

Mračna strana evolucije - kako evoluiraju špiljske životinje

Marković, Eva

Undergraduate thesis / Završni rad

2021

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

Permanent link / Trajna poveznica: <https://um.nsk.hr/um:nbn:hr:217:995693>

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

Download date / Datum preuzimanja: **2024-07-23**



Repository / Repozitorij:

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



Sveučilište u Zagrebu
Prirodoslovno-matematički fakultet
Biološki odsjek

Eva Marković

**Mračna strana evolucije – kako evoluiraju
špiljske životinje**

**The dark side of evolution – how cave
animals evolve**

Završni rad

Zagreb, 2021.

Ovaj rad je izrađen na Zoologijskom zavodu Prirodoslovno-matematičkog fakulteta u Zagrebu,
pod voditeljstvom izv. prof. dr. sc. Anamarije Štambuk

Sadržaj

1. Uvod	1
2. Život u špiljama	2
2.1. Fizikalni i kemijski čimbenici koji uspostavljaju specifičan špiljski okoliš	2
2.2. Direktna utjecaj špiljskih uvjeta na život špiljskih organizama	3
3. Troglomorfizam	3
3.1. Morfološke adaptacije	4
3.2. Fiziološke adaptacije	5
3.3. Adaptacije ponašanja	5
3.4. Specijalne adaptacije	6
4. Proces koji pokreću evoluciju špiljskih životinja	6
4.1. Djelovanje prirodne selekcije	7
4.2. <i>De novo</i> mutacije ili postojeća genetska varijacija (polimorfizam populacije)	7
5. Fenotipska plastičnost i genetska asimilacija	8
5.1. Istraživanje provedeno na meksičkoj tetri, <i>Astyanax mexicanus</i>	8
5.2. Potencijalna važnost fenotipske plastičnosti i genetske asimilacije u kolonizaciji špilja	9
5.3. Mehanizam fenotipske plastičnosti	10
5.4. Mehanizam genetske asimilacije	11
6. Albinizam – kako i zašto	11
6.1. Put sinteze melanina	12
6.2. Prekid sinteze melanina pokazuje konvergenciju među različitim skupinama	13
6.3. Melanin i imunitet	13
6.4. Koristi albinizma	14
7. Gubitak vida i očiju – kako i zašto	16
7.1. Razvoj i degeneracija očiju	16
7.2. Utjecaj promjene ekspresije <i>shh</i>	18
7.3. Metilacija DNA kao mehanizam promjene ekspresije gena	19
8. Zaključak	20
9. Literatura	22
10. Sažetak	33
11. Summary	33
12. Životopis	34

1. Uvod

Zanimanje za špiljski svijet potaknuto je Darwinovim djelom „Podrijetlo vrsta“ u kojem donosi pretpostavke zašto špiljske životinje nemaju oči (Darwin, 1872). No, početak same špiljske ekologije bio je 1907. godine kada je Racovitza objavio “Essai sur les problèmes biospéologiques” („Esej o biospeleološkim problemima“) postavljajući osnove ove znanosti i definirajući osnovne pojmove. Proučavanje špilja i njihovih stanovnika uzelo je maha u 60-im godinama prošlog stoljeća te se intenzivno nastavlja istraživati i danas (Moldovan i sur., 2018). Špiljski je okoliš izrazito stresan za organizme zbog okolišnih uvjeta koje postavlja kao što su konstantni mrak, manjak hrane i visoka vlažnost zraka (Howarth i Moldovan, 2018). No, usprkos tome, postoje brojni organizmi koji su uspjeli nastaniti špilje te stekli brojne prilagodbe koje omogućavaju uspješan život u takvome okolišu (Krishnan i Rohner, 2016). Organizmi koji žive u špiljama nazivaju se troglobiontima te spadaju u različite skupine životinja – različiti člankonošci (brojni rakovi, insekti i paučnjaci), oblići, mekušci, i kralježnjaci, poput raznih riba i vodozemaca (Culver, 2009). Jedan od najistaknutijih modela na kojima se provode istraživanja je mala meksička tetra, *Astyanax mexicanus*, koja ima vanjski oblik (ribe koje žive van špilja) te 29 poznatih špiljskih oblika (Protas i Jeffery, 2012). Kao model za beskralježnjake odabran je račić *Asellus aquaticus* koji također ima vanjske i špiljske oblike (Protas i Jeffery, 2012). Špiljski organizmi posjeduju brojne adaptacije nastale konvergentnom evolucijom koje se objedinjuju pod pojmom troglomorfizma (Culver i Pipan, 2015; Fišer, 2019). Neke od najznačajnijih troglomorfničkih karakteristika su gubitak očiju i pigmenta (Culver i Pipan, 2009). Uspoređujući vanjske oblike modelnih organizama sa špiljskim oblicima moguće je pratiti evoluciju i nastanak troglomorfničkih obilježja te razumjeti zašto je do njih došlo i koji se mehanizmi nalaze u podlozi tih procesa (Protas i Jeffery, 2012). Proučavanjem špiljskih organizama moguće je doći do saznanja o djelovanju evolucijskih mehanizama općenito (Protas, Trontelj i Patel 2011) s obzirom na to da špilje predstavljaju jedinstven sustav gdje je moguće pratiti evoluciju organizama od „početka“ (vanjski oblici organizama) do „kraja“ (špiljski oblici organizama) (Protas i Jeffery, 2012). Tako ovaj sustav omogućava proučavanje djelovanja prirodne selekcije, *de novo* mutacija, epigenetske regulacije, genetskih polimorfizama te važnost fenotipske plastičnosti u prvotnoj kolonizaciji špilja nakon koje slijedi genetska asimilacija. Ovaj seminarski rad pokušava dati cjelovitu sliku o životu u špiljama, uvjetima špiljskog okoliša i direktan utjecaj tih uvjeta na razvoj adaptacija špiljskog okoliša kao i mehanizme koji pokreću takvu evoluciju. U prvi plan se stavljaju tipična troglomorfna obilježja kao što su gubitak očiju i albinizam, koji služe kao modeli za proučavanje složenih mehanizama koji dovode do njihova razvitka. Cilj ovog rada nije samo opisati život u špilji, već dati pregled o mehanizmima i procesima koji se mogu primjenjivati u proučavanju evolucije općenito te dati sliku o sposobnosti organizama za brzu prilagodbu na ekstremne uvjete.

2. Život u špiljama

Za razumijevanje evolucije špiljskih životinja nužno je razmotriti uvjete u kojima žive. Količina svjetlosti, temperatura, količina hrane i ostali ekološki faktori, usmjerivači su evolucijskih procesa koji dovode do specifičnih karakteristika špiljske faune (koje će biti opisane u sljedećim poglavljima). Špilje su prirodni otvori, podzemne praznine nastale u stijenama brojnim procesima kao što je kemijsko otapanje stijena (Lauritzen, 2018; White i Culver, 2012). Najčešće se formiraju u vapnenačkim stijenama, dolomitu ili očvrstnutoj lavi (Moldovan i sur., 2018). Špilje osiguravaju izrazito dugotrajna staništa jer ne nestaju do kad ne nestanu i stijene koje ih okružuju. Iako se međusobno jako razlikuju izgledom, sve špilje dijele određene karakteristike koje se tiču okolišnih uvjeta. Jedna od primarnih karakteristika je mrak, odnosno nedostatak svjetla koji se postupno povećava odmicanjem od ulaza u špilju, zatim relativno stabilni temperaturni uvjeti, visoka vlažnost, ali i složena geometrija same unutrašnjosti špilje (Lauritzen, 2018).

2.1. Fizikalni i kemijski čimbenici koji uspostavljaju specifičan špiljski okoliš

Temperaturne varijacije unutar špilje uvelike su oslabljene u usporedbi sa sezonskim varijacijama (Cigna, 2002), a ovisno o ventilaciji i otvorima špilje postižu temperature jednake ili nešto niže od prosječnih sezonskih temperatura (Wigley i Brown, 1971, 1976). Što se tiče temperature vode unutar špilja, ona je također stabilna te u ravnoteži s temperaturom atmosfere (temperatura vode može biti maksimalno 1°C niža od temperature atmosfere) (Camacho, 1992). Kao što o vanjskim uvjetima i ventilaciji ovisi temperatura, tako i vlažnost špilje ovisi o vlažnosti vanjskog okoliša i prozračenosti (ventilaciji) same špilje. Stopostotna vlažnost se u pravilu ne postiže ljeti, no moguće ju je postići u ostatku godine (Lauritzen, 2018). Bitno je istaknuti da pH vrijednost špiljskih voda ovisi o količini i vrsti otopljenih tvari, što pak ovisi o sastavu stijena u špilji, kao i o ravnoteži CO₂ u vodi i atmosferi (Atkinson, 1977; Lauritzen, 2018). Iako se vrijednosti pH u većini slučajeva zadržavaju oko pH = 7 do pH = 9, (Lauritzen, 2018), u ekstremnim slučajevima, zahvaljujući određenim otopljenim tvarima kao što su sulfidi, silikati ili gips, vrijednosti pH mogu dostići ekstreme, čak i vrijednosti oko pH = 1 i pH = 2 u slučaju prisutnosti jarosita ili kopia-pita (White, 1997). Osim ekstremno kiselih uvjeta, špiljske vode mogu sadržavati visoke koncentracije toksičnih metala kao što su olovo, živa i cink čiji se ioni otpuštaju oksidacijom sulfida (Macalady i sur., 2007). Ovakvi ekstremni uvjeti mogu stvarati izraziti selektivni pritisak i dovesti organizme do razvoja tolerancije prema niskim razinama pH vrijednosti i visokim koncentracijama teških metala. Što se tiče vodenog okoliša bitno je napomenuti da on uvelike ovisi o brzini toka vode i vodostaju koji mogu varirati ovisno o tome u kolikom su kontaktu s vanjskim vodama. Intenzivniji tok vode donosi više nutrijenata, ali remeti stabilnost vodenog okoliša, dok su količine otopljenog kisika u vodi uglavnom niske (Lauritzen, 2018).

2.2. Direktni utjecaj špiljskih uvjeta na život špiljskih organizama

Uvjeti u špiljama su vrlo striktni i s malim varijacijama, a katkad mogu biti i vrlo ekstremni. Ovakav okoliš izrazito je stresan i nepristupačan za većinu organizama koji žive izvan špilja. Organizmi koji odolijevaju ovakvim uvjetima izrazito su specijalizirani te samo mali broj vrsta uspijeva kolonizirati ovakva staništa kroz određeni period evolucije, a predci uspostavljenih špiljskih vrsta najčešće već i jesu imali određene predadaptacije, to jest bili prilagođeni životu u mračnim i vlažnim staništima. S obzirom na nepristupačne uvjete i općenito malu gustoću organizama, pronalazak hrane i partnera za razmnožavanje još su dva velika problema s kojima se organizmi u špiljama susreću. Najveći utjecaj na život u špiljama predstavlja mrak. Nedostatak svjetlosti utječe na gotovo sve aspekte života špiljskih organizama što je usko povezano s gore navedenim problemom pronalaska hrane i partnera (Howarth i Moldovan, 2018). Zbog nedostatka svjetlosti u špiljama, osim na samim ulazima, ne obitavaju primarni proizvođači, a sukladno tome niti herbivori. Iznimka su jedino herbivori koji se hrane korijenjem biljaka koje može prodirati u podzemne okoliše (Howarth, 1983). U ovom stresnom i mračnom okolišu prevladavaju predatori i detritivori koji preživljavaju usprkos selektivnim pritiscima malih količina hrane (Howarth i Moldovan, 2018).

3. Troglomorfizam

Pojam troglomorfizma neizostavan je u opisivanju špiljskih životinja. Prvi ga je upotrijebio speleobiolog Kenneth A. Christiansen (Fišer, 2019) kako bi objedinio konvergentne karakteristike uočene u špiljskih vrsta (Culver i Pipan, 2015; Fišer, 2019). Na troglomorfizam se nadovezuje niz drugih pojmova (definiranih u *Tablici 1*) koji opisuju životinje koje žive u špiljskim, podzemnim staništima ili su na neki način povezane s njima. Karakteristike objedinjene pod pojmom troglomorfizma mogu se podijeliti u nekoliko skupina, a to su morfološke adaptacije, fiziološke adaptacije, adaptacije ponašanja i dodatne specijalne adaptacije. Ove karakteristike rezultat su konvergentne evolucije (Derkarabetian i sur., 2010), ponajviše usmjeravane selektivnim pritiskom nedostatka svjetlosti (Derkarabetian i sur., 2010; Culver i sur., 2010), ali i ostalim špiljskim uvjetima kao nedostatak hrane (Culver i Pipan, 2015). Pod okolišnim pritiscima dolazi do regresije određenih svojstava, pa čak i do potpunog nestanka nekih (primjerice gubitak očiju), ali istovremeno i do hipertrofije drugih svojstava (primjerice izduživanje ticala). Prema tome se troglomorfne karakteristike dijele na regresivne i konstruktivne (Fišer, 2019).

Iako je troglomorfizam centralni pojam u opisivanju troglofaune i stigofaune, bitno je napomenuti da troglomorfna obilježja nisu prisutna u svih špiljskih životinja, a nisu ni isključivo karakteristika špiljskih vrsta. U špiljama se mogu pronaći vrste bez troglomorfni obilježja za koje se može pretpostaviti da su relativno nedavno kolonizirale špilje, odnosno njihov period boravka u špilji nije bio dovoljan kako bi se mogla razviti i uočiti tipična svojstva troglomorfizma. S druge strane, moguće je da životinje koje žive izvan

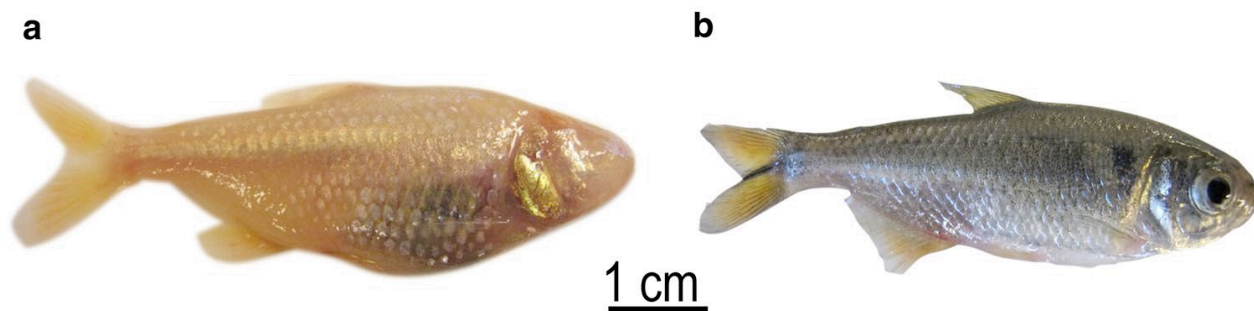
špilje imaju obilježja troglomorfizma koja su razvijena kao odgovor na stanište koje dijeli određene karakteristike sa špiljskim staništem (Fišer, 2019).

