

UNIVERZA V LJUBLJANI
BIOTEHNIŠKA FAKULTETA
ODDELEK ZA BIOLOGIJO

Luka Jejčič

**BLIŽNJE ELEKTRIČNO POLJE KOT KAZALNIK
FIZIOLOŠKEGA IN ONTOGENETSKEGA STANJA PRI
MOKARJU
(*Tenebrio molitor*)**

DIPLOMSKO DELO
Univerzitetni študij

Ljubljana, 2008

UNIVERZA V LJUBLJANI
BIOTEHNIŠKA FAKULTETA
ODDELEK ZA BIOLOGIJO

Luka JEJČIČ

**BLIŽNJE ELEKTRIČNO POLJE KOT KAZALNIK FIZIOLOŠKEGA
IN ONTOGENETSKEGA STANJA PRI MOKARJU
(*Tenebrio molitor*)**

DIPLOMSKO DELO
Univerzitetni študij

**NEAR ELECTRIC FIELD AS A MONITOR OF PHYSIOLOGIC AND
ONTOGENETIC STATS OF A MEALWORM
(*Tenebrio molitor*)**

GRADUATION THESIS
University Studies

Ljubljana, 2008

Ta izdelek je zaključek univerzitetnega dodiplomskega študija biologije na Biotehniški fakulteti univerze v Ljubljani.

Vse raziskave v so bile opravljene na inštitutu BION, Inštitutu za bioelektromagnetiko in novo biologijo.

Komisija za dodiplomski študij, oddelka za biologijo je dne 16.6.2006 odobrila diplomsko delo z naslovom Bližnje električno polje kot kazalnik fiziološkega in ontogenetskega stanja pri mokařju (*Tenebrio molitor*). Za mentorja je bil imenovan prof. dr. Igor Jerman, za somentorja doc. dr. Peter Stušek in za recenzenta prof. dr. Kazimir Drašlar

Komisija za oceno in zagovor:

Predsednik komisije: doc. dr. Gregor Zupančič

Univerza v Ljubljani, Biotehniška fakulteta, Oddelek za biologijo

Član: prof. dr. Kazimir Drašlar

Univerza v Ljubljani, Biotehniška fakulteta, Oddelek za biologijo

Član: doc. dr. Peter Stušek

Univerza v Ljubljani, Biotehniška fakulteta, Oddelek za biologijo

Član: prof. dr. Igor Jerman

Inštitut BION

Datum zagovora: 2.6.2008

To diplomsko delo je plod lastnega raziskovalnega dela. Podpisani se strinjam z objavo diplomskega dela v polnem tekstu na spletni strani Digitalne knjižnice Biotehniške fakultete. Izjavljam, da je diplomsko delo, ki sem ga oddal v elektronski obliki, identično tiskani verziji.

Luka Jejčič

KLJUČNA DOKUMENTACIJSKA INFORMACIJA

ŠD Dn

DK 591.1:537:595.76:(043.2)=163.6

KG elektromagnetno polje/bližnje električno polje/fiziološko stanje/ontogenetsko stanje/*Tenebrio molitor*/mokač

AV Jejčič Luka

SA Jerman Igor (mentor)/ Stušek Peter (somentor)

KZ SI- 1000 Ljubljana, Večna pot 111

ZA Univerza v Ljubljani, Biotehniška fakulteta, Oddelek za biologijo

LI 2008

IN BLIŽNJE ELEKTRIČNO POLJE KOT KAZALNIK FIZIOLOŠKEGA IN
ONTOGENETSKEGA STANJA PRI MOKARJU(*Tenebrio molitor*)

TD Diplomski naloga (Univerzitetni dodiplomski študij)

OP XI, 43 str., 18 sl., 10 pregl., 40 vir.

IJ sl

JI sl/en

AI V diplomski nalogi smo ugotavljali povezavo med absorpcijo, transmisijo in emisijo (ATE) bližnjega električnega polja in fiziološkim ter ontogenetskim stanjem mokača (*Tenebrio molitor*). Princip meritev je temeljil na prevajanju (absorpcija in emisija) bližnjega električnega polja skozi organizem, ki deluje kot posrednik med oddajnim sistemom, ki predstavlja vir zunanega bližnjega električnega polja, in detekcijskim sistemom, ki oddano bližnje polje organizma prestreže oz. izmeri. Tako pri hroščkih kot pri ličinkah smo dobili vrednost korelacijskega koeficienta med maso in ATE okoli 0.5, kar kaže, da ATE ni odvisna le od fizikalnih absorpcijskih parametrov. Poleg tega smo ugotovili, da imajo po fiziološkem stresu (utrujanju) organizmi manjšo varianco vrednosti absorpcije kot pred utrujanjem. Po fiziološkem stresu se tudi poveča vrednost korelacijskega koeficienta med absorpcijo in maso (0.62). Oboje skupaj kaže na povezavo fiziološkega stanja z ATE. Pri poskusih vpliva levitev in zabubljenj na absorpcijo smo ugotovili, da se med levitvijo vrednosti ATE statistično značilno povečajo ($P \leq 0.018$), ni pa statistično značilne razlike med vrednostmi pred in po zabubljenju. Izvedli smo tudi primerjavo vrednosti ATE med živimi in mrtvimi organizmi. Tako pri hroščih kot pri ličinkah imajo živi organizmi nižje vrednosti ATE kot mrtvi. Iz vseh rezultatov lahko vidimo, da so potrebne še dodatne preiskave za določitev uporabnosti meritev ATE bližnjega električnega za določanje fizioloških in ontogenetskih stanj organizmov.

KEY WORDS DOCUMENTATION

DN Dn

DC 591.1:537:595.76:(043.2)=163.6

CX electromagnetc field/near electric field/physiologic state/ontogenetic state/*Tenebrio molitor*/mealworm

AU Jejčič Luka

AA Jerman Igor (supervisor)/ Stušek Peter (co-supervisor)

PP SI- 1000 Ljubljana, Večna pot 111

PB University of Ljubljana, Biotechnical faculty, Department of biology

PY 2008

TI Near electric field as a monitor of physiologic and ontogenetic stats of a mealworm (*Tenebrio molitor*)

DT Graduation Thesis (University studies)

NO XI, 43 p., 18 fig., 10 tab., 40 ref.

LA sl

AL sl/en

AB In my diploma work the relation between the absorption of near electric field and the physiologic and ontogenetic state of mealworm (*Tenebrio molitor*) was approached. The principles of measurement employed were based on the conduction (absorption and emission) of near electric field through the organism acting as the mediator between the emitting system, which was a source of the external near electric field, and the detection system for intercepting and measuring the near field emitted by the organism. The value of the correlation coefficient between the mass and absorption, transmittion, and emission (ATE) equalled 0.5 for beetles as well as the larvae, thus showing the absorption was not dependent on the physical parameters of absorption only. Other finding was that the physiologic stress (fatigue) caused smaller variance of ATE value in organisms than in the period preceding the stress. After the period of physiologic stress the value of the correlation coefficient between the mass and absorption increases (0.62) as well. Both facts show that physiologic state and ATE are interrelated. Experimenting how skin shedding and pupation influence the ATE we found that during the process of skin shedding the values of absorption showed statistically significant growth ($P \leq 0.018$). Though there is no difference in ATE values before and after skin shedding. We also compared ATE values between dead and alive beetles and larvae. ATE values of dead animals were significantly higher. Considering all the results we may conclude that measurement of near electric field as applicable method for determining the physiologic and ontogenetic states of the organisms steal needs lot of testing to be evaluated.

KAZALO VSEBINE

KLJUČNA DOKUMENTACIJSKA INFORMACIJA (KDI)	III
KEY WORDS DOCUMENTATION (KWD)	IV
KAZALO VSEBINE	V
KAZALO SLIK	VII
KAZALO PREGLEDNIC	IX
OKRAJŠAVE IN SIMBOLI	X
1 UVOD	1
1.1 DELOVNE HIPOTEZE	2
2 PREGLED OBJAV	3
2.1. PRINCIP DELOVANJA MERITEV ATE BLIŽNJEGA ELEKTRIČNEGA POLJA ORGANIZMA	3
2.2 SKLOPITVE ZUNANJEGA ELEKTRIČNEGA, MAGNETNEGA IN ELEKTROMAGNETNEGA POLJA Z BIOLOŠKIM ELEKTROMAGNETNIM POLJEM	3
2.2.1 Sklopitev z zunanjim električnim poljem	3
2.2.2 Sklopitve z zunanjim magnetnim poljem	4
2.2.3 Sklopitve z elektromagnetnim valovanjem	5
2.2.3.1 Sklopitve z elektromagnetnim valovanjem v pasu RF/MW	6
2.2.3.1.1 Netermični prenos E na organizem	6
2.3 LASTNOSTI BLIŽNJEGA IN DALJNEGA ELEKTROMAGNETNEGA POLJA	7
2.4 ELEKTRIČNA IN ELEKTROMAGNETNA SEVANJA, KI JIH PRODUCIRA ŽIV ORGANIZEM	10
2.4.1 Električno polje	10
2.4.1.1 MHz področje	10
2.4.1.2 kHz področje	11
2.4.2 Elektromagnetno polje	11
2.5 VLOGA ELEKTRIČNIH POLJ V MORFOGENEZI	11
2.5.1 Elektrofiziologija organizacijskih centrov	12
2.5.2 Kontrola rasti po embriogenezi	13
2.9 POSKUSNI OBJEKT, MOKAR (TENEBRIO MOLITOR)	13
3 MATERIAL IN METODE DELA	15
3.1 MERILNI SISTEM	15

<u>3.2 TESTNE ŽIVALI V POSKUSU</u>	18
<u>3.3. PROTOKOL MERITEV</u>	18
<u>3.3.1 Poskus primerjave ATE med živimi in mrtvimi organizmi</u>	19
<u>3.3.2 Poskus masa/ ATE bližnjega električnega polja</u>	19
<u>3.3.3 Poskus odvisnosti ATE bližnjega električnega polja od utrujanja</u>	19
<u>3.3.4 Vpliv levitev in zabubljenj na ATE bližnjega električnega polja</u>	20
<u>3.4 ANALIZA PODATKOV</u>	21
<u>4 REZULTATI IN DISKUSIJA</u>	23
<u>4.1 REZULTATI</u>	23
<u>4.1.1 Poskus masa/ ATE bližnjega el. polja</u>	23
<u>4.1.1.1 Hrošči</u>	23
<u>4.1.1.2 Ličinke</u>	24
<u>4.1.2 Poskus odvisnosti ATE bližnjega el. polja od utrujanja</u>	25
<u>4.1.3 Vpliv levitev in zabubljenj na ATE bližnjega el. polja</u>	28
<u>4.1.3.1 Vpliv levitev</u>	28
<u>4.1.3.2 Vpliv zabubljenj</u>	30
<u>4.1.4 Primerjava vrednosti ATE med živimi in mrtvimi organizmi</u>	32
<u>4.1.4.1 Ličinke</u>	32
<u>4.1.4.2 Hrošči</u>	33
<u>4.2 DISKUSIJA</u>	35
<u>4.2.1 Masa/ ATE bližnjega el. polja</u>	35
<u>4.2.2 Vpliv utrujanja na ATE bližnjega električnega polja</u>	35
<u>4.2.3 Vpliv levitev in zabubljenj na ATE bližnjega el. polja</u>	36
<u>4.2.3 Primerjava vrednosti ATE med živimi in mrtvimi organizmi</u>	37
<u>5 SKLEPI</u>	38
<u>6 POVZETEK</u>	39
<u>7 VIRI</u>	41
<u>7.1 CITIRANI VIRI</u>	41
<u>8.2 DRUGI VIRI</u>	43

KAZALO SLIK

Slika 1: Elektromagnetno valovanje.(Fundamentals of ..., 2005).....	8
Slika 2: Električne in magnetne komponente v bližnjem polju okoli električnega naboja (Fundamentals of..., 2005).....	9
Slika 3: Hrošč mokař (<i>Tenebrio molitor</i>).....	13
Slika 4: Kletka z oddajnikom in senzorjem. Po rdečem kablju pride signal na oddajnik. Modri kabl je povezan s senzorjem (litijevo gumb baterijo). Kletka ima vhod in izhod, ki sta med poskusi zaprta.....	16
Slika 5: Shema detekcijskega sistema, prirejeno po Škarja s sod. (2005).....	17
Slika 6: Vezje vhodne stopnje (visokoupornostna predojačevalna stopnja).....	17
Slika 7: Primer izpisa vrednosti signala (napetost na senzorju v odvisnosti od časa). A-B so vrednosti signala ozadja. B-C so vrednosti signala meritve. Pri B smo meritev prekinili, da smo lahko vstavili poskusni objekt v kletko. Izmerjene vrednosti signala korespondirajo intenzivnosti bližnjega električnega polja na mestu senzorja. Zaporedne meritve so se izvajale na vsakih 300ms.....	19
Slika 8: Shematski prikaz principa meritev ATE pri levitvah in zabubljenjih. Krogci 1, 2, 3 in 4 predstavljajo zaporedne meritve, pri čemer se je zgodila levitev/ zabubljenje med 2. in 3. meritvijo. Časovni razmik med dvema meritvama je bil 2 do 3 dni.....	20
Slika 9: Odvisnost ATE bližnjega el. polja od mase pri hroščih mokařa (<i>Tenebrio molitor</i>). Vrednost signala je sorazmerna z vrednostmi ATE bližnjega električnega polja skozi organizem. Na grafu je označena trendna črta ter črti, ki označujeta 95% interval zaupanja.....	24

Slika 10: Odvisnost bližnjega el. polja od mase ličink mokařja (<i>Tenebrio molitor</i>). Vrednost signala je sorazmerna ATE bližnjega električnega polja skozi organizem. Na grafu je označena trendna črta ter črti, ki označujeta 95% interval zaupanja.....	25
Slika 11: Primerjava vrednosti korelacijskih koeficientov med maso in ATE bližnjega el. polja pred in po utrujanju.....	27
Slika 12: Primerjava vrednosti determinacijskih koeficientov med maso in ATE bližnjega el. polja pred in po utrujanju.....	28
Slika 13: Primerjava vrednosti ATE bližnjega el. polja v času levitve in povprečne vrednosti pred in po levitvi za posamezne levitve. Vrednosti signala so sorazmerne ATE bližnjega električnega polja.....	29
Slika 14: Primerjava vrednosti ATE bližnjega el. polja pred levitvijo in po levitvi za posamezne levitve. Vrednosti signala so sorazmerne ATE bližnjega električnega polja....	30
Slika 15: Primerjava vrednosti ATE bližnjega el. polja ob zabubljenju in povprečne vrednosti pred in po zabubljenju za posamezna zabubljenja. Vrednosti signala so sorazmerne z ATE bližnjega električnega polja.....	31
Slika 16: Primerjava vrednosti ATE bližnjega el. polja pred in po zabubljenju. Vrednosti signala so sorazmerne z ATE bližnjega električnega polja.....	32
Slika 17: Povprečne po masi normirane vrednosti izmerjenega signala pri različnih stanjih ličink s 95% intervali zaupanja povprečnih vrednosti. Vrednosti signala so sorazmerne z ATE bližnjega električnega polja.....	33
Slika 18: Povprečne po masi normirane vrednosti izmerjenega signala pri različnih stanjih hroščev z 95 % intervali zaupanja povprečnih vrednosti. Vrednosti signala so sorazmerne ATE z bližnjega električnega polja.....	34

