

УНИВЕРЗИТЕТ У БЕОГРАДУ

БИОЛОШКИ ФАКУЛТЕТ

Даница З. Димитријевић

**УТИЦАЈ ПРОМЕНЉИВОГ МАГНЕТНОГ
ПОЉА (50 Hz, 0,5 mT) НА
ЛОКОМОТОРНУ АКТИВНОСТ И
КОМПОНЕНТЕ АДАПТИВНЕ
ВРЕДНОСТИ *Drosophila subobscura*
(Collin, 1936)**

докторска дисертација

Београд, 2014

UNIVERSITY OF BELGRADE

FACULTY OF BIOLOGY

Danica Z. Dimitrijević

**INFLUENCE OF ALTERNATING
MAGNETIC FIELD (50 Hz, 0.5 mT) ON
LOCOMOTOR ACTIVITY AND FITNESS
COMPONENTS OF *Drosophila*
subobscura (Collin, 1936)**

Doctoral Dissertation

Belgrade, 2014

МЕНТОРИ:

др Татјана Савић, виши научни сарадник

Институт за биолошка истраживања „Синиша Станковић“

Универзитет у Београду

др Софија Павковић-Лучић, ванредни професор

Биолошки факултет

Универзитет у Београду

КОМИСИЈА:

др Татјана Савић, виши научни сарадник

Институт за биолошка истраживања „Синиша Станковић“

Универзитет у Београду

др Софија Павковић-Лучић, ванредни професор

Биолошки факултет

Универзитет у Београду

др Бранка Јанаћ, научни саветник

Институт за биолошка истраживања „Синиша Станковић“

Универзитет у Београду

Датум одбране: _____

ЗАХВАЛНИЦА

Експериментални део ове докторске дисертације је урађен на Одељењу за генетику популација и екогенотоксикологију Института за биолошка истраживања „Синиша Станковић“ Универзитета у Београду у оквиру пројеката бр. 173012 и 173027 финансираних од стране Министарства просвете, науке и технолошког развоја Републике Србије.

Велику захвалност дугујем мојој менторки **др Татјани Савић** на свему што ме је научила и подстакла да научим, на стручном вођењу током израде ове тезе и свим сугестијама и смерницама које су ме формирале као истраживача.

Велико хвала **др Бранки Јанаћ**, мојој незваничној менторки, на првим научним корацима, на помоћи приликом експерименталног рада и конструктивним разговорима током писања ове тезе.

Захваљујем се професорки **др Софији Павковић-Лучић** на корисним саветима и оцени ове докторске дисертације.

Целом тиму са Одељења за генетику популација и екогенотоксикологију Института за биолошка истраживања „Синиша Станковић“ хвала на пријатном времену проведеном у вашој лабораторији, пријатељском помагању и толеранцији. Драге моје колеге **Зоко, Мајки, Боки, Маро и Сања**, хвала на указаном поверењу, лепој сарадњи и несебичној помоћи на коју сам увек могла да рачунам.

Хвала **др Матовић Бранку**, мом шефу у Институту за нуклеарне науке „Винча“, на поверењу које ми је указао, великом разумевању и подршци у мом професионалном развоју.

Највећу захвалност дугујем мојој породици, мом Столету и пријатељима, који ме увек бодре и својом љубављу дају смисао свим мојим успесима. Ваша безрезервна дугогодишња подршка ми је била од посебног значаја да истрајем у овом степену усавршавања.

Мама, тата и Станко, ову докторску дисертацију посвећујем вама!

УТИЦАЈ ПРОМЕНЉИВОГ МАГНЕТНОГ ПОЉА (50 Hz, 0,5 mT) НА ЛОКОМОТОРНУ АКТИВНОСТ И КОМПОНЕНТЕ АДАПТИВНЕ ВРЕДНОСТИ *Drosophila subobscura* (Collin, 1936)

САЖЕТАК ДОКТОРСKE ДИСЕРТАЦИЈЕ:

Поред природног магнетног поља Земље, коме је изложен целокупни живи свет, технолошким напретком и свакодневном употребом различитих апарата у домаћинствима и радним просторијама повећава се учесталост „вештачких“ магнетних поља различитих фреквенција. Променљива магнетна поља, која обухватају распон фреквенција од 0 до 300 Hz се сврставају у групу екстремно нискофреквентних магнетних поља и све су више присутна у животној средини. Имајући у виду њихов утицај на живе организме, ова магнетна поља се сматрају важним еколошким фактором. Због тога се последњих година улажу велики напори у изучавање њихове интеракције са биолошким системима у оквиру дисциплине магнетобиологија.

У бројним студијама је показана осетљивост биолошких система на променљива магнетна поља на различитим нивоима организације, од молекуларног до одговора на нивоу понашања јединки. Локомоторна активност и компоненте адаптивне вредности (дужина развића, динамика излегања, преживљавање и однос полова) су подложне утицају спољашње средине, те је од посебног значаја испитивање утицаја променљивих магнетних поља на поменуте адаптивне карактеристике биолошких система. Јединке *Drosophila* представљају погодан модел организам за анализу локомоторне активности и компоненти адаптивне вредности, чији се одговор у некој мери може екстраполирати и на хуману популацију.

Предмет ове докторске дисертације је био да се покаже постоји ли и какав је утицај излагања различитих стадијума развића *isofemale* (ИФ) линија *Drosophila subobscura* променљивом магнетном пољу (50 Hz, 0,5 mT) у трајању од 48 сати. Употреба генетички различитих ИФ линија *D. subobscura* омогућила је да се утицај магнетног поља не приписује индивидуалном одговору јединки, већ одговору појединачне линије. Након излагања различитих стадијума развића *D.*

subobscura (јаје-први ступањ ларве и адулти старости један дан) праћене су локомоторна активност (пређени пут и покретљивост) адулата три дана старости у *open field* тесту и компоненте адаптивне вредности (дужина развића, динамика излегања, преживљавање и однос полова).

Показано је да независно од стадијума развића који је излаган променљивом магнетном пољу, локомоторна активност адулата старости три дана је значајно смањена. Смањена локомоторна активност адулата, који су непосредно пре праћења били изложени променљивом магнетном пољу током 48 сати, је била забележена током целокупног времена праћења од 30 мин. Са друге стране, код адулата, који су излагани магнетном пољу у стадијуму јаје-први ступањ ларве, ова промена је утврђена само у првих 10 минута праћења. Променљиво магнетно поље (50 Hz, 0,5 mT) скраћује време потребно за развиће, повећава преживљавање и не утиче на однос полова *D. subobscura*. Такође, између одабраних ИФ линија, које су биле различите генетичке структуре, уочена је разлика у одговору на примењено магнетно поље.

Добијени резултати указују на извешан степен осетљивости различитих стадијума развића одабраних ИФ линија *D. subobscura* на деловање променљивог магнетног поља, као еколошког, али и стресогеног фактора. Уочени утицаји на локомоторну активност и компоненте адаптивне вредности се могу приписати утицају примењеног магнетног поља на хормонски и нервни систем, обзиром да исти имају важну улогу у контроли испитиваних параметара.

КЉУЧНЕ РЕЧИ: 50 Hz магнетно поље, дужина развића, преживљавање, пређени пут, покретљивост, *Drosophila*

НАУЧНА ОБЛАСТ: Биологија

УЖА НАУЧНА ОБЛАСТ: Генетика популација, генетика понашања, магнетобиологија

УДК БРОЈ: 613.648.2:[591.17+575.17]:595.771(043.3)

INFLUENCE OF ALTERNATING MAGNETIC FIELD (50 Hz, 0.5 mT) ON
LOCOMOTOR ACTIVITY AND FITNESS COMPONENTS OF *Drosophila*
subobscura (Collin, 1936)

ABSTRACT:

While all living beings are constantly exposed to the natural magnetic field, they are also exposed to various “artificial” magnetic fields of different frequencies coming from household and office devices. Extremely low-frequency magnetic fields are those ranging from 0 to 300 Hz and they are becoming more present in our environment. These magnetic fields are considered to be an important ecological factor due to their impact on living organisms. In recent years, tremendous efforts are invested in understanding their influence on biological systems within magnetobiology discipline.

Number of studies showed biological systems' sensitivity on alternating magnetic fields at different levels, from molecular to behavioural. Locomotor activity and fitness components (developmental time, dynamic of hatching, viability and sex ratio) are subjected to environmental influences. Therefore, it is important to examine the influence of alternating magnetic fields on those adaptive characteristics of biological systems. *Drosophila* is suitable model organism for analysis of locomotor activity and fitness components, since results can be extrapolated to some degree to human population.

Besides investigating the existence of alternating magnetic fields' impact, the subject of this doctoral thesis is also to reveal consequences of exposing various developmental stages of *isofemale* (IF) lines of *Drosophila subobscura* to an alternating magnetic field (50 Hz, 0.5 mT) in duration of 48 hours. Genetically different *D. subobscura* IF lines were used in order to acquire response of particular line and exclude individual response to the magnetic field. After exposing different developmental stages of *D. subobscura* (egg-first instar larvae and one day old adult), locomotor activity (distance travelled and mobility) of three-day old adults was observed in an open field test, as well as fitness components (developmental time, hatching dynamic, viability and sex ratio).

Locomotor activity of three-day old adults was significantly reduced, regardless of developmental stages and exposure to alternating magnetic field. Decrease in a locomotor activity of adults, exposed to alternating magnetic field in a time frame of 48 hours, was recorded during a 30 minute observation. However, adults exposed to an alternating magnetic field during egg-first instar larvae stadium showed decrease in locomotor activity only during the first 10 minutes. Effects of the alternating magnetic field (50 Hz, 0.5 mT) showed decreased developmental time, viability increase rate and no influence on sex ratio. In addition, different response was recorded in relation to applied magnetic field exposure among selected IF lines with different genetic structure.

The obtained results indicate various sensibility among different developmental stages of selected IF lines of *D. subobscura* after exposure to alternating magnetic field as ecological and stress factor. These effects on locomotor activity and fitness components can be attributed to the influence of alternating magnetic field on hormonal and nervous systems, which have significant role in controlling investigated parameters.

KEY WORDS: 50 Hz magnetic field, developmental time, viability, distance travelled, mobility, *Drosophila*

SCIENTIFIC FIELD: Biology

SPECIAL TOPICS: Population genetics, behavioural genetics, magnetobiology

UDC NUMBER: 613.648.2:[591.17+575.17]:595.771(043.3)

САДРЖАЈ

1. УВОД.....	1
1.1. Магнетна поља као еколошки фактор	1
1.2. Утицај спољашњих магнетних поља на биолошке системе.....	6
1.3. <i>Drosophila subobscura</i> као модел организам.....	11
1.3.1. Развиће <i>Drosophila sp.</i>	12
1.3.2. Локомоторна активност <i>Drosophila sp.</i>	14
1.3.3. Утицај спољашњих магнетних поља на <i>Drosophila sp.</i>	15
2. ЦИЉЕВИ РАДА.....	18
3. МАТЕРИЈАЛ И МЕТОДЕ.....	19
3.1. Биолошки материјал.....	19
3.2. Дефинисање генетичке структуре одабраних ИФ линија на основу варијабилности митохондријалне ДНК врсте <i>D. subobscura</i>	20
3.3. Апаратура за генерисање променљивог магнетног поља.....	22
3.4. Експериментална процедура	23
3.4.1. Праћење компонената адаптивне вредности <i>D. subobscura</i>	24
3.4.2. Праћење локомоторне активности адулата <i>D. subobscura</i>	25
3.5. Статистичка обрада података	26
4. РЕЗУЛТАТИ.....	28
4.1. Генетичка структура одабраних ИФ линија <i>D. subobscura</i> на основу анализиране митохондријалне ДНК (мтДНК).....	28
4.2. Утицај променљивог магнетног поља (50 Hz, 0,5 mT) на локомоторну активност адулата <i>D. subobscura</i>	30
4.2.1. Локомоторна активност адулата <i>D. subobscura</i> након излагања стадијума јаје-ларва.....	30
4.2.2. Локомоторна активност адулата <i>D. subobscura</i> након излагања стадијума адулата старости један дан	33
4.3. Утицај променљивог магнетног поља (50 Hz, 0,5 mT) на компоненте адаптивне вредности <i>D. subobscura</i>	37

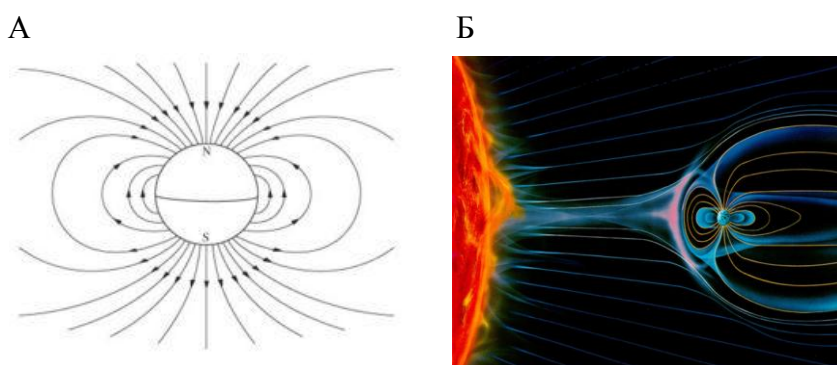
4.4. Утицај променљивог магнетног поља (50 Hz, 0,5 mT) на компоненте адаптивне вредности и локомоторну активност сваке одабране ИФ линије	
<i>D. subobscura</i>	39
4.4.1. ИФ линија Б16/1	42
4.4.2. ИФ линија Б24/4	47
4.4.3. ИФ линија Б39/1	51
4.4.4. ИФ линија Б57/2	55
4.4.5. ИФ линија Б69/5	60
5. ДИСКУСИЈА	65
6. ЗАКЉУЧЦИ	75
7. ЛИТЕРАТУРА	77
БИОГРАФИЈА	96
Прилог 1	97
Прилог 2	98
Прилог 3	99

1. УВОД

1.1. Магнетна поља као еколошки фактор

Сваки живи систем, који је у нераскидивој вези са средином у којој живи, је под утицајем читавог комплекса абиотичких и биотичких фактора који чине ту средину. Утицај човека, тј. антропогени фактор, спада у биотичке факторе и од посебног је значаја због свог специфичног и значајног деловања. Интеракција живог система са средином у којој се налази се примарно дешава на нивоу јединке, а то даље може довести до утицаја и на целокупну популацију којој јединка припада.

Од тренутка постанка, живи свет је изложен природном геомагнетном пољу (Слика 1А). Ово поље настаје као последица динамичних промена Земљиног језгра, тј. кретањем наелектрисаних честица у растопљеном земљиним језгру. Са својим северним и јужним полом, геомагнетно поље удаљавањем од површине постаје деформисано под утицајем Сунчевог ветра и кретања Земље, пружајући се више милона километара у смеру дејства Сунчевог ветра (Слика 1Б). Вредности овог поља на површини Земље варирају од око 30 μT , око екваторијалне области (област Јужне Америке и Јужне Африке), до преко 60 μT око магнетних полова у Северној Канади и Јужној Аустралији, и делом у Сибиру. Такође, као последица промене магнетне поларизације у Земљиној кори, постоје нека места на површини Земље на којима вредности геомагнетног поља знатно одступа од просечних (Hinze, 1985).

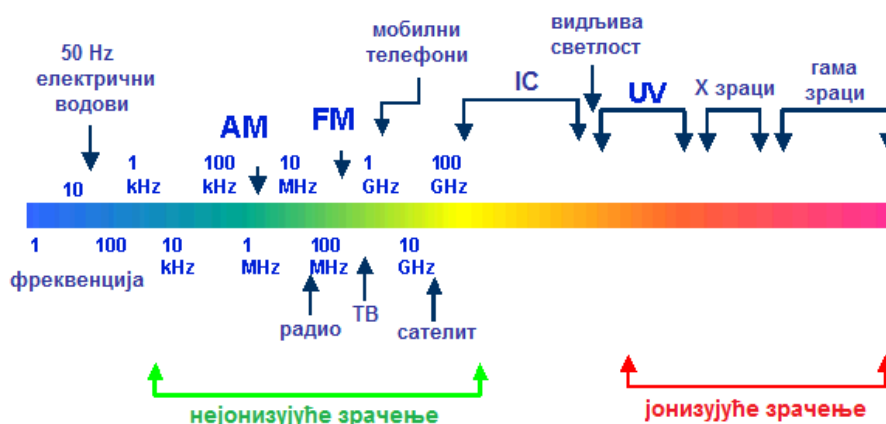


Слика 1. Геомагнетно поље

(А, [creationwiki.org](https://commons.wikimedia.org/wiki/File:Earth_magnetic_field_lines.png); Б, www.ngdc.noaa.gov/geomag/icons/solarexp.jpg)

Геомагнетно поље служи као штит планети Земљи, пружајући заштиту биолошким системима од штетних космичких зрачења. Током процеса еволуције биосфере, геомагнетно поље, поред претходно поменуте заштите, уједно утиче на све биолошке процесе и нивое организације биолошких система. Временом су организми развили способност за оријентацију користећи геомагнетно поље (Kimchi и сар., 2004; Lohmann и сар., 2004; Mouritsen и сар., 2004).

Поред природних магнетних поља (геомагнетно поље, Сунчево магнетно поље, галактичко магнетно поље,..) којима је живи свет непрекидно изложен, додатне изворе „вештачких“ магнетних поља, различитих интензитета и фреквенција, представљају електрични уређаји који се свакодневно користе у домаћинствима и на радним местима (Слика 2).



Слика 2. Спектар електромагнетног зрачења
(www.emctech.com.au/emr/default.htm)

У електромагнетном спектру коме је живи свет изложен, посебно место заузимају електромагнетна зрачења екстремно ниских фреквенција (ЕНФ, до 300 Hz) пореклом од електричних водова, кућних апарата и саобраћајних средстава. ЕНФ магнетна поља, као и електромагнетна зрачења високих фреквенција (реда величине GHz) пореклом од мобилних телефона и других комуникационих уређаја (телевизија, радио, радар,...) су предмет интензивних истраживања.

Енергија емитујућих зрачења (E) је директно пропорционална фреквенцији, у складу са једначином:

$$E = h\nu \quad (1)$$

где h представља Планкову константу која износи $6,624 \times 10^{-34}$ J sec, а ν фреквенцију у херцима (Hz). Јединица мере енергије је џул (J) или електронволт (eV).

Биолошки системи изложени електромагнетним зрачењима апсорбују одређену количину енергије, која се изражава по јединици масе организма, тј. ткива. Сразмерно дубини продирања, електромагнетни таласи мењају свој правац, делимично се одбијају, делимично се апсорбују, али у сваком случају ткиву предају део енергије и то у виду топлоте. Количина апсорбоване енергије од стране биолошког система се означава као специфична апсорбована доза електромагнетног зрачења (SAR) и израчунава се у складу са једначином:

$$SAR = 4186 (C_H \Delta T) / t \quad (2)$$

где је C_H специфични топлотни капацитет ткива (kcal/kg °C), **4186** је конверзиони фактор kcal у J, ΔT је промена температуре (°C) и t је трајање изложености електромагнетном зрачењу (s). Јединица мере апсорбоване енергије је ват по килограму (W/kg).

Електромагнетно поље ствара струја која пролази кроз електрични проводник. Енергија овог поља, које има карактеристике таласа, се приказује једначином:

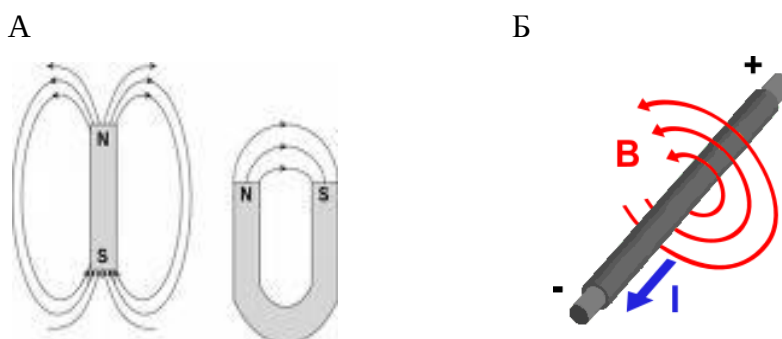
$$e_{em} = 1/2 (\epsilon E_{rms}^2 + \mu H_{rms}^2) \quad (3)$$

где је e_{em} густина енергије (J/m³), E_{rms} је просечни интензитет електричног поља (V/m), H_{rms} је просечни интензитет магнетног поља (A/m); ϵ је дијелектрична константа и μ је магнетна пермеабилност.

Електрична и магнетна компонента електромагнетног таласа осцилирају у фазама нормално једна на другу и нормално на правац простирања таласа. У делу спектра испод 100 kHz, електрично и магнетно поље се посматрају као одвојене компоненте (Deno и Carpenter, 1994).

Магнетно поље које се ствара око проводника кроз који постојано тече једносмерна струја је статичко или константно, док се око проводника кроз који тече наизменична струја ствара променљиво магнетно поље.

Фарадеј је успео визуелно да опише магнетно поље и од тад је уобичајено да се магнетно поље представља континуираним линијама силе или магнетним флуksom, па се пропорционално преко густине тих линија означава и јачина поља (Слика 3). Линије сила магнетног поља су увек затворене и излазе из северног пола, а улазе у јужни пол, па се тако затварају унутар магнета.



Слика 3. Линије магнетне индукције код шипкастог и потковичастог магнета (А, www.physicslearning.colorado.edu) и проводника (Б, picasaweb.google.com)

Основна величина, којом се карактеришу магнетна поља, представља вектор магнетне индукције (Табела 1).

Табела 1. Параметри магнетног поља и њихове јединице мере

магнетна индукција	B	гаус, тесла	$1 \text{ G} = 10^{-4} \text{ T}$
јачина магнетног поља	H	ампер/метар, ерстед	$1 \text{ A/m} = 0,01256 \text{ Oe}$
магнетни флуks	Φ	вебер, максвел	$1 \text{ Wb} = \text{T} \times \text{m}^2 = 10^8 \text{ Mx}$
магнетна пропустљивост	μ	хенри/метар, њутн/ампер ²	$1 \text{ H/m} = 1 \text{ N/A}^2$
фреквенција	ν	херц, секунда ⁻¹	$1 \text{ Hz} = 1 \text{ sec}^{-1}$

Јачина магнетног поља (H) је повезана са магнетном индукцијом у следећој једначини:

$$B = \mu_r \mu_0 H \quad (4)$$

$$\mu_r = \mu_0 (1 + \chi_m) \quad (5)$$

$$\mu_0 = 4\pi 10^{-7} \text{ (H/m)} \quad (6)$$

где χ_m представља осетљивост материјала тј. степен магнетизације материјала у одговору на магнетно поље, μ_r представља релативну магнетну пропустљивост средине, а μ_0 магнетну константу (магнетна пропустљивост за вакуум, која износи приближно 1). Основна јединица магнетне индукције је Тесла (Т) у међународном систему јединица (SI).

Према вредности релативне магнетне пропустљивости постоје три врсте материјала:

- ❖ дијамагнетни материјали ($\mu_r < 1$) – у које спада већина органских и неорганских једињења осим слободних радикала и једињења прелазних елемената, који смањују интензитет присутног спољашњег магнетног поља,
- ❖ парамагнетни материјали ($\mu_r > 1$) – у које спадају соли, слободни радикали, комплексна прелазна једињења, који појачавају интензитет присутног спољашњег магнетног поља и
- ❖ феромагнетни материјали ($\mu_r \gg 1$) – у које спадају гвожђе, кобалт, никл и неке легуре, који када се нађу у спољашњем магнетном пољу појачавају интензитет присутног поља од неколико стотина до неколико хиљада пута.

Биомагнетизам је термин који се односи на стварање магнетног поља од стране биолошког система (унутрашња поља). Сва друга, горе поменута, магнетна поља се сматрају спољашњим пољима и имајући у виду њихову све већу присутност разматрају се као један од значајнијих еколошких фактора. Последњих година, у периоду интензивног индустријско-технолошког напретка, улажу се велики напори у изучавање утицаја ових магнетних поља на живе системе у оквиру дисциплине природних наука – магнетобиологије. Главни циљ магнетобиологије је да се адекватним приступима утврде и објасне интеракције биолошких система на присутна спољашња магнетна поља.

1.2. Утицај спољашњих магнетних поља на биолошке системе

Бројна пионирска истраживања, која су указала на осетљивост биолошких система на спољашња магнетна поља (Adey, 1981; Gould, 1984; Cain и сар., 1987), утврдила су нивое биолошке организације на којима се дешавају промене под утицајем примењених магнетних поља.

Највећи број података (о утицају магнетних поља на живе системе) је добијен из студија у области неуробиологије, а разлог за то иде у прилог механизму дејства магнетних поља, који је забележен на нивоу молекуларних структура и надражљивих ћелијских мембрана. Показано је да се под дејством ЕНФ магнетних поља повећава проток Ca^{2+} кроз трансмембранске канале (Blackman и сар., 1985; McCreary и сар., 2006; Ulku и сар., 2011), што даље може модулисати многе физиолошке процесе, као што су степен деградације гликогена и липида, ослобађање неуротрансмитера из нервних ћелија, контракцију мишића, покретљивост цилија и флагела, итд (Stojiljković, 1998). Такође, према резултатима Yu-Hong и сар. (2007), ЕНФ магнетно поље нема утицаја на струју кроз појединачне Ca^{2+} канале, али повећава број отворених канала, што има за последицу повећану унутарћелијску концентрацију Ca^{2+} (Hong, 1995). Показан је и утицај магнетних поља различитих фреквенција на централни нервни систем од оних високих вредности магнетне индукције (од 2 Т до 9 Т), када се уочавају промене на електроенцефалографском (ЕЕГ) запису, до оних нижих (од 50 mT до 600 mT) када се уочавају соматосензорне промене и утицаји на понашање, учење и памћење (Shtemberg и сар., 2000; Ferrarelli и сар., 2007; Cui и сар., 2012; Јанац и сар., 2012). У овим експериментима, често се излагање магнетним пољима комбинује са применом неких токсичних или фармаколошких супстанци, како би се што прецизније одредила могућа места интеракције ових поља и живих система.