Tablica 1: Pojmovi i definicije vezane uz troglomorfizam kao bitno obilježje špiljskih životinja (Moldovan, Kováč i Halse, 2018)

Pojam	Definicija
Troglomorfizam (troglobiomorfizam)	Morfološke adaptacije životinje, kao što su gubitak pigmenta, gubitak očiju ili sljepoća, izduženo tijelo i tjelesni nastavci itd.
Troglobiont	Životinja koja živi isključivo u kopnenom podzemnom staništu.
Troglofil	Životinje koja živi i u podzemnom i nadzemnom kopnenom staništu.
Trogloksen	Životinja koja rijetko ulazi u špiljska kopnena staništa, slučajno ili u potrazi za skloništem u kratkim vremenskim periodima.
Troglofauna	Skupni naziv za sve kopnene životinje koje žive u podzemnim staništima i povezanim staništima.
Stigobiont	Životinja koja živi u podzemnim vodama.
Stigofil	Životinja koja živi i u podzemnom i nadzemnim vodama.
Stigoksen	Životinja koja rijetko ulazi u špiljska vodena staništa, slučajno ili u potrazi za skloništem u kratkim vremenskim periodima.
Stigofauna	Skupni naziv za sve životinje koje žive u podzemnim vodama i povezanim staništima.

3.1. Morfološke adaptacije

Nedostatak pigmenta, odnosno albinizam, karakteristika je brojnih špiljskih životinja, posebice stigobionata (*Slika 1*). Kod kralježnjaka se često može uočiti gubitak pigmenta prelaskom u odraslu fazu života (Durand, 1983), dok je kod nekih beskralježnjaka čak uočen povratak pigmenta nakon izlaganja UV zračenju (Ginet i Decou, 1977). Špiljske su životinje, naravno, mnogo osjetljivije na UV zračenje i mutacije koje ono izaziva u usporedbi sa životinjama koje žive izložene vanjskoj svjetlosti (Langecker, 2000). Druga adaptacija direktno povezana s nedostatkom svjetlosti jest gubitak vida pa tako i očiju (iako se ostaci očiju još mogu pronaći u nekih vrsta) jer u ovakvom okolišu vid predstavlja uzaludno trošenje energije protiv čega djeluje intenzivna selekcija (Moran, Softley i Warrant, 2015). S druge strane, ostala osjetila kompenziraju za nedostatak vida, pa tako primjerice ribe iz roda *Astyanax* imaju više okusnih pupoljaka (Yamamoto i sur., 2009). Uočena su i pojačana osjetila dodira i mirisa (Langecker, 2000) te modificirani mehanoreceptori i elektroreceptori (Schlegel i Bulog, 1997) kao kompenzacije kod određenih vrsta. Također, kod kopnenih vrsta zamijećeno je i izduživanje ticala kako bi se povećala njihova površina te tako akomodirala veći broj receptora, a osim ticala uočeno je i općenito izduživanje tijela i nogu (Moldovan i sur. 2004). Kod kopnenih člankonožaca dolazi i do stanjivanja kutikule te degeneracije krila kod onih koji ih imaju (Howarth i Moldovan, 2018). Ginet i Decou (1977) uočili su još jednu zanimljivost – u vodenim mikrostaništima dolazi jake selekcije veličine tijela što dovodi do pojave gigantizma i patuljastosti.



Slika 1: *Astyanax mexicanus*, čest model za proučavanje troglomorfnih karakteristika i evolucije špiljskih životinja. (A) *Astyanax mexicanus* – populacija koja nastanjuje špiljski okoliš. Jasno su vidljiva troglomorfnja obilježja – gubitak pigmenta i očiju. (B) *Astyanax mexicanus* – populacija koja nastanjuje vanjski okoliš. Preuzeto iz Beale, Whitmore i Moran (2016)

3.2. Fiziološke adaptacije

Smanjene količine hrane u špiljama dovele su do razvitka cijelog niza adaptacija koje omogućavaju život u takvim uvjetima. Hranu je teško pronaći što ne dopušta organizmima da budu izbirljivi te se obično hrane različitim tipovima hrane u usporedbi sa srodnim vrstama koje žive izvan špilja. Mnoge životinje postaju svežderi, mogu pojesti više hrane odjednom i sukladno tome preživjeti duže periode bez hrane (Howarth i Moldovan, 2018) što je omogućeno velikim kapacitetom za skladištenje masti i usporenim metabolizmom (Hervant i Renault, 2002) kao i smanjenom aktivnošću i kretanjem (Hüppop, 1985). Tako desetonožni račići roda *Troglocaris* mogu preživjeti čak dvije godine bez hrane (Vogt i Štrus, 1999). Osim kao prilagodba na smanjene količine hrane, usporeni metabolizam prilagodba je i na manjak kisika u špiljskim vodama (Hervant i sur. 1997, 1998; Hervant i Renault 2002) koje su često hipoksične (Malard i Hervant, 2012). S druge strane, troglobionti se moraju nositi s visokom vlažnošću koja doseže i do 100% zbog čega je došlo do stanjivanja kutikule i izmjene njezinog sastava te izmjene mehanizama održavanja ravnoteže vode u organizmu. Zbog ovakvih prilagodbi, špiljski organizmi postaju izrazito osjetljivi na sušne uvjete i isušivanje (Howarth, 1980; Ahearn i Howarth, 1982; Hadley i sur., 1981).

3.3. Adaptacije ponašanja

Sukladno morfološkim i fiziološkim adaptacijama slijede i adaptacije ponašanja špiljskih životinja kao prilagodba na špiljski okoliš. Zbog konstantnog mraka, odnosno izostanka izmjene noći i dana, ali i minimalnih varijacija ostalih okolišnih uvjeta tokom godine, mnogi su troglobionti i stigobionti izgubili cirkadijane i sezonalne ritmove (Howarth i Moldovan, 2018). No usprkos tome neke ribe i rakovi imaju unutrašnje ritmove koje slijede (Poulson i Jegla, 1969), a smatra se da su oni naslijeđeni od predaka koji nisu živjeli u špiljama (Trajano i Menna-Barreto, 1995). Nadalje, uočeno je da se špiljske ribe i rakovi miču i skrivaju od svjetlosti iskazujući fotofobno ponašanje (Yoshizawa i Jeffery, 2008; Fišer i sur., 2015) što bi moglo objasniti zašto ove životinje ne napuštaju svoju špilju i ne rasprostranjuju se po drugim špiljama i

staništima (Fišer i sur., 2015). Kako bi se povećala šansa pronalaska hrane, ali i uštedila energija, troglobionti se kreću izrazito polako što istovremeno smanjuje šansu upadanja u zamke kao što su jame i pukotine (Moldovan i Paredes Bartolome, 1998/1999; Kuštor i Novak, 1980). Kod ribe *A. mexicanus* uočeno je i pojačano VAB (eng. *vibration attraction behaviour*) ponašanje, koje pozitivno utječe na proces pronalaska hrane (Yoshizawa i sur., 2010), što uz ostale prilagodbe povećava učinkovitost pronalaska hrane na 80% u usporedbi s populacijama koje žive izvan špilje čija je učinkovitost samo 20% (Hüppop, 1987). Kao što nedostatak svjetlosti otežava pronalazak hrane, otežava i pronalazak i odabir partnera, što se kompenzira razvijenijim feromonskim žlijezdama i komunikacijom feromonima u nekih vrsta (Cazals i Juberthie-Jupeau, 1983; Juberthie-Jupeau i Cazals 1984; Moldovan i Juberthie 1994). Ženke riba često biraju partnere s obzirom na uhranjenost, izbjegavajući izgladnjele mužjake (Plath i sur., 2005). Još jedna posljedica mraka i smanjene količine hrane jest izbjegavanje formiranja jata u riba, vjerojatno zbog nedostatka predatora koji bi potaknuli formiranje jata kao formu obrane i sigurnosti (Kowalko, 2019).

3.4. Specijalne adaptacije

Uz sve dosad navedene adaptacije koje omogućavaju život u špiljama, postoje još neke dodatne specijalne adaptacije koje karakteriziraju špiljske životinje. Jedno od takvih obilježja je neotenija – zadržavanje juvenilnih karakteristika tijekom odrasle faze (Culver, 1982; Howarth, 1993). Neotenija se može objasniti činjenicom da neke vrste provode u podzemnim staništima juvenilne faze života u kojima su već predadaptirane za život u špiljama (Howarth, 1993). Špiljske životinje žive izrazito dugo (čovječje ribice mogu doživjeti 102 godine (Voituron i sur. 2011)), juvenilne faze života su im kraće, dok su ostale faze života produljene što povećava šanse za uspješnu reprodukciju (Howarth i Moldovan, 2018). Kako bi se povećao fitnes juvenilnih životinja, ženke stvaraju manji broj većih jajašaca čime se embriji štite od izgladnjivanja (Roff 1992; Hüppop 2000; Wilhelm i Schindler 2000). Još jedna zanimljivost jest da špiljske životinje spavaju manje (Duboué i sur., 2011; Soares i sur., 2004), kako bi maksimalno iskoristile vrijeme za pronalazak hrane koje nema u izobilju (Bilandžija i sur., 2018).

4. Procesi koji pokreću evoluciju špiljskih životinja

Kao što je već više puta spomenuto, špiljske životinje iz različitih skupina imaju podudarne karakteristike i adaptacije na špiljski okoliš, objedinjene pod pojmom troglomorfizma. Troglomorfizam podrazumijeva postojanje konvergentne evolucije (Culver i Pipan, 2015; Protas i Jeffery, 2012) koja je dovela do takvog razvoja što proizlazi iz selektivnog špiljskog okoliša (Culver i Pipan, 2015). Nastanak konstruktivnih karakteristika može se objasniti djelovanjem prirodne selekcije na postojeće genetske polimorfizme ili *de novo* mutacije. Do regresivnih mutacija dolazi nakupljanjem mutacija, neutralnih u špiljskom okolišu, koje dovode do gubitka funkcije gena, a fiksiraju se genetskim driftom (relaksirana selekcija (Lahti et al., 2009)),

ili dolazi do indirektne selekcije protiv tog svojstva u svrhu uštede energije ili zbog antagonističkog djelovanja na neku drugu funkciju (Protas i Jeffery, 2012).

4.1. Djelovanje prirodne selekcije

Jedna od glavnih evolucijskih sila općenito, prirodna selekcija, sila je koja dovodi do adaptacija svih živih organizama pa tako i do adaptacija potrebnih za život u špiljama navedenih u prethodnom poglavlju. Ono što na poslijetku doprinosi prirodnoj selekciji, odnosno omogućava bolji opstanak određenih varijanti u usporedbi s drugima, jest veći broj potomaka u odnosu na druge, tj. fitnes. S obzirom na ekstremnost špiljskog okoliša, može se pretpostaviti da je prirodna selekcija usmjerena te vodi k ekstremu, razvoju troglobionta, ali treba uzeti u obzir da određene špiljske populacije sugeriraju na balansirajuću selekciju s obzirom na varijabilnosti i polimorfizme unutar populacije. S druge pak strane, špiljski su organizmi dobar primjer divergentne selekcije uspoređujući ih s precima koji su živjeli izvan špilja (Trontelj, 2019). Određeni dio populacije nastani špilju, odvajajući se od svog pretka, nakon čega nastupa alopatrijska specijacija (Barr, 1960, 1968) omogućena divergentnom selekcijom (Trontelj, 2019). Specijacija u čijoj je podlozi divergentna selekcija naziva se modelom adaptivnog pomaka (eng. *adaptive shift model*) te podrazumijeva nastanak reproduktivne izolacije između populacija u procesu adaptacije na novi, u ovom slučaju špiljski, okoliš (Trontelj, 2019). Kako dolazi do evolucije i nastanka novih, troglomornih obilježja organizama koji su nastanili špiljski okoliš, tako istovremeno dolazi i do nastanka reproduktivnih barijera između vanjskih i špiljskih populacija. Reprodukivne barijere potom onemogućavaju ponovno miješanje gena između špiljskih i vanjskih populacija u slučaju da jedinke iz vanjskih populacija uđu u špilju, osiguravajući daljnji opstanak ili razvitak troglomornih obilježja (Cartwright i sur., 2017).

4.2. De novo mutacije ili postojeća genetska varijacija (polimorfizam populacije)

Postavlja se pitanje stvaraju li se u novom okolišu nove mutacije koje potom putem selekcije dovode do adaptacija na taj okoliš, ili su te mutacije već prisutne u određenim frekvencijama u populaciji te one postanu fiksirane, također pod utjecajem selektivnih pritisaka. Postoji nekoliko problema zbog kojih je teško moguće da su *de novo* mutacije dovoljne za stjecanje adaptacija na špiljski okoliš (Krishnan i Rohner, 2017). Ulazak u špilju predstavlja drastičnu promjenu okoliša te zbog toga zahtjeva brze adaptacije kako bi organizmi preživjeli sam ulazak. Za takav brz proces *de novo* mutacije najvjerojatnije ne bi bile dovoljne, budući da je njihov nastanak uglavnom spor (Barrett i Schluter, 2008), a osim toga te su mutacije najčešće recesivne, zahtijevajući duže vrijeme da postanu fiksirane u populaciji (Haldane, 1927). Kada određene varijante gena, odnosno polimorfizmi, već postoje u populaciji, puno ih je lakše fiksirati i steći potrebne adaptacije (Colosimo i sur., 2005; Aspiras i sur., 2015). Takve varijante gena mogu se zadržavati unutar populacije u heterozigotnom obliku, ali i kao kriptičke genetičke varijacije čiji se fenotip ispoljava tek pod određenim okolišnim pritiskom (Krishnan i Rohner, 2017).

