranih kadmijumom došlo je do značajnog opadanja aktivnosti antioksidativnih enzima (SOD, CAT, GSH-Px, GR i GST) i lipidne peroksidacije u testisima (Ognjanović et al. 2010). Casalino i saradnici (2002), tretirajući pacove kadmijum hloridom, dolaze do zaključka da smanjenje aktivnosti SOD nastaje zbog interakcije kadmijuma sa enzimom pre nego zbog zamene cinka kadmijumom kod ZnCu-SOD. Smatra se da je opadanje nivoa aktivnosti katalaze u eritrocitima pacova, opadanje količine glutationa, i povećanje aktivnosti GSTa karakteristično za sam početak izlaganja kadmijumu (Sarkar et al., 1998).

Kod larvi ribe *Paralichthys olivaceus* u fazi metamorfoze, kao posledica izlaganja kadmijumu dolazi do inhibicije aktivnosti SOD i CAT, dok se količina glutationa povećava. Kod larvi u mirovanju, aktivnost katalaze i GST je inhibirana i, što je još zanimljivije, inhibicija GST raste sa povećanjem koncentracije kadmijuma (Cao et al., 2010). Slične rezultate dobili su i Dabas i saradnici (2012) kod vrste *Channa punctatus* gde je posle izlaganja kadmijumu utvrđen povišen nivo lipidne peroksidacije i manja aktivnost GST, SOD, CAT, GSH-Px, GR, kao i količine glutationa u poređenju sa kontrolnom grupom.

Uticaj kadmijuma na antioksidativni sistem vrste ortoptera *Oxya chinensis* kojoj je kadmijum injektiran pokazuje smanjenje aktivnosti SOD sa povećanjem koncentracije kadmijuma. Katalaza je imala veliku aktivnost u svim grupama, dok je glutation peroksidaza imala smanjenu aktivnost kod mužjaka, a kod ženki

povećanu i sa jakim detoksifikacionim efektom (Lijun et al., 2005). Kod vrste *Oncopeltus fasciatus* uočena je povećana aktivnost glutation reduktaze dok je aktivnost katalaze i GST ostala nepromenjena nakon izlaganja jedinki delovanju kadmijuma (Cervera et al., 2003).

Ispitivanjem aktivnosti antioksidativnih enzima u prisustvu teških metala kod četiri vrste insekata koji su imali različite tipove ishrane (karnivorna, detritivorna, omnivorna i herbivorna), utvrđena je zavisnost aktivnosti enzima od vrste insekta, i korelisanost sa nivoom zagađenja kojem su insekti bili izloženi, kao i sa stepenom akumulacije metala u organizmu (Migula et al., 2004). Najveća razlika između vrsta nađena je u aktivnosti glutation S transferaze i to između karnivorne *Pterostichus oblongopunctatus* i fitofagne *Phyllobius betulae*, dok su najniže aktivnosti enzima bile zabeležene za glutation reduktazu i GSH- zavisnu peroksidazu kod sve četiri vrste. Najveće razlike u aktivnosti enzima zabeležene su unutar grupa i to kod insekata sa zagađenih područja, što se objašnjava visokim polimorfizmom komponenti antioksidativne odbrane.

1.2.3. Toksični efekti kadmijuma na ćelijskom nivou

Na ćelijskom nivou uočava se štetno dejstvo kadmijuma na proliferaciju, diferencijaciju ćelija i njihovu apoptozu. Tako na primer, kada se ćelije u mirovanju izlože delovanju kadmijuma, dolazi do rane transkripcione aktivnosti protoonkogeni kod sisara (Hanahan and Weinberg, 2000). Geni rane aktivacije kodiraju transkripcione faktore i igraju značajnu ulogu u hemijskoj kancerogenezi, posredovanoj kadmijumom, preko uticaja na ekspresiju ciljanih gena i to pre svega onih koji su uključeni u kontrolu ćelijskog rasta i deobe. Oni su uključeni u ćelijsku proliferaciju i diferencijaciju i često mogu biti prekomerno eksprimirani u tumorima (Waisberg et al., 2003). Uspešnost kadmijuma u indukciji nastanka apoptoze zavisi od bazalnog i indukovanog nivoa metalotioneina koji vezuju kadmijum i sprečavaju njegovo toksično delovanje (Shimoda et al., 2001).

Takođe, brojne studije su pokazale da izlaganje kadmijumu inhibira rad Na^+K^+ ATPazne pumpe u ćelijama različitih tkiva (Nechay and Saunders, 1977; Kim et al. 1988; Kinne-Saffran et al. 1993; Schoenmakers et al. 1992; Lionetto et al. 1998) dovodeći do drastičnih promena u elektrohemijском gradijentu ćelije, koje posledično mogu dovesti do blokade i drugih Na^+ -zavisnih transportera čak i onda kada su ti transporteri ostali neoštećeni (Reuss et al. 1996). Verbošt i saradnici (1987a) su utvrdili da kadmijum, čak u nano koncentracijama, utiče na inhibiciju Ca^{2+} zavisnih ATPaza u plućima, eritrocitima i epitelu intestinuma pacova (Verbošt et al. 1987b, 1988, 1989). Kadmijum takođe utiče negativno na usvajanje cinka u bubrezima pacova (Kaur et al., 2006), ometa transport hloridnih jona u epitelnim ćelijama distalnih nefrona kod *Xenopus laevis* pri čemu dolazi do poremećaja telesne homeostaze u količini vode i soli (Fauriskov and Bjerregaard, 2002) i povećava provodljivost ćelijske membrane za K^+ jone (Nesović-Ostojić et al. 2008). Negativno dejstvo kadmijuma na membranski potencijal može imati značajan uticaj na transepitelni transport elektrona i dovesti do promena u normalnom transportu jona kroz membranu (Van Kerkhove et al., 2010).

Principi usvajanja kadmijuma i mehanizmi odbrane od teških metala proučavani su i na ćelijskim linijama, kao u slučaju vrste *Aedes albopictus* (Braeckman et al., 1999). Utvrđeno je da kadmijum ulazi u ćelije posredstvom transporta koji ne zahteva energiju. Deo kadmijumovih jona koji ulazi može biti pripisan transportu kroz verapamil zavisne kalcijumove kanale, naročito pri niskim koncentracijama kadmijuma, dok drugi deo biva usvojen jonoforama koje do sada nisu tačno identifikovane. Potvrđeno je takođe da ćelije poseduju proteinske sisteme odbrane, najverovatnije familije HSP ili grp proteina stresa, koji sprečavaju ulazak kadmijuma i obezbeđuju ćelijama preživljavanje.

Važno je napomenuti da se promene na ćelijskom nivou odražavaju i na promene u tkivima i organima organizama koji su izloženi delovanju kadmijuma. Tako Ilijin i saradnici (2010), radeći na ispitivanju promena u nervnom sistemu *Lymantria dispar* pod uticajem kadmijuma, nalaze značajno povećanje u velikim A2 dorzomedijalnim neurosekretornim neuronima i povećanu količinu

neurosekretornog materijala u istom regionu kod jedinki kojima su u ishranu dodate različite koncentracije kadmijuma (10, 100 i 250 µg Cd).

Izlaganje kadmijumu dovodi do odlaganja maturacije ovarijuma i inhibicije produkcije jaja kod *Oncopeltus fasciatus* (Cervera i sar., 2005). Takođe, prisustvo rastvorenog kadmijuma u vodi (50-400 mg/l Cd) dovodi do opadanja nivoa dva glavna vitelogenina u hemolimfi ženki. Postavljalo se pitanje da li efekti kadmijuma mogu biti posledica endokrinih poremećaja u sintezi vitelogenina, koja je kontrolisana juvenilnim hormonom. Sprovedena terapija zamene juvenilnog hormona nije dovela do povećanja nivoa dva glavna vitelogenina kod ženki izloženih delovanju kadmijuma, ali jeste kod izgladnelih ženki. Rezultati jasno pokazuju da redukovani nivo vitelogenina ne nastaje kao posledica poremećaja u produkciji juvenilnog hormona ili smanjene ishrane, već je pre posledica delovanja kadmijuma na receptore za juvenilne hormone.

Larve *Hydropsyche contubernalis* i *Hydropsyche siltalai*, izložene tokom 72 sata koncentracijama kadmijuma od 0.012, 0.16 i 10 mg/l, imale su povećanu učestalost i veći stepena oštećenja u analnim papilama sa povećanjem koncentracije kadmijuma. Larve *H. contubernalis* su pokazivale snažnije i ranije odgovore u promenama analnih papila, dok je kod larvi *H. siltalai* primećena zatamnjenost na ventralnoj strani abdomena pod dejstvom kadmijuma. Niže koncentracije kadmijuma uticale su čak i na ponašanje larvi. Promene su primećene u ponašajnim taktikama pri susretu larvi, kao i u kompetitivnom ponašanju kod larvi prve vrste i to nakon samo 24 sata od izlaganja kadmijumu kada još nisu bila primetna morfološka oštećenja (Vuori, 1994).

1.3. Uticaj kadmijuma na komponente adaptivne vrednosti

Poznato je da kadmijum dovodi do povećanja mortaliteta, produžavanja razvića, redukcije rasta i smanjenja reproduktivnog potencijala. Tako na primer, juvenilni puževi u uslovima prisustva kadmijuma tokom rasta i razvića vidno

usporavaju svoj rast. Usporavanje rasta udruženo je sa smanjenjem broja navoja ljušture i četvoronedeljnim odlaganjem piljenja jaja (Gimbert et al., 2008).

Kod insekata u uslovima stresa, izazvanog prisustvom teških metala, dolazi do smanjenja individualne performanse. Interesantan podatak iznose Kafel i saradnici (2012) radeći na larvama *Spodoptera exigua*, kod kojih je kadmijum bio prisutan u ishrani tokom jedne i većeg broja generacija. Oni su potvrdili povišenu koncentraciju kadmijuma u celom telu larvi, višu stopu mortaliteta i produženo trajanje larvenih stupnjeva kod onih larvi koje su gajene u prisustvu kadmijuma tokom jedne generacije u odnosu na larve koje su više generacija gajene pod tim uslovima (33 do 61 generacija). Viša koncentracija kadmijuma u hemolimfi larvi bila je pozitivno korelisana sa nivoom oksidacije glutaciona i ukupnim antioksidativnim kapacitetom larvi, čime je dokazano da, tokom velikog broja generacija, u populacijama insekata dolazi do evolucije tolerancije na prisustvo kadmijuma u životnoj sredini.

Izlaganje kadmijumu populacija *Lucilia sericata* tokom stadijuma larve, lutke i adulta, dovodi do redukcije rasta populacije, povećanja mase lutke i adulta, zbog smanjene kompeticije za hranom, smanjene dužine života i fekunditeta u adultnom periodu (Moe et al., 2001). Kod larvi *Boettcherisca peregrina* dolazi do smanjenja mase i skraćivanja dužine larvi nakon izlaganja kadmijumu, dok je ukupno trajanje larvenog razvića značajno produženo (Wu i sar., 2006). Vrsta Collembola *Proisotoma minuta* pokazuje redukciju adultnog preživljavanja i odsustvo reprodukcije na višim koncentracijama kadmijuma i ostalih teških metala u odnosu na kontrolne jedinice (Nursita et al., 2005). Nimfe *Oncopeltus fasciatus*, izlagane kadmijum hloridu do kraja adultnog perioda, pokazuju značajan mortalitet pri koncentracijama iznad 30mg Cd/ L (Cervera et al., 2004). Trajanje stadijuma nimfe je bilo produženo, a masa novoizleženih adulta linearno opadala sa povećavanjem koncentracije kadmijuma. Interesantno je da su se mužjaci i ženke razlikovali u preživljavanju. Naime, preživljavanje se kod adultnih ženki smanjivalo na koncentracijama većim od 10 mg Cd/L, dok je preživljavanje mužjaka bilo ugroženo tek na 30 mg Cd/L i višim koncentracijama.

Ovipozicija, fekunditet i fertilitet ženki izloženih koncentraciji od 10 mg Cd/L bili su značajno niži u odnosu na kontrolu, kao i nivo piljenja iz jaja.

Trajanje četvrtog stupnja larvenog razvića kod larvi *Lymantria dispar* tretiranih visokim koncentracijama kadmijuma (100 i 250 µg Cd/g) značajno je produženo u poređenju sa kontrolnom grupom. Ove koncentracije kadmijuma dovode takođe do značajne redukcije mase kod larvi četvrtog stupnja gubara u odnosu na larve iz kontrolne grupe (Ilijin et al., 2010). U istraživanju Vlahović i saradnika (2001) utvrđeno je da akutno izlaganje larvi najmanjim dozama kadmijuma koje imaju efekat (10µg Cd/g) ne dovodi do značajnih promena u relativnoj brzini rasta kod *Lymantria dispar*, dok se prve promene primećuju pri koncentraciji od 30 µg Cd/g suve hrane. Sa povećanjem koncentracije kadmijuma u hrani linearno je opadala relativna brzina rasta larvi četvrtog stupnja gubara. Testiranjem uticaja akutnog i hroničnog efekta kadmijuma istih koncentracija na masu larvi (Vlahović et al., 2009), utvrđeno je značajno opadanje mase, bez povratka na kontrolni nivo nakon trodnevnog oporavka od hroničnog tretmana.

1.4. Evoluciono-genetičke posledice prisustva kadmijuma u životnoj sredini

Sredinski stres, nezavisno od porekla, ima veliki uticaj na ekološke i evolucione procese koji utiču na stepen i obim promena u genetičkoj strukturi i evoluciji određene populacije (Bijlsma i Loeschcke, 2005). U svetlu evolucije, stres možemo definisati kao bilo koju promenu životne sredine koja dovodi do redukcije adaptivne vrednosti organizama (Koehn i Bayne, 1989) ili kao faktor životne sredine koji dovodi do promena u biološkim sistemima, pri čemu su te promene potencijalno štetne (Hoffmann i Parsons, 1991). U svakom slučaju, organizmi i populacije mogu odgovoriti fenotipski ili genetički na prisutni sredinski stres, preko uključivanja adaptivnih mehanizmama koji će smanjiti štetne uticaje stresa. Jedan od najvažnijih stresora jesu i hemijska jedinjenja, bilo da u prirodnu sredinu dolaze prirodnim ili antropogenim delovanjem (Sørensen i sar., 2005, Lindgren i Laurila, 2005).

Genotip, životna sredina (koncentracija kadmijuma i trajanje izloženosti kadmijumu) i stupanj razvića u velikoj meri određuju stepen razvijanja tolerantnosti insekata na prisustvo kadmijuma. Nekoliko mehanizama mogu biti odgovorni za pojavu tolerantnosti jedinki na zagađivače: promena ponašanja (izbegavanje zagađenog područja), detoksifikacija, sekvestracija metala u zasebnim kompartmentima ćelija ili ekskrecija (Janssens et al., 2009). Jedinka koja je tolerantna na prisustvo metala u životnoj sredini u stanju je da spreči, smanji ili popravi oštećenja nastala ulaskom metala u organizam (Levitt, 1980). Međutim, postoji relativno malo podataka o „ceni tolerantnosti“ koja pri tome nastaje, i adaptacije na prisustvo metala u životnoj sredini, kao i genetičkoj varijabilnosti u sposobnosti indukcije odbrambenih mehanizama koji se nalaze u osnovi tolerantnosti na teške metale u situacijama kada koncentracija metala u životnoj sredini počinje da raste (Posthuma and van Straalen, 1993). Smatra se da je selekcija za tolerantnost na prisustvo metala direkciona, konstantna i jaka, s obzirom na činjenice da metali nisu razgradive supstance, da su toksični pri većim koncentracijama, i da se akumuliraju u organskom sloju zemljišta.

Podaci o rezultatima selekcije za određene karakteristike dobijaju se poređenjima između populacija. Ovakva istraživanja ukazuju da je u populacijama sa većom genetičkom varijabilnošću veća i verovatnoća evolucije tolerantnosti na prisustvo metala. Genetička varijabilnost određuje sposobnost populacije da odgovori na buduće promene u životnoj sredini. „Cena tolerantnosti“ se utvrđuje identifikacijom negativnih efekata snažne direkcione selekcije za povećanje tolerantnosti na teške metale na osobine adaptivne vrednosti. Ako mehanizmi tolerantnosti zahtevaju preusmeravanje resursa ka odbrani, očekuje se da u optimalnim uslovima jedinke poreklom iz zagađenih regiona imaju redukovanu adaptivnu vrednost u odnosu na jedinke poreklom iz referentnih (kontrolnih) populacija (Posthuma i van Straalen, 1993).

U istraživanjima mehanizama tolerantnosti, treba imati u vidu da tolerantnost na metale može nastati kao posledica individualnog izlaganja teškom metalu (aklimacija) ili kao posledica prirodne selekcije (adaptacije). Fiziološka

aklimacija podrazumeva da jedinka dostiže dovoljan stepen tolerantnosti nakon izlaganja subletalnim koncentracijama u toku nekog perioda života, što povećava verovatnoću preživljavanja u uslovima stresa većeg intenziteta. Tako stečena tolerantnost nije nasledna. Aklimacija je zapravo vid fenotipske plastičnosti koja predstavlja sposobnost genotipa da menja fenotip u skladu sa promenama uslova životne sredine (Pigliucci, 2001). Zavisno od uslova životne sredine koji vladaju tokom evolucije neke populacije, takvi indukovani odgovori mogu biti favorizovani ili izgubljeni tokom više generacija. Adaptacija podrazumeva da populacija promenom alelskih frekvencija evoluiru u pravcu povećanja tolerantnosti delovanjem prirodne selekcije, i tako nastala tolerantnost se prenosi na potomstvo (Posthuma i van Straalen, 1993; David i sar., 2005; Sørensen i sar., 2005). Kao što je već rečeno, selekcija može delovati na osobine, indukovane tolerantnošću na prisustvo metala, koje jesu fenotipski plastične, ali će tako povećana tolerantnost biti eksprimirana samo nakon izlaganja. Drugim rečima, u ovom slučaju evoluiraju norme reakcije za mehanizme zaštite organizama od sredinskog stresa.

Čini se da nivo adaptacija organizama na uslove zagađenosti životne sredine zavisi od vrste organizama, tj. od njihove evolucione istorije, budući da nekih vrsta nema u prirodno zagađenim ili otpadnim staništima, dok ih druge kolonizuju uspešno (Hagvar and Anraahansen, 1990). Populaciona poređenja kod kolebole *Orchesella cincta* otkrila su evolucione promene koje se ogledaju u uspešnijoj ekskreciji kadmijuma (Posthuma et al., 1992) i većem preživljavanju u prisustvu kadmijuma (Posthuma, 1990). Populacione razlike u osobinama životne istorije su uočene i kod kolebola *Onychiurus armatus* i *Isostoma notabilis* (Tranvik et al., 1993).

Koliko će određena osobina moći da se menja tokom evolucije zavisi od njene heritabilnosti. Samu heritabilnost u širem smislu možemo definisati kao udeo genetičke varijanse u ukupnoj fenotipskoj varijansi, dok u užem smislu heritabilnost predstavlja udeo aditivne genetičke varijanse u ukupnoj fenotipskoj varijansi. Porast genetičke varijanse u prisustvu kadmijuma utvrđen je za

efikasnost ekskrecije kadmijuma, brzinu rasta i učestalost presvlačenja što povećava broj larvenih stupnjeva (Posthuma i sar., 1993a, Posthuma i Janssen, 1995). Prisustvo adaptiranih populacija u industrijski kontaminiranim područjima ukazuje na činjenicu da se adaptacije mogu javljati tokom godina ili decenija, i da se evolucionim odgovorima dobijaju zahvaljujući visokoj genetičkoj varijabilnosti predačkih populacija u kojima egzistiraju varijante gena koje određuju tolerantnost na teške metale. Kod kolebole *Orchesella cincta* tolerantnost je postignuta poboljšanjem ekskrecije kadmijuma što omogućava održavanje rasta tokom izlaganja. Drugi mehanizmi tolerantnosti su proteini koji vezuju metale, promena načina akumulacije metala, konzervacija energije, povećana ekskrecija ili imobilizacija metala u granulama (Klerks, 1990). Poboljšanje performansi se očekuje kao odgovor na direkcionu selekciju za karakteristike koje su povezane sa adaptivnom vrednošću (Posthuma et al., 1993b).

Teorija evolucije osobina životne istorije bazira se na evolucionim odgovorima na faktore životne sredine koji deluju na osobine životne istorije, kao što su preživljavanje, trajanje razvića ili fekunditet. Odgovori osobina životne istorije su očekivani u odnosu na bilo koji faktor koji specifično deluje (uključujući i polutante) na stadijum razvića, stepen preživljavanja ili reprodukcije (Michod, 1979; Stearns, 1992).

U zemljištu, hronično izlaganje teškim metalima i toksični efekat utiče negativno na rast, reprodukciju i preživljavanje kod Collembola (Bengtsson i sar., 1985a). Izlaganje teškim metalima ima kumulativni efekat jer se tokom svakog stupnja razvića, tokom rasta i starenja organizma povećava i količina akumuliranih toksina (Janssen i sar., 1991). Za populacije koje su izložene delovanju teških metala, teorija predviđa da će evolucionim odgovorima na hronično izlaganje toksičnim metalima biti ranije sazrevanje i smanjena reproduktivna alokacija u uslovima stresa. Raspodela ograničenih resursa između mehanizama tolerantnosti i drugih funkcija od centralnog su značaja za razumevanje uzajamnih ograničenja između osobina (Sibly and Calow, 1989), i mogu ograničavati opseg mogućih evolucionih odgovora. Postojanje genetičke varijabilnosti za

karakteristiku koja se posmatra je veoma važno za dobijanje bilo kakvog evolucionog odgovora. Genetička varijabilnost se može održavati u populacijama kao posledica prostorne i/ili vremenske heterogenosti životne sredine ili usled antagonističke plejotropije između osobina (Hoffmann and Parsons, 1991). Značajan nivo genetičke varijabilnosti je utvrđen kod *Drosophila melanogaster* kako u prirodnim tako i u laboratorijskim populacijama (Rose, 1983; Graves et al., 1992; Partridge and Flower, 1992) kao i varijabilnost energetske alokacije (Klerks, 1990). Naime, poznato je da jedinke iz nekih populacija, koje su tolerantne na prisustvo metala, pokazuju smanjeni intenzitet metabolizma i sporiji rast, čuvajući tako energiju ili druge resurse (Antonovics et al., 1981).

Korelisani odgovori na selekciju za tolerantnost mogu nastati usled plejotropnih efekata gena. To znači da selekcija za tolerantnost može uticati na performanse drugih, genetički korelisanih, kvantitativnih osobina, a ako se radi o osobinama životne istorije efekat je najčešće negativan. Takvi efekti su poznati kao „cena tolerantnosti“. Naravno i korelisani odgovor zavisi od raspoložive genetičke varijabilnosti za te karakteristike u referentnoj populaciji. Uzimajući u obzir korelativne odgovore, Posthuma sa saradnicima (1993a) je pokazao da postoji pozitivna genetička korelisanost kod *Orchesella cincta*, između rasta jedinki i efikasnosti ekskrecije metala, što znači da posmatrani odgovori mogu biti korelativni odgovori na selekciju za povećanu efikasnost ekskrecije.

Promene osobina adaptivne vrednosti mogu takođe biti rezultat korelisanih odgovora na selekciju za povećanje tolerantnosti na teške metale (Hoffmann i sar., 2005, Malherbe i sar., 2005). Osobine adaptivne vrednosti uopšteno imaju nižu heritabilnost u poređenju sa morfološkim, fiziološkim i ponašajnim osobinama, upravo zbog selekcije koja vodi ka fiksaciji alela za karakteristike koje su blisko povezane sa adaptivnom vrednosti (Falconer, 1981; Price and Schluter, 1991). Opet, niža heritabilnost, može biti ograničenje za dobijanje evolucionih odgovora za karakteristike životne istorije kod populacija koje su osiromašene u pogledu genetičke varijabilnosti (Kristensen i sar., 2005). Ako varijabilnost za same osobine odsustvuje, fenotipska plastičnost odnosno

prisustvo varijanti regulatornih gena koji učestvuju u formiranju indukovanih adaptivnih odgovora, mogu dati doprinos preživljavanju na zagađenim područjima.

Održavanje mehanizama tolerantnosti može biti energetski skupo do te mere da je alokacija nutrijenata i/ili energije na druge funkcije redukovana. Tako je „cena tolerantnosti“ često neizbežna posledica evolucije otpornosti na prisustvo polutanata u životnoj sredini. Razlikuju se dve vrste cene. Cena tolerantnosti se može povećavati kao posledica individualnog izlaganja, i obično se uočava kao posledica plastičnog fiziološkog odgovora. Međutim, postoji i cena tolerantnosti koja se plaća za održavanje mehanizama tolerantnosti, i koja se postiže preko genetičkih adaptacija. Za ovu cenu može se reći da je nasledna karakteristika tolerantne jedinice, koja nastaje kao posledica negativne genetičke korelacije između tolerantnosti i drugih karakteristika (Posthuma and Van Straalen, 1993).

Jedan od načina testiranja hipoteze o ceni tolerantnosti, i bolje razumevanje genetičkih korelacija i uzajamnih ograničenja (engl. *trade off*) postiže se eksperimentima sa veštačkom selekcijom za tolerantnost. Korelisani odgovori u kojima se smanjuje adaptivna vrednost ukazuju na prisustvo cene i negativne genetičke korelacije između osobina adaptivne vrednosti i tolerantnosti (Rose i sar., 1992). Važno je primetiti da su neki, ako ne i većina korelisanih odgovora i uzajamnih ograničenja, specifični za datu populaciju i/ili uslove životne sredine (Bijlsma i Loeschecke, 2005).

Tako na primer, prisustvo aditivna genetičke varijanse za tolerantnost u referentnoj populaciji *O.cincta* ukazuje na to da je cena održavanja mehanizma koji će efikasno vršiti ekskreciju kadmijuma niska u kontrolnim uslovima (Posthuma et al., 1993a). Teorijski se mogu očekivati različite promene u genetičkoj varijansi. Kako će se genetička varijansa menjati u odgovoru na prisustvo teških metala zavisi od početnih uslova, načina nasleđivanja, intenziteta i vremena delovanja selekcije, veličine populacije i uticaja protoka gena. Ukoliko je populacija velika i prostorno izolovana, može se dogoditi i smanjenje i povećanje genetičke varijanse, uprkos očekivanjima da će direkcionalna selekcija po

pravilu redukovati varijabilnost (Bulmer, 1971). Povećavanje genetičke varijanse za tolerantnost se može očekivati ukoliko se povećava učestalost veoma retkih tolerantnih varijanti u nekoliko narednih generacija nakon početka delovanja selekcije (Holloway et al., 1990), dok se redukcija može očekivati ukoliko selekcija vodi alele za tolerantnost ka fiksaciji. Ukoliko je populacija mala ili nije izolovana, onda će postojati veća mogućnost za uticaj stohastičkih procesa: genetički drift može menjati frekvencije alela po principu slučajnosti, a imigracija iz susednih populacija može održavati ili obnoviti početnu varijabilnost.

Tolerantnost na prisustvo metala kod životinja može biti postignuta i preko major gena. Tolerantnost kod *Drosophila* je delimično postignuta duplikacijom gena za metalotioneine (Maroni et al., 1987). Bez obzira na to, ukoliko je varijabilnost prisutna u referentnoj populaciji, očekivaćemo da će dugotrajna direkciona selekcija bezuslovno voditi ka redukciji genetičke varijanse za osobine za koje je selekcija vršena, odnosno za tolerantnost, ali i za osobine životne istorije usled direkcione selekcije ili usled korelisanih odgovora, ili oba. Tako je, na primer, kod mahovine *Funaria hygrometrica*, heritabilnost bila redukovana za 10 do 14 osobina u populacijama poreklom sa zagađenih područja, u poređenju sa populacijama sa referentnih mesta (Shaw, 1988). Kod *Orchesella cincta*, Posthuma sa saradnicima (1993a) nalazi tendenciju redukcije genetičke varijanse za tolerantnost u populacijama poreklom sa deponije koja postoji oko 150 godina, što iznosi oko 300 generacija. Ovi nalazi su potkrepljeni očekivanjima da će konačno jaka direkciona selekcija dovesti do fiksacije alela odgovornih za toleranciju, što će opet dovesti do pada heritabilnosti.

Hofman i Parsons (1991) ističu da prisustvo polutanata u životnoj sredini može uticati i na veličinu areala i distribuciju vrsta senzitivnih na njihovo prisustvo, pogotovu ako je reč o populacijama na marginama distribucije koje imaju malu genetičku varijabilnost. Sposobnost tih vrsta da nasele neko stanište biće ozbiljno ugrožena, ukoliko genetička varijansa bude naglo izgubljena zbog lokalnog zagađenja. Znatno gora situacija nastaje u slučaju difuznog rasprostranjenja polutanta, što može dovesti do gubitka populacija senzitivnih

vrsta u širokom području. Trajanje selekcije i tako nastala izmenjena genetička varijansa, utiču na mogućnost pojave evolucionih odgovora koji će ići u pravcu razvijanja netolerantnosti.

Uspešna adaptacija takođe zavisi od NOEC vrednosti (najveće vrednosti koncentracije polutanta na kojima se ne primećuju efekti prisustva, engl. *No Observed Effect Concentration*) i heritabilnosti karakteristike značajne za evoluciju tolerantnosti na prisustvo metala. Vrste sa niskim NOEC vrednostima (visoko senzitivne), mala heritabilnost i dugo vreme generacije jesu uslovi u kojima se može desiti izumiranje vrste, odnosno, te vrste imaju visok rizik za nestajanje sa datog područja. Ukoliko koncentracija metala i dalje raste i to velikom brzinom, adaptacija može biti ograničena samo na one vrste sa velikim evolutivnim potencijalom, što je određeno major genima za tolerantnost na prisustvo metala (Posthuma and Van Straalen, 1993). Cena održavanja tolerantnosti ili korišćenja njenih mehanizma može čak obezvređiti dobit populacije zbog povećanja tolerantnosti ukoliko su resursi ograničeni. To znači da vrste sa fiziološki skupim mehanizmom za tolerantnost (negativna korelacija između komponenti adaptivne vrednosti i tolerantnosti) imaju veći rizik da nestanu od vrsta koje funkcionišu suprotno. Prisustvo različitih vrsta adaptiranih na kontaminirana staništa ukazuje da genetička varijansa kod tih vrsta dozvoljava brzu adaptaciju, očigledno bez cene koja bi ih ograničavala (e.g. *O.cincta*, *D. melanogaster*).

Niska heritabilnost može ograničiti adaptivne odgovore na promene životne sredine. Ipak, laboratorijske studije ukazuju da nivo naslednog dela varijanse može da se razlikuje između populacija i vrsta, što znači da one evoluciono ne odgovaraju na isti način (Hoffmann i sar., 1995). Razlike u heritabilnosti mogu odražavati razlike u sredinskoj i/ili genetičkoj varijansi koju čine aditivna, dominantna i epistatička varijansa. Istraživanja su uglavnom usmerena na predviđanja kako se te komponente mogu menjati sa sredinom i varirati između populacija, vrsta i osobina. Stresni uslovi obično povećavaju i nivo heterozisa i efekat inbridinga (Barlow, 1981). Takođe, maternalno nasleđeni

efekti su važni zbog toga što mogu dovesti do vremenskog zaostajanja u odgovoru populacije na selekciju, utičući tako i na nivo evolucionih promena (Kirkpatrick and Lande, 1989).

Mnoge studije naglašavaju interakciju između kvantitativnih osobina i faktora životne sredine. Tehnika multiple regresije, razvijena od strane Landea i Arnolda (1983), omogućava identifikovanje pravca delovanja selekcije u prisustvu genetičkih interakcija između osobina. Slične pristupe u proučavanju delovanja selekcije i interakcija koje postoje između osobina koje utiču na adaptivnu vrednost nalazimo u radovima Crespi i Bookstein (1988) i Kingsolvera i Schemske (1991).

Modeli mogu biti još komplikovaniji ukoliko se uzme u obzir pristup po Landeu i Arnoldu. Analizom efekata selekcije identifikuju se osobine na koje deluje prirodna selekcija u različitim situacijama (Kingsolver and Schemske, 1991), mada to obično uključuje analizu fenotipa pre nego rezultate ukrštanja. Mitchell-Olds i Bergelson (1990) su pokazali da karakteristike ranog životnog ciklusa mogu da utiču na adaptivnu vrednost kasnije u životu, ali da postoji mala genetička varijansa za te karakteristike, tako da se genetičke promene ne očekuju. Ovi pristupi su dobar način za utvrđivanje pravca delovanja selekcije, posebno kada su uključene genetičke analize.

Ekspresija mnogih osobina je plastična tj. fenotipski se menja u zavisnosti od uslova sredine. Obim tih promena može biti genetički kontrolisan i samim tim može biti objekt na koga deluje prirodna selekcija. Neki autori (Scheiner and Lyman, 1991; Schlichting, 1986) su predložili da su geni za plastičnost odvojeni od onih koji utiču na srednje vrednosti osobina i moraju biti u funkciji odgovora genotipova na sredinske uslove ili normu reakcije (DeJong, 1990; Gavrilets and Scheiner, 1993). Drugi, a posebno Via (1994), su tvrdili da su ovakvi modeli nespojivi sa kvantitativno-genetičkom teorijom plastičnosti, koji podrazumevaju selekciju unutar sredine (Gomulkiewicz and Kirkpatrick, 1992; Via and Lande, 1985).

Geni koji specifično kontrolišu plastičnost postoje. Na primer, mnoge životinje povećavaju svoju tolerantnost na stres nakon prethodnog izlaganja subletalnim uslovima. Geni koji utiču na takve aklimacione odgovore mogu dobro delovati na njih, nezavisno od srednje vrednosti svojstva što može biti testirano selekcionim eksperimentima ili poređenjima između grupa (Hoffmann, 1991; Krebs and Loeschcke, 1994). S druge strane, usmeravanjem istraživanja na selekciju koja se dešava u određenim sredinama, mogu se proučavati nastala uzajamna ograničenja između osobina. Ukoliko geni koji imaju uticaj na komponente adaptivne vrednosti u jednoj sredini imaju sličan efekat u drugoj, ovo će generisati pozitivne genetičke korelacije. Geni koji imaju suprotan efekat mogu generisati negativne genetičke korelacije između sredina, iako ovo može zavisiti i od toga da li je populacija u genetičkoj ravnoteži ili ne (Houle, 1991).

Pojedine studije ispoljavanja osobina pod varijabilnim uslovima ukazuju na pozitivnu genetičku korelaciju između sredina (Schlichting, 1986; Ebert et al., 1993; Etges, 1993; Andersson and Shaw, 1994). Ipak, razlike između sredina su često male i većina eksperimenata je izvođena pod veštačkim uslovima. Negativne genetičke korelacije se mogu naći kod životinja kao što su rakovi (Rawson and Hilbish, 1991) i leptiri (Windig, 1994).

2. CILJ RADA

Na promenu hemijskih uslova staništa gubara posebno štetno utiče sve intezivnija emisija teških metala u životnu sredinu. Među njima, po obimu toksičnih efekata koje prouzrokuje na različitim nivoima biološke organizacije, kadmijum spada u grupu najpotentnijih polutanata. Njegova količina se povećava zahvaljujući intezivnom antropogenom uticaju na životnu sredinu.

Budući da potencijal evolucionih promena fenotipskih osobina i njegove plastičnosti zavisi od konkretnih karakteristika životne sredine, i da je antropogeno zagađenje prirodnih staništa gubara u velikom porastu, pokazala se neophodnom eksperimentalna procena efekta kadmijuma na performasu jedinki i čitave populacije. Cilj ove doktorske disertacije je sagledavanje obrazaca evolucione istorije gubara (*Lymantria dispar* L.) u odnosu na prisustvo kadmijuma, sa procenom specifične genetičke arhitekture populacije.

Specifični ciljevi ove doktorske disertacije su:

1. Utvrđivanje efekta hroničnog delovanja kadmijuma u različitim koncentracijama na osobine adaptivne vrednosti kod larvi, lutki i adulta gubara oba pola, i procena heritabilnosti u širem smislu za ispitivane osobine u uslovima prisustva stresora (kadmijum).
2. Ispitivanje varijabilnosti fenotipske plastičnosti, indeksa fenotipske plastičnosti, koeficijenta varijacije, heritabilnosti plastičnosti i heritabilnosti svojstva za osobine adaptivne vrednosti kod larvi, lutki i adulta gubara oba pola gajenih u prisustvu različitih koncentracija kadmijuma u dijeti, u odnosu na kontrolnu grupu.

3. Analiza vrednosti koeficijenata fenotipskih korelacija između osobina adaptivne vrednosti u kontrolnoj i eksperimentalnim grupama sa različitim koncentracijama kadmijuma u veštačkoj dijeti.
4. Analiza genetičkih korelacija između osobina u okviru svake eksperimentalne grupe, između eksperimentalnih grupa za različite osobine adaptivne vrednosti, i između polova gubara tokom trajanja larvenog razvića, razvića lutke i adultnog perioda života.
5. Procena odgovora larvi, lutki i adulta gubara iz različitih eksperimentalnih grupa na delovanje selekcije u uslovima stresa izazvanog prisustvom kadmijuma, ispoljene plastičnosti osobina u odgovoru na selekciju i razlika plastičnosti usled adaptacija na uslove stresa, kao i procena eventualnih ograničenja cenom plastičnosti odgovora.
6. Ispitivanje promena u komponentama antioksidativnog sistema gubara u različitim periodima razvića i stepena odbrane u uslovima delovanja oksidativnog stresa izazvanog prisustvom kadmijuma.

3. MATERIJAL I METODE

3.1. Biologija vrste - *Lymantria dispar*

Gubar, *Lymantria dispar*, pripada familiji *Lymantriidae*, redu Lepidoptera. Njegovo rasprostranjenje obuhvata umerene regione istoka i severozapada Severne Amerike, Evrope, severa Afrike, zapadne i istočne Azije i Japana (Odell i sar., 1985; Pogue i Schaefer, 2007). Lepidoptere su holometabolni insekti što znači da imaju kompletnu metamorfozu. Larve se transformišu u lutke, a one zatim metamorfoziraju u adulte.

Gubar je poznat po svojoj štetnosti za šumske ekosisteme i fluktuaciji u brojnosti svojih populacija tokom koje prolazi kroz nekoliko faza: latentna, progradacija, kulminacija i retro(post)gradacija (Elkinton & Liebhold, 1990). Spada u polifagne insekte. Broj biljnih domaćina se procenjuje na preko 500 vrsta u okviru 73 familije (Lance, 1983; Liebhold et al., 1995). Imaju izraženi seksualni dimorfizam. Mužjaci su braon obojenih krila sa crnim prugama a ženke sa belim ili bež krilima sa crnim prugama. Druge morfološke razlike uočavaju se na nivou antena: kod mužjaka antene su peraste za razliku od ženki koje imaju prave antene. Abdomen ženki je mnogo robustniji od abdomena mužjaka i ispunjen je u potpunosti jajima. Leptiri se izležu iz lutki od juna do avgusta, u zavisnosti od geografskih i klimatskih karakteristika areala i efekta gustine. Kada je gustina populacije larvi visoka, razviće je često ubrzano. Mužjaci se izležu iz lutki 1-2 dana pre ženki i, za razliku od njih, imaju sposobnost letenja. S obzirom da su adulti odmah reproduktivno sposobni, parenje se uglavnom dešava u roku od 10 minuta od izleganja. Kada je parenje završeno, ženke su spremne za polaganje jaja. Inače, mužjaci mogu oploditi više ženki dok se ženke retko pare više puta, tako da jedno leglo predstavlja potomstvo jednog mužjaka i jedne ženke (ful-sib familija). Gubari žive u proseku oko nedelju dana. Digestivni sistem adulta nije funkcionalan i oni se ne hrane.

U stadijumu jajeta provode 8 do 9 meseci. Gubari imaju jednu generaciju godišnje i ženke obično polažu jaja u grupi (leglo), a većina jaja se položi tokom prvih 24 sata. Ukoliko se ovipozicija prekine usled uznemiravanja, ženka započinje polaganje u novom leglu-grupi. Jaja su prekrivena dlačicama sa abdomena ženke i imaju funkciju zaštite od predatora i parazita, a takođe i zaštite od niskih temperatura. Broj položenih jaja varira od nekoliko stotina do 1000 jaja pod optimalnim uslovima. Jaja se obično polažu na stablima drveća i to na tamnim mestima koja pružaju zaklon, mada se mogu naći i na listovima, stenama, panjevima i drugim mestima.

Razviće embriona u jajima se nastavlja odmah po završenoj ovipoziciji i larve su potpuno formirane u jajima nakon mesec dana od ovipozicije. Razviće se tu zaustavlja i nastaje dijapauza. Larva redukuje sadržaj vode kao vid zaštite od smrzavanja. U proleće, kao odgovor na temperaturne promene, dolazi do aktivacije i ponovnog usvajanja vode. Larva se probija kroz horion jajeta i to obično u vreme kada se pojavi i prvo lišće na drveću.

Izleganje larvi i njihova aktivnost povezani su sa vremenskim uslovima, odnosno temperaturom. Tek izležene larve obično ostaju u blizini legla koje koriste kao zaštitu u slučaju kišnog vremena ili zahlađenja i pada temperature ispod 7 °C. Larve pokazuju osobine pozitivnog fototropizma i negativnog geotropizma. Larve se hrane lišćem biljaka uglavnom u toku svetlog dela dana, posebno tokom ranog jutra i kasnog podneva. Ritam ishrane se menja kako larva postaje starija i kod starijih larvi, a naročito na visokoj gustini populacije, ishrana postaje i noćna aktivnost (Lance et al., 1986).

U toku svog razvića larva prolazi kroz periode presvlačenja. U pripremi za presvlačenje, koje se dešava u proseku svakih nedelju dana, larva prestaje sa ishranom, deponuje mnogo više svilenih niti kojima se pričvršćuje za list ili stablo, i prazni svoje crevo. Stara kutikula puca i izlazi nova larva. Larve gubara, zavisno od uslova životne sredine, pokazuju plastičnost u broju stupnjeva. Najčešće mužjaci imaju pet stupnjeva, a ženke šest, ali broj stupnjeva može biti i devet (Jodal i sar., 1997; Wermelinger i Bauman, 1998). Presvlačenje je pod

kontrolom hormona koji zavise od mnogih faktora, uključujući i ishranu. Rast i razviće larvi zavisi od abiotičkih faktora, kao što su temperatura i vlažnost, ali i biotičkih, kao što su kvantitet i kvalitet hrane, prisustvo parazita i patogena itd.

Ishrana larvi se, naravno, povećava prelaskom larvi u više larvene stupnjeve tako da ženke u poslednjem larvenom stadijumu pojedu više hrane nego u svim prethodnim razvojnim stupnjevima zajedno. Odabir mesta za odmor bitno utiče na preživljavanje, pogotovo u malim populacijama. Po završetku larvenog razvića larve prestaju da se hrane, prazne crevo, okružuju se svilastom mrežom i počinju da se kontrahuju u dužini. Prepupalni period traje oko dva dana sa prepupama koje ostaju relativno mirne unutar svilaste mreže.

Prepupalni period se završava kada kutikula puca duž središnje dorzalne linije i lutka izlazi kroz larvenu kutikulu. Boja kutikule lutke je svetlo zelena, ali za nekoliko časova ona dobija na čvrstini i postaje braon obojena. Razviće lutke traje u proseku oko dve nedelje kada postaju spremne za morfogenezu (Leonard, 1981). Po završetku razvića u stadijumu lutke, adulti počinju da dišu, narastaju i kidaju lutkinu kutikulu. Adulti su u potpunosti formirani, osim krila koja se u potpunosti razvijaju tek po izlasku iz lutki. Razviće gameta u oba pola započinje u kasnijim larvenim stupnjevima tako da novoizleženi leptiri imaju već formirane gamete.

3. 2. Eksperimentalne grupe i uslovi gajenja

Legla gubara koja su korišćena u eksperimentima, sakupljana su na različitim lokalitetima. Legla su po sakupljanju čuvana u frižideru na 4°C do piljenja koje je postavljeno početkom maja. Sa legala su uklanjane dlačice i izvršena je površinska sterilizacija jaja držanjem 5 minuta u 0.1% natrijum hipohloritu (varikina), posle čega su ispirana u destilovanoj vodi i osušena na vazduhu, što ima poseban značaj za prevenciju kontaminacije gljivama.

Jaja su prebačena u prostoriju sa konstantnim uslovima za piljenje, na temperaturu od 23°C i fotoperiod 12h svetla: 12h tame. Jedinke ispiljene iz svakog legla gajene su u plastičnim Petri posudama zapremine 80 ml - 10 larvi do prvog presvlačenja, a zatim pojedinačno od ulaska u drugi stupanj. Hrana je menjana svakodnevno.

Ispitivanje toksičnog efekta kadmijuma na komponente adaptivne vrednosti i sistem antioksidativne zaštite organizovano je u dva eksperimenta:

1. Eksperiment I – Efekat kadmijuma na osobine adaptivne vrednosti ispitivan je na 30 legala populacije gubara sakupljenih u oktobru 2003. godine na području Lipovačke šume, hrastove šume sladuna i cera (*Quercus frainetto* Tenore, *Quercus cerris* L.) nadomak Beograda, a gajenih u laboratorijskim uslovima tokom 2004. godine.
2. Eksperiment II – Efekat kadmijuma na enzime antioksidativne zaštite ispitivan je na populaciji gubara čija su legla sakupljana tokom oktobra 2006. godine u gazdinskoj jedinici Levačke šume, Carina, koja je takođe pod hrastom sladunom i cerom, a gajenih u laboratorijskim uslovima tokom 2006. godine.

U oba eksperimenta jedinke su hranjene veštačkim supstratom (O'Dell et al., 1985), bez (kontrolna grupa - K) i sa kadmijumom. Kadmijum je dodavan u vidu kadmijum nitrata $Cd_2(NO_3)_3$. Za ispitivanje uticaja kadmijuma na komponente adaptivne vrednosti primenjene su tri koncentracije kadmijuma: 10 (C1), 30 (C2) i 50 (C3) μg Cd/ g suve mase hrane. Za ispitivanje uticaja kadmijuma na sistem antioksidativne zaštite primenjena je koncentracija kadmijuma za koju se u prvom eksperimentu pokazalo da ima značajan efekat na većinu komponenti adaptivne vrednosti, a to je 50 (C3) $\mu g/ ml$ rastvora $Cd_2(NO_3)_3$.

Određivane su sledeće komponente adaptivne vrednosti:

1. trajanje larvenog razvića,
 - LR₁ – trajanje prvog stupnja larvenog razvića (od piljenja do prvog presvlačenja)

- LR₁₋₂ – trajanje drugog stupnja larvenog razvića (od piljenja do drugog presvlačenja)
 - LR₁₋₃ – trajanje trećeg stupnja larvenog razvića (od piljenja do trećeg presvlačenja)
 - LR₁₋₄ – trajanje četvrtog stupnja larvenog razvića (od piljenja do četvrtog presvlačenja)
 - LR₁₋₅ – trajanje petog stupnja larvenog razvića (od piljenja do petog presvlačenja)
 - LR₁₋₆ – trajanje šestog stupnja larvenog razvića (od piljenja do šestog presvlačenja)
 - LR₅ – trajanje petog stupnja razvića (period od četvrtog do petog presvlačenja za ženke, odnosno, od četvrtog presvlačenja do ulutkavanja za mužjake),
 - LR₆ – trajanje šestog stupnja razvića (period od petog presvlačenja do ulutkavanja kod ženki),
2. L – trajanje razvića lutke (od ulutkavanja do izleganja adulta)
 3. ML – masa lutke trećeg dana od ulutkavanja,
 4. DŽ – dužina života adultnih jedinki (od ispiljavanja adulta do uginuća).

Presvlačenje larvi, ulutkavanje i izleganje adultnih jedinki praćeno je svakodnevno tako da je greška u određivanju trajanja razvića i dužine života adulta +/- 1 dan. Određene su i aktivnosti i količina sledećih komponenti antioksidativnog sistema zaštite:

- superoksid dismutaza (SOD),
- katalaza (CAT),
- askorbat peroksidaza (APx),
- ukupni glutathion (GSH),
- glutathion reduktaza (GR),
- glutathion S transferaza (GST) i
- količina slobodnih SH grupa.

3.3. Biohemijske metode

3.3.1. Priprema homogenata

Vrednosti komponenti antioksidativne zaštite određivane su iz grubih homogenata celih larvi. Larve su po dostizanju određenog stupnja žrtvovane potapanjem u tečnom azotu i to larve od prvog do četvrtog stupnja drugog dana, larve petog, šestog stupnja i lutke trećeg dana, a adulti istog dana po izleganju. Larve su potom upakovane i stavljene u zamrzivač na -24°C do pravljenja homogenata. Larve su homogenizovane (broj obrtaja i trajanje pulsa u sekundama) na ledu u saharoznom puferu (pH 7, 100 mg sveže mase larvi na 2 ml pufera). Homogenati su zatim sonifikovani (frekvencija i trajanje pulsa u sekundama) i centrifugirani na ultracentrifugi na X g, , na 4°C. Supernatant je izdvojen i zamrznut na -24°C do izvođenja reakcija.

3.3.2. Određivanje koncentracije proteina u uzorcima

Koncentracija proteina je određivana po Bradfordovoj metodi (Bradford M.M.,1976) korišćenjem govedjeg serum albumina kao standarda.