Како би се спречили могући штетни утицаји спољашњих магнетних поља на живе системе, али и како би се остварила могућа примена неких од њих у терапијске сврхе у биомедицини или у области технологије и биотехнологије, од изузетног значаја је откривање основних механизма њиховог утицаја на живе системе. У оваквим истраживањима треба имати у виду да се детекција утицаја

магнетних поља на вишим нивоима организације живих система може објаснити преко утицаја истих на молекулске структуре (молекуле воде, протеине, липиде, рибонуклеинске киселине,...), основних градивних елемената сваког живог система.

Вода, као најдоминантнији градивни елемент биолошких система са својом биполарном хемијском структуром, може под утицајем магнетних поља мењати своја физичко-хемијска својства, како у унутарћелијској тако и у ванћелијској средини (Augarsetuan и сар., 1986). Такође, вода у присуству магнетног поља мења своју проводљивост, наизменично попримајући дијамагнетна и парамагнетна својства (Klassen, 1982). Iwasaka и Ueno (1998) сматрају да јако магнетно поље индукције 14 Т утиче на формирање водоничних веза међу молекулима воде, као и на хидратацију молекула глукозе.

ЕНФ магнетна поља, делујући на јоне, биполарне макромолекуле и магнетни материјал у биолошким системима, могу утицати на потенцијал ћелијских мембрана и довести до унутар- и ванћелијских промена на молекуларном и биохемијском нивоу (Berg, 1993; Neumann, 2000). Делујући на нивоу ћелијске мембране, ЕНФ магнетна поља могу изазвати биохемијске промене које су последица промене потенцијала мембране (Berg, 1993). Даље, то може довести до промена трансмембранског јонског протока, а самим тим и до промена ћелијске активности (Berg, 1993). Такође, физичким променама на атомском нивоу, које се заснивају на реакцији између биомолекула у магнетном пољу, утицајем на хемијске везе стварају се слободни радикали (Rollwitz и сар., 2004; Till и сар., 1998).

Када се сагледа утицај ЕНФ магнетног поља (50 Hz, 41,7 до 43,6 mT) на нивоу протеина, студија Ikehara и сар. (2003) је показала да ово поље доводи до реверзибилних промена у везама између атома азота и водоника услед чега настају промене у секундарној структури алфа-хеликса и бета-равни протеина ћелијске мембране.

На нивоу липидних тубула, цевастог цилиндричног облика грађених од липидних двослоја, је утврђено да долази до њихове промене у оријентацији у присуству статичког магнетног поља од 4 Т (Rosenblatt и сар., 1987). Наиме,

тубуле су се својом дужом осом оријентисале паралелно смеру магнетног поља. Уочено је да ЕНФ магнетна поља изазивају конформационе промене макромолекула са диполским карактеристикама, као и да се повећава процес липидне пероксидације незасићених масних киселина ћелијских мембрана (Koshland, 1998).

Са променама на нивоу протеина и липида, могу се очекивати промене и у метаболичким путевима. Тако је показано да се у присуству константног магнетног поља (7 Т) повећава синтеза фосфолипида код пчела (Kefuss и сар., 1999), код пацова се повећава количина крајњих продуката липидне пероксидације (Јајте и сар., 2003), у присуству променљивог магнетног поља (50 Hz, 7 mT) код пужева се мења активност азот оксида и азот оксид синтетазе (Kavaliers и сар., 1998), док се у мозгу пацова у присуству пулсирајућег магнетног поља знатно повећава активност азот оксид синтетазе (Noda и сар., 2000).

У многим студијама су показане бројне промене у биолошким системима на ћелијском нивоу настале након деловања ЕНФ магнетних поља (Balcavage и сар., 1996; Santini и сар., 2009), као и могући процеси деструкције у ћелијама (Ivancsits и сар., 2003).

Због промена које се могу пренети на потомство, а са потомства и на даље генерације, од изузетне важности су студије које се баве утврђивањем утицаја магнетних поља на нивоу наследног материјала. У студији Zhang и сар. (2003) је показано да након излагања *E. coli* статичком магнетном пољу (9 Т) преко повећане продукције унутарћелијских супероксид радикала настају мутације које се преносе на потомство.

Поред поменутих студија проучавања утицаја спољашњих магнетних поља на молекуларном и метаболичком нивоу, многе, које ће бити у наставку текста наведене, су и оне које испитују утицај на различите типове понашања. Најбројније су пионирске студије из области понашања, наведене у даљем тексту, чији је главни циљ био испитивање оријентације биолошких система у присуству магнетних поља различитих карактеристика.

Студијом Frankel и Blakemore (1989) је утврђено да се бактерије, са својих 20 до 25 појединачних кристала Fe_3O_4 (магнетозомима), понашају као диполи и да се

као такви, оријентишу и мигрирају дуж линија магнетног поља Земље. Након дејства спољашњих „вештачких“ магнетних поља, код њих долази до промене у оријентацији кретања.

Под дејством магнетног поља, на парамецијуму је уочена промена јонске равнотеже, која за последицу има нарушавање и смањење способности кретања (Rosen и Rosen, 1990; Nakaoka и сар., 2000, 2002, 2011). Ова појава је такође уочена и код колонијалног организма *Volvox aureus* (Palmer, 1963).

Планарија *Dugesia dortoecephala*, која је негативно фототаксична, након излагања веома слабом статичком магнетном пољу (20 μ T) мења смер кретања у позитивно фототаксично (Brown, 1962, 1966, 1971; Brown и Barnwell, 1961). Новије студије су показале позитиван утицај магнетних поља на регенерацију ових организама (Novikov и сар., 2008; Goodman и сар., 2009).

Код пужа *Nassarius obsoletus* је потврђено да има способност да направи разлику између два слаба статичка магнетна поља. Ово својство му омогућава да мења како дневне, тако и месечне ритмове оријентације (Barwanell и Web, 1961).

Код инсеката, највише проучавана просторна оријентација у присуству магнетног поља је рађена на пчели, *Apis mellifera*. Различити експерименти су имали за циљ локализацију сензорних магнетних честица у телу пчеле (Vácha, 1997). Показано је присуство магнетних суперпарамагнета или појединачних домена наночестица у антеродорзалном региону абдомена, постављених трансферзално у односу на главну (антерио-постериорну) осу тела. Праћењем реманенције (појаве резидуалног утицаја магнетног поља на биолошке системе након престанка излагања магнетном пољу), Banks и Srygley (2003) су демонстрирали да адулти и стадијум старије лутке поседују „магнетни материјал“ постављен трансферзално у односу на хоризонталну осу тела.

Утврђено је да инсекти могу да детектују поларност магнетног поља (Anderson и Vander Meer, 1993; Schmitt и Esch, 1993; Jander и Jander, 1998; Ferreira и сар., 2005; Hsu и сар., 2007). Код неких врста инсеката је показано да се оријентација остварује паралелно дуж линија магнетног поља. Оваква особина је карактеристична за пчелу *A. mellifera* (Walker и Bitterman, 1985; Schmitt и Esch, 1993; Collett и Baron, 1994; Desoil и сар., 2005) и за мраву *Solenopsis invicta*

(Anderson и Vander Meer, 1993; Klotz и Jander, 2003; Abracado и сар., 2005). На врстама *Formica rufa* и *Oecophylla smaragdina* је уочено да оријентација није паралелна линијама магнетног поља, већ да је правац одговора на примењено магнетно поље померен од магнетне поларности, што се на енглеском назива *shifted magnetic polarity* (Camlitepe и Stradling, 1995; Jander и Jander, 1998).

У студији Stanojević и сар. (2005) је испитиван могућ утицај магнетног поља на метаморфозу *Musca domestica* и на дужину живота адулата. Показано је да ЕНФ магнетно поље (50 Hz, 6 mT) значајно успорава процес метаморфозе на две испитиване температуре (19 °C и 24 °C). У истој студији је показан и утицај ЕНФ магнетног поља на дужину живота адулата, али само на температури од 24 °C, која је била значајно продужена у односу на дужину живота јединки из контролне групе.

Студија Prolić и сар. (2003) је показала промене у моторном понашању *Morimus funereus* из рода Coleoptera изложених ЕНФ магнетном пољу (50 Hz, 2 mT). За објашњење ових промена је претпостављено да могу бити повезане са модулацијом централног неуротрансмитерског система, који имају важну улогу у експресији моторног понашања (Osborne, 1996).

У студијама које се баве утицајем ЕНФ магнетних поља на еволутивно више организме, најчешће коришћени модел системи су пацови и мишеви. У неким од њих је показано да ЕНФ магнетна поља (60 Hz, 1,2 mT) могу модулисати антиоксидативне процесе у мозгу пацова, појачавајући активност ензима супероксид дисмутазе (Lee и сар., 2004). Такође, излагањем овом пољу индукције до 2 mT се повећава активност азот оксид синтетазе зависне од Ca^{2+} , што потом доводи до хипералгезије узроковане повећаном синтезом азот оксида (Jeong и сар., 2006). Са друге стране, активност ензима одговорних за продукцију мелатонина у пинеалној жлезди (Н-ацетилтрансфераза и хидроксииндол-О-метилтрансфераза), као и концентрације овог хормона у крви, па и у жлезди, значајно су смањени под утицајем ЕНФ магнетног поља (60 Hz, од 20 μT до 70 μT) (Reiter, 1993).

Имајући у виду да утицај ЕНФ магнетних поља на нервни систем није још увек у потпуности разјашњен, студије у којима се прати моторно понашање,

учење и памћење пружају могућност да се индиректно добије више информација о деловању ЕНФ магнетних поља на интегритет нервног система. Улога допаминергичке неуротрансмисије у моторном одговору мишева изазваном магнетним пољем показана је и у студији Shin и сар. (2007). Резултати њихових експеримената су показали да излагање магнетном пољу (2,4 mT, један сат дневно, у току једног или седам дана) повећава локомоторну активност експерименталних животиња и да је овај одговор бар делом посредован активацијом допаминских D1 рецептора. У студији Deng и сар. (2013) је показано да излагање мишева ЕНФ магнетном пољу (50 Hz, 2 mT) доводи до смањења способности учења и памћења, посредовано смањеном активношћу супероксид дисмутазе и повећаним нивоом малондиалдехида. Liu и сар. (2008) су утврдили да хронично излагање пацова ЕНФ магнетном пољу (50 Hz, 2 mT) има позитиван утицај на просторну меморију. He и сар. (2011) су излагањем пацова магнетном пољу истих карактеристика, током четири недеље, показали утицај магнетног поља на повећан анксиозан тип понашања, али без промена у локомоторној активности. Ови аутори су употребом *Morris water maze* теста утврдили да се код пацова након излагања ЕНФ магнетном пољу смањује време потребно да пронађу сакривену платформу и да се побољшава дуготрајна меморија. Претпостављене су промене у нервном систему током периода изложености магнетном пољу, које доводе до ефикасније трансмисије неуронских сигнала, омогућавајући већи капацитет за висок ниво когниције током теста у води.

1.3. *Drosophila subobscura* као модел организам

D. subobscura представља важан модел систем у различитим областима биологије. Посебно важно место заузимају истраживања у области еволуционе биологије, из којих је, између осталих, добијена информација о њеној широкој Палеарктичкој дистрибуцији. Наиме, ова врста се јавља по целој Европи и достиже границе Марока. Такође се јавља и на неким острвима Атлантика, а касних 70-тих година колонизовала је Јужну и Северну Америку, где се у својој новој средини раширила брзо и веома успешно (Lattore и сар., 1986; Ayala и сар., 1989; Rozas и сар., 1990). Као последица ове колонизације, уочено је клинално

раслојавање популације за неке хромозомске аранжмане у популацији Старог света (Prevosti и сар., 1988; Huey и сар., 2000; Gilchrist и сар., 2001). Многе студије су биле фокусиране на испитивање генетичке структуре у оквиру различитих природних популација *D. subobscura*, базиране на инверзионим полиморфизмима (Prevosti, 1974; Krimbas, 1993; Andjelković и сар., 2007; Kenig и сар., 2010), алозимима (Marinković и сар., 1978; Pinto и сар., 1997; Castro и сар., 1999) и митохондријалној ДНК (мтДНК) (Alfonso и сар., 1990; Latorre и сар., 1992; Garcia-Martinez и сар., 1998; Castro и сар., 1999; Jelić и сар., 2012). Резултати ових студија показују да су популације Европе диференциране по хромозомским аранжманима, али не и по мтДНК и алозимима.

Такође је утврђено да је ова врста богата у микросателитским полиморфизмима у свим акроцентричним хромозомима (Pascual и сар., 2001). Карактеризација ових маркера код *D. subobscura* потврђује њихову варијабилност (Pascual и сар., 2000; Santos и сар., 2010) те их сврстава у добре кандидате за многе друге студије, између осталог, и за оне које се баве утврђивањем ефективне величине популације (Pascual и сар., 2000, 2007; Kurbalija Novičić и сар., 2013).

1.3.1. Развиће *Drosophila* sp.

Врсте из рода *Drosophila*, винске мушице, имају холометаболни циклус развића. Ово подразумева да, након ембрионалног развића у оквиру стадијума јаје, следе три различита стадијума постембрионалног развића и сваки од њих је са различитим изгледом тела (фенотипом). Први постембрионални стадијум развића је стадијум ларве, други је стадијум лутке и на крају је стадијум адулта.

Женке *Drosophila* стварају ооците код којих су активностима мајке одређене антерио-постериорна и дорзо-латерална оса. Након фертилизације почиње ембриогенеза, која је врло специфична код овог рода, јер се једро оплођеног јајета дели митотичким деобама без цитокинезе, што доводи до стадијума синцицијума (синцицијелног бластодерма). Након 13 митотичких деоба и око четири сата након фертилизације, око 6000 једара се акумулира у таквој неподељеној цитоплазми ооците. Након тога почиње мигрирање једара ка површини и коначно настајање целуларног бластодерма (Campos-Ortega и Hartenstein, 1985).

Три сата након фертилизације почиње процес гаструлације, који води формацији три герминативна слоја: ектодерм, ендодерм и мезодерм. Мезодерм се увлачи од вентралне цеви, као што се ектодерм развија од вентралне шупљине (Poulson, 1950; Bodenstein, 1950).

Издуживање ових герминативних слојева укључује реаранжман ћелија, појављивање многих разлика у ћелијама и диференцирање различитих региона ембриона. Задњи регион се шири и издужује дуж дорзалне стране ембриона. Од тог момента, сегменти постају видљиви (Hartenstein, 1985).

Сви ови процеси трају 24 сата и подразумевају развој оплођеног јајета у ларву, тачније у први од три стадијума ларви. Ћелије које ће развити структуре адулата су смештене са стране у оквиру имагиналних дискова (Bryant, 1978). Преостали стадијуми укључују развој нервног система од ектодерма (Prokorp и Technau, 1991) и формирање унутрашњих органа од мезодерма. За развој сва три стадијума ларви је, зависно од врсте и услова средине, потребно око 72 сата. Од последњег стадијума ларве до лутке (пупе), за тзв. улуткавање, је потребно више дана, што је такође карактеристично од врсте до врсте. Током фазе улуткавања, тело ларви се даље развија у тело адулта (Robertson, 1963; Hartenstein, 1993). Овај процес се назива комплетна метаморфоза или холометаболни циклус развића.

Сваку врсту рода *Drosophila* карактерише одређена оптимална температура за развиће. За комплетно развиће од стадијума оплођеног јаја до стадијума адулта врсте *D. subobscura* потребно је 19 до 22 дана на оптималној температури од 19 °C и влажности око 60 %.

Студије које се баве развићем *Drosophila* користе различите методе како би утврдиле евентуалне промене у овом процесу након примене и деловања одређеног фактора. Мера преживљавања и репродукције јединки (генотипова) представља адаптивну вредност (енг. *fitness*). Адаптивна вредност једног генотипа испољава се преко перформансе фенотипа, који настаје као интеракција генотипа и средине у којој се популација (јединка) налази, тј. развија. Основне компоненте адаптивне вредности су полна продуктивност/размножавање (фертилитет) и преживљавање (вијабилитет). Поред ове две основне компоненте, у студијама које испитују развиће преко компонената адаптивне вредности, постоје и неке друге

компоненте, које фитнес чине сложеном карактеристиком генотипа. У те друге компоненте се убрајају: фекундитет – репродуктивни потенцијал, дужина развића, динамика излегања, однос полова и др. Све оне дају коначан резултат свих развојних и физиолошких процеса у одређеним условима животне средине.

1.3.2. Локомоторна активност *Drosophila sp.*

Локомоторна активност представља важну одлику понашања код животиња јер је директно и индиректно укључена у свакодневне животне активности. Локомоторна активност омогућава животињама да заузимају потенцијални простор, да буду у конкуренцији са другим јединкама, да траже храну и партнера, да се удварају и ступају у репродуктивне односе, да избегну опасност, да чувају територију и да одговоре на различите стресне ситуације (Mayr, 1963; Dingemanse и сар., 2010). Имајући у виду комплексност и сталну временску и просторну променљивост средине у којој организми живе, понашање биолошких система је условљено различитим биотичким и абиотичким факторима. Адаптивна предност организама у променљивим срединама зависи управо од физиолошких функција и карактеристика понашања.

Обзиром на то да је локомоторна активност комплексан тип понашања (Martin, 2004), врло је битно разликовати и дефинисати поједине параметре кретања, као што су: пређени пут, време кретања, време мировања и брзину кретања. Брзи развој технологије и софтверског посматрања, путем праћења и анализе понашања код животиња, омогућавају нам да детектујемо те засебне аспекте моторне активности. Götz (1980) је праћењем и аутоматским снимањем видео скенирајућим уређајем локомоторне активности јединки *Drosophila sp.* у случају слободног избора између два визуелна маркера на површини развио Buridan-ову парадигму. Многе студије (Götz, 1989; Strauss и сар., 1992; Strauss и Heisenberg, 1993; Martin и Ollo, 1996; Strauss и Pichler, 1998; Serway и сар., 2009) су се бавиле различитим параметрима локомоторне активности. У њих спадају: брзина локомоторне активности, време активности и време неактивности.

Спонтана локомоторна активност *Drosophila* у *open field* тестовима је првенствено коришћена за селекцију активних, односно неактивних, дивљих

линија (Connolly, 1966). У каснијим истраживањима коришћена је на мутантима једног гена за измењену локомоторну активност (Meehan и Wilson, 1987; Burnet и сар., 1988; Wang и сар., 1997; Pendleton и сар., 2002; Lehmann и Cierotzki, 2010). Познато је да винске мушице имају изражену истраживачку, тј. експлоративну активност, како би пронашле важне изворе хране, партнера за парење и места за полагање јаја (Tinette и сар., 2007; Yang и сар., 2008). У студијама које се баве дневним ритмом *Drosophila*, веома често је анализирана локомоторна активност (Hall, 1995; Joshi и сар., 1999; Sheeba и сар., 2002; Klarsfeld и сар., 2003; Rosato и Kyriacou, 2006; Lu и сар., 2008; Bahn и сар., 2009; Allada и Chung, 2010). Stoleru и сар. (2005) су, молекуларним методама и на основу промена у параметрима понашања, показали да код *Drosophila melanogaster* постоје два одвојена неуронска пута, којима се усклађеним механизмом, остварују јутарња и вечерња локомоторна активност. Ове неуронске структуре имају различиту осетљивост на светлост и температуру и њихова удружена функционалност се одржава све док су ова два фактора устаљена, тј. непромењена (Leag и сар., 2009).

D. subobscura није често коришћена у студијама које су се бавиле локомоторном активношћу. Као што је претходно поменуто, *D. subobscura* има богат хромозомски полиморфизам, који је повезан са променљивим срединским факторима. Међу тим факторима највероватније највећу улогу има температура (Santos и сар., 2005), као и антропогени фактор у оквиру урбаних средина (Singh, 1994; Valiati и Valente, 1997; Kenig и сар., 2010). Такође, показано је да је богат хромозомски полиморфизам повезан и са географским, дневним и варирањима станишта (Krimbas, 1993; Živanović и сар., 1995; Orengo и Prevosti, 1996; Andjelković и сар., 2003; Balanya и сар., 2004; Savković и сар., 2004), као и да се структура популације може значајно променити ако је ефективна величина популације *D. subobscura* смањена, што је најчешће последица микроклиматских промена окружења у којима јединке живе (Stamenković-Radak и сар., 2008).

1.3.3. Утицај спољашњих магнетних поља на *Drosophila* sp.

Познато је да су једнике врста из рода *Drosophila* врло погодан модел систем за истраживања у различитим областима природних наука. Као такав, такође је

коришћен и у студијама из области магнетобиологије, у даљем тексту наведене, и то најчешће у истраживањима утицаја магнетних поља на репродуктивно понашање и компоненте адаптивне вредности.

У студији Giorgi и сар. (1992) на *D. melanogaster* је показано да хроничним излагањем статичком магнетном пољу (0,4 до 0,7 mT), које је 10-12 пута јаче од геомагнетног поља, долази до повећане стопе мутација гена одговорних за пролиферацију ћелија и на тај начин знатног повећања величине тела.

Када је испитиван утицај магнетних поља на полагање јаја код *Drosophila*, уочено је да статичко магнетно поље (4,5 mT) не показује значајан утицај на овај тип понашања (Ramirez и сар., 1983). У случају променљивих магнетних поља, долази до другачијег одговора. Наиме, пулсирајуће магнетно поље (ЕНФ, 100 Hz, 1,76 mT) и синусоидално магнетно поље (50 Hz; 1 mT) утичу на овај вид понашања, што се манифестује као смањење броја положених јаја (Ramirez и сар., 1983). У истој студији је показано да је морталитет јаја већи применом било ког од поменутих магнетних поља. У статичком магнетном пољу највећи морталитет је уочен код стадијума лутки, а повећан у случају стадијума ларви. Такође, показано је да преживљавање адулата опада при излагању пулсирајућем (55 %), синусоидалном (45 %) и статичком (35 %) магнетном пољу. У студији Gonet и сар. (2009), женке *D. melanogaster* и њихово потомство су излагани ЕНФ магнетном пољу (50 Hz, 2 mT) и праћени су развиће и овипозиција, процес налажења места на ком ће женка положити јаја. Показано је да под утицајем ЕНФ магнетног поља долази до слабљења овипозиције јединки у наредној генерацији.

У студији Savić и сар. (2011) је показано да статичко магнетно поље (60 mT) значајно смањује време потребно за развиће *D. hydei*, као и да је преживљавање *D. hydei* и *D. melanogaster* лошије за јединке из група које су излагане магнетном пољу у односу на јединке из контролних група.

Након краткотрајног излагања стадијума ране ембриогенезе *D. melanogaster* слабом статичком магнетном пољу, долази до промена у понашању на нивоу ларви. Уочена је смањена стопа кретања ларве кроз супстрат и смањено преживљавање ларви (Ho и сар., 1992).

У студији Stamenković-Radak и сар. (2001) је показано да се након излагања константном магнетном пољу (35 mT) смањује дужина крила код оба пола *D. melanogaster*. Mirabolghasemi и Azarnia (2002) су употребили пар Хелмхолцових намотаја како би генерисали ЕНФ магнетно поље (50 Hz, 11 mT). У пољу поменутих карактеристика су излагали ларве на различитим нивоима развића и добили значајно повећан број абнормалних адулата, за разлику од јединки које су се развиле од јаја изложених ЕНФ магнетном пољу истих карактеристика, код којих нема значајно повећаног броја абнормалних адулата.

Досадашње генетичке студије утицаја променљивих магнетних поља на јединке врста *Drosophila*, али и других врста инсеката су имале за циљ да утврде да ли се јављају промене на нивоу транскрипције, експресије гена и синтезе протеина (Goodman и Henderson, 1988; Goodman и сар., 1992; Tipping и сар., 1999; Пилић и сар., 2011). У студији Prolić и Anđelković (1992) је, након излагања *D. melanogaster* константном магнетном пољу (130 mT до 180 mT), праћена промена на генетичком материјалу преко преживљавања кроз три узастопне генерације. Показано је да ово магнетно поље нема мутагени утицај. Међутим, имајући у виду да утицај магнетног поља на укупну варијабилност код хомозигота расте са дужином излагања, ово магнетно поље може имати утицај на генофонд популација. Li и сар. (2013) су преко генске експресије тестирали репродуктивну способност мужјака *D. melanogaster* након краткотрајног (до 72 сата) и дуготрајног (312 сати) излагања ЕНФ магнетном пољу (50 Hz, 3,03 mT). Показано је да се експресија неких гена повећава, а других смањује, и да краткотрајно излагање овом магнетном пољу може смањити репродуктивну способност мужјака *D. melanogaster*. Наиме, краткотрајно примењено магнетно поље преко каспазног пута утиче на сперматогенезу. Са друге стране, у истој студији је показано да дуготрајно излагање ЕНФ магнетном пољу (50 Hz, 3,03 mT) нема никаквог утицаја на репродуктивну способност мужјака.

2. ЦИЉЕВИ РАДА

Узимајући у обзир све већу присутност променљивих магнетних поља и њихово разматрање као важног еколошког али и стресогеног фактора, научни циљ ове докторске дисертације је био да се процени степен одговора јединки *isofemale* (ИФ) линија врсте *Drosophila subobscura* на променљиво магнетно поље (50 Hz, 0,5 mT, 48 сати).

Постављени су следећи циљеви:

- ❖ Испитати да ли променљиво магнетно поље (50 Hz, 0,5 mT) има утицај на локомоторну активност адулата старости три дана (пређени пут и време покретљивости) у зависности од стадијума развића у ком је примењено (јаје-први ступањ ларва и адулти старости један дан)
- ❖ Испитати да ли променљиво магнетно поље (50 Hz, 0,5 mT) има утицај на компоненте адаптивне вредности (динамика излегања, дужина развића, преживљавање и однос полова) након излагања стадијума јаје-први ступањ ларва
- ❖ Испитати да ли постоји разлика у одговору појединачних ИФ линија одређеног хаплотипа на примењено магнетно поље (50 Hz, 0,5 mT) у погледу:
 - локомоторне активности адулата старости три дана (пређени пут и покретљивост), који су у стадијуму адулата старости један дан били излагани магнетном пољу, и
 - компоненти адаптивне вредности (динамика излегања, дужина развића, преживљавање и однос полова) јединки, које су у стадијуму јаје-први ступањ ларва биле излагане магнетном пољу.