KAZALO PREGLEDNIC

Preglednica 1: vpliv frekvence na obseg bližnjega polja (Prirejeno po: Integrative BioPhysics:str.127).....	10
Preglednica 2: Vrednost signala ATE el. polja pri različnih masah hroščkov mokača (<i>Tenebrio molitor</i>).....	23
Preglednica 3: Vrednost signala na senzorju pri različnih masah ličink mokača (<i>Tenebrio molitor</i>). Vrednosti signala so sorazmerne ATE bližnjega el. polja.....	25
Preglednica 4: Vpliv utrujanja na ATE bližnjega el. polja pri hroščkih mokača (<i>Tenebrio molitor</i>): % predstavlja v procentih izraženo razmerje med standardno deviacijo in povprečno vrednostjo.....	27
Preglednica 5: Vrednosti signala na senzorju pred levitvijo in po levitvi. Vrednosti signala so sorazmerne z ATE bližnjega električnega polja.....	29
Preglednica 6: Vrednosti signala na senzorju ob levitvi in pred/ po levitvi. Vrednosti signala so sorazmerne z ATE bližnjega električnega polja.....	29
Preglednica 7: Vrednosti signala na senzorju ob zabubljenju in pred/po zabubljenju. Vrednosti signala so sorazmerne z ATE bližnjega električnega polja.....	30
Preglednica 8: Vrednosti signala na senzorju pred zabubljenjem in po zabubljenju. Vrednosti signala so sorazmerne z ATE bližnjega električnega polja.....	31
Preglednica 9: Vrednosti signala senzorja pri poskusu primerjave vrednosti ATE med živimi in mrtvimi ličinkami. Vrednosti signala so sorazmerne vrednosti ATE bližnjega električnega polja.....	32
Preglednica 10: Vrednosti signala senzorja pri poskusu primerjave vrednosti ATE med živimi in mrtvimi o hrošči. Vrednosti signala so sorazmerne vrednosti ATE bližnjega električnega polja.....	34

OKRAJŠAVE IN SIMBOLI

ATE	absorpcija, emisija in transmisija bližnjega električnega polja skozi organizem
E	električno polje
EEG	elektroencefalogram
ELF	ekstremno nizke frekvence
EKG	elektrokardiogram
EM	elektromagnetno
EMF	elektromagnetno polje
IR	infrardeče valovanje
J	gostota električnega toka
MW	mikrovalovi
OC	organizacijski center
P	gostota električne polarizacije
RF	radijske frekvence
S	moč elektromagnetnega pretoka
ST. DEV.	standardna deviacija
T	temperatura
UV	ultravijolično valovanje
ν	frekvenca oscilacij
VLF	zelo nizke frekvence
Z	impedanca medija
Z_0	impedanca praznega prostora
ϵ_0	influenčna konstanta praznega prostora
ϵ_r	influenčna konstanta medija
λ	valovna dolžina
σ	električna prevodnost
p	verjetnost napake statistične hipoteze
χ	električna susceptibilnost
%	procent standardne deviacije

1 UVOD

Znanost že dolgo časa razvija neinvazivne metode za določanje delovanja fizioloških stanj organizmov. Med fiziologi sta splošno razširjena postopka elektrokardiograma (EKG) in elektroencefalograma (EEG), ki podata lastnosti delovanja srca oziroma možganov preko sprememb v električni napetosti. Razširjena je tudi uporaba ultrazvoka za vizualno detekcijo mehkih struktur v notranjosti organizma in uporaba rentgenskih žarkov predvsem v diagnostiki poškodb skeletnega sistema.

Med novejšo in široko uporabno neinvazivno metode štejemo tudi nuklearno magnetno resonanco (NMR). Je metoda, ki temelji na interakciji magnetnih momentov atomskih jeder (zato deluje le na atome z lihim številom nevtronov in protonov) in zunanjim elektromagnetnim poljem. Kot neinvazivna metoda se uporablja in vivo magnetna resonančna spektroskopija za določanje biokemijskega stanja živega organizma. Poda nam stanje različnih metabolitov v tkivih (uporabno predvsem v diagnostiki za odkrivanje tumorjev). Razširjena je tudi metoda magnetnega resonančnega slikanja (NMI), ki omogoči vizualizacijo notranje strukture organizma, deluje pa na podlagi različne razporeditve vodikovih atomov med tkivi organizma. (Hornak, 2007)

Med potencialno uporabne metode za ugotavljanje fizioloških in razvojnih stanj organizma pa lahko štejemo tudi meritve absorpcije, emisije in transmisije bližnjega električnega polja (Škarja s sod., 2005, 2006; Škarja, 2007; Plankar 2007). Tu se predpostavlja, da bližnje električno polje integrira z endogenim elektromagnetnim poljem na način, ki ni odvisen le od klasičnih fizikalnih parametrov absorpcije, emisije in transmisije (odslej ATE) bližnjega električnega polja, ampak tudi od fizioloških in razvojnih stanj organizma. Trenutno je metoda še v povojih, tako da se v tej diplomski nalogi izvajamo meritve le na celih organizmih, z izpopolnitvijo same metode pa bi lahko merili specifične absorpcijske parametre posameznih telesnih delov, organov in organskih sistemov.

1.1 DELOVNE HIPOTEZE

V pričujoči raziskavi smo želeli na podlagi predhodnih pozitivnih rezultatov (Škarja, 2005; Plankar, 2007) ugotoviti povezavo med ATE okoljskega bližnjega električnega polja ter fiziološkim in razvojnim stanjem mokača (*Tenebrio molitor*).

Prva delovna hipoteza je, da ima živ organizem mokača drugačno vrednost ATE od mrtvega organizma.

Druga delovna hipoteza je, da imajo različni osebki, kljub skoraj enakim fizikalnim parametrom relevantnim za ustaljeno pojmovanje ATE, različno ATE bližnjega električnega polja.

Nato smo postavili tretjo delovno hipotezo, da utrujanje kot zunanji stres vpliva na poenotenje vrednosti ATE med različnimi hrošči.

Četrta hipoteza je, da sprememba razvojnega stanja organizma (levitev, zabubljenje) spremeni vrednost absorpcije bližnjega električnega polja. To naj bi bila posledica spremembe celostne organizacije organizma in ontogenetskih procesov, ki jo vodijo.

2 PREGLED OBJAV

2.1. PRINCIP DELOVANJA MERITEV ATE BLIŽNJEGA ELEKTRIČNEGA POLJA ORGANIZMA

Merilni sistem zaznava električne lastnosti organizmov preko njihove sposobnosti, da z absorpcijo, transmisijo in emisijo okoliškega bližnjega električnega polja vplivajo na električno napetost na senzorju (Škarja, 2005). Tako nam merilni sistem preko napetosti senzorja poda skupno vrednost absorpcije, emisije in transmisije bližnjega električnega polja (ATE) skozi organizem. Če tej vrednosti odštejemo vrednost napetosti na senzorju brez poskusnega objekta (vrednost ozadja), dobimo dejansko vrednost ATE organizma.

Že uvodne raziskave Škarje in sodelavcev, 2005, so pokazale, da s organizmi obnašajo drugače kot zgolj prevodna telesa z dano maso, volumnom, sestavo elektrolitov, vsebnostjo vode itd. Primerjalni poskus z vodnim stolpcem je pokazal, da z naraščanjem višine vodnega stolpca linearno narašča velikost napetosti na senzorju. Koeficient korelacije med ATE bližnjega električnega polja in višino vodnega stolpca je bil 0,99. Korelacija med napetostjo na senzorju in velikostjo (in tudi maso) pri ljudeh pa se je pokazala kot zanemarljiva (celo rahlo negativna) (Škarja, 2005).

2.2 SKLOPITVE ZUNANJEGA ELEKTRIČNEGA, MAGNETNEGA IN ELEKTROMAGNETNEGA POLJA Z BIOLOŠKIM ELEKTROMAGNETNIM POLJEM

2.2.1 Sklopitev z zunanjim električnim poljem

Če se zunanje E polje sklopi z električnimi naboji in električnimi dipoli, temu sledi (Hyland, 2003):

(1) tok električni tok, J , prostih nabojev

$$J = \sigma E \quad \dots(1)$$

kjer je σ električna prevodnost žive materije. Enota je meter/ ohm.

(2) Električna polarizacija, katere gostoto, P določa

$$P = \varepsilon_0 \chi E \quad \dots(2)$$

χ je električna susceptibilnost in je $\chi = 1 - \varepsilon_r$.

(3) Reorientacija stalnih električnih dipolov.

Za samo sklopitev pa je zelo pomembna narava zunanjega električnega polja. Pri statičnem polju se pojavijo drugačni odzivi kot pri oscilirajočem:

(a) Statično polje: električno polje v bližini organizma, pravokotno na telesno površino, ima povečano jakost v primerjavi z okoliškim poljem, saj ima telo skoraj desetkrat večjo električno prevodnost kot zrak. E polje je v glavnem omejeno na površino telesa, saj se ob vstopu v telo polje reducira kar za 10^{-6} (deluje kot Faraday-eva kletka) (Pollock in Polk, 1996). Celokupni tok po/skozi telo, je $15\mu A$ na kV/m zunanjega polja. Tok poteka predvsem po žilah in medcelični tekočini.

(b) Oscilirajoče električno polje: Inducira površinske naboje, temu pa sledijo notranji električni tokovi, ki so odvisni od oblike in usmerjenosti telesa glede na E . Za sinusoidna polja frekvenc pod 10 MHz velja

$$|J| = vA E_{ext} \quad \dots(3)$$

A je konstanta in varira s prevodnostjo σ , ter velikostjo in obliko (Hyland, 2003).

2.2.2 Sklopitve z zunanjim magnetnim poljem

Zunanje magnetno polje pa se sklopi z električnim tokom in magnetnim momentom. Ker je magnetna permeabilnost telesa približno enaka kot permeabilnosti okolice, telo ni motnja

za magnetno polje, tako da lahko le ta z lahkoto prodre v notranjost telesa. Ko pride v telo se sklopi s prej obstoječimi električnimi tokovi, magnetnimi momenti in magnetnimi materiali (Hyland, 2003).

Če se gostota magnetnega polja spreminja s časom, dobimo inducirano notranje električno polje, po Faradayevem zakonu o elektromagnetni indukciji. Tako je ob prisotnosti prostih nabojev inducirani električni tok. Tako so lastnosti inducirane zanke odvisne od orientacije telesa in lokalne vrednosti električne prevodnosti. Najvišje vrednosti doseže električni tok na telesni površini in linearno pada proti središču telesa (Hyland, 2003).

Zunanje magnetno polje se sklopi z električnim tokom in magnetnim momentom. Ker pa je električna prevodnost večine živih bitij bistveno večja kot je prevodnost zraka, magnetna prepustnost pa je približno enaka, je telo kopenskih živali na spremembe zunanjega električnega polja bolj občutljivo kot na spremembe magnetnega polja (Hyland, 2003).

Pri vrednostih pod 100 kHz so posledice absorpcije električnega in magnetnega polja zanemarljive iz stališča absorpcije energije v obliki termalizacije (Hyland, 2003).

2.2.3 Sklopitve z elektromagnetnim valovanjem

Elektromagnetna polja integrirajo z električnimi naboji in dipolnimi momenti ter povzročajo spremembe molekulskih, elektronskih in ionskih stanj. Ionizirajoča sevanja imajo dovolj veliko energijo, da izbijejo zunanje ali notranje elektrone iz atomov (postanejo prosti elektroni) in ponavadi povzročijo izgubo biološke funkcije molekule. Večina molekul ionizira v zgornjem ultravijoličnem (UV) območju. Vidna svetloba lahko povzroči reverzibilno ekscitacijo valenčnih elektronov in načeloma ni ionizirajoča, razen v specifičnih primerih kot so npr. v fotosistemi (Bistolfi, 1991: 154-169).

Termična sevanja povzročijo posredno ali neposredno segrevanje tkiv. Sevanja v IR območju povečujejo vibracijsko energijo molekul in načeloma vodijo v neposredno segrevanje tkiv. MW in RF sevanja povečujejo rotacijsko energijo molekul, tj. električni dipoli molekul oscilirajo skladno z zunanjo frekvenco in prav tako povzročijo segrevanje,

vendar preko mehanizma dielektrične izgube (dielektrično segrevanje), kjer zaradi notranjih trenj med molekulami pride do razpršitve rotacijske energije v vibracijsko (Hyland, 2003)

Atermična sevanja imajo prešibko energijo za reorientacijo dipolov proti termičnemu vzburljenju molekul pri fiziološki temperaturi in posledični povzročitvi temperaturnih sprememb v tkivih. Frekvenčna meja, pod katero ne pride do merljivega segrevanja, je določena kot 100 kHz (ICNIRP, 1998). O bioloških učinkih atermične narave govorimo tudi pri sevanjih višjih frekvenc dovolj nizke jakosti, da ne pride do segrevanja (Hyland, 1998).

2.2.3.1 Sklopitve z elektromagnetnim valovanjem v pasu RF/MW

Ključne lastnosti živega bitja pri sklopitvi z RF/MW valovanjem so vsebnost vode, dielektrične lastnosti, masa in geometrija, orientacija telesa glede na polarizacijo valovanja. Biološki efekti se lahko pojavljajo na vseh nivojih od molekularnega do organizemskega. Večina sklopitev se dogaja kot termičen prenos energije na biološke molekule (dielektrično segrevanje), obstajajo pa tudi atermične sklopitve, ki potečejo preko koherentnega prenosa. Fizikalno predstavljajo termična sevanja vsa sevanja, ki povečujejo temperaturo in naključno razporeditev v mediju, atermična pa imajo za posledico koherentno ne termično pretvorbo sevanja. (Bistolfi, 1991: 163)

2.2.3.1.1 Netermični prenos E na organizem

Z razliko od dielektričnega segrevanja, ki deluje ne glede na živost organizma, pa lahko netermični prenos poteče le, če je organizem živ. Osnova mehanizma je oscilatorna podobnost med frekvencami zunanjega elektromagnetnega polja in visokoorganiziranimi notranjimi električnimi aktivnostmi. Tako se na celičnem in subceličnem nivoju pojavljajo koherentna vzburljenja v frekvenčnem pasu mikrovalov (Hyland, 2002). Frekvenčni pas mikrovalov (10GHz do 10THz) je značilen za oscilacije proteinskih molekul, DNA, RNA, celičnih membran, konformacijskih sprememb encimov, tako da lahko mikrovalovi ne termično resonančno prenašajo energijo na te molekule. Večja kot je koherenca radiacije, bolj je biološko učinkovita, ker lahko več fotonov istočasno deluje na molekulo, s katero se frekvenčno ujame. Do resonančnega prenosa energije pa lahko pride le v določenem pasu energijskega pretoka S . Če je energijski pretok prenizek, ni efekta, ob prevelikih vrednostih

pa pride do dielektričnega segrevanja. Ta vzburjenja so longitudinalna kolektivna električna stanja (osnova so različne bipolarne enote). Sistem je supratermalno ekscitiran pri najnižji skupni frekvenci z nadpražnim donosom energije iz metabolizma (Hyland, 1998). Ko se vzpostavijo koherentna vzburjenja, oscilirajo posamezne bipolarne enote sinhronizirano, kot orjaški dipol. Tako dobijo bipolarne oscilacije makroskopski pomen. (Hyland, 2002).