5. Fenotipska plastičnost i genetska asimilacija

Postavlja se pitanje kako je moguće da su organizmi uopće kolonizirali špiljski okoliš ako se radi o iznimno stresnim uvjetima koje su morali preživjeti uz nedostatak adekvatnih adaptacija u trenutku ulaska u špilju. Jasno je da u populaciji postoji genetska varijacija te da se javljaju nove mutacije na temelju kojih može djelovati prirodna selekcija. To će postupno dovesti do razvitka organizama adaptiranih na špiljski okoliš, no takva je adaptacija spora što je kontradiktorno uočenoj brzini adaptacije u nekih špiljskih vrsta. Jedna od takvih vrsta je dosad već spominjana meksička tetra, *Astyanax mexicanus*, koja ima dvije forme – vanjsku (pigmentiranu, s očima i sposobnošću vida) i špiljsku (koja je izgubila pigment i vid) (Bilandžija i sur., 2020). Pretpostavlja se da je ova riba nastanila špiljski okoliš u posljednjih 20 000 (Fumey i sur., 2018) do 200 000 godina (Herman i sur., 2018) u kojih je došlo do stjecanja danas uočenih adaptacija. Također, ova tetra nema predadaptacije koje bi omogućile brzu adaptaciju na život u špilji (Parzefall i sur., 2007), niti je otkriven naročito velik broj mutacija u špiljskim populacijama, čak ni u genima povezanim s degeneracijom očiju (Hinaux i sur., 2013; Ma i sur., 2014). Mehanizam koji bi mogao objasniti ovako brzu evoluciju i prilagodbu na novi okoliš jest fenotipska plastičnost nakon koje slijedi genetska asimilacija. Fenotipska plastičnost podrazumijeva postojanje različitih fenotipova ovisnih o okolišu, koji svi proizlaze iz istog seta gena, odnosno genotipa (Bilandžija i sur., 2020; Morris, 2014). Svi organizmi mogu mijenjati fenotip do određene mjere, bilo morfološki, fiziološki, ponašajno i/ili na razini genske ekspresije (Nijhout, 2003; Sultan, 2007; Gilbert i Epel, 2009). No može li fenotipska plastičnost biti dovoljna za preživljavanje u špiljskom okolišu prije nego se akumulira dovoljno genetskih mutacija koje rezultiraju opaženim adaptacijama? Kako bi se to istražilo, napravljen je eksperiment u kojem su ribe iz vanjske populacije izložene špiljskim uvjetima, u prvom planu nedostatku svjetlosti (Bilandžija i sur., 2020) kao što je opisano u potpoglavlju 5.1.

5.1. Istraživanje provedeno na meksičkoj tetri, *Astyanax mexicanus*

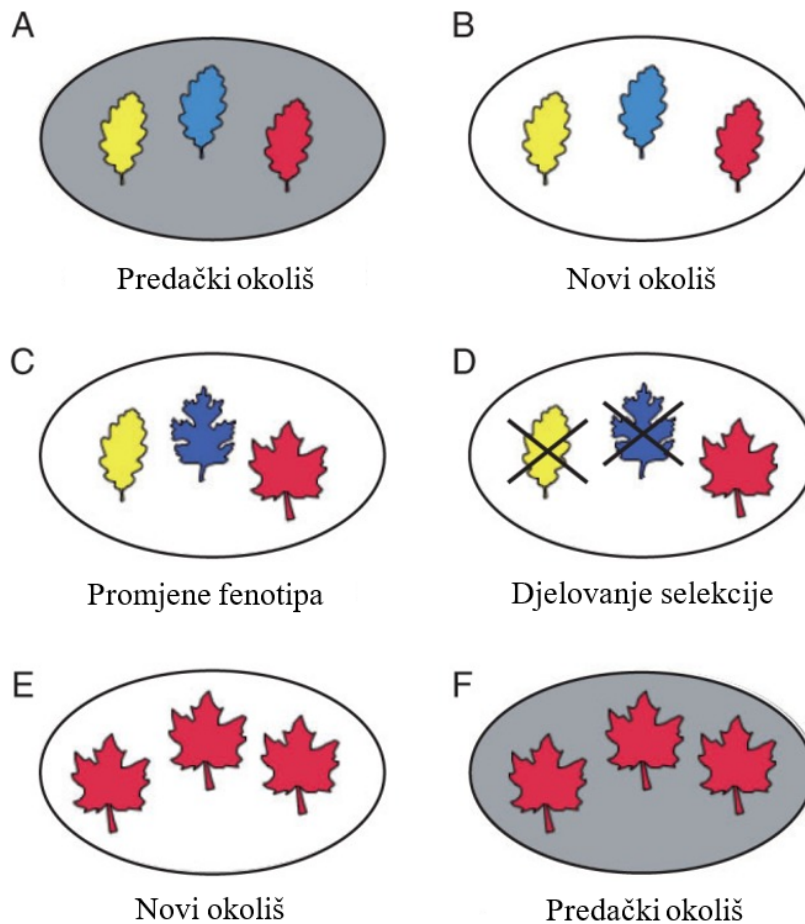
Bilandžija i sur. (2020) provedli su istraživanje u kojem su ribe uzgajane u potpunom mraku u trajanju od dvije godine, nakon čega su provedeni razni testovi kako bi se vidjelo je li došlo do nekih promjena u odnosu na populacije uzgajane u uvjetima izmjene dana i noći, odnosno svjetlosti i tame. Nakon dvije godine nije došlo do značajne izmjene morfoloških karakteristika, osim promjena debljine određenih slojeva retine, kao i do povećanog broja melanofora na određenim dijelovima tijela. Analizom transkriptoma riba starih 7 mjeseci uočene su razlike u ekspresiji 356 gena, od kojih je 210 bilo pojačano ekspimirano (geni vezani uz metabolizam lipida, geni vezani uz pigmentaciju), a 146 imalo je smanjenu ekspresiju (geni za cirkadijani ritam, lokomotorni ritam i vizualnu percepciju). Zabilježene su i promjene u ekspresiji gena uključenih u smatanje proteina, posttranslacijske modifikacije te gena koji utječu na aktivnost transkripcijskih faktora i epigenetičkih regulatora što upućuje na brojne mehanizme koji mogu biti u pozadini fenotipske plastičnosti.

Smanjena je aktivnost metaboličkih puteva uključenih u fotorecepciju, cirkadijane ritmove i odgovor na oksidativni stres (Bilandžija i sur., 2020). Moguće je da su ove promjene ovisne o svjetlosti, s obzirom na to da svjetlost aktivira nastanak reaktivnih kisikovih vrsta koje su pak medijatori između fotorecepcije i cirkadijanih ritmova (Hirayama, Cho i Sassone-Corsi, 2007.; Pagano i sur., 2018). Nadalje, uspoređena je otpornost na izgladnjivanje između riba uzgajanih u mraku i riba uzgajanih u uvjetima izmjene svjetlosti i tame, te je uočeno bolje preživljavanje riba uzgojenih u mraku. Bolja mogućnost preživljavanja u uvjetima manjka hrane može se objasniti usporenim metabolizmom koji je potom i potvrđen kod riba uzgajanih u mraku. S obzirom na to da mrak predstavlja vrlo stresne uvjete, pretpostavljeno je da će ribe uzgajane u mraku imati povišene razine hormona kortizola u usporedbi s ribama uzgajanim u normalnim uvjetima, što je također potvrđeno. Uočena je i očekivana viša razina masti, odnosno triglicerida u riba uzgajanih u uvjetima mraka kao i povišene razine hormona rasta te snižene razine serotonina i 5-HIAA (5-hidroksiindolactena kiselina, metabolit serotonina). Kako bi se proučila mogućnost nasljeđivanja stečenih adaptacija, dio potomaka riba uzgajanih u mraku odrastali su u uvjetima mraka, a dio u normalnim uvjetima. Isto je napravljeno i s potomcima riba uzgajanih u normalnim uvjetima. Usporedbom potomaka iz sve četiri skupine uočen je blago sporiji metabolizam i bolja otpornost na izgladnjivanje u potomaka riba uzgajanih u mraku, bilo da su potomci uzgajani u mraku ili normalnim uvjetima. Iako blage i statistički nedovoljno značajne, ove promjene mogu sugerirati na mogućnost nasljeđivanja karakteristika dobivenih fenotipskom plastičnosti te ukazuju na kontinuitet plastičnosti što sugerira na njenu evoluciju (Bilandžija i sur., 2020).

5.2. Potencijalna važnost fenotipske plastičnosti i genetske asimilacije u kolonizaciji špilja

Istraživanjem objašnjenim u poglavlju 5.1. pokazano da konstantni mrak može dovesti do brzih promjena koje su nužne za preživljavanje u takvom okolišu, a fenotipska plastičnost može objasniti taj brzi odgovor na mrak. Plastični odgovor na okoliš može biti adaptivni koji se potom zadrži selekcijom, ili neadaptivni (pigmentacija u ovom istraživanju) koji se u procesu selekcije izgubi (Bilandžija i sur., 2020). Selekcija pak može dovesti do evolucije tog svojstva inducirano okolišem koji postaje fiksiran genetskom asimilacijom (kao što je prikazano na *Slici 2*). Genetska asimilacija objašnjava nastanak novog svojstva bez nastanka gena novih funkcija, već se novo svojstvo razvija djelovanjem na postojeću genetsku i epigenetsku varijaciju koja je prisutna u populaciji (Schlichting i Pigliucci, 1998). Odnosno: „Plastično svojstvo može se pretvoriti u kanalizirano svojstvo kroz evolucijska podešavanja regulacije ekspresije tog svojstva.“ (Ehrenreich i Pfennig, 2016). Genetskom se asimilacijom smanjuje sama plastičnost dovodeći do konstitutivne ekspresije novog svojstva (Waddington, 1953), omogućenog tom istom fenotipskom plastičnošću. Fenotipska je plastičnost ključna u stvaranju varijabilnosti u špiljskom okolišu, bilo adaptivne ili neadaptivne, na koju

potom može djelovati selekcija dovodeći do nastanka jedinki najbolje adaptiranih za špiljski okoliš te kao takva može objasniti kolonizaciju i evoluciju špiljskih organizama (Bilandžija i sur., 2020).



Slika 2: Mehanizam djelovanja fenotipske plastičnosti nakon koje slijedi genetska asimilacija. Shematski prikaz kako fenotipska plastičnost nakon koje slijedi genetska asimilacija može dovesti do evolucije novog svojstva. Na ovom prikazu novi oblik lista predstavlja novo svojstvo, a boja lista predstavlja genotip. (A) Genetski varijabilna populacija koja (B) kolonizira novi okoliš (naznačeno promjenom boje pozadine iz sive u bijelu). (C) Okoliš inducira nove fenotipove naznačene različitim oblicima lista, ali svaki genotip pokazuje drugačiji odgovor stvarajući listove različitih oblika. (D) Selekcija djeluje protiv genotipova koji stvaraju neadaptivne fenotipove (oblike listova) u novom okolišu, što je naznačeno križićem. (E) Selekcija dovodi do evolucije novog svojstva koje se eksprimira neovisno o okolišu. (F) Novo svojstvo je ekspimirano u drugačijem okolišu i to onom ancestralnom, što znači da je prošlo genetsku asimilaciju. Preuzeto i prilagođeno iz Ehrenreich i Pfennig (2016).

5.3. Mehanizam fenotipske plastičnosti

Postoje tri generalna koraka uključena u mehanizam fenotipske plastičnosti. Prvi korak uključuje senzorni sustav organizma koji prepoznaje stimulanse okoline, primjerice promjenu temperature ili promjenu količine svjetlosti. Potom se detektirani okolišni signali prevode u molekularni, biokemijski odgovor koji

dovodi do promjena u aktivnosti stanica, a zatim se, putem hormona, prenosi u ciljne dijelove organizma (Gilbert i Epel, 2009). U trećem koraku ciljne stanice, tkiva ili organi odgovaraju na podražaj na način da dovode do izmjene fenotipa (Ehrenreich i Pfennig, 2016) što je najčešće popraćeno promjenom u ekspresiji gena (Aubin-Horth i Renn, 2009). Promjena u ekspresiji gena podrazumijeva promjene u vezanju transkripcijskih faktora na genske promotore i druge regulatorne sljedove na način da se transkripcija tog gena pojača ili utiša. Različiti transkripcijski faktori mogu se aktivirati na različite načine ovisno o vanjskim signalima. Na taj način različiti signali iz okoliša mogu drugačije utjecati na stanice u kojima se, sukladno podražajima, aktiviraju transkripcijski faktori koji potom mijenjaju ekspresiju gena. Različita ekspresija pojedinih gena može aktivirati hormone na specifičan način, a oni će potom utjecati na ciljna tkiva i organe u kojima će drugačiji fenotip doći do izražaja (Nijhout, 2003).

5.4. Mehanizam genetske asimilacije

Da bi došlo do genetske asimilacije, mora doći do redukcije plastičnosti, to jest do fiksacije određenog fenotipa stvorenog specifičnim genotipom (Pigliucci, Murren i Schlichting, 2006). Iako je mnogo toga nepoznato i nerazjašnjeno (Ehrenreich i Pfennig, 2016) pretpostavlja se da bi regulacija gena mogla imati značajnu ulogu u fiksiranju određenog plastičnog svojstva (Pfennig i Ehrenreich, 2014). Do genetske asimilacije vjerojatno dolazi pod utjecajem kvantitativnih genetskih promjena u regulaciji ekspresije koje djeluju na brojnost transkripata (Leodon-Rettig i sur., 2014). Spomenute genetske promjene mogu nastati u samom genu koji će biti genetski asimiliran ili u uzvodnim regulatornim sljedovima tog gena, odnosno radi se o *cis* ili *trans* regulatornim polimorfizmima (Albert i Kruglyak, 2015). Primjerice, *cis* regulatorne varijante mogu onemogućiti vezanje transkripcijskog faktora na svoje vezno mjesto (Wittkopp i Kalay, 2012), čime taj gen prestaje biti osjetljiv na okoliš (Ehrenreich i Pfennig, 2016), ili pak može nastati novo vezno mjesto za transkripcijski faktor (Wittkopp i Kalay, 2012), čineći gen otpornijim na okolišne faktore s obzirom na to da sada postoji redundancija mogućnosti regulacije (Ehrenreich i Pfennig, 2016). Za razliku od *cis* regulatornih varijanti koje djeluju na svoj gen, *trans* regulatorne varijante mogu djelovati na više gena te stoga imati puno veći utjecaj na regulaciju (Ehrenreich i Pfennig, 2016).