3. МАТЕРИЈАЛ И МЕТОДЕ

3.1. Биолошки материјал

Јединке *Drosophila subobscura* (Слика 4) су прикупљене у буковој шуми на планини Гоч у Србији (Abieto-fagetum; N 43°33'28.43", E 20°45'10.96"). Експерименталне линије (*isofemale* – ИФ) су добијене свака од једне оплођене женке изловљене у шуми. Изабрано је пет ИФ линија, које су на следећи начин означене: Б16/1, Б24/4, Б39/1, Б57/2 и Б69/5. Потомство изловљених женки је укрштано у сродству брат-сестра (*full-sib inbreeding*) током пет генерација. Линије су одржаване у контролисаним лабораторијским условима, на температури од 19 °С, влажности ваздуха између 60 % и 90 %, осветљености просторије 300 lux и дневно-ноћном режиму 12 сати светлост:12 сати мрак (светло се у комори укључује у 6 сати изјутра). Јединке *D. subobscura* успешно комплетирају своје развиће на стандардном кукурузном медијуму следећег састава: 9 % шећера (Notadolce, Сента, Република Србија), 10 % кукурузног гриза (Стари млинар-Житко, Бачка Топола, Република Србија), 2 % агара (Торлак, Београд, Република Србија) и 2 % квасца (ALTECH, Сента, Република Србија), уз додатак инхибитора буђи – нипагина (Alpha Aesar GmbH & Co, Karlsruhe, Germany) раствореног у 96 % етанолу (MOSS и НЕМОSS, Београд, Република Србија). Мушице су одмах ро излегању сакупљане и уз помоћ угљен диоксида, раздвајане по половима.



Слика 4. *Drosophila subobscura* (адултне јединке, мужјак са леве стране и женка са десне стране) (www.washington.edu)

3.2. Дефинисање генетичке структуре одабраних ИФ линија на основу варијабилности митохондријалне ДНК врсте *D. subobscura*

Генетичка структура одабраних ИФ линија дефинисана је на основу варијабилности митохондријалне ДНК (мтДНК) врсте *D. subobscura*. Имајући у виду чињеницу да се мтДНК наслеђује матерински (по мајчиној линији), извесно је да ће све јединке које потичу од исте мајке имати исту секвенцу мтДНК. Изузетак чине ретке појаве мутације.

Изолација мтДНК је рађена по протоколу Martinez и сар. (1992). Принцип ове методе се заснива на раздвајању малих молекула ДНК од протеина и великих молекула ДНК. Узорци се пречишћавају од протеина уз помоћ содијум додецил сулфата (СДС) као детерџента. Након измене натријума са калијумом у СДС-у и поступком центрифугирања постиже се таложење протеина и других нечистоћа. Процесом алкалне лизе, која подразумева денатуришуће услове високом температуром и високом базношћу, долази до раскидања водоничних веза између комплементарних ланаца. На овај начин се постиже раздвајање малих од великих молекула ДНК. Након овог поступка следи употреба раствора ниске температуре и високе киселости. Оваква брза промена температуре и базно-киселих услова доводи до правилније ренатурације малих молекула ДНК каква је мтДНК, док се геномска ДНК неправилно ренатурише формирајући нерастворну мрежу – агрегат. У овом облику, геномска ДНК се након центрифугирања таложи. Како би се добио раствор ДНК изузетно богат мтДНК, процеси денатурације и ренатурације се понављају два пута. Поред мтДНК се раздвајају и РНК молекули, који се у даљој анализи лако уклањају применом ензима РНКазе.

Из одабраних ИФ линија хомогенизовано је 15 до 20 јединки у циљу добијања довољне количине мтДНК за даљу дигестију рестрикционим ензимима. Коришћено је пет рестрикционих ензима EcoRI, EcoRV, HindIII, HaeIII и HpaII (Thermo Scientific, USA). Alfonso и сар. (1990) и Castro и сар. (1999) су показали да су популације *D. subobscura* варијабилне у присуству односно одсуству рестрикционих места за ових пет ензима (Слика 8).

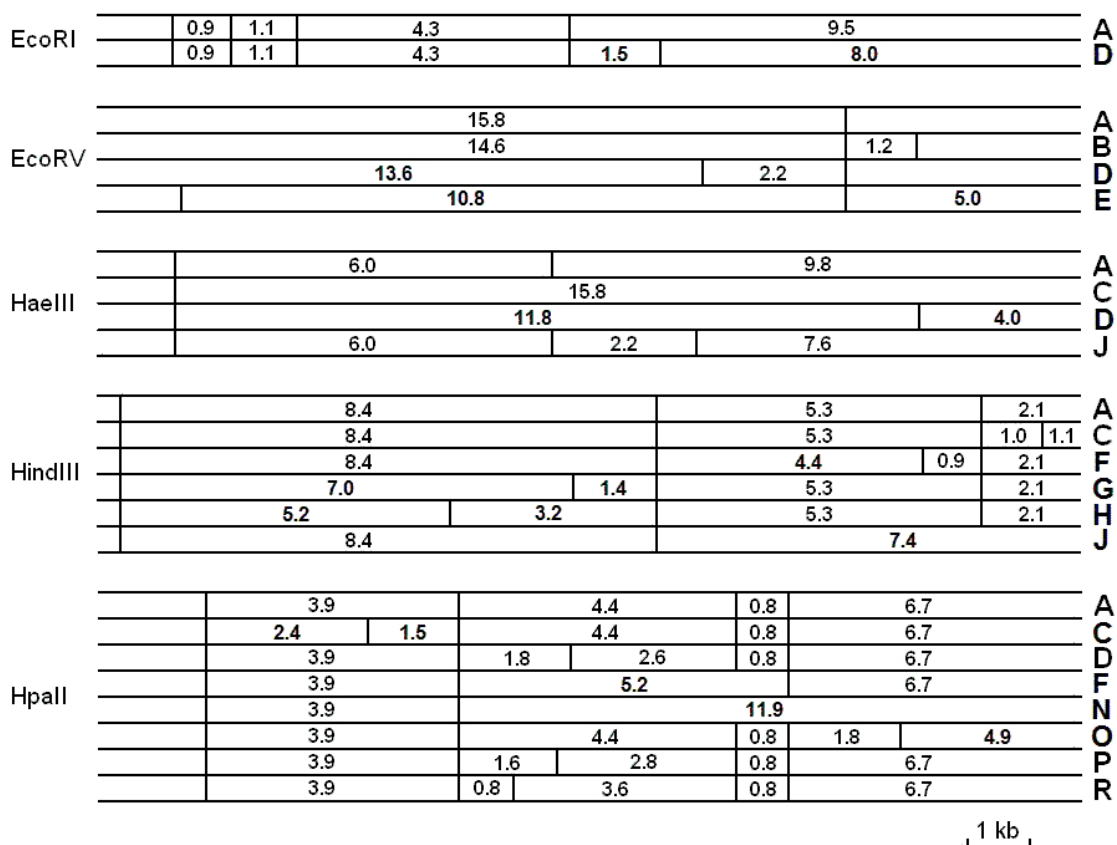
Рестрикциона смеша од 20 µl је садржала следеће компоненте:

- ❖ 2 µl 10X FastDigestGreenBuffer® (Thermo Scientific, USA)

- ❖ 0,5 µl 1 mg/ml РНКазе А, финална концентрација 25 µg/ml (Thermo Scientific, USA)
- ❖ 0,5 до 1 µl FastDigest® рестрикционог ензима (Thermo Scientific, USA)
- ❖ 4 до 5 µl изоловане мтДНК.

Дигестија је трајала три сата на 37 °C.

Изолована из сваке ИФ линије, мтДНК је дигестована појединачно сваким од пет рестрикционих ензима. У случају појаве ретких и новооткривених образаца рестрикције коришћене су дигестије са паровима ензима истовремено, како би се одредила тачна позиција рестрикционог места. За раздвајање фрагмената добијених рестрикцијом коришћен је хоризонтални 0,8 % до 1,2 % агарозни гел. Као агенс за визуелизацију ДНК под ултра-виолетним светлом, коришћен је етидијум бромид (Acros organic) који је додаван у гелове пре изливања у финалној концентрацији од 0,01 µg/ml.



Слика 5. Рестрикциони образци пет ендонуклеаза. Дужина фрагмената је приказана у килобазама.

Како би се одредила дужина рестрикционих фрагмената коришћена је смеша два маркера:

- 1) λ ДНК дигестована са HindIII ензимом и
- 2) λ ДНК душло дигестована са HindIII и EcoRI ензимима. Ова два маркера су помешана у односу 1:3 и тако наношена на гелове. Након електрофорезе (првих пет минута на 200 V, а потом сат времена на 120 V), гелови су фотографисани у апарату Bio-Rad GelDoc 1000 (Bio-Rad Laboratories, Hercules, Calif, USA).

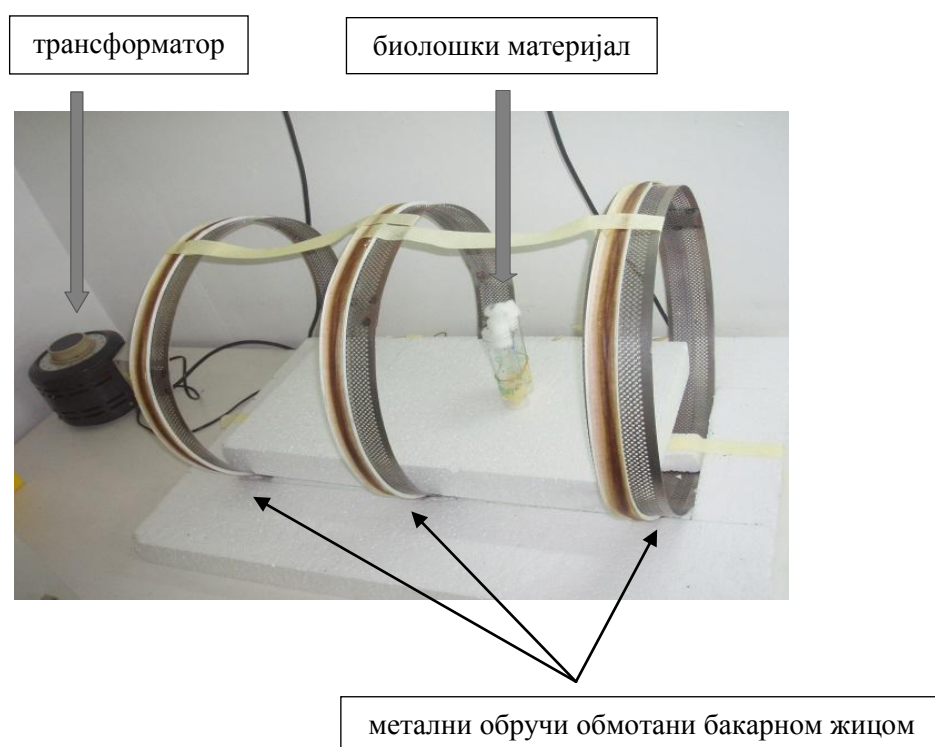
Хаплотипови сваке ИФ линије су именовани према комбинацији присуства односно одсуства рестрикционих места према шеми у публикацијама Latorge и сар. (1986, 1992) и Castro и сар. (1999) (Слика 5). Два најучесталија хаплотипа *D. subobscura* се означавају римским бројевима I и II.

3.3. Апаратура за генерисање променљивог магнетног поља

Променљиво магнетно поље је генерисано коришћењем електромагнета који се састојао од три метална обруча пречника 37 cm, постављена на одстојању од 23 cm и обложена бакарном жицом дебљине 0,075 cm (Слика 6). Електромагнет је био повезан преко трансформатора на струјну мрежу (50 Hz, 220 V, 2,8 A), индукујући хоризонтално хомогено магнетно поље индукције $0,5 \text{ mT} \pm 0,01 \text{ mT}$. Магнетна индукција поља је измерена GM05 гаусметром са PT2837 сондом (Hirst Magnetic Instruments Ltd, Tesla House, Tregonigie, Cornwall, UK). Током експеримента, вредности геомагнетног поља у подручју где су вршена мерења су биле у оквиру просечних (мерено GSM-19 v6.0 протон магнетометром – GEM SYSTEMS INC, Онтарио, Канада, Републички геодетски завод, Одсек за геодетске радове, Одељење за геомагнетизам и аерономију, Гроцка, Београд, Република Србија).

Апаратура за генерисање променљивог магнетног поља је била постављена у изолованој просторији (комори) у којој су били услови оптимални за развој *D. subobscura*.

Током 48 сати излагања променљивом магнетном пољу, биолошки материјал (адултне јединке у флаконима и јаја у малим Петри шољама) је постављан између металних обруча на местима на којима је измерена магнетна индукција поља предвиђена за истраживање ($0,5 \text{ mT} \pm 0,01 \text{ mT}$).



Слика 6. Апаратура за генерисање променљивог магнетног поља

3.4. Експериментална процедура

У циљу сагледавања степена одговора јединки *D. subobscura* и утицаја деловања променљивог магнетног поља (50 Hz, 0,5 mT), урађене су две експерименталне процедуре. У првој експерименталној процедури је стадијум јаје-први ступањ ларва излаган променљивом магнетном пољу (50 Hz, 0,5 mT) у трајању од 48 сати, а у другој је стадијум адулата старости један дан излаган променљивом магнетном пољу истих карактеристика, током истог временског периода од 48 сати. У оквиру сваке експерименталне процедуре анализиране су следеће групе:

- ❖ интактна, коју су чинили стадијум јаје-ларва и стадијум адулта старости један дан који су боравили ван електромагнета,
- ❖ *sham*, коју су чинили стадијум јаје-ларва и стадијум адулта старости један дан који су боравили у простору искљученог електромагнета и

- ❖ магнетно поље – МП, коју су чинили стадијум јаје-ларва и стадијум адулта старости један дан који су боравили у простору укљученог електромагнета (50 Hz, 0,5 mT).

Како, очекивано, између интактне и *sham* групе није нађена статистички значајна разлика анализираних параметара (локомоторна активност и компоненте адаптивне вредности), резултати ове две групе су даље збирно анализирани у оквиру контролне групе.

У оквиру прве експерименталне процедуре (излаган стадијум јаје-ларва) анализирани су компоненте адаптивне вредности за све ИФ линије заједно (пуловано) и за сваку ИФ линију појединачно. Анализирана је и локомоторна активност адулата старости три дана за све ИФ линије пуловано.

У другој експерименталној процедури (излагани адулти један дан старости) праћена је локомоторна активност адулата старости три дана пуловано и сваке ИФ линије појединачно.

3.4.1. Праћење компонената адаптивне вредности *D. subobscura*

У првој експерименталној процедури, 30 насумично сакупљених женки старости 3-8 дана су постављане да полажу јаја на супстрат у стакленим Петри шољама. Након 24 сата прикупљано је по 75 јаја за сваку групу. Јаја су постављана на стандардни кукурузни медијум разливен у мале пластичне Петри шоље. Постављено је 20 интактних, 15 *sham* и 35 МП Петри шоља. Супстрати су након 48 сати пребачени из малих Петри шоља на супстрат у стандардне теглице са око 30 ml супстрата у којима је комплетирано развиће. У свим репликама сваке појединачне групе, у исто време сваког дана, бележен је број излежених мужјака и женки. У оквиру сваке групе анализирани су следеће компоненте адаптивне вредности:

- динамика развића – број јединки излежен сваког дана од почетка излегања па до излегања последњег адулта,
- дужина развића – време од положених јаја до излегања последњег адулта,

- преживљавање – однос броја излежених адулата и броја положених јаја, изражен у процентима, и
- однос полова – однос броја излежених мужјака и женки.

3.4.2. Праћење локомоторне активности адулата *D. subobscura*

Локомоторна активност јединки *D. subobscura* је праћена у празним малим Петри шољама (*open field test*) током 30 минута у јутарњем временском интервалу од 8 до 9 сати. За овај временски период је утврђено најспорије смањење локомоторне активности (Dimitrijević и сар., 2013).

А



Б



Слика 7. Апаратуре за генерисање променљивог магнетног поља и праћење локомоторне активности (А). Камера постављена изнад Петри шоља у којима су адулти *D. subobscura* (Б лево) и рачунар на ком се прати и обрађује локомоторна активност (Б десно)

Свака адултна јединка старости три дана је, непосредно пре праћења локомоторне активности, пуштена да се слободно креће у празној Петри шољи пречника 35 mm и висине 10 mm. Висина Петри шоље од 10 mm је у највећој могућој мери онемогућавала летење и вертикално кретање мушица. Пре стављања нове јединке, Петри шоља је испрана како би се уклонили могући трагови феромона претходне јединке. Кретање јединки у седам до дванаест Петри шоља истовремено је снимано камером Microsoft LifeCam VX600, која је била постављена изнад Петри шоља (Слике 7 А и Б). Комплетна експериментална процедура је изведена у изолованој соби (комори) на 19 °C и осветљењу око 300 lux. Софтверски програм ANY-maze (v.4.73, StoeltingCo., Wood Dale, Illinois, USA) је коришћен за анализу параметара локомоторне активности:

- ❖ пређени пут (изражен у метрима) - укупан пут који адултна јединка пређе током целокупног времена (30 минута) и у сваких 10 минута праћења локомоторне активности и
- ❖ покретљивост (изражена у секундама) - време током којег је адултна јединка покретљива током целокупног времена (30 минута) и у сваких 10 минута праћења локомоторне активности.

3.5. Статистичка обрада података

У циљу анализе добијених резултата, који се односе на одговор јединки *D. subobscura* на променљиво магнетно поље на нивоу локомоторне активности и компоненти адаптивне вредности, коришћено је више стандардних статистичких метода (Zar, 1999). Анализа параметара локомоторне активности и компоненти адаптивне вредности оба пола у оквиру сваке групе је рађена на нивоу свих ИФ линија заједно (пуловано) и на нивоу сваке ИФ линије засебно.

Колмогоров-Смирнов тест је коришћен за утврђивање нормалне дистрибуције података.

Нормалност података компоненти адаптивне вредности је утврђена у свим третманима. Динамика и дужина ембрионалног и постембрионалног развића (D_t) су израчунавани свакодневним праћењем броја излежених јединки оба пола, од дана првог излеженог адулта до дана када се последњи адулт излегао. Дужина развића израчуната је у складу са једначином:

$$Dt = \sum (n_d * d) / \sum n_d \quad (7)$$

где је n_d – број излежених мужјака или женки и d – дан излегања адулата од момента полагања јаја.

Преживљавање (V_i) је израчунавано као однос броја излежених адулата и броја положених јаја, изражен у процентима.

Однос полова је изражаван као однос броја излежених мужјака и женки.

Средње вредности дужине развића и преживљавања свих ИФ линија заједно су анализирани двофакторијалном анализом варијансе праћеном Фишеровим тестом најмање значајне разлике (post hoc Fisher's LSD тест). Средње вредности времена развића једники у оквиру сваке одабране ИФ линије засебно су анализирани једнофакторијалном анализом варијансе праћеном Фишеровим тестом најмање значајне разлике (post hoc Fisher's LSD тест). За било које две средње вредности које се разликују Fisher's LSD тест ће дати значајну вредност t_s у односу на коју се посматра било који пар средњих вредности (Sokal и Rohlf, 1969). Однос полова, изражен преко односа укупног броја излежених мужјака и женки у оквиру МП и контролне групе, је анализиран Z-тестом (Zar, 1999). На нивоу свих ИФ линија заједно (пуловано), број реплика по групи коришћених за статистичку анализу је био 23 за контролну и 18 за МП. На нивоу сваке ИФ линије засебно, број реплика по групи коришћених за статистичку анализу је био од 5 до 7.

Добијени подаци за параметре локомоторне активности нису показали нормалну дистрибуцију, па је за даљу анализу коришћена непараметарска анализа. Утврђивање постојања разлика између контролних група и група излаганих променљивом магнетном пољу тестирано је применом Kruskal-Wallis анализом варијансе праћене post hoc Mann-Whitney U-тестом. У оквиру прве експерименталне процедуре, за пуловане ИФ линије, у свакој групи је статистички анализирано по 45 јединки. У другој експерименталној процедури, за пуловане ИФ линије, у оквиру сваке групе је анализирано по 75 јединки, а за сваку ИФ линију појединачно, у оквиру сваке групе је статистички анализирано по 30 јединки.

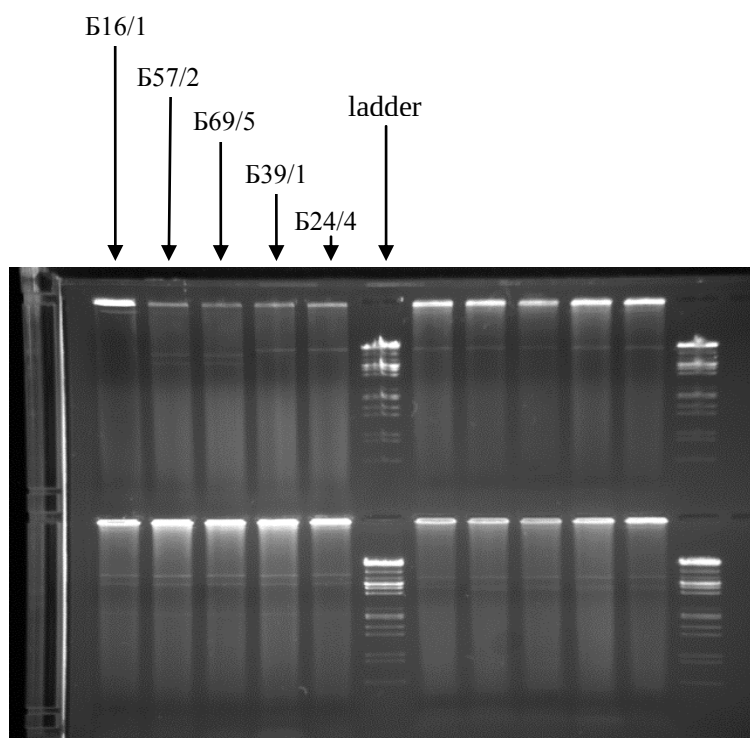
Све анализе су урађене у статистичком програму STATISTICA (release 5.0, StatSoft Inc., Aurora, CO, USA).

4. РЕЗУЛТАТИ

4.1. Генетичка структура одабраних ИФ линија *D. subobscura* на основу анализираних митохондријалне ДНК (мтДНК)

Након изолације и фрагментације мтДНК изабраним рестрикционим ензимима (Eco RI, Eco RV, HaeIII, HindIII, HpaII), анализом њене варијабилности уочено је да, од пет одабраних ИФ линија, по две припадају најучесталијим хаплотиповима I и II и да једна припада ретком хаплотипу (хаплотип III).

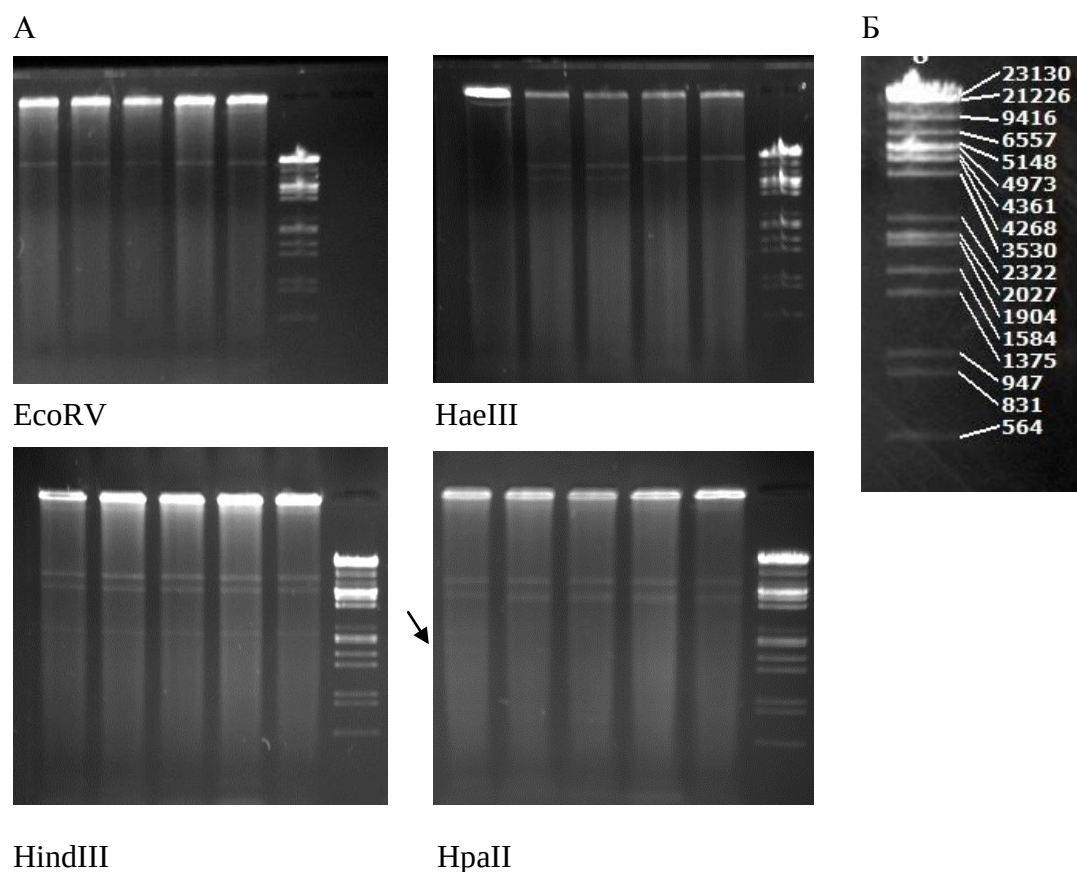
На Слици 8 је приказан гел након електрофорезе где се уочавају просветљене траке (енгл. *bands*), које указују на рестрикциона места дигестоване мтДНК. Улога ледера (енгл. *ladder*), обележеног на средини приказаног гела, је у тачној процени величине рестрикованих трака поменутих ензимима.



Слика 8. Изглед гела након електрофорезе, бојења етидијум бромидом и сликања. Просветљене траке су рестрикциона места након дигестије ензимом EcoRI

Нашом анализом насумично одабраних пет ИФ линија је утврђено да ИФ линије B57/2 и B69/5 за свих пет ензима показују исту траку означену словом A те

припадају хаплотипу I. ИФ линија Б24/4 и Б39/1 су за ензим HaeIII показале траку са ознаком Ц (Слика 9), а за остале ензиме траку са ознаком А, те је утврђено да припадају хаплотипу II. Преостала ИФ линија Б16/1 је за ензим HpaII показала траку са ознаком М, за остале ензиме траку са ознаком А, те је утврђено да ова линија припада ретком хаплотипу III.