3.3.3. Određivanje aktivnosti komponenti antioksidativne zaštite

3.3.3.1. Određivanje aktivnosti superoksid dismutaze

Određivanje aktivnosti ovog enzima vršena je po metodi Mistra i Fridovicha (1972). Princip metode se sastoji u sposobnosti SODa da sprečava autooksidaciju adrenalina u adrenohrom u baznoj sredini. Konverziju adrenalina u adrenohrom prati oslobađanje superoksid anjon radikala, koji ubrzavaju reakciju autooksidacije. Brzina autooksidacije adrenalina prati se spektrofotometrijski preko promene apsorpcije na talasnoj dužini od 480 nm i temperaturi od 25° C. Jedinica aktivnosti superoksid dismutaze je ona količina proteina koja uzrokuje inhibiciju 50% brzinu autooksidacije adrenalina i izražava se kao U/ mg proteina.

3.3.3.2. Određivanje aktivnosti katalaze

Aktivnost ovog enzima određena je po metodi Beutler-a (1982) u supernatantu uzorka tkiva gubara, nakon centrifugiranja. Princip metode se sastoji u spektrofotometrijskom praćenju opadanja ekstinkcije na 230 nm, usled razgradnje H₂O₂ standardne koncentracije (10 mM) koji na ovoj talasnoj dužini ima maksimum apsorpcije. Jedinica aktivnosti je definisana kao broj μ M H₂O₂ redukovanih u minutu, a vrednosti za aktivnost ovog enzima izražavaju se u U/ mg proteina.

3.3.3.3. Određivanje aktivnosti glutacione reduktaze

Aktivnost ovoga enzima određivana je po metodi Glatzle et al (1974). Glutacione reduktaze katalizuje reakciju redukcije oksidovanog glutationa uz potrošnju NADPH. Oksidacija NADPH se prati spektrofotometrijski na 340 nm. Jedinica aktivnosti je definisana kao broj nM NADPH oksidovanih u minuti i izražava se kao U/ mg proteina.

3.3.3.4. Određivanje aktivnosti glutacione S transferaze

Aktivnost ovog enzima određivana je po metodi Habig et al. (1974). Glutacione S transferaze katalizuje konjugaciju 1-hloro-2,4-dinitrobenzena (CDNB) sa SH grupom glutationa. Nastali kompleks CDNB-glutacione apsorbuje svetlost na 340 nm. Aktivnost enzima se određuje praćenjem promena apsorbanca na ovoj talasnoj dužini po minuti. Ona se izražava u nM GSH/ min/ mg proteina.

3.3.3.5. Određivanje količine ukupnog glutationa

Određivanje količine ukupnog glutationa (redukovano GSH i oksidovano GSSG), rađeno je po metodi Griffitha (1980) u homogenatima u kojima su proteini staloženi sulfo-salicilnom kiselinom. Metoda se zasniva na reciklirajućoj proceduri gde se naizmenično vrši oksidacija GSH sa DTNBom (5,5 ditio-bis-2 nitrobenzoicnom kiselinom) i redukcija NADPH uz prisustvo glutathion reduktaze. Brzina formiranja 2-nitro-5 tiobenzoeve kiseline prati se merenjem apsorpcije na 412nm. Izračunavanje količine glutationa se vrši u poređenju sa standardom i izražava se u μM / g tkiva.

3.3.3.6. Određivanje aktivnosti askorbat peroksidaze

Određivanje aktivnosti askorbat peroksidaze rađeno je po metodi Hossain and Asada (1984). Merenje apsorbanca na 290 nm u toku dva minuta vršeno je na sobnoj temperaturi posle dodavanja vodonik peroksida. U reakcionoj smeši je kao inhibitor katalaze iz uzorka korišćen aminotriazol. Količina askorbat peroksidaze izražava se u nmol/ mL/ min proteina.

3.3.3.7. Određivanje aktivnosti slobodnih SH grupa

Određivanje ukupne količine slobodnih SH grupa vršeno je po Elmanovoj metodi (Ellman, 1959), korišćenjem GSH kao standarda. Količina slobodnih SH grupa u uzorku je izražena u nM / ml.

3.4. Statističke metode

Statistička analiza rezultata eksperimenata urađena je korišćenjem statističkog kompjuterskog programa STATISTICA 5 i SAS (izdanje 9.1.3., Service Pack 4, SAS Institute Inc, Covy, NC, USA, 2002-2003).

Značajnost razlika srednjih vrednosti ispitivanih osobina komponenti adaptivne vrednosti između eksperimentalnih grupa (K, C1, C2 i C3) za mlade larvene stupnjeve, ženke i mužjake starijih larvenih stupnjeva, lutki i adulta, procenjena je jednofaktorskom analizom varijanse i LSD testom. Analiza varijanse, za komponente adaptivne vrednosti, rađena je na log-transformisanim vrednostima svojstava, dok je za masene mere pre logaritmovanja izračunat treći koren (Sokal & Rohlf, 1981). Značajnost razlika u prosečnoj aktivnosti komponenti antioksidativne zaštite procenjena je jednofaktorskom analizom varijanse i Tukey testom. Poređenje heritabilnosti je izvršeno sa z-transformisanim vrednostima, a značajnost razlika procenjena t-testom. Komponente fenotipske varijanse, genetička i sredinska varijansa, procenjene su na osnovu srednje vrednosti kvadrata odstupanja (MS) unutar legala i između legala, korišćenjem formule za nebalansirani full-sib dizajn (Becker, 1984).

Dvofaktorska ANOVA je korišćena za određivanje značajnosti genetičkih i sredinskih efekata na osobine adaptivne vrednosti. Procenjivan je efekat faktora prisustva kadmijuma u veštačkoj dijeti (K- kontrola, C1, C2, C3, različite koncentracije kadmijuma u hrani) i pola na komponente adaptivne vrednosti i nivo aktivnosti komponenti antioksidativnog sistema odbrane. Dvofaktorskom analizom varijanse određivana je i značajnost efekta kadmijuma u hrani i pola, na varijabilnost fenotipske plastičnosti u okviru svake sredine (različite koncentracije kadmijuma u dijeti) u odnosu na kontrolnu grupu tokom razvića, kod larvi do 4. stupnja razvića i kod mužjaka i ženki starijih razvojnih stupnjeva, lutki i adulta. Značajna interakcija "pol \times Cd" ukazuje na postojanje varijabilnosti fenotipske plastičnosti u populaciji.

Određivanjem komponenata fenotipske varijanse u dvofaktorskoj analizi varijanse izvršena je procena fenotipske plastičnosti (δ_{pl}^2), heritabilnosti svojstva (h_s^2) i heritabilnosti plastičnosti (h_{pl}^2) za komponente adaptivne vrednosti kod mlađih i starijih larvenih stupnjeva, lutki i adulta (Scheiner & Lyman, 1989).

Vrednosti fenotipskih i genetičkih korelacija dobijeni su preko Pirsonovog proizvoda momenata između vrednosti osobina nezavisno od genotipa (legla),

odnosno između srednjih vrednosti osobina po leglima (Sokal & Rohlf, 1981). Fenotipske korelacije su određivane u okviru različitih sredina (hrana bez dodatka kadmijuma – kontrola K; i različitim koncentracijama kadmijuma C1, C2 i C3) kao i između sredina kod ženki i mužjaka starijih larvenih stupnjeva, lutki i adulta. Genetičke korelacije su određivane između sredina i u okviru različitih sredina kod mladih larvenih stupnjeva kao i kod ženki i mužjaka starijih larvenih stupnjeva, lutki i adulta, kao i između polova u okviru različitih sredina. Značajnosti ovih korelacija, kao i značajnost razlika između grupa, testirane su z-testom.

Indeks fenotipske plastičnosti izračunat je prema Čepliku (Cheplick, 1995) i Liju (Li et al., 2001). Za poređenje indeksa fenotipske plastičnosti različitih osobina između različitih sredina, kao i između polova, koristi se Vilkoksonov test. Urađeni su i koeficijenti varijacije, a značajnost razlika u variranju indeksa utvrđena je F-testom.

Fenotipska plastičnost je izračunata kao apsolutna vrednost razlika srednjih vrednosti posmatrane osobine u kontroli i tretmanu, u okviru svakog genotipa. Zatim je jednofaktorskom analizom varijanse izvršena procena značajnosti razlika srednjih vrednosti plastičnosti osobina adaptivne vrednosti. Za meru adaptivne vrednosti korišćene su osobine: ukupno larveno razviće (LR), masa lutke (ML), razviće lutke (L) i dužine života adulta (DŽ). Relativna adaptivna vrednost je procenjena kao količnik apsolutne i prosečne apsolutne adaptivne vrednosti u dvema sredinama (K i C1, C2, C3). Analiza adaptivne plastičnosti urađena je regresijom relativne adaptivne vrednosti za dužinu života kao merom fitnesa u odnosu na ostale komponente fitnesa gubara (LR, ML, L).

Analizom kovarijanse testirana je značajnost razlika regresionih koeficijenata između različitih sredina u okviru ispitivanih populacija (HK-HT, BK-BT), kao i između grupa larvi iz različitih populacija gajenih na kontrolnoj ili na dijeti sa dodatkom taninske kiseline (HK-BK, HT-BT).

Za kvantifikovanje intenziteta selekcije koja deluje na osobine adaptivne vrednosti, u različitim uslovima sredine (K, C1, C2, i C3), procenjeni su standardizovani selekcionni gradijenti koji u jedinicama fenotipske standardne devijacije kvantifikuju efekat svake od osobina na relativnu adaptivnu vrednost (Lande & Arnold, 1983). Za meru adaptivne vrednosti uzeta je osobina dužina života adulta (DŽ).

Intenziteti i pravci selekcije procenjeni su metodom parcijalne regresije relativne adaptivne vrednosti na standardizovane vrednosti osobina, njihove kvadrate i proizvode, korišćenjem SAS GLM procedure (SAS 9.1.3. Service Pack 4). Linearni selekcionni gradijent (β') je mera intenziteta direkcione selekcije koja može delovati u smeru povećanja ili smanjenja ispitivane osobine. Nelinearni selekcionni gradijent (γ') procenjuje značajnost disruptivne ($\gamma > 0$) ili stabilizacione selekcije ($\gamma < 0$), koja povećava odnosno smanjuje varijansu date osobine.

Analizom kovarijanse poređena je značajnost razlika u selekcionim gradijentima između kontrolne grupe (K) i grupa gajenih na dijeti sa dodatkom različite koncentracije kadmijuma (C1, C2 i C3).

4. REZULTATI

4.1. Uticaj kadmijuma na komponente adaptivne vrednosti

U tabeli 1. prikazane su srednje vrednosti i standardne greške za trajanje prvog larvenog stupnja, kao i trajanja razvića do ulaska u III, IV i V stupnja larvi gubara koje su gajene na veštačkoj dijeti bez kadmijuma (K) i dijetama sa dodatkom različitih koncentracija kadmijuma (C1- 10 µg/g, C2- 30 µg/g, C3-50 µg/g suve podloge). Jednofaktorskom analizom varijanse utvrđeno je da prisustvo kadmijuma u dijeti utiče značajno samo na trajanje razvića od piljenja do ulaska u V larveni stupanj. Šifovim testom multipnih rangova je utvrđeno da se trajanje razvića do petog stupnja kod jedinki iz grupe C3 značajno produžava u odnosu na jedinke iz grupe C1.

U tabeli 2. su prikazane srednje vrednosti i standardne greške za osobine adaptivne vrednosti kod larvi, lutki i adulta gubara oba pola u sve četiri eksperimentalne grupe (K, C1, C2, C3). Kod ženki se uočavaju značajne razlike u trajanju šestog stupnja larvenog razvića između jedinki iz kontrolne grupe i grupa hranjenih dijetom sa različitim koncentracijama kadmijuma. Međutim, Šifov test multipnih rangova nije pokazao da između pojedinačnih parova analiziranih grupa postoje statistički značajne razlike za ovu osobinu.

Jednofaktorska analiza varijanse je, takođe, pokazala da prisustvo kadmijuma značajno utiče na masu lutke, trajanje razvića lutke i dužini života adultnih ženki. Šifov test multipnih rangova ukazuje da se eksperimentalna grupa C3 značajno razlikovala u odnosu na ostale grupe po smanjenoj masi. Pomenutim statističkim analizama je potvrđeno da ženke iz C3 eksperimentalne grupe imaju značajno kraće trajanje života u adultnom periodu, u odnosu na jedinke iz eksperimentalnih grupa K i C2.

Mužjaci gubara gajeni na dijetama sa i bez kadmijuma se statistički značajno razlikuju jedino u masi lutke. Naime, mužjaci iz eksperimentalne grupe

Tabela 1. Srednje vrednosti (\bar{X}) i standardne greške (SE) za trajanje razvića larvi od prvog do četvrtog stupnja, gajenih na veštačkoj dijeti bez (K) i dijeti sa dodatkom različitih koncentracija kadmijuma (C1, C2, i C3). Značajnost razlika između grupa određena je analizom varijanse (F vrednosti). Objašnjenje za skraćenice iz tabele dato je u poglavlju Materijal i metode. n – broj analiziranih jedinki; **P<0.01

Osobina	K		C1		C2		C3		F (P)
	n	$X \pm SE$	n	$X \pm SE$	n	$X \pm SE$	n	$X \pm SE$	
LR ₁	212	12.46±0.21	205	12.03±0.24	190	11.74±0.24	160	11.87±0.28	1.42
LR ₁₋₂	203	17.15±0.22	202	16.64±0.25	192	16.37±0.26	157	16.95±0.32	1.31
LR ₁₋₃	206	22.86±0.22	201	22.38±0.22	195	22.35±0.25	156	23.15±0.29	2.04
LR ₁₋₄	205	28.82±0,24 ^{ab}	202	28.06±0.24 ^a	189	28.51±0.25 ^{ab}	149	29.43±0.28 ^b	4.49**

a, b – vrednosti označene različitim slovima su značajno različite (Šifov test multipnih rangova)

Tabela 2. Srednje vrednosti (\bar{X}) i standardne greške (SE) za osobine adaptivne vrednosti kod larvi, lutki i adulta ženki i mužjaka gubara, gajenih na veštačkoj dijeti bez (K) i dijeti sa dodatkom različitih koncentracija kadmijuma (C1, C2, C3). Značajnost razlika između grupa određena je jednofaktorskom analizom varijanse (F vrednosti). Objašnjenje za skraćenice iz tabele dato je u poglavlju Materijal i metode. n – broj analiziranih jedinki; *P<0.05, **P<0.01, ***P<0.001.

Pol	Osobina	K		C1		C2		C3		F (P)
		n	$\bar{X} \pm SE$	n	$\bar{X} \pm SE$	n	$\bar{X} \pm SE$	n	$\bar{X} \pm SE$	
ženke	LR ₅	114	6.82±0.08	102	6.80±0.11	85	6.53±0.12	61	6.72±0.12	2.17
	LR ₆	114	12.98±0.23	103	13.73±0.21	85	13.80±0.16	62	13.74±0.32	3.25*
	LR ₁₋₅	116	34.48±0.29	106	34.55±0.38	88	34.23±0.40	62	35.60±0.53	1.60
	LR ₁₋₆	124	48.63±0.33	110	48.88±0.44	93	48.15±0.42	63	49.87±0.90	0.69
	L	123	12.66±0.08	110	12.42±0.09	92	12.64±0.10	59	12.27±0.10	3.36*
	ML	124	2043.22±37.39 ^a	110	2037.82±44.01 ^a	93	2159.86±46.69 ^a	63	1803.78±56.19 ^b	8.70***
	DŽ	119	8.68±0.17 ^a	105	8.32±0.17 ^{ab}	92	8.97±0.19 ^a	58	7.90±0.31 ^b	4.99**
mužjaci	LR ₅	85	11.06±0.32	102	11.98±0.29	98	12.20±0.23	78	12.59±0.23	1.96
	LR ₁₋₅	85	42.36±0.43	102	42.32±0.50	99	41.50±0.39	78	43.28±0.49	1.95
	L	84	14.98±0.14	102	14.64±0.12	99	14.52±0.10	73	14.64±0.14	2.26
	ML	85	502.46±10.07 ^a	102	487.51±9.39 ^a	99	488.66±9.80 ^a	78	433.20±10.45 ^b	9.66***
	DŽ	84	4.49±0.12	101	4.44±0.09	97	4.66±0.16	70	4.39±0.11	1.75

a, b – vrednosti označene različitim slovima su značajno različite (Šifov test multipnih rangova)

C3 imaju značajno manju masu u odnosu na mužjake iz ostale tri eksperimentalne grupe. U ostalim osobinama adaptivne vrednosti nema statistički značajnih razlika između eksperimentalnih grupa.

Dvofaktorska analiza varijanse (Tabela 3) je pokazala polno specifične razlike u trajanju petog stupnja. Peti stupanj traje kraće kod ženki nego kod mužjaka. Takođe, uočava se značajan efekat interakcije „pol x Cd“ što ukazuje da se u osetljivosti ove osobine na prisustvo kadmijuma u hrani, mužjaci i ženke značajno razlikuju. Kod mužjaka se, za razliku od ženki, trajanje petog larvenog stupnja produžava sa povećavanjem koncentracije kadmijuma prisutnog u hrani. Na značajne razlike u trajanju larvenog razvića do petog stupnja, trajanju razvića lutke, masu lutke i dužinu života adulta kod gubara, značajno utiče pol, ali i prisustvo kadmijuma u hrani.

Mušjaci gubara imaju značajno duže trajanje larvenog razvića do petog stupnja i razvića lutke u odnosu na ženke, dok se kod ženki uočava značajno veća masa lutke i adultna dužina života u odnosu na mužjake. Načelno, larveno razviće do petog stupnja u proseku traje duže kod oba pola u eksperimentalnim grupama tretiranim kadmijumom u odnosu na jedinke gajene u kontrolnim uslovima iako nije detektovana statistička značajnost ovih razlika. Masa lutke je manja kod oba pola u grupama tretiranim kadmijumom u poređenju sa kontrolom. Mušjaci ne pokazuju statistički značajan efekat kadmijuma na brzinu razvića lutke i dužinu života. S druge strane, statistički značajno skraćanje života ženki tretiranih kadmijumom, posebno na visokim koncentracijama ovog elementa, ukazuje na polno specifične razlike u osetljivosti razvića na uslove stresa u staništu.

U tabeli 4. prikazane su vrednosti proseka kvadrata odstupanja od srednje vrednosti osobina adaptivne vrednosti dobijene dvofaktorskom analizom varijanse kod larvi, lutki, i adulta gubara oba pola za svaku eksperimentalnu grupu posebno, u odnosu na kontrolnu grupu. Trajanje petog stupnja larvenog razvića značajno se razlikuje u zavisnosti od pola u sve tri eksperimentalne grupe i kod

mužjaka traje duže nego kod ženki u poređenju sa mužjacima i ženkama kontrolne grupe. Kod C2 grupe beleži se i značajan nivo interakcije “pol × Cd” što znači da mužjaci C2 eksperimentalne grupe, u prisustvu kadmijuma, produžavaju razviće tokom petog larvenog stupnja u odnosu na ženke u poređenju sa mužjacima i ženkama kontrolne grupe.

Tabela 3. Prosek kvadrata odstupanja od srednje vrednosti za osobine adaptivne vrednosti pomnožen sa 100 (MS) dobijen dvofaktorskom analizom varijanse, kod larvi, lutki i adulta ženki i mužjaka gubara, gajenih na veštačkoj dijeti bez (K), i dijeti sa dodatkom kadmijuma (C1, C2 ili C3). Pol i koncentracija kadmijuma su fiksirani faktori. *P<0.05, **P<0.01, ***P<0.001

<i>Osobina</i>		<i>Izvor variranja</i>			
		<i>Pol</i>	<i>Cd</i>	<i>Pol x Cd</i>	<i>Greška</i>
LR ₅	df	1	3	3	708
	MS	1481.493	0.632	2.442	0.723
	F(P)	606.61***	0.87	3.38*	
LR ₁₋₅	df	1	3	3	710
	MS	133.302	0.882	0.039	0.229
	F(P)	3452.56***	3.86**	0.169	
L	df	1	3	3	718
	MS	80.722	0.363	0.232	0.110
	F(P)	347.71***	3.28*	2.10	
ML	df	1	3	3	731
	MS	795,603	1.688	0.202	0.088
	F(P)	3929.83***	19.106***	2.291	
DŽ	df	1	3	3	698
	MS	1357.888	4.590	2.149	1.306
	F(P)	631.98***	3.51*	0.18	

Pol jedinki značajno utiče na trajanje larvenog razvića do petog stupnja kod sve tri eksperimentalne grupe u odnosu na kontrolnu i značajno je duže kod mužjaka u odnosu na ženke. Međutim, na znatno duže trajanje larvenog razvića do petog stupnja kod mužjaka C3 eksperimentalne grupe u odnosu na ženke značajno utiče i prisustvo kadmijuma u ishrani.

Na razlike između ženki i mužjaka u trajanju razvića lutke utiče i pol ali i prisustvo kadmijuma u ishrani kod sve tri eksperimentalne grupe u odnosu na kontrolnu bez kadmijuma. Kod mužjaka gubara razviće u stadijumu lutke traje duže u odnosu na ženke u svim eksperimentalnim grupama u odnosu na kontrolnu. Odustvo interakcija "pol × kadmijum" ukazuje na to da ženke i mužjaci u okviru eksperimentalnih grupa, u pogledu trajanja razvića lutke, reaguju slično na uslove ishrane.

Masa lutke se razlikuje između polova i ženke imaju značajno veću masu u sva tri tretmana kadmijumom u odnosu na mužjake. Značajnom smanjenju mase kod ženki i mužjaka u C3 eksperimentalnoj grupi u odnosu na kontrolnu grupu doprinosi prisustvo najveće koncentracije kadmijuma. Kod C2 eksperimentalne grupe se uočava i prisustvo značajne intrakcije "pol × Cd" što znači da ženke i mužjaci kod C2 grupe odgovaraju različito na prisustvo kadmijuma, i to ženke povećanjem mase a mužjaci smanjenjem mase lutke u odnosu na kontrolnu grupu.

Na razlike u dužini života adulta, između kontrolne i eksperimentalnih grupa odgajanih u prisustvu kadmijuma u hrani, presudno utiče pol i ženke žive znatno duže od mužjaka. Kod C3 eksperimentalne grupe postoji i značajan uticaj kadmijuma na dužinu adultnog života gubara. Naime, dužina života ženki se značajno smanjuje u prisustvu najveće koncentracije kadmijuma u odnosu na kontrolnu grupu, dok se kod mužjaka uočava skraćenje dužine života ali bez statističke značajnosti u odnosu na kontrolu.

Tabela 4. Prosek kvadrata odstupanja od srednje vrednosti za osobine adaptivne vrednosti pomnožen sa 100 (MS) dobijen dvofaktorskom analizom varijanse, kod larvi, lutki i adulta gubara oba pola, gajenih na veštačkoj dijeti bez (K) i dijeti sa dodatkom različitih koncentracija kadmijuma (C1, C2, C3). *P<0.05, **P<0.01, ***P<0.001

<i>Osobina</i>			<i>Izvor variranja</i>			
			<i>Pol</i>	<i>Cd</i>	<i>Pol x Cd</i>	<i>Greška</i>
LR ₅	C1	df	1	1	1	403
		MS	772.847	2.698	2.847	0.862
		F(P)	271.41*	3.13	3.30	
	C2	df	1	1	1	384
		MS	745.194	0.013	3.348	0.824
		F(P)	222.54*	0.02	4.06*	
	C3	df	1	1	1	336
		MS	627.753	1.229	2.758	0.723
		F(P)	227.62*	1.70	3.81	
LR ₁₋₅	C1	df	1	1	1	420
		MS	78.248	0.023	0.016	0.254
		F(P)	4916.77**	0.091	0.062	
	C2	df	1	1	1	384
		MS	72.180	0.408	0.055	0.175
		F(P)	1317.00*	2.33	0.31	
	C3	df	1	1	1	337
		MS	62.048	0.965	0.027	0.177
		F(P)	2322.24*	5.46*	0.15	
L	C1	df	1	1	1	416
		MS	53.496	0.891	0.002	0.113
		F(P)	27121.98**	7.86**	0.02	

	C2	df	1	1	1	395
		MS	43.226	0.440	0.357	0.109
		F(P)	120.94*	4.02*	3.27	
	C3	df	1	1	1	335
		MS	43.677	1.029	0.028	0.110
		F(P)	1574.11*	9.35**	0.25	
ML	C1	df	1	1	1	405
		MS	450.099	0	0.232	0.079
		F(P)	1939.96*	0.001	2.93	
	C2	df	1	1	1	398
		MS	434.111	0.042	0.411	0.077
		F(P)	1054.84*	0.55	5.37*	
	C3	df	1	1	1	346
		MS	349.529	3.229	0.053	0.095
		F(P)	6546.31**	34.07***	0.56	
DŽ	C1	df	1	1	1	401
		MS	794.609	0.629	0.442	1.011
		F(P)	1796.17*	0.62	0.44	
	C2	df	1	1	1	383
		MS	809.249	1.208	0.060	1.322
		F(P)	13389.23**	0.91	0.05	
	C3	df	1	1	1	322
		MS	548.284	6.476	3.222	1.299
		F(P)	170.15*	4.98*	2.48	

4.2. Heritabilnost u širem smislu

U tabeli 5. je prikazana heritabilnost u širem smislu za trajanje I larvenog stupnja i trajanja larvenog razvića do ulaska u III, IV i V stupanj. Uočava se statistički značajna heritabilnost kod svih eksperimentalnih grupa bez obzira da li su jedinke rasle u kontrolnim uslovima ili na dijetama sa dodatkom različitih koncentracija kadmijuma. Rezultati jasno pokazuju veći uticaj genetičkih faktora u odnosu na sredinske za trajanje larvenog razvića od prvog do kraja četvrtog stupnja.

Tabela 5. Heritabilnost u širem smislu ($h^2 \pm SE$) za trajanje razvića larvi gubara od prvog do četvrtog stupnja, gajenih na veštačkoj dijeti bez (K) i dijeti sa dodatkom različitih koncentracija kadmijuma (C1, C2, C3). Broj legala (N) je naveden redom za svaku osobinu. Značajnost heritabilnosti je određena t-testom. *** $P < 0.001$.

Osobina	K(N=26,25,25,25)	C1(N=27,27,27,28)	C2(N=23,23,23,23)	C3(N=20,20,20,20)
LR ₁	0.386*** \pm 0.148	0.524*** \pm 0.170	0.455*** \pm 0.165	0.417*** \pm 0.168
LR ₁₋₂	0.466*** \pm 0.163	0.557*** \pm 0.175	0.444*** \pm 0.163	0.572*** \pm 0.189
LR ₁₋₃	0.485*** \pm 0.165	0.392*** \pm 0.149	0.496*** \pm 0.170	0.741*** \pm 0.203
LR ₁₋₄	0.403*** \pm 0.152	0.423*** \pm 0.155	0.456*** \pm 0.166	0.876*** \pm 0.208

Poređenjem vrednosti heritabilnosti u širem smislu (Tabela 6) uočava se da jedino jedinke iz eksperimentalne grupe C3 imaju značajno veću heritabilnost u širem smislu od kontrolne grupe i to za trajanje larvenog razvića do ulaska u V stupanj.

U tabeli 7. prikazana je heritabilnost u širem smislu za trajanje petog i šestog stupnja larvenog razvića, razvića do kraja petog i larvenog razvića do kraja šestog stupnja, masu lutke, trajanje razvića lutke i dužinu života adulta ženki i mužjaka gubara, gajenih u kontrolnim uslovima i grupama sa tri različite koncentracije kadmijuma. Značajna heritabilnost uočava se za trajanje petog stupnja larvenog razvića kod mužjaka u kontrolnoj, C1 i C3 grupi, a kod ženki u svim eksperimentalnim grupama.

Tabela 6. t-vrednosti dobijene poređenjem heritabilnosti u širem smislu za larveno razviće od prvog do četvrtog stupnja između larvi hranjenih dijetom bez kadmijuma (K) i dijetom sa dodatkom različitih koncentracija kadmijuma (C1, C2, C3). Poređenje je izvršeno sa z-transformisanim vrednostima heritabilnosti. ***P<0.001

<i>Osobina</i>	<i>C1</i>	<i>C2</i>	<i>C3</i>
LR ₁	0.645	0.300	0.127
LR ₁₋₂	0.438	0.099	0.472
LR ₁₋₃	0.426	0.046	1.348
LR ₁₋₄	0.092	0.232	2.957***

Larveno razviće do kraja petog stupnja kod ženki i mužjaka gubara, kako u kontrolnim tako i u svim grupama tretiranim kadmijumom, ima takođe značajnu heritabilnost. Kod ženki postoji značajna heritabilnost i za trajanje šestog stupnja larvenog razvića u C1 eksperimentalnoj grupi, kao i za trajanje larvenog razvića do kraja šestog stupnja u kontrolnoj i C1 i C2 grupi. Trajanje razvića lutki kod ženki gubara ima značajnu heritabilnost u kontrolnoj, C1 i C2 eksperimentalnoj grupi, a kod mužjaka je ona značajna samo kod C1 i C3 grupe. Značajnu heritabilnost za masu lutke imaju mužjaci u kontrolnoj, C1 i C3 grupi, dok je kod ženki ona značajna samo u C3 eksperimentalnoj grupi. Ženke jedine imaju i značajnu heritabilnost za dužinu života u adultnom periodu.

Poređenjem vrednosti za heritabilnost u širem smislu između kontrolne grupe i grupa tretiranih različitim koncentracijama kadmijuma (Tabela 8), uočava se značajno viša vrednost kod mužjaka C3 eksperimentalne grupe u heritabilnosti za trajanje larvenog razvića do kraja petog stupnja u odnosu na kontrolnu grupu. Dakle, iako se pod uticajem različitih koncentracija kadmijuma kod oba pola gubara može uočiti promena u udelu genetičke varijanse u ukupnoj fenotipskoj varijansi osobina adaptivne vrednosti, značajno povećanje genotipskih razlika (između familija) u odnosu na kontrolnu sredinu uočava se samo u larvenom razviću mužjaka pri najvećim zastupljenostima kadmijuma u hrani.

U skladu sa prethodnim nalazima, ženke i mužjaci značajno se razlikuju u heritabilnosti samo u uslovima najveće koncentracije kadmijuma (C3) i to za osobinu trajanje razvića tokom pet larvenih stupnja (LR₁₋₅, Tabela 9).

Tabela 7. Heritabilnost u širem smislu ($h^2 \pm SE$) za osobine adaptivne vrednosti larvi, lutki i adulta gubara oba pola, gajenih na veštačkoj dijeti bez (K) i dijeti sa dodatkom različitih koncentracija kadmijuma (C1, C2, C3). N je broj analiziranih legala. Značajnost heritabilnosti je određena t-testom. *P<0.05, **P<0.01, ***P<0.001

<i>Pol</i>	<i>Osobina</i>	<i>K(N=22)</i>	<i>C1(N=21)</i>	<i>C2(N=21)</i>	<i>C3(N=15)</i>
ženke	LR ₅	0.276**±0.168	0.289**±0.181	0.243*±0.195	0.537*±0.274
	LR ₆	-0.004±0.103	0.302**±0.180	0.031±0.153	-0.205±0.165
	LR ₁₋₅	0.543***±0.205	0.330**±0.191	0.343*±0.210	0.524*±0.271
	LR ₁₋₆	0.319***±0.168	0.366***±0.185	0.212*±0.177	-0.202±0.161
	L	0.155*±0.135	0.139*±0.149	0.286*±0.192	-0.161±0.191
	ML	0.090±0.119	0.094±0.136	0.083±0.151	0.569**±0.269
	DŽ	0.084±0.122	0.088±0.136	-0.205±0.074	0.332*±0.272
mužjaci		<i>(N=20)</i>	<i>(N=24)</i>	<i>(N=22)</i>	<i>(N=18)</i>
	LR ₅	0.502**±0.227	0.453***±0.205	0.102±0.147	0.447**±0.232
	LR ₁₋₅	0.383**±0.2157	0.310**±0.184	0.625***±0.223	0.935***±0.240
	L	0.158±0.181	0.143*±0.152	0.140±0.155	0.347*±0.231
	ML	0.209*±0.189	0.387**±0.195	0.081±0.142	0.482**±0.235
DŽ	-0.117±0.114	0.090±0.141	0.039±0.135	0.224±0.222	

Tabela 8. t-vrednosti dobijene poređenjem heritabilnosti u širem smislu za osobine adaptivne vrednosti između larvi, lutki i adulta gubara oba pola, hranjenih dijetom bez kadmijuma (K) i dijetom sa dodatkom različitih koncentracija kadmijuma (C1, C2, C3). Poređenje je izvršeno sa z-transformisanim vrednostima heritabilnosti. ***P<0.001

<i>Pol</i>	<i>Osobina</i>	<i>C1</i>	<i>C2</i>	<i>C3</i>
ženke	LR ₅	0.056	0.135	0.972
	LR ₆	1.815	0.344	1.173
	LR ₁₋₅	0.927	0.837	0.078
	LR ₁₋₆	0.205	0.459	0.439
	L	0.080	0.582	0.028
	ML	0.025	0.040	1.893
	DŽ	0.020	0.603	0.998
mužjaci	LR ₅	0.207	1.658	0.215
	LR ₁₋₅	0.293	1.046	3.720***
	L	0.069	0.081	0.723
	ML	0.718	0.604	1.025
	DŽ	0.146	0.406	0.446

Tabela 9. t-vrednosti dobijene poređenjem heritabilnosti u širem smislu za osobine adaptivne vrednosti između ženki i mužjaka gubara, hranjenih dijetom bez kadmijuma (K) i dijetom sa dodatkom različitih koncentracija kadmijuma (C1, C2, C3). Poređenje je izvršeno sa z-transformisanim vrednostima heritabilnosti. ***P<0.001

<i>Osobina</i>	<i>K</i>	<i>C1</i>	<i>C2</i>	<i>C3</i>
LR ₅	0.920	0.698	0.627	0.329
LR ₁₋₅	0.673	0.082	1.206	2.908***
L	0.013	0.018	0.628	0.646
ML	0.577	1.349	0.015	0.326
DŽ	0.177	0.011	0.886	0.369

4.3. Plastičnost

4.3.1. Varijabilnost fenotipske plastičnosti

Rezultati u tabeli 10. prikazuju varijabilnost fenotipske plastičnosti kod mladih larvenih stupnjeva (1-4 stupanj) razvića. Značajnost interakcije „genotip × sredina“ odnosno „leglo (L) × kadmijum (Cd)“ ukazuje na postojanje varijabilnosti u fenotipskoj plastičnosti u odgovoru na sve tri koncentracije kadmijuma za sve ispitivane osobine, kako za trajanje prvog larvenog stupnja (LR₁) tako i za trajanje razvića tokom dva (LR₁₋₂), tri (LR₁₋₃) i četiri larvena stupnja (LR₁₋₄). Postoji takođe i značajan doprinos genotipa (faktor „leglo (L)“ u analizi varijanse) variranju osobina razvića u mladim larvenim stupnjevima nezavisno od ispitivane koncentracije kadmijuma. Značajan uticaj sredine (kadmijum) je uočen samo za trajanje prvog stupnja i trajanje prva dva stupnja larvenog razvića u eksperimentalnoj grupi C2.

Tabela 10. Prosek kvadrata odstupanja od srednje vrednosti komponenti adaptivne vrednosti pomnožen sa 100 (MS) dobijen dvofaktorskom analizom varijanse, kod larvi gubara od prvog do četvrtog stupnja, gajenih na veštačkoj dijeti bez (K), i dijeti sa dodatkom različitih koncentracija kadmijuma (C1, C2, C3). Leglo (L) je slučajni faktor, a prisustvo kadmijuma (Cd) fiksiran faktor; *P<0.05, **P<0.01, ***P<0.001

<i>Osobina</i>			<i>Izvor variranja</i>			
			<i>L</i>	<i>Cd</i>	<i>LxCd</i>	<i>Greška</i>
LR ₁	C1	df	24	1	24	365
		MS	8.351	4.140	1.603	0.953
		F(P)	8.76***	2.58	1.68*	
C2	C2	df	22	1	22	337
		MS	7.475	12.967	1.655	0.984
		F(P)	7.60***	7.83*	1.68*	
C3	C3	df	19	1	19	296
		MS	6.163	6.953	2.131	0.934
		F(P)	6.60***	3.26	2.28**	

LR ₁₋₂	C1	df	24	1	24	355
		MS	4.426	2.660	0.899	0.460
		F(P)	9.61***	2.96	1.95**	
	C2	df	22	1	22	334
		MS	3.858	8.321	0.842	0.520
		F(P)	7.43***	9.88**	1.62*	
	C3	df	19	1	19	288
		MS	3.612	1.516	1.435	0.477
		F(P)	7.57***	3.18	3.01***	
LR ₁₋₃	C1	df	24	1	24	357
		MS	2.149	1.538	0.404	0.255
		F(P)	8.44***	3.80	1.59*	
	C2	df	22	1	22	340
		MS	2.277	2.086	0.554	0.279
		F(P)	8.17***	3.77	1.99**	
	C3	df	19	1	19	291
		MS	2.061	0.058	0.786	0.227
		F(P)	9.07***	0.07	3.46***	
LR ₁₋₄	C1	df	24	1	24	355
		MS	1.273	1.865	0.595	0.196
		F(P)	6.49***	3.13	3.03***	
	C2	df	22	1	22	333
		MS	1.280	0.591	0.345	0.195
		F(P)	6.56***	1.71	1.77*	
	C3	df	19	1	19	280
		MS	1.284	0.368	0.538	0.145
		F(P)	8.84***	0.68	3.70***	

Analizom varijabilnosti fenotipske plastičnosti kod ženki za trajanje petog (LR₅) i šestog stupnja (LR₆), larvenog razvića tokom pet stupnjeva (LR₁₋₅), larvenog razvića tokom šest stupnjeva (LR₁₋₆), masu lutke (ML), trajanja razvića lutke (L) i dužinu života (DŽ) adultnih ženki (Tabela 11) utvrđeno je postojanje varijabilnosti fenotipske plastičnosti (značajna interakcija “genotip × sredina“) za trajanje šestog stupnja larvenog razvića u odgovoru na C1 koncentraciju kadmijuma i za masu lutke u odgovoru na C1 i C3 koncentraciju kadmijuma. Na variranje ispitivanih osobina adaptivne vrednosti kod ženki gubara utiče genotip (leglo) za sledeće osobine: trajanje petog stupnja, trajanje larvenog razvića tokom pet stupnjeva, trajanje larvenog razvića tokom šest stupnjeva i masu lutke u svim eksperimentalnim grupama. Uticaj genotipa na varijabilnost osobina adaptivne vrednosti se uočava i za trajanje razvića lutke u grupama C1 i C2 i dužinu života adultnih ženki u grupama C1 i C3. Značajan uticaj sredine odnosno kadmijuma na varijabilnost osobina adaptivne vrednosti je bio vidljiv u slučaju trajanja petog larvenog stupnja na C2, trajanje šestog stupnja larvenog razvića na C2 i C3, masu lutke na C2 koncentraciji kadmijuma i dužinu života adultnih ženki u C1 i C3 eksperimentalnoj grupi.

Tabela 11. Prosek kvadrata odstupanja od srednje vrednosti u dvofaktorskoj analizi varijanse pomnožen sa 100 (MS) za osobine adaptivne vrednosti kod larvi, lutki i adulta ženki gubara, gajenih na veštačkoj dijeti bez (K), i dijeti sa dodatkom različitih koncentracija kadmijuma (C1, C2, C3). Leglo (L) je slučajni faktor, a prisustvo kadmijuma (Cd) fiksiran faktor; *P<0.05, **P<0.01, ***P<0.001

<i>Osobina</i>			<i>Izvor variranja</i>			
			<i>L</i>	<i>Cd</i>	<i>LxCd</i>	<i>Greška</i>
LR ₅	C1	df	20	1	20	153
		MS	0.898	0.002	0.450	0.339
		F(P)	2.65***	0.004	1.33	
	C2	df	19	1	19	146
		MS	203.040	291.378	35.342	80.715
		F(P)	2.51**	8.24**	2.51	

	C3	df	14	1	14	103
		MS	0.726	0.306	0.470	0.278
		F(P)	2.61**	0.65	1.69	
LR ₆	C1	df	20	1	20	154
		MS	1.215	1.623	1.690	0.987
		F(P)	1.23	0.96	1.71*	
	C2	df	19	1	19	146
		MS	493.594	2945.878	425.711	413.016
		F(P)	1.19	6.92*	1.03	
	C3	df	14	1	14	103
		MS	1.111	3.533	0.753	0.912
		F(P)	1.22	4.69*	0.83	
LR ₁₋₅	C1	df	22	1	22	173
		MS	0.009	0.001	0.002	0.002
		F(P)	5.50***	0.40	1.20	
	C2	df	21	1	21	160
		MS	0.007	0.001	0.001	0.002
		F(P)	4.80***	0.50	0.60	
	C3	df	14	1	14	110
		MS	0.009	0.0001	0.002	0.001
		F(P)	6.10***	0.10	1.30	
LR ₁₋₆	C1	df	22	1	22	178
		MS	0.452	0.039	0.131	0.096
		F(P)	4,71***	0,29	1,37	
	C2	df	20	1	20	156
		MS	0.371	0.028	0.090	0.085
		F(P)	4.39***	0.31	1.07	

	C3	df	14	1	14	110
		MS	0.747	0.016	0.203	0.295
		F(P)	2.53**	0.080	0.69	
L	C1	df	22	1	22	175
		MS	0.189	0.222	0.106	0.084
		F(P)	2.24**	2.091	1.26	
	C2	df	21	1	21	158
		MS	0.190	0.001	0.141	0.088
		F(P)	2.17**	0.01	1.60	
	C3	df	14	1	14	105
		MS	0.131	0.184	0.070	0.074
		F(P)	1.77	2.63	0.95	
ML	C1	df	22	1	22	178
		MS	0.322	0.002	0.131	0.073
		F(P)	4.42***	0.018	1.807*	
	C2	df	20	1	20	156
		MS	0.350	0.423	0.096	0.067
		F(P)	5.20***	4.42*	1.42	
	C3	df	14	1	14	112
		MS	0.347	0.821	0.260	0.092
		F(P)	3.77***	3.16	2.83**	
DŽ	C1	df	21	1	21	165
		MS	1.579	4.253	0.822	0.900
		F(P)	1.75*	5.18*	0.91	
	C2	df	20	1	20	154
		MS	0.804	0.803	0.796	1.042
		F(P)	0.77	1.01	0.763	

C3	df	14	1	14	102
	MS	3.064	15.375	1.053	1.187
	F(P)	2.58**	14.59**	0.89	

Kod mužjaka gubara (Tabela 12) varijabilnost fenotipske plastičnosti (značajna interakcija “genotip × sredina“) uočena je samo za trajanje larvenog razvića tokom 5 stupnjeva i trajanje petog stupnja larvenog razvića u odgovoru na C2. Genotip značajno doprinosi variranju ispitivanih osobina u slučaju trajanja larvenog razvića do petog stupnja, trajanje petog stupnja (C2) i masu lutke na svim koncentracijama. Značajan efekat kadmijuma na osobine adaptivne vrednosti mužjaka gubara uočen je jedino za masu lutke i to kod C3 eksperimentalne grupe.

Tabela 12. Prosek kvadrata odstupanja od srednje vrednosti u dvofaktorskoj analizi varijanse pomnožen sa 100 (MS) za osobine adaptivne vrednosti kod larvi, lutki i adulta mužjaka gubara, gajenih na veštačkoj dijeti bez (K), i dijeti sa dodatkom različitih koncentracija kadmijuma (C1, C2, C3). Leglo (L) je slučajan faktor, a prisustvo kadmijuma (Cd) fiksiran faktor;

*P<0.05, **P<0.01, ***P<0.001

<i>Osobina</i>			<i>Izvor variranja</i>			
			<i>L</i>	<i>Cd</i>	<i>L x Cd</i>	<i>Greška</i>
LR ₅	C1	df	17	1	17	119
		MS	2.632	2.146	1.357	1.746
		F(P)	1.51	1.58	0.78	
C2	C2	df	15	1	15	106
		MS	2.163	4.066	1.610	0.795
		F(P)	2.72**	2.53	2.03*	
C3	C3	df	13	1	13	88
		MS	0.996	0.427	0.587	0.868
		F(P)	1.15	0.728	0.68	

LR ₁₋₅	C1	df	17	1	17	119
		MS	0.518	0.207	0.832	0.295
		F(P)	1.76*	0.25	2.82***	
	C2	df	15	1	15	109
		MS	0.367	0.195	0.356	0.117
		F(P)	3.15***	0.549	3.05***	
	C3	df	13	1	13	88
		MS	0.315	0.056	0.258	0.101
		F(P)	3.12***	0.22	2.55**	
L	C1	df	17	1	17	118
		MS	0.172	0.217	0.161	0.128
		F(P)	1.35	1.35	1.35	
	C2	df	15	1	15	106
		MS	0.214	0.341	0.082	0.098
		F(P)	2.18	4.14	0.84	
	C3	df	13	1	13	85
		MS	0.196	0.115	0.122	0.098
		F(P)	1.60	0.94	1.00	
ML	C1	df	17	1	17	119
		MS	0.183	0.040	0.057	0.060
		F(P)	3.05***	0.71	0.94	
	C2	df	15	1	15	109
		MS	0.131	0.083	0.075	0.065
		F(P)	2.01*	1.11	1.15	
	C3	df	13	1	13	88
		MS	0.146	0.777	0.078	0.069
		F(P)	2.11*	9.94**	1.13	

DŽ	C1	df	17	1	17	117
		MS	1.025	0.225	0.933	1.240
		F(P)	0.83	0.24	0.75	
C2	df	df	15	1	15	104
		MS	1.520	0.023	0.912	1.926
		F(P)	0.79	0.025	0.47	
C3	df	df	13	1	13	82
		MS	1.377	0.361	1.870	1.462
		F(P)	0.94	0.19	1.28	

4.3.2. Plastičnost, heritabilnost plastičnosti i heritabilnost svojstva

U tabelama 13. do 15. su prikazane vrednosti plastičnosti, heritabilnosti plastičnosti i heritabilnosti svojstva za osobine adaptivne vrednosti kod larvi, lutki i adulta gubara oba pola. U tabeli 13. su prikazane vrednosti dobijene dvofaktorskom analizom varijanse za trajanje larvenog razvića od prvog do četvrtog stupnja. Kod svih osobina se mogu primetiti više vrednosti za heritabilnost svojstva u odnosu na heritabilnost plastičnosti u odgovoru na tri ispitivane koncentracije kadmijuma. Najviša vrednost plastičnosti zabeležena je u okviru C3 grupe za svaku ispitivanu osobinu u odnosu na grupe sa manjom koncentracijom kadmijuma u dijeti (C1 i C2).

Kod ženki gubara (Tabela 14) heritabilnost plastičnosti ima višu vrednost od heritabilnosti svojstva trajanja petog stupnja larvenog razvića u odgovoru na C3, za plastičnost trajanja šestog stupnja larvenog razvića u odgovoru na sve tri koncentracije kadmijuma, za plastičnost trajanja larvenog razvića tokom pet stupnjeva u odgovoru na C1 i C2, trajanje razvića lutke (C1 grupa) i masu lutke (C3 grupa). Heritabilnost svojstva je veća u odnosu na heritabilnost plastičnosti za trajanje larvenog razvića tokom pet stupnjeva (C1 i C2 grupa), trajanje petog

stupnja razvića (C3 grupa), trajanje larvenog razvića tokom šest stupnjeva i dužinu života adulta u svim eksperimentalnim grupama, trajanje razvića lutke (C1 i C2 grupa) i masu lutke (C1 i C2 grupa). Vrednost plastičnosti je najveća u C3 grupi za trajanje petog stupnja larvenog razvića i masu lutke u odnosu na ostale dve eksperimentalne grupe sa manjom koncentracijom kadmijuma a za dužinu života u C1 grupi. Plastičnost za trajanje šestog stupnja larvenog razvića, trajanje larvenog razvića tokom pet i šest stupnjeva razvića i trajanje razvića lutke je najveća u C1 grupi i smanjuje se sa povećanjem koncentracije kadmijuma u dijetama C2 i C3.

Tabela 13. Plastičnost (σ^2pl), heritabilnost plastičnosti (h^2pl) i heritabilnost svojstva (h^2s) dobijeni dvofaktorskom analizom varijanse za osobine adaptivne vrednosti larvi gubara od prvog do četvrtog stupnja, gajenih na veštačkoj dijeti bez (K), i dijeti sa dodatkom različitih koncentracija kadmijuma (C1, C2, C3).

<i>Osobina</i>		σ^2pl	h^2pl	h^2s
LR ₁	C1	1.0717	0.2502	1.1425
	C2	1.0083	0.2580	0.9847
	C3	1.1600	0.3861	0.7758
LR ₁₋₂	C1	1.0977	0.2673	1.1262
	C2	0.9769	0.2472	0.9649
	C3	1.3014	0.4653	0.7416
LR ₁₋₃	C1	1.0454	0.2399	1.1313
	C2	1.0999	0.3001	0.9994
	C3	1.3561	0.4767	0.8054
LR ₁₋₄	C1	1.2786	0.4925	0.5873
	C2	1.1145	0.3218	0.9419
	C3	1.3702	0.5034	0.7269

Tabela 14. Plastičnost (σ^2pl), heritabilnost plastičnosti (h^2pl) i heritabilnost svojstva (h^2s) dobijeni dvofaktorskom analizom varijanse za osobine adaptivne vrednosti larvi, lutki i adulta ženki gubara, gajenih na veštačkoj dijeti bez (K), i dijeti sa dodatkom različitih koncentracija kadmijuma (C1, C2, C3).