Na nivoju organizma lahko netermalno vplivamo na številne oscilirajoče mehanizme s frekvencami EM valovanja, ki so podobne frekvencam oscilirajočih mehanizmov (na EEG na primer lahko vplivamo z ekstremno nizkimi frekvencami (ELF), podobnimi sami frekvenci EEG). Pojavijo se trije možni vplivi: (1) Resonanca, ki ojača aktivnost, (2) interferenca, ki izniči aktivnost, (3) sprememba frekvence in fiziološke aktivnosti (Hyland, 2002).

2.3 LASTNOSTI BLIŽNJEGA IN DALJNEGA ELEKTROMAGNETNEGA POLJA

Električno in magnetno polje, ki ju oddaja električni dipol (antena) pri frekvenci oscilacij ν , imata sledeče prostorsko frekvenčne odvisnosti:

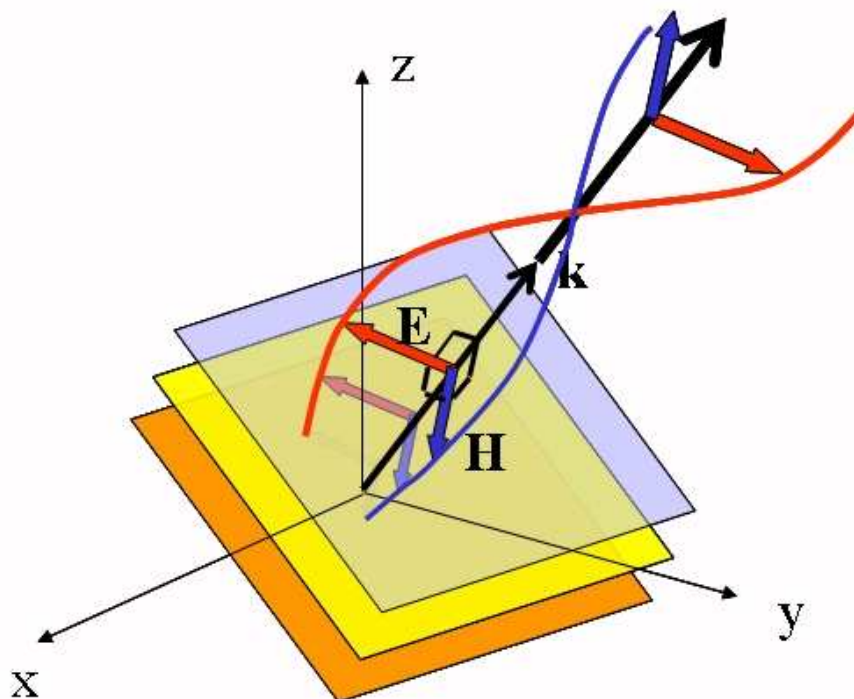
$$E \sim \nu^2(1/r), \nu(1/r^2), (1/r^3) \quad \dots(4)$$

$$H \sim \nu^2(1/r), \nu(1/r^2) \quad \dots(5)$$

Tako je v statičnih pogojih ($\nu = 0$), prisotna le še električna komponenta $\sim 1/r^3$ in imamo elektrostatično polje dipola. (Jackson, 1998)

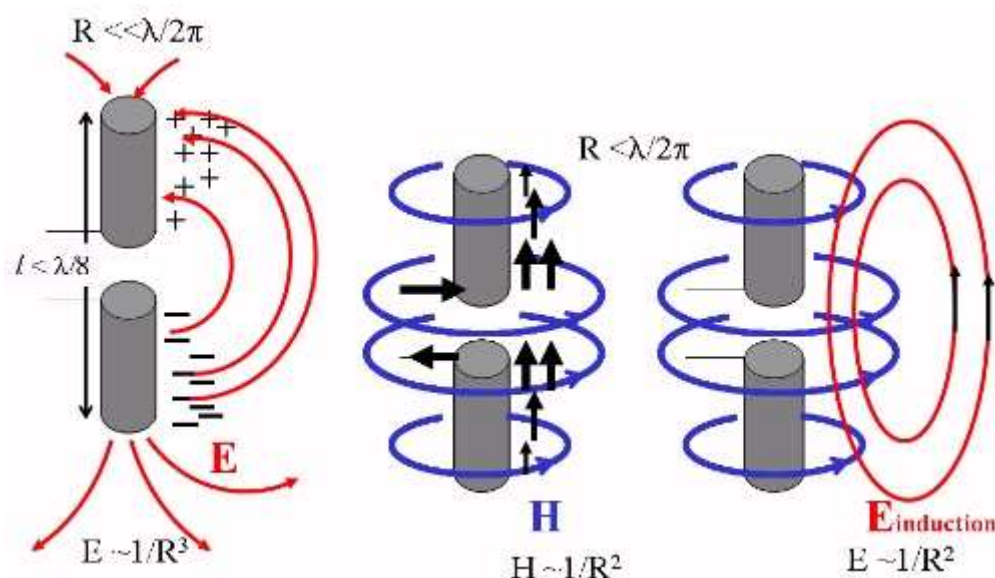
V oddaljenosti od vira sevanja, ki je mnogo večja od valovne dolžine dipola ($r \gg \lambda$), prevlada vpliv $1/r$ komponente in dobimo daljne polje, kot elektromagnetno radiacijo. Električno in magnetno polje tvorita planarne valove, pravokotne eden na drugega in sta v isti fazi. Tako oscilirajoči električni naboj (električni tok) ustvari elektromagnetno valovanje. Ko le-to pobegne v daljne polje, vir radiacije ni več potreben, ker električno in magnetno polje vzdržujeta en drugega, kar opišejo Maxwelllove enačbe. V daljnem polju je

električno polje sorazmerno z magnetnim ($Z = |E|/|H| = Z_0$), tako da je za izračun elektromagnetnega pretoka dovolj, da poznamo le električno *ali* magnetno polje. Moč elektromagnetnega pretoka je tako v sorazmerju z $v^4(1/r^2)$ (Hyland, 2003).



Slika 1: Elektromagnetno valovanje. (Fundamentals of ..., 2005)

V oddaljenostih manjših od valovne dolžine emitiranega valovanja dipola ($r \ll \lambda$) pa imata večji vpliv komponenti $1/r^2$ in $1/r^3$ in se nahajamo v območju bližnjega polja, ki je neradiacijsko in ima mnogo bolj zapleteno strukturo. E in H sta še vedno pravokotna eden na drugega, nista pa več v fazi en z drugim. E je v fazi z električnima nabojema, H pa z električnim tokom. Poleg tega nista vedno transverzalna na smer sevanja. V določenih področjih je polje predvsem električno, v drugih magnetno tako da $Z \neq |E|/|H| = Z_0$. Če hočemo izmeriti S , moramo ločeno izmeriti E in H . (Hyland 2003)



Slika 2: Električne in magnetne komponente v bližnjem polju okoli električnega naboja (Fundamentals of..., 2005)

Dipol (antena) na kateri je velika napetost in majhen tok oddaja predvsem E polje ($Z > Z_0$), če pa je nizka napetost in velik tok, oddaja predvsem H polje ($Z < Z_0$).

Komponenti $1/r^2$ in $1/r^3$ polja električnega naboja tudi omogočata energijski pretok, vendar le-ta potuje znotraj bližnjega polja (kjer sta električno in magnetno polje v faznem zamiku 90°) in ne more uiti kot radiacija. Energija ostane ujeta v bližnjem polju. Tako lahko energija zapuša sistem kot radiacija le preko komponente $1/r$, ki jo v bližnjem polju prevladata $1/r^2$ in $1/r^3$. To sevanje tako nikakor ne more vsebovati popolne informacije o svojem viru (Hyland, 2003). Če pa je v območju bližnjega polja prevoden objekt, lahko le-ta preko induktivnega in kapacitivnega prenosa absorbira energijo. Obseg bližnjega polja lahko ocenimo iz $\lambda = c/\nu$ in je po dogovoru polje do ene valovne dolžine od vira valovanja.

Preglednica 1: vpliv frekvence na obseg bližnjega polja (Prirejeno po: Integrative BioPhysics:str.127)

$N(\text{Hz})$	$\lambda(\text{m})$
1	300 Mm
10	30 Mm
100	3 Mm
10 k	30 km
10 M	30 m
10 G	30 mm
1 T	300 μm

Glede na frekvenco delimo elektromagnetna valovanja, nižjih frekvenc od svetlobe, v različne razrede:

3 Hz – 3 kHz	Ekstremno nizke frekvence (ELF)
3 kHz – 30 kHz	zelo nizke frekvence (VLF)
30 kHz – 300 MHz	Radijske frekvence (RF)
300 MHz – 300 GHz	Mikrovalovi (MW)
300 GHz – 300 THz	Infrardeče frekvence (IR)

S pomočjo preglednice 1 vidimo, da je valovna dolžina ELF, VLF in RF vedno bistveno večja od večine živih organizmov, tako da deluje v območju bližnjega polja. Zahteva se ločena obravnava H in E (Hyland, 2003).

2.4 ELEKTRIČNA IN ELEKTROMAGNETNA SEVANJA, KI JIH PRODUCIRA ŽIV ORGANIZEM

2.4.1 Električno polje

2.4.1.1 MHz področje

Po času spremenljivo električno polje frekvenc 8-9 MHz in 50-80 MHz ($\Delta\nu \approx 50$ MHz) so opazili v neposredni bližini sinhroniziranih (vse v enaki fazi celičnega cikla) celic kvasovk ob celičnih delitvah (Pokorny, 2001). Bližina, pri kateri so izmerili to električno polje, nakazuje, da je to polje narave bližnjega polja in ne seva. (Hyland, 2003)

2.4.1.2 kHz področje

Mikro-dielektroforezni in elektronsko spinsko resonančni poskusi so pokazali, da različne deleče se celice (bakterije, alge kvasovke, ptičje celice, sesalske celice) oddajajo električno polje v svoji neposredni bližini (Hyland, 2002), v frekvenčnem pasu 1-30 kHz. Tudi ta polja predstavljajo, glede na svojo valovno dolžino, bližnje polje in ne sevajo. (Hyland, 2003).

2.4.2 Elektromagnetno polje

Živa bitja oddajajo nekoherentno toplotno sevanje, ki je v skladu z njihovo telesno temperaturo. Največja spektralna emisija termičnega sevanja je v IR območju, nekje okoli valovne dolžine 10 mm. (Hyland, 2003)

Poleg tega organizmi spontano emitirajo fotone v frekvenčnem pasu od 200 do 900 nm. Intenziteta je med 10-1000 fotonov na cm^2 površine organizma. Spektralna distribucija energije teh fotonov je enotna po celotnem vidnem spektru, kar nakazuje na določeno stopnjo koherence. (Popp, 1984a cit. po Popp, 2003)

V zadnjem času so opazili atermične emisije v območju mikrovalov, ki naj bi bile osnovna lastnost živega (Sit'ko, 1998 cit. po Hyland, 2003).

2.5 VLOGA ELEKTRIČNIH POLJ V MORFOGENEZI

Rast in migracije številnih celic so odvisne od električnih polj fizioloških jakosti (Ericson, 1985). Somitski fibroblasti migrirajo na negativni pol napetostnega gradienta ob vrednostih le 7 V/m. (Mcginis 1986). Pri migraciji je ključen tok kalcija v celice, tako da ob blokadi toka kalcija ni migracij (Cooper in Schliwa, 1986). V večini primerov se pojavlja rast celic proti katodi in redukcija rasti proti anodi v električnem polju fizioloških jakosti (Nucitelli, 1984; McCaig, 1987). Hitro rastoče celice imajo bolj negativen naboj od normalnih celic, ta polarnost pa je posledica porasta negativnega membranskega potenciala, zaradi visokega energijskega metabolizma mitohondrijev. (Chen, 1989). Polarizacija celic pa je lahko inducirana tudi s strani okoliškega E polja (Wiley in Nucitelli, 1986). Anteriorna in

posteriorna polarnost ter dorzalno ventralna polarnost v morfogenezi nižjih živali je lahko delno ali popolnoma obrnjena, če organizme izpostavimo električnemu polju, nasprotnemu notranjemu biološkemu (Marsh in Beams, 1952; Kolega, 1985). Tako električni in kemični signali skupaj vodijo kontrolo rasti. Rast in diferenciacija inducirana z E poljem se lahko blokira z blokado kalcijevih kanalov ali z inhibitorji proteinkinaze C (način vpliva rastnih faktorjev na E) (Kimura in sod., 1998). Po drugi strani pa lahko E polje inducira ekspresijo določenih rastnih faktorjev in vpliva na asimetrično razporeditev določenih receptorjev rastnih faktorjev (Kimura in sod., 1998). Če je rastni faktor polarna molekula, lahko E vpliva na njen gradient in usmerja njen transport.

2.5.1 Elektrofiziologija organizacijskih centrov

Med razvojem je usoda večjih območji (teles) pogosto pod kontrolo manjše skupine celic, ki jih lahko imenujemo tudi organizacijski center (OC) (Meinhardt, 1982). Imeli naj bi sledeče aktivnosti (Shang, 1989):

- 1) Imajo veliko električno prevodnost in gostoto električnega toka. Sprememba električne aktivnosti OC lahko vodi v morfološke spremembe (Nelson in Yu, 1989; Shang, 1993). Tako na primer se pojavi pri dvoživkah električni tok pravokotno na površino telesa nekaj dni pred rastjo okončine (Nuccitelli, 1988).
- 2) Imajo veliko gostoto presledkovnih stikov (Shang, 2000 cit. po Laird in sod. 1992; Shang, 2000 cit. po Mayer in Cohen, 1997), ki povečujejo električno prevodnost in s tem tudi medcelično komunikacijo. Prav ta komunikacija pa naj bi imela eno ključnih vlog v morfogenezi (Ewart in sod., 1997).
- 3) Na makroskopskem nivoju so OC točke nenadnih sprememb v električnem pretoku. So usmerjevalne točke površinskega toka organizma in vsaka manjša motnja okoli OC ima lahko drastične posledice za organizem (Shang, 1989, Shang 2000 cit. po Toivonen, 1978).
- 4) Organizacijski centri se nahajajo predvsem na lokalno najkonveksnejših ali najkonkavnejših točkah telesa (mesta polarizacijske aktivnosti (Shang, 1989; Shang 2000 cit. po Toivonen, 1978).