Слика 9. Изглед гела након електрофорезе, бојења етидијум бромидом и сликања. А: Посветљене траке су рестрикциона места на мтДНК *D. subobscura* након дигестије различитим ензимима (EcoRV, HaeIII, HindIII, HpaII). Б: Рестрикциони образац ензима HpaII. Свака трака је изражена у килобазама

4.2. Утицај променљивог магнетног поља (50 Hz, 0,5 mT) на локомоторну активност адулата *D. subobscura*

4.2.1. Локомоторна активност адулата *D. subobscura* након излагања стадијума јаје-ларва

Након што је стадијум јаје-ларва излаган променљивом магнетном пољу (50 Hz, 0,5 mT) током 48 сати, адултима старости три дана је праћена локомоторна активност током 30 минута. У Табели 2 су приказане просечне вредности оба параметра за целокупно време праћења локомоторне активности. Код оба пола из МП група, за разлику од јединки из контролних група, се уочавају ниже просечне вредности анализираних параметара локомоторне активности (пређени пут и покретљивост) (Слика 10).

Табела 2. Просечне вредности пређеног пута $\pm$ стандардна грешка (израженог у метрима) и покретљивости $\pm$ стандардна грешка (изражене у секундама) мужјака и женки старости три дана током 30 минута праћења локомоторне активности након излагања стадијума јаје-ларва променљивом магнетном пољу (50 Hz, 0,5 mT).

		пређени пут (m)	покретљивост (s)
контролна група	мужјаци	$1,656 \pm 0,071$	$363,6 \pm 35,0$
	женке	$1,612 \pm 0,111$	$493,8 \pm 58,5$
МП	мужјаци	$1,210 \pm 0,102$	$180,5 \pm 24,0$
	женке	$1,286 \pm 0,123$	$268,6 \pm 31,2$

Како вредности оба параметра, ни након трансформисања нису имале нормалну расподелу, за статистичку анализу разлика између контролне и МП групе коришћена је непараметарска Kruskal-Wallis анализа варијансе (Табела 3). Наиме, и мужјаци и женке из МП група прелазе значајно мањи пут и значајно су мање покретни у односу на мужјаке и женке из контролних група. Непараметарска Kruskal-Wallis анализа варијансе 10-минутних интервала указује на значајне разлике за оба параметра и оба пола у првом 10-минутном интервалу (Табела 3).

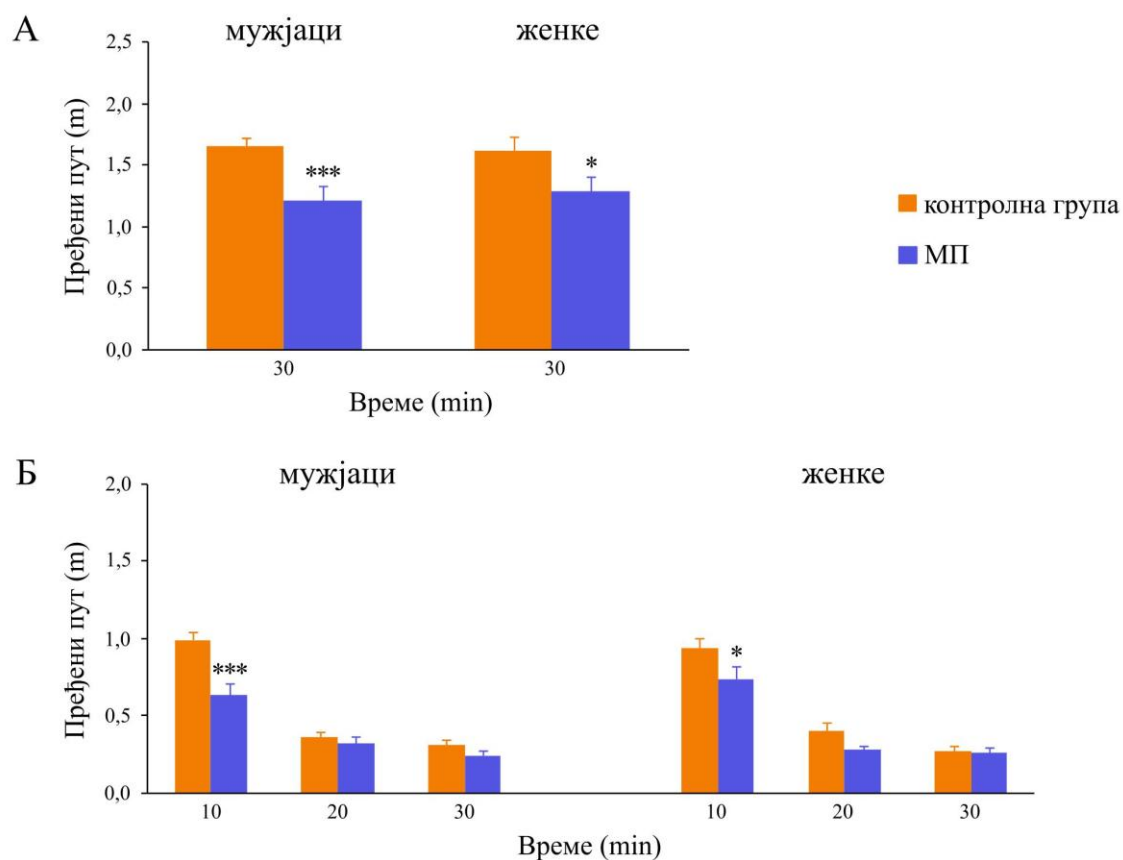
Табела 3. Kruskal-Wallis анализа варијансе параметара локомоторне активности оба пола за целокупно време праћења од 30 минута и за сва три 10-минутна интервала, након излагања стадијума јаје-ларва променљивом магнетном пољу (50 Hz, 0,5 mT).

		$H_{(3, 180)}$	
пређени пут	укупно 30 минута	16,859	***
	први 10-мин интервал	23,857	***
	други 10-мин интервал	3,881	
	трећи 10-мин интервал	3,451	
покретљивост	укупно 30 минута	22,692	***
	први 10-мин интервал	30,158	***
	други 10-мин интервал	6,506	
	трећи 10-мин интервал	6,374	

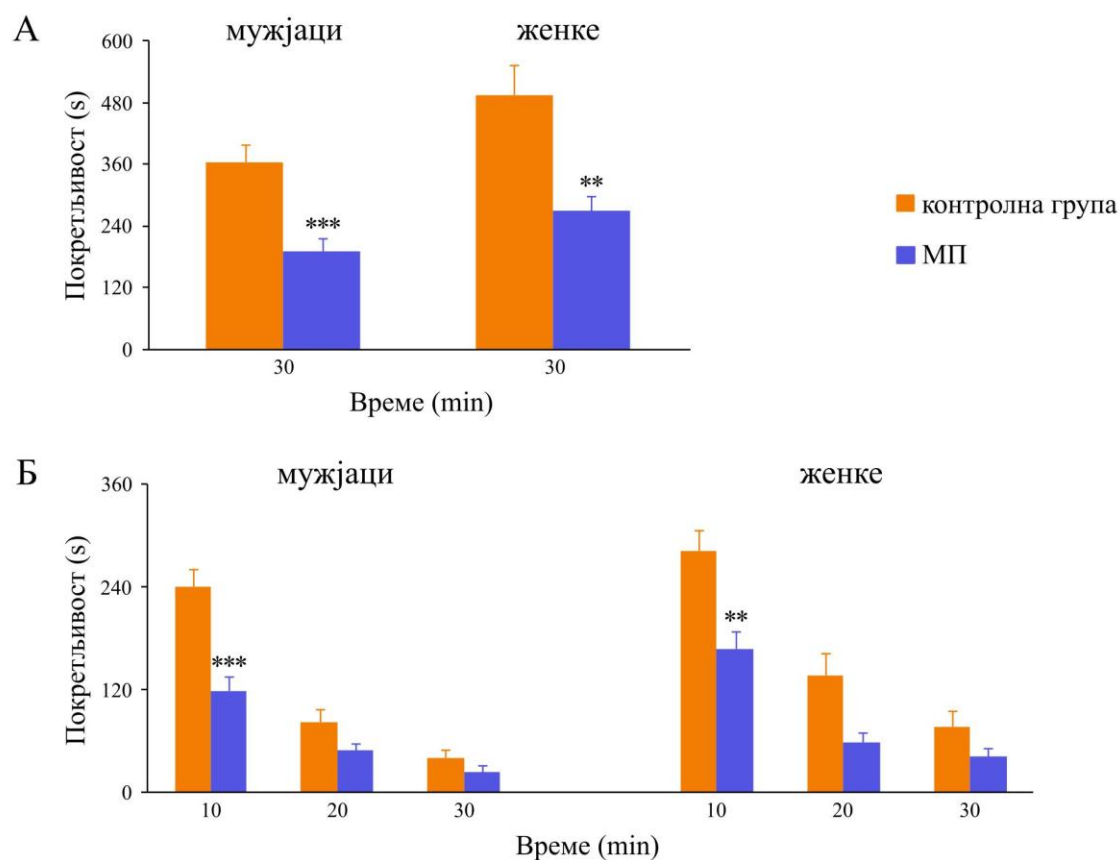
*** $p < 0,001$

Post hoc Mann-Whitney U-тестом је даље показано да мужјаци који су били излагани магнетном пољу прелазе значајно краћи пут ($U = 68,0$, $p < 0,001$) и имају значајно мању покретљивост ($U = 521,0$, $p < 0,001$), у односу на мужјаке из контролне групе, током целокупног времена праћења од 30 минута (Слике 10А и 11А). Значајно краћи пређени пут (Слика 10Б) и мања покретљивост (Слика 11Б) мужјака из МП групе (0,581 m и 108,9 s) уочава се у првих 10 минута у поређењу са мужјацима из контролне групе (0,985 m и 240,3 s; пређени пут: $U = 423,0$, $p < 0,001$; покретљивост: $U = 452,0$, $p < 0,001$).

У случају женки, такође је post hoc Mann-Whitney U-тестом добијено да женке у оквиру МП групе прелазе значајно краћи пут ($U = 726,0$, $p < 0,05$) и значајно су мање покретне ($U = 392,0$, $p < 0,01$), у односу на женке из контролне групе, током целокупног времена праћења од 30 минута (Слике 10А и 11А). Када је ово време подељено на 10-минутне интервале, само је у првих 10 минута уочена значајна разлика за оба параметра (пређени пут: $U = 728,0$, $p < 0,05$; покретљивост: $U = 615,0$, $p < 0,01$). Наиме, женке у оквиру МП групе у том временском интервалу прелазе значајно краћи пут (0,739 m, Слика 10Б) и значајно мање су покретне (168,1 s, Слика 11Б) у односу на женке из контролне групе (0,940 m и 282,2 s).



Слика 10. Пређени пут *D. subobscura* мужјака и женки старости три дана у контролним условима и након излагања стадијума јаје-ларва променљивом магнетном пољу (50 Hz, 0,5 mT) током 30 минута праћења локомоторне активности. Резултати су представљени као средња вредност пређеног пута $\pm$ стандардна грешка ($n = 45$) током целокупног времена праћења (А), као и за 10-минутне интервале (Б). * $p < 0,05$ и *** $p < 0,001$ (Kruskal-Wallis анализа варијансе, Mann-Whitney U-тест).



Слика 11. Покретљивост *D. subobscura* мужјака и женки старости три дана у контролним условима и након излагања стадијума јаје-ларва променљивом магнетном пољу (50 Hz, 0,5 mT) током 30 минута праћења локомоторне активности. Резултати су представљени као средња вредност покретљивости $\pm$ стандардна грешка ($n = 45$) током целокупног времена праћења (А), као и за 10-минутне интервале (Б). ** $p < 0,01$ и *** $p < 0,001$ (Kruskal-Wallis анализа варијансе, Mann-Whitney U-тест).

4.2.2. Локомоторна активност адулата *D. subobscura* након излагања стадијума адулата старости један дан

Након што су адулти старости један дан излагани променљивом магнетном пољу (50 Hz, 0,5 mT) током 48 сати, праћена је локомоторна активност мужјака и женки старости три дана током 30 минута. Код оба пола из МП група, за разлику од јединки из контролних група, уочавају су мање просечне вредности оба параметра (пређени пут и покретљивост) за целокупно време праћења (Слика 12А и 13А).

Табела 4. Просечне вредности пређеног пута $\pm$ стандардна грешка (израженог у метрима) и покретљивости $\pm$ стандардна грешка (изражене у секундама) мужјака и женки старости три дана током 30 минута праћења локомоторне активности, након излагања адулата старости један дан променљивом магнетном пољу (50 Hz, 0,5 mT).

		пређени пут (m)	покретљивост (s)
контролна група	мужјаци	2,195 $\pm$ 0,134	421,2 $\pm$ 34,8
	женке	2,105 $\pm$ 0,130	434,1 $\pm$ 29,8
МП	мужјаци	1,481 $\pm$ 0,104	351,9 $\pm$ 27,3
	женке	1,522 $\pm$ 0,123	366,2 $\pm$ 26,0

Вредности Kruskal-Wallis анализе варијансе оба параметра, приказане у Табели 5, показују да јединке које су биле излагане променљивом магнетном пољу прелазе значајно краћи пут и значајно су мање покретне у односу на мушице из контролне групе.

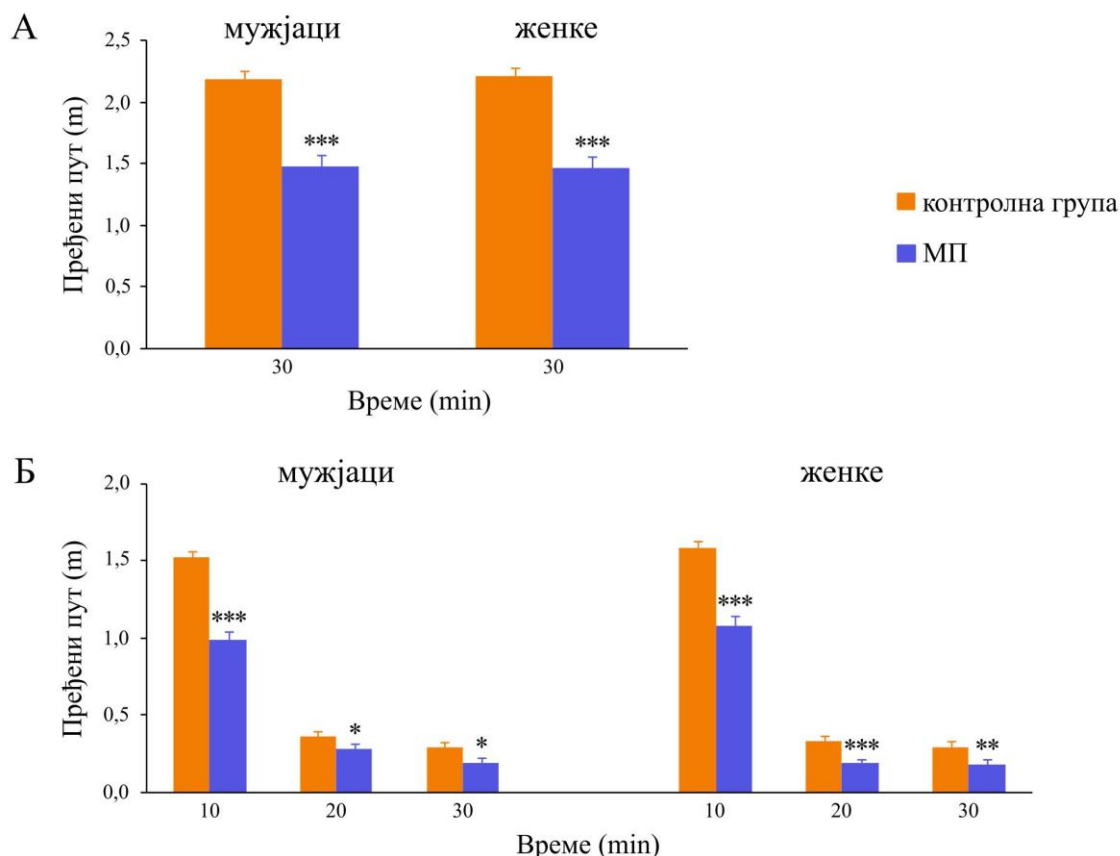
Табела 5. Kruskal-Wallis анализа варијансе параметара локомоторне активности оба пола за целокупно време праћења од 30 минута и за сва три 10-минутна интервала, након излагања адулата старости један дан променљивом магнетном пољу (50 Hz, 0,5 mT).

		$H_{(3, 300)}$	
пређени пут	укупно 30 минута	78,494	***
	први 10-мин интервал	94,572	***
	други 10-мин интервал	23,369	***
	трећи 10-мин интервал	15,015	**
	укупно 30 минута	14,995	**
покретљивост	први 10-мин интервал	21,066	***
	други 10-мин интервал	2,870	
	трећи 10-мин интервал	3,216	
	укупно 30 минута		

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

Post hoc Mann-Whitney U-тестом је показано да мужјаци из МП групе прелазе значајно краћи пут ($U = 1854,0$, $p < 0,001$) и значајно су мање покретни ($U = 2446,0$, $p < 0,05$), у односу на мужјаке у оквиру контролне групе, током целокупног времена праћења од 30 минута (Слика 12А и 13А). У оквиру 10-минутних интервала (Слика 12Б), у сваком је уочено значајно краћи пређени пут

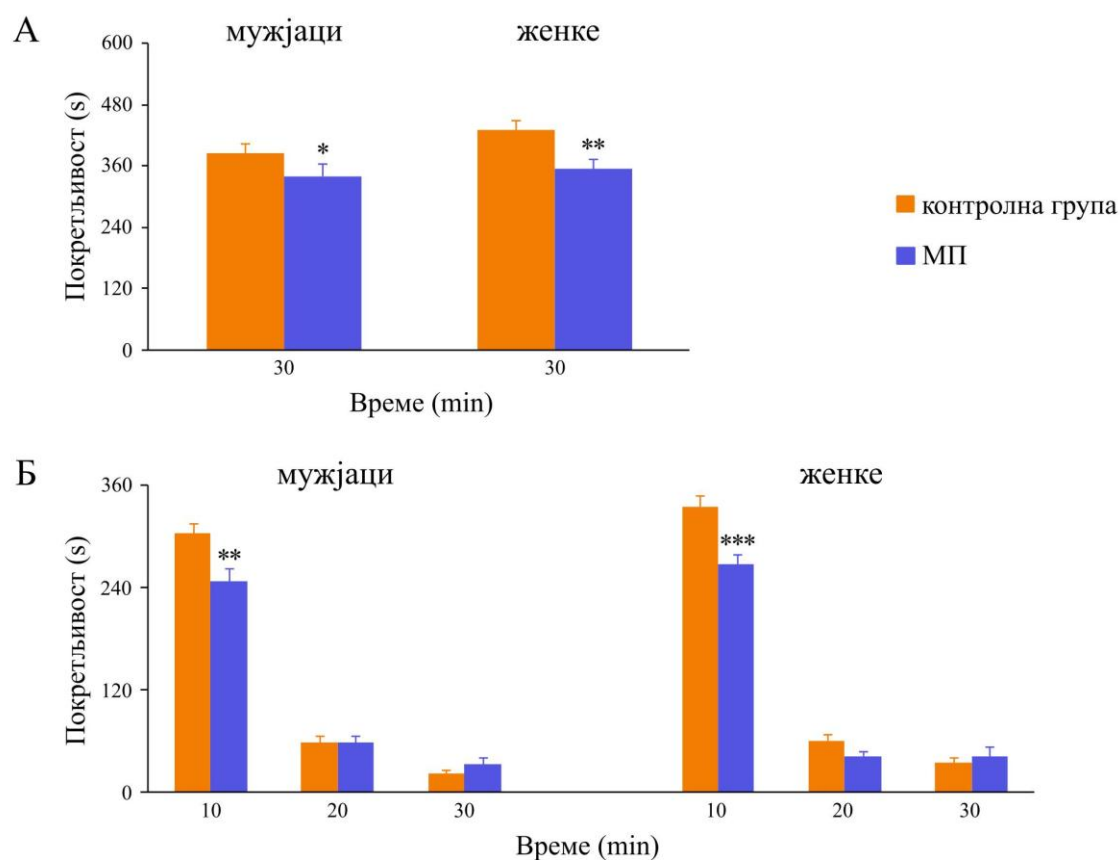
мужјака у оквиру МП групе (0,977 m, 0,296 m, 0,208 m) у односу на мужјаке из контролне групе (1,359 m, 0,476 m, 0,360 m; $U = 1661,5$, $p < 0,001$, $U = 2157,0$, $p < 0,05$, $U = 2231,0$, $p < 0,05$). У случају покретљивости (Слика 13Б), само у првом 10-минутном интервалу је добијена значајна разлика између мужјака из МП (244,4 s) и контролне групе (283,4 s).



Слика 12. Пређени пут *D. subobscura* мужјака и женки старости три дана у контролним условима и након излагања адулата старости један дан променљивом магнетном пољу (50 Hz, 0,5 mT) током 30 минута праћења локомоторне активности. Резултати су представљени као средња вредност пређеног пута $\pm$ стандардна грешка ($n = 75$) током целокупног времена праћења (А), као и за 10-минутне интервале (Б). * $p < 0,05$, ** $p < 0,01$ и *** $p < 0,001$ (Kruskal-Wallis анализа варијансе, Mann-Whitney U-тест).

Женке које су биле излагане променљивом магнетном пољу прелазе значајно краћи пут ($U = 1968,0$, $p < 0,001$) и значајно су мање покретне ($U = 2449,0$, $p < 0,01$) у односу на женке из контролне групе, током целокупног времена праћења

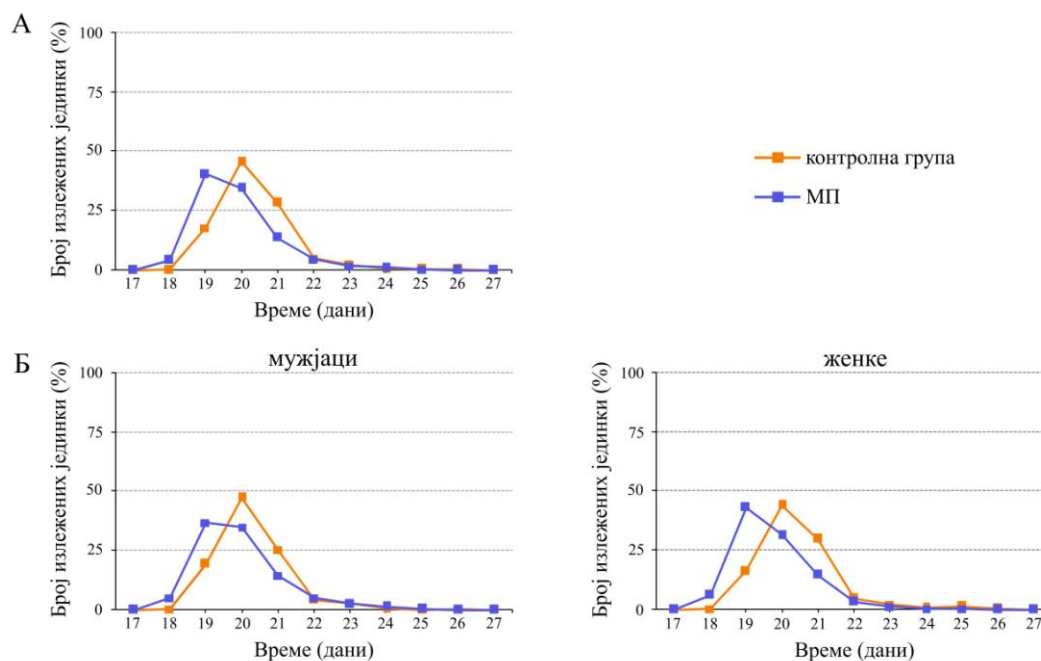
од 30 минута. У сваком 10-минутном интервалу (Слика 12Б) целокупног времена праћења локомоторне активности од 30 минута детектован је значајно краћи пређени пут женки у оквиру МП групе (1,111 m, 0,237 m, 0,173 m) у односу на женке из контролне групе (1,393 m, 0,413 m, 0,299 m; $U = 1915,0$, $p < 0,001$, $U = 2053,5$, $p < 0,001$, $U = 2008,5$, $p < 0,01$). У случају покретљивости, само у првих 10 минута женке из МП групе имају значајно мање вредности овог параметра (270,1 s) у односу на женке из контролне групе (301,6 s; $U = 2417,0$, $p < 0,001$).



Слика 13. Покретљивост *D. subobscura* мужјака и женки старости три дана у контролним условима и након излагања адулата старости један дан променљивом магнетном пољу (50 Hz, 0,5 mT) током 30 минута праћења локомоторне активности. Резултати су представљени као средња вредност покретљивости $\pm$ стандардна грешка ($n = 75$) током целокупног времена праћења (А), као и за 10-минутне интервале (Б). * $p < 0,05$, ** $p < 0,01$ и *** $p < 0,001$ (Kruskal-Wallis анализа варијансе, Mann-Whitney U-тест).

4.3. Утицај променљивог магнетног поља (50 Hz, 0,5 mT) на компоненте адаптивне вредности *D. subobscura*

Стадијум јаје-ларва је излаган променљивом магнетном пољу током 48 сати и након тога су праћени динамика излегања, дужина развића, преживљавање и однос полова, као компоненте које одређују адаптивну вредност.

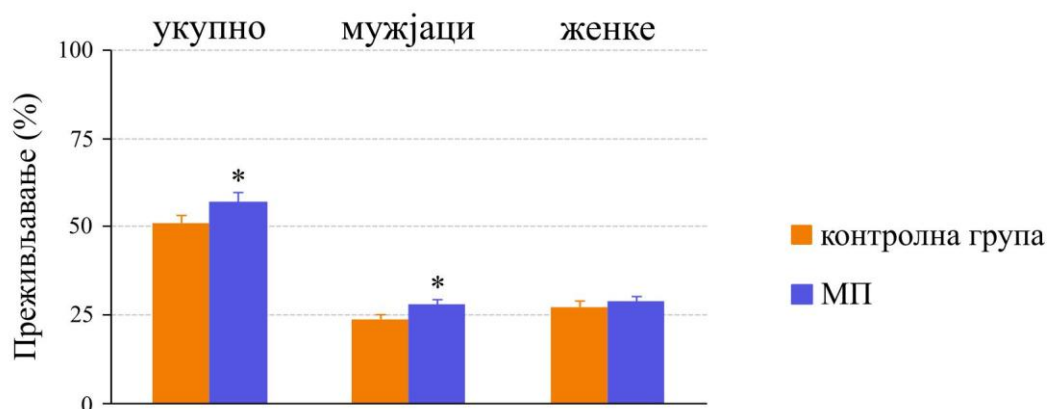


Слика 14. Динамика излегања *D. subobscura* оба пола заједно (А) и мужјака и женки одвојено (Б) у контролним условима и након излагања стадијума јаје-ларва променљивом магнетном пољу (50 Hz, 0,5 mT). Број излежених јединки је приказан у процентима на дневном нивоу. (број реплика: $n_{\text{контрола}} = 23$; $n_{\text{МП}} = 18$).