<i>Osobina</i>		σ^2pl	h^2pl	h^2s
LR ₅	C1	1.0442	0.3975	0.4983
	C2	0.5649	0.0604	0.8884
	C3	1.1665	0.5027	0.3223
LR ₆	C1	1.2011	0.6554	-0.2195
	C2	0.7308	0.3460	0.0775
	C3	0.6801	0.2902	0.1994
LR ₁₋₅	C1	1.068	0.490	0.175
	C2	1.061	0.484	0.184
	C3	0.880	0.351	0.358
LR ₁₋₆	C1	1.0426	0.2984	0.8917
	C2	0.9503	0.2326	0.9702
	C3	0.7738	0.1879	0.7960
L	C1	0.9799	0.3940	0.3839
	C2	0.8781	0.3135	0.5023
	C3	0.8148	0.3143	0.3725
ML	C1	1.1674	0.4110	0.6906
	C2	0.9785	0.2676	0.8865
	C3	1.2624	0.5781	0.2123
DŽ	C1	0.7676	0.2902	0.3745
	C2	0.4223	0.1519	0.2372
	C3	0.6439	0.1931	0.5155

Mužjaci gubara (Tabela 15) pokazuju veću heritabilnost plastičnosti u odnosu na heritabilnost svojstva za osobine trajanje larvenog razvića tokom pet stupnjeva u svim eksperimentalnim grupama, za plastičnost trajanja petog stupnja larvenog razvića i masu lutke u odgovoru na C2, i plastičnost trajanja razvića lutke i dužinu života adulta u odgovoru na C1 i C3.

Veća heritabilnost svojstva od heritabilnosti plastičnosti zabeležena je za trajanje petog stupnja larvenog razvića i masu lutke u C1 i C3 grupi, i trajanje razvića lutke i dužinu života adultnih mužjaka u C2 grupi. Plastičnost je najveća u C2 grupi za trajanje petog stupnja larvenog razvića i masu lutke, a u C3 grupi za dužinu života adulta. Plastičnost je najveća u C1 grupi za trajanje larvenog razvića tokom pet stupnjeva i trajanje razvića lutke, a smanjuje se sa povećanjem koncentracije kadmijuma u grupama C2 i C3.

Tabela 15. Plastičnost (σ^2pl), heritabilnost plastičnosti (h^2pl) i heritabilnost svojstva (h^2s) dobijeni dvofaktorskom analizom varijanse za osobine adaptivne vrednosti larvi, lutki i adulta mužjaka gubara, gajenih na veštačkoj dijeti bez (K), i dijeti sa dodatkom različitih koncentracija kadmijuma (C1, C2, C3).

<i>Osobina</i>		σ^2pl	h^2pl	h^2s
LR ₅	C1	0.6930	0.2477	0.3952
	C2	1.1446	0.5179	0.2177
	C3	0.6418	0.2484	0.2899
LR ₁₋₅	C1	1.5745	0.8789	-0.3666
	C2	1.4989	0.7431	0.0254
	C3	1.4140	0.6656	0.1656
L	C1	0.9831	0.4808	0.0430
	C2	0.8781	0.3135	0.5023
	C3	0.8581	0.3539	0.3005
ML	C1	0.8835	0.2470	0.7789
	C2	0.9425	0.3782	0.3724
	C3	0.7126	0.2759	0.3216

DŽ	C1	0.6723	0.3236	0.0502
	C2	0.4223	0.1519	0.2372
	C3	1.0388	0.5675	-0.1925

4.3.3. Indeks fenotipske plastičnosti

Indeks fenotipske plastičnosti je određivan korišćenjem Čeplikove i Lijeve metode. Srednje vrednosti indeksa fenotipske plastičnosti i koeficijent varijacije za trajanje larvenog razvića tokom četiri larvena stupnja, izračunate Čeplikovom metodom, imaju pozitivne vrednosti za sve osobine u okviru eksperimentalne grupe C1 i C2, dok se u C3 grupi javljaju i negativne vrednosti za ukupno trajanje do trećeg i do četvrtog stupnja larvenog razvića (Tabela 16).

Tabela 16. Srednje vrednosti indeksa fenotipske plastičnosti (\bar{X}) po Čepliku i Liju i koeficijenti varijacije (CV%) za odgovor osobina trajanja razvića u mlađim larvenim stupnjevima na prisustvo različitih koncentracija kadmijuma u dijeti (C1, C2, C3).

Osobina	C1		C2		C3	
	\bar{X}	CV%	\bar{X}	CV%	\bar{X}	CV%
<i>Čeplik</i>						
LR ₁	3.44	99.52	5.78	57.87	4.68	74.68
LR ₁₋₂	2.94	118.89	4.57	78.45	1.12	354.75
LR ₁₋₃	2.08	153.16	2.23	159.20	-1.29	-277.33
LR ₁₋₄	2.64	131.59	1.08	320.08	-2.12	-159.57
<i>Li</i>						
LR ₁	3.50	97.80	2.46	136.06	1.17	298.45
LR ₁₋₂	2.98	117.14	1.69	211.98	3.55	112.22
LR ₁₋₃	2.10	151.16	0.15	2313.84	3.53	101.01
LR ₁₋₄	2.67	129.86	1.59	218.21	3.18	106.17

Poređenja izvršena Vilkoksonovim testom za srednje vrednosti indeksa fenotipske plastičnosti dobijenih Čeplikovom metodom (Tabela 17) potvrdila su statistički značajno veće vrednosti kod C1 grupe u odnosu na C3 grupu za trajanje larvenog razvića do trećeg stupnja larvenog razvića. Eksperimentalna grupa C3 ima značajno manju vrednost indeksa za trajanje larvenog razvića do četvrtog stupnja u odnosu na C1 i C2 grupu. Poređenjem indeksa, dobijenih po Liju, utvrđena je statistički značajno veća vrednost kod C1 grupe u odnosu na C2 grupu za trajanje larvenog razvića do trećeg stupnja. Kod C3 grupe prisutna je značajno viša vrednost u odnosu na C1 za trajanje trećeg stupnja larvenog razvića i u odnosu na C2 za trajanje larvenog razvića do četvrtog stupnja.

Vrednosti koeficijenta varijacije poređene su F testom. Vrednost koeficijenta varijacije dobijene Čeplikovom metodom u C1 grupi je statistički značajno veća u odnosu na C2 i C3 grupu za trajanje prvog stupnja larvenog razvića. Za trajanje drugog stupnja larvenog razvića utvrđena je statistički značajno veća vrednost kod C3 grupe u odnosu na C1 i C2, pri čemu C1 ima značajno višu vrednost u odnosu na C2. Eksperimentalna grupa C2 ima značajno veće vrednosti u odnosu na C1 i C3 grupe za trajanje trećeg i četvrtog stupnja larvenog razvića. Poređenjem vrednosti koeficijenta varijacije po Lijevoj metodi utvrđena je statistički značajno veća vrednost u C2 grupi u odnosu na C1 za trajanje trećeg stupnja i C3 za trajanje četvrtog stupnja larvenog razvića, i kod C1 grupe u odnosu na C3 za trajanje trećeg stupnja larvenog razvića.

Utrvrđene srednje vrednosti indeksa fenotipske plastičnosti kod ženki gubara po Čeplikovoj metodi (Tabela 18.) imaju negativne vrednosti u C1 grupi za osobine trajanje larvenog razvića do petog stupnja i masu lutke, u C2 grupi za trajanje šestog stupnja larvenog razvića, trajanje larvenog razvića do petog stupnja, masu lutke i dužinu života adulta, a u C3 eksperimentalnoj grupi za osobine trajanje šestog stupnja larvenog razvića i larveno razviće do petog i do šestog stupnja razvića.

Tabela 17. Poređenja vrednosti indeksa fenotipske plastičnosti (\bar{X}) po Čepliku i Liju i koeficijenata varijacije (CV%) za odgovor osobina trajanja razvića u mladim larvenim stupnjevima na prisustvo različitih koncentracija kadmijuma u dijeti (C1, C2, C3). Poređenja su izvršena Z, Vilkoksonovim testom (\bar{X}) i F testom (CV%).

Osobina	C1-C2		C1-C3		C2-C3	
	\bar{X}	CV%	\bar{X}	CV%	\bar{X}	CV%
<i>Čeplik</i>						
LR ₁	0.411	7.164***	0.448	5.191***	0.414	1.380
LR ₁₋₂	0.411	5.742***	1.529	2.578*	1.195	14.802***
LR ₁₋₃	0.224	4.750**	2.128*	1.038	1.456	4.932**
LR ₁₋₄	0.373	9.218***	2.203*	5.155**	2.483*	1.788
<i>Li</i>						
LR ₁	0.411	1.543	1.083	1.021	0.631	1.576
LR ₁₋₂	0.112	1.063	1.529	1.338	1.195	1.258
LR ₁₋₃	3.930**	8.709***	3.920**	7.691***	0.784	1.132
LR ₁₋₄	0.336	1.039	0.448	1.033	2.959*	1.074

Tabela 18. Vrednosti indeksa fenotipske plastičnosti (\bar{X}) po Čepliku i Liju i koeficijenta varijacije (CV%) kod larvi (5. i 6. stupanj), lutki i adulta ženki gubara, dobijenih u odgovoru na različite koncentracije kadmijuma (C1, C2, C3).

Osobina	C1		C2		C3	
	\bar{X}	CV%	\bar{X}	CV%	\bar{X}	CV%
<i>Čeplik</i>						
LR ₅	0.19	467,73	3.94	19.02	1.82	41.93
LR ₆	0.25	1229.67	-0.66	-422.49	-1.49	-201.96
LR ₁₋₅	-5.99	-26.44	-9.12	-11.54	-9.27	-19.89
LR ₁₋₆	0.39	837.22	0.22	1256.71	-2.37	-163.38
L	1.50	52.33	0.33	208.66	1.73	45.92
ML	-2.45	-14571.30	-5.69	-6855.67	7.05	5561.16

DŽ	5.82	24.90	-4.39	-37.94	12.66	16.63
<i>Li</i>						
LR ₅	7.06	12.63	5.84	12.83	8.11	9.43
LR ₆	4.87	64.40	2.83	98.96	6.07	49.79
LR ₁₋₅	12.24	12.94	9.59	10.97	11.93	15.47
LR ₁₋₆	4.11	80.18	4.13	68.22	4.27	90.83
L	4.07	19.23	4.24	16.50	3.55	22.32
ML	11.77	3035.97	11.1	3512.55	19.67	1993.46
DŽ	43.37	3.51	10.71	15.56	15.48	13.60

Poređenjem vrednosti indeksa fenotipske plastičnosti između grupa dobijenih po Čeplikovoj metodi, Vilkoksonovim testom je utvrđeno da postoji statistički značajno veća vrednost indeksa za trajanje šestog stupnja larvenog razvića kod C1 grupe u odnosu na C3 grupu (Tabela 19.). Grupa C3 ima značajno veću vrednost indeksa fenotipske plastičnosti za masu lutke u odnosu na C2 grupu, dok se za dužinu života adulta uočava značajno manja vrednost u C2 grupi u odnosu na C1 i C3 grupu. Poređenja indeksa fenotipske plastičnosti dobijenih Lijevom metodom pokazuju statistički značajno veću vrednost za trajanje larvenog razvića do petog stupnja u C1 grupi u odnosu na C2 grupu, i za dužinu života adultnih ženki u C1 grupi u odnosu na C2 i C3 grupu.

Vrednosti koeficijenta varijacije dobijenih Čeplikovom metodom poređene su F testom pri čemu je utvrđena statistički značajno veća vrednost kod C3 grupe u odnosu na C2 za trajanje petog stupnja razvića i kod C1 grupe u odnosu na C3. Za trajanje šestog stupnja razvića uočena je značajno manja vrednost kod C2 grupe u odnosu na C1 i C3, kao i kod C3 grupe u odnosu na C1. Trajanje larvenog razvića do petog stupnja ima statistički značajno višu vrednost za koeficijent varijacije u C3 grupi u odnosu na C1, a u C1 grupi zabeležena je značajno viša vrednost u odnosu na C2 za trajanje larvenog razvića do šestog stupnja. Za osobinu masa lutke koeficijent varijacije je kod C1 grupe značajno

manji u odnosu na C2 i C3 eksperimentalnu grupu a za dužinu života adultnih ženki značajno višu vrednost kod C1 grupe u odnosu na C2. Poređenje vrednosti koeficijenta varijacije dobijenog Lijevom metodom je izvršeno F testom i statistički značajne razlike nađene su između sledećih grupa: C3 grupa ima značajno više vrednosti koeficijenta varijacije za trajanje petog stupnja, trajanje šestog stupnja larvenog razvića i trajanje larvenog razvića do petog stupnja u odnosu na C1 i C2 grupu, C1 grupa značajno veću vrednost u odnosu na C3 i značajno manju u odnosu na C2 za masu lutke, i za dužinu života adulta uočava se značajno veća vrednost kod C2 grupe u odnosu na C1 i C3 i značajno manja vrednost kod C1 grupe u odnosu na C3 eksperimentalnu grupu.

Tabela 19. Poređenja vrednosti indeksa fenotipske plastičnosti (\bar{X}) po Čepliku i Liju i koeficijenata varijacije (CV%) kod larvi (5. i 6. stupanj), lutki i adultnih ženki gubara, dobijenih u odgovoru na dijetu sa dodatkom različitih koncentracija kadmijuma (C1, C2, C3). Poređenja su izvršena Z, Vilkoksonovim testom (\bar{X}) i F testom (CV%).

Osobina	C1-C2		C1-C3		C2-C3	
	\bar{X}	CV%	\bar{X}	CV%	\bar{X}	CV%
<i>Čeplik</i>						
LR ₅	0.876	1.002	1.224	5.269**	0.000	5.279**
LR ₆	0.849	3.158*	2.201*	31.014***	0.943	9.821***
LR ₁₋₅	0.109	2.400	1.083	6.170**	0.454	2.570
LR ₁₋₆	1.431	9.395***	1.197	1.414	1.475	1.712
L	0.980	1.301	0.941	1.177	2.354*	1.531
ML	0.784	10.838***	1.789	25.570***	1.852	2.359
DŽ	2.852**	2.909*	0.659	1.067	2.417**	2.727
<i>Li</i>						
LR ₅	0.118	1.418	1.161	9.596***	0.784	6.756**
LR ₆	1.459	2.270	0.804	43.059***	1.922	18.970***
LR ₁₋₅	2.199*	2.653	0.594	10.959***	1.502	4.130**
LR ₁₋₆	0.017	1.885	0.408	1.102	0.031	2.076

L	0.635	1.231	1.664	1.135	1.293	1.398
ML	0.370	11.920***	0.549	29.004***	0.408	2.433
DŽ	3.920***	843.21***	2.970**	220.990***	1.601	3.815*

Kod mužjaka gubara (Tabela 20) vrednosti indeksa fenotipske plastičnosti dobijeni Čeplikovom metodom imaju pozitivne vrednosti sem za trajanje petog stupnja u C1, C2 i C3 grupi, trajanje larvenog razvića do petog stupnja u C3 grupi, i dužinu života adultnih mužjaka u C2 grupi gde su vrednosti indeksa negativne.

Tabela 20. Vrednosti indeksa fenotipske plastičnosti (\bar{X}) i koeficijenta varijacije (CV) kod larvi (5. stupanj), lutki i adultnih mužjaka gubara, dobijenih između jedinki gajenih na dijeti bez (K) i dijeti sa dodatkom različitih koncentracija kadmijuma (C1, C2, C3) po Čepliku i Liju.

<i>Osobina</i>	<i>C1</i>		<i>C2</i>		<i>C3</i>	
	\bar{X}	<i>CV%</i>	\bar{X}	<i>CV%</i>	\bar{X}	<i>CV%</i>
<i>Čeplik</i>						
LR ₅	-12.05	-16.04	-11.61	-18.37	-4.43	-38.54
LR ₁₋₅	0.93	442.23	1.57	173.44	-1.30	-237.07
L	1.94	58.63	2.59	32.10	1.64	63.50
ML	1.74	4326.41	2.72	2599.68	10.32	758.37
DŽ	1.80	43.50	-3.99	-30.97	1.93	44.68
<i>Li</i>						
LR ₅	15.18	12.74	18.15	11.59	12.32	20.53
LR ₁₋₅	7.86	48.91	8.12	36.14	6.84	367.48
L	5.14	23.71	4.99	17.98	5.09	26.52
ML	9.70	861.18	10.75	142.99	16.13	487.84
DŽ	10.79	8.71	12.76	8.43	15.45	5.58

Poređenjem dobijenih vrednosti za indeks fenotipske plastičnosti po Čepliku (Tabela 21), dobijena je statistički značajna razlika za trajanje razvića lutke gde je indeks u C3 grupi bio značajno niži u odnosu na C1 i C2 grupu. Poređenjem indeksa fenotipske plastičnosti dobijenih Lijevom metodom utvrđena je statistički značajno veća vrednost indeksa u C1 grupi u odnosu na C3 grupu za trajanje razvića lutke.

Poređenjem koeficijenta varijacije F testom, dobijenih Čeplikovom metodom, kod C2 grupe utvrđena je statistički značajno veća vrednost u odnosu na C3 grupu i značajno manja u odnosu na C1 grupu za trajanje petog stupnja larvenog razvića. Za trajanje larvenog razvića do petog stupnja, značajno više vrednosti utvrđene su u C1 grupi u odnosu na C2 i C3 grupu, dok je za trajanje razvića lutke kod C1 grupe nađena značajno viša vrednost u odnosu na C2 grupu i značajno niža. Koeficijenti varijacije za masu lutke su značajno veći u C1 grupi u odnosu na C2 i C3 i u C2 grupi u odnosu na C3. Dužina života adultnih mužjaka imala je statistički značajno manju vrednost koeficijenta varijacije u C1 grupi u odnosu na C3 i značajno veću u odnosu na C2.

Koeficijent varijacije dobijen Lijevom metodom imao je statistički značajno manju vrednost u C2 grupi u odnosu na C1 i C3 grupu za trajanje petog stupnja larvenog razvića, a za trajanje larvenog razvića do petog stupnja značajno veću vrednost u C1 grupi u odnosu na C2, i značajno manju u odnosu na C3 grupu. Razviće lutke ima značajno veće koeficijente varijacije u C1 grupi u odnosu na C2 grupu i značajno niže u odnosu na C3 grupu. Koeficijenti za masu lutke mužjaka imaju značajno veće vrednosti u C1 grupi u odnosu na C2 i C3 grupu, i u C3 grupi u odnosu na C2 grupu. Dužina života adultnih mužjaka ima značajno veće koeficijente varijacije u C1 grupi u odnosu na C2 i C3 eksperimentalnu grupu.

Tabela 21. Poređenja vrednosti indeksa fenotipske plastičnosti (\bar{X}) i koeficijenta varijacije (CV%) kod larvi (5. i 6. stupanj), lutki i adultnih mužjaka gubara, dobijenih između jedinki gajenih na dijeti sa dodatkom različitih koncentracija kadmijuma (C1, C2, C3) po Čepliku i Liju. Poređenja su izvršena Z, Vilkoksonovim testom (\bar{X}) i F testom (CV%).

Osobina	C1-C2		C1-C3		C2-C3	
	\bar{X}	CV%	\bar{X}	CV%	\bar{X}	CV%
<i>Čeplik</i>						
LR ₅	1.193	9.729***	1.350	2.249	0.157	4.326**
LR ₁₋₅	0.625	27.893***	1.852	18.962***	1.083	1.471
L	1.363	3.123*	3.180**	5.194**	1.992*	1.663
ML	0.565	3.703*	0.454	4.368*	0.384	16.175***
DŽ	1.502	5.514**	0.089	9.819***	0.863	1.781
<i>Li</i>						
LR ₅	0.057	11.284***	1.099	2.123	0.220	5.315**
LR ₁₋₅	0.170	45.382***	0.175	34.157***	0.245	1.329
L	0.454	3.479*	1.992*	9.184***	1.642	2.639
ML	0.157	4.837**	0.384	3.724*	0.314	18.014***
DŽ	1.083	12.167***	0.711	32.670***	1.020	2.685

Poređenjem indeksa fenotipske plastičnosti, dobijenih Čeplikovom metodom, između ženki i mužjaka gubara utvrđena je statistički značajno veći opseg fenotipskih odgovora na prisustvo kadmijuma u C2 tretmanu kod ženki u odnosu na mužjake za trajanje petog stupnja larvenog razvića. Indeks fenotipske plastičnosti, dobijen Lijevom metodom, za plastičnost trajanja larvenog razvića do petog stupnja u odgovoru na C2 je bio statistički značajno veći kod ženki gubara, kao i za dužinu života adulta u odgovoru na C1 tretman (Tabela 22.).

Koeficijent varijacije po Čeplikovoj metodi je imao statistički značajno veće vrednosti kod ženki u odnosu na mužjake za trajanje petog stupnja larvenog razvića u C1 i C3 grupi, trajanje razvića do petog stupnja i masu lutke u C3 grupi.

Mužjaci su imali značajno veće vrednosti koeficijenta u odnosu na ženke u C1 i C2 grupi za trajanje larvenog razvića do petog stupnja i masu lutke, i u C2 i C3 grupi za dužinu života adulta.

Lijevom metodom nađene su značajno veće vrednosti koeficijenta kod ženki za masu lutke u sve tri eksperimentalne grupe i za dužinu života adulta u C2 i C3 grupi. Mužjaci imaju značajno veće koeficijente u odnosu na ženke za trajanje petog stupnja larvenog razvića u C1 i C3 grupi, u svim eksperimentalnim grupama za trajanje larvenog razvića do petog stupnja, za razviće lutke u C3 grupi i za dužinu života adulta u C1 grupi.

Tabela 22. Poređenja vrednosti indeksa fenotipske plastičnosti (\bar{X}) i koeficijenta varijacije (CV%) između ženki i mužjaka larvi, lutki i adulta gubara, gajenih na dijeti bez (K) i dijeti sa dodatkom različitih koncentracija kadmijuma (C1, C2, C3) po Čepliku i Liju. Poređenja su izvršena Z, Vilkoksonovim testom (\bar{X}) i F testom (CV%).

Osobina	C1		C2		C3	
	\bar{X}	CV%	\bar{X}	CV%	\bar{X}	CV%
<i>Čeplik</i>						
LR ₅	0.450	11.617***	2.131*	1.192	0.078	27.217***
LR ₁₋₅	0.118	6.767**	0.175	13.017***	1.689	87.901***
L	0.734	1.893	1.161	1.268	0.000	3.230
ML	1.065	719.560***	1.302	17.927***	1.412	122.910***
DŽ	0.923	2.124	0.094	34.066***	1.599	22.245***
<i>Li</i>						
LR ₅	1.189	10.933***	1.852	1.374	0.863	49.418***
LR ₁₋₅	1.112	8.788***	2.900**	11.721***	0.444	167.360***
L	0.497	1.921	0.471	1.471	0.889	5.425**
ML	0.314	961.330***	0.622	16.672***	0.889	123.430***
DŽ	3.516***	150.570***	0.874	68.141***	1.362	47.951***

4.4. Fenotipske i genetičke korelacije

Ispitivane fenotipske i genetičke korelacije između osobina adaptivne vrednosti u zavisnosti od prisustva različitih koncentracija kadmijuma u veštačkoj dijeti prikazane su u tabelama 23 do 30.

U Tabeli 23. prikazane su fenotipske korelacije između osobina adaptivne vrednosti kod ženki gubara u okviru kontrolne, i grupa sa dodatkom različitih koncentracija kadmijuma. Značajna pozitivna fenotipska korelisanost kod ženki gubara zabeležena je između osobina trajanje petog stupnja larvenog razvića i trajanje šestog stupnja i larvenog razvića tokom šest stupnjeva u svim eksperimentalnim grupama. Pozitivna korelisanost je uočena i za trajanje larvenog razvića tokom pet stupnjeva i dužine života adulta ali samo u okviru grupe C1. Značajna negativna korelacija je primećena između trajanja razvića lutke i trajanja petog stupnja u kontrolnoj grupi.

Trajanje šestog stupnja larvenog razvića je značajno fenotipski korelisano sa trajanjem larvenog razvića tokom pet stupnjeva i trajanjem larvenog razvića tokom šest stupnjeva u svim eksperimentalnim grupama. Korelacija između trajanja šestog stupnja larvenog razvića i mase lutke i dužine života adulta pokazala se statistički značajnom samo u kontrolnoj i C2 eksperimentalnoj grupi. Trajanje larvenog razvića tokom pet stupnjeva je značajno pozitivno korelisano sa trajanjem larvenog razvića tokom šest stupnjeva, dok sa dužinom života adultnih ženki pozitivnu korelaciju ima samo u slučaju C1 eksperimentalne grupe.

Trajanje larvenog razvića tokom šest stupnjeva je u značajnoj pozitivnoj korelaciji sa trajanjem razvića lutke (C1, C2), masom lutke (K, C1, C2) i dužinom života adultnih ženki (C1, C2). Razviće lutke je u značajnoj pozitivnoj korelaciji sa masom lutke u svim eksperimentalnim grupama dok je sa dužinom života adultnih ženki u pozitivnoj korelaciji samo u slučaju C1 grupe. Masa lutke je u značajnoj pozitivnoj korelaciji sa dužinom života adulta u kontrolnoj, C1 i C2 grupi. Poređenjem koeficijenata fenotipskih korelacija kod ženki, nije nađena značajna razlika u vrednostima korelacija između jedinki gajenih u kontrolnim

uslovima u odnosu na jedinke koje su gajene u prisustvu različitih koncentracija kadmijuma.

Tabela 23. Vrednosti koeficijenata fenotipskih korelacija između osobina adaptivne vrednosti kod larvi, lutki i adulta **ženki** gubara, gajenih na veštačkoj dijeti bez (K), i dijeti sa dodatkom različitih koncentracija kadmijuma (C1, C2, C3). *P<0.05. **P<0.01. ***P<0.001

<i>Korelacije</i>	<i>K</i>	<i>C1</i>	<i>C2</i>	<i>C3</i>
LR ₅ LR ₆	0.955***	0.903***	0.964***	0.974***
LR ₁₋₅	-0.004	0.279**	0.064	0.201
LR ₁₋₆	0.740***	0.838***	0.761***	0.807***
L	-0.193**	0.067	-0.005	-0.038
ML	0.018	0.091	0.125	-0.014
DŽ	-0.034	0.215*	0.108	0.162
LR ₆ LR ₁₋₅	0.291**	0.525***	0.339**	0.414***
LR ₁₋₆	0.868***	0.883***	0.888***	0.874***
L	-0.019	0.058	0.089	-0.024
ML	0.208*	0.111	0.289**	0.055
DŽ	0.204*	0.185	0.223*	0.124
LR ₁₋₅ LR ₁₋₆	0.312***	0.395***	0.400***	0.386**
L	0.121	-0.067	0.205	-0.035
ML	0.169	-0.065	0.195	0.007
DŽ	-0.034	0.215*	0.108	0.162
LR ₁₋₆ L	0.002	0.205*	0.304**	-0.061
ML	0.340***	0.367***	0.457***	0.109
DŽ	0.235	0.290**	0.254*	0.080
L ML	0.471***	0.585***	0.510***	0.505***
DŽ	0.007	0.215*	0.018	0.062
ML DŽ	0.229**	0.401***	0.274**	0.147

U Tabeli 24. prikazana je korelisanost između osobina adaptivne vrednosti kod mužjaka gubara u okviru različitih eksperimentalnih grupa. Trajanje petog stupnja larvenog razvića (LR₅) je pozitivno korelisano sa ukupnim trajanjem larvenog razvića do petog stupnja. Kod eksperimentalne grupe C3 pozitivna fenotipska korelisanost između ovih osobina je značajno viša od kontrolne grupe. Pozitivna korelisanost LR₅ je uočena i sa trajanjem razvića lutke u kontrolnoj grupi a značajno negativna je korelacija LR₅ sa dužinom života adultnih mužjaka gubara. Trajanje larvenog razvića do petog stupnja je pozitivno korelisano sa trajanjem razvića lutki u kontrolnoj i C1 i C2 grupi i masom lutki u C1 grupi, a značajno negativno korelisano sa dužinom života adulta u C3 eksperimentalnoj grupi. Trajanje razvića lutki je u značajnoj pozitivnoj korelaciji sa masom lutke u svim eksperimentalnim grupama, a značajno negativno korelisano sa dužinom života adultnih mužjaka u kontrolnoj i C2 grupi. Nema značajne korelacije između mase lutke i dužine života adultnih mužjaka.

Tabela 24. Vrednosti koeficijenta fenotipskih korelacija između osobina adaptivne vrednosti kod larvi, lutki i adulta **mužjaka** gubara, gajenih na veštačkoj dijeti bez (K), i dijeti sa dodatkom različitih koncentracija kadmijuma (C1, C2, C3). *P<0.05. **P<0.01. ***P<0.001

<i>Korelacije</i>	<i>K</i>	<i>C1</i>	<i>C2</i>	<i>C3</i>
LR ₅ LR ₁₋₅	0.636***	0.654***	0.812***	0.878*** ^A
L	0.299**	0.132	0.115	0.042
ML	-0.107	0.068	-0.078	-0.060
DŽ	-0.137	-0.093	-0.152	-0.263*
LR ₁₋₅ L	0.489***	0.371***	0.240*	0.143
ML	0.002	0.196*	0.169	-0.017
DŽ	-0.188	-0.116	-0.181	-0.270*
L ML	0.292**	0.576***	0.346***	0.521***
DŽ	-0.369***	-0.166	-0.293**	-0.038
ML DŽ	0.203	-0.047	-0.048	0.123

Koeficijenti korelacije statistički značajno različiti od (K) označeni su slovom A (P<0.5)

U Tabeli 25. su prikazane vrednosti koeficijenata genetičkih korelacija između osobina adaptivne vrednosti kod larvi od prvog do četvrtog stupnja razvića. Trajanje prvog stupnja larvenog razvića je značajno pozitivno korelisano sa trajanjem razvića tokom dva i tri stupnja larvenog razvića. Kod korelacija između trajanja prvog stupnja i trajanja razvića tokom četiri stupnja larvenog razvića primećuju se značajne pozitivne korelacije u kontrolnoj i eksperimentalnim grupama C1 i C2, pri čemu je vrednost zabeležena u C1 i C2 grupi značajno niža u odnosu na kontrolnu. Trajanje razvića tokom prva dva stupnja je pozitivno korelisano sa trajanjem razvića tokom tri i četiri larvena stupnja. Pri tome je korelacija LR₁₋₂ – LR₁₋₄ značajno niža kod C1 i C3 grupe u odnosu na kontrolnu. Između ukupnog trajanja prva tri i prva četiri stupnja larvenog razvića se takođe primećuje značajna pozitivna korelisanost kako u kontrolnoj grupi tako i u grupama sa dodatkom kadmijuma u dijeti. Značajno niža pozitivna korelisanost se uočava kod C1 i C3 grupe u odnosu na kontrolnu.

Tabela 25. Vrednosti koeficijenata genetičkih korelacija između osobina adaptivne vrednosti kod larvi gubara od prvog do četvrtog stupnja, gajenih na veštačkoj dijeti bez (K), i dijeti sa dodatkom različitih koncentracija kadmijuma (C1, C2, C3). *P<0.05. **P<0.01. ***P<0.001

Korelacije		K	C1	C2	C3
LR ₁	LR ₁₋₂	0.968***	0.978***	0.971***	0.945***
	LR ₁₋₃	0.915***	0.924***	0.941***	0.886***
	LR ₁₋₄	0.871***	0.486*B	0.450*B	0.314
LR ₁₋₂	LR ₁₋₃	0.955***	0.962***	0.969***	0.907***
	LR ₁₋₄	0.905***	0.571**B	0.876***	0.747*** ^A
LR ₁₋₃	LR ₁₋₄	0.963***	0.578** ^C	0.940***	0.882*** ^A

Koeficijenti korelacije statistički značajno različiti od (K) označeni su slovom A (P<0.5),

B (P<0.01) i C (P<0.001)

Genetička korelisanost između osobina adaptivne vrednosti kod ženki tokom larvenog razvića, razvića lutke i adultnog života prikazana je u Tabeli 26. Trajanje petog stupnja je u značajnoj pozitivnoj korelaciji sa trajanjem šestog

stupnja i trajanjem larvenog razvića tokom šest stupnjeva kako u kontrolnoj tako i u eksperimentalnim grupama sa dodatkom različitih koncentracija kadmijuma. Trajanje petog i šestog stupnja larvenog razvića pokazuju i značajno negativnu korelisanost sa trajanjem razvića lutke u kontrolnoj grupi. Interesantno je da postoji i značajna razlika između koeficijenata u kontrolnoj i C2 grupi kada je reč o korelisanosti između trajanja šestog stupnja i trajanja razvića lutke. Trajanje šestog stupnja je u značajnoj pozitivnoj korelaciji sa trajanjem larvenog razvića tokom šest stupnjeva u svim sredinama, dok su značajni koeficijenti korelacije sa trajanjem larvenog razvića tokom pet stupnjeva nešto niži i zabeleženi u C1, C2, i C3 grupi.

Trajanje larvenog razvića tokom pet stupnjeva je pozitivno korelisano sa trajanjem larvenog razvića tokom šest stupnjeva u kontrolnoj i C2 i C3 grupi, kao i sa trajanjem razvića lutke i masom lutke u C2 grupi. Poređenjem korelacionih koeficijenata utvrđena je značajno niža vrednost koeficijenta korelacije $LR_{1-5} - ML$ u C1 grupi u odnosu na kontrolnu. Larveno razviće tokom šest stupnjeva kod ženki je pozitivno korelisano sa masom lutke i dužinom života adulta u C1 i C2 eksperimentalnoj grupi. Poređenjem korelacionih koeficijenata utvrđena je znatno viša korelisanost, iako bez statističke značajnosti, između trajanja šestog stupnja razvića i trajanja razvića lutke u C2 eksperimentalnoj grupi gde dolazi do promene znaka korelacije.

Trajanje razvića lutke je u značajnoj pozitivnoj korelaciji sa masom lutke u C1 i C2 grupi. Sa dužinom života takođe postoji značajna pozitivna korelisanost u C1 i C3 grupi pri čemu su poređenjem koeficijenata utvrđene značajno više vrednosti korelacija u odnosu na kontrolnu grupu. Masa lutke pokazuje značajnu pozitivnu korelisanost i sa dužinom života adultnih ženki u okviru C1 eksperimentalne grupe.

Tabela 26. Vrednosti koeficijenta genetičkih korelacija između osobina adaptivne vrednosti kod larvi, lutki i adulta **ženki** gubara, gajenih na dijeti bez (K), i dijeti sa dodatkom različitih koncentracija kadmijuma (C1, C2, C3). *P<0.05, **P<0.01, ***P<0.001

Korelacije		K	C1	C2	C3
LR ₅	LR ₆	0.887***	0.941***	0.888***	0.918***
	LR ₁₋₅	-0.046	0.212	0.230	0.401
	LR ₁₋₆	0.744***	0.807***	0.658***	0.708**
	L	-0.467*	-0.143	-0.082	-0.317
	ML	-0.192	-0.022	-0.096	0.136
	DŽ	0.012	0.204	0.098	0.398
LR ₆	LR ₁₋₅	0.268	0.493*	0.498*	0.582*
	LR ₁₋₆	0.808***	0.816***	0.868***	0.778***
	L	-0.403*	-0.154	0.162 ^A	-0.313
	ML	-0.060	-0.031	0.198	0.024
	DŽ	-0.003	0.328	0.282	0.403
LR ₁₋₅	LR ₁₋₆	0.500***	0.258	0.664**	0.569*
	L	0.066	-0.207	0.456*	-0.116
	ML	0.381	-0.221 ^A	0.632**	-0.131
	DŽ	0.319	0.308	0.096	0.397
LR ₁₋₆	L	-0.214	0.189	0.368 ^A	-0.391
	ML	0.211	0.419*	0.524*	0.013
	DŽ	0.280	0.507*	0.480*	0.237
L	ML	0.387	0.649***	0.510*	0.308
	DŽ	-0.011	0.499* ^A	-0.043	0.574* ^A
ML	DŽ	0.142	0.508*	0.387	0.375

Koeficijenti korelacije statistički značajno različiti od (K) označeni su slovom A (P<0.05).

Kod mužjaka gubara (Tabela 27) značajne pozitivne korelacije su utvrđene između trajanja petog stupnja larvenog razvića i trajanja larvenog razvića tokom pet stupnjeva u svim grupama pri čemu je u C3 grupi ta vrednost

značajno viša u odnosu na kontrolnu. Korelisanost sa trajanjem razvića lutke nije statistički značajna ali je vrednost u C1 grupi značajno niža u odnosu na kontrolnu i dolazi do promene znaka korelacije od pozitivnog u kontrolnoj grupi do negativnog u grupi gajenoj na C1 koncentraciji kadmijuma. Značajno niža negativna korelisanost između trajanja petog stupnja i mase lutke utvrđena je u C1 eksperimentalnoj grupi u odnosu na kontrolnu.

Trajanje larvenog razvića tokom pet stupnjeva je u pozitivnoj korelaciji sa trajanjem razvića lutke u kontrolnoj grupi, a poređenje koeficijenata pokazalo je i značajno nižu vrednost ove korelacije u C1 grupi u odnosu na kontrolnu. Značajno viša pozitivna korelacija je nađena i između trajanja razvića lutke i mase lutke u C1 grupi u odnosu na kontrolnu grupu. Poređenjem korelacionih koeficijenata između mase lutke i dužine života adultnih mužjaka utvrđena je znatno niža negativna vrednost u C3 grupi u odnosu na pozitivnu korelaciju u kontrolnoj grupi.

Tabela 27. Vrednosti koeficijenata genetičkih korelacija između osobina adaptivne vrednosti kod larvi, lutki i adulta **mužjaka** gubara, gajenih na dijeti bez (K), i dijeti sa dodatkom različitih koncentracija kadmijuma (C1, C2, C3). *P<0.05, **P<0.01, ***P<0.001

<i>Korelacije</i>	<i>K</i>	<i>C1</i>	<i>C2</i>	<i>C3</i>
LR ₅ LR ₁₋₅	0.678**	0.646***	0.879***	0.919*** ^A
L	0.370	-0.278 ^A	0.094	-0.020
ML	0.154	-0.470* ^A	-0.161	0.204
DŽ	-0.126	-0.185	-0.380	-0.320
LR ₁₋₅ L	0.505*	0.015 ^A	0.157	0.106
ML	-0.378	-0.245	-0.171	0.142
DŽ	-0.321	-0.311	-0.285	-0.214
L ML	0.118	0.659*** ^B	0.337	0.395
DŽ	-0.334	0.106	-0.287	0.186
ML DŽ	0.428	0.066	0.243	-0.244 ^A

Koeficijenti korelacije statistički značajno različiti od (K) označeni su slovima A (P<0.05) i B (P<0.01).

Procene genetičke korelisanosti za osobine adaptivne vrednosti kod larvi od prvog do četvrtog stupnja između kontrolne i eksperimentalnih grupa sa dodatkom različitih koncentracija kadmijuma prikazane su u Tabeli 28. Značajne pozitivne korelacije su zabeležene između kontrolne i C1 i C2 eksperimentalne grupe za sve osobine, dok je pozitivna korelisanost između kontrolne i C3 grupe zabeležena samo za trajanje prvog stupnja larvenog razvića. Koeficijenti korelacije za sve osobine u C2 grupi i u C1 osim za trajanje prvog stupnja larvenog razvića su značajno različiti od jedinice, dok je u C3 grupi samo koeficijent za trajanje prvog stupnja larvenog razvića značajno različit od jedinice.

Tabela 28. Vrednosti koeficijenata genetičkih korelacija za osobine adaptivne vrednosti između grupa gajenih na dijeti bez (K), i dijeti sa dodatkom različitih koncentracija kadmijuma (C1, C2, C3), kod larvi gubara od prvog do četvrtog stupnja. *P<0.05, **P<0.01, ***P<0.001.

<i>Osobina</i>	<i>C1</i>	<i>C2</i>	<i>C3</i>
LR ₁	0.716***	0.573** ^A	0.510* ^B
LR ₁₋₂	0.693*** ^A	0.559** ^A	0.387
LR ₁₋₃	0.686*** ^A	0.527** ^B	0.397
LR ₁₋₄	0.446* ^C	0.561** ^A	0.196

Značajni pozitivni koeficijenti korelacije različiti od jedinice su označeni slovima A(P<0.05), B(P<0.01), C (P<0.001)

Koeficijenti genetičkih korelacija za osobine adaptivne vrednosti kod ženki i mužjaka gubara između kontrolne grupe i grupa sa dodatkom kadmijuma prikazani su u Tabeli 29. Kod ženki se uočava značajna pozitivna korelisanost za trajanje petog i šestog stupnja larvenog razvića gde su koeficijenti u C1 i C3 grupi značajno različiti od jedinice. Trajanje larvenog razvića do petog stupnja i masa lutke imaju takođe pozitivan koeficijent korelacije koji je značajno manji od jedinice u C2 grupi. Kod mužjaka je jedino utvrđena značajna pozitivna korelacija u C3 grupi za masu lutke i taj koeficijent je značajno različit od jedinice.

Tabela 29. Vrednosti koeficijenta genetičkih korelacija za osobine adaptivne vrednosti između grupa gajenih na dijeti bez (K), i dijeti sa dodatkom različitih koncentracija kadmijuma (C1, C2, C3), kod larvi, lutki i adulta gubara oba pola. *P<0.05, **P<0.01, ***P<0.001.

<i>Pol</i>	<i>Osobina</i>	<i>C1</i>	<i>C2</i>	<i>C3</i>
ženke	LR ₅	0.677*** ^A	0.721***	0.603* ^A
	LR ₆	0.620** ^A	0.768***	0.595* ^A
	LR ₁₋₅	0.367	0.636** ^A	0.267
	LR ₁₋₆	-0.109	0.188	0.246
	L	0.250	0.188	0.378
	ML	0.384	0.457* ^C	0.048
	DŽ	0.334	0.175	0.791***
mužjaci	LR ₅	0.457	0.302	0.424
	LR ₁₋₅	-0.102	-0.056	0.147
	L	0.084	0.411	0.189
	ML	0.448	0.238	0.609* ^A
	DŽ	-0.047	0.355	-0.038

Značajni pozitivni koeficijenti korelacije različiti od jedinice su označeni slovima A (P<0.05) i

C (P<0.001)

U Tabeli 30. prikazane su vrednosti koeficijenta genetičkih korelacija za osobine adaptivne vrednosti između ženki i mužjaka gubara. Značajna pozitivna korelisanost između polova je utvrđena za trajanje petog stupnja larvenog razvića u kontrolnoj, C1 i C2 eksperimentalnoj grupi, trajanje razvića lutki u kontrolnoj grupi i trajanje dužine života u C3 eksperimentalnoj grupi.

Tabela 30. Vrednosti koeficijenta genetičkih korelacija za osobine adaptivne vrednosti između ženki i mužjaka gubara grupa gajenih na dijeti bez (K), i dijeti sa dodatkom različitih koncentracija kadmijuma (C1, C2, C3). *P<0.05, **P<0.01.

<i>Osobina</i>	<i>K</i>	<i>C1</i>	<i>C2</i>	<i>C3</i>
LR ₅	0.614**	0.636**	0.455*	0.369
LR ₁₋₅	0.318	0.364	0.337	0.442
L	0.531*	0.234	-0.218	0.347
ML	0.210	0.211	0.050	-0.114
DŽ	0.007	0.221	0.111	0.542*

4.5. Cena fenotipske plastičnosti i selekciona analiza

Regresiona analiza cene fenotipske plastičnosti za trajanje larvenog razvića, masu lutke i razviće lutke u odnosu na dužinu života adulta, kao meru adaptivne vrednosti (Tabela 31), pokazala je značajan pozitivan regresioni koeficijent za plastičnost trajanja larvenog razvića u kontrolnim uslovima i značajan negativan regresioni koeficijent za plastičnost mase lutke u eksperimentalnoj grupi sa dodatkom najveće koncentracije kadmijuma (C3).

Rezultati su pokazali da tokom larvenog razvića genotipovi plaćaju cenu homeostaze u kontrolnim uslovima, koja obezbeđuje normalno razviće larvi u odnosu na osobinu dužina života adulta. Regresioni koeficijent za masu lutke u C3 grupi pokazuje da u prisustvu kadmijuma genotipovi plaćaju cenu plastičnosti odgovora, tj. smanjenje mase lutke ne doprinosi povećanju adaptivne vrednosti gubara u stresnim uslovima.

Tabela 31. Regresiona analiza za testiranje cene fenotipske plastičnosti za osobine adaptivne vrednosti gubara gajenih na veštačkoj dijeti bez (K) i dijeti sa dodatkom različitih koncentracija kadmijuma (C1, C2, C3). Kao mera adaptivne vrednosti uzeta je dužina života adulta. $P < 0.05^*$

β' – standardizovani linearni koeficijent regresije

Osobina	K		C1		C2		C3	
	β'	P	β'	P	β'	P	β'	P
LR	0.009	0.558	0.019	0.240	-0.003	0.877	-0.018	0.489
PL (LR)	0.032	0.049*	0.007	0.653	-0.0003	0.990	0.002	0.926
ML	0.021	0.282	0.037	0.057	0.023	0.317	0.042	0.095
PL (ML)	-0.014	0.479	-0.023	0.245	-0.021	0.373	-0.066	0.013*
L	-0.018	0.262	0.002	0.874	-0.035	0.077	0.001	0.974
PL (L)	-0.030	0.069	-0.029	0.058	-0.003	0.872	0.001	0.981

Poređenjem standardizovanih linearnih koeficijenata regresije za osobine adaptivne vrednosti u odnosu na dužinu života adulta (Tabela 32) utvrđeno je postojanje značajnih razlika između ženki i mužjaka za trajanje larvenog razvića i razvića lutke. Cena plastičnosti, odnosno održavanja homeostaze, se ne razlikuje značajno između polova kao ni između kontrolne grupe i grupe tretirane kadmijumom.

Tabela 32. F- vrednosti dobijeni analizom kovarijanse za poređenje standardizovanih linearnih koeficijenata regresije za cenu plastičnosti (prikazani u tabeli 31), za osobinu dužina života adulta između tretmana (K, C1, C2, C3) i polova. $P < 0.001^{***}$

Osobina	LR	PL (LR)	ML	PL (ML)	L	PL (L)
TRETMAN	0.59	0.65	0.21	0.97	0.98	0.76
POL	27.92***	0.05	0.14	0.01	14.26***	0.29

Regresiona analiza cene fenotipske plastičnosti za osobine adaptivne vrednosti u odnosu na dužinu života kao meru fitnesa kod ženki i mužjaka gubara (Tabela 33) pokazala je značajan pozitivni regresioni koeficijent za larveno razviće i masu lutki kod ženki u kontrolnoj, C1 i C2 grupi, dok se kod razvića lutke značajan pozitivan koeficijent beleži samo kod ženki iz C1 grupe. Kod mužjaka, značajno negativan regresioni koeficijent zabeležen je za larveno razviće mužjaka u C3 grupi i razviće lutke kod mužjaka u kontrolnoj i C1 grupi. Mužjaci plaćaju cenu plastičnosti tokom razvića lutke u C1 grupi.

Tabela 33. Regresiona analiza za testiranje cene fenotipske plastičnosti za osobine adaptivne vrednosti ženki i mužjaka gubara gajenih na veštačkoj dijeti bez (K) i dijeti sa dodatkom različitih koncentracija kadmijuma (C1, C2, C3). Kao mera adaptivne vrednosti uzeta je dužina života adulta. $P < 0.05^*$, $P < 0.01^{**}$, $P < 0.001^{***}$

β' – standardizovani linearni koeficijent regresije

Osobina	Pol	K		C1		C2		C3	
		β'	P	β'	P	β'	P	β'	P
LR	♀	0.236	0.009**	0.312	0.002***	0.261	0.014*	0.105	0.544
PL (LR)	♀	0.071	0.423	-0.041	0.676	0.040	0.698	-0.019	0.889
LR	♂	-0.192	0.092	-0.101	0.347	-0.197	0.068	-0.281	0.023*
PL (LR)	♂	0.179	0.126	0.024	0.823	-0.054	0.626	0.049	0.693
ML	♀	0.207	0.023*	0.425	0***	0.294	0.005**	0.038	0.798
PL (ML)	♀	-0.009	0.916	-0.082	0.388	-0.123	0.232	-0.255	0.096
ML	♂	0.217	0.076	-0.030	0.779	-0.048	0.652	0.117	0.327
PL (ML)	♂	0.059	0.618	-0.063	0.558	0.001	0.991	-0.199	0.114
L	♀	0.022	0.817	0.219	0.046*	0.007	0.946	0.008	0.954
PL (L)	♀	-0.092	0.313	-0.036	0.715	-0.076	0.478	-0.234	0.085
L	♂	-0.366	0.001***	-0.189	0.067	-0.290	0.004**	-0.038	0.748
PL (L)	♂	-0.194	0.078	-0.230	0.027*	0.013	0.897	0.168	0.163

Poređenjem linearnih koeficijenata regresije (Tabela 34) utvrđeno je da opseg plastičnosti trajanja razvića lutke ima značajno veći negativni uticaj na dugovečnost mužjaka u odnosu na ženke u kontrolnim uslovima.