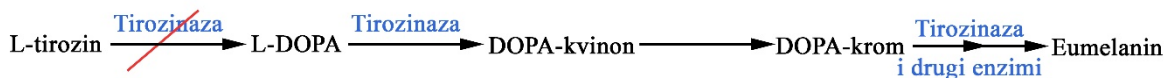
6. Albinizam – kako i zašto

Jedna od glavnih konvergentnih regresivnih karakteristika špiljskih životinja jest nedostatak pigmenta, odnosno albinizam. Ovo svojstvo uočeno je u špiljskih virmjaka, člankonožaca, kolutičavaca, mekušaca i kralježnjaka, a osim u špiljskih životinja, javlja se i u drugim staništima s nedostatkom svjetlosti kao što je duboko more (Bilandžija, Četković i Jeffery, 2012; Protas i Jeffery, 2012). Ne zna se mnogo o mehanizmima gubitka pigmenta i zašto se albinizam zadržao kao svojstvo troglofaune i stigofaune (Bilandžija, Četković i Jeffery, 2012). Pigment (melanin) štiti od ultraljubičastog zračenja, potreban je za

kamuflažu i mimikriju te vid i privlačenje partnera (Ducrest, Keller i Roullin, 2008; True, 2003; Chistiansen i sur., 2005; Sugumaran i Barek 2016). Nabrojane funkcije melanina nemaju svrhu u okolišu bez svjetlosti te su podložne relaksiranoj selekciji, odnosno mogu nestati bez negativnih posljedica za organizam (Bilandžija, Četković i Jeffery, 2012; Baldwin i Beatly 1941; Jeffery 2008; Protas i Jeffery 2012; Protas, Trontelj i Patel, 2011). No, melanin i metabolički putevi njegove sinteze mogu imati i druge uloge u organizmu (Bilandžija i sur., 2017).

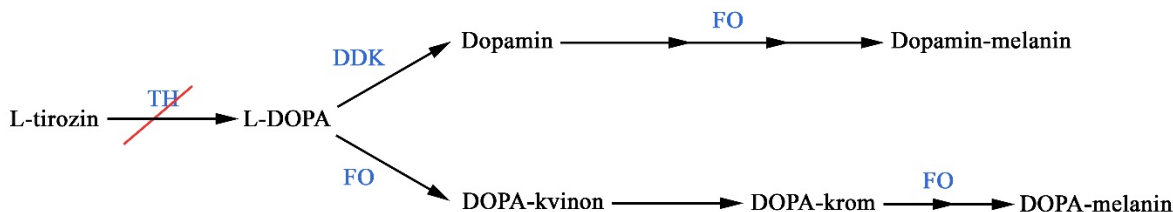
6.1. Put sinteze melanina

Metabolički put sinteze melanina očuvan je među raznim organizmima (Riley 1997; Vavricka, Christiansen i Li, 2010). U kralježnjaka (*Slika 3*) prvi korak podrazumijeva konverziju L-tirozina u L-3,4-dihidroksi-L-fenilalanin (L-DOPA) uz multifunkcionalni enzim tirozinazu. Tirozinaza potom prevodi L-DOPA u L-DOPA-kvinon. Potom se uz tirozinazu uključuje još nekoliko enzima koji vrše konverziju L-DOPA-kvina u L-DOPA-krom i još nekoliko intermedijera, do trenutka nastanka samog melanina (True, 2003).



Slika 3: Put sinteze melanina u kralježnjaka. Supstrati i produkti naznačeni su crnom bojom, strelice prikazuju smjer reakcija, a plavom bojom naznačeni su enzimi. Crvena linija u prvom koraku sinteze melanina označava mjesto prekida sinteze melanina što rezultira albinizmom. Preuzeto i prilagođeno iz Bilandžija, Četković i Jeffery (2012).

U kukaca (*Slika 4*), prvi korak konverzije L-tirozina u L-DOPA provodi tirozin hidrolaza (TH). Nakon nastanka L-DOPA, put sinteze melanina dijeli se u dvije grane. Prvom granom nastaje DOPA-melanin, tako što fenol oksidaza (FO) katalizira konverziju L-DOPA u DOPA-kvinon, pa slijedi pretvorba u DOPA-krom i potom u DOPA-melanin. U drugoj grani dolazi do konverzije L-DOPA u dopamin uz enzim DOPA-dekarboksilaza (DDK). Nizom reakcija iz dopamina, uz fenol oksidazu, nastaje dopamin-melanin. Oba produkta ovih sintetskih puteva, DOPA-melanin i dopamin-melanin, luče se u hemolimfu putem koje dolaze do kutikule koju pigmentiraju (True, 2003).



Slika 4: Put sinteze melanina u insekata. . Supstrati i produkti naznačeni su crnom bojom, strelice prikazuju smjer reakcija, a plavom bojom naznačeni su enzimi. Crvena linija u prvom koraku sinteze melanina označava mjesto prekida sinteze melanina što rezultira albinizmom. TH označava enzim tirozin hidrosilazu, FO označava enzim fenol oksidazu, a DDK DOPA-dekarboksilazu. Preuzeto i prilagođeno iz Bilandžija, Četković i Jeffery (2012).

6.2. Prekid sinteze melanina pokazuje konvergenciju među različitim skupinama

Prekid sinteze melanina, koji dovodi do albinizma, kod meksičke se tetre (*Astyanax mexicanus*) događa na samom početku biosintetskog puta tijekom konverzije L-tirozina u L-DOPA. Radi se o mutaciji u genu *oca2* koja uzrokuje nastanak nefunkcionalnog proteina OCA2 (Protas i sur., 2006) za kojeg se pretpostavlja da kontrolira dostupnost L-tirozina enzimu tirozinazi. Sukladno tome, sinteza melanina može se potaknuti ako se ribama egzogeno pruži L-DOPA, potvrđujući nefunkcionalnost prvog koraka sinteze (McCauley, Hixton i Jeffery, 2004). Već unutar same vrste *A. mexicanus* moguće je uočiti konvergenciju u prekidu sinteze melanina jer je uočeno da se mutacije u genu *oca2* javljaju na različitim pozicijama u različitim lozama ove vrste što sugerira da je prekid sinteze nastao nezavisno više puta (McCauley, Hixton i Jeffery, 2004; Protas i sur. 2006). Također, uspoređivan je prekid sinteze melanina između dvije vrste kukaca iz porodice Cixiidae – vrsta *Oliarus polyphemus* iz havajskih špilja te *Trirhacus helenae* iz hrvatskih špilja. Ponovno je otkriven prekid sinteze u prvom koraku u kojem djeluje tirozin hidrosilaza kod obje vrste kukaca. To ponovno ukazuje na konvergenciju, ne samo međusobno već i u usporedbi s tetrom *A. mexicanus*. Bitno je napomenuti da iako se radi o prvom koraku u sintezi to ne znači da je došlo do mutacije u genu za tirozin hidrosilazu (Bilandžija, Četković i Jeffery, 2012). Naime ovaj enzim ima i druge funkcije – u imunološkom odgovoru, živčanim funkcijama i stvaranju kutikule. Iz tog razloga pretpostavlja se da je došlo do izmjene nekog drugog faktora koji regulira dostupnost L-tirozina za enzim TH ili regulira samu aktivnost enzima TH jer bi u suprotnom mutacija u genu koji kodira za enzim TH vrlo vjerojatno bila letalna (Gorman i sur., 2007; Gorman i Arakane 2010). Postoji nekoliko pretpostavki zašto se sinteza melanina prekida u prvom koraku koje se međusobno ne isključuju. Prvo moguće objašnjenje jest to da je prekid metaboličkog puta na samom početku najekonomičniji za organizam, pogotovo uzimajući u obzir špiljski okoliš koji nije bogat hranom (Bilandžija, Četković i Jeffery, 2012). Nadalje, gen *oca2* (kod kralježnjaka) je izrazito velik što omogućava puno prostora za nakupljanje mutacija (Yi i sur., 2003), a možda je i jedino mjesto na kojem su mutacije dozvoljene jer bi mutacije u ostalim genima koji kodiraju za enzime ovog metaboličkog puta bile letalne. Prekid sinteze u prvom koraku može spriječiti akumulaciju toksičnih intermedijera ovog biosintetskog puta (Graham, Tiffani i Vogel, 1978). Također, L-tirozin se koristi i u drugim metaboličkim putevima, pa bi sprječavanjem sinteze melanina bila omogućena akumulacija L-tirozina i njegovo korištenje u nekom drugom metaboličkom putu (Bilandžija, Četković i Jeffery, 2012).

6.3. Melanin i imunitet

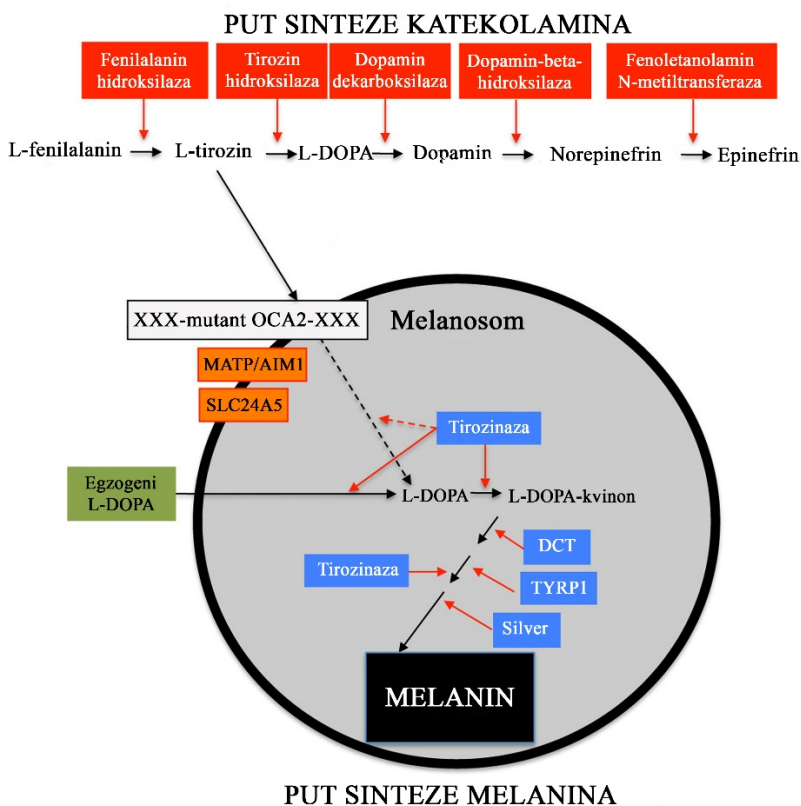
Melanin ima važnu ulogu u imunološkom odgovoru člankonožaca. Melanizacija sudjeluje u inkapsuliranju patogena i parazita te stvaranju ugrušaka i zacjeljivanju rana. Također ima i ulogu u ubijanju mikroorganizama omogućavajući stvaranje citotoksičnih intermedijera štetnih mikroorganizmima (Söderhäll i Cerenius, 1998; Ashida i Brey, 1995). Stvaranje citotoksičnih intermedijera (o-difenoli,

kvinoni) katalizirano je od strane fenol oksidaze koja se zbog opasnosti tih intermedijera mora pažljivo regulirati. Iz tog razloga pohranjena je u obliku proenzima profenol oksidaze unutar citoplazmatskih granula, ispušta se prilikom detekcije antigena te se aktivira kaskadom serinskih proteaza (Cerenius i Söderhäll, 2004; Sugumaran, 2002; Cerenius, Lee i Söderhäll, 2008). No, ako je došlo do gubitka pigmentacije, jesu li člankonošci izgubili imunosni odgovor pružen melaninom i njegovim biosintetskim putem? Testiranjem preko 50 vrsta člankonožaca iz raznih skupina uočeno je da velika većina ima sposobnost melanizacije na mjestu ozljeđivanja unatoč albinizmu (Bilandžija i sur., 2017). Fenol oksidaza izrazito je bitna za imunološki odgovor, ne samo u člankonošcima već i u drugim skupinama kao što su kolutićavci, plaštenjaci, mekušci, bodljikaši, svitkoglavci (Cerenius i Söderhäll, 2004), a enzimi biosintetskog puta melanina bitni su i za kralježnjake (Lévesque i sur., 2013). Melanin je izrazito važan u imunološkom sustavu te je kao takav sačuvan čak i u špiljskom okolišu unatoč tome što zahtijeva velike količine dušika koji je čest limitirajući faktor špilja (Lee, Simpson i Wilson, 2008). Pretpostavlja se da selekcija djeluje na način da se potiče albinizam kako bi se sačuvala energija i/ili očuvali prekursori za alternativne metaboličke puteve. No, istovremeno nema utjecaja na enzime biosintetskog puta melanina koji su potrebni za imunološki odgovor organizma. Sugerira se da postoje alternativni načini regulacije i aktivacije ovih enzima ili njihovu specifičnu lokalizaciju u organizmu kako bi oni bili aktivni samo u slučaju imunološkog odgovora (Bilandžija i sur., 2017).