Излегање адулата у оквиру контролних и МП група је почело 18-ог дана од момента полагања јаја (Слика 14А). Дан када се бележи највећи број излежених јединки у оквиру МП групе је био 19-ти дан (40,4 %), што је дан раније у односу на контролну групу (20-ти дан, 45,6 %). У случају оба пола појединачно (Слика 14Б) мање је излежених јединки у оквиру МП групе (мужјаки: 36,7 % и женке: 43,0 %), у односу на контролну групу (мужјаки: 47,2 % и женке: 44,1 %). Излегање адулата из МП група траје осам дана и завршава се дан раније (25-ти дан) у односу на јединке из контролних група, чије развиће траје до 26-тог дана од почетка праћења развића. Просечна вредност дужине развића за контролну групу

износи 20,33 дана (мужјаци: 20,26; женке: 20,39), док за МП групу износи 19,85 дана (мужјаци: 19,95; женке: 19,74).

Преживљавање од стадијума јаје до стадијума адулта (V_i), приказано на Слици 15, је израчунавано као однос излежених адулата и броја укупно прикупљених јаја. Просечна вредност преживљавања контролних јединки је 51,2 % (мужјаци: 23,7 %; женке: 27,4 %), а јединки које су биле изложене магнетном пољу 57,2 % (мужјаци: 28,2 %; женке: 29,0 %).



Слика 15. Укупно преживљавање (оба пола) и преживљавање *D. subobscura* мужјака и женки одвојено у контролним условима и након излагања стадијума јаје-ларва променљивом магнетном пољу (50 Hz, 0,5 mT). Резултати су представљени као средња вредност преживљавања у процентима $\pm$ стандардна грешка (број реплика: $n_{\text{контрола}} = 23$; $n_{\text{МП}} = 18$). * $p < 0,05$ (двофакторијална анализа варијансе, Fisher's LSD тест).

Двофакторијална анализа варијансе је показала значајне разлике у дужини развића, као и у преживљавању између јединки из контролних и МП група (Табела 6). Наиме, јединкама из МП група, у односу на јединке из контролних група, је потребно знатно краће време за развиће од стадијума јаје до стадијума адулта. Такође, јединке у оквиру МП групе значајно боље преживљавају у односу на јединке из контролних услова (Слика 15). Fisher's LSD post hoc тестом је утврђено да је само женкама потребно знатно краће време за развиће ($p < 0,01$), док је у случају преживљавања значајна разлика забележена само код мужјака ($p < 0,05$). Наиме, мужјаци у оквиру МП групе значајно боље преживљавају у односу на мужјаке у оквиру контролне групе.

Табела 6. Двофакторијална анализа варијансе дужине (ембрионалног и постембрионалног) развића и преживљавања након излагања стадијума јаје-ларва променљивом магнетном пољу (50 Hz, 0,5 mT).

	дужина развића			преживљавање	
	Df	MS	F	MS	F
третман	1	4,836	11,249 **	207,406	4,253 *
пол	1	0,000	0,001	88,089	1,806
третман × пол	1	0,239	0,557	49,158	1,008
грешка	78	0,430		48,766	

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

Z-тестом, који је коришћен за анализу односа полова унутар МП групе, није показана значајна разлика у броју излежених мужјака и женки ($Z = -0,435$, $p > 0,05$).

4.4. Утицај променљивог магнетног поља (50 Hz, 0,5 mT) на компоненте адаптивне вредности и локомоторну активност сваке одабране ИФ линије *D. subobscura*

Претходно представљени резултати приказују утицај променљивог магнетног поља (50 Hz, 0,5 mT) на локомоторну активност и компоненте адаптивне вредности јединки *D. subobscura* пулованих ИФ линија. Доле наведени одељци са резултатима приказују утицај променљивог магнетног поља на компоненте адаптивне вредности и параметре локомоторне активности у оквиру сваке ИФ линије засебно.

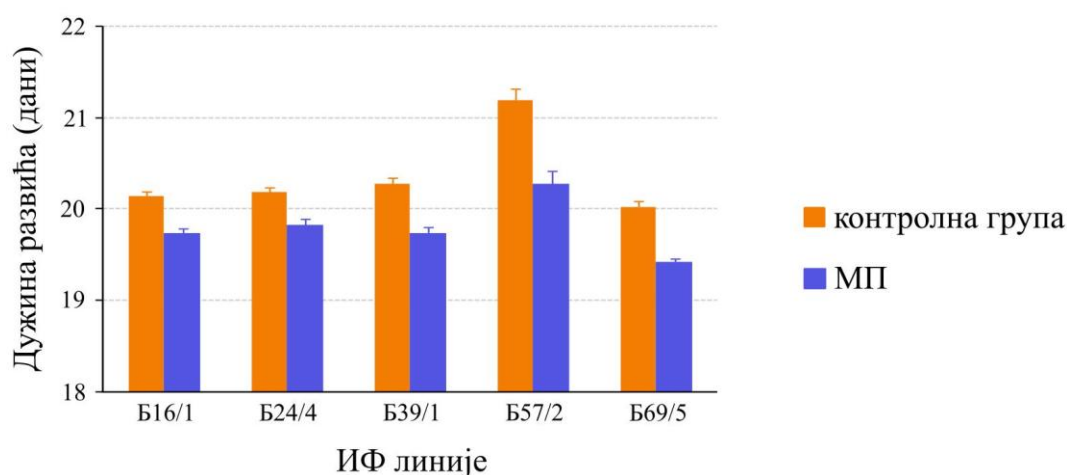
Двофакторијалном анализом варијансе су анализиране разлике у дужини развића јединки одабраних ИФ линија након излагања променљивом магнетном пољу у стадијуму јаје-ларва (Табела 7). Показано је да постоји значајна разлика у дужини развића између контролних и МП група, као и да постоји разлика између ИФ линија у утицају променљивог магнетног поља на дужину развића. Наиме, јединкама које су у стадијуму јаје-ларва биле излагане променљивом магнетном пољу (50 Hz, 0,5 mT) је потребно значајно краће време за комплетирање развића од оплођених јаја до адулата у поређењу са јединкама из контролне групе. Post

нос LSD тестом је утврђено да се развиће јединки ИФ линије Б57/2 значајно разликује од свих осталих ИФ линија, у смислу да излегање адулата из ове линије траје значајно дуже (до чак 25-ог дана циклуса развића, што ће бити представљено у одељку резултата ИФ линија Б57/2).

Табела 7. Двофакторијална анализа варијансе дужине развића одабраних ИФ линија *D. subobscura* након излагања стадијума јаја-ларва променљивом магнетном пољу (50 Hz, 0,5 mT).

	Df	MS	F	
третман	1	2,927	8,337	**
линија	4	2,863	8,157	***
третман × линија	4	0,121	0,346	
грешка	45	0,351		

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



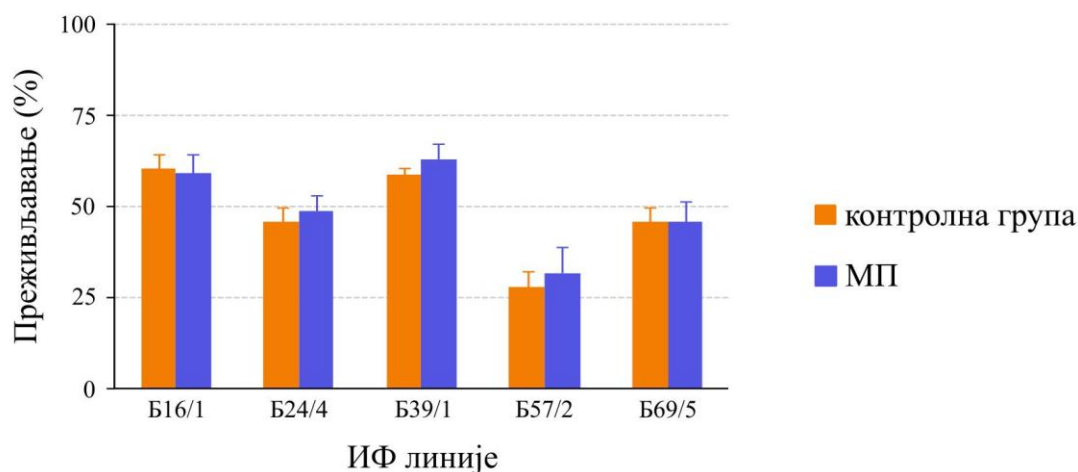
Слика 16. Дужина развића одабраних ИФ линија *D. subobscura* у контролним условима и након излагања стадијума јаје-ларва променљивом магнетном пољу (50 Hz, 0,5 mT). Вредности су изражене у данима ± стандардна грешка (број реплика $n_{\text{контрола}}$ и $n_{\text{МП}}$ од 5 до 7)

Просечне вредности преживљавања сваке ИФ линије засебно су приказане у Табели 8 и на Слици 17. Уочава се да је, само код јединки ИФ линије Б16/1, која припада ретком хаплотипу III, просечна вредност преживљавања мања након излагања магнетном пољу у односу на просечну вредност преживљавања јединки из контролне групе. Јединке ИФ линије Б69/5, која припада хаплотипу I, имају

приближне просечне вредности преживљавања у обе групе (контролна и МП група). Јединке преостале три ИФ линије (Б24/4 и Б39/1 које припадају хаплотипу II, и линије Б57/2 која припада хаплотипу I) након излагања магнетном пољу имају боље просечно преживљавање у поређењу са јединкама из контролних група.

Табела 8. Просечне вредности преживљавања и дужине развића одабраних ИФ линија *D. subobscura* у контролним условима и након излагања стадијума јаје-ларва променљивом магнетном пољу (50 Hz, 0,5 mT). Вредности су изражене у процентима $\pm$ стандардна грешка (број реплика $n_{\text{контрола}}$ и $n_{\text{МП}}$ од 5 до 7).

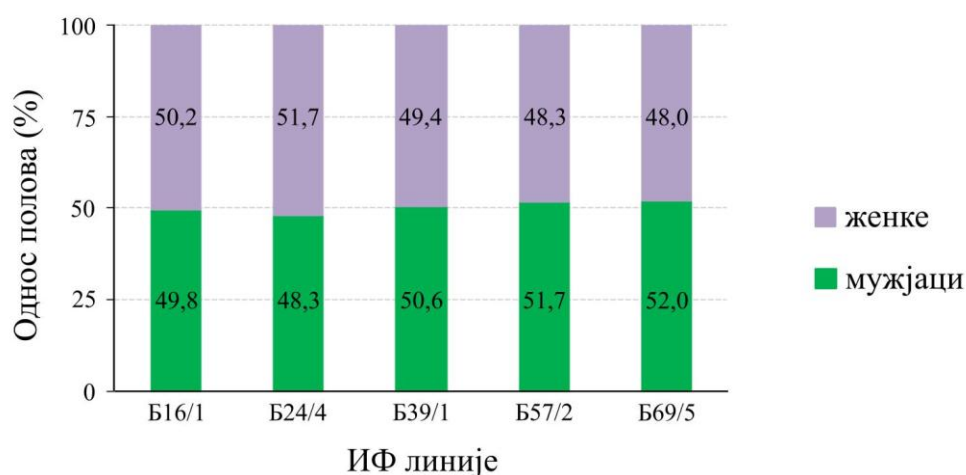
генетичка структура	ИФ линија <i>D. subobscura</i>	преживљавање (%)		дужина развића (дани)	
		контролна група	МП	контролна група	МП
хаплотип III	Б16/1	60,55 $\pm$ 4,12	59,33 $\pm$ 5,08	20,15 $\pm$ 0,05	19,74 $\pm$ 0,06
хаплотип II	Б24/4	46,02 $\pm$ 3,94	49,05 $\pm$ 4,40	20,19 $\pm$ 0,06	19,83 $\pm$ 0,07
	Б39/1	58,93 $\pm$ 2,04	63,20 $\pm$ 4,37	20,28 $\pm$ 0,07	19,75 $\pm$ 0,07
хаплотип I	Б57/2	28,00 $\pm$ 4,52	32,00 $\pm$ 7,12	21,20 $\pm$ 0,13	20,82 $\pm$ 0,14
	Б69/5	45,87 $\pm$ 3,97	45,84 $\pm$ 5,85	20,03 $\pm$ 0,06	19,43 $\pm$ 0,04



Слика 17. Преживљавање одабраних ИФ линија *D. subobscura* у контролним условима и након излагања стадијума јаје-ларва променљивом магнетном пољу (50 Hz, 0,5 mT). Просечне вредности су изражене у процентима $\pm$ стандардна грешка (број реплика $n_{\text{контрола}}$ и $n_{\text{МП}}$ од 5 до 7)

Z тестом је анализиран однос полова у МП групи. На Слици 18 је приказан однос полова у оквиру сваке ИФ линије са вредностима израженим у процентима.

У оквиру сваке ИФ линије након излагања стадијума јаје-ларва магнетном пољу (50 Hz, 0,5 mT) не постоји статистички значајна разлика у броју излежених мужјака и женки (Б16/1: $Z = 0,122$, $p > 0,05$; Б24/4: $Z = 0,973$, $p > 0,05$; Б39/1: $Z = -0,390$, $p > 0,05$; Б57/2: $Z = -0,730$, $p > 0,05$; Б69/5: $Z = -1,120$, $p > 0,05$).



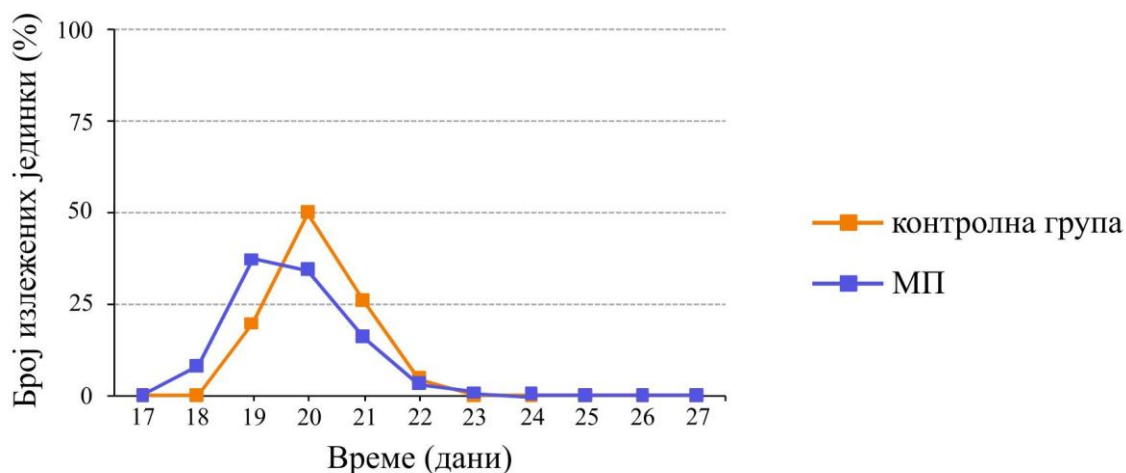
Слика 18. Однос полова одабраних ИФ линија *D. subobscura* након излагања стадијума јаје-ларва променљивом магнетном пољу (50 Hz, 0,5 mT). Вредности су изражене у процентима (број реплика $n_{\text{контрола}}$ и $n_{\text{МП}}$ од 5 до 7)

4.4.1. ИФ линија Б16/1

На Слици 19 је приказано какав утицај има променљиво магнетно поље (50 Hz, 0,5 mT) примењено током 48 сати у стадијуму развића јаје-ларва, на динамику и дужину развића јединки *D. subobscura* које припадају ИФ линији Б16/1, хаплотипа III.

Адулти линије Б16/1 почињу са излегањем 18-ог дана од почетка полагања јаја. Излегање адулата у контролној групи почиње дан касније (19-ти дан), али се 20-ог дана од почетка циклуса развића у оквиру обе групе уочава највећи број излежених јединки (контролна група 49,77 %, МП 37,26 %). Током прва два дана од почетка излегања адулата (18-ти и 19-ти дан) процентуалне вредности излежених јединки у МП групи су веће (7,98 % и 37,26 %) у односу на вредности добијене у контролним условима (0 % и 19,91 %). Последњи адулти из контролне групе се излежу 22-ог дана, а у оквиру МП групе 24-ог дана. Просечна вредност дужине развића за контролну групу износи 20,15 дана, док за МП групу износи 19,74 дана. На основу поменутих резултата можемо закључити да је дужина

развића јединки ИФ линије Б16/1 скраћена након излагања стадијума јаје-ларва променљивом магнетном пољу (50 Hz, 0,5 mT). Међутим, једнофакторијалном анализом варијансе добијено је да не постоји статистички значајна разлика у дужини развића између јединки из контролне и МП групе ($F = 1,233$; $p > 0,05$).



Слика 19. Динамика излезања *D. subobscura* ИФ линије Б16/1 у контролним условима и након излагања стадијума јаје-ларва променљивом магнетном пољу (50 Hz, 0,5 mT). Број излежених јединки је приказан процентуално на дневном нивоу. (број реплика $n_{\text{контролна група}} = 5$; $n_{\text{МП}} = 6$)

Табела 9. Двофакторијална анализа варијансе преживљавања јединки ИФ линије *D. subobscura* Б16/1 након излагања стадијума јаје-ларва променљивом магнетном пољу (50 Hz, 0,5 mT).

ИФ линија Б16/1	Df	MS	F
третман	1	1,704	0,035
пол	1	46,879	0,971
третман $\times$ пол	1	40,041	0,830
грешка	18	49,246	

Када се сагледа преживљавање јединки ове ИФ линије након излагања стадијума јаје-ларва магнетном пољу, укупне вредности преживљавања јединки у оквиру МП групе је износило 59,33 % (мужјаци: 29,56 %; женке: 29,78 %), а јединки у оквиру контролне групе 60,55 % (мужјаци: 27,40 %; женке: 33,15 %). Двофакторијалном анализом варијансе није показана значајна разлика у

преживљавању између јединки *D. subobscura* ИФ линије Б16/1 у оквиру контролне групе и МП групе (Табела 9).

Резултати Z теста, којим се анализирао однос излежених мужјака и женки између контролне и МП групе, нису показали значајну разлику (мужјаци $Z = -1,427$; женке $Z = 1,427$; $p > 0,05$). Анализом односа полова у оквиру МП групе, такође, није показана статистички значајна разлика ($Z = 0,122$, $p > 0,05$).

Параметри локомоторне активности адулата три дана старости, након излагања адулата старости један дан променљивом магнетном пољу, су анализирани Kruskal-Wallis анализом варијансе и резултати су приказани у Табели 10. Добијени резултати показују да јединке које су биле излагане променљивом магнетном пољу прелазе значајно краћи пут и значајно су мање покретне у односу на јединке из контролне групе.

Табела 10. Kruskal-Wallis анализа варијансе параметара локомоторне активности оба пола *D. subobscura* ИФ линије Б16/1 за целокупно време праћења од 30 минута и за сва три 10-минутна интервала, након излагања адулата старости један дан променљивом магнетном пољу (50 Hz, 0,5 mT).

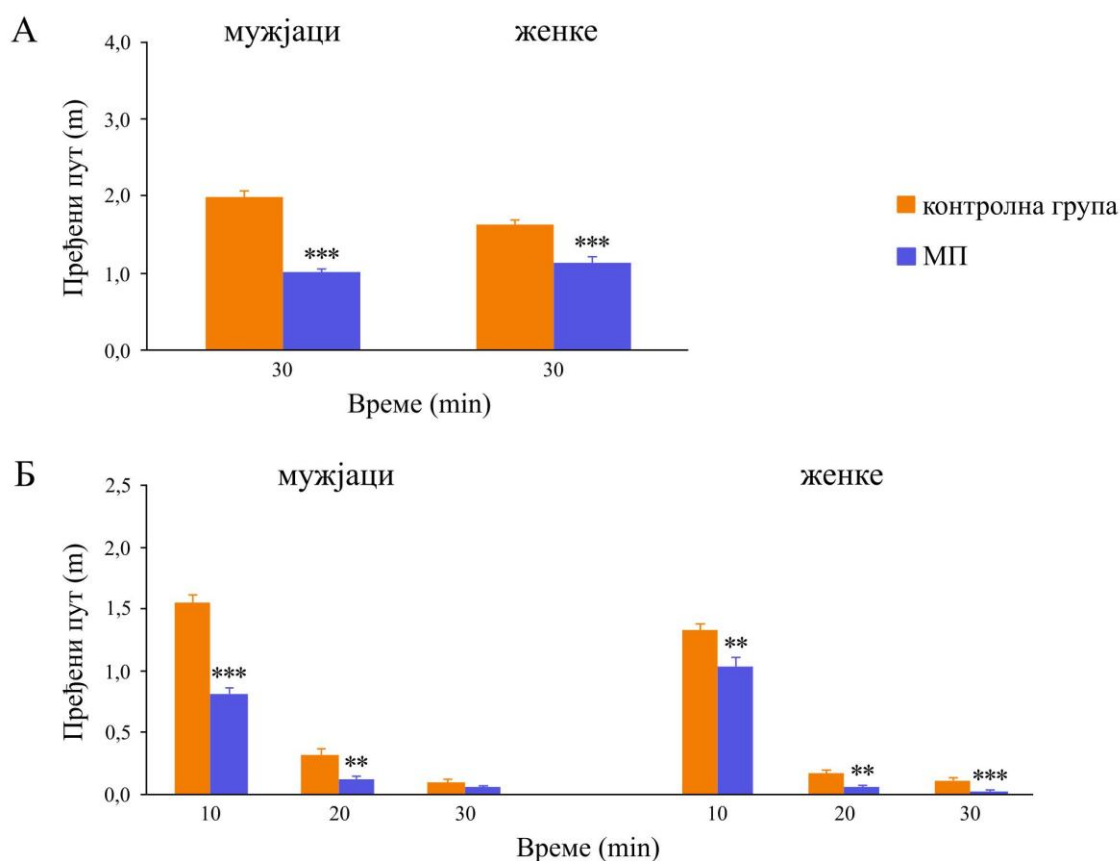
		$H_{(3, 120)}$	
пређени пут	укупно 30 минута	51,983	***
	први 10-мин интервал	48,517	***
	други 10-мин интервал	25,920	***
	трећи 10-мин интервал	14,745	**
покретљивост	укупно 30 минута	16,932	***
	први 10-мин интервал	10,364	*
	други 10-мин интервал	18,009	***
	трећи 10-мин интервал	12,332	**

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

Праћењем локомоторне активности током 30 минута, на Слици 20А се може видети да оба пола у оквиру МП групе имају мање просечне вредности пређеног пута у односу на јединке из контролних група.

Када су Kruskal-Wallis анализом варијансе, праћене post hoc Mann-Whitney U-тестом, тестиране вредности током целокупног времена праћења локомоторне

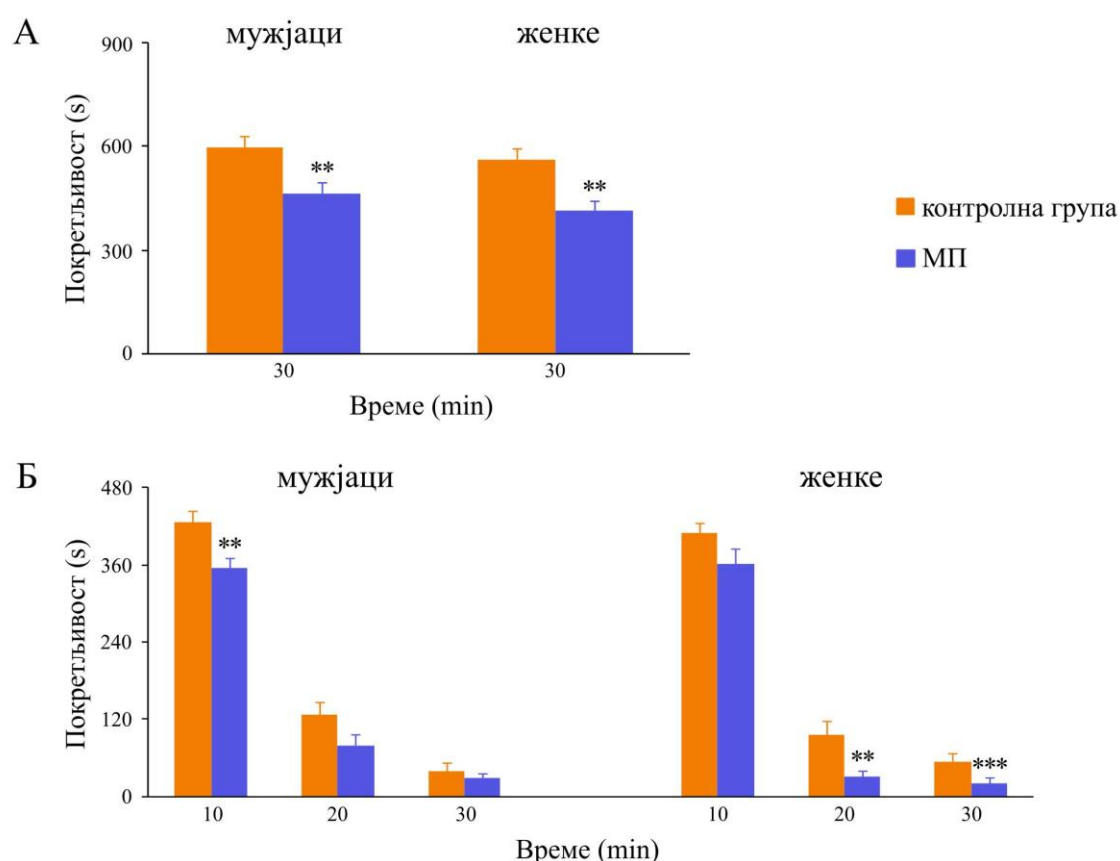
активности од 30 минута, уочено је да и мужјаци и женке након излагања магнетном пољу прелазе значајно краћи пут (мужјаци: $U = 48,5$, $p < 0,001$; женке: $U = 203,5$, $p < 0,001$). Наиме, просечна вредност пређеног пута мужјака из МП групе након 30 минута праћења локомоторне активности износи 1,006 m, а женки 1,133 m.