2.5.2 Kontrola rasti po embriogenezi

Po teoriji o morfogenetski singularnosti, je kontrola rasti odvisna od omrežja OC (Shang, 1989). V ontogenezi je primaren razvoj OC, nato temu sledi organizacija fizioloških sistemov. Seveda se OC delno prekrivajo in so v interakciji s fiziološkimi sistemi, vendar niso samo del le-teh. Signalna transdukcija OC je vtkana v aktivnost fizioloških sistemov. Mnoge fiziološko nevzdražne celice imajo med seboj povezane elektrokemične oscilacije in lahko sodelujejo v signalni transdukciji kontrole rasti (Shang, 2000 cit. po Rink in Jacob, 1989). Omrežje OC ima svojo regulatorno funkcijo preko intercelularnih komunikacij tudi po embriogenezi (ko ni več veliko celičnih diferenciacij, saj ostane v OC visoka električna prevodnost tudi ko je embrionalni razvoj končan (Shang 1989).

V zgodnjih fazah embriogeneze je medcelična komunikacija s presledkovnimi stiki difuzno razporejena, zato je celoten embrio povezan v neke vrste sincicij. Z razvojem pa se presledkovni stiki omejijo na konkretne lokacije, kar ima za posledico komunikacijsko razdelitev embria (Lo, 1996). Meje med razdelki so tudi glavne poti električnega toka. Nahajajo se na površini telesa ali na meji med biološkimi strukturami (Shang, 1989; Shang, 2000 cit. po Lee in Malpeli, 1994).

2.9 POSKUSNI OBJEKT, MOKAR (TENEBRIO MOLITOR)

Mokar (*Tenebrio molitor*) je predstavnik reda hroščev (*ordo Coleoptera*) družine *Tenebrionidae*. Hrošč je 13-16 mm dolg, je podolgovate ovalne oblike, rahlo sploščen, takoj po izleganju iz bube belo, kasneje pa rjavo-črno obarvan. Larva, ki je rumena do rdečkasto rjava, zraste do 32 mm (Street, 1999).



Slika 3: Hrošč mokač (*Tenebrio molitor*)

Vsaka samica izleže 70-100 jajčec, iz katerih se izležejo larve v 4-11 dneh. Larve med rastjo opravi 10-14 levitev, v obdobju od nekaj tednov do 4 mesecev (odvisno predvsem od temperature). Nato se hroščki zabubijo in v 6-30 dneh se preobrazijo v odraslega hrošča, ki je na začetku belkaste barve in potemni v 2-7 dneh. (Mealworm, 2007)

3 MATERIAL IN METODE DELA

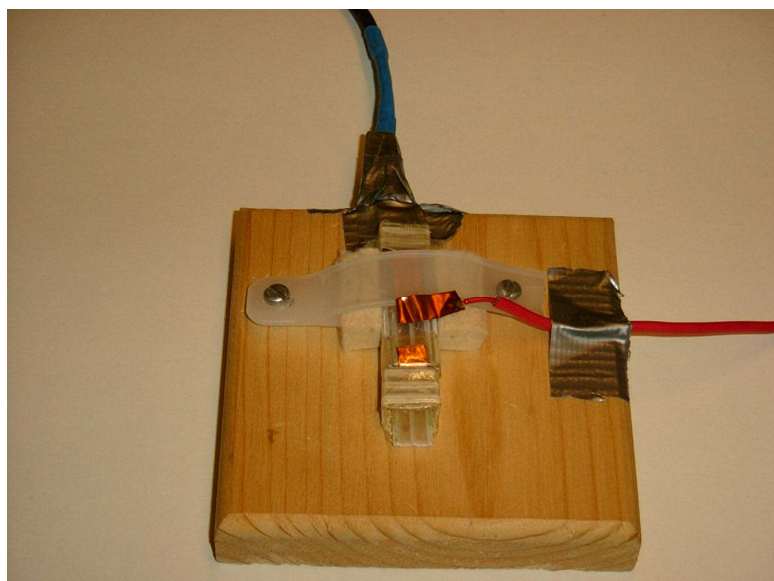
Meritve so potekale na inštitutu BION, v času med marcem 2006 in marcem 2008.

Merili smo splošne značilnosti absorpcije, transmisije in emisije bližnjega električnega polja in njihovo odvisnost od fiziološkega in ontogenetskega stanja mokařja (*Tenebrio molitor*). Organizem deluje kot posrednik med oddajnim sistemom, ki predstavlja vir zunanjega bližnjega električnega polja, in detekcijskim sistemom, ki oddano bližnje polje organizma prestreže oz. izmeri.

3.1 MERILNI SISTEM

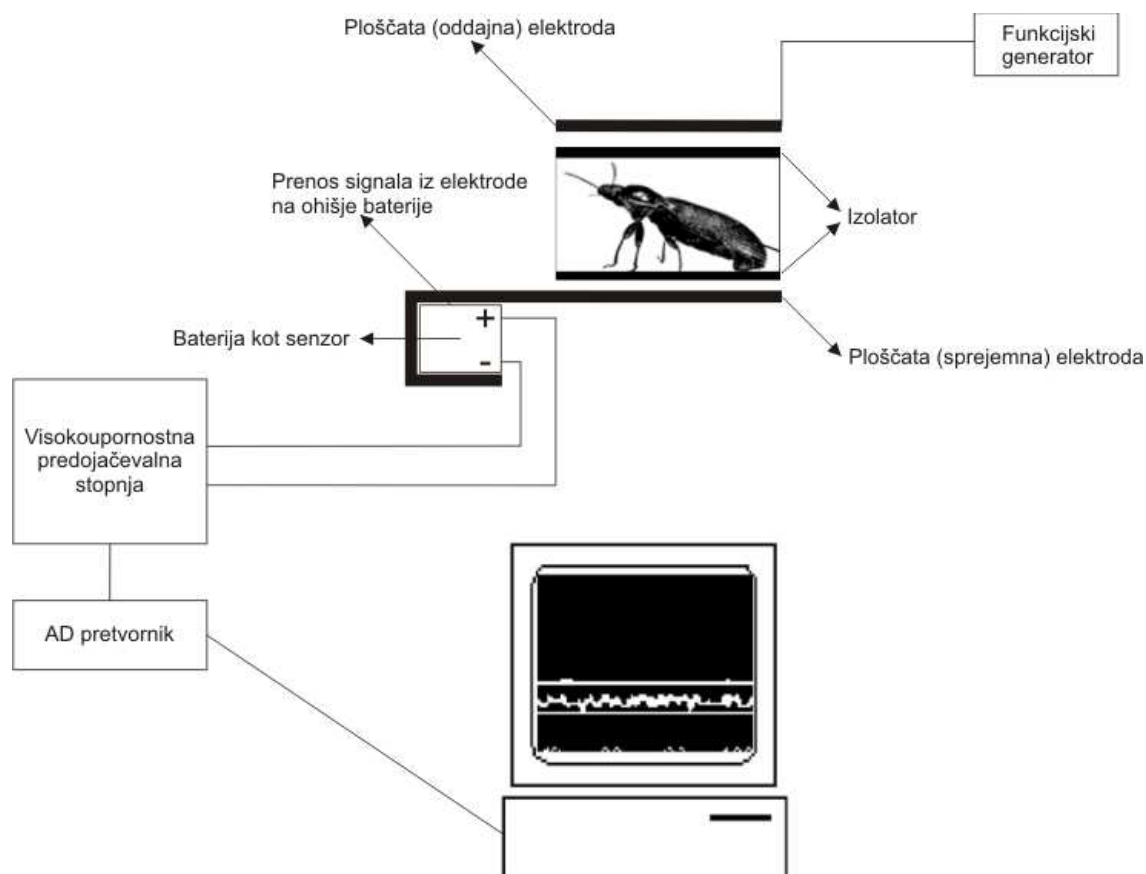
Eksperimentalni sistem je bil sestavljen iz oddajnega in detekcijskega sistema. Oddajni sistem so sestavljali funkcijski generator GFG-8016G, bakrena plošča debeline 2mm in povezovalni kabli. Sinusno moduliran izmenični električni tok z efektivno napetostjo 4,6 V oz. sinusno amplitudo 6,5 V ter frekvenco med 20,6 in 20,9 kHz (VLF območje) se iz generatorja prenaša na ploščato bakreno elektrodo, ki deluje kot vir zunanjega bližnjega električnega polja. Bakrena plošča oddajnega sistema je zaradi elektrostatičnih interakcij ločena od poskusnega objekta z izolirnim trakom.

Detekcijski sistem so sestavljali: senzor, vhodna stopnja s frekvenčnim filtrom in predojačevalnikom, ojačevalnik, A/D pretvornik (vse komponente lastne izdelave), računalnik in povezovalni kabli (Slika 2, Slika 3). Senzor je sestavljen iz aktivnega prevodnega materiala obdanega z izolatorjem. Konkretno je bil senzor 1,5V litijeva gumb baterija, s predhodno zmanjšano napetostjo na 60mV, povezana z ploščato bakreno elektrodo. Od poskusnih živali je senzor ločen z visoko uporno plastjo (izolirni trak). Prostor med oddajnikom in senzorjem je bil ograjen (kletka dimenzij 30mm dolžine, 9mm širine in 6mm višine, v kateri so bili organizmi v času poskusa).

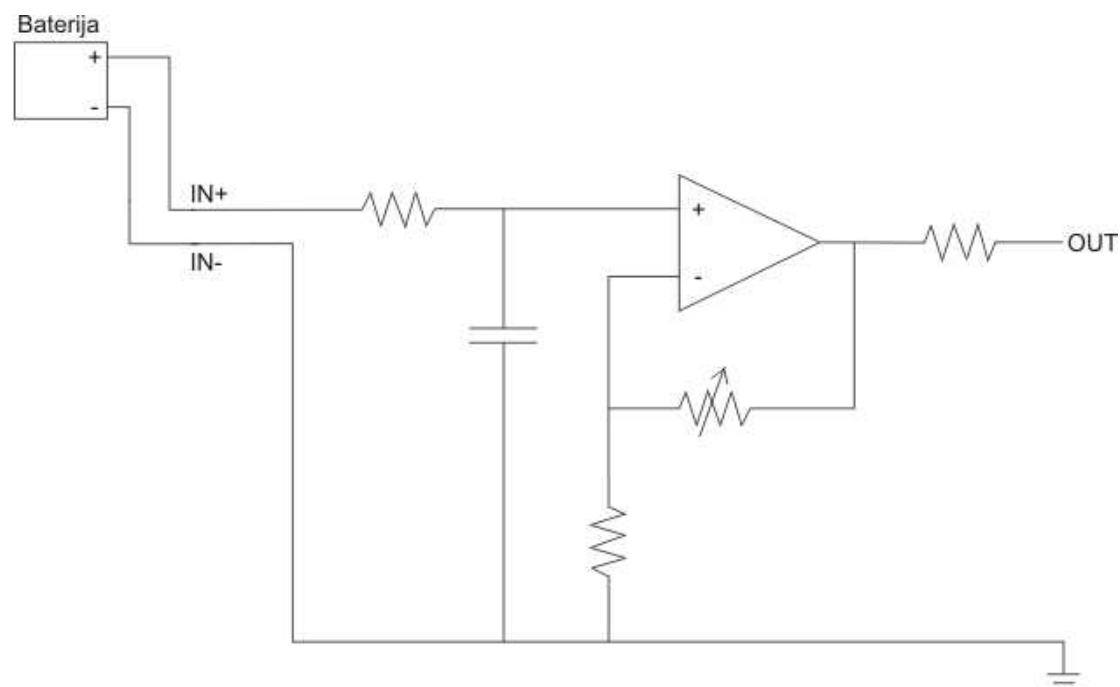


Slika 4: Kletka z oddajnikom in senzorjem. Po rdečem kablu pride signal na oddajnik. Modri kabel je povezan s senzorjem (litijevo gumb baterijo). Kletka ima vhod in izhod, ki sta med poskusi zaprta.

Senzor deluje kot antena, tj. prestreže okoliško oscilirajoče EM polje, ki v prevodnem materialu inducira električni tok. Signal iz senzorjev se prenese na predojačevalno stopnjo z upornostjo 10 M Ω in pretvori v digitalno obliko. Računalniško kontrolirano vezje omogoča elektronsko meritev signala v obliki električne napetosti in spremljanje relativne absorpcije in emisije bližnjega polja v realnem času, pri čemer je bila programsko nastavljena časovna resolucija posamičnih detekcij 300 ms.



Slika 5: Shema detekcijskega sistema, prirejeno po Škarja s sod. (2005)



Slika 6: Vezje vhodne stopnje (visokoupornostna predojačevalna stopnja).

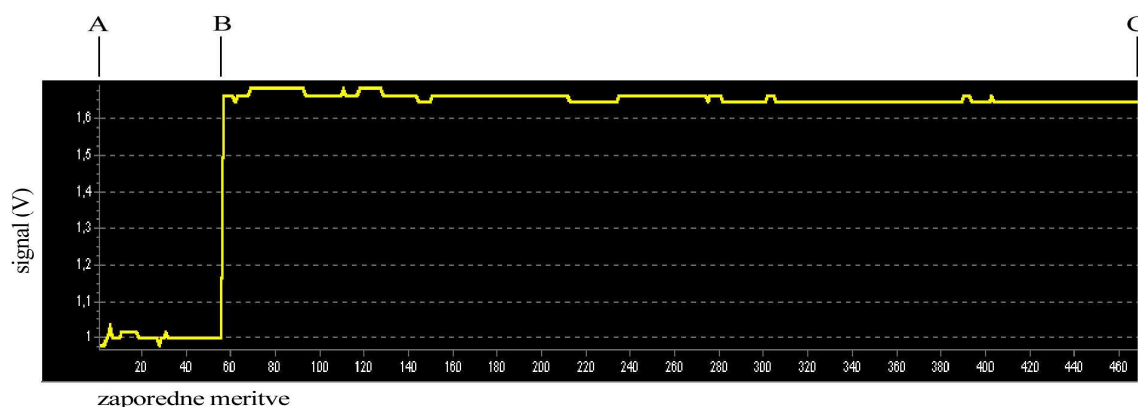
Senzorji so splošno občutljivi na elektrostatične učinke in druge zunanje motnje. Predhodno opravljene analize o vplivu elektrostatike so pokazale, da statični učinki prehodne narave in hitro izginejo zaradi izenačitve naboja med vhodnim signalom senzorja in visoko upornostno stopnjo, zato jih lahko dobro ločimo od vplivov bližnjega polja (Škarja s sod., 2005). Ker nismo uporabili Faradayeve kletke (za odstranitev ostalih EM valovanj), smo upoštevali le meritve, kjer je bila izmerjena vrednost ATE brez poskusne živali na začetku meritve enaka vrednosti po končani meritvi

3.2 TESTNE ŽIVALI V POSKUSU

Testne živali, mokaře (*Tenebrio molitor*), smo imeli med poskusom v terariju, kjer je bila podlaga iz pšeničnega zdroba, ki je predstavljal tudi hrano, poleg tega pa so dobivali svežo hrano kot vir vode (sveže sadje, kruh) vendar nikoli pred meritvami, da ne bi razlike v vsebnosti vode vplivale na rezultate. Terarij se je nahajal v prostoru meritev, pri sobni temperaturi. Živali so bile v kontinuiranem gojišču, kjer so se pojavljale v vseh razvojnih stadijih. Pri merjenju vpliva levitev na ATE bližnjega električnega polja smo ličinke ločili vsako v svoje gojišče (da smo lahko sledili spremembe pri posamezni živali.)