Tabela 34. F- vrednosti dobijene analizom kovarijanse za poređenje standardizovanih linearnih koeficijenata regresije za cenu plastičnosti (prikazani u tabeli 33) između ženki i mužjaka gubara u okviru tretmana (K, C1, C2, C3). $P < 0.01^{**}$

<i>Osobina</i>	K	C1	C2	C3	♀	♂
PL (LR)	0.40	3.58	3.43	2.15	0.07	0.99
PL (ML)	1.21	2.59	0.51	0.01	0.22	1.09
PL (L)	7.57**	1.00	1.84	0.12	0.41	2.05

Procena intenziteta delovanja selekcije na osobine adaptivne vrednosti u kontrolnoj i grupama tretiranim različitim koncentracijama kadmijumom izvršena je određivanjem standardizovanih selekcionih gradijenata i selekcionih diferencijala, pri čemu je za meru adaptivne vrednosti uzeta osobina dužina života adulta. Parcijalnom linearnom regresijom (Tabela 35) dobijen je značajan negativan selekциони gradijent za trajanje larvenog razvića mužjaka u C3 grupi kao i razvića lutke kod mužjaka u kontrolnoj i C2 grupi što znači da selekcija u ovim sredinama favorizuje jedinke koje imaju kraće trajanje pojedinih faza preadultnog razvića. Za masu lutke dobijeni su značajno pozitivni linearni selekциони gradijenti za ženke u kontrolnoj, C1 i C2 grupi a za mužjake samo u kontrolnoj. U stresnoj sredini krupne ženke imaju prednost, dok je za mužjake to uočeno samo u optimalnim uslovima.

Tabela 35. Multivarijantna analiza adaptivne plastičnosti osobina adaptivne vrednosti. Analiza je urađena parcijalnom regresijom osobine dužina života adulta na osobine adaptivne vrednosti gubara, gajenih na dijeti bez kadmijuma (K), i dijeti sa različitim koncentracijama kadmijuma (C1, C2, C3). Kao mera adaptivne vrednosti uzeta je osobina dužina života adulta. $P < 0.001^{***}$, $P < 0.01^{**}$, $P < 0.05^*$

β' - standardizovani linearni selekcionni gradijent

Osobina	Pol	K		C1		C2		C3	
		β'	P	β'	P	β'	P	β'	P
LR	♀	0.034	0.097	0.041	0.059	0.036	0.116	0.022	0.672
	♂	0.013	0.631	-0.018	0.427	-0.041	0.222	-0.057	0.033*
ML	♀	0.046	0.044*	0.073	0.005**	0.057	0.026*	0.043	0.378
	♂	0.083	0.011*	0.013	0.650	0.025	0.466	0.038	0.206
L	♀	-0.021	0.332	0.002	0.951	-0.036	0.126	-0.002	0.970
	♂	-0.119	0.000***	-0.036	0.200	-0.095	0.008**	-0.021	0.496

Poređenjem dobijenih vrednosti standardizovanog linearnog selekcionnog gradijenta (Tabela 36), utvrđeno je da u kontrolnim uslovima intenzivnija selekcija za povećanje veličine jedinki i skraćenje lutkinog razvića deluje kod mužjaka nego kod ženki.

Tabela 36. F- vrednosti dobijene analizom kovarijanse za poređenje linearnih selekcionnih gradijenata (prikazanih u tabeli 35) između polova gubara gajenih na dijeti bez (K), kao i dijeti sa različitim koncentracijama kadmijuma (C1, C2, C3). $P < 0.05^*$, $P < 0.001^{***}$

Osobina	K	C1	C2	C3	♀	♂
LR	0.03	2.48	2.55	2.93	0.06	1.02
ML	5.40*	0.74	0.01	0.13	0.23	1.13
L	15.91***	1.46	3.83	0.23	0.36	2.00

Totalnom linearnom regresijom (Tabela 37) dobijeni su značajno pozitivni selekcionni diferencijali za trajanje larvenog razvića i masu lutke kod ženki u kontrolnoj, C1 i C2 grupi dok je kod mužjaka utvrđen značajno negativan selekcionni diferencijal za larveno razviće u C3 grupi u odnosu na dužinu života adulta. Razviće lutke kod ženki pokazuje pozitivan selekcionni diferencijal u C1 grupi dok je kod mužjaka on značajno negativan u kontrolnoj i C2 grupi.

Tabela 37. Multivarijantna analiza adaptivne plastičnosti osobina adaptivne vrednosti. Analiza je urađena totalnom linearnom regresijom osobine dužina života adulta na osobine adaptivne vrednosti gubara, gajenih na dijeti bez kadmijuma (K), i dijeti sa različitim koncentracijama kadmijuma (C1, C2, C3). Kao mera adaptivne vrednosti uzeta je osobina dužina života adulta. $P < 0.05^*$, $P < 0.01^{**}$, $P < 0.001^{***}$

i' - standardizovani linearni selekcionni diferencijal

Osobina	K		C1		C2		C3		
	i'	P	i'	P	i'	P	i'	P	
LR	♀	0.050	0.010**	0.067	0.002*	0.051	0.014*	0.030	0.551
	♂	-0.045	0.086	-0.023	0.307	-0.059	0.076	-0.060	0.024*
ML	♀	0.047	0.013*	0.088	0.000*	0.056	0.008**	0.044	0.270
	♂	0.048	0.064	-0.010	0.660	-0.016	0.642	0.027	0.309
L	♀	0.001	0.952	0.048	0.040*	0.004	0.863	0.019	0.643
	♂	-0.088	0.001**	-0.032	0.158	-0.096	0.003**	-0.008	0.753

Poređenjem selekcionnih diferencijala (Tabela 38) utvrđene su statistički značajno veće vrednosti kod ženki u odnosu na mužjake za larveno razviće i razviće lutke u kontrolnoj, C1 i C2 grupi, kao i masu lutke u C1 grupi.

Tabela 38. F- vrednosti dobijene analizom kovarijanse za poređenje linearnih selekcionih diferencijala (prikazanih u tabeli 37) između polova gubara, gajenih na dijeti bez (K), kao i dijeti sa različitim koncentracijama kadmijuma (C1, C2, C3). $P < 0.05^*$, $P < 0.01^{**}$

Osobina	K	C1	C2	C3	♀	♂
LR	9.19**	8.61**	7.92**	2.91	0.27	0.40
ML	0.00	10.44**	3.20	0.15	0.77	1.21
L	8.34**	6.18*	6.56*	0.34	0.83	2.41

4.6. Uticaj kadmijuma na sistem antioksidativne zaštite

Dvofaktorska analiza varijanse pokazala je postojanje značajne interakcije (Stupanj \times Cd) što znači da se larveni stupnjevi razlikuju u osetljivosti aktivnosti SODa na kadmijum (Tabela 39). Na grafiku 1. prikazane su srednje vrednosti aktivnosti superoksid dismutaze tokom larvenog razvića od trećeg do šestog stupnja. Poređenjem aktivnosti između grupa Tukijevim (HSD) testom utvrđeno je da nema značajnih razlika u aktivnosti superoksid dismutaze između kontrolne grupe i grupe tretirane kadmijumom.

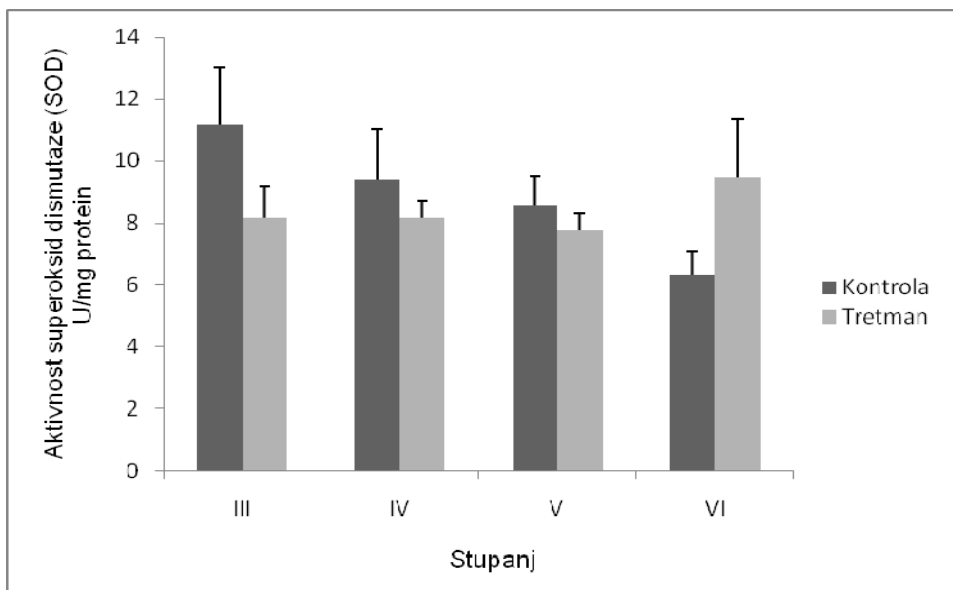
Aktivnost SODa je (Tabela 39) snižena kod jedinki gajenih u prisustvu kadmijuma (statistički značajan efekat tretmana Cd, $p < 0.001$), pri čemu je pad te aktivnosti u proseku veći kod mužjaka u odnosu na ženke (statistički značajna interakcija $P \times Cd$, $p < 0.001$). Poređenjem aktivnosti SODa tokom razvića lutke (Grafik 2) Tukijevim (HSD) testom kod ženki i mužjaka gubara utvrđeno je da ne postoje značajne razlike u aktivnosti između kontrolne grupe i grupe tretirane kadmijumom.

Dvofaktorskom analizom varijanse (Tabela 39) utvrđeno je da je aktivnosti SOD generalno kod ženki viša u odnosu na mužjake (efekat pola kod dvofaktorske ANOVA, $p < 0.05$). Značajna interakcija (Pol \times Cd, $p < 0.05$) ukazuje

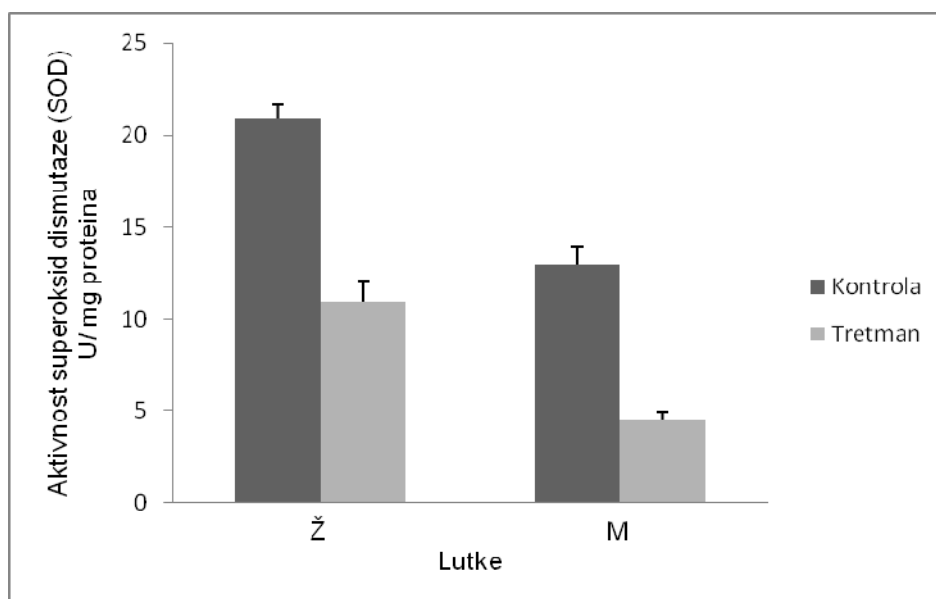
da kadmijum utiče na razlike u aktivnosti SODa kod adultnih gubara i to tako što se u prisustvu kadmijuma kod ženki smanjuje aktivnost ovog enzima dok se kod mužjaka aktivnost SODa u odgovoru na kadmijum povećava. Poređenjem aktivnosti superoksid dismutaze Tukijevim (HSD) testom kod adultnih ženki i mužjaka (Grafik 3) nisu nađene značajne razlike u aktivnosti između kontrolne i grupe tretirane kadmijumom.

Tabela 39. Prosek kvadrata odstupanja od srednje vrednosti aktivnosti superoksid dismutaze (SOD) pomnožen sa 100 (MS) dobijen dvofaktorskom analizom varijanse, kod larvi, lutki i adulta gubara, gajenih na veštačkoj dijeti bez (K), i dijeti sa dodatkom kadmijuma (Cd). Stupanj (S), pol i tretman (Cd) su fiksirani faktori. *P<0.05, ***P<0.001

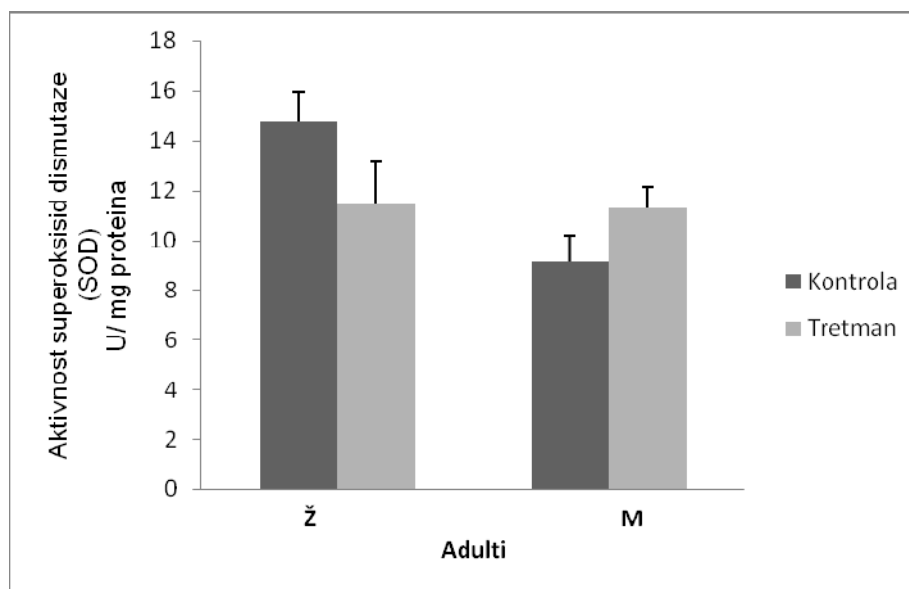
<i>SOD</i>		<i>Izvor variranja</i>			
		<i>S</i>	<i>Cd</i>	<i>S x Cd</i>	<i>Greška</i>
	df	3	1	3	32
Larve	MS	0.145	0.096	1.999	0.643
	F(P)	0.225	0.149	3.108*	
		<i>Pol</i>	<i>Cd</i>	<i>Pol x Cd</i>	<i>Greška</i>
	df	1	1	1	16
Lutke	MS	10.998	17.197	0.883	0.144
	F(P)	76.63***	119.830***	6.160*	
	df	1	1	1	16
Adulti	MS	1.716	0	1.624	0.309
	F(P)	5.545*	0.001	5.247*	



Grafik 1. Uticaj kadmijuma na aktivnost superoksid dismutaze (SOD) kod larvi gubara (od 3. do 6. stupnja) gajenih veštačkom dijetom bez (K) i sa dodatkom kadmijuma (50 μ g/ g suve podloge). Poređenja su izvršena Tukijevim (HSD) testom.



Grafik 2. Uticaj kadmijuma na aktivnost superoksid dismutaze (SOD) kod lutki ženki i mužjaka gubara, hranjenih tokom larvenog razvića dijetom bez (K) i sa dodatkom kadmijuma (50 μ g/ g suve podloge). Poređenja su izvršena Tukijevim (HSD) testom.



Grafik 3. Uticaj kadmijuma na aktivnost superoksid dismutaze (SOD) kod adultnih ženki i mužjaka gubara, hranjenih tokom larvenog razvića dijetom bez (K) i sa dodatkom kadmijuma (50 μ g/ g suve podloge). Poređenja su izvršena Tukijevim (HSD) testom.

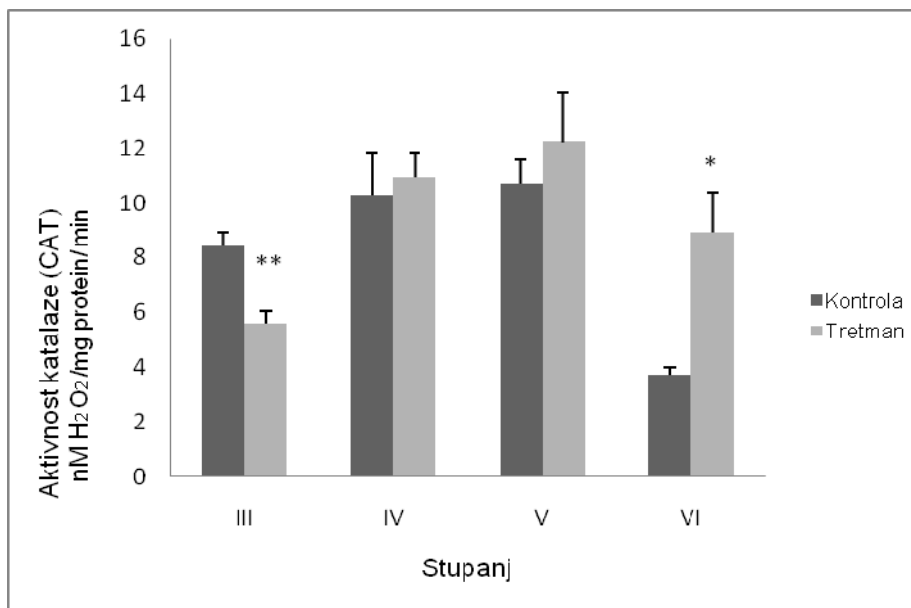
Razlike u aktivnosti katalaze u toku larvenog razvića od trećeg do šestog stupnja prikazane su na Grafiku 4. Poređenjem aktivnosti katalaze Tukijevim (HSD) testom utvrđeno je da je aktivnost značajno niža u trećem stupnju u grupi tretiranoj kadmijumom u odnosu na kontrolnu grupu. Tokom razvića izraženiji je trend porasta aktivnosti katalaze u grupi tretiranoj kadmijumom u odnosu na kontrolnu grupu. U šestom stupnju aktivnost je značajno viša u grupi hranjenoj sa dodatkom kadmijuma u odnosu na kontrolnu. Dvofaktorskom analizom varijanse (Tabela 40) utvrđeno je da aktivnosti katalaze zavisi od stupnja razvića, a značajna interakcija „Stupanj \times Cd“ ukazuje da su stupnjevi razlikuju u osetljivosti katalaze na kadmijum pri čemu su najosetljiviji treći i šesti stupanj.

Kod lutki gubara (Grafik 5) Tukijev (HSD) test je pokazao da nema značajnih razlika između kontrolne i grupe tretirane kadmijumom u aktivnosti katalaze, bez obzira na pol. Odsustvo interakcije (Pol \times Cd) ukazuje da su mužjaci i ženke u pogledu aktivnosti katalaze jednako osetljivi na prisustvo kadmijum (Tabela 40).

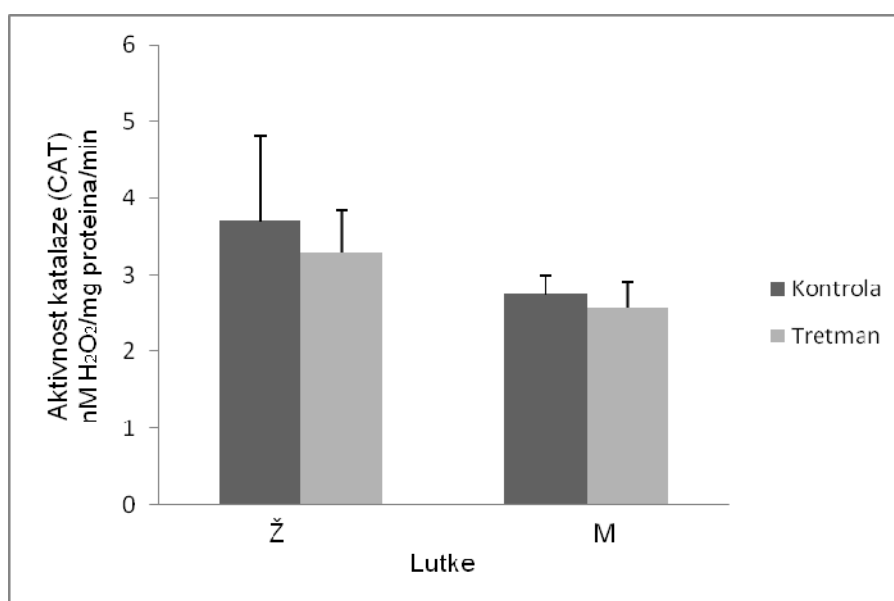
Efekat dijete sa kadmijumom je polno specifičan kod adulta gubara (visoka interakcija $P \times Cd$ u dvofaktorskoj ANOVA; $p < 0.001$) (Tabela 40). Poređenjem vrednosti za aktivnost katalaze kod adultnih ženki i mužjaka gubara Tukijevim (HSD) testom (Grafik 6) utvrđen je značajno niži nivo aktivnosti katalaze kod mužjaka tretiranih kadmijumom u odnosu na kontrolnu grupu, dok kod ženki nije bilo značajnog odstupanja u aktivnosti katalaze između kontrolne i tretirane grupe iako se uočava trend porasta aktivnosti u odgovoru na kadmijum.

Tabela 40. Prosek kvadrata odstupanja od srednje vrednosti aktivnosti katalaze (CAT) pomnožen sa 100 (MS) dobijen dvofaktorskom analizom varijanse, kod larvi, lutki i adulta gubara, gajenih na veštačkoj dijeti bez (K), i dijeti sa dodatkom kadmijuma (Cd). Stupanj (S), pol i tretman (Cd) su fiksirani faktori. $P < 0.01^{**}$, $P < 0.001^{***}$

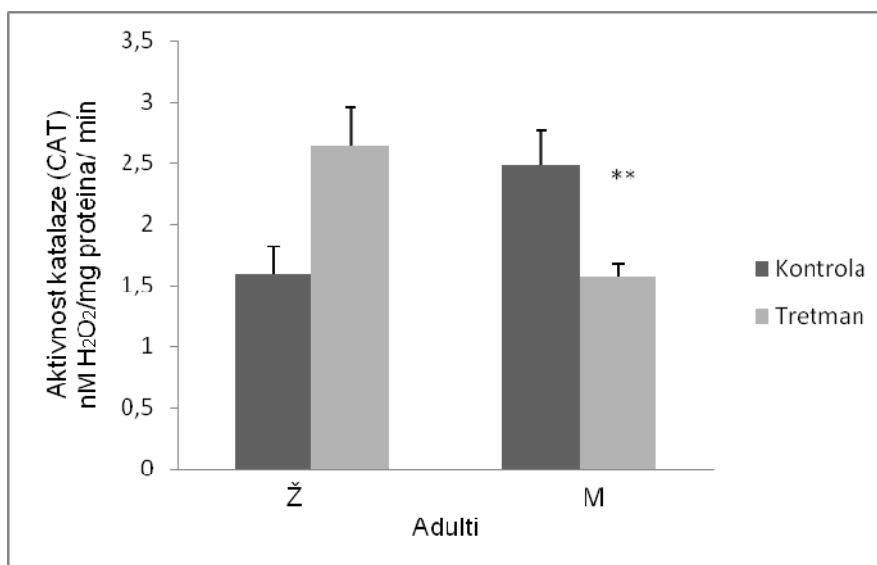
<i>CAT</i>		<i>Izvor variranja</i>			
		<i>S</i>	<i>Cd</i>	<i>S x Cd</i>	<i>Greška</i>
Larve	df	3	1	3	32
	MS	3,713	0.183	2.947	0.522
	F(P)	7.118***	0.350	5.648**	
		<i>Pol</i>	<i>Cd</i>	<i>Pol x Cd</i>	<i>Greška</i>
Lutke	df	1	1	1	16
	MS	1.010	0.097	0.014	0.680
	F(P)	1.484	0.143	0.020	
Adulti	df	1	1	1	16
	MS	0.055	0.006	5.352	0.399
	F(P)	0.137	0.015	13.409**	



Grafik 4. Uticaj kadmijuma na aktivnost katalaze (CAT) kod larvi gubara (od 3. do 6. stupnja) hranjenih dijetom bez (K) i sa dodatkom kadmijuma (50 μ g/ g suve podloge). Poređenja su izvršena Tukijevim (HSD) testom. *P<0.05, **P<0.01



Grafik 5. Uticaj kadmijuma na aktivnost katalaze (CAT) kod lutki ženki i mužjaka gubara, hranjenih tokom larvenog razvića dijetom bez (K) i sa dodatkom kadmijuma (50 μ g/ g suve podloge). Poređenja su izvršena Tukijevim (HSD) testom.



Grafik 6. Uticaj kadmijuma na aktivnost katalaze (CAT) kod adultnih ženki i mužjaka gubara, hranjenih tokom larvenog razvića dijetom bez (K) i sa dodatkom kadmijuma (50 μ g/ g suve podloge). Poređenja su izvršena Tukijevim (HSD) testom. $P < 0.01^{**}$

Dvofaktorska analiza varijanse (Tabela 41) je pokazala da aktivnost antioksidativnih enzima bitno zavisi od prisustva kadmijuma i od larvenog stupnja razvića. Razlike uslovljene prisustvom kadmijuma i različitim stupnjem razvića utvrđene su Tukijevim (HSD) testom i ogledaju se u smanjenju aktivnosti u petom stupnju razvića (** $P < 0.01$) u odnosu na kontrolnu grupu (Grafik 7.).

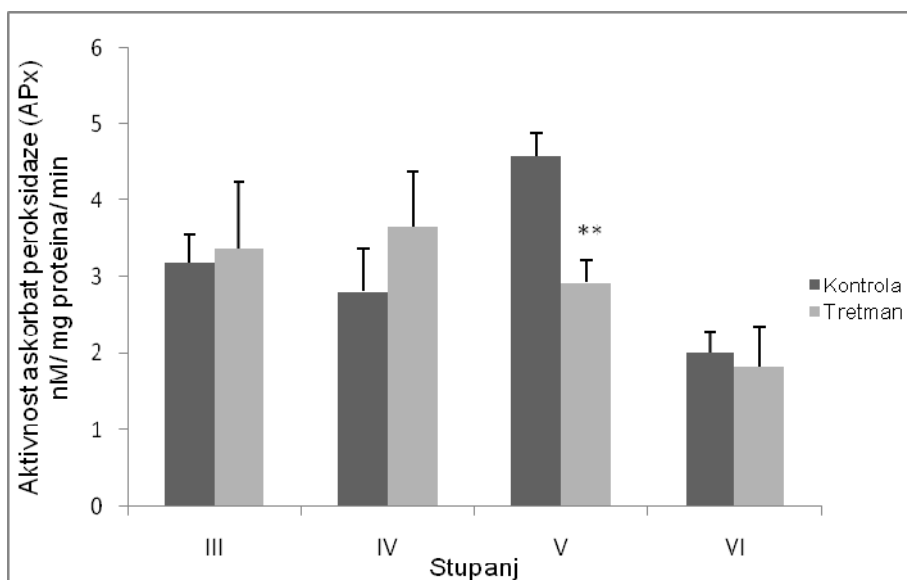
Aktivnost askorbat peroksidaze tokom razvića lutke kod ženki i mužjaka kontrolne grupe i grupe izložene kadmijumu tokom larvenog razvića prikazana je na Grafiku 8. Tukijev (HSD) test je pokazao da nema statistički značajnih razlika u aktivnosti između kontrolne grupe i tretmana ni kod mužjaka ni kod ženki. Dvofaktorskom analizom varijanse (Tabela 41) potvrđeno je da mužjaci gubara imaju značajno višu aktivnost askorbat peroksidaze u odnosu na ženke, nezavisno od uslova gajenja.

Kod adulta gubara (Grafik 9) utvrđen je značajan nivo interakcije (pol \times Cd) u dvofaktorskoj analizi varijanse (Tabela 41) što znači da mužjaci i ženke različito reaguju na prisustvo kadmijuma. Poređenjem aktivnosti enzima

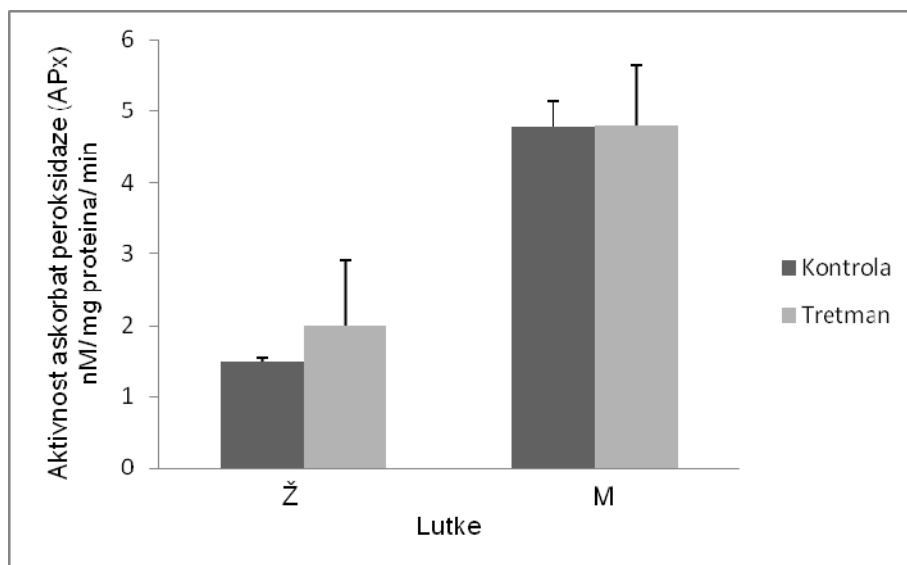
Tukijevim (HSD) testom utvrđeno je da kod ženki aktivnost enzima u prisustvu kadmijuma opada dok je kod mužjaka aktivnost ostala na približno istom nivou.

Tabela 41. Prosek kvadrata odstupanja od srednje vrednosti aktivnosti askorbat peroksidaze (APx) pomnožen sa 100 (MS) dobijen dvofaktorskom analizom varijanse, kod larvi, lutki i adulta gubara, gajenih na veštačkoj dijeti bez (K), i dijeti sa dodatkom kadmijuma (Cd). Stupanj (S), pol i tretman (Cd) su fiksirani faktori. *P<0.05, **P<0.01

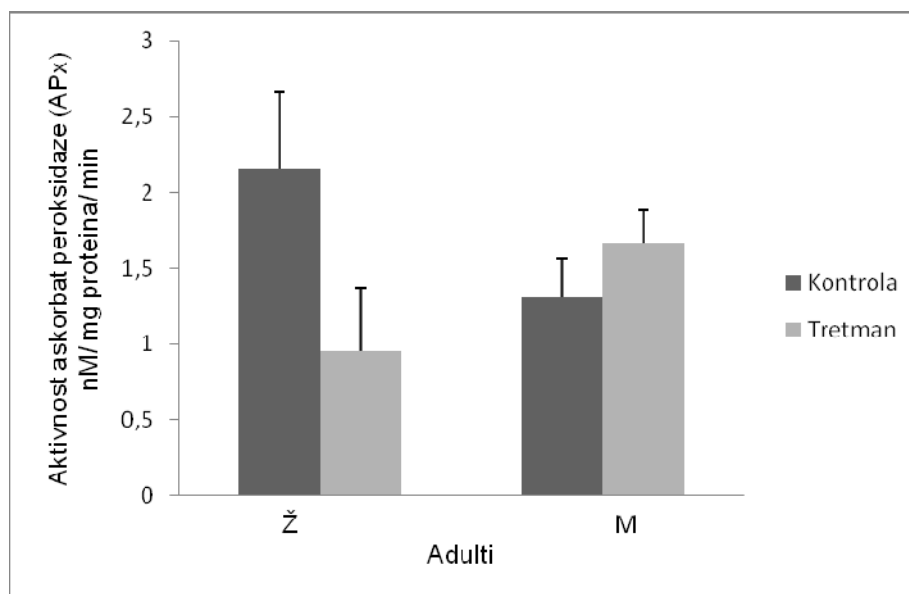
<i>APx</i>		<i>Izvor variranja</i>			
		<i>S</i>	<i>Cd</i>	<i>S x Cd</i>	<i>Greška</i>
Larve	df	3	1	3	32
	MS	5.560	21.600	12.630	1.810
	F(P)	3.060*	11.910**	6.960**	
		<i>Pol</i>	<i>Cd</i>	<i>Pol x Cd</i>	<i>Greška</i>
Lutke	df	1	1	1	16
	MS	19.600	3.150	0	3.630
	F(P)	5.398*	0.869	0.001	
Adulti	df	1	1	1	16
	MS	1.125	2.032	43.529	5.982
	F(P)	0.188	0.340	7.276*	



Grafik 7. Uticaj kadmijuma na aktivnost askorbat peroksidaze (APx) kod larvi gubara (od 3. do 6. stupnja) hranjenih dijetom bez (K) i sa dodatkom kadmijuma (50 μ g/ g suve podloge). Poređenja su izvršena Tukijevim (HSD) testom. $P < 0.01$ **



Grafik 8. Uticaj kadmijuma na aktivnost askorbat peroksidaze (APx) kod lutki ženki i mužjaka gubara, hranjenih tokom larvenog razvića dijetom bez (K) i sa dodatkom kadmijuma (50 μ g/ g suve podloge). Poređenja su izvršena Tukijevim (HSD) testom.



Grafik 9. Uticaj kadmijuma na aktivnost askorbat peroksidaze (APx) kod adultnih ženki i mužjaka gubara, hranjenih tokom larvenog razvića dijetom bez (K) i sa dodatkom kadmijuma (50 μ g/ g suve podloge). Poređenja su izvršena Tukijevim (HSD) testom.

Dvofaktorska analiza varijanse (Tabela 42) ukazuje da stupanj larvenog razvića značajno utiče na variranje količine ukupnog glutaciona tokom razvića. Značajan nivo interakcije (Stupanj \times Cd) pokazuje da kadmijum utiče značajno na smanjenje količine ukupnog glutaciona tokom razvića u grupama tretiranim kadmijumom u odnosu na kontrolne grupe u svim stupnjevima larvenog razvića (Grafik 10).

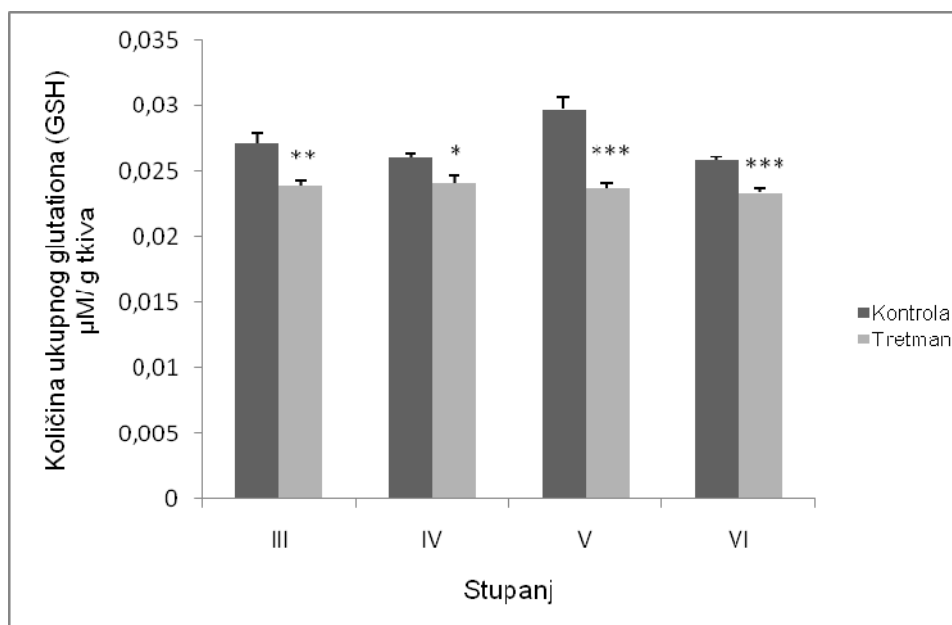
Dvofaktorska analiza varijanse (Tabela 42) je pokazala da kadmijum utiče na smanjenu količinu glutaciona kod mužjaka sa kontrolnih uslova u odnosu na ženke, i kod ženki sa tretirane grupe u odnosu na mužjake iste grupe. Tokom razvića lutke (Grafik 11) nisu zabeležene značajne razlike, poređenjem Tukijevim (HSD) testom, kod mužjaka i ženki gubara između grupa sa kontrolne dijetete i grupe sa dijetom koja sadrži kadmijum.

Dvofaktorska analiza varijanse (Tabela 42) je pokazala da ženke imaju značajno veću količinu glutaciona u odnosu na mužjake a na prisutne razlike u količini ukupnog glutaciona utiče i kadmijum povećavanjem količine kod ženki u

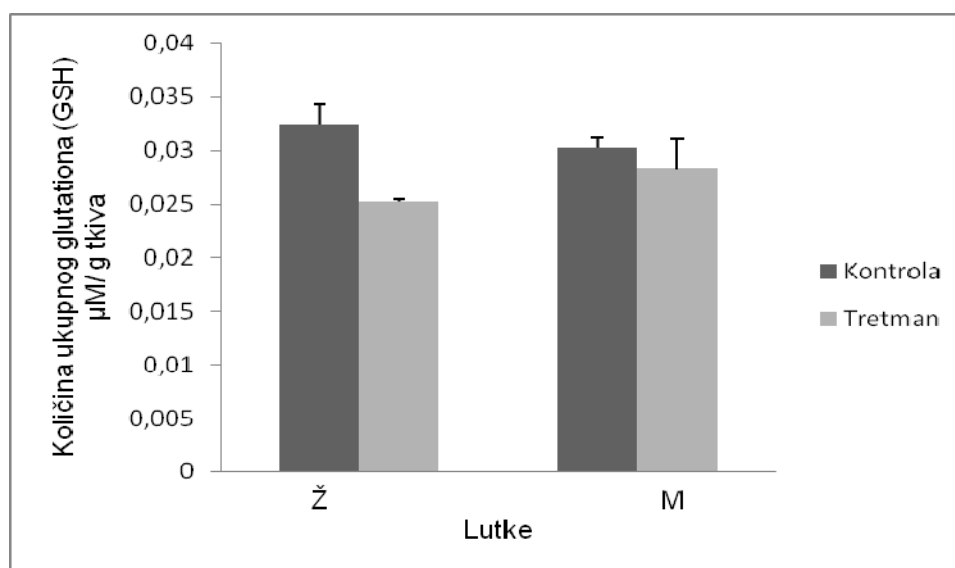
odnosu na mužjake. Poređenjem Tukijevim (HSD) testom utvrđeno je da se adultne ženke i mužjaci u kontrolnoj grupi i grupi sa dodatkom kadmijuma u dijeti (Grafik 12), ne razlikuju značajno u količini ukupnog glutaciona.

Tabela 42. Prosek kvadrata odstupanja od srednje vrednosti količine ukupnog glutaciona (GSH) pomnožen sa 100 (MS) dobijen dvofaktorskom analizom varijanse, kod larvi, lutki i adulta gubara, gajenih na veštačkoj dijeti bez (K), i dijeti sa dodatkom kadmijuma (Cd). Štupanj (S), pol i tretman (Cd) su fiksirani faktori. $P < 0.05^*$, $P < 0.01^{**}$

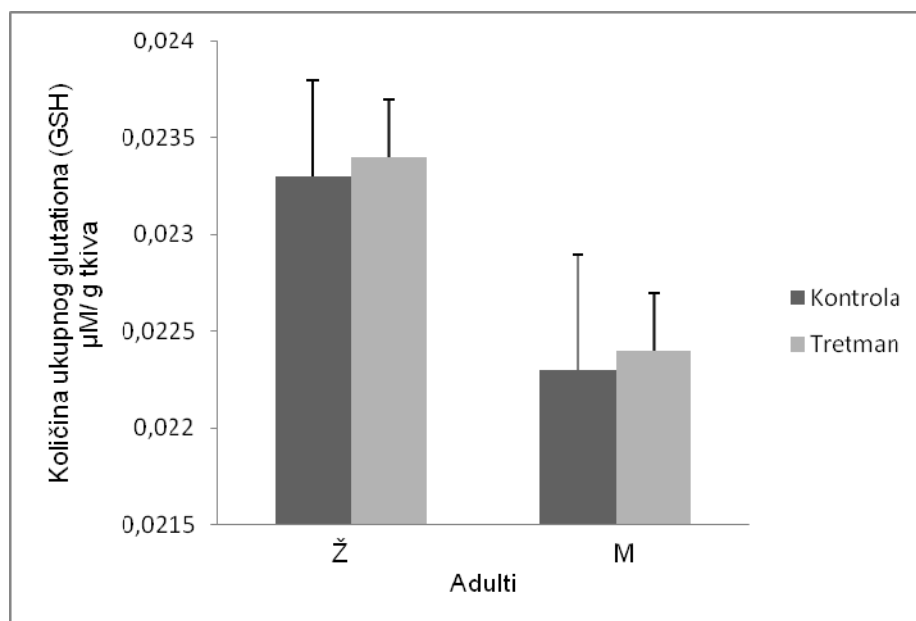
<i>GSH</i>		<i>Izvor variranja</i>			
		<i>S</i>	<i>Cd</i>	<i>S x Cd</i>	<i>Greška</i>
Larve	df	3	1	3	32
	MS	0.051	0.826	0.053	0.010
	F(P)	4.890**	79.800	5.100**	
		<i>Pol</i>	<i>Cd</i>	<i>Pol x Cd</i>	<i>Greška</i>
Lutke	df	1	1	1	16
	MS	0.010	0.624	0.162	0.074
	F(P)	0.132	8.46*	2.194	
Adulti	df	1	1	1	16
	MS	0.011	0.090	0.038	0.009
	F(P)	9.780**	9.780**	4.18	



Grafik 10. Uticaj kadmijuma na količinu ukupnog glutatona (GSH) kod larvi gubara (od 3. do 6. stupnja) hranjenih dijetom bez (K) i sa dodatkom kadmijuma (50μg/ g suve podloge). Poređenja su izvršena Tukijevim (HSD) testom. P<0.05*, P<0.01**, P<0.001***



Grafik 11. Uticaj kadmijuma na količinu ukupnog glutatona (GSH) kod lutki ženki i mužjaka gubara, hranjenih dijetom bez (K) i sa dodatkom kadmijuma (50μg/ g suve podloge). Poređenja su izvršena Tukijevim (HSD) testom.



Grafik 12. Uticaj kadmijuma na količinu ukupnog glutationa (GSH) kod adultnih ženki i mužjaka gubara, hranjenih tokom larvenog razvića dijetom bez (K) i sa dodatkom kadmijuma (50μg/ g suve podloge). Poređenja su izvršena Tukijevim (HSD) testom.

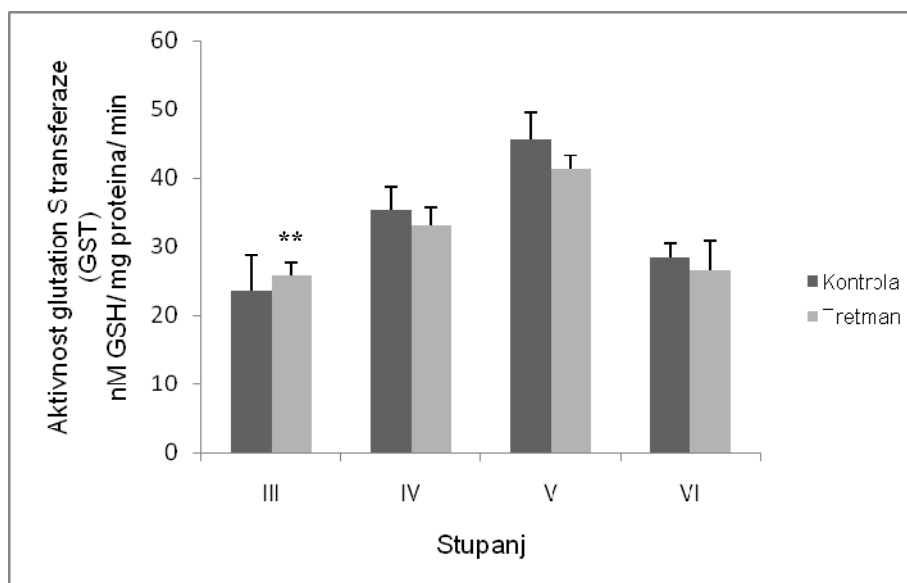
Dvofaktorskom analizom varijanse (Tabela 43) uočeno je da na promene u aktivnosti GSTe tokom larvenog razvića ne utiče značajno prisustvo kadmijuma u dijeti, već da promene u vidu povećanja aktivnosti (do 5. stupnja) a zatim smanjenja aktivnosti (6. Stupanj) značajno zavise od stupnja razvića (odsustvo značajnog efekta prisustva kadmijuma i interakcije u dvofaktorskoj ANOVA). Poređenjem aktivnosti između grupa Tukijevim (HSD) testom utvrđena je jedino značajno veća aktivnost GSTe u grupi tretiranoj kadmijumom u odnosu na kontrolu (Grafik 13).

Tokom trajanja razvića lutke kod ženki i mužjaka gubara (Grafik 14) ne uočavaju se značajne razlike u aktivnosti glutation S transferaze između jedinki iz kontrolne grupe i jedinke tretiranih kadmijumom poređenjem Tukijevim (HSD) testom. Osim toga, aktivnost GST je slična kod lutki ženki i lutki mužjaka.

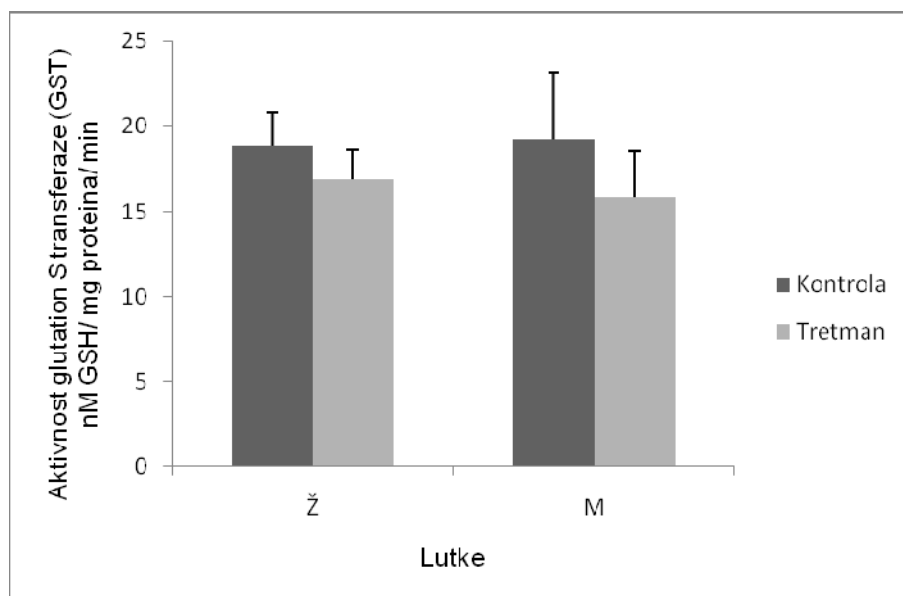
Dvofaktorskom analizom varijanse dokazano je da postoji značajno snižena aktivnost GSTe kod ženki u odnosu na mužjake. Međutim, kadmijum ne utiče značajno na aktivnost ovog enzima kod adulta oba pola gubara. Poređenja aktivnosti Tukijevim (HSD) testom nisu pokazala značajne razlike u aktivnosti enzima između grupe tretirane kadmijumom u odnosu na kontrolnu (Tabela 43).

Tabela 43. Prosek kvadrata odstupanja od srednje vrednosti aktivnosti glutation S transferaze (GST) pomnožen sa 100 (MS) dobijen dvofaktorskom analizom varijanse, kod larvi, lutki i adulta gubara, gajenih na veštačkoj dijeti bez (K), i dijeti sa dodatkom kadmijuma (Cd). Stupanj (S), pol i tretman (Cd) su fiksirani faktori. P<0.01**, P<0.001***

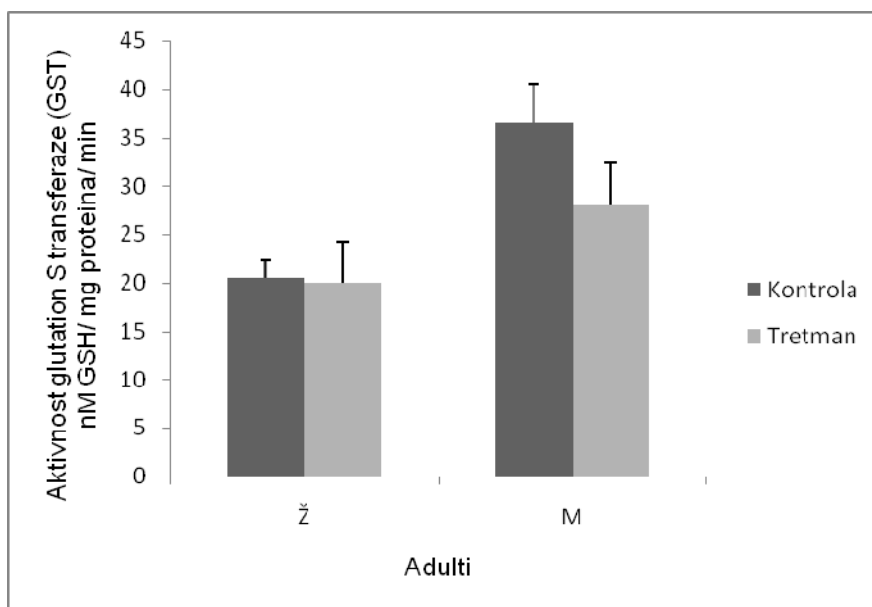
<i>GST</i>		<i>Izvor variranja</i>			
		<i>S</i>	<i>Cd</i>	<i>S x Cd</i>	<i>Greška</i>
Larve	df	3	1	3	32
	MS	2.880	0.040	0.162	0.351
	F(P)	8.200***	0.120	0.460	
		<i>Pol</i>	<i>Cd</i>	<i>Pol x Cd</i>	<i>Greška</i>
Lutke	df	1	1	1	16
	MS	0	1.034	0.020	0.543
	F(P)	0.001	1.905	0.036	
Adulti	df	1	1	1	16
	MS	5.153	0.862	0.227	0.563
	F(P)	9.155**	1.531	0.403	



Grafik 13. Uticaj kadmijuma na aktivnost glutation S transferaze (GST) kod larvi gubara (od 3. do 6. stupnja) hranjenih dijetom bez (K) i sa dodatkom kadmijuma ($50\mu\text{g}/\text{g}$ suve podloge). Poređenja su izvršena Tukijevim (HSD) testom. $P < 0.01$ **



Grafik 14. Uticaj kadmijuma na aktivnost glutation S transferaze (GST) kod lutki ženki i mužjaka gubara, hranjenih tokom larvenog razvića dijetom bez (K) i sa dodatkom kadmijuma ($50\mu\text{g}/\text{g}$ suve podloge). Poređenja su izvršena Tukijevim (HSD) testom.