Слика 20. Пређени пут мужјака и женки *D. subobscura* ИФ линије Б16/1 старости три дана у контролним условима и након излагања адулата старости један дан променљивом магнетном пољу (50 Hz, 0,5 mT) током 30 минута праћења локомоторне активности. Резултати су представљени као средња вредност пређеног пута $\pm$ стандардна грешка ($n = 30$) током целокупног времена праћења (А), као и за 10-минутне интервале (Б). ** $p < 0,01$ и *** $p < 0,001$ (Kruskal-Wallis анализа варијансе, Mann-Whitney U-тест).

Мужјаци из контролне групе просечно прелазе 1,980 m, док женке прелазе 1,622 m. Када се целокупно време праћења локомоторне активности подели на 10-минутне интервале (Слика 20Б), значајно краћи пут током првих и других 10

минута прелазе и мужјаци и женке који су били излагани магнетном пољу (мужјаци - 10 минута: $U = 43,0$, $p < 0,001$; 20 минута: $U = 244,5$, $p < 0,01$; женке - 10 минута: $U = 257,0$, $p < 0,01$; 20 минута: $U = 229,0$, $p < 0,01$). Код женки се значајна разлика у пређеном путу уочава и у последњих 10 минута праћења локомоторне активности. И у том случају женке након излагања магнетном пољу прелазе значајно краћи пут ($U = 212,5$, $p < 0,001$).



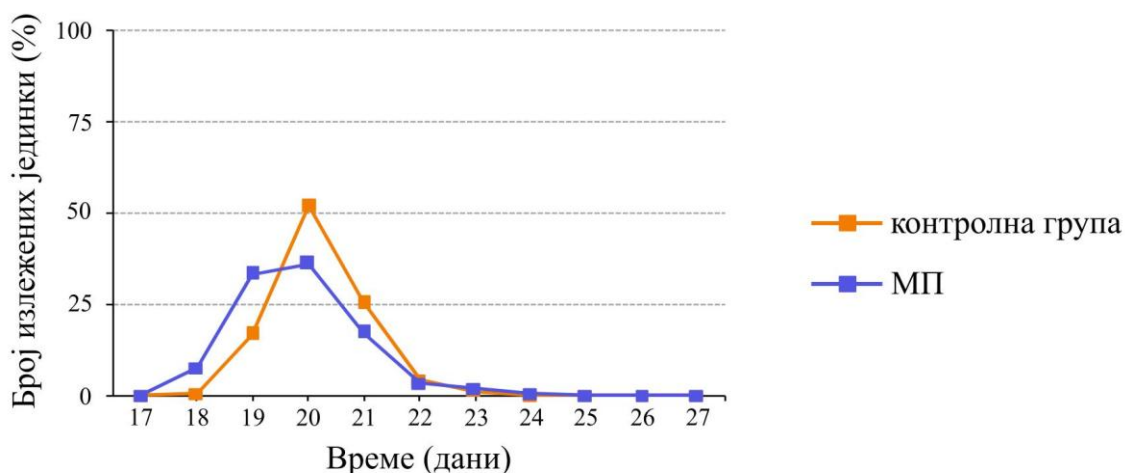
Слика 21. Покретљивост мужјака и женки *D. subobscura* ИФ линије Б16/1 старости три дана у контролним условима и након излагања адулата старости један дан променљивом магнетном пољу (50 Hz, 0,5 mT) током 30 минута праћења локомоторне активности. Резултати су представљени као средња вредност покретљивости $\pm$ стандардна грешка ($n = 30$) током целокупног времена праћења (А), као и за 10-минутне интервале (Б). ** $p < 0,01$ и *** $p < 0,001$ (Kruskal-Wallis анализа варијансе, Mann-Whitney U-тест).

Када се сагледа покретљивост јединки (Слика 21А), уочава се исти тренд као и за параметар пређени пут. Наиме, и мужјаци и женке ИФ линије Б16/1 у оквиру

МП групе су слабије покретне (имају ниже вредности параметра покретљивости изражене у секундама) током целокупног времена праћења од 30 минута у односу на јединке у оквиру контролне групе.

4.4.2. ИФ линија Б24/4

Као и код претходно анализиране ИФ линије, јединке ИФ линије Б24/4, које припадају хаплотипу II и које су током стадијума јаје-ларва биле излагане променљивом магнетном пољу (50 Hz, 0,5 mT) имају краће време развића. Излегање јединки ИФ линије Б24/4 у оквиру МП групе почиње 18-ог дана циклуса развића и завршава се 22-ог дана циклуса развића (Слика 22).



Слика 22. Динамика излегања *D. subobscura* ИФ линије Б24/4 у контролним условима и након излагања стадијума јаје-ларва променљивом магнетном пољу (50 Hz, 0,5 mT). Број излежених јединки је приказан процентуално на дневном нивоу. (број реплика $n_{\text{контролна група}}=6$; $n_{\text{МП}}=6$)

У оквиру контролне групе, почетак излегања адулата почиње 19-ог дана од момента полагања јаја. Код обе групе највећи број излежених јединки се бележи 20-ог дана циклуса развића (контролна група 36,19 %, МП 51,89 %). Од дана када се бележи највећа бројност излежених јединки (20-ти дан), број излежених адулата је већи у контролној групи. Током прва два дана излегања (18-ти и 19-ти дан), процентуалне вредности броја излежених адулата су у оквиру МП групе (7,62 % и 33,33 %) већи у односу на процентуалне вредности излежених јединки у оквиру контролне групе (0,54 % и 16,76 %). Просечна вредност дужине развића

јединки у контролној групи је 20,20 дана, док је за МП групу просечна вредност дужине развића 19,83 дана. Једнофакторијална анализа варијансе дужине развића ИФ линије Б24/4 не показује статистички значајну разлику у односу на дужину развића јединки из контролне и МП групе ($F = 0,938$, $p > 0,05$).

Јединке ИФ линије Б24/4 након излагања магнетном пољу боље преживљавају у поређењу са преживљавањем јединки у оквиру групе која је боравила у контролним условима. Преживљавање јединки у МП групи износи 49,05 % (мужјаци: 23,70 %; женке: 25,36 %), док је укупна вредност преживљавања јединки у контролној групи 46,02 % (мужјаци: 14,43 %, женке: 21,64 %). Двофакторијална анализа варијансе (Табела 11) је показала да уочена разлика у преживљавању није статистички значајна, како између третмана, тако ни између полова. Мужјаци и женке из контролне и МП групе имају слично преживљавање (интеракција третман $\times$ пол).

Z тестом је утврђено да у броју излежених женки из контролне и МП групе не постоји значајна разлика ($Z = -1,306$, $p > 0,05$). Међутим, у броју излежених мужјака постоји значајна разлика између контролне и МП групе ($Z = -4,840$, $p < 0,01$). У оквиру МП групе је значајно већи број излежених мужјака (48,3 %) у односу на контролну групу (31,4 %). Анализом односа полова у оквиру МП групе не постоји значајна разлика ($Z = 0,973$, $p > 0,05$).

Табела 11. Двофакторијална анализа варијансе преживљавања јединки *D. subobscura* ИФ линије Б24/4 након излагања стадијума јаје-ларва променљивом магнетном пољу (50 Hz, 0,5 mT).

ИФ линија Б24/4	Df	MS	F
третман	1	4,996	0,101
пол	1	29,893	0,607
третман $\times$ пол	1	0,137	0,003
грешка	20	49,246	

Анализом параметара локомоторне активности адулата старости три дана, вредности Kruskal-Wallis анализе варијансе оба параметра, приказане у Табели 12, показују да јединке које су биле излагане променљивом магнетном пољу у

стадијуму адулата старости један дан, прелазе значајно краћи пут и значајно су мање покретне у односу на јединке из контролне групе.

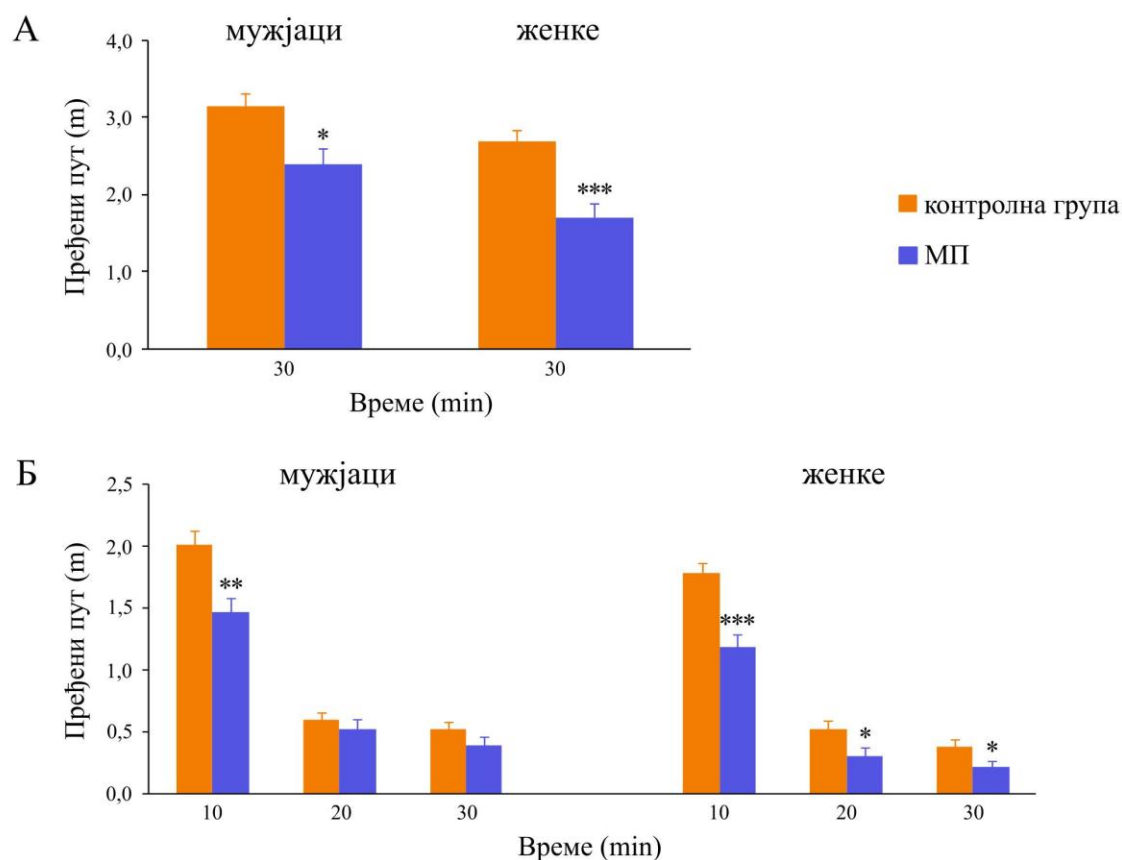
Табела 12. Kruskal-Wallis анализа варијансе параметара локомоторне активности оба пола ИФ линије Б24/4 за целокупно време праћења од 30 минута и за сва три 10-минутна интервала, након излагања адулата старости један дан променљивом магнетном пољу (50 Hz, 0,5 mT).

		$H_{(3, 120)}$	
пређени пут	укупно 30 минута	25,435	***
	први 10-мин интервал	29,808	***
	други 10-мин интервал	10,921	*
	трећи 10-мин интервал	13,511	**
покретљивост	укупно 30 минута	13,577	**
	први 10-мин интервал	10,724	*
	други 10-мин интервал	6,302	
	трећи 10-мин интервал	12,198	**

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

Вредности оба параметра (пређени пут и покретљивост) локомоторне активности оба пола ИФ линије Б24/4, након целокупног времена праћења од 30 минута и на сваких 10 минута, су мање за јединке из МП групе у односу на јединке из контролне групе (Слике 23 и 24).

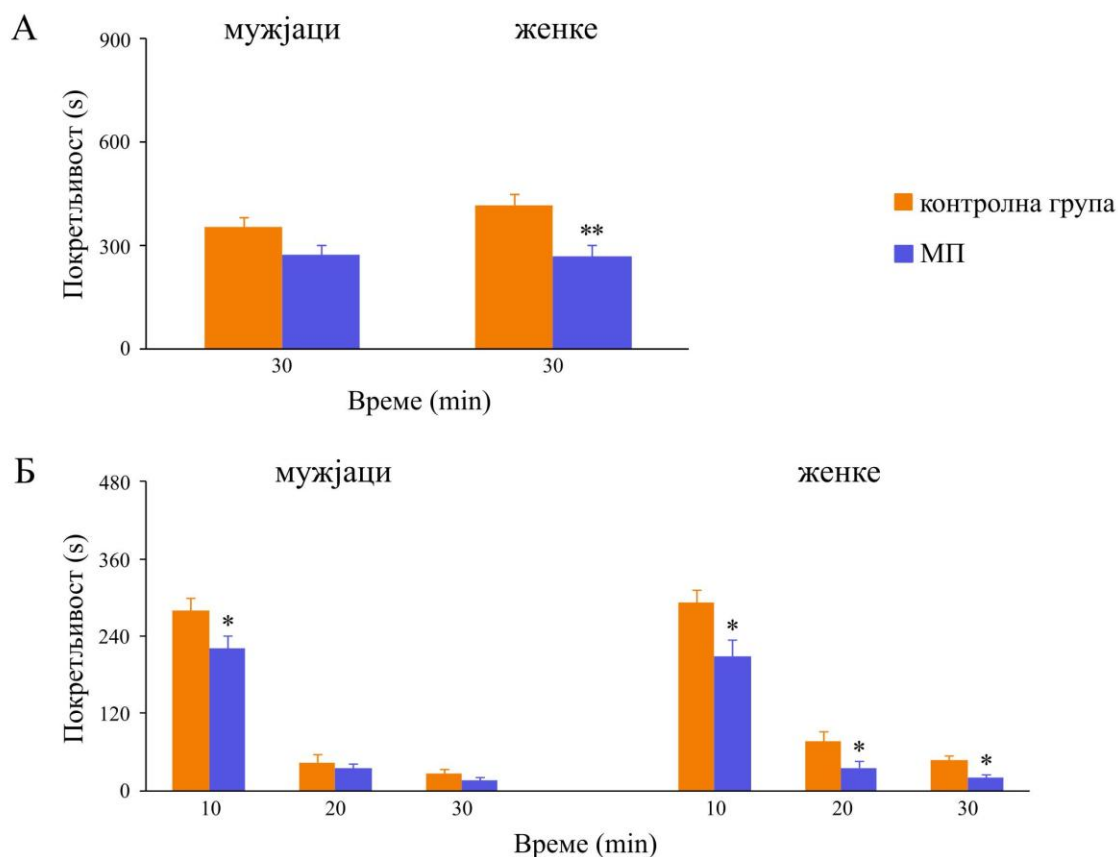
Анализом локомоторне активности непараметарским MannWhitney U тестом након целокупног времена праћења локомоторне активности (Слика 23А) је показано да и мужјаци и женке из МП групе прелазе значајно краћи пут (мужјаци: 2,389 m; женке: 1,705 m) у односу на мужјаке и женке из контролне групе (мужјаци: 3,134 m; женке: 2,693 m; мужјаци $U = 297,0$, $p < 0,05$; женке $U = 196,0$, $p < 0,001$). У случају параметра покретљивост (Слика 24А), значајна разлика постоји само међу женкама ($U = 249,0$, $p < 0,01$), тј. женке које су биле излагане магнетном пољу значајно су мање покретне (267,4 s) у односу на женке из контролне групе (416,6 s).



Слика 231. Пређени пут мушјака и женки *D. subobscura* ИФ линије Б24/4 старости три дана у контролним условима и након излагања адулата старости један дан променљивом магнетном пољу (50 Hz, 0,5 mT), током 30 минута праћења локомоторне активности. Резултати су представљени као средња вредност пређеног пута $\pm$ стандардна грешка ($n = 30$) током целокупног времена праћења (А), као и за 10-минутне интервале (Б). * $p < 0,05$, ** $p < 0,01$ и *** $p < 0,001$ (Kruskal-Wallis анализа варијансе, Mann-Whitney U-тест).

Када се целокупно време праћења локомоторне активности подели на 10-минутне интервале (Слика 23Б и 24Б), непараметарски Mann-Whitney U тест показује да оба пола у првих 10 минута у оквиру МП групе прелазе краћи пут и мање су покретни у односу на мушјаке и женке унутар контролне групе (пређени пут – мушјаци: $U = 235,0$, $p < 0,01$; женке: $U = 166,0$, $p < 0,001$; покретљивост - мушјаци: $U = 311,0$, $p < 0,05$; женке: $U = 276,0$, $p < 0,05$). Током преосталог времена праћења, само код женки у другом и трећем 10-минутном интервалу постоји значајна разлика у пређеном путу (20 минута: $U = 278,0$, $p < 0,05$; 30

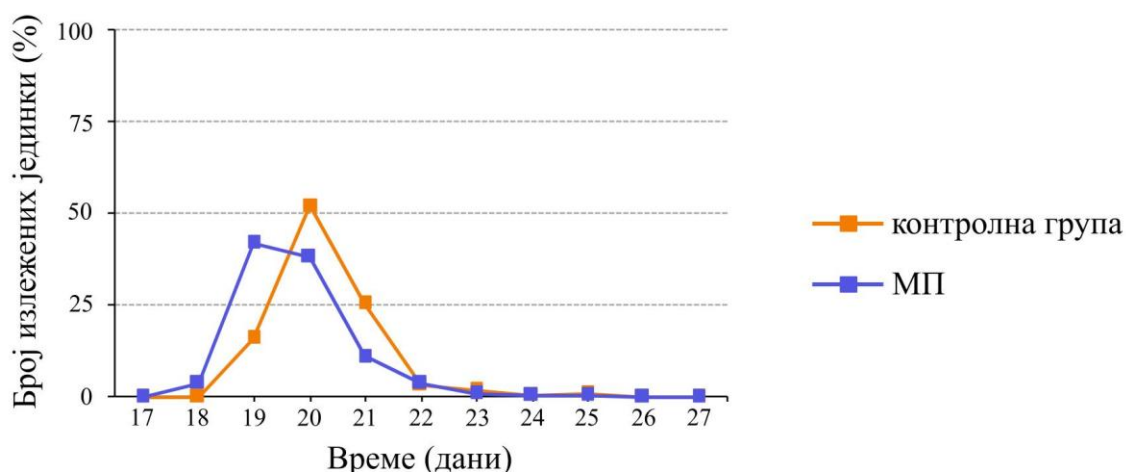
минута: $U = 303,5$, $p < 0,05$) и покретљивости (20 минута: $U = 297,0$, $p < 0,05$; 30 минута: $U = 289,5$, $p < 0,05$). Наиме, женке у оквиру МП групе су мање покретне у односу на женке у оквиру контролне групе.



Слика 24. Покретљивост мушјака и женки *D. subobscura* ИФ линије Б24/4 старости три дана у контролним условима и након излагања адулата старости један дан променљивом магнетном пољу (50 Hz, 0,5 mT), током 30 минута праћења локомоторне активности. Резултати су представљени као средња вредност покретљивости $\pm$ стандардна грешка ($n = 30$) током целокупног времена праћења (А), као и за 10-минутне интервале (Б). * $p < 0,05$ и ** $p < 0,01$ (Kruskal-Wallis анализа варијансе, Mann-Whitney U-тест).

4.4.3. ИФ линија Б39/1

Као и у случају претходне две линије, јединке *D. subobscura* ИФ линије Б39/1, која припада хаплотипу II, показују исти тренд у динамици излагања. Излагање адулата ИФ линије Б39/1 почиње 18-ог дана у оквиру МП групе и дан касније, 19-ог дана, у оквиру контролне групе (Слика 25).



Слика 25. Динамика излезања *D. subobscura* ИФ линије Б39/1 у контролним условима и након излагања стадијума јаје-ларва променљивом магнетном пољу (50 Hz, 0,5 mT). Број излежених јединки је приказан процентуално на дневном нивоу. (број реплика $n_{\text{контролна група}}=5$; $n_{\text{МП}}=5$)

Проценат укупног броја излежених јединки 18-ог и 19-ог дана циклуса развића, је већи у оквиру МП групе (18-ти дан: 3,80 %, 19-ти дан: 41,77 %) у односу на контролну групу (18-ти дан: 0 %, 19-ти дан: 16,04 %), све до дана када се бележе највеће вредности излежених јединки. У оквиру МП групе се 19-ог дана бележи највећа бројност излежених адулата (41,77 %), а у контролној групи 20-ог дана (51,89 %). Крај излегања је у обе групе истог 22-ог дана од почетка циклуса развића. Просечна вредност дужине развића јединки у оквиру контролне групе износи 20,28 дана, а у оквиру МП групе износи 19,75 дана. Једнофакторијална анализа варијансе указује да нема значајне разлике у дужини развића јединки ИФ линије Б39/1 из контролне и МП групе ($F = 3,579$, $p > 0,05$).

Табела 13. Двофакторијална анализа варијансе преживљавања јединки *D. subobscura* ИФ линије Б39/1 након излагања стадијума јаје-ларва променљивом магнетном пољу (50 Hz, 0,5 mT).

ИФ линија Б39/1	Df	MS	F
третман	1	12,800	0,367
пол	1	22,755	0,653
третман × пол	1	28,800	0,826
грешка	16	34,844	

За анализу односа излежених женки и мужјака у оквиру контролне и МП групе је коришћен Z тест. Показано је да међу женкама не постоји значајна разлика ($Z = 1,219$, $p > 0,05$) у односу излежених у оквиру контролне (53,4 %) и МП групе (49,4 %), за разлику од мужјака код којих се након излагања магнетном пољу стадијума јаје-ларва излеже значајно већи број мужјака (50,6 %) у односу на групу у контролним условима (35,7 %) ($Z = -4,545$, $p < 0,01$). Анализом односа полова у оквиру МП групе није добијена статистички значајна разлика ($Z = -0,390$, $p > 0,05$).

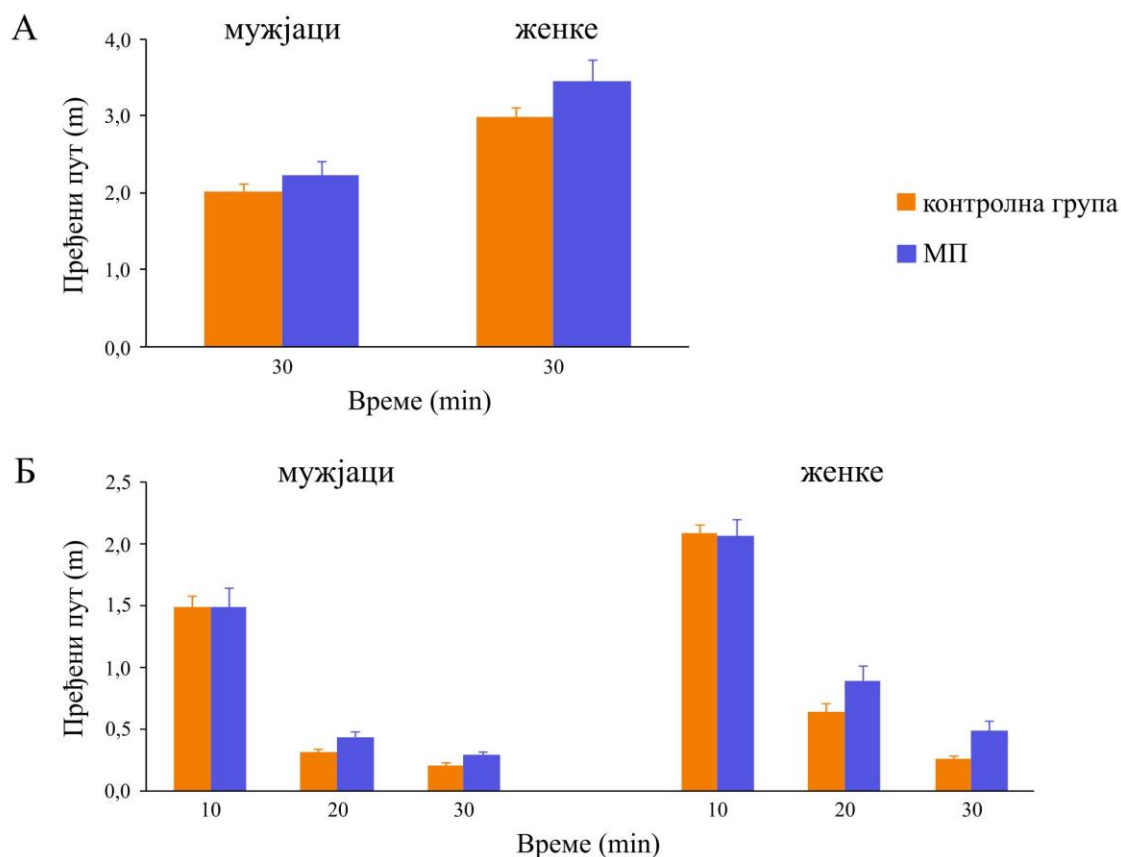
Табела 14. Kruskal-Wallis анализа варијансе параметара локомоторне активности оба пола ИФ линије Б39/1 за целокупно време праћења од 30 минута и за сва три 10-минутна интервала, након излагања адулата старости један дан променљивом магнетном пољу (50 Hz, 0,5 mT).

		$H_{(3, 120)}$	
пређени пут	укупно 30 минута	27,467	***
	први 10-мин интервал	22,107	***
	други 10-мин интервал	19,311	***
	трећи 10-мин интервал	6,107	
покретљивост	укупно 30 минута	34,334	***
	први 10-мин интервал	27,318	***
	други 10-мин интервал	28,592	***
	трећи 10-мин интервал	26,321	***
*** $p < 0,001$			

Вредности анализе локомоторне активности адулата старости три дана, непосредно након 48 сати излагања магнетном пољу, добијене Kruskal-Wallis анализом варијансе за оба параметра (пређени пут и покретљивост), приказане у Табели 14, показују да јединке које су биле излагане променљивом магнетном пољу прелазе значајно краћи пут и значајно су мање покретне у односу на јединке из контролне групе.