3.3. PROTOKOL MERITEV

Pri vsakem merjenju smo najprej izmerili ATE bližnjega polja ozadja (brez poskusne živali). Nato smo meritev prekinili in dali v kletko poskusni objekt (ličinko ali hrošča). Potem nadaljevali z meritvijo približno eno minuto. Po eni minuti smo meritev prekinili in poskusni objekt spustili iz kletke. Nato smo še enkrat izmerili vrednost ozadja. Vrednost ozadja smo izmerili pred in po meritvi, da smo videli, če se je med meritvijo spreminjala. Pri meritvah, kjer se je vrednost ozadja spremenila, smo meritev ponovili.



Slika 7: Primer izpisa vrednosti signala (napetost na senzorju v odvisnosti od časa). A-B so vrednosti signala ozadja. B-C so vrednosti signala meritve. Pri B smo meritev prekinili, da smo lahko vstavili poskusni objekt v kletko. Izmerjene vrednosti signala korespondirajo intenzivnosti bližnjega električnega polja na mestu senzorja. Zaporedne meritve so se izvajale na vsakih 300ms.

3.3.1 Poskus primerjave ATE med živimi in mrtvimi organizmi

Poskus smo izvajali na 10 ličinkah in 10 hroščih. Najprej smo organizme stehali (tehnica Mettler AE 100), nato smo jim izmerili ATE bližnjega električnega polja. Potem smo jih dali v steklene posodice in jih omamili s CO₂, nakar smo jim ponovno izmerili vrednost ATE. Potem smo organizme usmrtili in jim še enkrat izmerili ATE. Usmrnitev smo izvajali v vodni kopeli pri temperaturi 70⁰C, pri čemer so bili organizmi v steklenih posodicah, da niso prišli v direkten stik z vodo.

3.3.2 Poskus masa/ ATE bližnjega električnega polja

Najprej nas je zanimal odnos med maso in absorpcijo bližnjega električnega polja. Izmerili smo triindvajset ličink različnih velikosti, neke v sredini levitvenega ciklusa (opis poskusne živali), jih stehali z laboratorijsko tehniko Mettler AE 100 in jim izmerili ATE bližnjega električnega polja. Enak postopek smo ponovili s hroščki, kjer smo izbrali hroščke črne barve, ki še niso spolno zreli. Poskus smo izvedli na 27 hroščih.

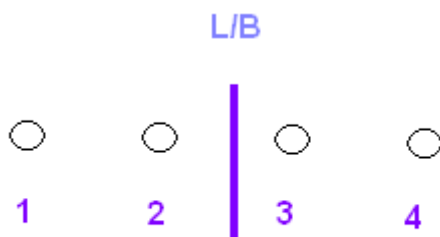
3.3.3 Poskus odvisnosti ATE bližnjega električnega polja od utrujanja

Vzeli smo 12 hroščev in jim izmerili ATE bližnjega električnega polja pred in po utrujanju. Utrujanje smo izvajali tako, da smo hrošča obrnili na hrbet in ga 20 minut silili k maksimalnem možnem gibanju.

3.3.4 Vpliv levitev in zabubljenj na ATE bližnjega električnega polja

Ličinkam smo nekajkrat tedensko merili ATE bližnjega električnega polja med več zaporednimi levitvami in zabubljenji (skozi obdobje enega meseca).

Za vrednost posamezne levitve, smo vzeli povprečje zadnje meritve pred levitvijo (meritev 2; slika 6) in prve meritve po levitvi (meritev 3; slika 6), za vrednost pred/po levitvi pa smo vzeli povprečje vrednosti meritev časovno bolj oddaljenih od levitve (povprečje meritev 1 in 4; slika 6).



Slika 8: Shematski prikaz principa meritev ATE pri levitvah in zabubljenjih. Krogci 1, 2, 3 in 4 predstavljajo zaporedne meritve, pri čemer se je zgodila levitev/ zabubljenje med 2. in 3. meritvijo. Časovni razmik med dvema meritvama je bil 2 do 3 dni.

Za ugotavljanje razlike v ATE pred levitvijo in po njej smo uporabili povprečne vrednosti zadnjih dveh meritev pred posamezno levitvijo (meritvi 1 in 2; slika 6) in povprečne vrednosti prvih dveh meritev po levitvi (meritvi 3 in 4; slika 6).

Izmerili smo 7 levitev na štirih ličinkah (dve levitvi pri treh ličinkah in ena levitev pri eni ličinki).

Enak protokol smo uporabili tudi pri zabubljenjih, kjer smo izmerili ATE bližnjega električnega polja pri 5ih hroščih. Ugotavljali smo razliko v ATE pred in po zabubljenju, kjer smo primerjali vrednosti zadnjih dveh meritev pred zabubljenjem (meritvi 1 in 2; slika 6) s povprečjem prvih dveh meritev po zabubljenju (meritvi 3 in 4; slika 6).

Poleg tega smo pri zabubljenju prav tako primerjali razliko med vrednostmi ATE zabubljenja z vrednostmi ATE pred/po zabubljenju. Za vrednost zabubljenja smo vzeli povprečje zadnje meritve pred (meritev 2; slika 6) in prve meritve po zabubljenju (meritev

2; slika 6), za vrednost pred/po zabubljenju pa povprečje časovno bolj oddaljenih meritev (meritvi 1 in 4; slika 6).

Pri levitvah in zabubljenjih smo sledili razliko v ATE pred spremembo stanja (levitve, zabubljenja) in po njej, da smo videli, če sprememba v strukturi organizma vpliva na spremembo ATE. Poleg tega pa smo sledili tudi vpliv samega procesa (levitve, zabubljenja) na vrednost ATE (opazovanje razlik med vrednostjo ATE ob času levitve/ zabubljenja in vrednostmi ATE časovno bolj oddaljenih meritev od levitve/ zabubljenja), da bi videli če fiziološki procesi, ki povzročijo spremembo, vplivajo na vrednost ATE.

3.4 ANALIZA PODATKOV

Pri analizi statističnih podatkov smo uporabili programa Microsoft Office Excel 2003 in SPSS 14.0.

Za ugotavljanje vpliva levitev in zabubljenj na ATE bližnjega el. polja smo uporabili parni T test oziroma ne parametrično različico parnega T testa (Wilcoxonov test predznačnih rangov), odvisno od normalnosti razporeditve dobljenih vrednosti. Normalnost smo določali s Kolmogorov-Smirnovim testom.

Pri poskusu odvisnosti ATE bližnjega el. polja od utrujanja smo prav tako uporabili parni T test za ugotavljanje vpliva utrujanja na ATE bližnjega el. polja, poleg tega pa smo izračunali F test za značilnost razlik varianc vrednosti ATE bližnjega el. polja pred in po utrujanju. Z vrednostni korelacije smo izračunali odvisnosti med posameznimi ATE parametri in ATE parametri ter maso poskusnih živali. Glede na normalnost porazdelitve (Kolmogorov-Smirnov) smo uporabili Pearsonov parametrični oziroma Spearmanov neparametrični korelacijski koeficient.

Pri testu vpliva mase na ATE bližnjega el. polja smo s korelacijo pokazali na stopnjo odvisnosti absorpcije od mase poskusnih živali.

Pri poskusu razlike ATE med živimi in mrtvimi organizmi smo uporabili parni T test.

4 REZULTATI IN DISKUSIJA

4.1 REZULTATI

4.1.1 Poskus masa/ ATE bližnjega el. polja

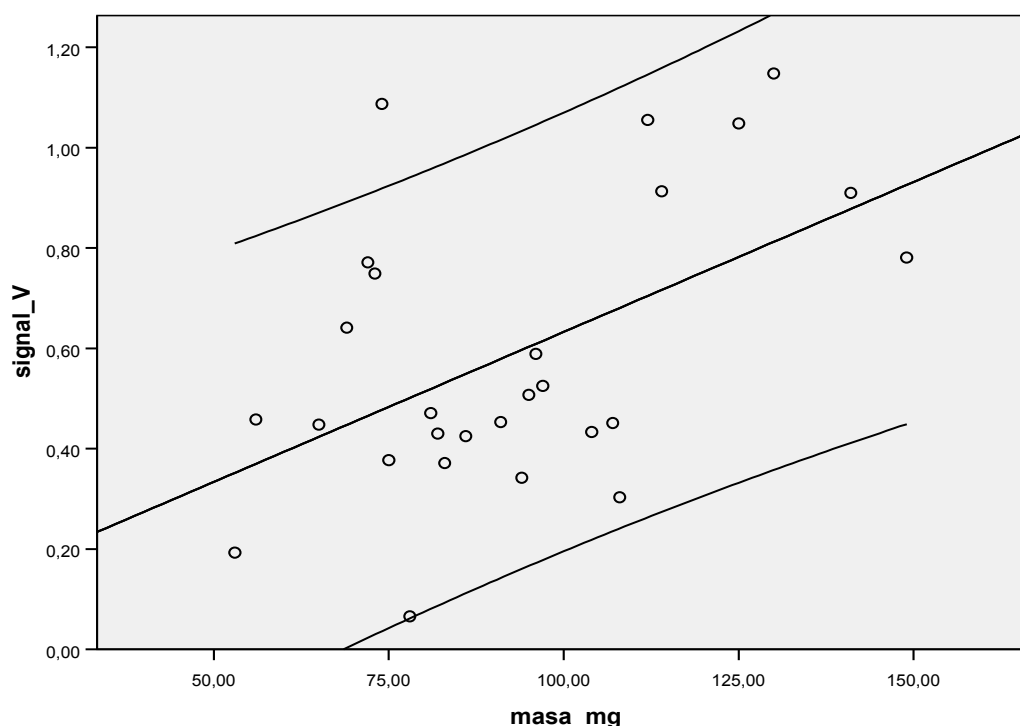
4.1.1.1 Hrošči

Pri poskusu smo ugotavljali vpliv mase (kot fizikalni parameter ATE) na vrednost ATE. Poskus smo izvedli na 27 hroščih. Razpon mas je bil od 53 mg do 149 mg. Povprečna masa je bila 93 mg, standardna deviacija pa 24,5 mg. Vrednosti ATE (sorazmerno vrednosti signala) pa med 0,19 in 1,15 V, pri čemer je bila povprečna vrednost 0,59 V in standardna deviacija 0,29 V. Nato smo naredili test normalnosti razporeditve. Ker je Kolmogorov-Smirnov test pokazal, da razporeditev vrednosti ATE ni normalna ($p \leq 0,049$) smo uporabili neparametrične statistične metode. Tako je vrednost korelacije (Spearmanov test) med maso in ATE 0,39. Signifikanca korelacije je 0,044.

Tako koeficient korelacije kot velika raztresenost vrednosti na grafu ATE/masa nakazujeta na nizko odvisnost vrednosti ATE od mase pri Hroščih. Sklepamo, da je ostala razlika v veliki meri odvisna od fiziološkega in razvojnega stanja organizma.

Preglednica 2: Vrednost signala ATE el. polja pri različnih masah hroščkov mokařja (*Tenebrio molitor*)

Masa(mg)	vrednost signala (V)	Masa(mg)	vrednost signala (V)	Masa(mg)	vrednost signala (V)
53	0,19	81	0,47	104	0,43
56	0,46	82	0,43	107	0,45
65	0,45	83	0,37	108	0,30
69	0,64	86	0,42	112	1,05
72	0,77	91	0,45	114	0,91
72	0,75	94	0,34	125	1,05
74	1,09	95	0,51	130	1,15
75	0,38	96	0,59	141	0,91
78	0,07	97	0,53	149	0,78



Slika 9: Odvisnost ATE bližnjega el. polja od mase pri hroščih mokařja (*Tenebrio molitor*). Vrednost signala je sorazmerna z vrednostmi ATE bližnjega električnega polja skozi organizem. Na grafu je označena trendna črta ter črti, ki označujeta 95% interval zaupanja.

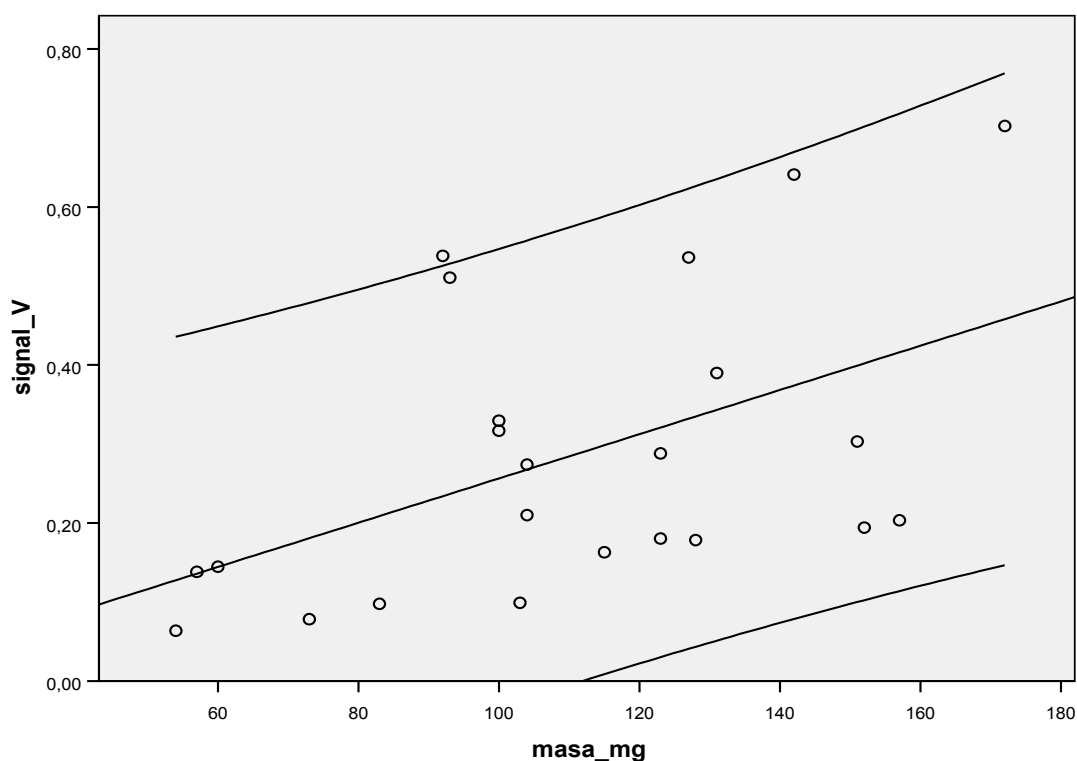
4.1.1.2 Ličinke

Pri poskusu smo ugotavljali vpliv mase (kot fizikalni parameter ATE) na vrednost ATE. Poskus smo izvedli na 13 ličinkah. Razpon mas je bil od 57 mg do 172 mg. Povprečna masa je bila 111 mg, standardna deviacija pa 32,6 mg. Razpon ATE (vrednost signala) pa med 0,06 V in 0,70 V, pri čemer je bila povprečna vrednost 0,29 V, standardna deviacija pa 0,18 V. Kolmogorov-Smirnov test je pokazal na nenormalnost razporeditve v vrednostih ATE ($P \leq 0,049$). Vrednost korelacije med maso in izmerjenim signalom je 0,50 ($p \leq 0,014$; Spearmanov koeficient korelacije).