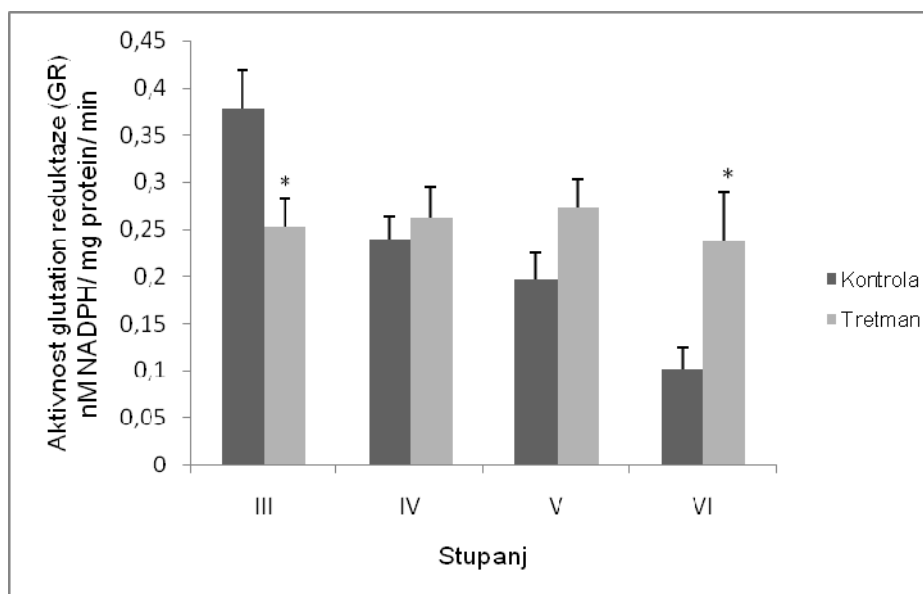
Grafik 15. Uticaj kadmijuma na aktivnost glutathion S transferaze (GST) kod adultnih ženki i mužjaka gubara, hranjenih tokom larvenog razvića dijetom bez (K) i sa dodatkom kadmijuma ($50\mu\text{g/g}$ suve podloge). Poređenja su izvršena Tukijevim (HSD) testom.

Tokom razvića larvi gubara, aktivnost GR kontrolne grupe se permanentno smanjuje, da bi najniža aktivnost bila zabeležena u VI stupnju (statistički značajan efekat stupnja u ANOVA, $p < 0.01$). S druge strane, kod larvi tretiranih kadmijumom, aktivnost GR je konstantna tokom razvića, i to tako da je, osim u trećem stupnju, čak i viša u odnosu na kontrolnu grupu (Tabela 44) (značajan efekat Cd u dvofaktorskoj ANOVA, $p < 0.05$). Značajan nivo interakcije (Stupanj \times Cd) ukazuje na značajne razlike u osetljivosti larvenih stupnjeva na prisustvo kadmijuma. Dvofaktorska analiza varijanse (Tabela 44) potvrdila je da razlike u aktivnosti nastaju kao posledica prisustva kadmijuma u dijeti, a odsustvo interakcije (pol \times Cd) ukazuje da ženke i mužjaci na sličan način reaguju na prisustvo kadmijuma u dijeti. Poređenjem Tukijevim (HSD) testom utvrđeno je da tokom razvića lutke gubara (Grafik 17) dolazi do značajnog smanjenja u aktivnosti glutathion reduktaze u grupi tretiranoj kadmijumom u odnosu na kontrolnu grupu kod oba pola.

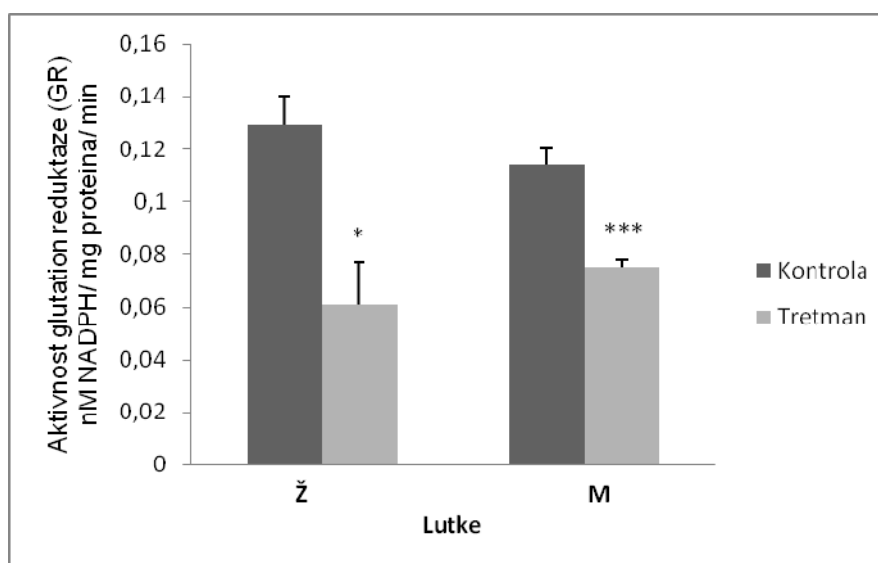
Adultni mužjaci imaju višu aktivnost GR u odnosu na ženke (statistički značajan efekat pola u ANOVA, <0.01). Kada se mužjaci hrane ishranom koja sadrži kadmijum, ona dovodi do smanjenja aktivnosti GR (Tabela 44). Nasuprot tome, prisustvo kadmijuma u ishrani ženki ne menja aktivnost GR (statistički značajni efekti Cd i interakcije P xCd, $p<0.05$). Tukijev (HSD) test nije utvrdio postojanje značajnih razlika u aktivnosti GR između grupa i kod ženki i kod mužjaka.

Tabela 44. Prosek kvadrata odstupanja od srednje vrednosti aktivnosti glutation reduktaze (GR) pomnožen sa 100 (MS) dobijen dvofaktorskom analizom varijanse, kod larvi, lutki i adulta gubara, gajenih na veštačkoj dijeti bez (K), i dijeti sa dodatkom kadmijuma (Cd). Stupanj (S), pol i tretman (Cd) su fiksirani faktori. ** $P<0.01$, *** $P<0.001$

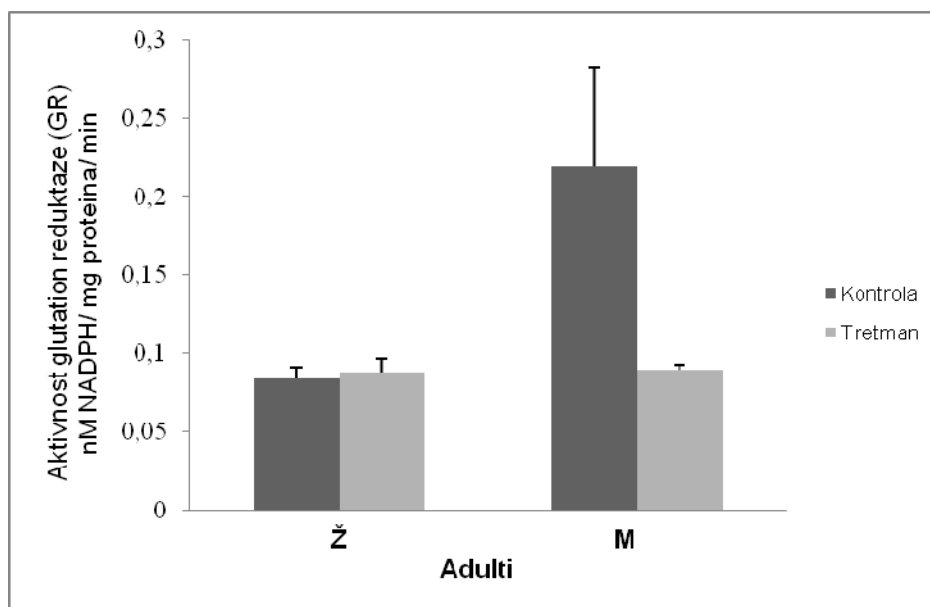
<i>GR</i>		<i>Izvor variranja</i>			
		<i>S</i>	<i>Cd</i>	<i>S x Cd</i>	<i>Greška</i>
Larve	df	3	1	3	32
	MS	4.672	2.056	3.138	0.490
	F(P)	9.528***	4.194*	6.400**	
		<i>Pol</i>	<i>Cd</i>	<i>Pol x Cd</i>	<i>Greška</i>
Lutke	df	1	1	1	16
	MS	0.035	7.502	0.920	0.294
	F(P)	0.119	25.504***	3.127	
Adulti	df	1	1	1	16
	MS	17.837	14.981	11.564	2.040
	F(P)	4.036**	3.577*	3.010*	



Grafik 16. Uticaj kadmijuma na aktivnost glutation reduktaze (GR) kod larvi gubara (od 3. do 6. stupnja), hranjenih dijetom bez (K) i sa dodatkom kadmijuma (50 μ g/ g suve podloge). Poređenja su izvršena Tukijevim (HSD) testom. $P < 0.05^*$



Grafik 17. Uticaj kadmijuma na aktivnost glutation reduktaze (GR) kod lutki ženki i mužjaka gubara, hranjenih tokom larvenog razvića dijetom bez (K) i sa dodatkom kadmijuma (50 μ g/ g suve podloge). Poređenja su izvršena Tukijevim (HSD) testom. $P < 0.05^*$, $P < 0.001^{***}$



Grafik 18. Uticaj kadmijuma na aktivnost glutation reduktaze (GR) kod larvi gubara (od 3. do 6. stupnja), hranjenih tokom larvenog razvića dijetom bez (K) i sa dodatkom kadmijuma (50 μ g/ g suve podloge). Poređenja su izvršena Tukijevim (HSD) testom.

Tokom razvića gubara, generalno se količina SH grupa smanjuje (najniža je u VI stupnju). Međutim, količina slobodnih SH grupa kod larvi gubara (Grafik 19) je značajno veća u grupi tretiranoj kadmijumom u odnosu na kontrolnu grupu tokom četvrtog, petog i šestog stupnja larvenog razvića. (Tabela 45). Značajan nivo interakcije (Stupanj \times Cd) ukazuje da se osetljivost larvenih stupnjeva na prisustvo kadmijuma povećava tokom razvića.

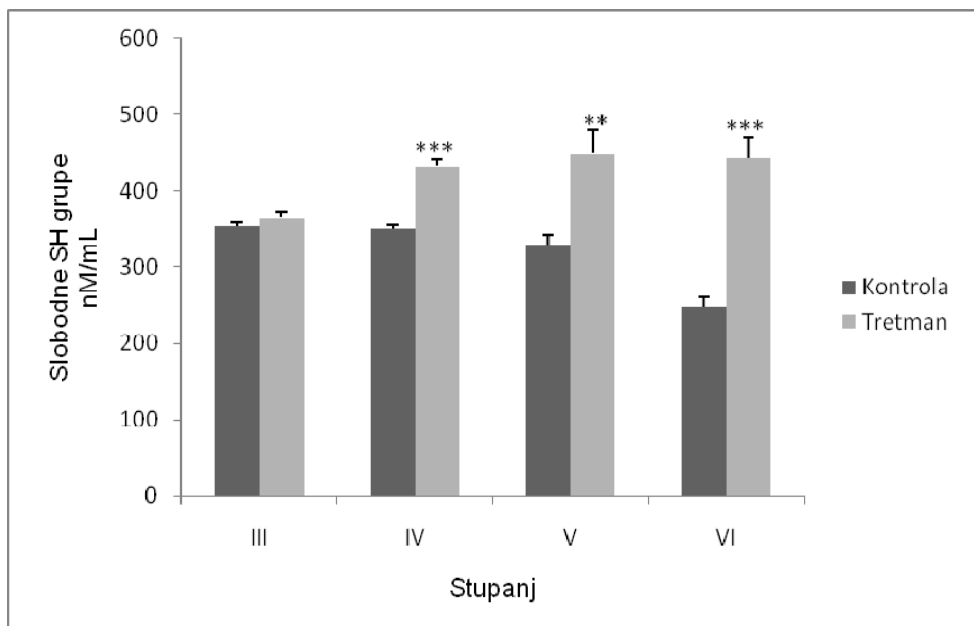
Količina SH grupa kod mužjaka gubara (Grafik 20), tokom razvića lutke, se značajno povećava u grupi tretiranoj kadmijumom u odnosu na kontrolnu grupu. Dvofaktorska analiza varijanse (Tabela 45) je pokazala da je količina slobodnih SH grupa u proseku veća kod ženki nego kod mužjaka. Odsustvo interakcije (pol \times Cd) ukazuje da mužjaci i ženke reaguju slično u produkciji slobodnih SH grupa u prisustvu kadmijuma.

U dvofaktorskoj analizi varijanse (Tabela 45) nisu dobijeni značajni efekti kadmijuma, pola ali ni interakcija na količinu slobodnih SH grupa kod adultnih jedinki. Odsustvo značajne interakcije (pol \times Cd) nam ukazuje da adultne jedinke

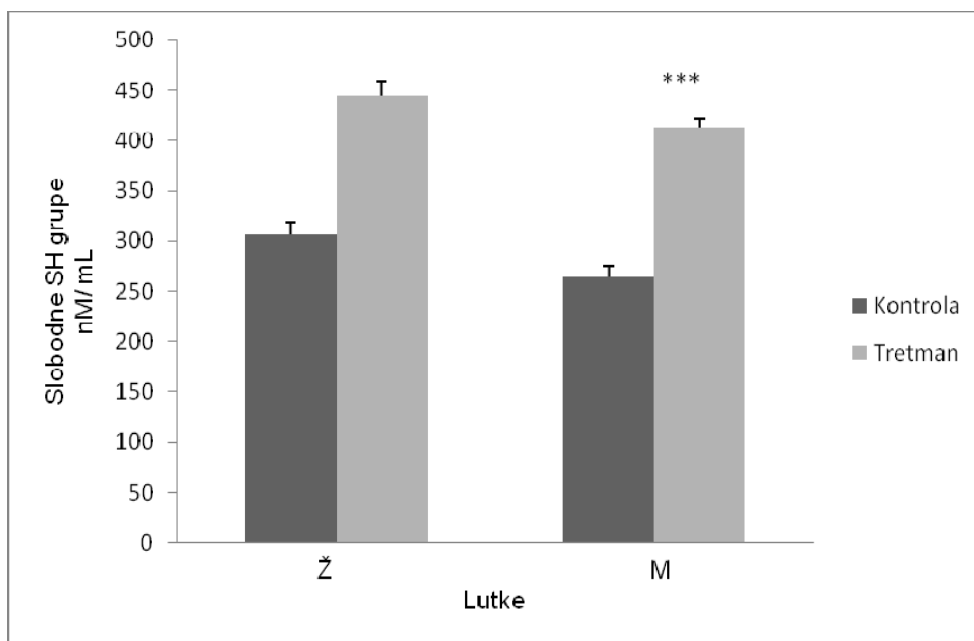
reaguju sličnom količinom slobodnih SH grupa u prisustvu kadmijuma. Ipak, post hoc poređenje Tukey HSD testom pokazalo je da adultne ženke gubara (Grafik 21) tretirane kadmijumom imaju značajno veću koncentraciju slobodnih SH grupa u odnosu na ženke iz kontrolne grupe.

Tabela 45. Prosek kvadrata odstupanja od srednje vrednosti količine slobodnih SH grupa pomnožen sa 100 (MS) dobijen dvofaktorskom analizom varijanse, kod larvi, lutki i adulta gubara, gajenih na veštačkoj dijeti bez (K), i dijeti sa dodatkom kadmijuma (Cd). Stupanj (S), pol i tretman (Cd) su fiksirani faktori. *P<0.05, **P<0.01, ***P<0.001

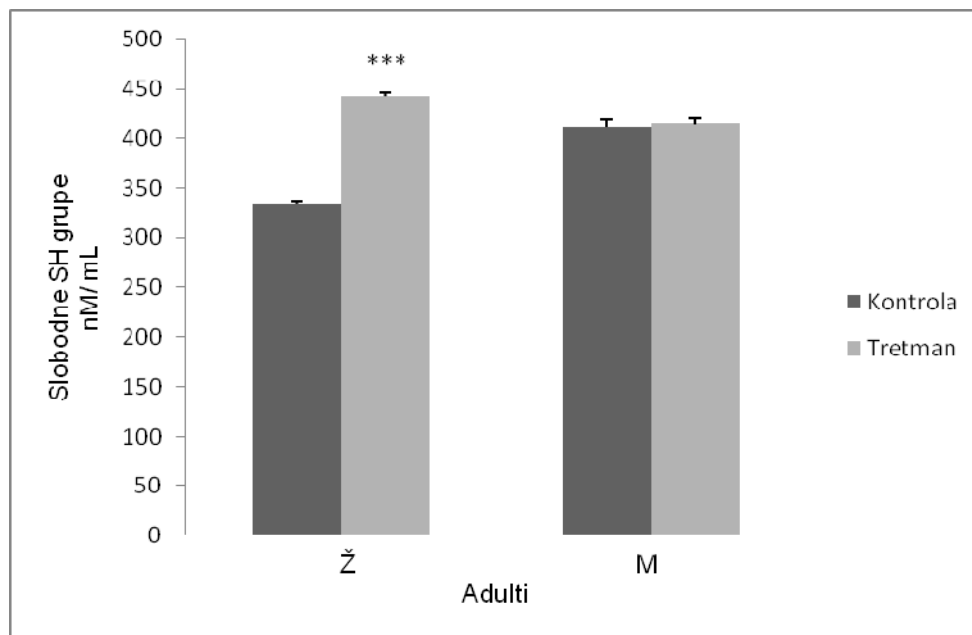
<i>SH grupe</i>		<i>Izvor variranja</i>			
		<i>S</i>	<i>Cd</i>	<i>S x Cd</i>	<i>Greška</i>
Larve	df	3	1	3	32
	MS	0.025	0.768	0.077	0.008
	F(P)	2.988*	91.599***	9.128***	
		<i>Pol</i>	<i>Cd</i>	<i>Pol x Cd</i>	<i>Greška</i>
Lutke	df	1	1	1	16
	MS	0.035	0.001	0.001	0.004
	F(P)	8.874**	0.027	0.276	
Adulti	df	1	1	1	16
	MS	0.056	0.009	0.011	0.009
	F(P)	0.980	0.98	1.199	



Grafik 19. Uticaj kadmijuma na količinu slobodnih SH grupa (SH grupe) kod larvi gubara (od 3. do 6. stupnja), hranjenih dijetom bez (K) i sa dodatkom kadmijuma (50 μ g/ g suve podloge). Poređenja su izvršena Tukijevim (HSD) testom. P<0.01**, P<0.001***



Grafik 20. Uticaj kadmijuma na količinu slobodnih SH grupa (SH grupe) kod lutki ženki i mužjaka gubara, hranjenih tokom larvenog razvića dijetom bez (K) i sa dodatkom kadmijuma (50 μ g/ g suve podloge). Poređenja su izvršena Tukijevim (HSD) testom. P<0.001***



Grafik 21. Uticaj kadmijuma na količinu slobodnih SH grupa kod adultnih ženki i mužjaka gubara, hranjenih tokom larvenog razvića dijetom bez (K) i sa dodatkom kadmijuma (50 μ g/ g suve podloge). Poređenja su izvršena Tukijevim (HSD) testom. $P < 0.001$ ***

5. DISKUSIJA

5.1. Uticaj kadmijuma na osobine adaptivne vrednosti

Akumulacija teških metala u ekosistemima je, razvojem industrije, postala jedan od glavnih problema koji dovode do promena u populacionoj dinamici mnogih životinjskih vrsta, uključujući i gubara i druge vrste insekata (Williams and Liebhold, 1995). Promene u fiziološkim i biohemijskim osobinama su u osnovi promena komponenti adaptivne vrednosti i dalje se reflektuju na promene na populacionom nivou. Uticaj kadmijuma na živi svet se ostvaruje preko lanaca ishrane i to tako što povećana emisija ovog metala iz industrijskih i drugih izvora, i kasnija depozicija u vazduhu i zemljištu, dovodi do brze akumulacije u biljkama (Bonnard et al., 2009) koju fitofagni insekti koriste u ishrani (Nieminen et al., 2001).

Toksični efekti koji nastaju unosom polutanata indukuju odbrambene metaboličke procese koji imaju energetska cenu za organizme (Widdows and Donkin, 1992). Na primer, kod moluske *Biomphalaria glabarata* četvorodnevnom tretiranjem jedinki kadmijumom u koncentraciji od 0.1 i 0.05 mg Cd/ L, dolazi do opadanja nivoa polisaharida u gonadama svih tretiranih životinja (Ansaldo et al., 2006). Pri tome, na 0.10 mg Cd/ L dolazi do značajnog opadanja ukupnog broja položenih jaja iz kojih se ne razvijaju embrioni. Manja koncentracija primenjenog kadmijuma (0.05 mg Cd/L) utiče na prolongiranje vremena izleganja iz jaja i to za dvostruko više vremena u odnosu na kontrolnu grupu (Ansaldo et al., 2009). Pod energetska cenom koju plaćaju organizmi podrazumevaju se negativni efekti adaptivnih odgovora na prisustvo teških metala (promene u fiziologiji i ponašanju) na komponente adaptivne vrednosti (reprodukcija, rast) koji su posledica raspodele ograničenih resursa na različite funkcije.

Aktiviranjem mehanizama detoksifikacije koji su energetska skupi u uslovima stresa, na primer sintezom metalotioneina (Maroni et al., 1986), prema teorijskim postavkama evolucije osobina životne istorije, dolazi do alokacije

energije ka odbrambenim mehanizmima koji povećavaju verovatnoću preživljavanja, te će manje energije biti dostupno za razviće i doći će do redukcije rasta i reprodukcije (Van Straalen and Hoffman, 2000; Augustyniak and Migula, 2000; Maryanski et al., 2002).

Naši rezultati kao i rezultati drugih autora (Vlahović et al., 2009, 2013; Ilijin et al., 2011) potvrdili su da kadmijum vrši jak negativan uticaj na rast i razviće gubara. Ipak, kod mladih larvenih stupnjeva (od prvog do trećeg stupnja) nema značajnih promena u trajanju larvenog razvića kod grupa tretiranih kadmijumom, a značajno produžavanje trajanja larvenog razvića se uočava samo kod četvrtog larvenog stupnja (LR₁₋₄) u C3 grupi u odnosu na C1 eksperimentalnu grupu (**Tabela 1**). Poznato je da je produžavanje trajanja larvenog razvića kod holometabolnih (Silanchandra and Crane, 2000; Nascarella et al., 2003) i hemimetabolnih insekata (Cervera et al., 2004) može biti posledica akutnog ili hroničnog delovanja kadmijuma u koncentracijama od 100 µg/g ili višim (Ortel et al., 1993; Gintenreiter et al., 1993a; Ilijin et al., 2010), što može objasniti izostanak značajnog efekta kadmijuma kod mladih larvenih stupnjeva gubara (LR₁- LR₁₋₄). Pored toga, kadmijum se postepeno akumulira tokom larvenog razvića gubara (Gintenreiter et al., 1993) tako da se njegovi toksični efekti u većoj meri ispoljavaju nakon dužeg izlaganja. Značajno produžavanje trajanja larvenog razvića kao posledica delovanja kadmijuma uočava se kod ženki tokom šestog stupnja larvenog razvića (**Tabela 2**), što znači da je za značajniji efekat kadmijuma u nižim koncentracijama očigledno potreban duži period vremena, tokom kojeg dolazi do značajnije akumulacije kadmijuma u organizmu i ispoljavanja njegovog štetnog delovanja. Do sličnih zapažanja došli su Wu i saradnici (2006) koji su utvrdili da se značajano povećanje efekta kadmijuma na produžavanje larvenog razvića kod *Boettcherisca peregrina* postiže produžavanjem vremena izlaganja kadmijumu ili doze koja se primenjuje.

Hronično izlaganje larvi gubara delovanju kadmijuma ili neodgovarajućoj biljci domaćinu (Barbosa et al., 1983) dovodi do skraćenog lutkinog razvića. U našem eksperimentu značajno skraćenje razvića lutke kao posledica delovanja

kadmijuma uočava se samo kod ženki, ali ne i mužjaka, dok je značajna redukcija mase prisutna kod oba pola. Lazarević i saradnici (1998) su utvrdili jaku korelaciju između mase lutke i fekunditeta kod gubara tako da redukovana masa lutke u odgovoru na visoke koncentracije kadmijuma ujedno utiče na reproduktivni uspeh ženki. Poznato je da veći mužjaci kod insekata imaju veću uspešnost u parenju (Santos et al., 1988), što ukazuje da niža masa lutki može uticati i na reproduktivni uspeh mužjaka gubara.

Naš eksperiment je pokazao da kadmijum značajno utiče na dužinu života adultnih ženki. Ženke gubara izložene najvećoj koncentraciji kadmijuma u grupi C3, žive značajno kraće u poređenju sa kontrolnom i C2 grupom dok trajanje života adultnih mužjaka ne zavisi od prisustva kadmijuma. Polazeći od osnovne koncepcije fiziološkog uzajamnog ograničavanja alokacije (fiziološki trade-off), može se pretpostaviti da je veća osetljivost ženki na stresne uslove posledica, između ostalog, i većeg ulaganja u reprodukciju, pri čemu se ova proporcija resursa ne može uložiti u odbrambene mehanizme. Cervera i saradnici (2004) takođe nalaze da adultno preživljavanje ženki *Oncopeltus fasciatus* za razliku od mužjaka, jeste pogođeno izlaganjem kadmijumu. Poznato je da dugovečnost gubara zavisi od akumuliranih resursa tokom perioda larvenog razvića. Shodno tome, ukoliko jedinke u toku perioda larvenog razvića dostignu manju veličinu tela, imaće i smanjenu dugovečnost.

Slično rezultatima Silanchandra i Crane (2000) na *Chironomus riparius*, u našem eksperimentu nisu primećene razlike između ženki i mužjaka u osetljivosti trajanja razvića na prisustvo kadmijuma. Iako su efekti pola gubara značajni za variranje svih analiziranih osobina, mužjaci i ženke pokazuju isti trend odgovora na prisustvo kadmijuma. Kadmijum dovodi do produženja trajanja larvenog razvića do petog stupnja i razvića lutke, kao i značajnog smanjenja mase lutke i dugovečnosti (**Tabela 2, Tabela 3**). Jedina polno-specifična razlika u pravcima odgovora ustanovljena je za trajanje petog stupnja larvenog razvića – iako nisu detektovani kao statistički značajni (**Tabela 2**), trendovi ubrzavanja kod ženki i

usporavanja razvića kod mužjaka rezultovali su značajnom interakcijom „Pol × Cd“ (**Tabela 3**).

Ispitujući uticaj svake od primenjenih koncentracija kadmijuma na osobine životne istorije (**Tabela 4**) utvrdili smo da kadmijum u C3 eksperimentalnoj grupi utiče na produženo trajanje razvića larvi do petog stupnja, smanjenje mase i smanjenu dugovečnost adulta kod oba pola, dok se razviće lutke pokazalo kao najosetljiviji period razvića, na čije skraćenje utiču sve tri primenjene koncentracije kadmijuma kod oba pola. Trajanje larvenog razvića se produžava, a razviće lutke pod uticajem kadmijuma skraćuje i kod vrste *Musca domestica* (Niu et al., 2002). S obzirom da se u takvim uslovima smanjuje i masa lutke, to će se neminovno negativno odraziti i na adultno preživljavanje i fekunditet koji su u jakoj korelaciji sa masom lutke (Moe et al., 2001).

Slične odnose nalaze i Schmidt i saradnici (1991) kod nimfi pravokrilca *Aiolopus thalassianus*, koje se razvijaju iz jaja u zemljištu koje sadrži 100mg CdCl₂/kg, i kojima je potrebno dvostruko više vremena nego jedinkama sa kontrole za dostizanje adultnog stupnja. Težina adulta se smanjivala, nezavisno od pola sa povećanjem primenjene koncentracije kadmijuma. Težina nifmi, koje su imale produženo trajanje razvića, smanjivala se proporcionalno vremenu produžetka razvića.

Uprkos evidentnoj akumulaciji metala u organizmu tokom larvenih stupnjeva razvića, vidljivi efekti mogu izostati. Efekti izostaju sve dok je primenjena koncentracija ispod „praga“ koji je za svaku vrstu različit, i koji se dostiže u trenutku kada koncentracija teškog metala prevaziđe mehanizme odbrane koji štite organizam od štetnih efekata. Primenjene C1 i C2 koncentracije kadmijuma u našem eksperimentu su očigledno ispod „praga“ specifičnog za gubara. Značajni negativni efekti na komponente adaptivne vrednosti su primećeni uglavnom na koncentraciji od 50µg Cd/g.

Promene u ponašanju primećene su kod larvi *Musca domestica* (Niu et al., 2002) i to u vidu izbegavanja hrane koja je kontaminirana kadmijumom.

Izbegavanjem takve hrane smanjuje se metaboličko opterećenje usled ulaganja energije za mehanizme detoksifikacije i funkcionisanje ekskretornog sistema. Aktivacija mehanizama izbegavanja toksikacije i povećanog mortaliteta dovodi do usporavanja larvenog razvića. Akutno izlaganje kadmijumu ne dovodi do promena u ponašanju larvi gubara u smislu smanjenog unosa hrane (Jobstl, 1993), ali je takva promena moguća pri hroničnom tretmanu (Ortel, 1995a) kakav je primenjen u našem eksperimentu. Smanjena konzumacija i parcijalno gladovanje tokom izlaganja kadmijumu mogu delimično objasniti redukciju mase larvi kod *Lymantria dispar* (Vlahović et al., 2009; Ijijin et al., 2010) i drugih vrsta insekata kao npr. *Boettcherisca peregrina* (Wu et al., 2006), *Poecilus cupreus* (Maryanski et al., 2002), *Folsomia candida* (Fountain and Hopkin, 2001), *Chironomus decorus* (Kosalwat and Knight, 1986).

Ovakva promena ponašanja će, s jedne strane, smanjiti unos kadmijuma, ali će, s druge strane, dovesti i do smanjenog unosa korisnih metabolita. Niži sadržaj metabolita u hemolimfi i organizmu gubara (Ortel, 1995a, 1995b, 1996) i kod drugih insekata (Wu et al., 2006) koji su izloženi kadmijumu, dovešće do poremećaja u rastu. Cena odbrane, nizak unos nutrijenata i oštećenja u metaboličkim procesima mogu objasniti različite efekte kadmijuma na komponente adaptivne vrednosti kod gubara.

Jedinke *Chironomus riparius* su bile izložene kadmijumu tokom devet uzastopnih generacija u cilju određivanja trenutka u kome dolazi do indukovanja tolerancije na prisustvo kadmijuma. Efekat selekcije za toleranciju na kadmijum je procenjivan preko populacione dinamike ove vrste. Tokom selekcije praćeni su mortalitet, rast i reprodukcija. Izlaganje larvi kadmijumu tokom uzastopnih generacija dovodi do povećanja efekata kod pojedinih osobina životne istorije u poređenju sa efektima u samo jednoj generaciji. Tolerancija na kadmijum se povećava tokom više generacija izlaganja jedinki kadmijumu u koncentraciji od 54.2 nM, i tolerantna populacija je čak bila stimulisana malim koncentracijama kadmijuma. Uprkos evoluciji tolerancije, mortalitet kod tolerantnih hironomida izloženih kadmijumu je ostao visok. Ovim eksperimentom Postma i Davids

(1995) su pokazali da se promene u osobinama životne istorije i tolerantnost na prisustvo kadmijuma može očekivati sve dok NOEC (engl. *No Observed Effect Concentration*) vrednost u jednoj generaciji ne bude prekoračena. Pored toga, za procenu toksičnosti niskih koncentracija kadmijuma potrebno je praćenje efekata tokom više generacija jer eksperimentalno izlaganje tokom jedne generacije često može potceniti potencijalni toksični efekat na populaciju insekata.

5.2. Heritabilnost u širem smislu

Osnovni uslov da bi se evolucionarne promene neke osobine mogle odigravati jeste prisustvo genetičke varijabilnosti u populaciji na osnovu koje deluju različiti evolucionarni mehanizmi, uključujući i prirodnu selekciju. Heritabilnost u širem smislu se koristi za procenu nivoa genetičke varijabilnosti za određenu osobinu u populaciji, i možemo je definisati kao udeo genetičke varijanse u ukupnoj fenotipskoj varijansi. Značaj heritabilnosti jeste u određivanju evolucionog potencijala populacije organizama koji naseljavaju heterogenu životnu sredinu (Hoffmann and Merilä, 1999). Mousseau i Roff (1987) su u istraživanju, u kom je vršena procena heritabilnosti kod životinja uključujući i drozofile, poređenjem više od 1000 vrednosti heritabilnosti za različite osobine, utvrdili da je heritabilnost za komponente adaptivne vrednosti statistički značajno niža u odnosu na morfološke, fiziološke i osobine ponašanja. Bitno je napomenuti da su ove procene heritabilnosti za različite osobine dobijene proučavanjem prirodnih populacija, iako je najveća količina podataka o heritabilnosti dobijena upravo u laboratorijskim uslovima. Halliburton (2004) smatra da heritabilnost utvrđena u laboratorijskim uslovima nije jednaka heritabilnosti utvrđenoj u prirodnim populacijama već značajno manja, zbog znatno veće sredinske varijanse u prirodnim uslovima i interakcija koje postoje između genotipa i sredine. Međutim, postoje i nalazi koji utvrđuju znatno nižu heritabilnost u prirodnim uslovima u odnosu na laboratorijske (Coyone i Beecham, 1987; Prout and Barker, 1989) s tim što je heritabilnost u prirodnim uslovima bila značajno veća od nule.

U našem eksperimentu zabeležen je značajan nivo ekspresije genetičke varijabilnosti za trajanje razvića tokom mladih larvenih stupnjeva ($LR_1 - LR_{1-4}$), pri čemu su vrednosti heritabilnosti u proseku veće u grupama tretiranim kadmijumom u odnosu na kontrolne uslove (**Tabela 5**). Međutim, poređenjem grupa tretiranih kadmijumom sa kontrolnom (**Tabela 6**), može se reći da jedino u C3 grupi kadmijum značajno utiče na povećanje heritabilnosti u širem smislu za trajanje larvenog razvića do četvrtog stupnja.

Kod ženki postoji značajna heritabilnost u svim grupama za LR_5 , LR_{1-5} , u kontrolnoj i C1 i C2 eksperimentalnoj grupi za LR_{1-6} i trajanje razvića lutke, za LR_6 u C2 eksperimentalnoj grupi, dok je za masu lutke i dužinu života adultnih ženki značajan nivo heritabilnosti utvrđen samo u C3 grupi (**Tabele 7, 8**). Kod mužjaka značajan nivo genetičke varijabilnosti utvrđen je za LR_{1-5} u svim eksperimentalnim grupama, za LR_5 i masu lutke u kontrolnoj, C1 i C3, i za razviće lutke u C1 i C3 grupi. Kadmijum je uticao na značajno povećanje genetičke u ukupnoj fenotipskoj varijansi za trajanje larvenog razvića do petog stupnja u C3 eksperimentalnoj grupi u odnosu na kontrolu, pri čemu je ta vrednost značajno veća kod mužjaka u odnosu na ženke (**Tabela 9**).

Nekoliko hipoteza objašnjava značajnu promenu u heritabilnosti određenih osobina kod organizama koji naseljavaju povoljnu i stresnu sredinu. Prva hipoteza pretpostavlja da stresni uslovi (oni koji dovode do značajne redukcije adaptivne vrednosti) mogu direktno da povećavaju nivo genetičke varijabilnosti osobina preko povećavanja nivoa mutacija i rekombinacija. Ovaj izvor varijabilnosti može biti važan za razumevanje adaptacija i dugotrajne evolucije, ali ne može da objasni razlike u nivou heritabilnosti između sredina kada se porede roditelji i potomstvo ili članovi jedne genetičke linije. Druga hipoteza polazi od pretpostavke da razlike u heritabilnosti određene osobine u različitim sredinama nastaju kao posledica delovanja selekcije koja uklanja alele koji doprinose smanjenju adaptivne vrednosti. Pod konstantnim uslovima dešava se brzo opadanje aditivnog dela varijanse kod osobina koje su povezane sa adaptivnom vrednošću (Holloway et al., 1990). U heterogenoj sredini, selekcija je

znatno manje efikasna, zato što aleli mogu imati različite efekte na adaptivnu vrednost u različitim sredinama. Tokom više generacija izlaganja stresu očekuje se smanjenje heritabilnosti. Međutim, kratkoročni efekat stresa, kada nema istorije stabilizacione selekcije, najčešće je povećanje heritabilnosti u širem smislu.

Druga verzija ove hipoteze zasnovana je na akumulaciji mutacija (Kawecki et al., 1997). Rezultati istraživanja su pokazali da je efekat štetnih mutacija često specifičan u odnosu na životnu sredinu (Kondrashov and Hole, 1994). Štetne mutacije eksprimirane u određenoj životnoj sredini bi trebalo da budu uklonjene delovanjem selekcije, ali mutacije koje su jedino štetne u retkim i nepovoljnim sredinama će opstajati i tako povećavati ekspresiju genetičke varijabilnosti pod tim uslovima (Kawecki et al., 1997; Holt and Gaines, 1992). Tako mutacije doprinose indirektno razlikama u nivou heritabilnosti određenih osobina između sredina ukoliko su nepovoljni uslovi retki.

Treća hipoteza je zasnovana na efektima selekcije na kanalisanje (fenotipska varijabilnost nastala kao posledica različitih genotipova). Kako je naglasio Waddington (1961), i u nedavnom modelu Pal (1998), od selekcije se očekuje da favorizuje supresiju varijabilnosti kvantitativnih osobina sve dok se dešavaju promene u životnoj sredini i dok se menja adaptivni pejzaž. Ispoljavanje razlika u fenotipu među genotipovima će tako biti redukovano u uslovima na koje su životinje uobičajeno navikle (povoljni uslovi), a razlike će se dešavati samo pod stresnim uslovima. Drugim rečima, plastični odgovori genotipova u promenjenim (ili stresnim) uslovima mogu podrazumevati ekspresiju tzv. skrivene genetičke varijabilnosti koja se nije ispoljavala u ranijim uslovima staništa (Stojković i Tucić, 2012). Ukoliko ovakvi odgovori na stres podrazumevaju povećanje među-genotipskih razlika, povećavaće se i procenjena heritabilnost analiziranih osobina.

Slično našim rezultatima i istraživanja na nekoliko vrsta roda *Drosophila* pokazala su slične obrasce reagovanja na stresne uslove u pogledu heritabilnosti. U slučaju temperaturnog stresa dolazi do povećanja nivoa heritabilnosti za dužinu toraksa (David et al., 1994) i u manjoj meri za dužinu krila (Barker and Krebs,

1995; Imasheva et al., 1998), posebno ako je ovaj stres udružen sa neadekvatnom ishranom (De Moed et al., 1997; Hoffmann and Schiffer, 1998). Povećanje heritabilnosti pod nepovoljnim uslovima je takođe utvrđeno i u istraživanjima na drugim invertebratima, kao na primer kod tvrdokrilca *Harmonia axyridis* kod kog je primećena promena genetičke varijanse za širinu tela (Grill et al., 1997) a kod *Lymantria dispar* promena reproduktivnog indeksa pod uticajem nepovoljne ishrane (Lazarević et al., 1998). Vrsta hemiptera *Dysdercus fasciatus* reaguje povećanjem heritabilnosti za težinu adultnih jedinki u slučaju nedostatka vlage (Kasule, 1991), a kladocera *Daphnia magna* za dužinu adultnih jedinki u slučaju smanjene dostupnosti hrane (Ebert et al., 1993). Kod gubara je primenom gustine populacije kao stresora, primećena značajno veća heritabilnost u širem smislu za trajanje larvenog i preadultnog razvića kod ženki i trajanje razvića lutke kod mužjaka u slučaju srednje gustine populacije što je posledica povećanja genetičke varijanse (Lazarević, 2000; Lazarević et al., 2008). Mrdaković i saradnici (2013) su utvrdili, istraživanjem uticaja prisustva taninske kiseline u veštačkoj dijeti na dve populacije poreklom sa različitih staništa (hrastova i bagremova šuma), značajno povećanje heritabilnosti za masu larvi u populaciji poreklom iz bagremove šume u prisustvu taninske kiseline u odnosu na jedinke iz kontrolne grupe. Heritabilnost za masu larvi kod jedinki poreklom iz hrastove šume, gajenih u kontrolnoj dijeti, bila je značajno veća u odnosu na jedinke iz bagremare gajenih na kontrolnoj dijeti. Interesantno je da je stres izazvan prisustvom alelohemikalija doveo do porasta heritabilnosti u širem smislu za enzimsku aktivnost kod larvi obe populacije. Porast genetičke varijabilnosti komponenti adaptivne vrednosti koji se ispoljava u novim sredinama važan je za adaptaciju na te uslove sredine i širenje ekoloških niša. Povećanje genetičke varijanse se može pripisati i razlikama u ekspresiji gena i poremećenom kanalisanju razvića pod stresnim uslovima u životnoj sredini (Hoffmann and Parsons, 1991).

Schneider i saradnici (2011) su proučavali tri populacije kod diptere *Aedes aegypti* gajenih pod optimalnim sredinskim uslovima u cilju procene nivoa heritabilnosti, što je uključivalo i laboratorijske i prirodne populacije. Značajna heritabilnost utvrđena je za veličinu tela. Nisu utvrđene jasne razlike između

polova, što je ukazivalo da je heritabilnost za veličinu tela gotovo nezavisna od pola kod ovog insekta.

5.3. Plastičnost

5.3.1. Varijabilnost fenotipske plastičnosti

Fenotipska plastičnost predstavlja sposobnost genotipova, ili genetički identičnih organizama, da ispolje različite fenotipske oblike za određenu osobinu u različitim sredinskim uslovima (Pigliucci, 2001; Görür, 2005), i od suštinskog je značaja za održavanje fenotipskog diverziteta u heterogenim sredinama (West-Eberhardt, 1989; Scheiner, 1993). Fenotipska plastičnost predstavlja osnovni koncept u genetici i evolucionoj biologiji. Pored toga, ona je važna za predviđanje odgovora vrsta na globalne promene sredine (Rehfeldt et al., 2001), te je određivanje fenotipske plastičnosti neophodno ne samo za istraživanje odgovora jedinki određenih vrsta na uslove životne sredine, već i za istraživanje uticaja globalnih promena na distribuciju vrsta i ishoda njihovih međusobnih interakcija u dinamičnim zajednicama (Valladares et al., 2006).

Ipak, još uvek nema usaglašenosti u stavovima o adaptivnom i evolucionom značaju fenotipske plastičnosti (Via et al., 1995, DeWitt and Scheiner, 2004). U užem smislu fenotipska plastičnost se procenjuje u odnosu na razvojne aspekte upotrebom genetičkih linija (Cheplik, 2003; Van Kleunen and Fischer, 2003), dok se u širem smislu fenotipska plastičnost procenjuje u ekološkom smislu na osnovu odgovora različitih vrsta i populacija na promenljive uslove životne sredine (Valladares et al., 2005b). Promene životne sredine mogu biti uzrok različitih reverzibilnih promena fenotipa tokom života jedinke (Lynch and Walsh, 1998), a velika genetička varijabilnost za različite plastične odgovore u prirodnim populacijama može dovesti do evolucije plastičnosti delovanjem prirodne selekcije i drugih evolucionih mehanizama (Pigliucci et al., 2006). Zapravo, plastičnost donosi novi pogled na shvatanje fenotipskih varijacija koje

nastaju kao posledica ekoloških interakcija i delovanja selekcije (Ackerly and Sultan, 2006).

Pravac promena fenotipske varijabilnosti je važan za predviđanje evolucionih odgovora populacija koje naseljavaju heterogenu sredinu. Kada se različiti genotipovi nađu u uslovima promenjene životne sredine, njihove relativne performanse u svakoj sredini i fenotipska plastičnost se menjaju, a osnovni i najvažniji problem postaje kvantitativna ocena fenotipskih promena koje su uzrokovane promenama u životnoj sredini. Procenom značajnosti interakcija između genotipa i sredine u full-sib eksperimentalnom dizajnu dobija se uvid u postojanje mogućnosti variranja fenotipske plastičnosti između određenih familija (legala). Postojanje značajnih interakcija govori o tome da se genotipovi razlikuju u osetljivosti na promenjene uslove životne sredine.

U našem eksperimentu kod mlađih larvenih stupnjeva (LR₁ - LR₁₋₄) prisutna je statistički značajna interakcija „L x Cd“ između genotipa (leglo) i sredine (Cd), što znači da se familije gubara u ranim fazama larvenog razvića, od prvog do četvrtog larvenog stupnja, razlikuju u odgovorima na prisustvo teškog metala u hrani (**Tabela 10**). Značajna varijabilnost fenotipske plastičnosti uočava se i u kasnijim periodima razvića gubara. Tako je kod ženki gubara (**Tabela 11**) primećena značajna interakcija „L x Cd“ za trajanje šestog stupnja larvenog razvića u C1 grupi, i masu lutke u C1 i C3 eksperimentalnoj grupi, dok kod mužjaka (**Tabela 12**) postoji značajna interakcija za trajanje petog stupnja larvenog razvića u C2 grupi, i u svim grupama za trajanje larvenog razvića do petog stupnja. Rezultati upućuju na zaključak da neki genotipovi pokazuju veću tolerantnost prema kadmijumu (manja redukcija komponenti adaptivne vrednosti) ili kadmijum ima hormetički efekat (veća adaptivna vrednost u stresnoj u odnosu na kontrolnu sredinu). S obzirom da je varijabilnost fenotipske plastičnosti najuočljivija tokom larvenog razvića od prvog do četvrtog stupnja, kako u kontrolnoj tako i u grupama tretiranim različitim koncentracijama kadmijuma, i kod ženki za masu lutki, može se reći da plastičnost odgovara periodu u okviru ontogenije tokom kojeg je organizam sklon da menja razvojni put u odgovoru na

spoljašnju sredinu (Wang and Cutler, 1995; Mozley and Thomas, 1995; Kaiser et al., 1995).

Razlika između polova u varijabilnosti fenotipske plastičnosti za masu lutke može se objasniti genetičkim i epigenetičkim razlikama u putevima razvića dva pola. Uzimajući u obzir da je ulaganje ženskog pola u reprodukciju veće od ulaganja mužjaka, može se pretpostaviti da je razviće ženki evoluiralo u smeru veće osetljivosti na sredinske uslove kako bi se obezbedili adekvatni odgovori na heterogenu životnu sredinu. U tom smislu, održavanje visokog evolucionog potencijala fenotipske plastičnosti, posebno kod ženki, kroz genetičku varijabilnost normi reakcije, predstavljalo bi adaptivnu strategiju populacije. Na primer, Schneider i saradnici (2011) su utvrdili, primenom dvofaktorske analize varijanse za full-sib dizajn, značajan uticaj genotipa i sredine na oba pola *Aedes aegypti* u uslovima nutritivnog stresa, ali značajnu interakciju samo kod ženki. Norme reakcije za svaku familiju varirale su kod oba pola ukazujući na značajnu varijabilnost fenotipske plastičnosti na populacionom nivou. Uz to, opseg normi reakcija primećen između jedinki koje su rasle u različitim sredinskim uslovima unutar familija, bio je veći za ženke nego za mužjake, implicirajući veću sposobnost ženki da tokom razvića modifikuju alokaciju resursa u uslovima nutritivnog stresa. Slični rezultati ustanovljeni su i kod drugih organizama (Stillwell et al., 2010).

U radu Vlahović i saradnika (2009) na gubaru utvrđeno je da se hronični efekat kadmijuma, prisutan u hrani *Lymantria dispar*, ogleda u redukciji mase larvi i opadanju aktivnosti alkalne fosfataze u većini full-sib familija. Kod 16 od 20 full-sib familija ustanovljena je redukcija mase larvi, a u 18 od 20 opadanje aktivnosti alkalne fosfataze tokom hroničnog stresa kadmijumom u koncentraciji od 30 µg Cd/g suve hrane. Tokom trodnevnog oporavka od obe primenjene koncentracije kadmijuma, kod devet grupa jaja pri oporavku od koncentracije 10 µg Cd/g suve hrane, i kod 10 grupa jaja pri oporavku od koncentracije 30 µg Cd/g suve hrane, primećeno je povećanje mase larvi.