За разлику од претходно анализираних ИФ линија *D. subobscura* (Б16/1 и Б24/4), просечне вредности пређеног пута мужјака и женки ИФ линије Б39/1 током целокупног времена праћења локомоторне активности (30 минута), али и сваког 10-минутног интервала (Слике 26А и Б), су веће код јединки из МП групе

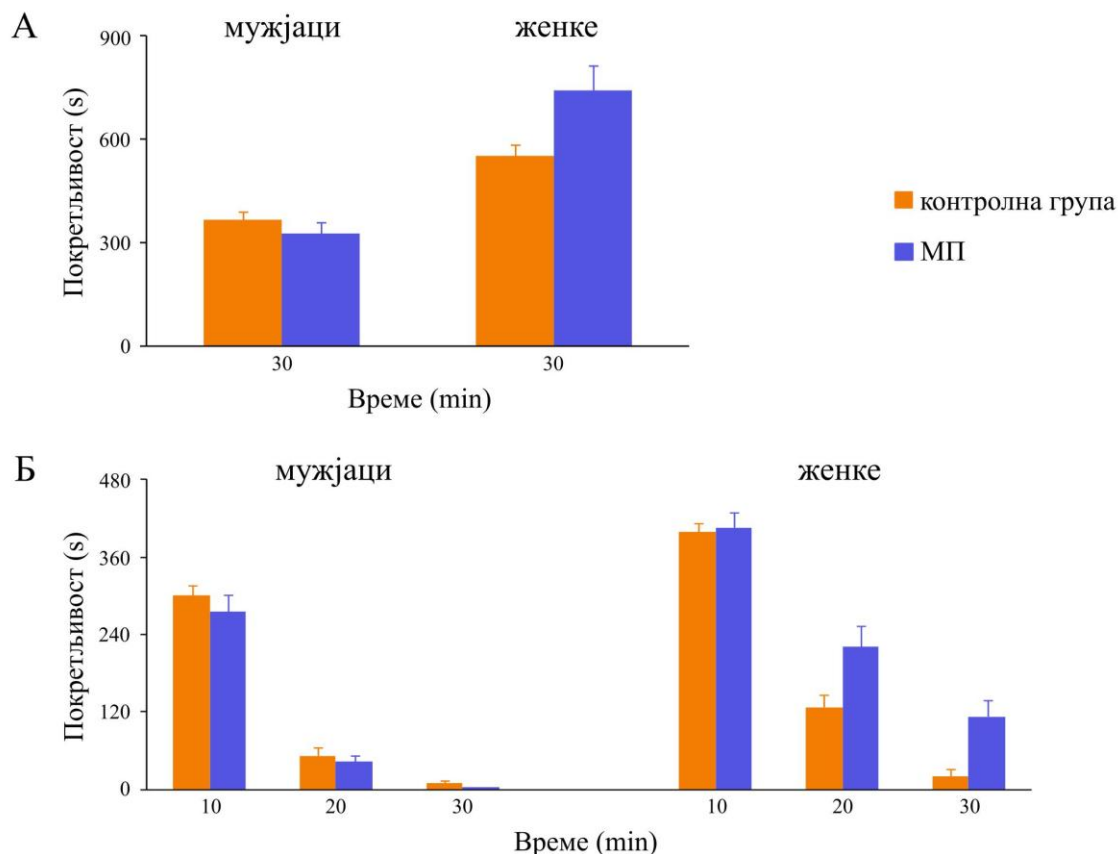
(мужјаци: 2,225 m; женке: 3,453 m) у односу на јединке из контролне групе (мужјаци: 2,022 m; женке: 2,990 m), али Mann-Whitney U-тест не показује статистичку значајност у овим разликама.



Слика 26. Пређени пут мужјака и женки *D. subobscura* ИФ линије Б39/1 старости три дана у контролним условима и након излагања адулата старости један дан променљивом магнетном пољу (50 Hz, 0,5 mT) током 30 минута праћења локомоторне активности. Резултати су представљени као средња вредност пређеног пута $\pm$ стандардна грешка ($n = 30$) током целокупног времена праћења (А), као и за 10-минутне интервале (Б).

Просечне вредности покретљивости мужјака *D. subobscura* ИФ линије Б39/1, приказане на Слици 27А и Б након излагања магнетном пољу су мање (324,3 s) у односу на вредности истог параметра код мужјака из контролне групе (364,0 s). Код женки се уочава супротна ситуација. Женке ИФ линије Б39/1 након излагања магнетном пољу показују већу покретљивост (740,9 s) у односу на женке у оквиру

контролне групе (549,3 s). Применом непараметарског Mann-Whitney U теста није детектована значајност у овим разликама.

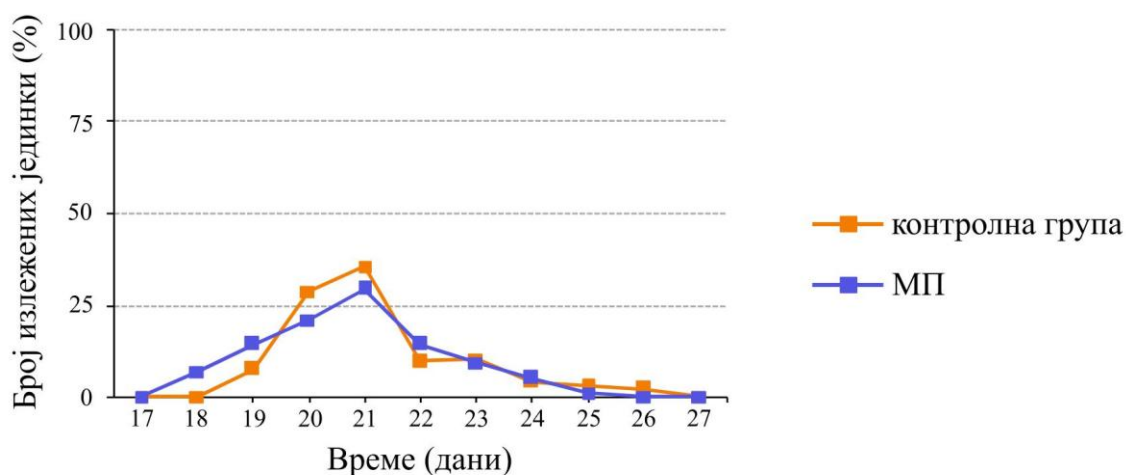


Слика 27. Покретљивост мушјака и женки *D. subobscura* ИФ линије Б39/1 старости три дана у контролним условима и након излагања адулата старости један дан променљивом магнетном пољу (50 Hz, 0,5 mT) током 30 минута праћења локомоторне активности. Резултати су представљени као средња вредност покретљивости $\pm$ стандардна грешка ($n = 30$) током целокупног времена праћења (А), као и за 10-минутне интервале (Б).

4.4.4. ИФ линија Б57/2

Анализом динамике излагања јединки *D. subobscura* ИФ линије Б57/2, која припада хаплотипу I, је уочено да се након излагања променљивом магнетном пољу (50 Hz, 0,5 mT), излагање првих адулата уочава 18-ог дана од почетка циклуса, а у оквиру контролне групе је то дан касније (19-ти дан; Слика 28).

Највећи проценат излежених јединки у оквиру контролне и МП групе је забележен 21-ог дана од почетка циклуса развића (контролна група: 35,37 %; МП: 29,17 %). Последњи излежени адулти су уочени дан раније (25-ти дан) у оквиру МП групе у односу на контролну групу (26-ти дан). Просечна дужина развића јединки у оквиру контролне групе је износила 21,20 дана, док за јединке из МП групе 20,82 дана. Једнофакторијална анализа варијансе дужине развића јединки *D. subobscura* ИФ линије Б57/2 након излагања магнетном пољу не показује статистичку значајност у дужини развића јединки из контролне и МП групе ($F = 2,611$, $p > 0,05$).



Слика 28. Динамика излегања *D. subobscura* ИФ линије Б57/2 у контролним условима и након излагања стадијума јаје-ларва променљивом магнетном пољу (50 Hz, 0,5 mT). Број излежених јединки је приказан процентуално на дневном нивоу. (број реплика $n_{\text{контролна група}}=7$; $n_{\text{МП}}=5$)

На основу добијених резултата двофакторијалне анализе варијансе (Табела 7) дужине развића јединки свих одабраних ИФ линија у контролним условима и након излагања променљивом магнетном пољу (50 Hz, 0,5 mT), уочено је да се јединке ИФ линије Б57/2 разликују од свих осталих. Наиме, у односу на остале ИФ линије, јединке ИФ линије Б57/2 имају значајно дуже време развића и излегање адулата траје значајно већи број дана ($F = 8,157$, $p < 0,001$).

Јединке ИФ линије Б57/2 након излагања магнетном пољу имају боље просечно преживљавање (32,00 %, мужјаци: 16,53 %, женке: 15,47 %) у односу на преживљавање јединки из контролне групе (28,00 %, мужјаци: 12,76 %, женке:

14,67 %). Двофакторијална анализа варијансе је показала да јединке ИФ линије Б57/2 након излагања стадијума јаје-ларва променљивом магнетном пољу (50 Hz, 0,5 mT) немају значајно боље преживљавање у односу на јединке које су боравиле у контролним условима (Табела 15).

Z тестом је утврђено да не постоји значајна разлика у односу броја излежених мужјака и женки из контролне и МП групе (мужјаци: $Z = -1,408$, $p > 0,05$; женке: $Z = 0,935$, $p > 0,05$). Анализом односа полова у оквиру МП групе, такође није добијена статистички значајна разлика ($Z = -0,730$, $p > 0,05$).

Табела 15. Двофакторијална анализа варијансе преживљавања ИФ линије *D. subobscura* Б57/2 након излагања стадијума јаје-ларва променљивом магнетном пољу (50 Hz, 0,5 mT).

ИФ линија Б57/2	Df	MS	F
третман	1	1,024	0,016
пол	1	30,476	0,472
третман $\times$ пол	1	12,876	0,199
грешка	20	64,543	

Табела 16. Kruskal-Wallis анализа варијансе параметара локомоторне активности оба пола ИФ линије Б57/2 за целокупно време праћења од 30 минута и за сва три 10-минутна интервала, након излагања адулата старости један дан променљивом магнетном пољу (50 Hz, 0,5 mT).

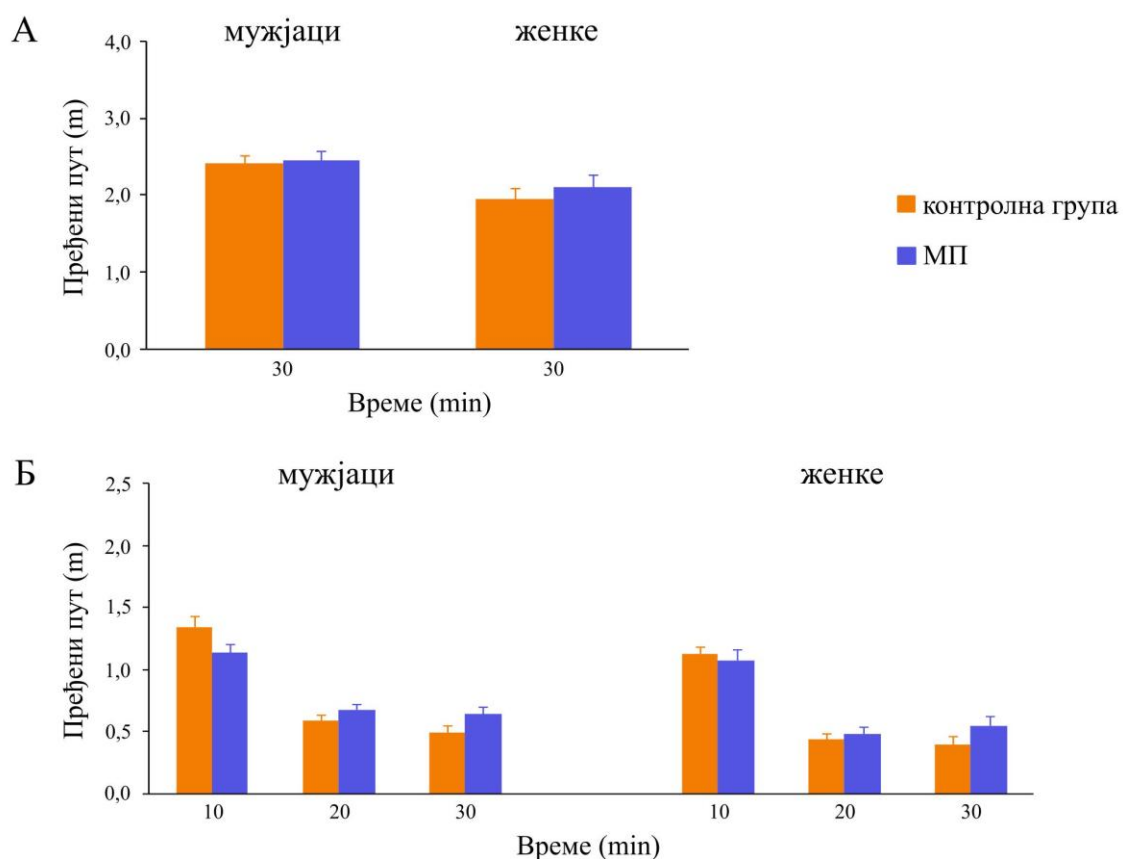
		$H_{(3, 120)}$	
пређени пут	укупно 30 минута	7,861	*
	први 10-мин интервал	6,629	**
	други 10-мин интервал	12,863	
	трећи 10-мин интервал	5,624	
покретљивост	укупно 30 минута	2,036	
	први 10-мин интервал	3,998	
	други 10-мин интервал	1,998	
	трећи 10-мин интервал	3,670	

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

Када је анализирана локомоторна активност адулата три дана старости, који су непосредно пре мерења били изложени променљивом магнетном пољу,

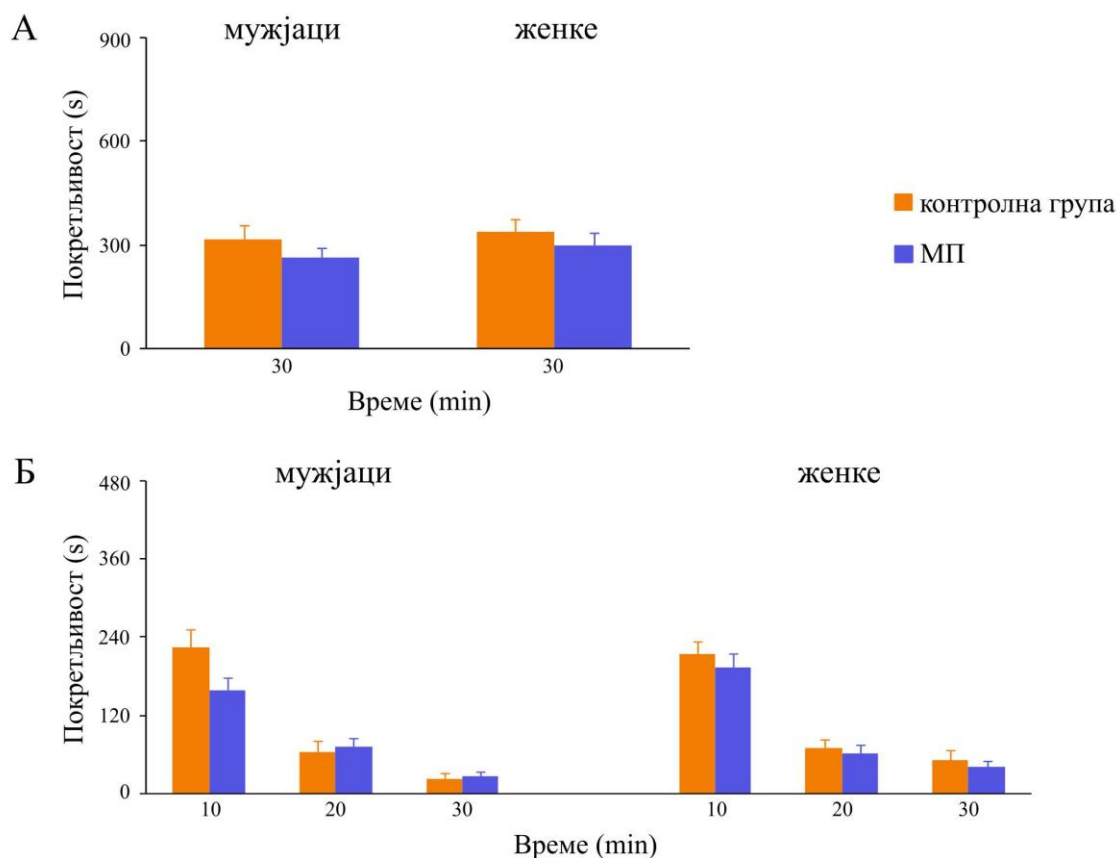
Kruskal-Wallis анализа варијансе пређеног пута и покретљивости јединки ИФ линије Б57/2 (Табела 16), показују да јединке које су биле излагане променљивом магнетном пољу (50 Hz, 0,5 mT) прелазе значајно краћи пут у односу на јединке из контролне групе.

Анализом пређеног пута, једног од параметара локомоторне активности, након излагања магнетном пољу и у контролним условима, током целокупног времена праћења од 30 минута, мужјаци и женке ИФ линије Б57/2 имају приближне просечне вредности пређеног пута (Слика 29).



Слика 29. Пређени пут мужјака и женки *D. subobscura* ИФ линије Б57/2 старости три дана у контролним условима и након излагања адулата старости један дан променљивом магнетном пољу (50 Hz, 0,5 mT) током 30 минута праћења локомоторне активности. Резултати су представљени као средња вредност пређеног пута $\pm$ стандардна грешка ($n = 30$) током целокупног времена праћења (А), као и за 10-минутне интервале (Б).

Мужјаци *D. subobscura* ИФ линије Б57/2 излагани магнетном пољу у стадијуму адулта старости један дан прелазе просечно дужи пут (2,447 m) у односу на мужјаке у оквиру контролне групе (2,421 m). Такође, женке излагане магнетном пољу прелазе просечно дужи пут (2,102 m) у односу на женке у оквиру контролне групе (1,959 m). Након целокупног времена праћења локомоторне активности, просечне вредности покретљивости мужјака и женки линије Б57/2 (Слика 30) у оквиру МП групе су ниже (мужјаци: 260,5 s; женке: 299,0 s) у односу на вредности покретљивости мужјака и женки у оквиру контролне групе (мужјаци: 314,7 s; женке: 336,9 s).

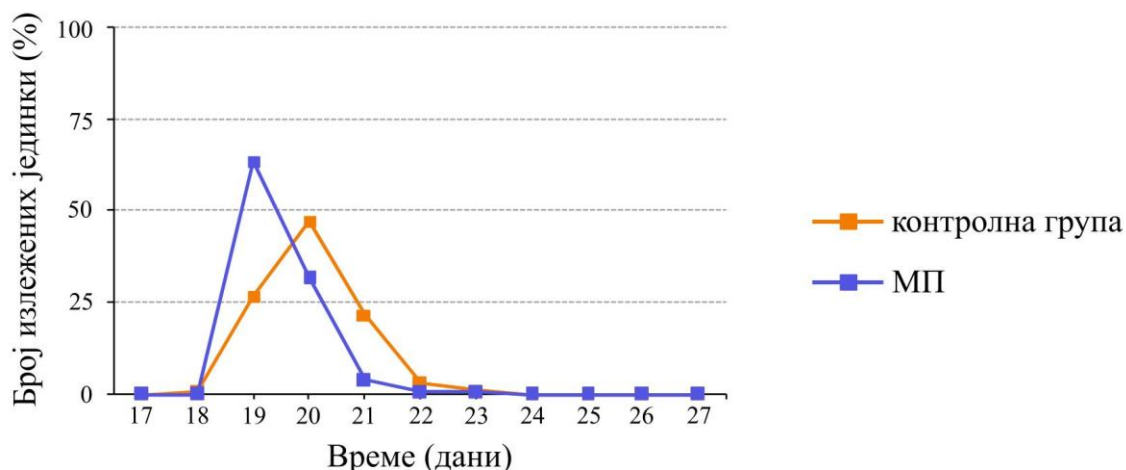


Слика 30. Покретљивост мужјака и женки *D. subobscura* ИФ линије Б57/2 старости три дана у контролним условима и након излагања адулата старости један дан променљивом магнетном пољу (50 Hz, 0,5 mT) током 30 минута праћења локомоторне активности. Резултати су представљени као средња вредност покретљивости $\pm$ стандардна грешка ($n = 30$) током целокупног времена праћења (А), као и за 10-минутне интервале (Б).

Непараметарски Mann-Whitney U тест није показао значајну разлику у просечним вредностима пређеног пута и покретљивости мужјака и женки ИФ линије Б57/2 након укупног времена праћења локомоторне активности (Слика 29А и 30А), као и након три 10-минутна интервала (Слика 29Б и 30Б), између јединки контролне и МП групе.

4.4.5. ИФ линија Б69/5

Анализом динамике излегања јединки ИФ линије Б69/5, која припада хаплотипу I, уочено је да излегање адулата у оквиру контролне и МП групе (50 Hz, 0,5 mT) почиње 19-ог дана од почетка циклуса развића (Слика 31).



Слика 31. Динамика излегања *D. subobscura* ИФ линије Б69/5 у контролним условима и након излагања стадијума јаје-ларва променљивом магнетном пољу (50 Hz, 0,5 mT). Број излежених јединки је приказан процентуално на дневном нивоу. (број реплика $n_{\text{контролна група}}=5$; $n_{\text{МП}}=5$)

У оквиру МП групе излегање адулата ИФ линије Б69/5 почиње 19-ог дана, када се уочава и највећи проценат излежених адулата (63,39 %). У оквиру контролне групе, излегање адулата почиње дан раније (18-ти дан), а највећи проценат излежених адулата је дан касније у односу на МП групу (20-ти дан) и износи 47,09 %. Излегање адулата се завршава 22-ог дана, како у МП, тако и у контролној групи. Просечна дужина развића јединки из контролне групе износи 20,03 дана, док је за јединке из МП групе та вредност 19,43 дана. Једнофакторијална анализа варијансе дужине развића јединки ИФ линије Б69/5

показује статистички значајну разлику у дужини развића јединки из контролне и МП групе ($F = 9,208$, $p < 0,05$). Наиме, јединке из МП групе имају значајно краћу дужину развића.

У погледу просечног преживљавања јединки ИФ линије Б69/5 уочава се приближно слично преживљавање јединки из контролне (45,87 %, мужјаци: 22,93 %, женке: 23,20 %) и МП групе (45,84 %, мужјаци: 23,82 %, женке: 22,02 %). Двофакторијална анализа варијансе преживљавања потврђује да између мужјака и женки из контролне и МП групе не постоји статистички значајна разлика (Табела 17).

Табела 17. Двофакторијална анализа варијансе преживљавања јединки ИФ линије *D. subobscura* Б69/5 након излагања стадијума јаје-ларва променљивом магнетном пољу (50 Hz, 0,5 mT).

ИФ линија Б69/5	Df	MS	F
третман	1	3,381	0,058
пол	1	0,277	0,005
третман × пол	1	6,059	0,105
грешка	18	54,840	

Z тестом је показано да међу излеженим мужјацима и женама из контролне и МП групе не постоји значајна разлика (мужјаци: $Z = -0,538$, $p > 0,05$; женке: $Z = 0,697$, $p > 0,05$). Анализом односа полова у оквиру МП групе није добијена статистички значајна разлика ($Z = -1,120$, $p > 0,05$).

Анализом параметара локомоторне активности адулата старости три дана, који су у стадијуму адулата старости један дан били излагани променљивом магнетном пољу, Kruskal-Wallis анализа варијансе пређеног пута и покретљивости јединки ИФ линије Б69/5 (Табела 18) показује да јединке које су биле излагане променљивом магнетном пољу (50 Hz, 0,5 mT) прелазе значајно краћи пут и значајно су покретљивије у односу на јединке из контролне групе у првом и трећем 10-минутном интервалу.

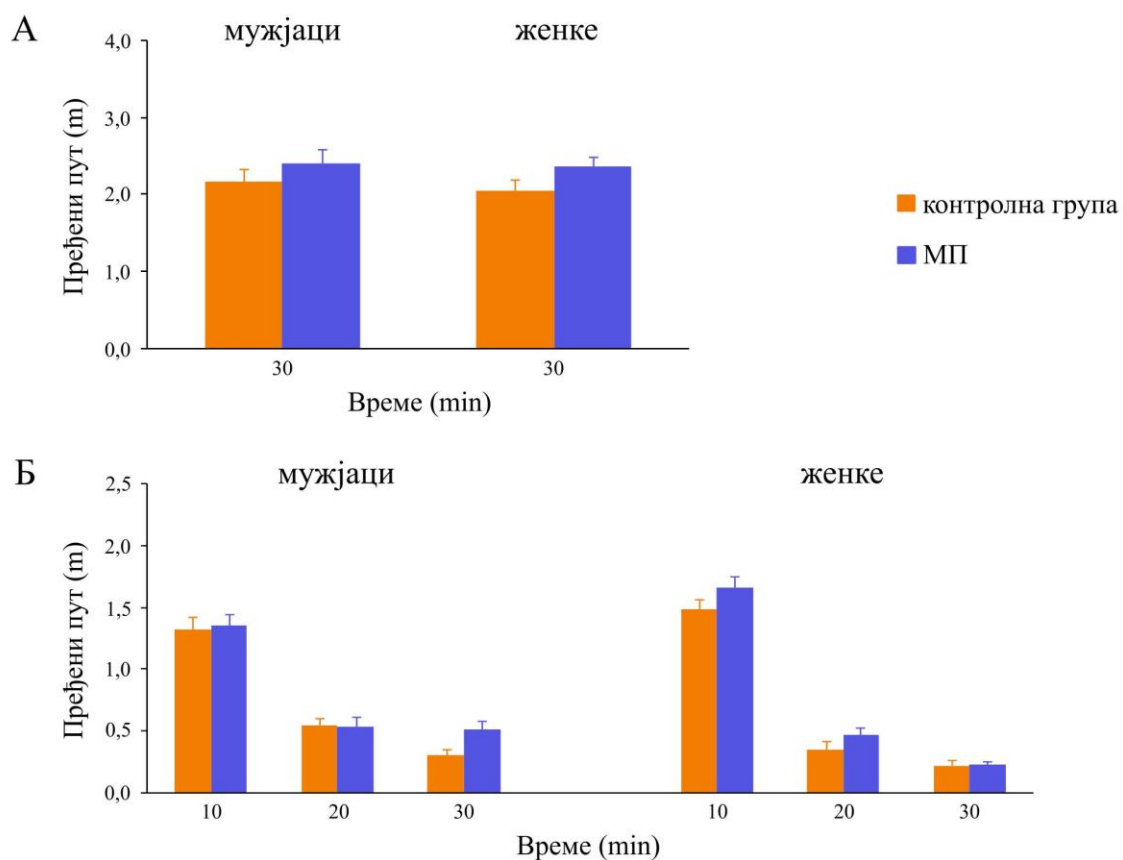
Табела 18. Kruskal-Wallis анализа варијансе параметара локомоторне активности оба пола ИФ линије Б69/5 за целокупно време праћења од 30 минута и за сва три 10-минутна интервала, након излагања адулата старости један дан променљивом магнетном пољу (50 Hz, 0,5 mT).