Tako nizka stopnja korelacije, ki je statistično značilna, kot velik raztros vrednosti na grafu signal/masa nakazujeta, da je vrednost ATE odvisna poleg fizikalnih parametrov (med katerimi je masa najbolj spremenljiv parameter), tudi od fiziološkega stanja organizma.

Preglednica 3: Vrednost signala na senzorju pri različnih masah ličink mokařja (*Tenebrio molitor*). Vrednosti signala so sorazmerne ATE bližnjega el. polja.

Masa(mg)	vrednost signala (V)	Masa(mg)	vrednost signala (V)	masa(mg)	vrednost signala (V)
54	0,06	100	0,32	128	0,18
57	0,14	103	0,10	131	0,39
60	0,14	104	0,27	142	0,64
73	0,08	104	0,21	151	0,30
83	0,10	115	0,16	152	0,19
92	0,54	123	0,18	157	0,20
93	0,51	123	0,29	172	0,70
100	0,33	127	0,54		



Slika 10: Odvisnost bližnjega el. polja od mase ličink mokařja (*Tenebrio molitor*). Vrednost signala je sorazmerna ATE bližnjega električnega polja skozi organizem. Na grafu je označena trendna črta ter črti, ki označujeta 95% interval zaupanja.

4.1.2 Poskus odvisnosti ATE bližnjega el. polja od utrujanja

Pri poskusu smo izvajali utrujanje na 12 hroščih v razponu mas od 53 mg do 112 mg. Razpon vrednosti ATE (vrednosti signala) pred utrujanjem je bil med 0,19 V in 1,06 V in razpon vrednosti ATE po utrujanju med 0,19 V in 0,82 V. Vrednosti spremembe absorpcije

so bile med -0,61 V in 0,43 V. Pri testih normalnosti porazdelitve se je pokazalo, da so masa, vrednost ATE pred utrujanjem in vrednost ATE po utrujanju razporejajo normalno, sprememba vrednosti signala pa ni normalno razporejena (signifikanca Kolmogorov-Smirnov testa je 0,024).

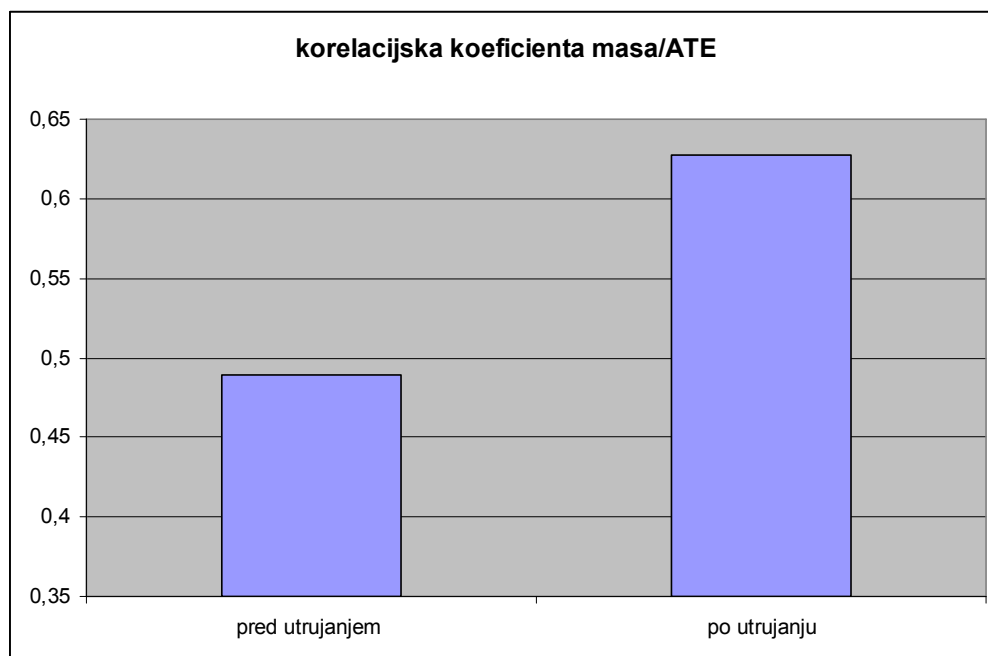
Parni T test med vrednostmi ATE pred in po utrujanju ni statistično značilen ($p \leq 0,17$), prav tako neparni T test ne pokaže statistično značilne razlike med povprečnimi vrednostmi ATE pred in po utrujanju.

Izračunali smo tudi korelacijske koeficiente med maso, ATE pred in po utrujanju ter spremembo vrednosti ATE. Zanimivo je, da je bil korelacijski koeficient med maso in ATE pred utrujanjem 0,49 ($p \leq 0,10$) nižji in manj značilen od korelacijskega koeficienta med maso in ATE po utrujanju 0,63 ($p \leq 0,03$). Pojavil pa se je tudi izrazit korelacijski koeficient med ATE pred utrujanjem in spremembo ATE v vrednosti -0,79 ($p \leq 0,002$).

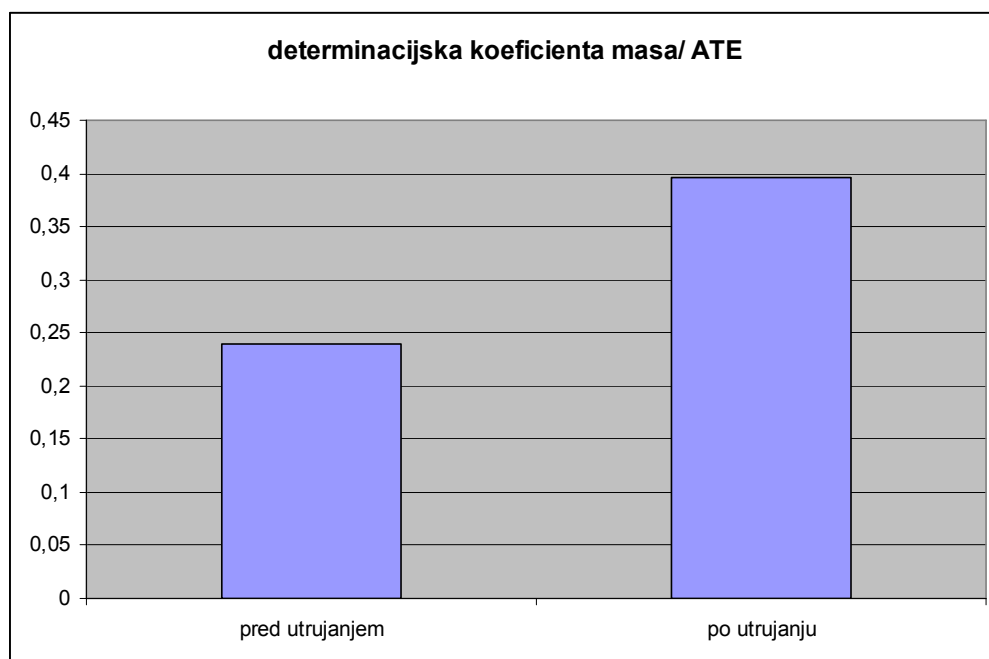
Poleg tega smo izračunali tudi determinacijska koeficienta med maso in ATE pred utrujanjem ($R^2 = 0,24$) in maso in ATE po utrujanju ($R^2 = 0,40$). Determinacijski koeficient kaže na skoraj dvakrat večjo odvisnost ATE od mase po utrujanju.

Preglednica 4: Vpliv utrujanja na ATE bližnjega el. polja pri hroščkih mokaču (*Tenebrio molitor*): % predstavlja v procentih izraženo razmerje med standardno deviacijo in povprečno vrednostjo

Masa(mg)	vrednost signala pred utrujanjem (V)	vrednost signala po utrujanju (V)	Sprememba vrednosti signala (V)
53	0,19	0,36	+0,16
56	0,46	0,43	-0,03
65	0,45	0,43	-0,02
69	0,64	0,19	-0,46
78	0,07	0,49	+0,43
81	0,47	0,53	+0,06
83	0,37	0,44	+0,07
94	0,34	0,68	+0,33
95	0,51	0,51	+0,00
97	0,53	0,56	+0,03
107	0,45	0,82	+0,37
112	1,06	0,45	-0,61
Povprečje	0,46	0,49	+0,03
ST. DEV.	0,24	0,16	
rel. st. dev.	0,52	0,32	
%	52%	32%	



Slika 11: Primerjava vrednosti korelacijskih koeficientov med maso in ATE bližnjega el. polja pred in po utrujanju.



Slika 12: Primerjava vrednosti determinacijskih koeficientov med maso in ATE bližnjega el. polja pred in po utrujanju.

4.1.3 Vpliv levitev in zabubljenj na ATE bližnjega el. polja

4.1.3.1 Vpliv levitev

Pri poskusu smo zabeležili 7 levitev. Test normalne razporeditve je pokazal, da so bile vse izmerjene vrednosti ATE nenormalno razporejene (pred levitvijo, po levitvi, pred/po levitvi, ob levitvi). Kolmogorov-Smirnov test je bil pri vseh signifikanten ($p \leq 0,05$), zato smo uporabili za primerjave vrednosti namesto parnega T testa Wilcoxonov test predznačnih rangov.

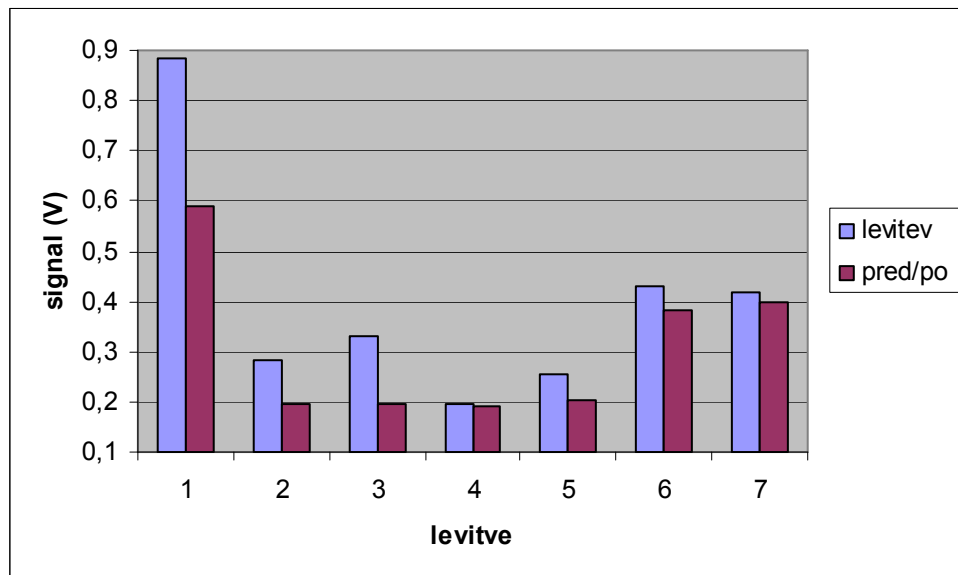
Pokazalo se je, da med vrednostmi ATE pred levitvijo in po levitvi ni statistično značilne razlike ($p \leq 0,46$) v vrednostih ATE. Se pa pojavi statistično značilna razlika med vrednostmi ATE v času levitve in vrednostmi izmerjenimi po/pred levitvijo ($p \leq 0,018$)

Preglednica 5: Vrednosti signala na senzorju pred levitvijo in po levitvi. Vrednosti signala so sorazmerne z ATE bližnjega električnega polja.

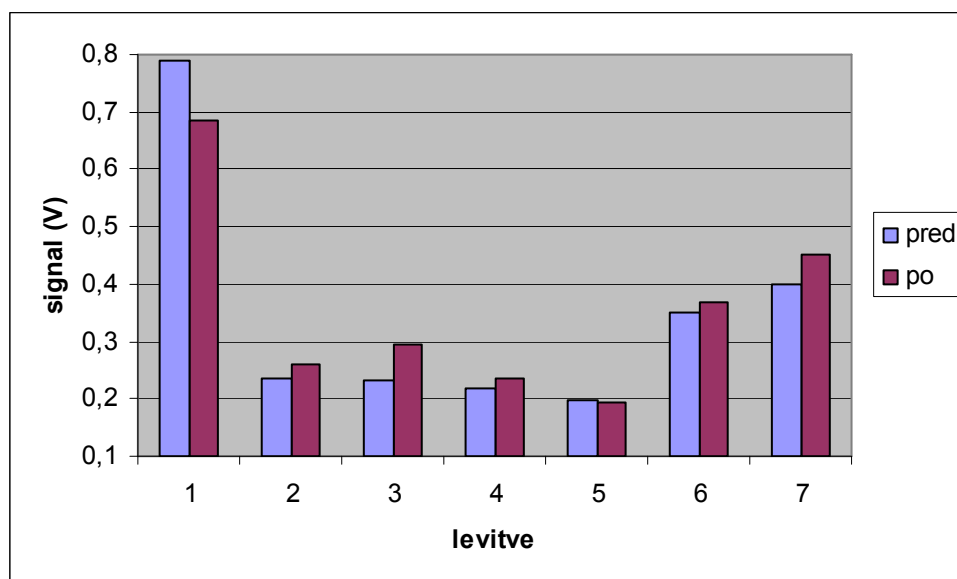
vrednost signala pred levitvijo (V)	vrednost signala po levitvi (V)
0,79	0,68
0,23	0,26
0,23	0,30
0,22	0,24
0,20	0,20
0,35	0,37
0,40	0,45

Preglednica 6: Vrednosti signala na senzorju ob levitvi in pred/ po levitvi. Vrednosti signala so sorazmerne z ATE bližnjega električnega polja.

vrednost signala Levitev (V)	vrednost signala pred/ po levitvi (V)
0,88	0,59
0,28	0,20
0,33	0,20
0,20	0,19
0,26	0,21
0,43	0,38
0,42	0,40



Slika 13: Primerjava vrednosti ATE bližnjega el. polja v času levitve in povprečne vrednosti pred in po levitvi za posamezne levitve. Vrednosti signala so sorazmerne ATE bližnjega električnega polja.



Slika 14: Primerjava vrednosti ATE bližnjega el. polja pred levitvijo in po levitvi za posamezne levitve. Vrednosti signala so sorazmerne ATE bližnjega električnega polja.