Proučavajući uticaj povećane koncentracije tanina u ishrani gubara, Mrdaković i saradnici (2013) nalaze statistički značajnu interakciju (genotip x tretman) za masu larve kod populacija poreklom iz bagremove i hrastove šume, dok je za relativnu brzinu rasta ustanovljena značajna interakcija u hrastovoj ali ne i u bagremovoj populaciji. Prisustvo značajne varijabilnosti fenotipske plastičnosti ukazuje na potencijal vrste za evoluciju adaptivnih plastičnih odgovora u novim uslovima sredine, uključujući i stresnu sredinu.

Utvrđene interakcije između genotipa i sredine za osobine životne istorije u promenjivim uslovima sredine ukazuju na činjenicu da ekspresije različitih gena mogu doprinosti određenoj osobini u različitim sredinama (Vieira et al., 2000; Mackay, 2001; Borevitz et al., 2002). Prema teorijskim postavkama, teško je očekivati da će genetički parametri ostati konstantni tokom perioda u kome vlada konstantni selekcionni pritisak, a posebno u uslovima gde postoji prostorna i/ili vremenska heterogenost sredine i česta promena selekcionnih pritisaka (Via and Lande, 1987). Tako, na primer, Ackermann i saradnici (2001), ispitujući efekte selekcije na četiri linije *Drosophila melanogaster* iz različitih laboratorija za brzinu razvića, adultni mortalitet i gustinu populacije, pod različitim temperaturnim uslovima, dolaze do zaključka da je jedino rani fekunditet bio osetljiv na promenjene uslove sredine, dok za druge osobine nije bilo značajne interakcije između genotipa i sredine.

Druga istraživanja su takođe utvrdila da genetički odgovori na selekciju zavise od uslova životne sredine, ukazujući na interakciju između genotipa i sredine (Clark, 1987; Stearns et al., 1991). Selekcija za povećanu otpornost na prisustvo kadmijuma kod *Drosophila melanogaster* bila je povezana sa polno vezanim genima što je rezultiralo u povećanom juvenilnom preživljavanju, povećanom fekunditetu i skraćenom trajanju razvića kod senzitivnih linija (Shirley and Sibly, 1999). Linije otporne na kadmijum imale su smanjeni fekunditet, dok u drugim osobinama nisu primećene razlike.

Kod *Drosophila melanogaster*, sa opadanjem koncentracije kvasca u hranljivom medijumu dolazi do produžavanja larvenog razvića i smanjenja težine

jedonki uz istovremeno povećanje fenotipske varijanse za ove osobine. Razlike između sredina (različita koncentracija kvasca) i značajna varijabilnost fenotipske plastičnosti ukazuju na mogućnost dobijanja različitih fenotipskih odgovora genotipa u zavisnosti od uslova životne sredine. Težina u trenutku ulutkavanja je, u velikoj meri, zavisila od uslova rasta tokom prethodnog perioda razvića (Gebhardt and Stearns, 1988).

Kod vrste Lepidoptera *Epiphyas postvittana* uočene su izvesne promene u komponentama adaptivne vrednosti, kao posledica adaptacija na različite uslove u životnoj sredini (Geier and Briese, 1980). Fenotipska vrednost za trajanje razvića, težinu tela i parametre fekunditeta varirala je značajno između populacija i menjala se sa promenom temperature (Gu and Danthanarayana, 2000). Podaci pokazuju da temperatura vrši intenzivan uticaj na ekspresiju fenotipa i to za genetički uslovljene osobine životne istorije ove vrste. Usled postojanja fenotipske plastičnosti, ispoljavanje fenotipa za ove osobine u svakoj sredini sa različitom temperaturom može biti pod uticajem različitih ili istih alela, i može se do izvesnog stepena menjati nezavisno (Via and Lande, 1985). Tokom evolucionih promena ka ekološkom optimumu, različito specijalizovani genotipovi će biti selektovani za svaku sredinu (Gillespie and Turelli, 1989), tako da promenjivi selekcionni pritisci u različitim temperaturnim sredinama mogu voditi ka održavanju genetičke varijanse u lokalnim populacijama ovog organizma.

Takođe, značajne razlike između populacija u fenotipskoj plastičnosti u odgovoru na nutritivni stres (npr. ishrana bagremovim lišćem) primećene su za preadultni vijabilitet, masu lutke, i relativnu brzinu rasta i efikasnost konverzije unete hrane u biomasu larvi četvrtog stupnja kod gubara (Lazarević et al., 2002, 2007).

5.3.2. Plastičnost, heritabilnost plastičnosti i heritabilnost svojstva

Heritabilnost plastičnosti se može procenjivati na više načina, a odabrana procena zavisi od konkretnih uslova populacije i eksperimentalnog dizajna. Prvi način podrazumeva meru relativne količine genetičke varijanse koja je zavisna ili nezavisna od sredinskih uticaja. U ovom slučaju koriste se prosečne vrednosti u svim sredinama i tada razlikujemo ukupnu fenotipsku varijabilnost, heritabilnost svojstva nezavisnu od sredinskih uticaja i heritabilnost plastičnosti koja se odnosi na sredinski zavisni deo genetičke varijanse (Scheiner and Lyman, 1991). Drugi pristup odnosi se na odgovor selekcije na plastičnost i zavisi od oblika selekcije koji deluje. Kvantifikovanje heritabilnosti plastičnosti je ograničeno podudaranjem eksperimentalnih uslova sa sredinskim uslovima u prirodi. Za objašnjavanje genetičke osnove plastičnosti postoje tri modela, koji se međusobno ne isključuju. Prvi model posmatra plastičnost u funkciji homozigota (overdominansa). Ovaj model pretpostavlja da količina promena između sredina opada sa povećanjem broja heterozigotnih lokusa (Dobzhansky, T., 1947; Gillespie and Turelli, 1989). Drugi model posmatra plastičnost u funkciji različite ekspresije jednog istog gena u različitim sredinama (plejotropija) (Via and Lande, 1985; Via, 1987). Ovaj model pretpostavlja da je ekspresija određenog alela u jednoj sredini potencijalno nezavisna od njegove ekspresije u drugoj sredini. U trećem epistatičkom modelu, plastičnost nastaje usled interakcije između gena koji determiniše najveći deo odgovora na sredinske uslove i gena koji samo prosečno doprinose ekspresiji određene osobine. Plejotropni i epistatički model imaju za sada brojne eksperimentalne potvrde (Scheiner, 1993).

Plastičnost omogućava organizmu da prilagođava svoj fenotip promenljivoj sredini; kada optimalni fenotip varira u određenim sredinskim uslovima, evolucija fenotipske plastičnosti je predvidiva (Houston and McNamara, 1992). Ispitivanja plastičnosti uključuju familije organizama izloženih različitim sredinskim uslovima koji utiču na ispoljavanje prisutne genetičke varijabilnosti plastičnosti. Preko poređenja odgovora različitih genotipova (familija) na sredinske varijacije u različitim grupama procenjuju se

opseg, pravci i varijabilnost fenotipskih odgovora (Nussey et al., 2007). Poseban interes postoji za određivanje genetičke varijabilnosti u prisutnoj individualnoj plastičnosti i to određuje potencijal za evoluciju ovog svojstva (Scheiner and Lyman, 1989).

U našem eksperimentu, kako se moglo i očekivati, mlađi larveni stupnjevi (LR₁- LR_{1.4}) pokazuju najveću plastičnost fenotipa u C3 grupi koja je izložena najvećoj koncentraciji kadmijuma, tj. najvećem stresu (**Tabela 13**). Načelno, heritabilnost plastičnosti je manja od heritabilnosti svojstva u svim sredinama kod mlađih larvenih stupnjeva. Ove razlike u procenjenim heritabilnostima impliciraju da genetičke osnove osobine i njene plastičnosti, kao i pravci njihove evolucije, ne moraju biti identični (Pigliucci 2001). Niska heritabilnost plastičnosti u ranoj ontogenezi može nam ukazivati da su prve faze razvića izložene jakim selektivnim pritiscima ka kanalisanju ograničenog broja fenotipskih stanja, odnosno da je genetička varijabilnost plastičnog odgovora značajno smanjena pod delovanjem stabilizacione selekcije. S druge strane, za razliku od selekcije koja će u slučaju fenotipske plastičnosti delovati na genetičke sisteme osetljivosti i regulacije razvića, selekcija na samu osobinu podrazumeva promene strukturnih gena koji leže u neposrednoj osnovi same osobine i čija se varijabilnost u velikoj meri ispoljava preko aditivne genetičke varijanse. U tom smislu, selekcija za robusne regulatorne sisteme u ranim fazama razvića može biti intenzivnija od selekcije same osobine. U kasnijim fazama razvića, međutim, senzitivnost u odnosu na sredinske stimulse i ispoljavanje genotipskih razlika u osetljivosti na varijabilnu životnu sredinu može biti pod slabijim intenzitetom selekcije. Takođe, prisutna genetička varijabilnost plastičnosti u jednoj populaciji ukazuje potencijalno i na pravce selekcije ka favorizovanju širokih normi reakcije za neke osobine u kasnijim fazama ontogenije u heterogenom staništu. Kod ženki se uočava veća heritabilnost plastičnosti u odnosu na heritabilnost svojstva za trajanje šestog stupnja larvenog razvića u svim grupama, masu lutke i trajanje petog stupnja u C3 grupi, trajanje larvenog razvića do petog stupnja u C1 i C2 grupi i razviće lutke u C1 grupi (**Tabela 14**). Kod mužjaka heritabilnost plastičnosti je veća od heritabilnosti svojstva za masu lutke i trajanje petog

stupnja larvenog razvića u C2 grupi, trajanje larvenog razvića do petog stupnja u svim grupama, a za razviće lutke i dužinu života adulta u C1 i C3 grupi (**Tabela 15**).

S druge strane, za neke osobine, kao što su trajanje šestog stupnja, larvenog razvića do petog i šestog stupnja i razvića lutke, ustanovljen je trend smanjenja plastičnosti sa povećanjem koncentracije kadmijuma, tako da je za ove osobine plastičnost najmanja upravo u C3 grupi. Ovaj podatak nam govori o specifičnostima pravaca i ograničenja evolucije plastičnosti u svakoj fazi ontogenije i konkretnim sredinskim uslovima. Na primer, možemo pretpostaviti da je smanjena sposobnost plastičnog odgovora parametara razvića u veoma stresnim nutritivnim uslovima rezultat intenzivne alokacije resursa u detoksifikacione mehanizme u određenim fazama ontogeneze što postavlja ograničenja za ulaganje u plastične reakcije razvića.

Za dužinu života najveća plastičnost kod ženki utvrđena je u C3 grupi a kod mužjaka u C1 grupi. Kod mužjaka su takođe utvrđene najniže vrednosti plastičnosti na najvišoj koncentraciji kadmijuma (C3 grupa) za trajanje petog stupnja, larvenog razvića do petog stupnja, razviće lutke i masu lutke. Na osnovu izraženijeg skraćenja životnog veka kod ženki u odnosu na mužjake, može se zaključiti da je razviće ženskog pola kod gubara značajno osetljivije na nutritivni sredinski stres.

Obim plastičnosti zavisi od genotipa, hormona i sredine i ona ne mora da bude adaptivna (Thompson, 1991; Scheiner, 1993). Za razliku od komponenti adaptivne vrednosti, Vlahović i saradnici (2012) dobijaju, u ispitivanju promena aktivnosti nespecifičnih esteraza kod larvi *Lymantria dispar* tretiranih kadmijumom, povećanu plastičnost aktivnosti enzima pri hroničnom tretmanu koncentracijom od 10 µg Cd/g suve hrane u odnosu na grupu koja je bila na oporavku od iste koncentracije, dok je plastičnost viša nakon hroničnog tretmana kadmijumom u odnosu na akutni tretman istom koncentracijom. Takođe, plastičnost alkalne fosfataze u odgovoru na akutno izlaganje višim

koncentracijama kadmijuma bila je značajno veća u poređenju sa nižim koncentracijama kadmijuma (Vlahović et al., 2009).

Fenotipska plastičnost ima važnu ulogu u promovisanju povećanja raznovrsnosti, ali može i preuveličati efekte prirodne selekcije preko omogućavanja brze fenotipske adaptacije jedinki na nove uslove (Crispo, 2008). Plastičnost insekta povezana sa njegovom ishranom (biljka domaćin) dozvoljava produkciju optimalnog fenotipa bez velikih genetičkih promena (Via, 1990). Značajna fenotipska plastičnost izražena u odgovoru na stresne uslove, koje smo ranije opisali kod gubara iz hrastove i bagremove populacije (Lazarević et al., 2002, Mrdaković et al., 2011), ukazuju na njihove slične strategije u prevazilaženju stresnih uslova i postizanju optimalnih fenotipova.

5.3.3. Indeks fenotipske plastičnosti

Fenotipska plastičnost je merena u našem eksperimentu po Čeplikovoj (Cheplick, 1995) i po Lijevoj metodi (Li et al., 2001). Čeplikov indeks plastičnosti se koristi za istraživanje fenotipske plastičnosti kada se očekuje da pojedine komponente sredine utiču na ciljane osobine (Valladares et al., 2006), i pokazuje pravac odgovora full-sib familija na sredinske promene. Ukoliko se familije značajno razlikuju u pravcu odgovora, očekuje se nizak indeks fenotipske plastičnosti i njegova visoka varijabilnost. Za razliku od ovog indeksa, Lijev indeks plastičnosti ne odražava pravac plastičnih odgovora, i sve vrednosti plastičnosti su pozitivne.

Poređenjem vrednosti indeksa fenotipske plastičnosti po Čeplikovoj metodi između grupa tretiranih kadmijumom utvrđen je značajno veći indeks kod larvi C1 grupe u odnosu na C3 grupu za trajanje larvenog razvića do trećeg stupnja, u odnosu na C2 i C3 grupu za trajanje larvenog razvića do četvrtog stupnja (**Table 16, 17**), i kod ženki za trajanje šestog stupnja larvenog razvića u odnosu na C3 grupu. Vrednosti za pomenute osobine u C3 grupi su bile negativne što znači da kadmijum tokom pojedinih faza larvenog razvića utiče na pravac

promene fenotipske plastičnosti u odnosu na kontrolnu grupu. Ženke imaju značajno veću fenotipsku plastičnost u C3 i C1 grupi za dužinu života i u C3 grupi za trajanje razvića lutke u odnosu na C2 grupu (**Tabele 18, 19**). Vrednost indeksa u C2 grupi za dužinu života je negativna što znači jedinke u ovoj grupi pokazuju promenu pravca u varijabilnosti fenotipske plastičnosti. Kod mužjaka značajno niži indeks plastičnosti uočen za trajanje razvića lutke u C3 grupi u odnosu na C1 i C2 grupu (**Tabele 20, 21**).

Lijevom metodom utvrđeno je da najveći indeks plastičnosti imaju larve u C3 eksperimentalnoj grupi za trajanje larvenog razvića do trećeg stupnja u odnosu na ostale grupe, i za trajanje larvenog razvića do četvrtog stupnja u odnosu na C2 grupu. Ženke C1 grupe imaju značajno veći indeks za trajanje larvenog razvića do petog stupnja od C2 grupe, a za dužinu života adulta od C2 i C3 grupe, a mužjaci za trajanje razvića lutke u C1 grupi u odnosu na C3. Najveći indeks plastičnosti po Liju ukazuje na najveću mogućnost promene fenotipa u promenjenim uslovima životne sredine.

Po Čepliku, ženke u C2 grupi imaju značajno veći indeks plastičnosti za trajanje petog stupnja larvenog razvića u odnosu na mužjake. Lijeva metoda pokazala je da ženke imaju značajno veću vrednost indeksa plastičnosti za trajanje dužine života tokom adultnog perioda u C1 grupi, a mužjaci za trajanje larvenog razvića do petog stupnja u C2 grupi (**Tabela 22**).

U radovima Vlahović i saradnika (2009, 2012, 2013) nalazimo da je Lijev indeks za masu larvi kod *Lymantria dispar* bio viši nakon akutnog izlaganja koncentraciji od 10 µg Cd/g suve hrane, i tokom hroničnog izlaganja koncentraciji od 30 µg, dok je Čeplikov indeks za masu imao najveće vrednosti tokom oporavka od ishrane sa dodatkom 30µg kadmijuma. Za plastičnost alkalne fosfataze oba indeksa imaju najveće vrednosti tokom hroničnog tretmana. Hronično izlaganje višim koncentracijama kadmijuma povećava indeks fenotipske plastičnosti za masu larvi i ukazuje na smanjivanje mase larvi tokom dugotrajnog stresa većeg intenziteta. U skladu sa Čeplikovim indeksom plastičnosti, kratkotrajne sredinske promene alkalnu fosfatazu, nakon tri dana

akutnog stresa ili oporavka, vode ka višim vrednostima indeksa fenotipske plastičnosti slično kao i u slučaju hroničnog delovanja stresa u odnosu na kontrolne uslove. Esteraze su pokazale više vrednosti indeksa fenotipske plastičnosti u slučajevima delovanja hroničnog stresa, nezavisno od koncentracije, u odnosu na jedinke koje su bile na oporavku, ukazujući da esteraze imaju nižu aktivnost tokom hroničnog stresa nego tokom oporavka i hroničnog stresa. Veliki indeks plastičnosti esteraza tokom akutnog i hroničnog stresa sa 10 μg kadmijuma u odnosu na višu koncentraciju kadmijuma, ukazuju na njihovu veću senzitivnost tokom prisustva niskih koncentracija metala. Varijabilnost plastičnosti u slučaju lizosomalne i totalne fosfataze je bila veća nakon oporavka od 10 μg Cd/g suve hrane u poređenju sa oporavkom od 30 μg Cd/g suve hrane. Ovi, kao i naši nalazi, podržavaju pretpostavku o energetske promene tokom stresa kadmijumom, s obzirom da osobine životne istorije pokazuju dugotrajnije efekte u odnosu na one na molekularnom nivou.

Osim indeksa fenotipske plastičnosti određivali smo i koeficijent fenotipske varijacije koji je vrlo koristan parametar za istraživanje razlika fenotipske plastičnosti između familija, uključujući i razvojnu nestabilnost (Valladares et al., 2006). S obzirom da koeficijent varijacije izražava variranje svojstva u procentima, to omogućava poređenje variranja različitih svojstava, koja se mere različitim mernim jedinicama. U našem eksperimentu vrednosti koeficijenta varijacije, dobijene po Čeplikovoj i Lijevoj metodi, poređene su F testom i utvrđeno je da trajanje larvenog razvića do trećeg i četvrtog stupnja najviše varira u C2 eksperimentalnoj grupi i po Čepliku i po Liju, dok je za trajanje prvog stupnja u C1 i za trajanje drugog stupnja larvenog razvića u C3 grupi značajno veći koeficijent varijacije utvrđen samo po Čeplikovoj metodi (**Tabele 16, 17**).

Kod ženki i mužjaka najveći procenat variranja, po Čeplikovoj metodi, pokazuje trajanje petog stupnja larvenog razvića u C1 grupi, dok se za trajanje larvenog razvića do petog stupnja vrednosti razlikuju. Kod ženki je najveći procenat varijacije utvrđen u C3 a kod mužjaka u C1 grupi gde je koncentracija

kadmijuma najniža. Ženke tokom daljeg larvenog razvića takođe pokazuju razlike u uticaju kadmijuma na vrednost koeficijenta fenotipske varijacije, pa je tako procenat varijacije najveći u C1 grupi za trajanje šestog stupnja larvenog razvića, dok je za larveno razviće do šestog stupnja najveća vrednost uočena u C2 grupi (**Tabele 18, 19**).

Lijev koeficijent pokazuje da najveća koncentracija kadmijuma (C3) najviše utiče na povećanje koeficijenta varijacije plastičnosti trajanja larvenog razvića do petog stupnja kod mužjaka i ženki, dok se u trajanju petog stupnja larvenog razvića, kod ženki najveći koeficijent uočava u C2 grupi a kod mužjaka u C3 grupi. Ženke imaju najveće fenotipsko variranje koeficijenta u C2 grupi i za trajanje šestog stupnja larvenog razvića.

Kada je reč o trajanju razvića lutke značajno veći koeficijent fenotipske varijacije nađen je samo kod mužjaka i to u C3 grupi po Čepliku i u C1 grupi po Liju u odnosu na kontrolnu grupu (**Tabele 20, 21**). Masa lutke ima kod mužjaka najveće vrednosti koeficijenta varijacije u C1 grupi i po Čepliku i po Liju, dok se kod ženki oni razlikuju i dostižu najveće vrednosti u C3 grupi po Čepliku, a u C2 grupi po Liju. Dobijene vrednosti koeficijenta varijacije za dužinu adultnog života se razlikuju zavisno od primenjene metode. Kod adultnih ženki najveći koeficijent varijacije po Čepliku je u C1 grupi, a u C2 po Liju, dok je kod mužjaka najveći koeficijent po Čepliku utvrđen u C3 grupi a po Liju u C1 grupi.

Kada smo uporedili koeficijente variranja indeksa kod mužjaka i ženki utvrdili smo da mužjaci pokazuju, u većini slučajeva, veće vrednosti koeficijenta variranja u odnosu na ženke (**Tabela 22**). Zapravo, kod ženki je značajno veći procenat variranja po Čepliku uočena u C1 grupi za trajanje petog stupnja larvenog razvića i C3 grupi za trajanje petog stupnja larvenog razvića, trajanje larvenog razvića do petog stupnja i masu lutke u odnosu na mužjake. Po Liju, jedino masa lutke kod ženki u C2 i C3 grupi ima veće vrednosti varijacije u odnosu na mužjake.

Kod perunike *Iris pumila*, prosečan nivo fenotipske plastičnosti za dostupnost svetlosti kao i srednja vrednost koeficijenta varijacije između familija (CV) su bili specifični za osobinu (Pemac i Tucić, 1998). Pretpostavljeno je da prirodna selekcija može razlikovati veličinu sposobnosti genotipa da odgovori na određene sredinske uslove i varijacije u plastičnosti između genotipova, tako da te dva svojstva mogu da evoluiraju nezavisno (Cheplick, 1995).

5.4. Fenotipske i genetičke korelacije

Korelacije između fenotipskih osobina su važne za razumevanje integracije između svojstava organizama i predstavljaju bitan pristup u evolucionoj i funkcionalnoj biologiji (Adolph and Hardin, 2007). Fenotipske korelacije mogu objasniti funkcionalnu vezu ili uzajamna ograničenja koja postoje u performansama određenih osobina i mogu otkriti uzročnu vezu između osobina životne istorije i osobina na morfološkom i biohemijskom nivou (Garland, 1984; Steyermark et al., 2005). Može se reći da je fenotipska korelacija stepen do kojeg dve osobine kovariraju u okviru jedne populacije i da je varijabilnost jedne osobine povezana sa varijabilnošću druge. Fenotipska korelacija je sastavljena od dve komponente: genetičke i sredinske. Genetička korelacija procenjuje stepen do kojeg je ekspresija dve osobine određena istim genima (plejotropija) ili su njihovi geni nezavisni ali se zajednički vezano nasleđuju (gametska vezanost) (Lande, 1979; Lynch and Walsh, 1998; Corner and Hartl, 2004). Iako nije neophodno, bliska fizička povezanost gena na istim hromozomima u velikoj meri doprinosi održavanju vezanog disekvilibriruma (Lynch and Walsh, 1998).

Genetičke korelacije mogu imati važne posledice na fenotipsku evoluciju. Posledice nastaju zbog promene u alelskim frekvencijama usled selekcije na jednoj osobini koja dovodi do korelativnih odgovora u selekciji za drugu osobinu, ili pak može doći do uzajamnog ograničavanja usporavanjem zajedničke evolucije više osobina (Lande, 1979; Via and Lande, 1985). S druge strane, ukoliko je smer

delovanja selekcije za dve osobine isti, genetičke korelacije mogu ubrzati adaptivnu evoluciju (Lande, 1979). Na primer, ako selekcija za dve osobine ima isti pravac (favorizujući velike ili male vrednosti obe osobine), onda će pozitivne genetičke korelacije olakšavati odgovor na selekciju, dok će ga negativne ograničavati.

Ako su nam poznate genetičke korelacije za osobine unutar i između sredina, možemo da pretpostavimo kako genetičke korelacije između karakteristika, potvrđene u različitim sredinama, mogu uticati na putanju evolucije u populacijama koje žive u ograničenom prostoru (Via and Lande, 1985). U skladu sa pretpostavkama Via i Lande (1987) svaka korelacija između sredina manja od jedinice ukazuje na potencijal za izvestan stepen nezavisne evolucije određenog svojstva u svakoj sredini.

U našem eksperimentu utvrđene su značajne pozitivne fenotipske i genetičke korelacije između larvenih stupnjeva razvića. Kod mladih larvenih stupnjeva (LR₁- LR₁₋₄) zabeležene su značajno niže genetičke korelacije između trajanja prvog stupnja i trajanja larvenog razvića do četvrtog stupnja u C1 i C2 eksperimentalnoj grupi u odnosu na kontrolnu, a između LR₁₋₂, i LR₁₋₄ kao i LR₁₋₃ i LR₁₋₄ u C1 i C3 grupi u odnosu na kontrolnu grupu (**Tabela 25**). Smanjenje koeficijenta genetičkih korelacija u odnosu na koeficijente u kontrolnoj grupi govore o sredinski specifičnim promenama u genetičkoj osnovi ispoljavanja osobina larvenog razvića u prvim fazama ontogeneze. U uslovima stresa manja genetička korelisanost sukcesivnih faza razvića može omogućavati efikasnije prilagođavanje na nepovoljne efekte kadmijuma kao stresnog agensa.

Tokom kasnijeg larvenog razvića (LR₅, LR₆, LR₁₋₅, LR₁₋₆) primećena je značajna pozitivna genetička korelisanost između stupnjeva larvenog razvića koju je pratila pozitivna fenotipska korelisanost u svim grupama. Korelisanost ovih osobina znači da će produžavanjem trajanja pojedinih stupnjeva razvića doći do produžavanja ostalih stupnjeva ili ukupnog larvenog razvića. Zanimljivo je da se jedino kod mužjaka uočava značajno povećanje fenotipske i genetičke korelacije između trajanja petog stupnja i trajanja larvenog razvića do petog stupnja u C3

grupi u odnosu na kontrolnu grupu, dok kod ženki nema značajnih razlika u koeficijentima u kontrolnoj i grupama koje su tretirane različitim koncentracijama kadmijuma (Tabela 23, 24, 26, 27).

U našem eksperimentu postoji vidna podudarnost između značajnih pozitivnih fenotipskih i genetičkih korelacija tokom pojedinih stupnjeva larvenog razvića. Pozitivne fenotipske korelacije između najznačajnijih komponenti adaptivne vrednosti kao što su različiti stupnjevi larvenog razvića mogu biti objašnjene različitom dostupnošću resursa. Jedinke koje se hrane uobičajeno mogu usmeravati više resursa ka rastu (van Noordwijk and de Jong, 1986; Reznick et al., 2000) pri čemu se kod gubara akumulacija resursa dešava samo tokom larvenog razvića. Evolucionni odgovor u ovom pravcu je moguć ako postoje pozitivne genetičke korelacije između osobina životne istorije (Reznick, 1985) kao što je to bio slučaj u našem eksperimentu. Slične rezultate dobio je Spitze (1991) koji je izlagao populacije *Daphnia pulex* izlovljavanju od strane larvi *Chaborusa* u uslovima visoke dostupnosti hrane. U odnosu na kontrolnu grupu, te populacije dafnija imale su kraće trajanje razvića, veću masu, i veći fekunditet. Ako su neki genotipovi u većoj meri akumulirali resurse, onda veća količina resursa može rezultirati pozitivnim korelacijama između osobina.

Kod ženki je ustanovljena značajna negativna fenotipska i genetička korelisanost između trajanja petog stupnja i trajanja razvića lutke u kontrolnim uslovima, što znači da je produženo trajanje pojedinih stupnjeva larvenog razvića praćeno skraćenim razvićem lutke. Postoji značajna pozitivna fenotipska korelacija u C1 i C2 eksperimentalnoj grupi između trajanja razvića lutke i trajanja larvenog razvića do šestog stupnja, dok je značajna genetička korelisanost negativnog predznaka uočena u kontrolnim uslovima između razvića lutke i trajanja petog stupnja i trajanja šestog stupnja. Analzom genetičkih korelacija utvrđeno je da je između trajanja razvića lutke i trajanja šestog stupnja i trajanja larvenog razvića do kraja šestog stupnja u C2 grupi, vrednost koeficijenata značajno veća u odnosu na kontrolne uslove gde su koeficijenti negativnog predznaka.

Vrste insekata sa fiksiranim brojem larvenih stupnjeva obično pokazuju negativne genetičke korelacije između trajanja razvića i mase pod stresnim uslovima (Gebhardt and Stearns, 1993). U našem eksperimentu korelisanost između trajanja larvenog razvića do petog stupnja i mase lutke u C1 grupi je negativna i značajno manja u odnosu na kontrolnu grupu. U eksperimentu Lazarević i saradnika (2008) dobijena je takođe negativna korelacija između trajanja larvenog razvića i mase lutke kod mužjaka iz populacije sa niskom gustinom. Kod ženki u populaciji srednje gustine je detektovana pozitivna korelacija između ovih osobina. I drugi autori su pokazali da se u uslovima stresa kod gubara skraćuje vreme razvića i postiže se manja masa (Leonard, 1974; Tammaru, 1998; Tammaru et al., 2000). U istraživanju genetičkih korelacija za trajanja razvića i mase tela u uslovima različite dostupnosti hrane kod mekoptere *Panorpa cognata*, Engqvist (2007) je utvrdio značajnu pozitivnu korelaciju za trajanje razvića između sredina. Masa adulta i larvi bila je značajno pogođena dostupnošću hrane. Genetičke korelacije između mase jedinki i trajanja razvića promenile su se od pozitivnih kad je visoka dostupnost hrane, do negativnih korelacija u slučaju slabe dostupnosti hrane.

Kod mužjaka trajanje razvića lutke je pozitivno fenotipski korelisano sa trajanjem petog stupnja u kontrolnim uslovima, a sa trajanjem do petog stupnja u kontroli, C1 i C2 grupi. Genetička korelisanost je značajno negativna i manja u C1 grupi za trajanje petog stupnja u odnosu na kontrolnu grupu, a značajno pozitivna u kontrolnoj i C1 grupi za trajanje larvenog razvića do petog stupnja. Vrednost u C1 grupi je značajno manja u odnosu na kontrolu.

Fenotipska korelisanost mase lutke sa trajanjem šestog stupnja, larvenog razvića do šestog stupnja, razvićem lutke i dužine života kod ženki je značajnog pozitivna u različitim sredinama. Značajna genetička korelacija je prisutna između mase lutke i trajanja larvenog razvića do petog stupnja u C2 grupi, za trajanje larvenog razvića do šestog stupnja i razviće lutke u C1 i C2 grupi, a za dužinu života u C1 grupi. Nije bilo značajnih razlika između kontrolne i grupa gajenih u prisustvu kadmijuma u veličini koeficijenata korelacije kod ženki. U

istraživanjima na *Drosophila*-ma rezultati su pokazali značajnu korelisanost mase i ranog fekunditeta (Hillesheim and Stearns, 1992), ali i brzine larvenog razvića i mase, pri čemu su jedinke sa bržim larvenim razvićem imale manju masu (Moller et al., 1990).

Kod ženki je fenotipska korelisanost mase lutke sa dužinom života adulta pozitivnog predznaka, dok je jedina značajna genetička korelacija zabeležena u C1 grupi. Kod jedinki gajenih u prisustvu kadmijuma postoji takođe značajna pozitivna korelisanost dužine života adulta sa pojedinim fazama larvenog razvića uglavnom u C1 i C2 grupi. Značajna genetička korelacija zabeležena je za masu lutke i trajanja larvenog razvića do šestog stupnja u C1 i C2 grupi i za trajanje razvića lutke u C1 i C3 grupi, pri čemu su koeficijenti značajno veći u odnosu na kontrolu.

Kod mužjaka nisu zabeležene značajne fenotipske i genetičke korelacije između dužine života i mase lutke, a u C3 grupi vrednost genetičke korelacije je negativna i značajno manja u odnosu na kontrolu, što znači da u stresnoj sredini jedinke sa povećanom masom lutke imaju smanjenu dugovečnost. Trajanje petog stupnja i larvenog razvića do petog stupnja je fenotipski negativno korelisano sa dužinom života adulta u C3 grupi i statistički značajno negativno u odnosu na koeficijent korelacije u kontrolnoj grupi, dok kod genetičkih korelacija nema statistički značajnih vrednosti. U eksperimentu Lazarević i saradnika (2007) u kome je ispitan efekat različitih biljki domaćina kod *Lymantria dispar*, ženke gajene na povoljnoj hrani (hrastovo lišće) imale su negativne genetičke korelacije između preadultnog razvića i dugovečnosti, dok na marginalno povoljnoj biljci domaćinu (bagremovo lišće) nije bilo negativnih korelacija. Značajna negativna genetička korelacija između preadultnog razvića i dugovečnosti ustanovljena je i kod mužjaka iz bagremove populacije koji su hranjeni hrastovim lišćem, što ukazuje da je kraće preadultno razviće udruženo sa produžavanjem života adultnih mužjaka. U slučaju stresa izazvanog različitom gustom populacije kod gubara, značajne pozitivne genetičke korelacije između veličine ženki i

dugovječnosti su bile očigledne u obe populacije bez obzira na gustinu populacije (Lazarević et al., 2008).

Značajne genetičke korelacije za određene osobine između sredina određuju pravac i mogućnosti evoluiranja tih osobina u odnosu na korišćenje sredinskih resursa (Via, 1984). Genetičke korelacije između sredina manje od jedinice su dovoljan uslov za delovanje selekcije u smeru specijalizacije na novu i/ili stresnu sredinu (Fry, 1996). Analizom koeficijenata genetičkih korelacija između sredina (kontrolne i grupa sa različitom koncentracijom kadmijuma) nađene su značajne korelacije između kontrolne i C1 i C2 grupe za sve mlađe stupnjeve larvenog razvića (**Tabela 28**), dok je za C3 grupu značajna pozitivna korelacija utvrđena samo za prvi stupanj larvenog razvića. Ove pozitivne korelacije ukazuju da familije koje karakteriše brzo razviće u kontrolnoj sredini, imaju brzo razviće i kad su izložene kadmijumu odnosno da postoji značajno preklapanje gena koji determinišu posmatrano svojstvo u kontrolnoj i stresnoj sredini. Kod ženki (**Tabela 29**) postoji značajna korelacija između kontrole i sredina sa prisustvom kadmijuma za trajanje petog i šestog stupnja larvenog razvića, dok je za trajanje larvenog razvića do petog stupnja i masu lutke značajna pozitivna korelacija utvrđena samo u C2 grupi, a za dužinu života adulta u C3 grupi.

S obzirom da su vrednosti korelacija između kontrolne i grupa tretiranih kadmijumom za peti i šesti stupanj larvenog razvića u C1 i C3 grupi, trajanje larvenog razvića do petog stupnja i masu lutke u C2 grupi značajno različite od jedinice, to znači da je u pogledu ovih osobina verovatna evolucija u pravcu specijalizacije. Kod mužjaka postoji značajna pozitivna genetička korelacija između kontrolne i C3 grupe za masu lutke, pri čemu je vrednost značajno različita od jedinice što znači da selekcija može delovati na masu lutke u pravcu specijalizacije na nove stresne uslove sredine.

Koeficijenti genetičkih korelacija između polova (**Tabela 30**) pokazuju da su ženke i mužjaci značajno pozitivno korelisani u trajanju petog stupnja larvenog razvića u kontrolnoj, C1 i C2 grupi, za razviće lutke u kontroli i dužinu života

adulta u C3 grupi. Većina određenih korelacija nije značajna, a značajne pozitivne korelacije su različite od jedinice što predstavlja osnovu za dalju evoluciju seksualnog dimorfizma u osobinama adaptivne vrednosti.

Značajne genetičke korelacije u našem eksperimentu između sredina svedoče o senzitivnosti osobina na prisustvo kadmijuma kao stresora i postojanju značajnog kapaciteta pojedinih osobina da se menjaju delovanjem selekcije. I nalazi drugih istraživača pokazuju da genetičke korelacije za specifične osobine između sredina teže ka pozitivnim vrednostima (Ebert et al., 1993; Windig, 1994). To ne znači da su korelacije bezuslovno pozitivne između sredina. Nekoliko istraživanja ukazuju na uzajamna ograničavanja za adaptivnu vrednosti između sredina (Hoffmann et al., 1995). Pozitivne korelacije između sredina su karakteristične za generaliste.

U eksperimentu Mrdaković i saradnika (2013) genetičke korelacije između sredina unutar svake populacije su bile pozitivne i statistički značajne za masu larvi u hrastovoj populaciji. Pozitivna genetička korelacija uočena između masa larvi ukazuje da će legla gubara sa malim masama larvi imati male mase i na dijeti sa dodatkom tanina (5%). S obzirom da rezultati dolaze iz full-sib analize, učešće neadaptivnih genetičkih efekata, maternalnih i sredinskih efekata može takođe da utiče na ocenjene korelacije.

Kod leptira *Bicyclus anynana* ispitivana je posledica veštačke selekcije za dugovečnost na preadultno razviće u normalnim sredinskim uslovima, pri čemu je utvrđeno da je fenotipska korelacija za masu lutke bila značajna i pozitivna sa dugovečnošću kod adultnih ženki (Pijpe et al., 2006). Gu i Danthanarayana (2000) dobijaju značajno pozitivne genetičke korelacije za masu tela i trajanje razvića, i za fekunditet tokom prvih pet dana od izleganja i ukupnog fekunditeta bez obira na temperaturne uslove kod leptira *Epiphyas postvittana*. Genetičke korelacije između trajanja razvića u preadultnom periodu i mase adulta su bile pozitivne i značajne u obe populacije, u različitim uslovima temperature sredine. Iz ovoga se može reći da prirodna selekcija koja favorizuje veliku masu adulta može dovesti do odložene metamorfoze i sporog larvenog razvića.

Kod larvi himenoptere *Priophorus pallipes* koje su hranjene dijetom različitog kvaliteta, genetičke korelacije između veličine tela i trajanja razvića prelazile su iz značajno pozitivnih na visoko kvalitetnim dijetama u negativne kod niskokvalitetnih dijeta (Kause and Morin, 2001). Kod *Pholcus phalangoides* (Uhl et al., 2004) i kod *Scatophaga stercoraria* (Blanckenhorn, 1998), genetičke korelacije između trajanja razvića i veličine tela bile su pozitivne samo na niskoj dostupnosti hrane.

5.5. Selekcija i cena fenotipske plastičnosti

S obzirom na vrlo intenzivne promene koje se dešavaju u životnoj sredini, pogotovu antropogenim uticajem, opstanak različitih vrsta zavisi od njihove prilagodljivosti na sredinske promene. Stepem prilagodljivosti zavisi od genetičke konstitucije organizama i njihove sposobnosti razvijanja fiziološke tolerantnosti na prisustvo toksičnih jedinjenja, kao što su teški metali, u životnoj sredini (Hoffmann and Willi, 2008; Janssens et al., 2009). Nivo mogućih fenotipskih promena, bilo da su u pitanju genetičke ili plastične promene, je takođe veoma visok u kontekstu antropogenog delovanja (Carroll et al., 2007). Prisustvo adaptacije kao nasledne karakteristike omogućavaju evolucionim mehanizmima koji deluju tokom nekoliko generacija, i pomoću kojih genotipovi sa boljim svojstvima ili plastičnim odgovorom u nepovoljnim sredinskim uslovima, imaju veću adaptivnu vrednost, i tako povećavaju svoju brojnost u populaciji. Međutim, u populacijama često postoji potencijalno visoka cena za dobijanje plastičnih odgovora i evoluciju (Kristensen et al., 2008). Ukoliko i postoji dovoljno genetičke varijabilnosti plastičnosti, evolucija u smeru povećanja plastičnosti ipak može da izostane zbog velike cene ili problema koji ograničavaju efikasnost plastičnosti. Ograničenja plastičnosti imaju bitne ekološke i evolucionarne posledice. Na primer, cena plastičnosti može imati evolucionarne posledice u vidu redukovanja stepena plastičnosti (Van Tienderen, 1991; Leon, 1993) ili održavanja genetičke varijabilnosti za plastičnost (Tauber and Tauber, 1992). Benefit plastičnosti se ogleda u sposobnosti boljeg usklađivanja fenotipa sa promenljivom sredinom što

bi značilo stvaranje optimalnog fenotipa u svim sredinama. Ukoliko ograničenja ne postoje, organizmi bi mogli da eksprimiraju „idealnu“ ili „konačnu“ plastičnost, u vidu najbolje vrednosti određene osobine u svakoj sredini bez plaćanja cene zbog te sposobnosti. Međutim, plastični organizmi ne dostižu to idealno stanje zbog nemogućnosti konstantne produkcije optimalnog fenotipa, ili zbog plaćanja cene za održavanje plastičnosti (Schlichting, 1986; Scheiner, 1993; Via et al., 1995). Cena plastičnosti je uočena u sredinama u kojima plastični organizmi pokazuju nižu adaptivnu vrednost u produkciji iste srednje vrednosti svojstva kao i neplastični organizmi (DeWitt et al., 1998). Iako plastičnost omogućava organizmima da opstanu u širokom opsegu sredinskih uslova, ona može i ograničiti njihovu selekciju u nepredvidivim staništima i omogućiti divergenciju u slučaju stabilnih sredinskih uslova u evolucionoj skali vremena (Via and Lande, 1985; Fordyce, 2006).

Osim mogućnosti genetičkog i razvojnog ograničavanja, postoji i mogućnost plaćanja cene održavanja plastičnosti, kao i ograničenja sposobnosti organizma da budu adaptivno plastični (DeWitt et al., 1998). Cena plastičnosti je posledica smanjenja adaptivne vrednosti čak i kada je optimalni fenotip eksprimiran. U skladu sa teorijskim modelima primenljivim na prostorno strukturiranu populaciju, prirodna selekcija će favorizovati norme reakcije koje će balansirati između izbegavanja cene i sticanja resursa. Na primer, očekuje se da cena održavanja plastičnih odgovora inicira evoluciju normi reakcije koje će povećavati adaptaciju na sredinske uslove koji su više zastupljeni. Cena produkcije plastičnog odgovora verovatno nastaje samo kada je specifični fenotip nastao u datoj sredini, što čini takvu cenu proporcionalnom učestalosti sredina u kojima je ciljani fenotip favorizovan (Pigliucci, 2005).

U našem eksperimentu regresionom analizom cene plastičnosti kod gubara u okviru kontrolne grupe i grupa sa dodatkom različitih koncentracija kadmijuma utvrđeno je da tokom larvenog razvića genotipovi plaćaju cenu homeostaze u kontrolnim uslovima ($P < 0.05^*$), koja obezbeđuje normalno razviće larvi u odnosu na adultnu dužinu života. Takođe, značajan regresioni koeficijent za masu lutke u

C3 grupi ($P < 0.05^*$) pokazuje da u prisustvu kadmijuma genotipovi plaćaju cenu plastičnosti odgovora za masu lutke u odnosu na dugovečnost adulta (**Tabela 31**). Nema značajnih razlika u ceni plastičnosti, odnosno održavanja homeostaze, između polova kao ni između kontrolne grupe i grupa tretiranih kadmijumom, ali se regresioni koeficijenti značajno razlikuju između polova za larveno razviće i razviće lutke u odnosu na adultnu dužinu života (**Tabela 32**).

Značajno pozitivni regresioni koeficijenti za trajanje larvenog razvića i masu lutke u kontrolnoj, C1 i C2 grupi, kao i za razviće lutke u C1 grupi kod ženki pokazuju da će se u pomenutim sredinama dužina adultnog života ženki povećavati sa produžavanjem trajanja razvića larvi i lutki, kao i sa povećanjem mase lutki. Značajno negativan koeficijent regresije kod mužjaka C3 grupe za trajanje larvenog razvića pokazuje da će se u uslovima prisustva kadmijuma u najvećoj koncentraciji sa produžavanjem larvenog perioda skraćivati dužina života adultnih mužjaka. Značajan negativni regresioni koeficijent kod mužjaka zabeležen je i za razviće lutke u kontrolnim uslovima u odnosu na dužinu života adulta što znači da će se sa produžavanjem razvića lutke smanjivati dužina života adultnih mužjaka. Pri tome, jedino mužjaci gubara plaćaju cenu plastičnosti trajanja razvića lutke u C1 grupi. Poređenjem koeficijenata utvrđena je značajno veća vrednost cene plastičnosti kod mužjaka nego kod ženki samo za trajanje razvića lutke u kontrolnim uslovima, mada sama cena nije značajna ni za jedan od polova (**Tabele 33 i 34**).

Adaptacija na stres ne dovodi samo do opstanka genetičke varijanse za otpornost na stres, već otpornost može biti povezana sa osobinama adaptivne vrednosti, prouzrokujući nastanak uzajamnih ograničenja između sredina (Bubliy and Loeschke, 2005). Evolucija ove cene tolerancije može najbolje biti objašnjena teorijom preraspodele resursa. Energija dostupna za osobine životne istorije kao što su preživljavanje, rast i reprodukcija, je ograničena, i alokacija resursa ka jednoj osobini uglavnom znači smanjenje dostupne energije za drugu (Reznick et al., 2000; Roff, 2002). Pored toga, prirodna selekcija može imati značajan uticaj na fenotipske promene pod nepovoljnim uslovima (Sangster et al.,

2008). Tako, adaptacija na stres, izazvan antropogenom aktivnošću, kakvo je zagađenje životne sredine teškim metalima, jeste posledica snažne direkcione selekcije za osobine koje dovode do evolucije tolerantnosti na prisustvo stresora. Takvi procesi mogu dovesti do promena u genetičkoj arhitekturi populacije, ali i do genetičke erozije, i to ne samo u osobinama koje su direktno povezane sa otpornošću na stres već i u osobinama adaptivne vrednosti koje su genetički korelisane sa otpornošću na stresne uslove sredine (Perez and Garsia, 2002; Van Straalen and Timmermans, 2002; Merila et al., 2004). Česti zaključci o genetičkoj varijabilnosti za plastičnost između populacija ukazuju na činjenicu da plastičnost može da evoluiru u odgovoru na selekciju. Jednostavna statistička metoda koja se koristi za ocenu intenziteta direkcione selekcije za određenu osobinu jeste određivanje selekcionih gradijenata, koji predstavljaju vezu između relativne adaptivne vrednosti i varijabilnosti u kvantitativnim osobinama, mereno u jedinicama standardne devijacije. Selekcioni gradijenti su direktno značajni za evoluciju multipnih, korelisanih osobina u kvantitativno-genetičkom modelu (Lande and Arnold, 1983). Određivanje standardnih linearnih selekcionih gradijenata (β') i standardnih linearnih selekcionih diferencijala (i') omogućava procenu intenziteta direkcione selekcije (Kingsolver et al., 2001), direktno poređenje između osobina, komponenti adaptivne vrednosti, i sistema koji se proučava. Selekcioni gradijenti ocenjuju direktno intenzitet selekcije za osobinu od interesa, dok selekcioni diferencijali ocenjuju ukupnu selekciju koja je sastavljena od direktne selekcije za osobinu i indirektnih efekata selekcije na korelisane osobine (Lande and Arnold, 1983).

U našem eksperimentu utvrđeni su značajni negativni selekcioni gradijenti i diferencijali kod mužjaka za trajanje larvenog razvića pri najvećoj koncentraciji kadmijuma, i razviće lutke u kontrolnoj i C2 grupi u odnosu na dužinu života adulta. Negativni predznak ukazuje da selekcija favorizuje jedinke koje imaju kraće trajanje pojedinih faza larvenog razvića, i da pored direktnog efekta na ove osobine postoji i značajan direktni i indirektni efekat na korelisane osobine, iako ne velikog intenziteta, s obzirom na neznatne razlike između gradijenata i diferencijala (**Table 35, 36**).

Za masu lutke kod ženki postoje značajni pozitivni selekcionni gradijenti i diferencijali u kontrolnoj, C1 i C2 grupi što znači da pored uticaja na ove osobine postoji i uticaj na druge korelisane osobine, ali s obzirom na male razlike indirektni efekti selekcije na korelisane osobine su mali. Pored toga u stresnoj sredini krupne ženke imaju selektivnu prednost. Kod mužjaka je ovaj efekat prisutan samo u optimalnim uslovima. Odsustvo značajnog selekcionog diferencijala za masu lutke kod mužjaka upućuje na zaključak da selekcija deluje direktno samo na ovu osobinu i da nema uticaja na korelisane osobine (**Tabele 37, 38**). Kod ženki postoje značajni pozitivni selekcionni diferencijali za larveno razviće u kontrolnoj, C1 i C2 grupi kao i za razviće lutke u C1 grupi što znači da selekcija favorizuje u pomenutim grupama jedinke koje imaju produženo trajanje larvenog razvića, odnosno, razvića lutke. Pri tome selekcija deluje direktno i indirektno i na osobine koje su korelisane sa trajanjem larvenog razvića i razvića lutke.

Poređenjem selekcionih gradijenata utvrđeno je da selekcija intezivnije deluje na povećanje veličine jedinki i skraćenje razvića lutki u kontrolnim uslovima kod mužjaka u odnosu na ženke. Poređenjem selekcionih diferencijala utvrđeno je da ukupna selekcija deluje značajno na larveno razviće i razviće lutke u kontrolnoj, C1 i C2 grupi i masu lutke u C1 grupi i na osobine koje su korelisane i to većim intenzitetom na mužjake u odnosu na ženke. Kingsolver i saradnici (2001) su vršili poređenja linearnih selekcionih gradijenata i selekcionih diferencijala radi utvrđivanja doprinosa indirektno selekcije. Većina ocena je ukazivala da su direktna i totalna selekcija za određenu osobinu obično slične, što znači da indirektna selekcija ima mali efekat.