6.4. Koristi albinizma

Sprječavanjem sinteze melanina u prvom koraku, kao što je opisano u potpoglavlju 6.2., dolazi do nakupljanja L-tirozina. Osim za sintezu melanina, L-tirozin koristi se i u drugom metaboličkom putu kojim dolazi do nastanka katekolamina kao što je prikazano na *Slici 5* (Bilandžija i sur., 2013). Akumulacija L-tirozina koji se potom koristi u biosintezi katekolamina, u ribe *A. mexicanus* postiže se mutacijom u genu *oca2*. Razine dopamina i norepinefrina u špiljskim populacijama ove ribe veće su naspram razina u populacijama koje žive van špilja. Također, Bilandžija i sur. (2013) inaktivirali su gen *oca2* u jedinkama koje žive van špilja kod kojih je također zabilježena povišena razina katekolamina, dodatno potvrđujući pretpostavku. Zabilježena je i dodatna smanjena ekspresija gena *oca2* u embrijima meksičke tetre, iako je gen već mutiran i nefunkcionalan. Povećane razine katekolamina važan su faktor koji može doprinijeti uspješnoj kolonizaciji špilja i prilagođavanju špiljskom okolišu (Bilandžija i sur., 2013). Katekolamini se sintetiziraju u hipotalamusu, a istovremeno i utječu na njega. Sav višak L-tirozina koji se producira u organizmu krvotokom može stići u mozak prolaskom kroz krvno-moždanu barijeru gdje se potom koristi za sintezu katekolamina (Fernstrom i Fernstrom, 2007; Audus i Borchart, 1986). S obzirom na to da se u hipotalamusu nalaze centri za regulaciju hranjenja, povećane razine katekolamina mogu imati utjecaj na hranjenje (Stricker i Zigmond, 1984) što je u skladu s primijećenom povećanom efikasnosti hranjenja koja

je uočena u špiljskih riba (Hüppop, 1987). Budući da su špilje siromašne hranom, ovo je jako korisna adaptacija (Bilandžija i sur., 2013). Norepinefrin ima ulogu i u kontroli dužine spavanja (Ouyang i sur., 2004) što sugerira da povećane razine norepinefrina mogu imati utjecaj na primijećenu redukciju spavanja uočenu kod špiljskih jedinki ove vrste (Duboué, Keene i Borowsky, 2011). Manje spavanja znači više vremena provedenog u budnom, alertnom stanju, što je ponovno korisno što se tiče skupljanja hrane u hranom siromašnom okolišu (Bilandžija i sur., 2013). Ovu činjenicu potvrđuje i zapažena veća rezistencija na anesteziju koja je obrnuto proporcionalna pigmentiranosti jedinke u špiljskih riba i vanjskih jedinki kojima je inaktiviran *oca2* gen (Bilandžija i sur., 2018) Nadalje, norepinefrin kontrolira i odgovor na stres (Kvetnansky, Sabban i Palkovits, 2009) što je ponovno korisna adaptacija na stresni špiljski okoliš (Bilandžija i sur., 2013). Blokiranje sinteze melanina ima mnoge prednosti za organizme koji žive u špiljama, što upućuje na djelovanje prirodne selekcije u smjeru albinizma kao pleiotropne razmjene između melanina i katekolamina (Bilandžija i sur., 2013).



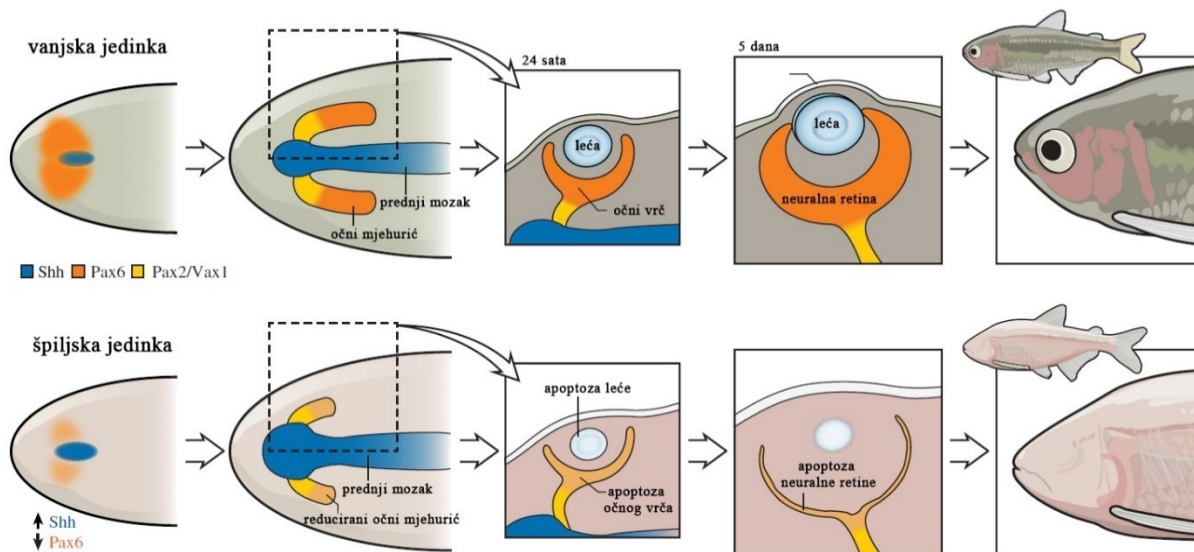
Slika 5: Odnos puteva sinteze melanina i katekolamina u ribi *Astyanax mexicanus*. Put sinteze katekolamina započinje L-fenilalaninom te završava nastankom epinefrina. Supstrati su označeni crnom bojom, a enzimi se nalaze u crvenim kvadratićima. Sinteza melanina počinje transportom L-tirozina u melanosom te dolazi do nastanka melanina uz pomoć enzima naznačenih plavim kvadratićima i još nekih genskih produkata naznačenih narančastim kvadratićima. U bijelom kvadratiću označena je mutacija koja dovodi do prestanka sinteze melanina u ove meksičke tetre. Dodavanjem egzogenog L-DOPA (zeleni kvadratić) može se spasiti put sinteze melanina. Preuzeto i prilagođeno iz Bilandžija i sur. (2013).

7. Gubitak vida i očiju – kako i zašto

Drugo bitno regresivno konvergentno obilježje špiljske faune jest gubitak vida i očiju. Ovaj fenomen javlja se, kao i albinizam, kod različitih skupina organizama, no ponovno je najbolje istražen na špiljskom modelnom organizmu *A. mexicanus*. Postanak regresivnih karakteristika kao što je gubitak vida i očiju lako je objasniti pretpostavkom da je dozvoljena akumulacija deletirajućih mutacija kao i genetički drift s obzirom na to da ne postoje selektivni pritisci koji bi djelovali u suprotnom smjeru. No, osim teorije o relaksiranoj selekciji, postoje još dvije teorije koje se moraju razmotriti pri pokušaju objašnjenja zašto je došlo do gubitka očiju i vida. Jedno od objašnjenja jest da selekcija djeluje u smjeru gubitka očiju kako bi se sačuvala energija, uz smanjenja opasnosti od infekcija i ranjavanja očiju (Krishnan i Rohner, 2017). Neuralno je tkivo energetski skupo za održavati (Aiello i Wheeler, 1995), a tako i mogućnost vida nepotrebnog u mračnom okolišu, posebice uzimajući u obzir smanjene količine hrane u špiljskom okolišu (Moran, Softley i Warrant, 2015; Krishnan i Rohner, 2017). Pokazano je da sustav organa za vid zauzima čak 15% metabolizma kod juvenilnih meksičkih tetra koje žive van špilja, što implicira na snažnu selekciju u smjeru regresije očiju (Moran, Softley i Warrant, 2015). Osim uštede energije, moguće objašnjenje za regresiju vida i očiju jest selekcija određenog svojstva koje negativno utječe na razvoj očiju, odnosno dolazi do razmjene koja omogućava razvoj svojstava korisnijih u špiljskom okolišu nauštrb razvoju oči kao što je detaljnije opisano u potpoglavlju 7.2. (Krishnan i Rohner, 2017, Yamamoto i sur., 2009). Bitno je naglasiti da su geni uključeni u razvoj oči i vida izrazito konzervirani, a uz to su i pleiotropni (Stern i Crandall, 2018). Pleiotropnost ovih gena osporava mogućnost fiksiranja deletirajućih mutacija u genomima organizama, te se iz tog razloga bolje osloniti na promjenu genetske ekspresije koja može biti izvor varijacije na temelju koje može djelovati selekcija (Stern i Crandall, 2018, Yamamoto, Stock i Jeffery, 2004). Jedan od mehanizama regulacije genske ekspresije jest metilacija, koja bi mogla imati izrazito važnu ulogu u degeneraciji očiju (Gore i sur., 2018).

7.1. Razvoj i degeneracija očiju

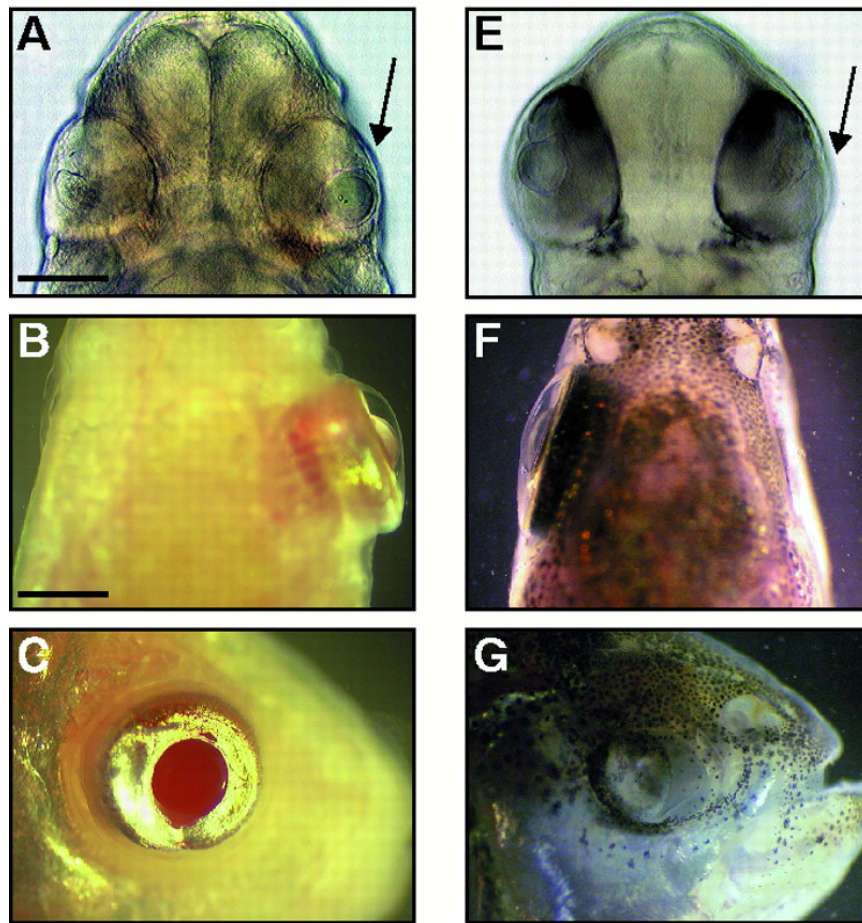
Preteča regije prednjeg mozga tijekom gastrulacije dijeli se u tri domene, dok sam prednji mozak i područje oka nastaje od najanteriornije regije (Slika 6). Za regulaciju i upravljanje ovim procesima posebno je važan signalni put Shh uz Wnt i Bmp signalne puteve (Cavodeassi i sur., 2005; van de Water i sur., 2001). Shh signalizira pojačanu ekspresiju gena *pax2* i *vax1* te smanjuje ekspresiju gena *pax6* što dovodi do ekspresije Pax6 u dorzalnoj regiji gdje se dalje formiraju strukture oka (Yamamoto, Stock i Jeffery, 2004). Prvih nekoliko sati razvoja, razvoj očiju isti je za špiljske populacije ribe *A. mexicanus* kao i za populacije koje žive van špilja, formirajući optički vrč i leću (Cahn, 1958; Langecker, Schmale i Wilkens, 1993). No, potom ubrzo kreće degeneracija za što se smatra da je odgovoran upravo Shh put signalizacije (Yamamoto i sur.,



Slika 6: Razvoj oka špiljske i vanjske jedinke *Astyanax mexicanus*. Gornji red predstavlja razvoj oka vanjske jedinke, a donji špiljske jedinke. Plavom, narančastom i žutom bojom naznačena su mjesta i jačina ekspresije gena *shh*, *pax6* i *pax2/vax1*. Intenzitet boje prikazuje razinu genskih produkata. Može se uočiti da je kod špiljske jedinke smanjena razina *Pax6*, dok je povećana razina *Shh* i *Pax2/Vax1*. To rezultira smanjenim očnim mjehurićima i dužim očnim drščima. Nakon 24 sata započinje apoptoza leće te potom slijedi apoptoza retine te gubitak oka. Preuzeto i prilagođeno iz Krishnan i Rohner (2017).

2009). Špiljske populacije imaju povećane razine proteina *Shh* što dovodi do neravnoteže (Yamamoto, Stock i Jeffery, 2004), odnosno intenzivnijeg smanjenja ekspresije gena *pax6* (Jeffery i Martasian, 1998) i pojačane ekspresije gena *pax2* i *vax1* čime dolazi do smanjenja očnog vrća i produljenja očnog drška. Kao potvrda ovoj pretpostavki u prilog dolazi eksperiment kojim je pokazano da nadekspresijom gena *shh* u vanjskih populacija dolazi do promjena fenotipa očiju što nalikuje špiljskim populacijama (Yamamoto, Stock i Jeffery, 2004), dok smanjenom ekspresijom gena *shh* u špiljskih jedinki dolazi do razvoja većih očiju. Pretpostavlja se da je uočena smanjena ekspresija gena *pax6* i aktivnost proteina *Pax6* u epitelnim stanicama leće mogući uzrok prestanka diferencijacije leće te potencijalno potiče zabilježenu apoptozu epitela leće (Jeffery i Martasian, 1998). *Pax6* veže se za regulatorne domene gena koji kodiraju za protein kristalin, koji se nalazi u leći oka (Cveki i Piatgorsky, 1996). Uočeno je da kristalinski geni nisu aktivni za vrijeme diferencijacije leće u špiljskih jedinki (Langecker, Schmale i Wilkens, 1995), što je suprotno normalnom razvoju oka (Cveki i Piatgorsky, 1996) te sugerira na mogućnost da je upravo *Pax6*, čije su razine u špiljskih jedinki snižene, odgovoran za sprječavanje apoptoze leće te njen normalni razvoj (Jeffery i Martasian, 1998). Uz indirektno djelovanje gena *shh*, u apoptozi leće vjerojatno sudjeluju još neki od faktora, a to su α A-kristalin, čija je aktivnost u lećama špiljskih jedinki smanjena (Strickler, Byerly i Jeffery, 2007), *Hsp90 α* čija je ekspresija povećana u leći u razvoju (Hooven, Yamamoto i Jeffrey, 2005) te još neki faktori smanjene ekspresije kao što su gen *pitx3* (Shi i sur., 2005), *rx3* (Loosli i sur., 2003), *olfm2* (Lee,

Anholt i Cole, 2008), BCoR (Hilton i sur., 2009), Cryaa (Ma, Parkhurst i Jeffery, 2014). U prilog tome da apoptoza leće predstavlja početak degeneracije oka (Jeffery i Martasian, 1998) ide eksperiment u kojem je transplantirana leća (Slika 7) s jedinke iz vanjske populacije meksičkih tetra na špiljsku jedinku, i obrnuto. Transplantacija leće sa špiljske jedinke na vanjsku jedinku uzrokovala je degeneraciju oka kod vanjske jedinke, dok je transplantacija leće s vanjske na špiljsku jedinku dovela do razvoja normalnog oka (Yamamoto i Jeffery, 2000), iako to oko nije moglo reagirati na svjetlost (Romero i sur., 2003).