4.1.3.2 Vpliv zabubljenj

Pri testu smo merili spremembe ATE bližnjega električnega polja ob 5ih zabubljenjih. Pri zabubljenjih imajo vsi sklopi podatkov normalno razporeditev, tako da smo za primerjave uporabili parni T test. Tu se ni pri nobeni primerjavi pokazala statistično značilna razlika.

Signifikanca parnega T testa med vrednostmi pred in po zabubljenju je neznačilna ($p \leq 0,17$).

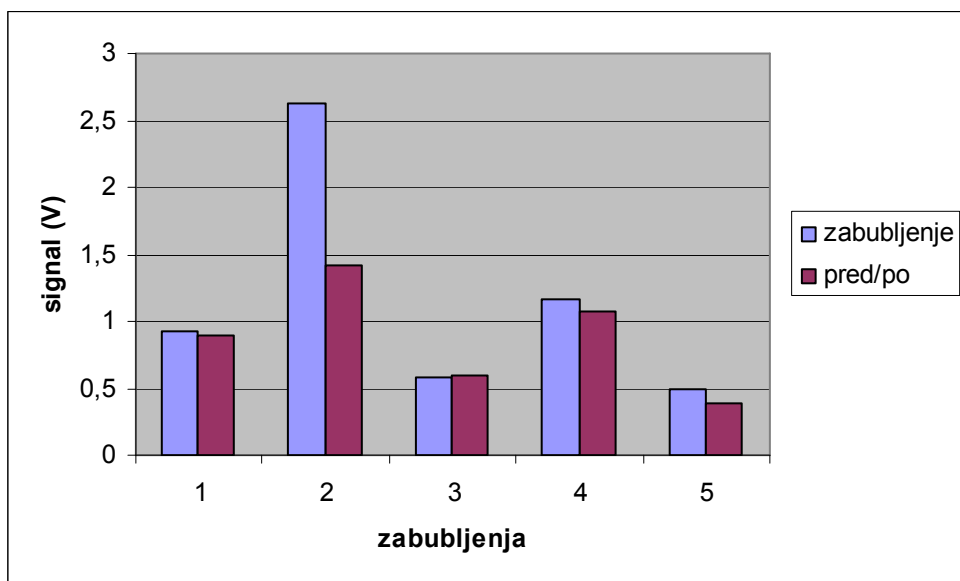
Tudi med vrednostmi ATE ob zabubljenju in pred/po njem ni signifikantne razlike ($p \leq 0,292$).

Preglednica 7: Vrednosti signala na senzorju ob zabubljenju in pred/po zabubljenju. Vrednosti signala so sorazmerne z ATE bližnjega električnega polja.

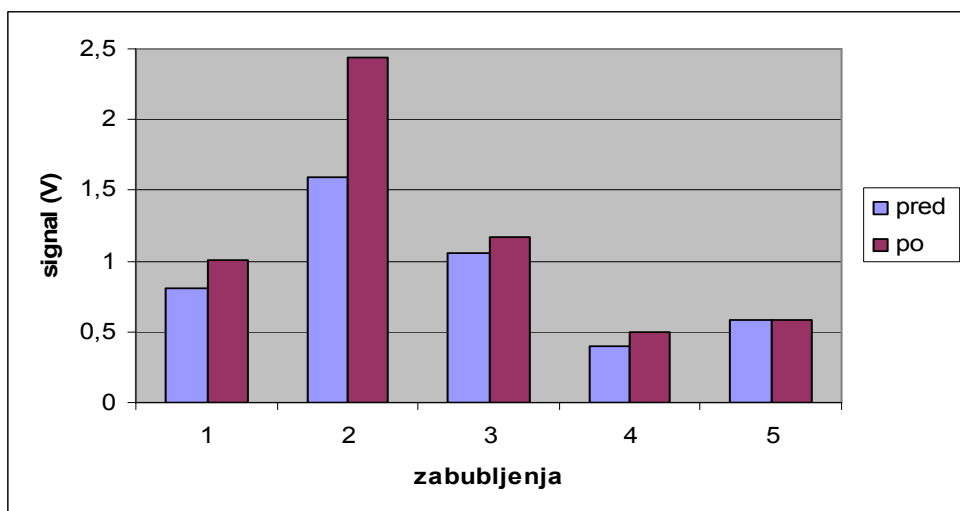
Vrednost signala ob zabubljenju (V)	vrednost signala pred/ po zabubljenju (V)
0,92	0,90
2,63	1,41
0,59	0,60
1,16	1,07
0,49	0,39

Preglednica 8: Vrednosti signala na senzorju pred zabubljenjem in po zabubljenju. Vrednosti signala so sorazmerne z ATE bližnjega električnega polja.

Vrednost signala Pred zabubljenjem (V)	vrednost signala po zabubljenju (V)
0,81	1,01
1,60	2,44
1,06	1,17
0,39	0,49
0,59	0,59



Slika 15: Primerjava vrednosti ATE bližnjega el. polja ob zabubljenju in povprečne vrednosti pred in po zabubljenju za posamezna zabubljenja. Vrednosti signala so sorazmerne z ATE bližnjega električnega polja.



Slika 16: Primerjava vrednosti ATE bližnjega el. polja pred in po zabubljenju. Vrednosti signala so sorazmerne z ATE bližnjega električnega polja.

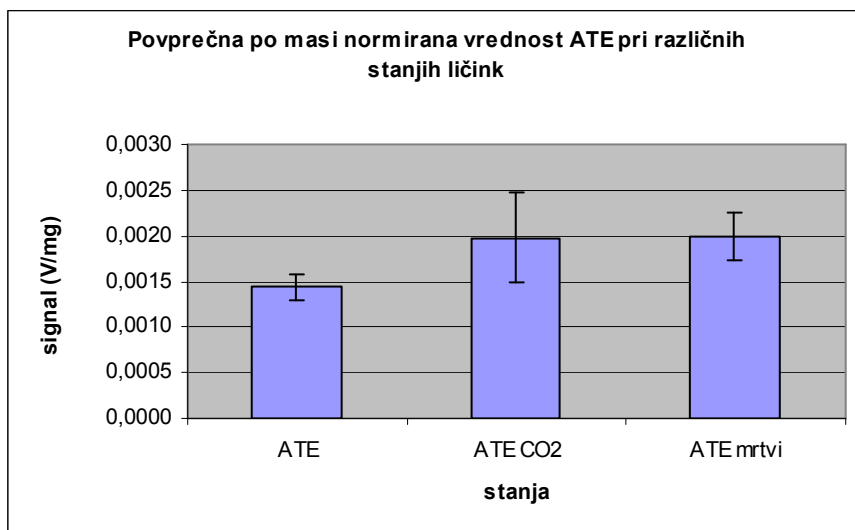
4.1.4 Primerjava vrednosti ATE med živimi in mrtvimi organizmi

4.1.4.1 Ličinke

Pri poskusu smo merili spremembe ATE bližnjega električnega polja na 10 ličinkah. Izmerjene mase ličink so med 54 mg in 157 mg. Razpon ATE pred omamljanjem in utrujanjem je med 0,06 V in 0,30 V, po omamljanju med 0,05 V in 0,39 V in pri mrtvih 0,08 V in 0,31 V. S parnim T testom smo primerjali statistično značilnost razlik med ATE na začetku, ATE po omamljanju s CO₂ in ATE mrtvih ličink. Test pokaže značilno razliko med začetno vrednostjo ATE in vrednostjo ATE mrtvih ličink ($p \leq 0,005$). Med vrednostmi ATE po omamljanju in začetnimi vrednostmi ATE ($p \leq 0,25$) ter vrednostmi ATE po omamljanju in vrednostmi ATE mrtvih ličink ($p \leq 0,65$) ni bilo statistično značilne razlike.

Preglednica 9: Vrednosti signala senzorja pri poskusu primerjave vrednosti ATE med živimi in mrtvimi ličinkami. Vrednosti signala so sorazmerne vrednosti ATE bližnjega električnega polja.

	masa (mg)	vrednost signala (V)	vrednost signala po omamljanju (V)	vrednost signala pri mrtvih (V)
	54	0,06	0,05	0,08
	60	0,15	0,33	0,24
	73	0,08	0,09	0,10
	83	0,10	0,15	0,23
	103	0,10	0,11	0,14
	115	0,16	0,18	0,23
	123	0,18	0,18	0,18
	128	0,18	0,39	0,22
	151	0,30	0,19	0,31
	157	0,20	0,21	0,28
POVP:	104,7	0,15	0,19	0,20
ST. DEV.	34,51	0,07	0,10	0,07
rel. st. dev.	33%	45%	52%	36%



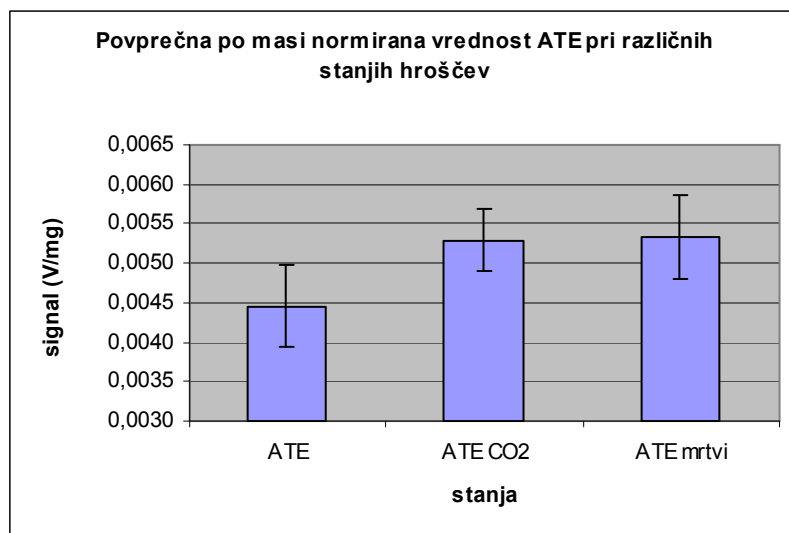
Slika 17: Povprečne po masi normirane vrednosti izmerjenega signala pri različnih stanjih ličink s 95% intervali zaupanja povprečnih vrednosti. Vrednosti signala so sorazmerne z ATE bližnjega električnega polja.

4.1.4.2 Hrošči

Pri poskusu smo merili spremembe ATE bližnjega električnega polja na 10 hroščih. Izmerjene mase hroščev so med 63 mg in 195 mg. Razpon ATE pred omamljanjem in utrujanjem je med 0,12 V in 0,93 V, po omamljanju med 0,22 V in 1,36 V in pri mrtvih 0,31 V in 0,99 V. S parnim T testom smo primerjali statistično značilnost razlik med ATE na začetku, ATE po omamljanju s CO₂ in ATE mrtvih hroščev. Dobili smo povečanje vrednosti ATE na meji statistične značilnosti pri mrtvih organizmih glede na žive ($p \leq 0,07$). Med vrednostmi ATE na začetku in po omamljanju ni statistično značilne razlike ($p \leq 0,18$), prav tako ne med vrednostmi po omamljanju in vrednosti mrtvih organizmov ($p \leq 0,93$).

Preglednica 10: Vrednosti signala senzorja pri poskusu primerjave vrednosti ATE med živimi in mrtvimi o hrošči. Vrednosti signala so sorazmerne vrednosti ATE bližnjega električnega polja.

	masa (mg)	vrednost signala (V)	vrednost signala po omamljanju (V)	vrednost signala pri mrtvih (V)
	63	0,12	0,22	0,37
	92	0,45	0,42	0,75
	93	0,48	0,41	0,43
	99	0,29	0,51	0,31
	106	0,52	0,50	0,53
	113	0,81	0,71	0,86
	127	0,34		0,39
	129	0,49	0,70	0,59
	135	0,87	0,90	0,83
	195	0,93	1,36	0,99
Povp.	115,2	0,53	0,64	0,61
ST. DEV.	35,27	0,26	0,34	0,24
Rel. st. dev.	31%	50%	53%	39%



Slika 18: Povprečne po masi normirane vrednosti izmerjenega signala pri različnih stanjih hroščev z 95 % intervali zaupanja povprečnih vrednosti. Vrednosti signala so sorazmerne ATE z bližnjega električnega polja.

4.2 DISKUSIJA

4.2.1 Masa/ ATE bližnjega el. polja

Pri poskusu odvisnosti ATE bližnjega električnega polja od mase smo želeli ugotoviti, do kolikšne mere je ATE odvisna od fizikalnih parametrov kot so masa, velikost, dielektrične in prevodne lastnosti in sestava telesnih tekočin. Med vsemi temi parametri smo izbrali maso, ker je najbolj spremenljiv dejavnik (dielektrične in prevodne lastnosti ter sestava telesnih tekočin se pri organizmih v enakih pogojih bistveno ne razlikujejo).

Tako pri hroščih, kot pri ličinkah smo dobili podobne korelacijske koeficiente (0,39 pri hroščih in 0,5 pri ličinkah), kar nakazuje, da imajo fizikalni parametri le delen vpliv na ATE bližnjega polja. Ostalo lahko verjetno pripišemo razlikam v fizioloških stanjih organizmov. Razliko med razmerjem signal/masa med hrošči ni ličinkami, lahko pripišemo veliko večji vsebnosti maščobe pri ličinkah kot pri hroščih.

4.2.2 Vpliv utrujanja na ATE bližnjega električnega polja

Pri poskusu vpliva utrujanja na ATE bližnjega električnega polja smo želeli pokazati na razliko v ATE pred in po utrujanju. Ugotovili smo, da se povprečne vrednosti absorpcije pred in po utrujanju statistično ne razlikujejo. Primerjali smo tudi velikosti varianc vrednosti ATE pred in po utrujanju, vendar med njima ni statistično značilne razlike ($p \leq 0,17$).

Poleg primerjave varianc in srednjih vrednosti, smo ugotavljali še korelacije med različnimi testnimi parametri. Korelacija mase z ATE pred utrujanjem je 0,49 in je neznačilna. Je pa zanimivo, da je korelacija mase z ATE po utrujanju višja (0,63) in statistično značilna ($p \leq 0,03$). To povečanje korelacije bi bilo lahko posledica bolj podobnih fizioloških stanj organizmov po utrujanju (teoretično ob popolnoma identičnih fizioloških stanjih bi bila korelacija odvisna le od fizikalnih parametrov (med katere sodi tudi masa) in zato praktično enaka 1). Med ATE pred utrujanjem in samo spremembo ATE se je pojavila izredno visoka, statistično značilna, negativna korelacija, -0,79. Tako da večja kot je vrednost ATE pred utrujanjem, bolj negativna je vrednost spremembe. To je posledica je bolj podobne vrednosti ATE med posameznimi organizmi po utrujanju.

Rezultati nakazujejo, da je ATE odvisna od aktivnosti organizma in da enaka aktivnost pri različnih osebkih povzroči višjo stopnjo korelacije ATE po utrujanju z maso.