Lyytinen i saradnici (2004) su proučavali leptira *Bicyclus anynana*, koji je prepoznatljiv po dve sezonske forme. Tokom vlažne sezone na krilima postoje šare koje liče na očne mrlje, dok tokom sušne sezone očne mrlje na krilima odsustvuju. Nakon izlaganja leptira predatorima, pri čemu su jedinke postavljane na zelenu i braon podlogu koja je simulirala kišnu i sušnu sezonu, došli su do zaključka da selekcija deluje protiv očnih mrlja tokom sušne sezone, za razliku od

kišne sezone kada selekcija favorizuje pojavu očnih mrlja na krilima. Izgleda da je upravo kombinacija ova dva selekciona režima dovoljna za održavanje adaptivne fenotipske plastičnosti u formiranju očnih mrlja na krilima.

S obzirom da sredinski uslovi određuju uzročnu vezu između fenotipa i adaptivne vrednosti, eksperimentalne ocene selekcionih koeficijenata su predviđale vrednost oko nule u sredinama gde se ne očekuje da osobina bude adaptivna (direktno povezana sa komponentama adaptivne vrednosti), ali značajno pozitivne ili negativne u sredinama gde doprinose benefitu komponenti adaptivne vrednosti (Dudley and Schmitt, 1996; Dudley, 1996).

5. 6. Sistem antioksidativne zaštite

Teški metali dovode do povećanja nivoa oksidativnog stresa i lipidne peroksidacije kod insekata, posebno ukoliko su i drugi prooksidanti prisutni u ishrani (Ahmad, 1995). Iako kadmijum nije direktno odgovoran za produkciju slobodnih radikala (Dallinger and Rainbow, 1991), kao posledica prisustva kadmijuma u životnoj sredini dolazi do nastanka oksidativnog stresa i aktivacije sistema antioksidativne odbrane. Odgovor antioksidativnih enzima na spoljašnje stresore može da varira između različitih vrsta, različitih tkiva (Wilczek et al., 2004) i stupnja razvića (Perić- Mataruga et al., 1997).

U našem eksperimentu, larve različitih stupnjeva razvića se razlikuju u odgovoru na prisustvo kadmijuma (značajna interakcija „stupanj \times Cd“), pa je tako aktivnost manja u grupi tretiranoj kadmijumom do petog stupnja, dok je kod larvi šestog stupnja aktivnost veća iako bez statističke značajnosti, što su potvrdila i poređenja aktivnosti Tukijevim (HSD) testom (**Grafik 1, Tabela 39**). Kod lutke aktivnost SOD značajno zavisi od pola jedinke, te je kod ženki aktivnost veća u odnosu na mužjake u obe grupe (**Grafik 2, Tabela 39**). Aktivnost SOD se smanjuje kod oba pola kao posledica značajnog uticaja kadmijuma na aktivnost. Prisustvo značajne interakcije ukazuje na razlike između polova u odgovoru na prisustvo kadmijuma u ishrani. Aktivnost SOD kod adulta zavisi od pola (**Grafik**

3, Tabela 39), pri čemu ženke i mužjaci različito reaguju na prisustvo kadmijuma, ženke smanjenjem aktivnosti a mužjaci povećanjem. Smanjenje aktivnosti SOD kao posledica prisustva kadmijuma dešava se i kod *Oxya chinensis* na višim koncentracijama (Lijun et al., 2005), kod paukova vrste *Pterostichus oblongopunctatus* (Migula et al., 2004) koji žive na mestima sa većom koncentracijom kadmijuma u odnosu na manje zagađena mesta. A ograničena sposobnost SOD u antioksidativnoj odbrani u prisustvu teških metala nađena je i u radu Wang i saradnika (2002) na pšenici.

Utvrđeno je i kod biljaka (Xu et al., 2003) i kod životinja (Lin and Lan, 2001) da superoksid anjon indukuje povećanje aktivnosti SOD i ta aktivnost raste sa povećanjem koncentracije kadmijuma. Međutim, na većim koncentracijama kadmijuma dolazi do inhibicije aktivnosti enzima. U našem eksperimentu primenjene koncentracije kadmijuma su očigledno bile male da bi dovele do statistički značajnog povećanja aktivnosti SOD u odnosu na kontrolne uslove.

S obzirom da superoksid dismutaza tokom razvića gubara ne pokazuje značajno različitu aktivnost u prisustvu kadmijuma u odnosu na kontrolne uslove, još jedna od pretpostavki je da je najveći deo peroksida nastao u oksidoredukcionim procesima aktivnošću određenih oksidaza u peroksizomima kao što su ksantin oksidaza, citohrom P450 monooksidaza i drugi (Fornazier et al., 2002; Halliwell and Gutteridge, 2007). Aktivnost katalaze značajno zavisi od stupnja larvenog razvića pri čemu stupnjevi odgovaraju različito na prisustvo kadmijuma u ishrani (**Grafik 4, Tabela 40**). Kod larvi trećeg stupnja aktivnost katalaze je značajno niža u odnosu na kontrolu, dok je kod šestog stupnja aktivnost značajno veća u odnosu na kontrolnu grupu (Tukijev HSD test). Kod razvića lutke nema značajnih razlika između ženki i mužjaka u aktivnosti katalaze između kontrolne i grupe tretirane kadmijumom, iako se uočava niža aktivnost kod oba pola u grupi tretiranoj kadmijumom (**Grafik 5, Tabela 40**). Kod adultnih ženki i mužjaka postoji razlika u odgovoru na prisustvo stresora. Kod ženki je aktivnost veća u odnosu na kontrolu, dok kod mužjaka kadmijum dovodi do

značajnog smanjenja aktivnosti u odnosu na kontrolnu grupu (**Grafik 6, Tabela 40**).

Vodonik peroksid igra važnu ulogu kao signal za indukciju sinteze enzima stresa kao što je askorbat peroksidaza (Noctor et al., 1998). U istraživanju Hatata i Abdel-Aala (2008) utvrđeno je da kadmijum u visokim koncentracijama dovodi do velikog oksidativnog stresa zbog akumulacije vodonik peroksida. To se dešava ukoliko je aktivnost askorbat peroksidaze i katalaze smanjena (Polle, 2001). S obzirom da kod insekata očigledno ne postoji selen-zavisna glutathion peroksidaza, askorbat peroksidaza je, uz katalazu, značajna za uklanjanje vodonik peroksida (Jovanović- Galović et al., 2004).

U našem eksperimentu aktivnost askorbat peroksidaze kod larvenih stupnjeva zavisi od prisustva kadmijuma i od stupnja razvića. Kadmijum utiče na razlike između larvenih stupnjeva u aktivnosti askorbat peroksidaze u prisustvu stresora. Kod petog stupnja razvića uočava se značajno manja aktivnost kod jedinki tretiranih kadmijumom u odnosu na kontrolnu grupu (**Grafik 7, Tabela 41**). Kod razvića lutke i dužine života adulta nema značajnih razlika u aktivnosti askorbat peroksidaze između kontrolne grupe i grupe tretirane kadmijumom. Na razlike u aktivnosti askorbat peroksidaze kod lutki značajno utiče pol jedinki i to tako što je aktivnost kod mužjaka veća u obe grupe u odnosu na ženke (**Grafik 8, Tabela 41**). Adultne ženke reaguju na prisustvo kadmijuma smanjenjem aktivnosti dok se kod mužjaka aktivnost askorbat peroksidaze povećava u prisustvu kadmijuma (**Grafik 9, Tabela 41**). Razlike u povećanju i smanjivanju aktivnosti askorbat peroksidaze tokom razvića gubara kompenzovana je aktivnošću katalaze i drugih neenzimskih ćelijskih antioksidanata.

Glutathion je uključen i u enzimске i u neenzimске antioksidativne procese. Većina studija o vezi između nivoa celularnog glutathiona i toksičnosti metala ukazuju na činjenicu da glutathion ima protektivnu funkciju protiv toksičnosti koja je indukovana prisustvom metala (Saint-Denis et al., 2001). Kao rezultat prisustva toksičnih jedinjenja količina glutathiona se smanjuje uz istovremenu akumulaciju oksidovane forme koja ukazuje na postojanje oksidativnog stresa. Ukupna

količina glutationa u našem eksperimentu zavisi od stupnja razvića, pri čemu stupnjevi odgovaraju različito na prisustvo kadmijuma. Tokom larvenog razvića postoji značajno veća količina glutationa kod jedinki tretiranih kadmijumom u odnosu na kontrolnu grupu (**Grafik 10, Tabela 42**). Na količinu glutationa tokom razvića lutke značajno utiče kadmijum. Količina je manja kod oba pola u grupi tretiranoj kadmijumom u odnosu na kontrolnu grupu (**Grafik 11, Tabela 42**). Količina glutationa kod adultnih ženki i mužjaka varira u zavisnosti od pola i od izloženosti delovanju kadmijuma, pri čemu je količina veća kod ženki, i povećana kod oba pola u grupi tretiranoj kadmijumom ali bez statističke značajnosti (**Grafik 12, Tabela 42**). Slične rezultate nalaze i Wilczek i saradnici (2004) kod pauka *Agelena labyrinthica* koje su uzorkovane na najzagađenijim mestima, pri čemu je količina glutationa opadala sa smanjivanjem stepena zagađenja.

Glutation svoju zaštitnu ulogu ostvaruje formiranjem konjugata sa toksičnim produktima oksidativnog metabolizma, ali i teškim metalima kao što je kadmijum, prelazeći iz redukovanog u oksidovani oblik. Reakcija redukcije oksidativnog glutationa katalizovana je glutation S transferazom (Sobkoviak and Deckert, 2006). Kod kvasca *Saccharomyces cerevisiae*, u dve ćelijske linije koje su imale mutacije u genima za GST (GTT1 i GTT2), utvrđeno da se linije razlikuju u mehanizmu detoksifikacije od kadmijuma, tako što prva pokazuje višu a druga nižu toleranciju na stres kadmijumom u odnosu na kontrolne ćelije. To znači da iako GSH igra važnu ulogu u zaštiti ćelija, formiranje kompleksa GSH-Cd je izuzetno potentan mehanizam odbrane jer smanjuje količinu kadmijuma u ćeliji (Adamis et al., 2004).

Glutation S transferaza kod insekata predstavlja važnu liniju odbrane protiv slobodnih radikala i može se odraziti na adaptaciju insekata izloženosti visokim koncentracijama toksičnim supstancama (Perić- Mataruga et al., 1997). U našem eksperimentu aktivnost glutation S transferaze se smanjuje u svim grupama tokom razvića ali bez statistički značajnih razlika dok se kod trećeg stupnja larvenog razvića beleži značajno veća aktivnost u prisustvu kadmijuma (**Grafik 13, Tabela 43**). Larve različitih stupnjeva se značajno razlikuju u aktivnosti ovog

enzima, a značajne razlike su primećene i između polova kod adultnih jedinki pri čemu je aktivnost veća kod mužjaka u odnosu na ženke (**Grafik 15, Tabela 43**). Rezultati ukazuju da se tokom kasnijeg perioda razvića, nakon dovoljne akumulacije kadmijuma u organizmu, verovatno aktiviraju drugi detoksifikacioni mehanizmi i to pre svega posredovani metalotioneinima, kao što je to slučaj kod kolebole *Orchesella cincta* (Hansbergen et al., 2000), diptere *Musca domestica* (Niu et al., 2000) i kod koleoptere *Tenebrio molitor* (Pedersen et al., 2008). Postoje značajni dokazi da kumulativni efekat kadmijuma može inhibirati aktivnost glutation zavisnih enzima uključujući i GST, preko inhibicije γ -glutamilcistein sintetaze i biosinteze glutationa (Canesi et al., 1999) što se kasnije vidi i u smanjenoj količini glutationa tokom larvenog i lutkinog razvića (**Grafik 14, Tabela 43**) u grupama tretiranim kadmijumom. Stone i saradnici (2002) takođe nalaze razlike u aktivnosti GST između polova. Naime, mužjaci koleoptere *Pterostichus oblongopunctatus* pokazuju viši nivo aktivnosti ovog enzima u odnosu na ženke u prisustvu kadmijuma, pri čemu je aktivnost pokazala vrlo malu fluktuaciju u odnosu na mesta sa različitim nivoom zagađenja. Možemo da pretpostavimo da fluktuacija u enzimskoj aktivnosti kod ženki nastaje kao posledica reproduktivne fiziologije, lipidne depozicije, ishrane ili drugih procesa koji su uključeni nezavisno u odgovore na izlaganje teškim metalima. Chrascina i saradnici (1996) nalaze smanjenje aktivnosti GST u crevu larvi leptira *Smerinthus ocellatus*, dok je nivo u izvesnoj meri bio povećan u masnom telu nakon dodatka kadmijuma u hranu.

S obzirom da glutation reduktaza ima ulogu u redukciji oksidovanog glutationa, njena aktivnost u toku oksidativnog stresa postaje ključna za održavanje stabilnog redoks stanja u ćelijama u uslovima stresa nastalog prisustvom teških metala u životnoj sredini (Mishra et al., 2006). U našem eksperimentu, na aktivnost glutation reduktaze kod larvi utiče stupanj razvića i prisustvo kadmijuma (**Grafik 16, Tabela 44**). Kadmijum dovodi do razlika u odgovorima larvi u pogledu aktivnosti glutation reduktaze. Tako je kod larvi trećeg stupnja tretiranih kadmijumom aktivnost značajno niža što ne čudi jer su mlađi larveni stupnjevi najosetljiviji na intoksikaciju, dok se kod larvi šestog

stupnja aktivnost značajno povećava u odnosu na kontrolu jer se kod starijih larvenih stupnjeva pojačava kumulativni efekat kadmijuma. Viša aktivnost glutathion reduktaze ubrzava redukciju oksidovanog glutathiona i kompenzuje uopšteni nedostatak glutathiona u održavanju tiol/disulfidnog redoks potencijala posle intoksikacije larvi gubara kadmijumom. Tokom razvića lutke na razlike između mužjaka i ženki bitno utiče kadmijum pri čemu se i kod ženki i kod mužjaka aktivnost značajno snižava u odnosu na kontrolu (**Grafik 17, Tabela 44**). Na aktivnost enzima kod adultnih jedinki utiče prisustvo kadmijuma ali aktivnost zavisi i od pola, pri čemu je utvrđena značajna razlika u načinu reagovanja između polova u aktivnosti glutathion reduktaze. Kod ženki je aktivnost u proseku manja u odnosu na mužjake (**Grafik 18, Tabela 44**). U literaturi nalazimo različite odgovore u aktivnosti glutathion reduktaze u prisustvu kadmijuma u zavisnosti od vrste insekta. Tako Cervera i saradnici (2003) nalaze značajno povećanje aktivnosti GR i to samo pet do sedam dana nakon izlaganja heteroptere *Oncopeltus fasciatus* delovanju kadmijuma. Povećanje aktivnosti GR u prisustvu prooksidanata utvrđeno je i kod diptere *Musca domestica* (Zaman et al., 1994), i kod lepidoptera *Trichoplusia ni* (Ahmad et al., 1995) i *Spodoptera eridania* (Migula i Glowacka, 1996), dok u drugim slučajevima tretman prooksidantima nije uticao na promenu aktivnosti (Zaman et al., 1995). Manja aktivnost glutathion reduktaze u prisustvu teških metala utvrđena je i kod nekoliko vrsta Coleoptera (Migula et al., 2004).

Kadmijum pokazuje izuzetno visok afinitet ka biološkim molekulima koji sadrže SH grupe kao što su proteini, enzimi i nukleinske kiseline (Acharya et al., 2008). Vezivanjem kadmijuma za sulfhidrilne grupe dolazi do narušavanja funkcije proteinskih molekula i da narušavanja redoks homeostaze. Količina slobodnih SH grupa nije samo mera jačine prooksidativnog pritiska već i indikator funkcionalnosti redoks stanja ćelije. Prisustvo slobodnih SH grupa u velikoj količini kod gubara tretiranih kadmijumom ukazuje na povećanu koncentraciju tiola u proučavanim organizmima. U našem eksperimentu količina slobodnih SH grupa zavisi od stupnja larvenog razvića ali i od prisustva kadmijuma, pri čemu se stupnjevi razlikuju u odgovoru na prisustvo kadmijuma.

U četvrtom, petom i šestom stupnju količina slobodnih SH grupa se značajno povećava kao posledica akumulacije kadmijuma i njegovog toksičnog efekta na jedinjenja sa tiolnim grupama (**Grafik 19, Tabela 45**). Na razlike u količini SH grupa kod lutke bitno utiče pol pri čemu kod mužjaka postoji značajno veća količina u odnosu na ženke (**Grafik 20, Tabela 45**). Adultne ženke imaju značajno veću količinu slobodnih SH grupa u grupi tretiranoj kadmijumom u odnosu na kontrolnu grupu dok se kod mužjaka ne uočavaju značajne razlike (**Grafik 21, Tabela 45**). U nekoliko studija, utvrđeno je da izlaganje teškim metalima, kao što je kadmijum, dovodi do povećanja količine tiolnih jedinjenja u organizmima, što govori o tiolnim grupama kao dobrom indikatoru zagađenja kadmijumom, kao i činjenica da njihova količina jeste marker proteinske oksidacije nakon intoksikacije (Shacter, 2000). Uopšteno se može reći da izloženost delovanju kadmijuma može biti povezana sa aktivacijom ili inhibicijom komponenti antioksidativne odbrane kod insekata, ali da postoji snažna zavisnost od stupnja razvića.

6. ZAKLJUČCI

1. Značajni efekti kadmijuma na komponente adaptivne vrednosti primećeni su uglavnom na koncentraciji od 50 μ g Cd/g. Uočava se značajno produženje larvenog razvića kod LR₁₋₄ iz C3 u odnosu na C1 grupu. Kadmijum u C3 grupi utiče na produženo trajanje LR₁₋₅, smanjenje mase lutke i smanjenu dugovečnost adulta kod oba pola, dok do skraćanja razvića lutke dovode sve tri primenjene koncentracije kadmijuma kod oba pola. Izostanak značajnog efekta kadmijuma na veći broj osobina u C1 i C2 eksperimentalnim tretmanima objašnjava se koncentracijama koje su ispod „praga“ specifičnog za gubara. Značajni efekti na osobine u kasnijim fazama razvića postižu se postepenom akumulacijom kadmijuma u organizmu za šta je potrebno duže izlaganje stresoru. U grupama larvi tretiranim kadmijumom, kod većine analiziranih osobina životnih istorija, uočava se povećanje heritabilnosti u širem smislu u odnosu na kontrolu. Može se zaključiti da odgovori na stres podrazumevaju povećanje među-genotipskih razlika i posledično povećavaju procenjenu heritabilnost analiziranih osobina.
2. Analiza varijabilnosti fenotipske plastičnosti pokazala je da neki genotipovi pokazuju veću tolerantnost prema kadmijumu i kod njih je prisutna manja redukcija komponenti adaptivne vrednosti, dok kod drugih kadmijum ima hormetički efekat što se uočava prisustvom veće adaptivne vrednosti u stresnoj u odnosu na kontrolnu sredinu. Kod larvenih stupnjeva (LR₁ - LR₁₋₄), familije gubara se razlikuju u odgovorima na prisustvo teškog metala u hrani. Kod ženki je primećena značajna varijabilnost fenotipske plastičnosti za LR₆ u C1 grupi, i masu lutke u C1 i C3 grupi, dok se kod mužjaka uočava za LR₅ u C2 grupi, i u svim grupama za LR₁₋₅. Larveni stupnjevi (LR₁- LR₁₋₄) imaju manju heritabilnost plastičnosti od heritabilnosti svojstva u svim sredinama, što znači da se tokom prva četiri stupnja larvenog razvića očekuje evolucija u pravcu povećanja plastičnosti razvića. Ženke imaju veću heritabilnost

plastičnosti u odnosu na heritabilnost svojstva za LR₆ u svim grupama, masu lutke i LR₅ u C3 grupi, LR₁₋₅ u C1 i C2 grupi i razviće lutke u C1 grupi. Kod mužjaka heritabilnost plastičnosti je veća od heritabilnosti svojstva za masu lutke i LR₅ u C2 grupi, LR₁₋₅ u svim grupama, a za razviće lutke i dužinu života adulta u C1 i C3 grupi.

3. Značajne genetičke korelacije između osobina adaptivne vrednosti larvi, lutki i adulta iz kontrolne i grupa tretiranim različitim koncentracijama kadmijuma praćene su značajnim pozitivnim fenotipskim korelacijama između ovih osobina. Genetičke korelacije su pokazale da u nepovoljnim uslovima životne sredine, larve familija koje karakteriše duže larveno razviće istovremeno imaju i manju masu, dok one sa većom masom pokazuju veću dugovečnost osim u tretmanu sa najvećom koncentracijom kadmijuma. Na osnovu promena korelacionih odnosa može se zaključiti da se strategije alokacije resursa u različite osobine životne istorije menjaju u zavisnosti od prisustva stresora i dovode do pojave uzajamnih ograničavanja između ovih osobina. Promena odnosa komponenti adaptivne vrednosti u zavisnosti od stepena stresa ukazuje na potencijal različite evolucije životnih strategija gubara u uslovima različitog stepena zagađenja. Genetičke korelacije između sredina koje su značajno različite od jedinice, upućuju na mogućnost evolucije populacije gubara u pravcu specijalizacije na nutritivno i toksično različite sredine. Na mogućnost dalje evolucije seksualnog dimorfizma ukazuju genetičke korelacije za pojedine osobine između ženki i mužjaka gubara, koje su značajno različite od jedinice.
4. Tokom larvenog razvića genotipovi plaćaju cenu homeostaze u kontrolnim uslovima. Sposobnost detekcije sredinskih uslova i adekvatno usmeravanje razvića predstavljaju važna svojstva ovog polifagnog insekta. U najstresnijem tretmanu (C3) veliki pad mase lutke odražava se i kroz značajnu cenu ove maladaptivne plastičnosti. Regresioni koeficijenti se značajno razlikuju između polova za larveno razviće i razviće lutke. Kod ženki postoje značajno

pozitivni regresioni koeficijenti za trajanje larvenog razvića i masu lutke u kontrolnoj, C1 i C2 grupi, kao i za razviće lutke u C1 grupi, dok mužjaci C3 grupe imaju značajno negativan koeficijent za trajanje larvenog razvića, a mužjaci kontrolne grupe za razviće lutke. Jedino mužjaci plaćaju cenu plastičnosti trajanja razvića lutke u C1 grupi.

Poređenjem selekcionih gradijenata utvrđeno je da selekcija intenzivnije deluje na povećanje veličine jedinki i skraćuje razviće lutki u kontroli kod mužjaka u odnosu na ženke. Poređenjem selekcionih diferencijala utvrđeno je da ukupna selekcija deluje značajno na larveno razviće i razviće lutke u kontrolnoj, C1 i C2 grupi i masu lutke u C1 grupi i na osobine koje su korelisane i to većim intenzitetom na mužjake u odnosu na ženke.

5. Aktivnost enzima i količine komponenti sistema antioksidativne zaštite pokazuju razlike u odgovorima na prisustvo kadmijuma u ishrani tokom različitih perioda razvića. Kadmijum značajno utiče na promenu aktivnosti glutacione reduktaze i količinu ukupnog glutaciona tokom razvića larve, lutke i adultnog života, dok se kod superoksid dismutaze efekat kadmijuma uočava samo kod lutki, a kod askorbat peroksidaze i količine slobodnih SH grupa samo tokom larvenog razvića gubara. Aktivnost svih ispitivanih enzima, izuzev superoksid dismutaze, i količina ukupnog glutaciona i slobodnih SH grupa zavisi od stupnja larvenog razvića. Kod lutki gubara, ženke imaju veću aktivnost superoksid dismutaze i veću količinu slobodnih SH grupa u odnosu na mužjake, dok se kod mužjaka uočava značajno veća aktivnost askorbat peroksidaze u odnosu na ženke. Adultne ženke i mužjaci imaju različit nivo aktivnosti superoksid dismutaze, glutacione reduktaze, glutacione S transferaze, kao i količinu ukupnog glutaciona. Kadmijum značajno utiče na razlike između stupnjeva larvenog razvića u količini ukupnog glutaciona i slobodnih SH grupa, i aktivnosti svih enzima sem glutacione S transferaze. Kod lutki, kadmijum značajno utiče jedino na razlike između polova u aktivnosti superoksid dismutaze. Dok kod adulta, kadmijum utiče na različitu aktivnost superoksid dismutaze, katalaze, askorbat peroksidaze gde uočavamo u proseku veće vrednosti kod ženki u odnosu na mužjake, i glutacione reduktaze

gde veću aktivnost nalazimo kod mužjaka u odnosu na ženke. Kadmijum indirektno dovodi do indukcije oksidativnog stresa i kao posledica toga nastaju promene u aktivnosti enzima i količini komponenti antioksidativne zaštite. Pri tome, regulacija ravnoteže između prooksidanata i antioksidanata zavisi od podložnosti određenih stupnjeva razvića toksičnom delovanju kadmijuma. Aktivacija antioksidativne odbrane i njeno detoksidifikaciono delovanje povećava metaboličku cenu za organizme koji se bore sa stresorom prisutnim u hrani, pri čemu dolazi do alokacije resursa ka mehanizmima odbrane od stresa, indukcije komponenti sistema antioksidativne zaštite i posledično do promena u komponentama adaptivne vrednosti kao što su trajanje razvića ili dugovečnost.

7. LITERATURA

1. Acharya, U. R., Mishra, M., Patro, J., Pan, M. K., (2008), Effect of vitamins C and E on spermatogenesis in mice exposed to cadmium, *Reprod. Toxicol.*, 25, 84- 88.
2. Ackerly, D., Sultan, S., (2006), Mind the gap: the emerging synthesis of plant „evodevo“, *New Phytologist*, 170, 648- 653.
3. Ackermann, M., Biljsma, R., James, A. C., Partridge, L., Zwaan, B. J., (2001), Effects of assay conditions in life history experiments with *Drosophila melanogaster*, *J. Evol. Biol.*, 14, 199- 209.
4. Adamis, P. D. B., Gomes, D. S., Pinto, M. L. C. C., Panek, A. D., Eleuthrtio, E. C. A., (2004), The role of glutathione transferases in cadmium stress, *Toxicology Letters*, 154, 81- 88.
5. Adolph, S. C., Hardin, J., (2007), Estimating phenotypic correlations: correcting for bias due to intraindividual variability, *Functional Ecology*, 21, 178–184.
6. Ahmad, S., (1995), Antioxidant mechanisms of enzymes and proteins. In: Ahmad, S. (ed), *Oxidative stress and antioxidant defenses in biology*, Chapman & Hall, New York, 238–272.
7. Ahmad, S., Zaman, K., MacGill, R. S., Batcabe, J. P., Pardini, R., (1995), Dichlone-induced oxidative stress in a model insect species, *Spodoptera eridania*. *Arch. Environ. Contam. Toxicol.*, 29, 442- 448.
8. Allendorf, F. V., (1993), Delay of adaptation to captive breeding by equalizing family size. *Conserv. Biol.*, 7, 416-419.
9. Andersson, A., and Hahlin, M., (1981), Cadmium effects from phosphorus fertilization in field experiments, *Swedish Journal of agricultural Research*, 7: 7-20.
10. Andersson, S., Shaw, R. G., (1994), Phenotypic plasticity in *Crepis tectorum* (Asteraceae): genetic correlations across light regimes, *Heredity*, 72, 113-125.
11. Anderson, M. E., (1996), *Free Radicals: A Practical Approach*, eds. (Punchad, N. A., and Kelly, F. J., Oxford Press University.

12. Ansaldo, M., Nahabedian, D. E., Holmes- Brown, E., Agote, M., Ansay, C. V., Verrengia Guerrero, N. R., Wider, E. A., (2006), Potential use of glycogen level as biomarker of chemical stress in *Biomphalaria glabrata*, *Toxicology*, 224, 119- 217.
13. Ansaldo, M., Nahabedian, D. E., di Fonzo, C., Wider, E. A., (2009), Effect of cadmium, lead and arsenic on the oviposition, hatching and embryonic survival of *Biomphalaria glabarata*, *Sci. Tot. Environ.*, 407 (6), 1923- 1928.
14. Antonovics, J., (1981), This week's citation classic (Heavy metal tolerance in plants), *Current Contents* No. 1 January 5th, 1981, 16.
15. Augustyniak, M., Migula, P., (2000), Body burden with metals and detoxifying abilities of the grasshopper *Chorthippus brunneus* (Thunberg) from industrially polluted areas, In: Markert B, Frieze K (eds) *Trace Metals in the Environment*. Elsevier, Amsterdam, 423–454.
16. Barbosa, P., Waldwogel, M., Martinat, P., Douglas, L. W., (1983), Developmental and reproductive performance of the gypsy moth, *Lymantria dispar* (L.) (Lepidoptera: Lymantriidae), on selected host common to mid Atlantic and southern forests, *Environ. Entomol.*, 12, 1858- 1862.
17. Barker, J. S. F., Krebs, R. A., (1995), Genetic variation and plasticity of thorax length and wing length in *Drosophila aldrichi* and *D. buzzatii*, *J. Evol. Biol.*, 8, 689- 709.
18. Barlow, R., (1981), Experimental evidence for interactions between heterosis and environment in animals, *Anim. Breed. Abstr.*, 49, 715-737.
19. Becker, W. A., (1984), *Manual of Quantitative Genetics*, Academic Enterprises, Pullman, Washington.
20. Bengtsson, G., Gunnarsson, T., Rundgren, S., (1985), Influence of metals on reproduction, mortality and growth in *Onychiurus armatus* (Collembola), *J. Appl. Ecol.*, 22, 967-978.
21. Bertin, G., Averbeck, D., (2006), Cadmium: cellular effects, modifications of biomolecules, modulation of DNA repair and genotoxic consequences (a review), *Biochimie*, 88: 1549-1559.
22. Beutler E., (1982) Catalase. In *Red Cell Metabolism, a Manual of Biochemical Methods* (Ed. By E. Beutler), pp.105-106. Grune and Stratton, Inc, New York.

23. Beutler, T. M., and Eaton, D. L., (1992), Gluthation-S-Transferases: amino acid sequence comparison classification and phylogenetic relationship, *Environmental Carcinomas and Ecotoxicological Reviews*, C10, 181-203.
24. Bijlsma, R., Loeschcke, V., (2005), Environmental stress, adaptation and evolution: an overview, *J. Evol. Biol.*, 18, 744- 749.
25. Blanckenhorn, W. U., (1998), Adaptive phenotypic plasticity in growth, development, and body size in the yellow dung fly, *Evolution*, 52, 1394- 1407.
26. Bolt, H. M., (1994), Genetic and individual difference in the process of biotransformation and their relevance for occupational medicine, *Medico Lavoro*, 85, 37-48.
27. Bolt, H. M., (1996), Human GSH-transferase in risk assessment, In: *Biological Reactive Intermediates V*, eds. (Snyder, R., Sipes, I. G., Jollow, D. J., Monks, T. J., Kocsis, J. J., Kalf, G. F., Griem, H., and Witmer, C. M.) Plenum Press, New York, 405-409.
28. Bonnard, M., Eom, I. C., Morel, J. L., Vasseur, P., (2009), Genotoxic and reproductive effects of an industrially contaminated soil on the earthworm *Eisenia fetida*, *Environ. Mol. Mutagen.*, 50, 60-67.
29. Borevitz, J. O., Maloof, J. N., Lutes, J., Dabi, T., Redfern, J. L., Trainer, G. T. et al., (2002), Quantitative trait loci controlling light and hormone response in two accessions of *Arabidopsis thaliana*, *Genetics*, 160, 683- 696.
30. Bradford, M.M., (1976), Bradford protein assay, *Anal. Biochem.*, 72: 248.
31. Braeckman, B., Smagghe, G., Brutsaert, N., Cornelis, R., Raes, H., (1999), Cadmium Uptake and Defense Mechanism in Insect Cells, *Environmental Research Section A*, 80: 231-243.
32. Brigelius, R., (1985), in *Oxidative Stress* (Sies, H., Ed.), Academic Press, New York, 242-272.
33. Bublly, O. A., Loeschcke, V., (2005), Correlated responses to selection for stress resistance and longevity in a laboratory population of *Drosophila melanogaster*, *J. Evol. Biol.*, 18, 789- 803.
34. Bulmer, M. G., (1971), The effect of selection on genetic variability, *Am. Nat.*, 105, 201-211.

35. Canesi, L., Ciacci, C., Betti, M., Malatesta, M., Gazzanelli, G., Gallo, G., (1999), Growth factors stimulate the activity of key glycolytic enzymes in isolated digestive gland cells from mussels (*Mytilus galloprovincialis* Lam.) through tyrosine kinase-mediated signal transduction, *Gen. Comp. Endocrinol.*, 116, 241–248.
36. Cao, L., Huang, W., Liu, J., Yin, X., Dou, S., (2010), Accumulation and oxidative stress biomarkers in Japanese flounder larvae and juveniles under chronic cadmium exposure, *Comparative Biochemistry and Physiology, Part C, Toxicology and Pharmacology*, 151 (3), 386- 392.
37. Carroll, S. P., Hendry, A. P., Reznick, D. N., Fox, C. W., (2007), Evolution on ecological time scales, *Funct. Ecol.*, 21, 387-393.
38. Casalino, E., Calzaretti, G., Sblano, C., Landriscina, C., (2002), Molecular inhibitory mechanisms of antioxidant enzymes in rat liver and kidney by cadmium, *Toxicology*, 179: 37-50.
39. Cervera, A., Maymo, A. C., Martínez-Pardo, R., Garcera, M. D., (2003), Antioxidative Enzymes in *Oncopeltus fasciatus* (Heteroptera: Lygaeidae) Exposed to Cadmium, *Environmental Entomology*, 32(4): 705-710.
40. Cervera, A., Maymo, A. C., Sendra, M., Martínez-Pardo, R., Garcera, M. D., (2004), Cadmium effects on development and reproduction of *Oncopeltus fasciatus* (Heteroptera: Lygaeidae), *Journal of Insect Physiology*, 50: 737-749.
41. Cervera, A., Cristina Maymó, A., Martínez-Pardo, R., Dolores Garcera, M., (2005), Vitellogenesis inhibition in *Oncopeltus fasciatus* females (Heteroptera: Lygaeidae) exposed to cadmium, *J. Insect Physiol.*, 51(8), 895- 911.
42. Cheplick, G. P., (1995), Genotypic variation and plasticity of clonal growth in relation to nutrient availability in *Amphibromus scabrivalvis*, *J. Ecol.*, 83, 459–468.
43. Cheplik, G. P., (2003), Evolutionary significance of genotypic variation in developmental reaction norms for a perennial grass in competition, *Evolutionary Ecology*, 17, 175- 196.
44. Chrascina, M., Kafel, A., Migula, P., (1996), Patterns of detoxifying enzymes in larval stage of *Smerinthus ocellatus*, L. exposed to cadmium, tocopherol or quercetin, *Studia Societatis Scientiorum Torunensis*, 4, 31- 37.

45. Clark, A. G. (1987) Senescence and the genetic correlation hang-up. *Am. Nat.*, 129, 932-940.
46. Conner, J. K. and Hartl, D. L. (2004) *A Primer of Ecological Genetics*. Sinauer Press, Sunderland, MA.
47. Coyone, J. A., Beecham, E., (1987), Heritability of two morphological characters within and among natural populations of *Drosophila melanogaster*, *Genetics*, 117, 727-737
48. Crespi B. J., Booksraina, F. J., (1988), A path-analysis model for the measurement of selection on morphology, *Evolution*, 43, 18-28.
49. Crispo, E. (2008) Modifying effects of phenotypic plasticity on interactions among natural selection, adaptation and gene flow. *J. Evol. Biol.*, 21, 1460-1469.
50. Dabas, A., Nagpure, N. S., Kumar, R., Kushwaha, B., Kumar, P., Lakra, W. S., (2012), Assessment of tissue- specific effect of cadmium on antioxidant defense system and lipid peroxidation in freshwater murrel, *Channa punctatus*, *Fish Physiol. Biochem.*, 38, 469- 482.
51. Dallinger, R., Rainbow, P. S., (1991), *Ecotoxicology of metals in invertebrates*, SETAC-Europe Conference, Sheffield, England, Lewis, Boca Raton, 461.
52. David, J. R., Moreteau, B., Gauthier, J. R., Petavy, G., Stockel, J., Imasheva, A., (1994), Reaction norms of size characters in relation to growth temperature in *Drosophila melanogaster*: an isofemale line analysis, *Genet. Sel. Evol.*, 26, 229- 251
53. David, J. R., Araripe, L. O., Chakir, M., Legout, H., Lemos, H., Petavy, G., Rohmer, C., Joly, D., Moreteau, B., (2005), Male sterility at extreme temperatures: a significant but neglected phenomenon for understanding *Drosophila* climatic adaptation, *J. Evol. Biol.*, 18, 838- 846.
54. Dixit, V., Pandey, V., Radhey, S., (2001), Differential antioxidative responses to cadmium in roots and leaves of pea (*Pisum sativum* L. cv. Azad), *Journal of Experimental Botany*, 52 (358): 1101-1109.
55. Dobzhansky, T., (1947), Adaptive changes induced by natural selection in wild populations of *Drosophila*, *Evolution*, 1, 1-17.

56. Drodge, W., Eck, H.-P., Mihm, S., Galter, D., (1994), in Oxidative Stress, Cell Activation and Viral Infection (Pasquier, C., Auclair, C., Olivier, R. Y., and Packer, L., Eds.) Birkhauser, Basel, 285-299.
57. Droge, W., (2002), Free Radicals in the Physiological Control of Cell Function, *Physiological Review*, 82: 47-95.
58. Dudley, R. E., Svoboda, D. J., Klaassen, C. D., (1984), Time course of cadmium-induced ultrastructural changes in rat liver, *Toxicology and Applied Pharmacology*, 76: 150-160.
59. Dudley, S. A., Schmitt, J., (1996), Testing the adaptive plasticity hypothesis: density-dependent selection on manipulated stem length in *Impatiens capensis*, *Am. Natur.*, 147, 445- 465.
60. Dudley, S. A., (1996), Differing selection on plant physiological traits in responses to environmental water availability: a test of adaptive hypothesis, *Evolution*, 50, 92-102.
61. Early, J. L. II, Nonavinakere, V. K., Weaver, A., (1992), Effect of Cd and/or selenium on liver mitochondria and rough endoplasmic reticulum in the rat, *Toxicology Letters*, 62: 73-83.
62. Ebert, D., Yampolski, L. and Stearns, S. C. (1993) Genetics of life history in *Daphnia magna* I. Heritabilities at two food levels. *Heredity*, 70, 335-343.
63. Elkinton J.S. & Liebhold A.M. (1990) Population dynamics of gypsy moth in North America. *Ann. Rev. Entomol.* 35: 571-596.
64. Ellman, G. L., (1959), Original determination of free SH groups, *Arch. Biochem. Biophys.*, 82, 70- 77.
65. Engqvist, L., (2007), Environment- dependent genetic correlations between development time and body mass in a scorpionfly, *Zoology*, 110, 344- 353.
66. Etges, W. J. (1993), Genetics of host cactus response and life history evolution among ancestral and derived populations of cactophilic *Drosophila mojavensis*, *Evolution*, 47, 750-767.
67. Falconer, D. S. (1981) Introduction to quantitative genetics. Longman, London.

68. Faurskov, B., Bjerregaard, H. F., (2002), Evidence for cadmium mobilization of intracellular calcium through a divalent cation receptor in renal distal epithelial A6 cells. *Pflügers Archives* 445: 40-50.
69. Fordyce, J. A., (2006), The evolutionary consequences of ecological interactions mediated through phenotypic plasticity, *J. Exp. Biol.*, 209, 2377- 2383.
70. Fornazier, R. F., Ferreira, R. R., Pereira, G. J. G., Molina, S. M. G., Smith, R. J., Lea, P. J., Azavedo, R. A., (2002), Cadmium stress in sugar cane callus cultures: effect on antioxidant enzymes, *Plant Cell Tissue Organ Cult.*, 71, 125–131.
71. Fountain, M. T., Hopkin, S. P., (2001), Continuous monitoring of *Folsomia candida* (Insecta: Collembola) in metal exposure test, *Ecotoxicol. Environ. Saf.*, 48, 275-286.
72. Franco R., Cidlowski, J.A., (2009), Apoptosis and glutathione: beyond an antioxidant, *Cell Death Differ.*, 16: 1303-1314.
73. Fridovich, I., (1995), Superoxide radical and superoxide dismutase, *Annual Review of Biochemistry*, 64, 97-112.
74. 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.
75. Garland, T. Jr., (1984), Physiological correlates of locomotory performance in a lizard: an allometric approach, *American Journal of Physiology*, 247, R806- R815.
76. Gavrillets, S., Scheiner, S. M., (1993), The genetics of phenotypic plasticity V, Evolution of reaction norm shape, *J. Evol. Biol.*, 6, 31-48.
77. Gebhardt, M. D., Stearns, S. C., (1988), Reaction norms for developmental time and weight at eclosion in *Drosophila mercatorum*, *J. Evol. Biol.*, I, 335- 354.
78. Gebhardt, M. D., Stearns, S. C. (1993), Phenotypic plasticity for life history traits in *Drosophila melanogaster*, I Effect on phenotypic and environmental correlations, *J. Evol. Biol.*, 6, 1- 16.
79. Geier, P. W., Briese, D. T., (1980), The light- brown apple moth *Epiphytas postivittana* (Walker): 5. Variability of demographic characteristics in field populations of southeastern Australia, *Aust. J. Ecol.*, 5, 135- 142.

80. GESAMP (1984), IMO/ FAO/ UNESCO/ WMO/ IAEA/ UN/ UNEP Joint Group of Experts on the Scientific Aspects of Marine Pollution: Report of the fourteenth session, Vienna, 26-30 March, 1984, Vienna, International Atomic Energy (Reports and Studies No.21).
81. Gilbert, H. F., (1990), *Advanced Enzymology*, 63: 69-172.
82. Gillespie, J. H., Turelli, M., (1989), Genotype-environment interaction and maintenance of polygenic variation. *Genetics*, 121, 129- 138.
83. Gimbert, F., de Vaufleury, A., Douay, F., Coeurdassier, M., Scheifler, R., Badot, P.-M., (2008), Long-term responses of snails exposed to cadmium-contaminated soils in a partial life-cycle experiment, *Ecotoxicology and Environmental Safety*, 70: 138-146.
84. Ginterneiter, S., Ortel, J., Nopp, H. J., (1993), Bioaccumulation of cadmium, lead, copper, and zinc in successive developmental stages of *Lymantria dispar* L. (Lymantriidae, Lepid.) a life cycle study, *Arch. Environ. Contam. Toxicol.*, 25, 55–61.
85. Glatzle D., Vuilleumier J.P., Weber F., & Decker K. (1974) Glutathione reductase test with whole blood a convenient procedure for the assessment of the riboflavin status in humans. *Experientia*, 30:665-668.
86. Goering, P. L., Fisher, B. R., Kish, C., (1993), Stress protein synthesis induced in rat liver by cadmium precedes hepatotoxicity, *Toxicology and Applied Pharmacology*, 122: 139- 148.
87. Gomulkiewicz, R., Kirkpatrick, M., (1992), Quantitative genetics and the evolution of reaction norms, *Evolution*, 46, 390-411.
88. Görür, G., Lomônaco, C. and Mackenzie, A. (2005) Phenotypic plasticity in host-plant specialisation in *Aphis fabae*. *Ecol. Entomol.*, 30, 657-664.
89. Graves, J. L., Toolson, E. C., Jeong, C., Vu, L. N., Rose, M. R., (1992), Desiccation, flight, glycogen, and postponed senescence in *Drosophila melanogaster*, *Physiol., Zool.*, 65, 268-286.
90. Griffith O.W. (1980), Determination of glutathione and glutathione disulfide using glutathione reductase and vinyl pyridine. *Anal. Biochem.* 106: 207-212.

91. Grill, E., Winnacker, E-L., Zenk, M. H., (1987), Phytochelatins, a class of heavy-metal binding peptides from plants, are functionally analogous to metallothioneins. *Proc Natl Acad Sci USA.*, 84, 439–443.
92. Gu, H., Danthanarayana, W., (2000), Genetic variation in the life- history traits of *Epiphyas postvittana*: population structure and local adaptation, *Austral Ecology*, 25, 394- 401.
93. Habig W.H., Pabst M.J., Jacoby W.B. (1974), Glutathione S transferases. *J. Biol. Chem.* 249: 7130-7139.
94. Hasgvar, S., Abrahamsen, G., (1990), Microarthropoda and Enchytraeidae (Oligochaeta) in a naturally lead-contaminated soil: A gradient study, *Environ. Entomol.*, 19, 1263-1277.
95. Halliwell, B., Gutteridge, J. M. C., (1999), *Free Radicals in Biology and Medicine*, Third Edition, Oxford University Press Inc., New York.
96. Halliwell, B., Gutteridge, J. M. C., (2007), *Free radical in biology and medicine*, 4th edition, Oxford University Press, New York.
97. Halliburton, R., (2004), *Introduction to Population Genetics*, Western Connecticut State University, USA.
98. Hanahan, D., Weinberg, R. A., (2000), The hallmarks of cancer, *Cell*, 100, 57-70.
99. Hansbergen, P. J., Van Velzen, M. J. M., Nugroho, R. A., Donker, M. H., Van Straalen, N. M., (2000), Metallothionein- bound cadmium in the gut of the insect *Orchesella cincta* (Collembola) in relation to dietary cadmium exposure, *Comp. Biochem. Physiol., C*, 125, 17- 24.
100. Hatata, M. M., Abdel-Aal, (2008), Oxidative stress and Antioxidative defense Mechanisms in Response to Cadmium Treatments, *American- Euroasian J. Agric. Environ. Sci.*, 4 (6), 655- 669.
101. Heffner, J. E., and Repine, J. E., (1989), Pulmonary strategies, of an antioxidant defense, *American Review of Respiratory Disorders*, 140: 531-554.
102. Hillesheim, S., Stearns, S. C., (1992), Correlated responses in life-history traits to artificial selection for body weight in *Drosophila melanogaster*, *Evolution*, 46, 745-752.

103. Hoffman, A. A. and Parsons, P. A. (1991) Evolutionary genetics and environmental stress. Oxford University Press, Oxford, UK.
104. Hoffmann, A. A., Sgro, C. M., Lawler, (1995), Ecological population genetics: the interface between genes and the environment, *Genetics*, 29, 349- 370.
105. Hoffman, A. A. and Schiffer, M. (1998) Changes in the heritability of five morphological traits under combined environmental stresses in *Drosophila melanogaster*. *Evolution*, 52, 1207-1212.
106. Hoffmann, A. A. and Merilä, J. (1999) Heritable variation and evolution under favourable and unfavourable conditions. *Trends Ecol. Evol.*, 14, 96-101.
107. Hoffmann, A. A., Hallas, R., Anderson, A. R., Telonos-Scott, M., (2005), Evidence for a robust sex- specific trade- off between cold resistance and starvation resistance in *Drosophila melanogaster*, *J. Evol. Biol.*, 18, 804- 810.
108. Hoffmann, A. A., Willi, Y., (2008), Detecting genetic responses to environmental change, *Nat. Rev. Genet.*, 9 (6), 421- 432.
109. Holloway, G. J., Povey, S. and Sibly, R. (1990) The effect of new environment on adapted genetic architecture. *Heredity*, 64, 323-330.
110. Holt, R. D., Gaines, M. S., (1992), Analysis of adaptation in heterogenous landscapes: implications for the evolution of fundamental niches, *Evolutionary Ecology*, 6, 433- 447.
111. Hossain, M. A., Nakano, Y., Asada, K., (1984), Monodehydroascorbate reductase in spinach chloroplasts and its participation in regeneration of ascorbate for scavenging hydrogen peroxide, *Plant Cell Physiol.*, 25, 385–395.
112. Houle, D., (1991), Genetic covariance of fitness correlates: what genetic correlations are made of and why it matters, *Evolution*, 45, 630–648.
113. Houston, A. I., McNamara, J. M., (1992), Phenotypic plasticity as a state-dependent life- history decision, *Evol. Ecol.*, 6, 243- 453.
114. Hutton, M., and Symon, C., (1986), The quantities of cadmium, lead, mercury and arsenic entering the U.K. environment from human activities. *Science of total Environment*, 57: 129- 150.