Slika 7: Razvoj očiju nakon transplantacije leće. Na slikama A (dva dana nakon transplantacije), B i C (2 mjeseca nakon transplantacije) prikazana je špiljska jedinka na čije je desno oko (označeno strelicom) transplantirana leća vanjske jedinke – vidljiv je potpuni razvoj oka s transplantirane strane, dok oko nedostaje na kontrolnoj, lijevoj strani. Na slikama E (dva dana nakon transplantacije), F i G (2 mjeseca nakon transplantacije) prikazana je vanjska jedinka na čije je desno oko transplantirana leća špiljske jedinke – vidljiv je nedostatak oka na desnoj strani te normalno kontrolno oko na lijevoj strani. Preuzeto i prilagođeno iz Yamamoto i Jeffery (2000).

7.2. Utjecaj promjene ekspresije *shh*

S obzirom na to da je Shh signalni put jako bitan u razvoju, te snažan morfogen (Monuki, 2007) bitno je razmotriti kakve posljedice može imati promjena njegove ekspresije na cjelokupni razvoj organizma. Kao

kompenzacija promijenjenoj ekspresiji gena *shh*, uočena je promjena u vremenu ekspresije gena *fgf8* koji se aktivira dva sata ranije u razvoju kod špiljskih jedinki te je na taj način omogućena degeneracija oka bez narušavanja organizacije samog mozga (Pottin, Hinaux i Retaux, 2011). Osim što je u špiljskih jedinki zabilježena pojačana ekspresija gena *shh* u prekordalnoj ploči (Yamamoto i sur., 2004), uočena je i pojačana ekspresija gena *shh* u usno-ždrijelnoj regiji. Sukladno tome primijećeno je povećanje broja okusnih pupoljka na gornjoj i donjoj usni kao i povećanje čeljusti za što se smatra da je odgovorna promjena u ekspresiji gena *shh*. Povećanje čeljusti dovodi do mogućnosti oblikovanja usta u strukturu nalik lopati što je korisno za meksičke tetre koje zahvaljujući ovoj adaptaciji mogu efikasnije isprobavati sediment na dnu špiljskih voda u potrazi za hranom. Iz ovog je razloga jasan učinak pozitivne selekcije na promjenu ekspresije gena *shh*, budući da oči u mraku nemaju funkciju. Kao što je i u slučaju gubitka pigmenta došlo do pleiotropne razmjene između melanina i katekolamina (opisano u potpoglavlju 6.4.), tako je i ovdje uočljiva razvojna razmjena između očiju i organa za hranjenje (Yamamoto i sur., 2009).

7.3. Metilacija DNA kao mehanizam promjene ekspresije gena

S obzirom na to da nisu zabilježene nikakve deletirajuće mutacije koje bi inaktivirale neki od gena važnih za vid i razvoj očiju (Hinaux i sur., 2013; Hinaux i sur., 2015; Casane i Retaux, 2016; Ma, Parkhurst i Jeffery, 2014; McGaugh i sur., 2014), pretpostavlja se da se mehanizmi koji dovode do gubitka očiju i vida odvijaju na epigenetskoj razini. Jedan od takvih epigenetskih mehanizama jest metilacija DNA koja može istovremeno promijeniti ekspresiju većeg broja gena (Zhu, Wang i Qian, 2016), a usko je povezana s genskom represijom (Stirzaker i sur., 2014). Za metilaciju DNA potrebni su specifični enzimi – de novo DNA metiltransferaze (DNMT) (Xu i sur., 2010). Uočeno je da jedan takav enzim, kodiran genom *dnmt3bb.1* ima pojačanu ekspresiju u špiljskih jedinki *A. mexicanus*, a eksprimiran je u tkivu koje sadrži matične stanice i koje je odgovorno za nastanak stanica oka i neurona (Seritrakul i Gross, 2014; Raymond i sur., 2006; Wan i sur., 2016). Sveukupno je u špiljskih jedinki zabilježeno 128 gena s pojačanom metilacijom uzvodno od mjesta početka transkripcije. Ti su geni posljedično manje eksprimirani u špiljskih, nego u vanjskih jedinki. Čak 19 od tih gena poznati su kao geni povezani s poremećajima oka u ljudi. Među njima ističu se geni *opn1hw1*, *gnb3a* i *crx* (Gore i sur., 2018). Gen *crx* transkripcijski je faktor nužan za ekspresiju brojnih gena povezanih s očima tako da smanjena ekspresija gena *crx* smanjuje ekspresiju brojnih drugih gena koji sami ni ne moraju biti metilirani (Swaroop, Kim i Forrest, 2010). S druge pak strane, kada se u špiljskim jedinkama metilacija inhibira, mnogi geni postaju jače eksprimirani te dolazi do djelomičnog spašavanja razvoja oka, potvrđujući važnost metilacije kao jednog od mehanizama degeneracije vida i očiju. (Gore i sur., 2018).

8. Zaključak

Špiljski okoliš predstavlja jedinstven sustav specifičnih okolišnih uvjeta koji dovode do evolucije špiljskih organizama. Konstantni uvjeti mraka i siromaštvo hranom stvaraju izrazite selektivne pritiske na špiljsku faunu, potičući i usmjeravajući nastanak određenih karakteristika koje nisu uobičajene u drugim okolišima van špilja. Takve troglomorfne karakteristike mogu se podijeliti na konstruktivne i regresivne, a razvrstavaju se u nekoliko skupina: morfološke, fiziološke, specijalne adaptacije i adaptacije ponašanja. Najznačajnija i najuočljivija obilježja špiljskih životinja jesu gubitak očiju i albinizam. Ova svojstva javljaju se kod različitih nesrodnih skupina organizama, ukazujući na konvergentnu evoluciju. Konstruktivne karakteristike nastaju ili *de novo* mutacijama, što je manje vjerojatno s obzirom na to da je to vrlo spor proces, ili pomoću već postojećih genetičkih polimorfizama unutar populacije na koje potom selekcija može djelovati. Regresivne pak karakteristike nastaju nakupljanjem mutacija koje su dozvoljene s obzirom da neko svojstvo (npr. vid) više nije potrebno, ili indirektnom selekcijom koja djeluje protiv tog svojstva. Međutim, uzimajući u obzir koliko promjena okoliša i uvjeta može biti intenzivna prilikom kolonizacije špilja, upitno je jesu li do sad nabrojani procesi dovoljno brzi kako bi omogućili preživljavanje jedinki unutar špilje. Iz tog se razloga smatra da fenotipska plastičnost igra značajnu ulogu pri kolonizaciji špiljskog okoliša, omogućavajući preživljavanje u novim uvjetima. Fenotipska plastičnost djeluje kao brz odgovor na promjenu okoliša što je i pokazano eksperimentima na ribi *A. mexicanus* gdje su uočene značajne promjene već unutar dvije godine držanja vanjskih jedinki u uvjetima mraka. Promjena u ekspresiji brojnih gena ukazuje na to kako transkripcijski faktori reaguju na okolišne uvjete mijenjajući ekspresiju gena. Novi fenotipovi mogu se pokazati adaptivnima i neadaptivnima. Oni neadaptivni biti će eliminirani dok će se adaptivni fiksirati u populaciji postupkom genetske asimilacije dovodeći do razvitka adaptacije na novi okoliš. Kombinacijom različitih evolucijskih mehanizama došlo je i do pojave albinizma u špiljskih životinja. Pigment u mračnom okolišu nema ulogu UV zaštite, niti kamuflaže, te njegova sinteza predstavlja gubitak dragocjene energije. No, melanin je važan i u imunološkom odgovoru. Iako je sinteza melanina blokirana u prvom koraku, funkcija melanina u imunološkom odgovoru ostala je sačuvana što sugerira na različite načine regulacije enzima ovog metaboličkog puta. Uz to, akumulacija L-tirozina (prekursora melanina) blokiranjem prvog koraka sinteze omogućava korištenje velikih količina L-tirozina u sintezi katekolamina. Katekolamini potom imaju utjecaj na manjak spavanja, poboljšano hranjenje i bolji odgovor na stres što je izrazito korisno u špiljskom okolišu, ukazujući na pleiotropnu razmjenu melanina i katekolamina. Ovakav sustav razmjene vidljiv je i kod gubitka očiju. Pojačana ekspresija gena *shh* kod špiljskih jedinki dovodi do degeneracije oči koje nemaju funkciju u mračnom okruženju, no istovremeno omogućava razvoj veće čeljusti i većeg broja okusnih pupoljaka što je važno za špiljski okoliš siromašan hranom. Proučavanjem specifičnih troglomorfnih karakteristika može se saznati puno o važnosti i razvoju određenih metaboličkih puteva kao i promjenama ekspresije gena te evolucijskim procesima koji

omogućavaju nastanak takvih adaptacija. Špiljski je sustav jedinstven zbog svojih okolišnih uvjeta koji iziskuju brzu adaptaciju što omogućava proučavanje evolucije u puno kraćim vremenskim razmjerima iz čega proizlaze brojni novi pogledi na različite procese kao što je fenotipska plastičnost. No, razumijevanje evolucije špiljskih životinja daleko je od kraja te će biti potrebna brojna nova istraživanja na širem rasponu organizama kako bi se rasvijetlili točni događaji i mehanizmi u podlozi opserviranih karakteristika.

9. Literatura

Ahearn G, Howarth FG (1982) 'Physiology of cave arthropods in Hawaii'. *J Exp Zool* 222:227–238

Aiello LC, Wheeler P (1995) 'The expensive-tissue hypothesis: the brain and the digestive system in human and primate evolution', *Curr. Anthropol.* 36: 199–221.

Albert FW, Kruglyak L (2015) 'The role of regulatory variation in complex traits and disease', *Nat Rev Genet* 16: 197–212.

Ashida, M. & Brey, P. T. (1995) Role of the integument in insect defense: pro-phenol oxidase cascade in the cuticular matrix. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 92: 10698–10702.

Aspiras AC, Rohner N, Martineau B, Borowsky RL, Tabin CJ (2015) 'Melanocortin 4 receptor mutations contribute to the adaptation of cavefish to nutrient-poor conditions', *Proc. Natl Acad. Sci. USA* 112: 9668–9673.

Aubin-Horth N, Renn SCP (2009) 'Genomic reaction norms: using integrative biology to understand molecular mechanisms of phenotypic plasticity', *Molecular Ecology* 18: 3763–3780.

Audus KL, Borchardt RT (1986) 'Characteristics of the large neutral amino acid transport system of bovine brain microvessel endothelial cell monolayers'. *J Neurochem* 47: 484–488. PubMed: 3734791.

Baldwin E, Beatty RA (1941) The pigmentation of cavernicolous animals I. The pigments of some isopod crustacea. *J Exp Biol* 18: 136–143.

Barr, TC (1960) 'A synopsis of cave beetles of the genus *Pseudanophthalmus* of the Mitchell Plain in southern Indiana (Coleoptera, Carabidae)', *American Midland Naturalist*, 63, 307–320.

Barr, TC (1968) 'Cave ecology and the evolution of troglobites', *Evolutionary Biology*, 2, 35–102.

Barrett RDH, Schluter D (2008) 'Adaptation from standing genetic variation', *Trends Ecol. Evol.* 23: 38–44.

Beale AD, Whitmore D, Moran D (2016) 'Life in a dark biosphere: a review of circadian physiology in "arrhythmic" environments', *J Comp Physiol B.*;186 (8): 947-968.

Bilandžija, H., Četković, H. and Jeffery, W.R. (2012), 'Evolution of albinism in cave planthoppers by a convergent defect in the first step of melanin biosynthesis', *Evolution & Development*, 14: 196-203.

- Bilandžija H, Ma L, Parkhurst A, Jeffery WR (2013) 'A potential benefit of albinism in *Astyanax* cavefish: downregulation of the *oca2* gene increases tyrosine and catecholamine levels as an alternative to melanin synthesis'. *PLoS One*. 25;8(11):e80823.
- Bilandžija, H., Laslo, M., Porter, M.L. et al. (2017) 'Melanization in response to wounding is ancestral in arthropods and conserved in albino cave species'. *Sci Rep* 7, 17148.
- Bilandžija H, Abraham L, Ma L, Renner KJ, Jeffery WR (2018) 'Behavioural changes controlled by catecholaminergic systems explain recurrent loss of pigmentation in cavefish'. *Proc. R. Soc. B* 285: 20180243.
- Bilandžija H. et al. (2020) 'Phenotypic plasticity as a mechanism of cave colonization and adaptation', *eLife* 2020;9:e51830
- Cahn, PH (1958) 'Comparative optic development in *Astyanax mexicanus* and two of its blind cave derivatives', *Bull. Am. Mus. Nat. Hist.* 11575-112.
- Camacho AI (1992) 'A classification of the aquatic and terrestrial subterranean environment and their associated fauna'. In: Camacho AI (ed) *The natural history of biospeleology*. Monografias del Museo Nacional de Ciencias Naturales. CSIC, Madrid, pp 135–168
- Cazals M, Juberthie-Jupeau LJ (1983) 'Ultrastructure of a tubular sternal gland in the males of *Speonomus hydrophilus* (Coleoptera: Bathyscinae)', *Can J Zool* 61:673–681
- Cartwright, RA, Schwartz, RS, Merry, AL, Howell, MM (2017) 'The importance of selection in the evolution of blindness in cavefish', *BMC Evol. Biol.* 17, 45.
- Casane, D, Retaux, S (2016) 'Evolutionary genetics of the cavefish *Astyanax mexicanus*', *Adv. Genet.* 95, 117–159.
- Cavodeassi F, Carreira-Barbosa F, Young RM, Concha ML, Allende ML, Houart C, Tada M, Wilson SW, (2005) 'Early stages of zebrafish eye formation require the coordinated activity of Wnt11, Fz5, and the Wnt/beta-catenin pathway', *Neuron* 47, 43–56.
- Cerenius, L. & Söderhäll, K. (2004) 'The prophenoloxidase-activating system in invertebrates', *Immunol. Rev.* 198, 116–126.
- Cerenius, L., Lee, B. L. & Söderhäll, K. (2008) 'The proPO-system: pros and cons for its role in invertebrate immunity', *Trends Immunol.* 29, 263–271.