Pri poskusu so določeni rezultati statistično neznačilni, vzroki tega pa je lahko tudi v ne najbolj zanesljivo izvedenem postopku utrujanja. V primeru, da bi uporabili bolj zanesljivo metodo utrujanja (predvsem bolj zanesljivo določitev spočitosti in utrujenosti) in vzeti mnogo večji numerus živali, bi morda dobili bolj zanesljive rezultate, vendar tega zaradi pilotske narave poskusov nismo izvedli.

4.2.3 Vpliv levitev in zabubljenj na ATE bližnjega el. polja

Pri poskusu smo želeli ugotoviti vpliv spremembe ATE tekom levitev in zabubljenj. Pri levitvah smo naredili dve primerjavi:

1. Primerjava vrednosti ATE pred levitvijo in po levitvi.
2. Primerjava vrednosti ATE v času levitve in vrednosti po/pred levitvijo.

Če pogledamo rezultate obeh primerjav, lahko ugotovimo, da se v času okoli levitve poveča ATE bližnjega el. polja, kar zelo lepo potrdi neparametrični Wilcoxonov Signed Ranks test, kjer je verjetnost ničelne hipoteze manj kot 0,018. Med levitvijo se torej dogajajo določene fiziološke spremembe, ki povečajo ATE, ne pride pa do trajnih sprememb le te, kar pokaže test primerjave vrednosti ATE pred levitvijo in po njej. Vzrok povečanja ATE v času levitve bi lahko bila tudi povečana sinteza polarnih in dipolnih makromolekul (mikrotubuli, encimi, itd.) in povečana porabi energije. Glede na to, da se vrednosti ATE pred levitvijo in po levitvi statistično ne razlikujejo, vidimo tudi, da je vpliv zamenjave eksokutikule, kot površinske plasti, na ATE zanemarljiv, saj je to glavna anatomsko sprememba na organizmu, po tem ko poteče levitev. Pred levitvijo ima ličinka (če jo gledamo iz stališča prevodnosti in upornosti) eno izolacijsko plast več, kot pred levitvijo, pa to ne vpliva značilno na vrednost ATE. Ker se pojavi razlika med vrednostmi ATE v času levitev in vrednostmi ATE časovno bolj oddaljenih meritev, ni pa razlike med vrednostmi ATE pred in po levitvi, sklepamo, da je ATE odvisna predvsem od fizioloških procesov v organizmu pri levitvi.

Identični primerjavi kot pri levitvah pa smo izvedli tudi pri zabubljenjih. Proti pričakovanjem ni bilo statistično značilne razlike med vrednostmi ATE pred in po zabubljenju, niti med vrednostmi ATE ob zabubljenju in pred/po zabubljenju. Tu so bili vzorci očitno premajhni (5 zabubljenj). Sama zabubljenja v osnovi sploh nismo imeli namena meriti, vendar se nam je, pri poskusu kjer smo spremljali levitve, v času trajanja poskusa pet ličink zabubilo, zato smo tudi zabubljenje vključili v poskus.

4.2.3 Primerjava vrednosti ATE med živimi in mrtvimi organizmi

Tu smo izvedli kontrolni poskus, da vidimo, kakšna je razlika v vrednostih ATE med živimi in mrtvimi organizmi. Zanimivo je, da so tako pri hroščih kot pri ličinkah vrednosti ATE mrtvih organizmov višje kot živih. Tu fiziološki procesi, ki so v živem organizmu aktivni, verjetno vplivajo, da ima organizem povečano razmerje med absorpcijo in emisijo bližnjega električnega polja. Pričakovali smo tudi zmanjšanje relativne variance pri mrtvih organizmih (pri mrtvih 0,39, pri živih 0,50), vendar z F testom tega nismo mogli potrditi.

Tako pri hroščih kot pri ličinkah smo izvedli tudi omamljanje s CO₂. Testi omamljanja se niso značilno razlikovali od ostalih dveh testov, so pa po povprečni vrednosti tako za hrošče kot ličinke skoraj enaki mrtvim organizmom.

5 SKLEPI

- ATE bližnjega električnega polja je poleg fizikalnih parametrov odvisna tudi od fizioloških in razvojnih stanj organizma, kar pokažeta tako 50% korelacijski koeficient med maso in ATE pri ličinkah in 39% korelacijski koeficient med maso in ATE pri hroščih..
- V času levitev pride do povečanja ATE bližnjega električnega polja.
- Vrednosti pred levitvijo in po levitvi se statistično ne razlikujejo, tako da debelina kutikule ne vpliva bistveno na ATE bližnjega električnega polja skozi organizem
- Živi organizmi imajo nižjo vrednost ATE kot mrtvi.

6 POVZETEK

V pričujoči raziskavi smo želeli na podlagi predhodnih pozitivnih rezultatov ugotoviti povezavo med ATE okoljskega bližnjega električnega polja in fiziološkim in razvojnim stanjem mokaža (*Tenebrio molitor*) in s tem ugotoviti uporabnost metode za določanje fizioloških in razvojnih stanj organizmov.

Bližnje polje je območje okoli vira elektromagnetnega valovanja, ki je po dogovoru bližje kot ena valovna dolžina od vira valovanja. Za bližnje polje je značilno, da električno in magnetno polje nista fazno usklajena, poleg tega nista vedno transverzalna na smer sevanja. V bližnjem polju je v določenih območjih polje predvsem električno, v drugih predvsem magnetno. Tako zahteva bližnje polje, z razliko od daljnega, ločeno merjenje električnega in magnetnega polja. Če se v bližnjem polju nahaja prevoden objekt, lahko preko induktivnega in kapacitivnega prenosa absorbira energijo (Hyland, 2003).

Princip meritev je temeljil na prevajanju (absorpcija in emisija) bližnjega polja skozi organizem, ki deluje kot posrednik med oddajnim sistemom, ki predstavlja vir zunanega bližnjega električnega polja, in detekcijskim sistemom, ki oddano bližnje polje organizma prestreže oz. izmeri (Škarja, 2005).

Izvedli smo štiri poskuse: odvisnost ATE od mase organizma, vpliv utrujanja na ATE, vpliv levitev in zabubljenj na ATE in primerjavo vrednosti ATE med živimi in mrtvimi organizmi. Pri poskusu odvisnosti ATE od mase organizma smo dobili podobno velika koeficienta korelacije tako pri hroščih kot pri ličinkah (0,39 in 0,50). Glede na dobljene rezultate poskusa smo sklepali, da na ATE, poleg klasičnih fizikalnih absorpcijskih parametrov, vpliva tudi fiziološko oziroma razvojno stanje organizma. Pri poskusu odvisnosti absorpcije od utrujanja smo želeli ugotoviti vpliv zunanega stresa na organizme. Pri poskusu odvisnosti ATE od utrujanja smo dobili korelacijo mase z ATE pred utrujanjem 0,49 na meji statistične značilnosti ($p \leq 0,1$) in po utrujanju višjo korelacijo 0,63, ki je statistično značilna ($p \leq 0,03$). Sprememba vrednosti korelacijskega koeficienta kaže na povezavo vrednosti ATE s fiziološkim stanjem organizma, saj so po utrujanju organizmi fiziološko bolj poenoteni kot pred njim. V poskusu vpliva levitev in zabubljenj smo

spremljali vrednosti ATE organizmov tekom več levitev in zabubljenj. Opazili smo statistično značilno povečanje absorpcije v času levitve ($p \leq 0,018$), glede na povprečne vrednosti pred in po levitvi, med vrednostmi pred levitvijo in po levitvi pa ni bilo razlike. Kaže da se zaradi določenih fizioloških procesov med levitvijo poveča ATE bližnjega električnega polja, vendar sprememba ni trajna, saj se vrednosti po levitvi vrnejo na izhodiščno vrednost. Izvedli smo tudi primerjavo vrednosti ATE med živimi in mrtvimi organizmi. Pri ličinkah dobimo statistično značilno razliko ($p \leq 0,005$), pri hroščih pa je razlika na meji statistične značilnosti (0,07).

Rezultati nakazujejo na povezavo fiziološki in razvojnih stanj z vrednostmi ATE bližnjega električnega polja organizma, potrebni pa bodo še dodatni poskusi za določitev uporabnosti meritev bližnjega električnega polja kot kazalnika razvojnih in fizioloških stanj.

7 VIRI

7.1 CITIRANI VIRI

- Bistolfi F. 1991. *Biostructures and Radiation Order Disordered*. Torino, Edizioni Minerva Medica: 154-169
- Chen LB. 1989. *Fluorescent labeling of mitochondria*. *Methods in Cell biology*;29:103–120.
- Cooper M.S. Schliwa M. 1986. *Transmembrane Ca fluxes in the forward and reversed galvanotaxis of fish epidermal cells*. *Prog. Clin. Biol. Res.*; 210: 311–318
- Erickson C.A. 1985. *Morphogenesis of the neural crest*. In: Browder LW, editor. *Developmental Biology*. New York:Plenum,;2:528.
- Ewart J.L. Cohen M.F. Meyer R.A. Huang G.Y. Wessels A. Gourdie R.G. et al. 1997. *Heart and neural tube defects in transgenic mice overexpressing the Cx43 gap junction gene*. *Development*;124:1281–92.
- Frolich H. 1973 *Collective Behaviour between Non-linearly Coupled Oscillating Fields*. *Collective Phenomena*, 1, 101-109.
- Hornak J.H. 2007. *The Basics of MRI*
<http://www.cis.rit.edu/htbooks/mri/>
- Hyland G.J.1998. *Quantum Coherence and the Understanding of Life Biophotons* eds. Chang J.J. et. Al. Kluwer Academic Publishers, Dordrecht
- Hyland G. J. 2002. »Coherent Excitation in Living Biosystem, and their Implications«. *What is Life, World Scientific*.
- Hyland, H.J. 2003. *Bio-Electromagnetism*. In: *Integrative biophysics* Popp, F.A and Beloussov L. (eds.). Netherlands, Kluwer Academic Publishers:117-148.
- Hyland G.J. 2005. *Bio-electromagnetism*. In: *Integrative Biophysics*. Popp, F.A and Beloussov L. (eds.). Netherlands, Kluwer Academic Publishers, 117-148
- International Commission on Non-Ionizing Radiation Protection. 1998. *Guidelines for limiting exposure to time-varying electric, magnetic, and electromagnetic field(up to 300 GHz)*. *Health Physics*. 74,4
- Jacson J.D. 1998 *Classical electrodynamics*. Wiley & Sons, New York
- Kimura K. Yanagida Y. Haruyama T. Kobatake E. Aizawa M. 1998. *Gene expression in the electrically stimulated differentiation of PC12 cells*. *J Biotechnol.*;63:55–65.
- Kolega J. 1985. *The cellular basis of epithelial morphogenesis*. In: Browder L.W(ed.). *Developmental Biology* New York: Plenum,;2:112–6.
- Lo C.W. 1996. *The role of gap junction membrane channels in development*. *J Bioenerg Biomembr*; 28:379–85,

- Marsh G. Beams H.W. 1952. *Electrical control of morphogenesis in regenerating Dugesia tigrina*. *J Cell Comp Physiol*; 39: 191
- McCaig C.D. 1987. *Spinal neurite regeneration and regrowth in vitro depend on the polarity of an applied electric field*. *Development*;100: 31–41
- McGinnis M.E. Vanable J.W. Jr. 1986. *Voltage gradients in newt limb stumps*. *Prog.Clin Biol. Res.*; 210: 231– 238.
- Meinhardt H. 1982. *Models of Biological Pattern Formation* London: Academic; pp. 20.
- Nelson P.G. Yu C. Fields R.V. Neale E.A. 1998. *Synaptic connections in vitro modulation of number and efficacy by electrical activity*. *Science*
- Nuccitelli R. 1984. *The involvement of transcellular ion currents and electric fields in pattern formation*. In: Malacinski GM, editor. *Pattern formation*. New York: Macmillan;
- Nuccitelli R. 1988. *Ionic currents in morphogenesis*. *Experientia*;44: 657–666.
- Pokorny J. Hašek J. Jelinek F. Šároch J. Palan B. 2001. *Electrmagnetic Activity of Yeast Cells in the M Phase*. *Electro- and Magnetobiology*, 20(3), 371-396
- Pollock C. Polk E. 1996. *Handbook of biological effects 2th Edition*, CRC Press, New York
- Popp F.A. Nagl W. Li H.K. Weingartner O. Wolf R. 1984. *Biophoton emission. New evidence for coherence and DNA as source*. *Cell Biophysics*; 6(1) : 33-52
- Popp F.A. 2003. *Biophotons – Background, Experimental Results, Theoretical Approach and Applications V: Integrative biophysics* Popp, F.A and Belousov L. (eds.). Netherlands, Kluwer Academic Publishers: 387-438
- Shang C. 1989. *Singular Point, organizing center and acupuncture point*. *Am J Chin Med*;17:119–127.
- Shang C. 1993. *Bioelectrochemical oscillations in signal transduction and acupuncture—an emerging paradigm*. *Am J Chin Med*;21:91–101
- Shang C. 2000. *Electrophysiology of growth control and acupuncture*. *Life Sciences* 68 (2001) 1333–1342
- Slawinski J., Popp F.A. 1987 *J. PL. Physiol.* 130, 111-123
- Street, R. 1999. *"Tenebrio molitor"* (On-line), *Animal Diversity Web*.
http://animaldiversity.ummz.umich.edu/site/accounts/information/Tenebrio_molitor.html(29.8.2007).
- Škarja M. Jerman I. Leskova R.T. 2005. *Changes of electric potential of sensors due to near field contact with organisms*. in *Biological Systems. Frölich Centenarian Symposium, Abstract book, Prague July 1-4, 2005*, 76-78.
- Škarja M. Jerman I. Leskova R.T. 2006. *Realna moč zavesti. V: Bohanec M. in sod. (ur.). Zbornik 9. mednarodne multikonference Informacijska družba IS 2006, 9. do 14. oktober 2006, (Informacijska družba)*. Ljubljana: Institut "Jožef Stefan", str. 384-387.
- Škarja M. 2007. *Near Field based Measurements of Biofield of Organisms and in Nature*. In: »Measuring Energy Fields« (ed. Kononenko I), *Proceedings of International Scientific Conference. Kamnik, Tunjice October 13-14, 2007*, 56-59.

Wiley L.M. Nuccitelli R. 1986. *Detection of transcellular currents and effect of an imposed electric field on mouse blastomeres. Prog Clin Biol Res*;210: 197–204.

8.2 DRUGI VIRI

Darkling Beetle/Mealworm Information. 1997.Center for Insect Science Education Outreach. The University of Arizona
<http://insected.arizona.edu/mealinfo.htm>(29.8.2007)

Street, R. 1999. "*Tenebrio molitor*" (On-line), *Animal Diversity Web*.
http://animaldiversity.ummz.umich.edu/site/accounts/information/Tenebrio_molitor.html(29.8.2007).

2005. *Fundamentals of EM waves. Microwave Encyclopedia. ARC technologies, inc.*
<http://www.microwaves101.com/encyclopedia/absorbingradar1.cfm>(14.5.2008)

2007. *Mealworm. Wikipedia, the free encyclopedia*
http://en.wikipedia.org/wiki/Tenebrio_molitor(18.10.2007)