115. Ilijin, L., Perić-Mataruga, V., Radojičić, R., Lazarević, J., Nenadović, V., Vlahović, M., Mrdaković, M., (2010), Effects of Cadmium on Protocerebral Neurosecretory Neurons and Fitness Components in *Lymantria dispar* L., *Folia biologica* (Krakow), 58 (1-2),
116. Ilijin, L.A., Perić-Mataruga, V.D., Radojičić, R.M., Vlahović, M.S., Mrdaković, M., Mirčić, D., Lazarević, J.M., (2010), The Influence Of Increased Rearing Density On Medial Protocerebral Neurosecretory Neurons Of *Lymantria dispar* L. Caterpillars, *Arch. Biol. Sci.*, 62 (1), 27-37.
117. Imasheva, A. G., Loeschke, V., Lazebny, O. E., Zhivotovsky, L. A., (1998), Stress temperatures and quantitative variation in *Drosophila melanogaster*, *Heredity*, 81, 246- 253.
118. Janssen, M. P. M., Bruins, A., De Vries, T. H., Van Straalen, N. M., (1991), Comparison of cadmium kinetics in four soil arthropod species, *Archs. Envir. Contam. Toxic.*, 20, 305-312.
119. Janssens, T. K. S., Roelofs, D., van Straalen, N. M., (2009), Molecular mechanisms of heavy metal tolerance and evolution in invertebrates, *Insect Science*, 16, 3-18.
120. Jobstl, I., (1993), Toxicokinetische studien zweiger nicht-essentieller metalle an *Lymantria dispar* (L.) (Lymantriidae, Lep.) cadmium und blei., Diplomarbeit, Universitat Wien.
121. Jodal I., Sidor Ć., & Poljakovic-Pajnik L. (1997) Prilog poznavanju razvića gubara (*Lymantria dispar* L., Lymantriidae, Lepidoptera) na vrbi (*Salix alba* L.). Simpozijum entomologa Srbije, Goč 2-4. oktobar, Zbornik rezimeea, pp.13.
122. DeJong, G., (1990), Quantitative genetics of reaction norms, *J. Evol. Biol.*, 3, 447-468.
123. Jovanović-Galović, A., Blagojević, D., Grubor-Lajšić, G., Worland, R., Spasić, M. B., (2004), Role of antioxidant defense during different stages of preadult life cycle in European corn borer (*Ostrinia nubilalis*, Hubn.): diapause and metamorphosis, *Arch. Insect Biochem. Physiol.* 55, 79–89.
124. Kafel, A., Zawisza-Raszka, A., Szulinska, E., (2012), Effects of multigenerational cadmium exposure of insects (*Spodoptera exigua* larvae) on anti-oxidant

- response in haemolymph and developmental parameters, *Environmental Pollution*, 162: 8-14.
125. 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.
 126. Kasule, F. K., (1991), Quantitative variation in adult size and fecundity of the cotton stainer bug *Dysdercus fasciatus*, *Heredity*, 66, 273- 279.
 127. Kaur, J., Sharma, N., Attri, S., et al., (2006), Kinetic characterization of Zinc transport process and its inhibition by Cadmium in isolated rat renal basolateral membrane vesicles: in vitro and in vivo studies, *Molecular and Cell Biochemistry*, 283: 169-179.
 128. Kause, A, Morin, J. P., (2001), Seasonality and genetic architecture of development time and body size in the birch feeding sawfly *Prophorus pallipes*, *Genetical Research*, 78, 31- 40.
 129. Kawecki, T. J., Barton, N. B. and Fry, J. D. (1997) Mutational collapse of fitness in marginal habitats and the evolution of ecological specialization. *J. Evol. Biol.*, 10, 407-429.
 130. Van Kerkhove, E., Pennemans, V., Swennen, Q., (2010), Cadmium and transport of ions and substances across cell membranes and epithelia, *Biometals*, 23: 823-855.
 131. Kim, K. R., Choi, J. K., Kim, J. S, (1988), Changes in renal function in cadmium-intoxicated rats, *Pharmacological Toxicology*, 63: 342-350.
 132. Kingsolver, J. G., Schemske, D. W., (1991), Path analysis of selection, *Trends Ecol. Evol.*, 6, 276-280.
 133. Kingsolver, J. G., Hoekstra, H. E., Hoekstra, J. M., Berrigan, D., Vignieri, S. N., Hill, C. E., Hoang, A., Gilbert, P., Beerli, P., (2001), The strength of phenotypic selection in natural populations, *American Naturalist*, 157, 245- 261.

134. Kinne-Saffran, E., Hulseweh, M., Pfaff, C., et al. (1993), Inhibition of Na, K-ATPase by cadmium: different mechanisms in different species, *Toxicology and Applied Pharmacology*, 121: 22-29.
135. Kirkpatrick, M., Lande, R., (1989), The evolution of maternal characters, *Evolution*, 43, 485- 503.
136. Klerks, P. L., (1990), Adaptation to metals in animals, In: *Heavy Metal Tolerance in Plants: Evolutionary Aspects* (Edited by Shaw A. J.), 314-321. CRC Press, Boca Raton, Florida, USA.
137. Van Kleunen, M., Fischer, M., (2003), Effects of four generations of density-dependent selection on life history traits and their plasticity in a clonally propagated plant, *Journal of Evolutionary Biology*, 16, 474–484.
138. Koehn, R. K., Bayne, B. L., (1989), Towards a physiological and genetical understanding of the energetics of the stress response, *Biol. J. Linn. Soc.*, 37, 169-171.
139. Koizumi, T., Yokota, T., Shirakura, K., Tatsumoto H., Suzuki, K. T., (1994), Potential mechanism of cadmium-induced cytotoxicity in rat hepatocytes: inhibitory action of cadmium on mitochondrial respiratory activity, *Toxicology*, 92: 115-125.
140. Kondrashov, A. S., Hole, D., (1994), Genotype- environment interaction and the estimation of the genomic mutation rate in *Drosophila melanogaster*, *Proc. R. Soc. London, Ser. B*, 258, 221- 227.
141. Korsloot, A., van Gestel, C.A.M., van Straalen, N.M., (2004), *Environmental stress and cellular response in Arthropods*, CRC Press LLC, N.W. Corporate Blvd., Boca Raton, Florida,
142. Korte, F. (1983), Ecotoxicology of cadmium: general overview. *Ecotoxicology and Environmental Safety*, 7: 3-8.
143. Kosalwat, P., Knight, Knight, A. W., (1986), Chronic toxicity of copper to a partial life cycle of the midge, *Chironomus decorus*, *Arch. Environ. Contam. Toxicol.*, 16, 283- 290.
144. Krebs, R. A., Loeschcke, V., (1994), Effects of exposure to short-term heat stress on fitness components in *Drosophila melanogaster*, *J. Evol. Biol.*, 7, 39-49.

145. Kristensen, T. N., Sorensen, A. C., Sorensen, D., Pederson, K. S., Sorensen, J. G., Loeschcke, V., (2005), A test of quantitative genetic theory using *Drosophila* – effects of inbreeding and rate of inbreeding on heritabilities and variance components, *J. Evol. Biol.*, 18, 763- 770.
146. Kristensen, D. M., Ward, R. M., Lisewski, A. M., Erdin, S., Chen, B. Y., Fofanov, V. Y., Kimmel, M., Kaviraki, L., Lichtarge, O., (2008), Prediction of enzyme function based on 3D templates of evolutionarily important amino acid, *BMC Bioinformatics*, 8, 17.
147. Lance D.R. (1983) Host-seeking behavior of the gypsy moth: The influence of polyphagy and highly apparent host plants. In *Herbivorous Insects: Host-seeking Behavior and Mechanisms* (ed. S. Ahmad), Academic Press, New York, pp. 201-224.
148. Lance D.R., Elkinton J.S. & Schwalbe C.P., (1986), Feeding rhythms of gypsy moth larvae: Effect of food quality during outbreaks. *Ecology* 67: 1650-1654.
149. Lande, R., (1979), Quantitative genetic analysis of multivariate evolution, applied to brain: body size allometry, *Evolution*, 33, 402-416.
150. Lande, R. and Arnold, S. J., (1983), The measurement of selection on correlate characters. *Evolution*, 37, 1210-1226.
151. Lazarević, J., Perić Mataruga, V., Ivanović, J. and Andjelković, M., (1998), Host plant effects on the genetic variation and correlations in the individual performance of the gypsy moth. *Funct. Ecol.*, 12, 141-148.
152. Lazarević, J., (2000), Fiziološko genetički mehanizmi adaptacija gubara *Lymantria dispar* L. na nepovoljnu ishranu. Doktorska disertacija, Biološki fakultet, Univerzitet u Beogradu.
153. Lazarević, J., Perić-Mataruga, V., Stojković, B. and Tucić, N., (2002), Adaptation of the gypsy moth to an unsuitable host plant. *Entomol. Exp. Appl.*, 102, 75-96.
154. Lazarević, J., Perić-Mataruga, V., Tucić, N., (2007), Pre-adult development and longevity in natural populations of *Lymantria dispar* (Lepidoptera: Lymantriidae), *Eur. J. Entomol.*, 104, 211- 216.

155. Lazarević, J., Nenadović, V., Janković-Tomanić, M., Milanović, S., (2008), Genetic variation and correlations of life-history traits in gypsy moths (*Lymantria dispar*), from two populations in Serbia, Arch. Biol. Sci., 60 (4), 619- 627.
156. Leon, J. A., (1993), Plasticity in fluctuating environments, Lect. Notes Biomath., 98, 105- 121.
157. Leonard, D. E., (1974), Recent development in ecology and control of the gypsy moth. *Ann. Rev. Ent.*, 19, 197-229.
158. Leonard D.E., (1981), Bioecology of the gypsy moth. In *The Gypsy Moth: Research Toward Integrated Pest Management* (ed. by C. C. Doane & M.L. McManus), pp. 9-29. USDA For. Serv. Tech. Bull. 1584.
159. De Leve, L. D., and Kaplowitz, N., (1990), Importance and regulation of hepatic glutathione, *Seminary of Liver Disorders*, 10: 251-266.
160. Levitt, J., (1980), Responses of plants to environmental stress, Academic Press, New York, USA.
161. Li, B., Shibuya, I., Yogo, Y., Hara, T., Yokozawa, M., (2001), Interclonal differences plasticity and trade-offs of life history traits of *Cypreus esculentus* in relation to water availability, *Plant Species Biol.*, 16, 193- 207.
162. Liebhold A.M., Gottschalk K.W., Muzika R.M., Montgomery M.E., Young R., O'Day K., & Kelley B., (1995), Suitability of North American tree species to the gypsy moth: A summary of field and laboratory tests. USDA For. Serv. Gen. Techn. Rep. NE-211.
163. Lijun, L., Xuemei, L., Yaping, G., Enbo, M., (2005), Activity of the enzymes of the antioxidative system in cadmium-treated *Oxya chinensis* (Orthoptera Acridoidae), *Environmental Toxicology and Pharmacology*, 20: 412-416.
164. Lin and Lan, 2001
165. Lindgren, B., Laurila, A., (2005), Proximate causes of adaptive growth rates: growth efficiency variation among latitudinal populations of *Rana temporaria*, *J. Evol. Biol.*, 18, 820- 828.
166. Lionetto, M. G., Maffia, M., Cappello, M. S., (1998), Effect of cadmium on carbonic anhydrase and Na, K- ATPase in eel, *Anguilla anguilla*, intestine and

- gills, *Comparative Biochemistry and Physiology A Molecular Integrative Physiology*, 120: 89-91.
167. Listowski, I., (1993), *Hepatic Transport and Bile Secretion: Physiology and Pathophysiology*, eds. (Tavolini, N., and Beck, P. D.), Raven Press, New York.
 168. Lynch, M. and Walsh, B., (1998), *Genetics and Analysis of Quantitative Traits*. Sinauer Associates, Sunderland, MA.
 169. Lyytinen, A., Brakefield, P. M., Lindström, L., Mappes, J., (2004), Does predation maintain eyespot plasticity in *Bicyclus anynana*? *Proc. R. Soc. Lond. B Biol. Sci.*, 271, 279–283.
 170. Mackay, T. F. C., (2001), The genetic architecture of quantitative traits, *Annu. Rev. Genet.*, 35, 303- 339.
 171. Maley, D. F., (1996), Cadmium whole-lake experiment at the Experimental Lakes Area: an anachronism?, *Can. J. Fish. Aquat. Sci.*, 53: 1862- 1870.
 172. Malherbe, Y., Kamping, A., van Delden, W., de Zande, L., (2005), ADH enzyme activity and Adh gene expression in *Drosophila melanogaster* lines differentially selected for increased alcohol tolerance, *J. Evol. Biol.*, 18, 811- 819.
 173. Maroni, G., Otto, E., Lastowski- Perry, D., (1986), Molecular and cytogenetic characterization of a metallothionein gene of *Drosophila*, *Genetics*, 112, 493-504.
 174. Maroni, G., Wise, J., Young, J. E., Otto, E., (1987), Metallothionein gene duplications and metal tolerance in natural populations of *Drosophila melanogaster*, *Genetics*, 117, 739-744.
 175. Maryanski, M., Kramartz, P., Lakowski, R., Niklinska, M., (2002), Decreased energetic reserves, morphological changes and accumulation of metals in carabid beetles (*Poecilus cupreus* L.) exposed to zinc- or cadmium-contaminated food, *Ecotoxicol.*, 11, 127–139.
 176. Mathews, M. C., Summers, C. B., Felton, G. W., (1997), Ascorbat Peroxidase: A Novel Antioxidant Enzyme in Insects, *Archives of Insect Biochemistry and Physiology*, 34: 57-68.

177. Merila, J., Laurila, A., Lindgren, B., (2004), Variation in the degree and costs of adaptive phenotypic plasticity among *Rana temporaria* populations, *J. Evol. Biol.*, 17, 1132–1140.
178. Michod, R. E., (1979), Evolution of life histories in response to age-specific mortality factors, *Am. Nat.*, 113, 531-550.
179. Migula, P., Glowacka, E., (1996), Heavy metals as stressing factors in the red wood ants (*Formica polyctena*) from industrially polluted areas. *Fresenius' Journal of Analytical Chemistry*, 354, 653- 659.
180. Migula, P., Laszczyca, P., Augustyniak, M., Wilczek, G., Rozpedek, K., Kafel, A., Woloszyn, M., (2004), Antioxidative defence enzymes in beetles from a metal pollution gradient, *Biologia, Bratislava*, 59 (5): 645- 654.
181. Mishra, S., Srivastava, S., Tropathi, R. D., Govindarajan, R., Kuriakose, S. V., Prasad, M. N. V., (2006), Phytochelatin synthesis and response of antioxidants during cadmium stress in *Bacopa monnieri* L., *Plant Physiol. Biochem.*, 44, 25-37.
182. Mishra H.P. & Fridowich I., (1972), The role of superoxide anion in the antioxidation of epinephrine and a simple assay for superoxide dismutase mimics. *Biochem. J.* 29: 2802-2807.
183. Mitchell-Olds, T., Bergelson, J., (1990), Statistical genetics of an annual plant, *Impatiens capensis*, II. Natural selection. *Genetics*, 124, 417-421.
184. Moe, S. J., Stenseth, N. C., Smith, R. H., (2001), Effects of a toxicant on population growth rates: sublethal and delayed responses in blowfly populations, *Functional Ecology*, 15: 712-721.
185. De Moed, G. H., De Jong, G., Scharloo, W., (1997), Environmental effects on body size variation in *Drosophila melanogaster* and its cellular basis, *Genet. Res.*, 70, 35- 43.
186. Moller, H., Smith, R. H., Sibly, R. M., (1990), Evolutionary demography of a bruchid beetle, III, Correlated responses to selection and phenotypic plasticity, *Funct. Ecol.*, 4, 489- 493.
187. Mousseau, T. A. and Roff, D. A. (1987) Natural selection and the heritability of fitness components. *Heredity*, 59, 181-197.

188. Mozley, D., Thomas, B., (1995), Developmental and photobiological factors affecting photoperiodic induction in *Arabidopsis thaliana* Heynh, Landsberg erecta, *Journal of Experimental Botany*, 46, 173–179.
189. Mrdaković, M., Perić-Mataruga, V., Ilijin, L., Vlahović, M., Todorović, D., Nenadović, V., Lazarević, J., (2011), The effects of tannic acid on the fitness-related traits of *Lymantria dispar* L. larvae, *Arch. Biol. Sci.*, 63, 1037–1045.
190. Mrdaković, M., Perić-Mataruga, V., Ilijin, L., Vlahović, M., Janković-Tomanić, M., Mirčić, D., Lazarević, J., (2013), Response of *Lymantria dispar* (Lepidoptera: Lymantriidae) larvae from differently adapted populations to allelochemical stress: Effects of tannic acid, *Eur. J. Entomol.*, 110 (1), 55-63.
191. Muller, L., (1986), Cosequences of cadmium toxicity in rat hepatocytes: Mitochondrial dysfunction and lipid peroxidation, *Toxicology*, 40: 285-292.
192. Nascarella, M. A., Stoffolano Jr., J. G., Stanek III, E. J., Kosteckid, P. T., Calabresed, E. J., (2003), Hormesis and stage specific toxicity induced by cadmium in an insect model, the queen blowfly, *Phormia regina*, Meig., *Environ. Pollut.*, 124, 257- 262.
193. Nechay, B. R., Saunders, J. P., (1977), Inhibition of Renal Adenosine-Triphosphate by Cadmium, *Journal of Pharmacological Experimental Therapy*, 200: 623-629.
194. Nešović- Ostojić, J., Čemerikić, D., Dragović, S., et al. (2008), Low micromolar concentrations of cadmium and mercury ions activate peritubular membrane K^+ conductance in proximal tubular cells of frog kidney, *Comparative Biochemistry and Physiology A Molecular and Integrative Physiology*, 149: 267-274.
195. Nieminen, M., Nuorteva, P., Tulisalo, E., (2001), The effects of metals on the mortality of *Parnassius apollo* larvae, *J. Insect Conserv.*, 5, 1572–9753.
196. Niu, C-Y., Lei, C-L., Hu, C., (2000), Studies on a cadmium- induced metallothionein in housefly larvae, *Musca domestica*, *Entomologia Sinica*, 7 (4), 351-358.
197. Niu, C-Y., Jiang, Y., Lei, C-L., Hu, C., (2002), Effects of cadmium on housefly: influence on growth and development and metabolism during metamorphosis of housefly, *Entomol. Sin.*, 9(1), 27–33.

198. Noctor, G., Foyer, C.H., (1998), Ascorbate and glutathione: Keeping Active Oxygen Under Control, *Annu. Rev. Plant Physiol. Plant Mol. Biol.*, 49: 249- 279.
199. Van Noordwijk, A. J., De Jong, G., (1986), Acquisition and allocation of resources: their influence on variation in life history tactics, *Am. Nat.*, 128, 137-142.
200. Nriagu J. O., and Pacyna, J. M., (1988), Quantitative assessment of worldwide contamination of air, water and soils by trace metals. *Nature (London)*, 333: 134-139.
201. Nriagu, J. O. (1989), A global assessment of natural sources of atmospheric trace metals. *Nature (Lond.)*, 338: 47-49.
202. Nursita, A. I., Singh, B., Lees, E., (2005), The effects of cadmium, copper, lead, and zinc on the growth and reproduction of *Proisotoma minuta* Tullberg (Collembola), *Ecotoxicology and Environmental Safety*, 60: 306-314.
203. Nussey, D. H., Wilson, A. J., Brommer, J. E., (2007), The evolutionary ecology of individual phenotypic plasticity in wild populations, *J. Evol. Biol.*, 20, 831-844.
204. Ochi, T., Takahashi, K., Ohsawa, M., (1987), Indirect evidence for the induction of a prooxidant state by cadmium chloride in cultured mammalian cells and a possible mechanism for the induction., *Mutation Research*, 180: 257-266.
205. O'Dell, T. M., Butt, C. A., Bridgeforth, A. W., (1985), *Lymantria dispar*. In: Singht, P., Moore, R., (eds): *Handbook of Insect Rearing*. Elsevier, New York, pp. 355–367.
206. Ognjanović, B. I., Marković, S. D., Đorđević, N. Z., Trbojević, I. S., Štajn, A. Š., Saičić, Z. S., (2010), Cadmium-induced lipid peroxidation and changes in antioxidative defense system in the rat testes: Protective role of coenzyme Q₁₀ and Vitamin E, *Reproductive Toxicology*, 29(2): 191-197.
207. Ortel, J., Gintenreiter, S., Nopp, H., (1993), Metal bioaccumulation in a host insect (*Lymantria dispar* L., Lymantriidae, Lepidoptera) during development – ecotoxicological implications, In: *Ecotoxicology of Metals in Invertebrates* (Eds. Dallinger, R., Rainbow, P. S.), 401- 425, Lewis Publishers, Boca Raton.

208. Ortel, J., (1995a), Changes in protein content and free amino-acid composition in metalo-contaminated gypsy moth larvae (*Lymantria dispar* L., Lymantriidae, Lepidoptera), *Comp. Biochem. Physiol. C Toxicol. Pharmacol.*, 112, 291–298.
209. Ortel, J., (1995b), Effects of metals on the total lipid content in the gypsy moth (*Lymantria dispar* L., Lymantriidae, Lepid.) and its hemolymph, *Bull. Environ. Contam. Toxicol.*, 55, 216–221.
210. Ortel, J., (1996), Metal-supplemented diets alter carbohydrate levels in tissue and hemolymph of gypsy moth larvae (*Lymantria dispar* L., Lymantriidae, Lepidoptera), *Environ. Toxicol. Chem.*, 15, 1171–1176.
211. Pal, C., (1998), Plasticity, memory and the adaptive landscapes of the genotype, *Proc. R. Soc. London, Ser. B*, 265, 1319- 1323.
212. Park, J.D., Yaping, L., Curtis, D.K., (2001), Protective effect of metallothionein against the toxicity of cadmium and other metals, *Toxicology*, 163, 93-100.
213. Parsell, D. L. S., (1994), In: Morimoto, R. I., Tissieres, A., Georgopoulos, C. (eds.), *The Biology of Heat Shock Proteins and Molecular Chaperones*. CSHL Press, New York, 457-494.
214. Partridge, L., Flower, K., (1992), Direct and correlated responses to selection on age at reproduction in *Drosophila melanogaster*, *Evolution*, 46, 76-91.
215. Pedersen, S. A., Kristiansen, E., Andersen, R. A., Zachariassen, K. E., (2008), Cadmium is deposited in the gut content of larvae of the beetle *Tenebrio molitor* and involves a Cd-binding protein of the low cysteine type, *Comp. Biochem. Physiol. C*, 148, 217–222.
216. Pemac, D., Tucić, B., (1998), Reaction norms of juvenile traits to light intensity in *Iris pumila* (Iridaceae): a comparison of populations from exposed and shaded habitats. *Plant Systematics and Evolution*, 209, 159- 176.
217. Perez, A., Garcia, C., (2002), Evolutionary responses of *Drosophila melanogaster* to selection at different larval densities: changes in genetics variation, specialization and phenotypic plasticity, *J. Evol. Biol.*, 15, 524- 536.
218. Perić-Mataruga, V., Blagojević, D., Spasić, M. B., Ivanović, J. and Janković-Hladni, M. (1997) Effect of the host plant on the antioxidative defense in the

- midgut of *Lymantria dispar* L. caterpillars of different populations origins. *J. Insect Physiol.*, 43, 101-106.
219. Pigliucci, M. (2001) Phenotypic Plasticity: Beyond Nature and Nurture, The Johns Hopkins University Press, Baltimore, Maryland, USA.
220. Pigliucci, M. (2005) Evolution of phenotypic plasticity: where are we going now? *Trends Ecol. Evol.*, 20, 481-486.
221. Pigliucci, M., Murren, C. J. and Schlichting, C. D. (2006) Phenotypic plasticity and evolution by genetic assimilation. *The J. of Exp. Biol.*, 209, 2362-2367.
222. Pijpe, J., Fischer, K., Brakefield, P. M., Zwaan, B. J., (2006), Consequences of artificial selection on pre-adult development for adult lifespan under benign condition in the butterfly *Bicyclus anynana*, *Mechanisms of Ageing and Development*, 27, 802-807.
223. Pogue, M. G., Schaefer, P. W., (2007), A review of Selected Species of *Lymantria* Hubner, (1819) (Lepidoptera: Lymantriidae) from Subtropical and Temperate Regions of Asia, including the Descriptions of three new species, some potentially invasive to North America.
224. Polle, A., (2001), Dissecting the superoxide dismutase ascorbate-glutathione-pathway in the chloroplasts by metabolic modeling. Computer stimulations as a step towards flux analysis, *Plant Physiol.*, 126, 445- 462.
225. Posthuma, L., (1990), Genetic differentiation between populations of *Orchesella cincta* (L.)(Collembola), *Archs. Envir. Contam. Toxic.*, 22, 146-156.
226. Posthuma, L., Hogervorst, R. F., Van Straalen, N. M., (1992), Adaptation to soil pollution by cadmium excretion in natural populations of *Orchesella cincta* (L.) (Collembola), *Arch. Environ. Contam. Toxicol.*, 22, 146-156.
227. Posthuma, L., Van Straalen, N. M., (1993), Heavy-metal adaptation in terrestrial invertebrates: A review of occurrence, genetics, physiology and ecological consequences, *Comp. Biochem. Physiol. C*, 106, 11-38.
228. Posthuma, L., Hogervorst, R. F., and Van Straalen, N. M., (1993a), Genetic variation and covariation for characteristics associated with cadmium tolerance in

- natural populations of the springtail, *Orchesella cincta* (L.), *Evolution*, 47, 619-631.
229. Posthuma, L., Vererij, R. A., Widianarko, B., Zonneveld, C., (1993b), Life history patterns in metal-adapted Collembola, *Oikos*, 67, 235-249.
 230. Posthuma, L., Janssen, G. M., (1995), Genetic variation for life-history characteristics in *Orchesella cincta* (L.) in relation to evolutionary responses to metal soils., *Acta Zool. Fenn.*, 196, 301-306.
 231. Postma, J. F., Davids, C., (1995), Tolerance induction and life-cycle changes in cadmium exposed *Chironomus riparius* (Diptera) during consecutive generations. *Ecotox. Environ. Safe.* 30, 195-202.
 232. Price, T., Schluter, D., (1991), On the low heritability of life- history traits, *Evolution*, 45, 853- 861.
 233. Pritstos, C. A., Ahmad, S., Bowen, S. M., Blomquist, G. J., and Pardini, R. S., (1988), Antioxidant enzyme activities in the southern army worm *Spodoptera eridania*, *Comparative Biochemistry and Physiology*, 90C, 423-427.
 234. Prout, T., Barker, J. S. F., (1989), Ecological aspects of the heritability of body size in *Drosophila buzzatii*, *Genetics*, 123, 803-813.
 235. Rawson, P. D., Hilbish, T. J., (1991), Genotype-environment interaction for juvenile growth in the hard clam *Mercenaria mercenaria* (L.), *Evolution*, 45, 1924-35.
 236. Rehfeldt, G., Wykoff, W. R., Ying, C. C., (2001), Physiological plasticity, evolution, and impacts of a changing climate on *Pinus contorta*, *Climatic Change*, 50, 355- 376.
 237. Ren, X. Y., Zhou, Y., Zhang, J. P., Feng, W. H., Jiao, B. H., (2003), Metallothionein gene expression under different time in testicular Sertoli and spermatogenic cells of rats treated with cadmium, *Reproductive Toxicology*, 17: 219-227.
 238. Reuss, L., Wills, N. K., Lewis, S. A., (1996), Epithelial transport proteins, In: Wills, S. A., Reuss, L., Lewis, S. A., (eds.) *Epithelial transport: a guide to methods and experimental analysis*. Chapman & Hall, London.

239. Reznick, D. N., (1985), Costs of reproduction: an evaluation of the empirical evidence, *Oikos*, 44, 257- 267.
240. Reznick, D., Nunney, L. and Tessier, A. (2000) Big houses, big cars, superfleas and the cost of reproduction. *Trends Ecol. Evol.*, 15, 421-425.
241. Roelofs, D., Marien, J., van Straalen, N. M., (2007), Differential gene expression profiles associated with heavy metal tolerance in the soil insect *Orchesella cincta*, *Insect Biochemistry and Molecular Biology*, 37: 287-295.
242. Roff, D. A., (2002), *Life History Evolution*, Sinauer Associates, Sunderland, MA, USA.
243. Rose, M.R., (1983), Further models of selection with antagonistic pleiotropy, 47-53. In: *Population Biology*, ed. by H.I. Freedman and C. Strobeck, Springer-Verlag.
244. Rose, M. R., Vu, L. N., Park, S. U., (1992), Selection on stress resistance increases longevity in *Drosophila melanogaster*, *Exp. Gerontol.*, 27, 241-250.
245. Saint-Denis, M., Narbonne, J. F., Arnaud, C., Ribera, D., (2001), Biochemical responses of the earthworm *Eisenia fetida andrei* exposed to contaminated artificial soil: effects of lead acetate, *Soil Biol. Biochem.*, 33, 395–404.
246. Sangster, T. A., Salathia, N., Lee, H. N., Watanabe, E., Schellenberg, K., Morneau, K., Wang, H., Undurranga, S., Queitsch, C., Lindquist, S., (2008), HSP90 affects the expression of genetic variation and developmental stability in quantitative traits, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 105, 2963-2968.
247. Santos, M., Ruiz, A., Barbadilla, A., Quezada- Diaz, J. E., Hasson, E., Fontdevila, A., (1988), The evolutionary history of *Drosophila buzati*, XIV, Larger flies mate more often in nature, *Heredity*, 61, 255- 262.
248. Sarkar, S., Yadav, P., Bhatnager, D., (1998), Lipid peroxidative damage on cadmium exposure and alterations in antioxidant system in rat erythrocytes: a study with relation to time, *Biometals*, 11, 153-157.
249. SAS 9.1.3. Service Pack 4, (2002-2003), SAS Institute Inc, Covy, NC, USA.
250. Scheiner, S. M., Lyman, R., (1989), The genetics of phenotypic plasticity I, Heritability, *J. Evol. Biol.*, 2, 95- 107.

251. Scheiner, S. M., Lyman, R., (1991), The genetics of phenotypic plasticity II, Response to selection, *J. Evol. Biol.*, 4, 23- 50.
252. Scheiner, S. M., (1993), Genetics and evolution of phenotypic plasticity, *Annu. Rev. Ecol. Syst.*, 24, 35–68.
253. Schickler, H., Caspi, H., (1999), Response of antioxidative enzymes to nickel and cadmium stress in hyperaccumulator plants of the genus *Alyssum*, *Physiologia plantarum*, 105: 39-44.
254. Schlichting, C. D., (1986), The evolution of phenotypic plasticity in plants, *Annu. Rev. Ecol. Syst.*, 17, 667–693.
255. Schmidt, G. H., Ibrahim, N. M. M., Abdallah, M. D., (1991), Toxicological studies on the long-term effects of heavy metals (Hg, Cd, Pb) in soil on the development of *Aiolopus thalassinus* (Fabr.)(Saltatoria: Acrididae), *Archives of Environment*, 107, 109-134.
256. Schneider, J. R., Chadee, D. D., Mori, A., Romero-Severson, J., Severson, D. W., (2011), Heritability and adaptive phenotypic plasticity of adult body size in the mosquito *Aedes aegypti* with implications for dengue vector competence, *Infection, Genetics and Evolution*, 11, 11- 16.
257. Schoenmakers, T. J., Klaren, P. H., Flik, G., et al. (1992), Actions of cadmium on basolateral plasma membrane proteins involved in calcium uptake by fish intestine, *Journal of Membrane Biology*, 127: 161-172.
258. Shacter, E., (2000), Quantification and significance of protein oxidation in biological samples, *Drug Metabolism Reviews*, 32(3&4): 307-326.
259. Shaw, J., (1988), Genetic variation for tolerance to copper and zinc within and among populations of the moss, *Funaria hygrometrica*, Hedw. *New Phytol.*, 109, 211-222.
260. Shiller, A. M., and Boyle, E. A., (1987), Variability of dissolved trace metals in the Mississippi River, *Geochimie and Cosmochimie Acta*, 51: 3273-3277.
261. Shimoda, R., Nagamine, T., Takagi, H., Mori, M., Waalkes, M. P., (2001), Induction of apoptosis in cells by cadmium: quantitative negative correlation between basal or induced metallothionein concentration and apoptotic rate, *Toxicology Science*, 64: 208-215.

262. Shin, B. S., Choi, R. N., Lee, C. U., (2001), Effects of cadmium on total lipid content and fatty acids of the greater wax moth, *Galleria mellonella*, Korean Journal of Ecology, 24, 349- 352.
263. Shirley, M. D., Sibly, R. M., (1999), Genetic basis of a between- environment trade-off involving resistance to cadmium in *Drosophila melanogaster*, Evolution, 53, 826- 836.
264. Sibly, R. M., Calow, P., (1989), A life-cycle theory of responses to stress, Biol. J. Linn. Soc., 37, 101-116.
265. Sies, H., (1991), Oxidative stress: Oxidants and Antioxidants, Academic Press, New York.
266. Sildanchandra, W., Crane, M., (2000), Influence of sexual dimorphism in *Chironomus riparius* Meigen on toxic effects of cadmium, Environ. Toxicol. Chem. 19, 2309–2313.
267. De Simplicio, P., Cacace, M. G., Lusini, L., Giannerinni, F., (1998), Role of Protein –SH Groups in Redox Homeostasis- The Erythrocyte as a Model System, Archives of Biochemistry and Biophysics, 355 (2), 145- 152.
268. Singhal, R. K., Anderson, M. E., Meister, A., (1987), Glutathione, a first line of defence against cadmium toxicity, FASEB Journal, 1: 220-223.
269. Sobkoviak, R., Deckert, J., (2006), Proteins induced by cadmium in soyabean cells, J. Plant Physiol., 163, 1203- 1206.
270. Sokal, R. R. and Rohlf, F. J. (1981) Biometry. Freeman, San Francisco.
271. Sorensen, J. G., Kristensen, T. N., Loeschecke, V., (2003), The evolutionary and ecological role of heat shock proteins, Ecology Letters, 6:
272. Sorensen, J. S., McLister, J. D. and Dearing, D. M. (2005) Novel plant secondary metabolites impact dietary specialist more than generalist (*Neotema* spp.). *Ecology*, 86, 140-154.
273. Spitze, K., (1991), Chaeborus predation and life- history evolution in *Daphnia pulex* temporal pattern of population diversity, fitness, and mean life history, Evolution, 45, 82- 92.

274. Stearns, S., de Jong, G., Newman, B., (1991), The effects of phenotypic plasticity on genetic correlations, *Trends Ecol. Evol.*, 6, 122–126.
275. Stearns, S. C., (1992), *The Evolution of Life Histories*. Oxford University Press, Oxford.
276. Sterenborg, I., Roelofs, D., (2003), Field-selected cadmium tolerance in the springtail *Orchesella cincta* is correlated with increased metallothionein m RNA expression, *Insect Biochemistry and Molecular Biology*, 33: 741-747.
277. Steyermark, A. C., Miamen, A. G., Feghahati, H. S., Lewno, A. W., (2005), Physiological and morphological correlates of among- individual variation in standard metabolic rate in the leopard frog *Rana pipens*, *Journal of Experimental Biology*, 208, 1201- 1208.
278. Stillwell, R. C., Blanckenhorn, W. U., Teder, T., Davidowitz, G., Fox, C. W., (2010), Sex differences in phenotypic plasticity affect variation in sexual size dimorphism in insects: from physiology to evolution, *Ann. Rev. Entomol.*, 55, 227- 245.
279. Van Straalen, N. M., Hoffman, A. A., (2000), Review of experimental evidence for physiological costs of tolerance to toxicants. In: *Demography in Ecotoxicology* (J. Kammenga and R. Laskowski, eds.), 147- 161. John Wiley and Sons Ltd., Chichester, UK.
280. Van Straalen, N. M., Timmermans, J. T. N., (2002), Genetic variation in toxicant-stressed populations: an evaluation of the „genetic erosion“ hypothesis. *Hum. Ecol. Risk Assessment*, 8, 983- 1002.
281. Stojković B., Tucić N., (2012), Od molekula do organizma: molekularna i fenotipska evolucija, *Službeni glasnik*, Beograd.
282. Stone, D., Jepson, P., Laskowski, R., (2002), Trends in detoxification enzymes and heavy metals accumulation in ground beetles (Coleoptera, Carabidae) inhabiting a gradient of pollution, *Comp. Biochem. Physiol. C*, 132, 105–112.
283. Tammaru, T., (1998), Determination of adult size in a folivorous moth: constraints at instar level?, *Ecol. Entomol.*, 23, 80- 89.

284. Tammaru, T., Ruhomaki, K., Montola, M., (2000), Crowding induced plasticity in *Epirrita autumnata* (Lepidoptera: Geometridae): weak evidence of specific modifications in reaction norms, *Oikos*, 90, 171- 181.
285. Tang, W., Shaikh, Z. A., (2001), Renal cortical mitochondrial dysfunction upon cadmium metallothionein administration to Sprague- Dawley rats, *Journal of Toxicology and Environmental Health*, A62, 221-235.
286. Tauber, C. A., Tauber, M. J., (1992), Phenotypic plasticity in *Chrysoperla*: genetic variation in the sensory mechanism and in correlated reproductive traits, *Evolution*, 46, 1754-1773.
287. Thompson, J. D. (1991) Phenotypic plasticity as a component of evolutionary change. *Trends Ecol. Evol.*, 6, 246-249.
288. Van Tienderen, P. H., (1991), Evolution of generalists and specialists in spatially heterogeneous environments, *Evolution*, 45, 1317–1331.
289. Toury, R., Biossanneau, E., Stelly, N., Dupuis, Y., Berville, A., Perasso, R., (1985), Mitochondria alternation in Cd treated rats: general regression of inner membrane cristae and electron transport impairment, *Biologie Cellulaire*, 55: 71-85.
290. Tranvik, L., Bengtsson, G., Rundgren, S., (1993), Relative abundance and resistance traits of two Collembola species under metal stress, *J. Appl. Ecol.*, 30, 43-52.
291. Uhl, G., Schmitt, S., Schafer, M. A., Blackenhorn, W., (2004), Food and sex-specific growth strategies in a spider, *Evol. Ecol. Res.*, 6, 523- 540.
292. Valladares, F., Dobarro, I., Sanchez- Gomez, D., Pearcy, R. W., (2005), Photoinhibition and drought in Mediterranean woody saplings: scaling effects and interactions in sun and shade phenotypes, *Journal of Experimental Botany*, 56, 483- 494.
293. Valladares, F., Sanchez- Gomez, D., Zavala, M. A., (2006), Quantitative estimation of phenotypic plasticity: bridging the gap between the evolutionary concept and its ecological applications, *Journal of Ecology*, 1103- 1116.

294. Vasconcelos, M. H., Tam, S. C., Hesketh, J. E., Reid, M., Beattie, J. H., (2002), Metal- and tissue-dependent relationship between metallothionein mRNA and protein, *Toxicology and Applied Pharmacology*, 182: 91-97.
295. Verbost, P. M., Flik, G., Lock, R. A. C., et al. (1987a), Cadmium inhibition of Ca^{2+} uptake in rainbow-trout gills, *American Journal of Physiology*, 253: R216-R221.
296. Verbost, P. M., Senden, M. H. M. N., Vanos, C. H., (1987b), Nanomolar concentrations of Cd^{2+} inhibit Ca^{2+} transport-systems in plasma membranes and intracellular Ca^{2+} stores in intestinal epithelium, *Biochimie and Biophysique Acta*, 902: 247-252.
297. Verbost, P. M., Flik, G., Lock, R. A., et al. (1988), Cadmium inhibits plasma membrane calcium transport, *Journal of Membrane Biology*, 102: 97-104.
298. Verbost P. M., Flik, G., Pang, P. K., et al., (1989), Cadmium inhibition of the erythrocyte Ca^{2+} pump. A molecular interpretation, *Journal of Biological Chemistry*, 264: 5613-5615.
299. Vlahović, M., Ilijin, L., Lazarević, J., (2001), Acute effect of cadmium on larval growth of *Lymantria dispar* L., *Ekologija*, 36 (2): 131-137.
300. Via, S., (1984), The Quantitative Genetics of Polyphagy in an Insect Herbivore. II. Genetic Correlations in Larval Performance Within and Among Host Plants. *Evolution*, 38, 896-905.
301. Via, S. and Lande, R., (1985), Genotype-environment interaction and the evolution of phenotypic plasticity. *Evolution*, 39, 505-522.
302. Via, S., Lande, R., (1987), Evolution of genetic variability in a spatially heterogeneous environment: effects of genotype–environment interaction, *Genet. Res.*, 49, 147–156.
303. Via, S., (1987), Genetic constraints on the evolution of phenotypic plasticity. In: *Genetic Constraints on Adaptive Evolution* (Ed by V. Loeschcke), Springer-Verlag, Berlin, 47-71.

304. Via, S., (1990), Ecological genetics and host adaptation in herbivorous insects: the experimental study of evolution in natural and agricultural systems, *Annu. Rev. Entomol.*, 35, 421- 446.
305. Via, S., (1994), The evolution of phenotypic plasticity: What do we really know? In *Ecological Genetics*, ed. LA Real, 35- 57, Princeton: Princeton, University Press.
306. Via, S., Gomulkiewicz, R., de Jong, G., Scheiner, S. M., Schlichting, C. D., van Tienderen, P. H., (1995), Adaptive phenotypic plasticity: consensus and controversy, *Trends Ecol. Evol.*, 10, 212–217.
307. Vieira, C., Pasyukova, E. G., Zeng, Z. B., Hackett, J. B., Lyman, R. F., Mackay, T. F. C., (2000), Genotype- environment interaction for quantitative trait loci affecting life span in *Drosophila melanogaster*, *Genetics*, 154, 213- 227.
308. Vlahović, M., Lazarević, J., Perić-Mataruga, V., Ilijin, L. and Mrdaković, M. (2009) Plastic responses of larval mass and alkaline phosphatase to cadmium in the gypsy moth larvae. *Ecotox. Environ. Safety*, 72, 1148-1155.
309. Vlahović, M., Perić-Mataruga, V., Ilijin, L., Mrdaković, M., Mirčić, D., Todorović, D., Lazarević, J., (2012), Changes in activity of nonspecific esterases in cadmium treated *Lymantria dispar* larvae, *Ecotoxicol.*, 21, 370–378.
310. Vlahović, M., Ilijin, L., Matić, D., Lazarević, J., Nenadović, V., Perić- Mataruga, V., Mrdaković, M., (2013), Cadmium effects on the ratio of activities of lysosomal and total acid phosphatases (ACP_{LYS}/ ACP_{TOT}) in *Lymantria dispar* larvae, *Arch. Biol. Sci.*, 65 (1), 345- 352.
311. Vuori, K.- M., (1994), Rapid behavioural and morphological responses of hydropsychid larvae (Trichoptera, Hydropsychidae) to sublethal cadmium exposure, *Environ. Pollut.*, 84, 291- 299.
312. Waddington, C. H. (1961) Genetic assimilation. *Adv. Genet.*, 10, 257-290.
313. Waisberg, M., Joseph, P., Hale, B., Beyersmann, D., (2003), Molecular and cellular mechanisms of cadmium carcinogenesis, *Toxicology*, 192: 95-117.

314. Wang, H., Cutler, A. J., (1995), Promoters from *kin1* and *cor6.6*, two *Arabidopsis thaliana* low-temperature- and ABA-inducible genes, direct strong beta-glucuronidase expression in guard cells, pollen and young developing seeds, *Plant Mol. Biol.*, 28, 619–634.
315. Wang, H., Wang, H., Wen, C., Chang, X., Duan, C., (2002), Some detoxication mechanisms of different wheat varieties under cadmium treatment, *Acta Sci. Circumstantiae*, 22 (4), 523- 528.
316. Wang, Y., Fang, J., Leonard, S. S., Rao, K. M., (2004), Cadmium inhibits the electron transfer chain and induces reactive oxygen species, *Free Radic. Biol. Med.*, 36, 1434–1443.
317. Warchalowska-Sliva, E., Niklinska, M., Gorlich, A., Michailova, P., Pyza, E., (2005), Heavy metal accumulation, heat shock protein expression and cytogenetic changes in *Tetrix tenuicornis* (L.) (Tetrigradae, Orthoptera) from polluted areas, *Environmental Pollution*, 133, 373-381.
318. Wermelinger B. & Baumann R., (1998) Effects of various host trees on the biology of the gypsy moth (*Lymantria dispar* L.). WSE Zoology: poster publication.
319. West-Eberhard, M. J., (1989), Phenotypic plasticity and the origins of diversity, *Annu. Rev. Ecol. Syst.*, 20, 249–278.
320. Widdows, J., Donkin, P., (1992), Mussels and environmental contaminants: bioaccumulation and physiological aspects. In: Gosling, E., editor, *The Mussel Mytilus, Ecology, Physiology, Genetics and Culture*, 1st ed., London, Elsevier, 383- 424.
321. Wilczek, G., Babczynska, A., Augustyniak, M., Migula, P., (2004), Relations between metals (Zn, Pb, Cd, and Cu) and glutathione- dependent detoxifying enzymes in spiders from a heavy metal pollution gradient, *Environ. Pollut.*, 132, 453–461.
322. Williams, D. W., Liebhold, A. M., (1995), Herbivorous insect and global change: potential change in the spatial distribution of forest defoliator outbreaks, *J. Biogeogr.*, 22, 665-671.

323. Wilson, D. N., (1988), Cadmium – market trends and influences. In: Cadmium 87. Proceedings of the 6th International Cadmium Conference, London, Cadmium Association, 9-16.
324. Windig, J. J., (1994), Genetic correlations and reaction norms in wing pattern in tropical butterfly *Bicyclus anynana*, *Heredity*, 73, 459- 470.
325. DeWitt, T. J., Sih, A. and Wilson, D. S. (1998) Costs and limits of phenotypic plasticity. *Trends Ecol. Evol.*, 13, 77-81.
326. DeWitt, T. J. and Scheiner, S. M. (2004) Phenotypic plasticity. Functional and Conceptual Approaches. (Ed by T. J. DeWitt and S. M. Scheiner), Oxford University Press, Oxford.
327. Wu, G. X., Ye, G. Y., Hu, C., Cheng, J. A., (2006), Accumulation of cadmium and its effects on growth, development and hemolymph biochemical compositions in *Boettcherisca peregrina* larvae (Diptera: Sarcophagidae), *Insect Sci.*, 13, 31–39.
328. Xu, W. H., Rinehart, J. P., Denlinger, D. L., (2003), Structural characterization and expression analysis of prothoracicotropic hormone in the corn earworm, *Helicoverpa zea*, *Peptides*, 24, 1319–1325.
329. Yeats, P. A., and Bewers, J. M., (1987), Evidence for anthropogenic modification of global transport of cadmium. In Cadmium in the aquatic environment. Edited by J. O. Nriagu and J. B. Sprague. John Willey & Sons, New York, 19-34.
330. Zaman, K., MacGill, R. S., Johnson, J. E., Ahmad, S., Pardini, R. S., (1994), An insect model for assessing mercury toxicity: effect of mercury on antioxidant enzyme activities of the housefly (*Musca domestica*) and the cabbage looper moth (*Trichoplusia ni*), *Arch. Environ. Contam. Toxicol.*, 26, 114- 118.
331. Zaman, K., MacGill, R. S., Johnson, J. E., Ahmad, S., Pardini, R. S., (1995), An insect model for assessing oxidative stress related to arsenic toxicity, *Arch. Insect Biochem. Physiol.*, 29, 199- 209.

BIOGRAFIJA AUTORA

Dejan Mirčić je rođen 16. septembra 1978. godine u Paraćinu. Osnovnu školu i Gimnaziju prirodno-matematičkog smera završio je sa odličnim uspehom. Biološki fakultet Univerziteta u Beogradu upisao je školske 1997/98 godine na odseku za biologiju, a diplomirao 21.06. 2004. godine. Diplomski rad je nosio naziv „Citogenetika akutnih mijeloidnih leukemija“ i urađen je u Kliničkom centru Srbije, u laboratoriji za citogenetiku Instituta za hematologiju. Magistarske studije je upisao školske 2004/05 godine a doktorske studije po Bolonjskom sistemu školske 2006/07 godine.

U zvanje istraživač pripravnik na Odeljenju za biohemiju i fiziologiju insekata na Institutu za biološka istraživanja „Siniša Stanković“ izabran je januara 2005. godine a u zvanje istraživača saradnika 2007. godine. U isto zvanje reizabran je 2010. godine kada je izabran i u zvanje asistenta na Departmanu za biomedicinske nauke (Studijski program Biologija) na Državnog Univerziteta u Novom Pazaru.

Tokom rada na Institutu za biološka istraživanja „Siniša Stanković“ Univerziteta u Beogradu i Državnom Univerzitetu u Novom Pazaru učestvovao je u realizaciji tri naučna projekta finansiranih od strane Ministarstva prosvete, nauke i tehnološkog razvoja Republike Srbije (No.1615, 143033, 173027). Do sada je objavio 15 naučnih radova kao autor i koautor u vrhunskim međunarodnim, međunarodnim i domaćim časopisima, i 10 saopštenja na međunarodnim i domaćim kongresima. Učestvovao je u realizaciji 10 završnih radova na osnovnim studijama u okviru studijskog programa Biologija na Departmanu za biomedicinske nauke Državnog Univerziteta u Novom Pazaru. Član je Srpskog biološkog društva i Društva genetičara Srbije.

PRILOZI DOKTORSKOJ DISERTACIJI

Прилог 1.

Изјава о ауторству

Потписани-а: Дејан Љ. Мирчић

број индекса GC060096

Изјављујем

да је докторска дисертација под насловом:

„Утицај кадмијума на систем антиоксидативне заштите и варијабилност компоненти адаптивне вредности губара *Lymantria dispar* L.“

- 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, 25.05.2013. године

Прилог 2.

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

Име и презиме аутора: Дејан Љ. Мирчић

Број индекса: GC060096

Студијски програм: Биологија

Наслов рада: „Утицај кадмијума на систем антиоксидативне
заштите и варијабилност компоненти адаптивне
вредности губара *Lymantria dispar* L.“

Ментор: Др Јелица Лазаревић

Потписани/а: Дејан Љ. Мирчић

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, 25.05.2013. године

Прилог 3.

Изјава о коришћењу

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

„Утицај кадмијума на систем антиоксидативне заштите и варијабилност

компоненти адаптивне вредности губара *Lymantria dispar* L.“

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, 25.05.2013. године

1. Ауторство - Дозвољавање умножавања, 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. Дозвољавање умножавања, 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. Дозвољавање умножавања, 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. Дозвољавање умножавања, 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. Дозвољавање умножавања, 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. Дозвољавање умножавања, 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.