Christensen, B. M., Li, J., Chen, C.-C. C. & Nappi, A. J. (2005) 'Melanization immune responses in mosquito vectors'. *Trends Parasitol.* 21: 192–199.

Cigna AA (2002) 'Modern trend(s) in cave monitoring', *Acta Carsol* 31:35–54

Colosimo PF et al. (2005) Widespread parallel evolution in sticklebacks by repeated fixation of *Ectodysplasin* alleles. *Science* 307, 1928–1933.

Culver DC (1982) 'Cave life', Harvard University Press, Cambridge

Culver DCPT (2009) 'The biology of caves and other subterranean habitats'. Oxford, UK: Oxford University Press.

Culver DC, Holsinger JR, Christman MC et al (2010) 'Morphological differences among eyeless amphipods in the genus *Stygobromus* dwelling in different subterranean habitats', *J Crustacean Biol* 30:68–74

Culver DC, Pipan T (2015) 'Shifting paradigms of the evolution of cave life', *Acta Carsologica* . 2015, Vol. 44 (3), p415-425. 11p.

Cveki, A, Piatigorsky J (1996) 'Lens development and crystallin gene expression: Many roles for Pax-6', *Bioessays* 18:621-630.

Darwin C (1872) 'On the origin of species by means of natural selection, or the preservation of favoured races in the struggle for life'. London, UK: John Murray

Derkarabetian S, Steinmann DB, Hedin M (2010) 'Repeated and time-correlated morphological convergence in cave-dwelling harvestmen (Opiliones, Laniatores) from montane western North America', *PLOS One* 5:e10388

Duboué ER, Keene AC, Borowsky RL (2011) 'Evolutionary convergence on sleep loss in cavefish populations', *Curr Biol* 21: 671–676.

Ducrest, A.-L., Keller, L. & Roulin, A. (2008) 'Pleiotropy in the melanocortin system, coloration and behavioural syndromes', *Trends Ecol. Evol.* 23, 502–510.

Durand JP (1983) 'Données et hypothèses sur l'évolution des Proteidae', *Bull Soc Zool Fr* 108:617–630

Ehrenreich IM, Pfennig DW (2016) 'Genetic assimilation: a review of its potential proximate causes and evolutionary consequences', *Annals of Botany*, 117 (5): 769–779.

Fernstrom JD, Fernstrom MH (2007) Tyrosine, phenylalanine, and catecholamine synthesis and function in the brain. *J Nutr* 137: 1539S–1547S. PubMed: 17513421.

Fišer Ž, Novak L, Luštrik R et al (2015) 'Light triggers habitat choice of eyeless subterranean but not of eyed surface amphipods', *Naturwissenschaften* 103:1–12

Cene Fišer, 'Chapter 5 - Adaptation: Morphological', Editor(s): William B. White, David C. Culver, Tanja Pipan, *Encyclopedia of Caves* (Third Edition), Academic Press, 2019, p. 33-39,

Fumey, J., Hinaux, H., Noirot, C. et al. (2018) 'Evidence for late Pleistocene origin of *Astyanax mexicanus* cavefish', *BMC Evol Biol*, 18-43

Gilbert SF, Epel D (2009) 'Ecological developmental biology: integrating epigenetics, medicine, and evolution', Sunderland, MA: Sinauer.

Ginet R, Decou V (1977) 'Initiation à la biologie et à l'écologie souterraines'. Delarge, Paris

Gore, AV, Tomins, KA, Iben, J et al. (2018) 'An epigenetic mechanism for cavefish eye degeneration', *Nat Ecol Evol* 2, 1155–1160.

Gorman, M. J., An, C., and Kanost, M. R. (2007) 'Characterization of tyrosine hydroxylase from *Manduca sexta*'. *Insect Biochem. Mol. Biol.* 37: 1327–1337.

Gorman, M. J., and Arakane, Y. (2010) 'Tyrosine hydroxylase is required for cuticle sclerotization and pigmentation in *Tribolium castaneum*'. *Insect Biochem. Mol. Biol.* 40: 267–273.

Graham DG, Tiffany SM, Vogel FS (1978) 'The toxicity of melanin precursors', *J Invest Dermatol* 70: 113–116.

Hadley NF, Ahearn GA, Howarth FG (1981) 'Water and metabolic relations of cave adapted and epigeal lycosid spiders in Hawaii', *J Arachnol* 9:215–222

Haldane JBS (1927) 'The mathematical theory of natural and artificial selection, part V: selection and mutation', *Proc. Camb. Phil. Soc.* 23, 838–844.

Herman, A, Brandvain, Y, Weagley, J, et al. (2018) 'The role of gene flow in rapid and repeated evolution of cave-related traits in Mexican tetra, *Astyanax mexicanus*', *Mol Ecol.*, 27: 4397– 4416.

Hervant F, Mathieu J, Barré H et al (1997) 'Comparative study on the behavioural, ventilatory, and respiratory responses of hypogean and epigeal crustaceans to long-term starvation and subsequent feeding', *Comp Biochem Physiol* 118:1277–1283

Hervant F, Mathieu J, Messana G (1998) 'Oxygen consumption and ventilation in declining oxygen tension and posthypoxic recovery in epigeal and hypogean crustaceans', *J Crustacean Biol* 18:717–727

Hervant F, Renault D (2002) 'Long-term fasting and realimentation in hypogean and epigean isopods: a proposed adaptive strategy for groundwater organisms', *J Exp Biol* 205:2079–2087

Hilton E et al. (2009) 'BCOR analysis in patients with OFCD and Lenz microphthalmia syndromes, mental retardation with ocular anomalies, and cardiac laterality defects', *Eur. J. Hum. Genet.* 17: 1325–1335.

Hinaux H, Poulain J, Da Silva C, Noirot C, Jeffery WR, Casane D, et al. (2013) 'De Novo Sequencing of *Astyanax mexicanus* Surface Fish and Pachón Cavefish Transcriptomes Reveals Enrichment of Mutations in Cavefish Putative Eye Genes', *PLoS ONE*, 8(1): e53553.

Hinaux, H. et al. (2015) 'Lens defects in *Astyanax mexicanus* cavefish: evolution of crystallins and a role for alphaA-crystallin', *Dev. Neurobiol.* 75, 505–521.

Hirayama J, Cho S, Sassone-Corsi P (2007) 'Circadian control by the reduction/oxidation pathway: catalase represses light-dependent clock gene expression in the zebrafish'. *PNAS* 104:15747–15752.

Hooven, TA, Yamamoto, Y, Jeffery, WR (2005) 'Blind cavefish and heat shock protein chaperones: a novel role for hsp90 α in lens apoptosis', *Int. J. Dev. Biol.* 48, 731–738.

Howarth FG (1980) 'The zoogeography of specialized cave animals: a bioclimatic model', *Evolution* 34:394–406

Howarth FG (1993) 'High-stress subterranean habitats and evolutionary change in cave-inhabiting arthropods', *Am Nat* 142:S65–S77

Howarth FG, Moldovan OT (2018) 'The Ecological Classification of Cave Animals and Their Adaptations'. In: Moldovan O., Kováč L., Halse S. (eds) *Cave Ecology*. Ecological Studies (Analysis and Synthesis), vol 235. Springer, Cham.

Howarth FG, Moldovan OT (2018) 'Where Cave Animals live'. In: Moldovan O., Kováč L., Halse S. (eds) *Cave Ecology*. Ecological Studies (Analysis and Synthesis), vol 235. Springer, Cham.

Hüppop K (1985) 'The role of metabolism in the evolution of cave animals', *NSS Bulletin* 47:136–146

Hüppop K (1987) 'Food-finding ability in cave fish (*Astyanax fasciatus*)', *Int J Speleol* 16: 59 – 66

Hüppop K (2000) 'How do cave animals cope with the food scarcity in caves?' In: Wilkens H, Culver DC, Humphreys WF (eds) *Subterranean ecosystems*. Elsevier, Amsterdam, pp 159–188

Jeffery WR, Martasian DP (1998) 'Evolution of Eye Regression in the Cavefish *Astyanax*: Apoptosis and the Pax-6 Gene', *American Zoologist* 38 (4): 685–696.

- Jeffery WR (2006) Regressive evolution of pigmentation in the cavefish *Astyanax*. *ISR J Ecol Evol* 52: 405–422.
- Juberthie-Jupeau L, Cazals M (1984) 'Accouplement et comportement sexuel chez un Bathysciinae souterrain, *Speonomus delarouzei* Fairm', *Behav Proc* 9:147–155
- Kowalko JE (2019) 'Chapter 4 - Adaptations: Behavioral', In: Editor(s): William B. White, David C. Culver, Tanja Pipan, *Encyclopedia of Caves* (Third Edition), Academic Press, p. 24-32,
- Krishnan J, Rohner N (2017) 'Cavefish and the basis for eye loss', *Phil. Trans. R. Soc. B* 372: 20150487.
- Kuštor V, Novak T (1980) 'Individual differences in trapping activity of two underground beetle species', *Mem Biospeol* 7:77–84
- Kvetnansky R, Sabban EL, Palkovits M (2009) 'Catecholaminergic systems in stress: structural and molecular genetic approaches', *Physiol Rev* 89: 535–606.
- David C. Lahti DC et al. (2009), 'Relaxed selection in the wild', *Trends in Ecology & Evolution* 24: 9, 487-496.
- Langecker TG, Schmale H, Wilkens H (1993) 'Transcription of the opsin gene in degenerate eyes of cave dwelling *Astyanax fasciatus* (Teleostei, Characidae) and its conspecific ancestor during early ontogeny', *Cell Tiss. Res*, 273:183-192.
- Langecker TG, Schmale H, Wilkens H (1995) 'Developmental constraints in regressive evolution: Studies of the expression of the 7s-crystallin gene in the developing lens of cave-dwelling *Astyanax fasciatus* (Cuvier, 1819) (Teleostei, Characidae) by in situ hybridization' *J. Zoo. Syst. Evol. Res.* 33: 123-128.
- Langecker TG (2000) 'The effect of continuous darkness on cave ecology and cavernicolous evolution'. In: Wilkens H, Culver DC, Humphreys WF (eds) *Ecosystems of the world* 30: Subterranean ecosystems. Elsevier Science, Amsterdam, pp 135–157
- Lauritzen SE, (2018) 'Physiography of the Caves' in Moldovan O., Kováč L., Halse S. (eds) *Cave Ecology*. Ecological Studies (Analysis and Synthesis), vol 235. Springer, Cham., pp. 7 – 21
- Lee J-A, Anholt RRH, Cole GJ (2008) 'Olfactomedin-2 mediates development of the anterior central nervous system and head structures in zebrafish', *Mech. Dev.* 125: 167–181.
- Lee, K. P., Simpson, S. J. & Wilson, K. (2008) 'Dietary protein-quality influences melanization and immune function in an insect', *Funct. Ecol.* 22, 1052–1061.

Ledon-Rettig CC, Pfennig DW, Chunco AJ, Dworkin I (2014) 'Cryptic genetic variation in natural populations: a predictive framework', *Integrative and Comparative Biology* 54: 783–793.

Lévesque, M., Feng, Y., Jones, R. A. & Martin, P. (2013) 'Inflammation drives wound hyperpigmentation in zebrafish by recruiting pigment cells to sites of tissue damage', *Dis. Model. Mech.* 6: 508–515

Loosli F, Staub W, Finger-Baier KC, Ober EA, Verkade H, Wittbrodt J, Baier H (2003) 'Loss of eyes in zebrafish caused by mutation of *chokh/rx3*', *EMBO Rep.* 4: 894–899.

Ma, L., Parkhurst, A. & Jeffery, W.R. (2014) 'The role of a lens survival pathway including *sox2* and *α A-crystallin* in the evolution of cavefish eye degeneration', *EvoDevo* 5, 28.

Macalady JL, Jones DS, Lyon EH (2007) 'Extremely acidic, pendulous cave wall biofilms from the Frasassi cave system, Italy', *Environ Microbiol* 9:1402–1414

Malard F, Hervant F (2012) 'Responses to low oxygen'. In: White WB, Culver DC (eds) *Encyclopedia of caves*, 2nd edn. Academic, Amsterdam, pp 651–658

McCauley, D. W., Hixon, E., and Jeffery, W. R. (2004) 'Evolution of pigment cell regression in the cavefish *Astyanax*: a late step in melanogenesis'. *Evol. Dev.* 6: 209–218.

McGaugh, S. E. et al. (2014) 'The cavefish genome reveals candidate genes for eye loss', *Nat. Commun.* 5, 5307.

Moldovan O, Juberthie C (1994) 'Étude comparée et ultrastructurale de la glande sternale de quelques coléoptères Bathysciinae (Coleoptera, Catopidae)', *Mem Biospeol* 21:97–101

Moldovan O, Paredes Bartolome C (1998/1999) 'Fractal analysis of the behaviour of cave beetles (Coleoptera: Cholevidae: Bathysciinae)', *Trav Inst Speol "E. Racovitza"* 37–38:217–222

Moldovan OT, Jalzic B, Erichsen E (2004) 'Adaptation of the mouthparts in some subterranean Choleviniae (Coleoptera, Leiodidae)'. *Nat Croat* 13:1–18

Moldovan OT, Kováč L, Halse S (2018) 'Cave Ecology' Jolimont, Western Australia, Australia: Springer

Moldovan OT et al. (2018) 'Preamble' In: Moldovan O., Kováč L., Halse S. (eds) *Cave Ecology*. Ecological Studies (Analysis and Synthesis), vol 235. Springer, Cham.

Monuki, ES (2007) 'The Morphogen Signaling Network in Forebrain Development and Holoprosencephaly', *Journal of Neuropathology & Experimental Neurology*, 66: 566–575.

Moran, D., Softley, R., & Warrant, E. J. (2015). 'The energetic cost of vision and the evolution of eyeless Mexican cavefish', *Science Advances*, 1(8), e1500363.

Morris MRJ (2014), 'Plasticity-Mediated Persistence in New and Changing Environments', *International Journal of Evolutionary Biology*, vol. 2014

Nijhout HF (2003) 'Development and evolution of adaptive polyphenisms', *Evolution and Development* 5: 9–18.

Ouyang M, Hellman K, Abel T, Thomas SA (2004) 'Adrenergic signaling plays a critical role in the maintenance of waking and in the regulation of REM sleep', *J Neurophysiol* 92: 2071–2082.

Pagano C, Siauciunaite R, Idda ML, Ruggiero G, Ceinos RM, Pagano M, Frigato E, Bertolucci C, Foulkes NS, Vallone D. (2018) 'Evolution shapes the responsiveness of the D-box enhancer element to light and reactive oxygen species in vertebrates'. *Scientific Reports* 8:13180.

Parzefall, J., Kraus, C., Tobler, M. and Plath, M. (2007) 'Photophilic behaviour in surface- and cave-dwelling Atlantic mollies *Poecilia mexicana* (Poeciliidae)', *Journal of Fish Biology*, 71: 1225-1231.

Pfennig DW, Ehrenreich IM (2014) 'Towards a gene regulatory network perspective on phenotypic plasticity, genetic accommodation and genetic assimilation', *Molecular Ecology* 23: 4438–4440.

Pigliucci M, Murren CJ, Schlichting CD (2006) 'Phenotypic plasticity and evolution by genetic assimilation', *Journal of Experimental Biology* 209: 2362–2367.

Plath, M, Heubel, KU, Garcia de Leon, FJ, Schlupp, I., (2005) 'Cave molly females (*Poecilia mexicana*, Poeciliidae, Teleostei) like well-fed males', *Behav. Ecol. Sociobiol.* 58, 144–151.

Pottin, K., Hinaux, H., Rétaux, S. (2011) 'Restoring eye size in *Astyanax mexicanus* blind cavefish embryos through modulation of the Shh and Fgf8 forebrain organising centres', *Development* 138 (12): 2467–2476.

Poulson TL, Jegla TC (1969) 'Circadian rhythms in cave animals', In: *Actes of the 4th international congress of speleology*, Ljubljana, Yugoslavia, 4–5:193–195

Protas, M. E., et al. (2006) 'Genetic analysis of cavefish reveals molecular convergence in the evolution of albinism', *Nat. Genet.* 38: 107–111.

Protas ME, Trontelj P, Patel NH (2011) 'Genetic basis of eye and pigment loss in the cave crustacean, *Asellus aquaticus*'. *Proc Natl Acad*

Protas M, Jeffery WR (2012) 'Evolution and development in cave animals: from fish to crustaceans', *Wiley Interdiscip. Rev Dev Biol* 1: 823–845

- Raymond, PA, Barthel, LK, Bernardos, RL, Perkowski, JJ (2006) Molecular characterization of retinal stem cells and their niches in adult zebrafish. *BMC Dev. Biol.* 6, 36.
- Riley, P. A. 1997. 'Melanin'. *Int. J. Biochem. Cell Biol.* 11: 1235–1239.
- Roff DA (1992) 'The evolution of life histories: theory and analysis', Chapman & Hall, London
- Romero A, Green SM, Romero A, Lelonek MM, Stropnický KC (2003) 'One eye but no vision: cave fish with induced eyes do not respond to light', *J. Exp. Zool. B Mol. Dev. Evol.* 300, 72–79.
- Seritrukul, P, Gross, JM (2014) 'Expression of the de novo DNA methyltransferases (dnmt3–dnmt8) during zebrafish lens development', *Dev. Dynam.* 243, 350–356.
- Wan, Y et al. (2016) 'The ciliary marginal zone of the zebrafish retina: clonal and time-lapse analysis of a continuously growing tissue', *Development* 143, 1099–1107.
- Schlegel P, Bulog B (1997) Population-specific behavioral electrosensitivity of the European blind cave salamander, *Proteus anguinus*. *J Physiol* 91:75–79
- Schlichting CD, Pigliucci M (1998) 'Phenotypic evolution: a reaction norm perspective', Sunderland, MA: Sinauer
- Shi X, Bosenko DV, Zinkevich NS, Foley S, Hyde DR, Semina EV, Vihtelic TS (2005) 'Zebrafish *pitx3* is necessary for normal lens and retinal development', *Mech. Dev.* 122: 513–527.
- Soares D, Yamamoto Y, Strickler AG et al. (2004) 'The lens has a specific influence on optic nerve and tectum development in the blind cavefish *Astyanax*'. *Dev Neurosci* 26:308–317
- Söderhäll, K. & Cerenius, L. (1998) 'Role of the prophenoloxidase-activating system in invertebrate immunity', *Curr. Opin. Immunol.* 10: 23–28
- Stern DB, Crandall KA, (2018) 'The Evolution of Gene Expression Underlying Vision Loss in Cave Animals', *Molecular Biology and Evolution*, 35 (8): 2005–2014.
- Stirzaker, C, Taberlay, PC, Statham, AL, Clark, SJ, (2014) 'Mining cancer methylomes: prospects and challenges', *Trends Genet.* 30, 75–84.
- Stricker EM, Zigmond MJ (1984) 'Brain catecholamines and the central control of food intake', *Int J Obes* 8: 39–50.

- Strickler, AS, Byerly, MS, Jeffery, WR (2007) 'Lens gene expression analysis reveals downregulation of the anti-apoptotic chaperone α A-crystallin during cavefish eye degeneration', *Dev. Genes Evol.* 217: 771–782.
- Sugumaran, M. (2002) 'Comparative biochemistry of eumelanogenesis and the protective roles of phenoloxidase and melanin in insects', *Pigment Cell Res.* 15: 2–9.
- Sugumaran, M. & Barek, H. (2016) 'Critical analysis of the melanogenic pathway in insects and higher animals', *Int. J. Mol. Sci.* 17, 1–24
- Sultan SE (2007) 'Development in context: the timely emergence of eco-devo', *Trends in Ecology & Evolution* 22: 575–582.
- Swaroop, A, Kim, D, Forrest, D (2010) Transcriptional regulation of photoreceptor development and homeostasis in the mammalian retina. *Nat. Rev. Neurosci.* 11, 563–576.
- Trontelj P (2019) Chapter 6 - Adaptation and natural selection in caves, Editor(s): William B. White, David C. Culver, Tanja Pipan, *Encyclopedia of Caves (Third Edition)*, Academic Press, 40-46.
- Trajano E, Menna-Barreto L (1995) 'Locomotor activity pattern of Brazilian cave catfishes under constant darkness (Siluriformes, Pimelodidae)'. *Biol Rhythm Res* 26:341–353
- True, J. R. (2003) 'Insect melanism: the molecules matter', *Trends Ecol. Evol.* 18, 640–647.
- van de Water S, van de Wetering M, Joore J, Esseling J, Bink R, Clevers H, Zivkovic D (2001) 'Ectopic Wnt signal determines the eyeless phenotype of zebrafish masterblind mutant', *Development* 128 (20): 3877-88.
- Vavricka, C. J., Christensen, B. M., and Li, J. (2010) 'Melanization in living organisms: a perspective of species evolution', *Protein Cell* 1: 830–841.
- Vogt G, Štrus J (1999) 'Hypogean life-style fuelled by oil', *Naturwissenschaften* 86:43–45
- Voituron Y, De Fraipont M, Issartel J et al (2011) 'Extreme lifespan of the human fish (*Proteus anguinus*): a challenge for ageing mechanisms.', *Biol Lett* 7:105–107
- Waddington CH (1953) 'Genetic assimilation of an acquired character'. *Evolution* 7: 118–126.
- White WB (1997) 'Thermodynamic equilibrium, kinetics, activation barriers, and reaction mechanisms for chemical reactions in karst terrains', *Environ Geol* 30:46–58

- White WB, Culver DC (2012) 'Cave, definition of' in White WB, Culver DC (eds) *Encyclopedia of caves*. 2nd edn. Academic, Amsterdam, pp. 103–107
- Wigley TML, Brown MC (1971) 'Geophysical applications of heat and mass transfer in turbulent pipe flow', *Bound-Layer Meteorol* 1:300–320
- Wigley TML, Brown MC (1976) 'The physics of caves'. In: Ford TD, Cullingford CHD (eds) *The science of speleology*. Academic, London, pp 329–358
- Wilhelm F, Schindler D (2000) 'Reproductive strategies of *Gammarus lacustris* (Crustacea: Amphipoda) along an elevation gradient'. *Funct Ecol* 14:413–422
- Wittkopp PJ, Kalay G (2012) 'Cis-regulatory elements: molecular mechanisms and evolutionary processes underlying divergence', *Nature Reviews. Genetics* 13: 59–69.
- Xu, F et al. (2010) 'Molecular and enzymatic profiles of mammalian DNA methyltransferases: structures and targets for drugs', *Curr. Med. Chem.* 17, 4052–4071.
- Yamamoto Y, Jeffery WR (2000) 'Central role for the lens in cave fish eye degeneration', *Science* 289: 631–633.
- Yamamoto, Y, Stock, DW, Jeffery, WR, (2004) 'Hedgehog signaling controls eye degeneration in blind cavefish', *Nature* 431: 844–847.
- Yamamoto Y, Byerly MS, Jackman WR, Jeffery WR (2009) 'Pleiotropic functions of embryonic sonic hedgehog expression link jaw and taste bud amplification with eye loss during cavefish evolution', *Dev Biol.* 330 (1): 200-11.
- Yi, Z., et al. (2003) 'A 122.5-kilobase deletion of the P gene underlies the high prevalence of oculocutaneous albinism type 2 in the Navajo population'. *Am. J. Hum. Genet.* 72: 62–72.
- Yoshizawa M, Jeffery WR (2008) 'Shadow response in the blind cavefish *Astyanax* reveals conservation of a functional pineal eye', *J Exp Biol* 211:292–299
- Yoshizawa, M, Goricki, S, Soares, D, Jeffery, WR (2010) 'Evolution of a behavioral shift mediated by superficial neuromasts helps cavefish find food in darkness', *Curr. Biol.* 20, 1631–1636.
- Zhu, H, Wang, G i Qian, J, (2016) 'Transcription factors as readers and effectors of DNA methylation', *Nat. Rev. Genet.* 17, 551–565.

10. Sažetak

Evolucija špiljskih životinja jedinstven je primjer za proučavanje adaptacije organizama na ekstremni okoliš. Špiljski okoliš izrazito je stresan, ističući se uvjetima mraka i manjka hrane koji potiču razvitak specifičnih adaptacija, posebice gubitka očiju i pigmenta. Proučavanjem razvitka ovih, ali i drugih konstruktivnih i regresivnih karakteristika, dobiva se uvid u procese i mehanizme koji potiču evoluciju špiljske faune. Špilje i njeni organizmi predstavljaju model za proučavanje evolucijskih principa kao što su prirodna selekcija, genetički drift, genetski polimorfizmi te fenotipska plastičnost i genetska asimilacija. Ovi mehanizmi djeluju izrazito brzo budući da je prelazak životinja iz vanjskog u špiljski okoliš proces koji donosi velike promjene za organizam, gurajući prema brzom razvitku adaptacija. To čini ovaj model idealnim za proučavanje evolucije općenito, s obzirom na brzinu razvoja adaptacija. Cilj ovog rada jest rasvijetliti mehanizme koje vode do specifične evolucije špiljskih životinja i stjecanja karakteristika gubitka vida i pigmenta.

Ključne riječi: evolucija špiljskih životinja, troglomorfizam, fenotipska plastičnost, genetska asimilacija, albinizam, redukcija očiju

11. Summary

The evolution of cave animals presents a unique example for studying organism's adaptations to an extreme environment. The cave environment is particularly stressful regarding conditions such as the lack of light and food, which in turn drive the development of specific adaptations such as the loss of eyes and pigment. Studying these, and many other constructive and regressive characteristics gives an insight into the processes and mechanisms which push the evolution of cave fauna. Caves and organisms within them represent a model for examining evolutionary principles such as natural selection, genetic drift, genetic polymorphism, phenotypic plasticity, and genetic assimilation. Since entering the cave environment imposes great changes to the organism, these mechanisms have to act fast for these animals to adapt and survive, making caves an ideal model for studying evolution and adaptation. This paper tries to shed some light on the mechanisms leading to the specific evolution of cave animals and the development of adaptations like eye and pigment loss.

Key words: evolution of cave animals, troglomorphism, phenotypic plasticity, genetic assimilation, albinism, eye reduction

12. Životopis

Moje ime je Eva Marković, rođena sam 22.9.1999. u Koprivnici u Republici Hrvatskoj. U Koprivnici sam pohađala osnovnu školu „Braća Radić“ u periodu između 2006. i 2014. godine, kao i gimnaziju „Fran Galović“, opći smjer, od 2014. do 2018. godine. Tijekom srednjoškolskog obrazovanja, 2017. godine, polažem C2 razinu engleskog jezika (C2 Proficiency – Cambridge English Certifications). Nakon završene gimnazije, obrazovanje nastavljam na Prirodoslovno-matematičkom fakultetu Sveučilišta u Zagrebu gdje 2018. godine započinjem preddiplomski studij molekularne biologije. Tijekom preddiplomskog studija stječem STEM stipendiju Ministarstva znanosti i obrazovanja Republike Hrvatske. Također, 2019. godine sudjelujem u organizaciji i izvedbi Simpozija studenata bioloških usmjerenja (SiSB) kao i u organizaciji i izvedbi radionice u sklopu Noći biologije (Dan i noć na PMF-u).