		$H_{(3, 120)}$	
пређени пут	укупно 30 минута	2,886	
	први 10-мин интервал	8,749	*
	други 10-мин интервал	8,220	*
	трећи 10-мин интервал	11,821	**
покретљивост	укупно 30 минута	1,049	
	први 10-мин интервал	13,700	**
	други 10-мин интервал	6,179	
	трећи 10-мин интервал	10,378	*

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

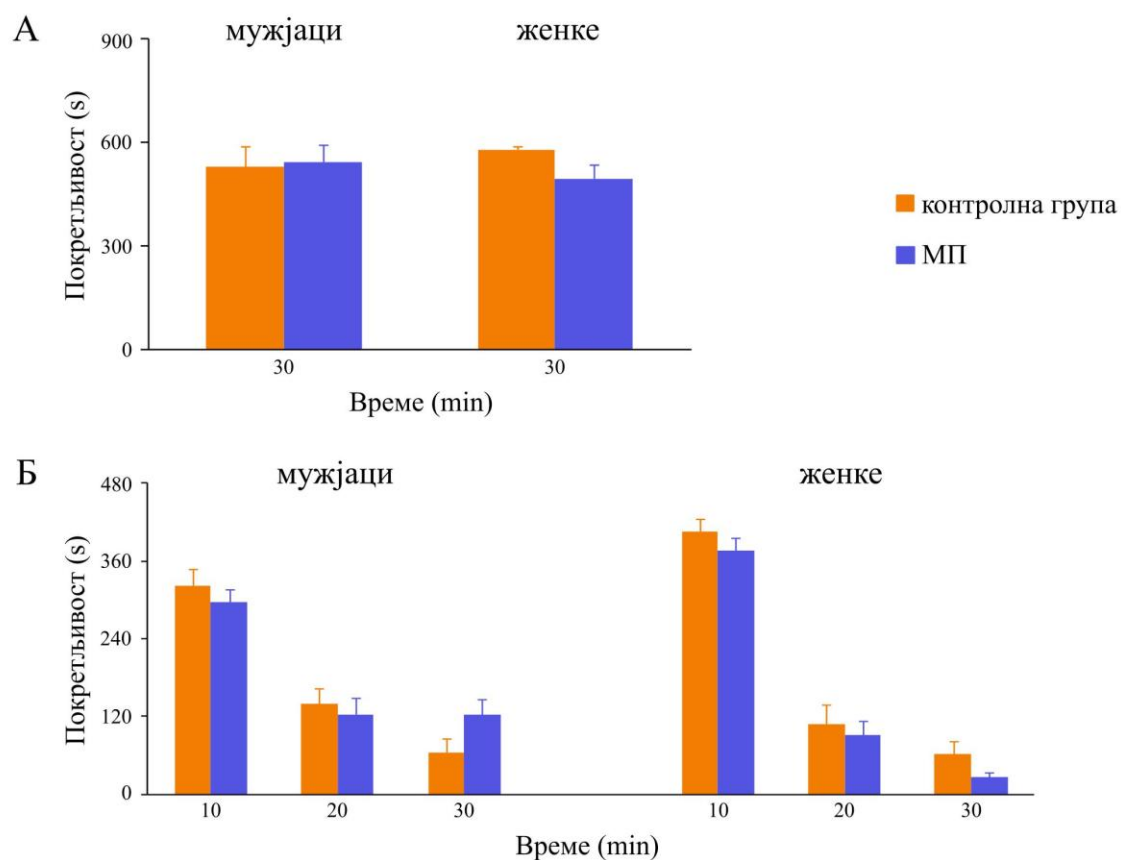
Анализом локомоторне активности мужјака и женки ИФ линије Б69/5, након излагања магнетном пољу (50 Hz, 0,5 mT) након целокупног времена праћења од 30 минута, оба пола ИФ линије Б69/5 имају веће просечне вредности пређеног пута у односу на мужјаке и женке из контролне групе (Слика 32). Наиме, мужјаци који су излагани магнетном пољу у стадијуму адулта старости један дан прелазе просечно дужи пут (2,402 m) у односу на мужјаке у оквиру контролне групе (2,169 m). Такође, женке излагане магнетном пољу у стадијуму адулта старости један дан прелазе просечно дужи пут (2,362 m) у односу на женке у оквиру контролне групе (2,063 m).

Применом непараметарског Mann-Whitney U теста је потврђено да не постоји значајна разлика у пређеном путу мужјака и женки између контролне и МП групе након целокупног времена праћења локомоторне активности од 30 минута (Слика 32А), као ни након сваког 10-минутног интервала (Слика 32Б). Након целокупног времена праћења од 30 минута (Слика 31А), мужјаци ИФ линије Б69/5 који су излагани магнетном пољу имају приближно исту просечну покретљивост (543,7 s) у односу на мужјаке из контролне групе (528,0 s), док женке након излагања магнетном пољу имају ниже просечне вредности покретљивости (495,7 s) у односу на женке у оквиру контролне групе (578,2 s).



Слика 32. Пређени пут мужјака и женки *D. subobscura* ИФ линије Б69/5 старости три дана у контролним условима и након излагања адулата старости један дан променљивом магнетном пољу (50 Hz, 0,5 mT) током 30 минута праћења локомоторне активности. Резултати су представљени као средња вредност пређеног пута $\pm$ стандардна грешка ($n = 30$) током целокупног времена праћења (А), као и за 10-минутне интервале (Б).

Непараметарски Mann-Whitney U тест анализе покретљивости између мужјака и женки контролне и МП групе ИФ линије Б69/5 је показао да не постоји значајна разлика у овом параметру након целокупног времена праћења локомоторне активности од 30 минута (Слика 33А), као и након сваког 10-минутног интервала (Слика 33Б).



Слика 33. Покретљивост мужјака и женки *D. subobscura* ИФ линије Б69/5 старости три дана у контролним условима и након излагања адулата старости један дан променљивом магнетном пољу (50 Hz, 0,5 mT) током 30 минута праћења локомоторне активности. Резултати су представљени као средња вредност покретљивости $\pm$ стандардна грешка ($n = 30$) током целокупног времена праћења (А), као и за 10-минутне интервале (Б).

5. ДИСКУСИЈА

У времену у коме живимо, уз свакодневну употребу различитих апарата који око себе стварају ЕНФ магнетна поља, од великог значаја су студије које испитују њихов утицај на различитим биолошким моделима и различитим нивоима организације, покушавајући да покажу могуће дејство зависно од дужине излагања и јачине самог поља, као и да утврде нивое и механизме деловања. Почети истраживања у овој области датирају још из 80-тих година 20-ог века и то на различитим модел системима, нивоима организације и у најразличитије сврхе (Adey, 1981; Gould, 1984; Cain и сар., 1987; Frankel и Blakemore, 1989).

Магнеторецепција представља способност многих биолошких система да детектују магнетно поље и да се, у присуству истог оријентишу у простору. На основу ове способности се, преко детекције геомагнетног поља, објашњавају навигационе способности неких животињских врста. Развијене су две теорије које разматрају механизме магнеторецепције код копнених организама (Lohmann и Johnsen, 2000; Mouritsen и Ritz, 2005; Wiltschko и Wiltschko, 2005; Phillips и сар., 2010a). Један механизам открива супермагнетне кристале биогених магнетита (Kobayashi и Kirschvink, 1995; Wu и Dickman, 2011, 2012). Механичким силама долази до промене положаја ових честица што може утицати на пропустљивост јонских канала и самим тим мембрански потенцијал (Binhi, 2006; Winklhofer и Kirschvink, 2010). Други механизам магнеторецепције је базиран на светлосно зависном процесу, који укључује посебну класу фотопигмената (Ritz и сар., 2000, 2004, 2009; Rodgers и Hore, 2009; Phillips и сар., 2010b; Solovyov и сар., 2011). На овај начин долази до промене у одговору фоторецептора на светлост, што за последицу има перцепцију магнетног поља као „визуелни“ образац интензитета светлости или обојености околине (Ritz и сар., 2000, 2010; Phillips и сар., 2010b). У случају магнеторецепције код инсеката постоји подељеност мишљења у вези са постављеним теоријама. Kirschvink (1981) и Wiltschko и Wiltschko (1995) подржавају прву теорију базирану на магнетитима, док Phillips и Sayeed (1993) и Vácha и сар. (2008) подржавају другу теорију. У студијама Gegear и сар. (2008,

2010) је на адултним мужјацима *Drosophila* потврђен други механизам, базиран на главној улози фотопигмената и светлосно зависног процеса.

Познато је да се организми служе сензорним системом како би на најадекватнији начин одговорили и адаптирали се на промене у средини у којој се развијају и живе (Mayr, 1974; Seligman, 1970; Domjan, 2005). Сензорни систем је повезан са системима регулације метаболизма и моторног понашања (Niven и сар., 2003; Sheiman и Kreshchenko, 2009, 2010; Todorović и сар., 2013) и може утицати на компоненте адаптивне вредности. Имајући у виду да локомоторна активност представља важну компоненту адаптивне вредности (Gilchrist и сар., 1997), циљ ове докторске дисертације је био да испита утицај променљивог магнетног поља (50 Hz, 0,5 mT) на локомоторну активност *D. subobscura*, које су излагане овом пољу у стадијуму развића јаје-први ступањ ларве и адулта старости један дан. Такође је испитиван и утицај магнетног поља истих карактеристика на дужину развића, преживљавање и однос полова *D. subobscura*. Врста *D. subobscura* је одабрана због недостатка студија које се баве утицајима ЕНФ магнетних поља на овом модел организму, док је са друге стране, за овај организам добро познат хромозомски полиморфизам повезан са променљивим срединским факторима. Одабрана вредност магнетне индукције од 0,5 mT је у оквиру граница сигурности за срединска излагања (1000 μ T) препоручених од стране Међународне комисије за заштиту од нејонизујућег зрачења (ICNIRP - International Commission on Non-Ionizing Radiation Protection) и такође је веома често коришћена у студијама које се баве испитивањима утицаја ЕНФ магнетног поља на еволутивно удаљене врсте (Janać и сар. 2005, 2009; Nikolić и сар. 2012; Rauš и сар. 2012, 2013).

Промене током дневно-ноћног циклуса у генској експресији, биохемијским реакцијама, физиологији и понашању су нађене код еукариота и неких цијанобактерија (Ditty и сар., 2003; Delezie и Challet, 2011; Konopka и Benzer, 1972; Vitaterna и сар., 1994). Циркадијални ритам јесте ендеген, али се може ресетовати спољашњим факторима, од којих је светлост један од најважнијих (Hirota и Fukada, 2004; Dubruille и Emery, 2008). Када је организам изложен светлу, долази до повећане експресије гена који су са својим промоторима повезани преко протеина фактора генске транскрипције одговорних за

синхронизацију циркадијалног сата. Постојањем овог светлосно зависног механизма омогућена је боља одвојеност активних периода јединки *Drosophila* током свитања и сумрака, што им може помоћи да се адаптирају сезонским променама дужине дана (Picot и сар., 2007). Zhang и сар. (2010) су открили нове механизме који интегришу светлосне и температурне утицаје у контроли локомоторног ритма и који може допринети бољој пластичности циркадијалног понашања.

Познато је да врсте из рода *Drosophila* имају два дневна пика у локомоторној активности, јутарњи, око периода свитања, и вечерњи, око периода сумрака (Stoleru и сар., 2005; Lear и сар., 2009). Мозак адулата се састоји од два физички одвојена, али функционално повезана неуронска сата који контролишу ова понашања (Helfrich-Förster, 2005; Umezaki и Tomioka, 2008). Студија Stoleru и сар. (2004) је показала да су неурони у вентралном латералном делу мозга одговорни за контролу јутарње локомоторне активности. С друге стране, неурони у дорзалном латералном делу мозга имају улогу у контроли вечерње локомоторне активности. Резултати из наше студије (Dimitrijević и сар., 2013) указују на различите профиле спонтане локомоторне активности у преподневним сатима. Наиме, најмање смањење локомоторне активности током периода праћења је забележено у преподневном временском интервалу од 8 до 9 сати. На основу ових резултата можемо претпоставити да уочена карактеристика у јутарњој активности може бити приписана дневној варијацији неуронских активности у делу мозга одговорног за ову контролу. Такође, преподневни временски интервал од 8 до 9 сати се може разматрати као период највеће активности неурона укључених у контролу експлораторног, тј. истраживачког понашања и локомоторне активности. Због свега наведеног, управо у овом преподневном временском периоду је анализиран локомоторни одговор јединки *D. subobscura* на примењено променљиво магнетно поље (50 Hz, 0,5 mT).

Локомоторна активност, као добар индикатор комплетног физиолошког и биохемијског стања организма (Fleury и сар., 2000; Gibert и сар., 2001) се најчешће анализира *open field* тестом. Овај тест се најчешће примењује у контролисаним условима и након генетичких или фармаколошких манипулација (Нау, 1980; Liu и сар., 2007; Valente и сар., 2007) и веома је користан за анализу експлораторног

понашања, као и других профила понашања различитих организама, укључујући *Drosophila*.

Добијени резултати показују да променљиво магнетно поље (50 Hz, 0,5 mT) смањује локомоторну активност адулата *D. subobscura*. Уочено је да адулти *D. subobscura* из групе која је била излагана магнетном пољу прелазе знатно краћи пут и знатно су мање покретни у односу на адулте из контролних група. Познато је да *D. melanogaster* одговара на нове услове средине са повећаном иницијалном активношћу, која потом опада до веома слабе активности (Connolly, 1966; Meehan и Wilson, 1987; Kliethermes, 2013; De и сар., 2013). У овој студији су показани карактеристични профили спонтане локомоторне активности у *open field* арени. Наиме, параметри који описују локомоторну активност су највиших вредности у првих пет до десет минута праћења. Након овог временског периода, локомоторна активност брзо опада у наредних десет минута и потом се одржава на тој вредности до краја времена праћења. Liu и сар. (2007) су ову почетну повећану активност објаснили преко експлорације, тј. истраживања нове средине. У студији ових аутора је указано на важну улогу *kurtz nonvisual arrestin* у нервном систему у овој иницијалној фази. Иначе, *krz* ген кодира јединствени *nonvisual arrestin* код *Drosophila* (Roman и сар., 2000), који представља групу протеина круцијалних у регулацији многих сигналних путева, пре свега активности различитих фамилија рецептора ћелијске мембране (Lefkowitz и Whalen, 2004). Иницијална активност јединки *Drosophila* је у линеарној корелацији са периферијом кружне арене, па мутације у *kurtz* гену имају за последицу специфично ниску иницијалну активност (Liu и сар., 2007). Недостатаком визуелне способности код *Drosophila* се јавља значајно смањење иницијалне активности. Ова појава указује на значај и неопходност визуелне информације да би се повишена иницијална активност брзо смањила до спонтане активности унутар нове арене (Liu и сар., 2007). У каснијим фазама локомоторне активности у *open field* арени, допамин има главну улогу (Bainton и сар., 2000; Friggi-Grelin и сар., 2003). Добијени резултати у овој студији показују да након излагања променљивом магнетном пољу (50 Hz, 0,5 mT) средње вредности пређеног пута и покретљивости адулата *D. subobscura* су значајно мање. Током праћења локомоторне активности адулата *D. subobscura* у овој студији, примена променљивог магнетног поља показује краткотрајан (у првих 10

минута) или дуготрајан (током целокупних 30 минута) утицај, који зависи од стадијума развића који је излаган магнетном пољу. Може се претпоставити да излагање стадијума јаје-ларва *D. subobscura* променљивом магнетном пољу (50 Hz, 0,5 mT) највише има утицај на процесе који су у основи истраживачке активности (експлорације), док излагање адулата *D. subobscura* променљивом магнетном пољу (50 Hz, 0,5 mT) има утицај како на експлорацију, тако и на активност посредовану допамином.

Важно је истаћи зависност локомоторне активности од стадијума развића у ком је примењено магнетно поље. Када је магнетно поље примењено у стадијуму развића јаје-први ступањ ларве, само у првих 10 минута праћења значајно краћи пут прелазе адулти из МП групе у поређењу са адултима из контролне групе. Када је примењено магнетно поље у стадијуму адулта старости један дан, током целокупног времена праћења локомоторне активности (30 мин) адулти из МП групе прелазе значајно краћи пут у односу на адулте из контролне групе. У првих 48 сати развића јединки из рода *Drosophila* одвијају се многи процеси укључени у развој оплођених јаја (Poulson, 1950), али најважнији за ову студију су диференцијација централног и периферног нервног система, настанак главеног региона и биосинтеза серотонина (Foe, 1998; Colas, 1999). Мали неуротрансмитерски молекули, као што је серотонин, имају важну улогу у модулацији сигнала неуралног развоја (Gaspar и сар., 2003). Током периода развоја првог стадијума ларви, развој нервног система се наставља и мозак има способност да пролиферише, диференцира се и реорганизује. Имајући у виду да је магнетно поље примењено у периоду развоја мозга, када почиње активација серотонинских рецептора, касније смањење локомоторне активности, код јединки које су биле излагане магнетном пољу у стадијуму јаје-ларва, се може повезати са могућим утицајем магнетног поља управо на серотонергичку трансмисију у мозгу (Leonardo и Нен, 2006). Добро је познато да серотонин има улогу у одговору на стимулусе из спољашње средине (Неум и сар., 1982; Waterhouse и сар., 2004) и да су серотонергички неурони осетљиви на промене у активацији понашања (Jacobs и Fornal, 1999; Portas и сар., 2000; Abrams и сар., 2004; Grahn и сар., 1999). Све ове промене могу трајати краће или дуже и интензитет ће бити специфичан од региона мозга који је захваћен (Inoue и сар., 1994; Pum и сар., 2008). Тако, можемо

претпоставити да промењена локомоторна активност адулата може бити последица утицаја примењеног магнетног поља на серотонергичку трансмисију. Такође, добијени резултати могу указати да је стадијум развића јаје-ларва веома сензитиван на променљиво магнетно поље, обзиром да се промене експримирају у стадијуму адулта.

На велики значај стадијума развића јединке у коме иста трпи примену одређеног стресогеног фактора, показале су многе студије које су се бавиле утицајима различитих срединских фактора на биолошке системе (Mayer и Baker, 1984; Tsutsayeva и Sevryukova, 2001; Jensen и сар., 2007). Неки од тих срединских фактора могу утицати различито на различите стадијуме развића, што даље може довести до тога да ће настале адаптације на одређене срединске факторе бити специфичне зависно од стадијума живота јединке изложене стресу (Krebs и Loeschcke, 1994, 1996). Већ је у студији Prasad (1995) показано да су пролиферишуће и мање диференциране ћелије осетљивије на електромагнетна зрачења, у односу на непролиферишуће и диференцираније ћелије. Из свега наведеног се закључује да утицај променљивог магнетног поља (50 Hz, 0,5 mT) на локомоторну активност може бити са краткорочним или дугорочним ефектом, зависно у ком стадијуму развића је примењено.

Након излагања магнетном пољу значајно се мењају и неке од компоненти адаптивне вредности *D. subobscura*. Наиме, примена променљивог магнетног поља (50 Hz, 0,5 mT) у фази развића оплођених јаја и првог стадијума ларви *D. subobscura*, скраћује време потребно за комплетно развиће адулата и повећава преживљавање јединки, али не утиче на однос излежених мужјака и женки. У студији Mirabolghasemi и Azarnia (2002), која се бавила утицајем променљивих магнетних поља на компоненте адаптивне вредности *Drosophila melanogaster*, показана је позитивна корелација броја абнормалних јединки са излагањем ЕНФ магнетним пољем (50 Hz, 11 mT), без значајних разлика у односу полова и стопи морталитета. Graham и сар. (2000) су применом ЕНФ магнетног поља (60 Hz, од 1,5 до 80 μ T) уочили значајно смањење у тежини *D. melanogaster* и већу стабилност у развићу у поређењу са јединкама из контролне групе.

Имајући у виду да су примећене различите последице примене променљивог магнетног поља (50 Hz, 0,5 mT), претпоставка је да су различите структурне јединице или системи подложни утицајима примењеног магнетног поља. Органски системи, као што су нервни и хормонски систем, али и неке друге физиолошке функције могу бити промењене под овим утицајем, што може довести до ефеката на различитим нивоима организације. Такође, могуће је да су уочене промене последица утицаја на неке ниже молекуларне структуре. На том нивоу, од великог значаја су *heat-shock* протеини, група протеина који утичу на прогресију ћелијског циклуса и имају функцију шаперона за новосинтетисане протеине. Показано је да је њихова експресија повећана када су ћелије изложене променама температуре или неком другом стресу (De Maio, 1999). Након излагања ЕНФ магнетном пољу стимулисане су транскрипција и синтеза ових протеина (Goodman и Blank, 1998; Mannerling и сар., 2010; Mariucci et al., 2010). Такође, познато је да краткорочно излагање ЕНФ магнетном пољу узрокује оксидативни стрес, повећавајући концентрацију реактивних кисеоничних врста и мењајући антиоксидативни ниво, као и то да се вероватно активирају анти-инфламаторни процеси смањивањем нивоа про-инфламаторних и повећавањем нивоа анти-инфламаторних цитокина (Frahm и сар., 2010; Garip и Akan, 2010; Mattsson и Simkó, 2012).

За значајно смањење локомоторне активности адулата *Drosophila* након излагања магнетном пољу (50 Hz, 0,5 mT) могу бити одговорне промене на нивоу неуротрансмитера серотонина, октопамина и гама-аминобутирне киселине. Ови неуротрансмитери имају улогу у регулацији локомоторне активности *Drosophila*, те њихова смањена синтеза и нивои доводе до смањења локомоторне активности или потпуне инактивности (Lundell и Hirsch, 1998; O'Dell и Burnet, 1988; Leal и Neckameyer, 2002). Поред поменутих неуротрансмитера, допамин је такође од велике важности за регулацију локомоторне активности *Drosophila* (Connolly, 1966, 1971). Фармаколошки повећан ниво допамина код високо активних линија је повезан са смањеном локомоторном активношћу, али не и код контролних линија, показујући важност утицаја интеракције генотипа и средине (Connolly и сар., 1971; Kume и сар., 2005; Lima и Miesenbock, 2005). Тирозиназа 1 (*tyr1*) мутанти, који имају редукован ниво допамина, показују повишен ниво спонтане

локомоторне активности (Burnell и Daly, 1982; Meehan и Wilson, 1987; Friggi-Grelín и сар., 2003). Pendleton и сар. (2002) су показали да су мутације у локусу *pale* повезане са смањеном локомоцијом и да се тај ефекат може ублажити аплицирањем L-3,4-дихидроксифенилаланина. Све ове реакције могу даље за последицу имати и промене које се детектују на вишим ступњевима организације.

Неуралне структуре, печуркаста тела и компоненте централног комплекса су такође задужене за контролу локомоторног понашања *Drosophila*. Наиме, централни комплекс је неопходан за одржавање активности хода, док се печуркаста тела понашају као инхибитори локомоције (Martin и сар., 1999; Strauss, 2002). Различите мутације у овим структурама доводе до промена које могу повећати (Martin и сар., 1998) или смањити (Strauss, 2002; Strauss и сар., 1992; Martin и сар., 1999; Wan и сар., 2000; Callaerts и сар., 2001; Pielage и сар., 2002) локомоторну активност. Имајући у виду улогу поменутих структура, објашњење добијених резултата ове студије, да променљиво магнетно поље смањује локомоторну активност адулата *D. subobscura*, можда лежи у утицају променљивог магнетног поља на нивоу ових структура. Могуће је да се применом магнетног поља јавља повећана активност печуркастих тела или можда смањена активност централног комплекса.

Одговор организма на један или више срединских фактора ће такође зависити и од генетичке структуре биолошког система. Засебно проучавањем одговор у локомоторној активности и компонената адаптивне вредности ИФ линија на примењено променљиво магнетно поље (50 Hz, 0,5 mT) потврђују значај утицаја средине на одређени генотип (Connolly и сар., 1971, Bijlsma и сар., 1997, 2000, Bijlsma и Loeschcke, 2005). Код анализираних одабраних ИФ линија, које су на исти начин одржаване, добијен је различит одговор на примењено магнетно поље. Статистички значајно краћа дужина развића је уочена код јединки ИФ линије Б69/5, а значајну разлику за исти параметар у поређењу са свим осталим ИФ линијама су показале јединке ИФ линије Б57/2, које имају најдуже развиће. Обе ове линије припадају најучесталијем хаплотипу I. У погледу анализе параметара локомоторне активности, јединке ове две ИФ линије нису показале значајну разлику у одговору на примењено магнетно поље. Међутим, код јединки ИФ линије Б24/4, која припада другом најучесталијем хаплотипу II, и код јединки

ИФ линије B16/1, која припада ретком хаплотипу III, уочена је значајна промена у пређеном путу и покретљивости након примене магнетног поља. Обзиром да су ИФ линије током генерација укрштане у сродству брат-сестра и у контролисаним лабораторијским условима, уочене промене се могу приписати могућим разликама у генетичкој позадини јединки. Претходним анализама инверзионог полиморфизма ове врсте, показано је да популације имају различите фреквенце неких генских аранжмана (Andjelković и сар., 2003; Stamenković-Radak и сар., 2008; Jelić и сар., 2009). Различити генски аранжмани могу носити различите алеле специфичних генских локуса, који су различито заступљени у разноврсним срединским условима. Даље, те различите комбинације алела могу бити у вези са генским локусима одговорним за исто тако различите физиолошке и биохемијске одговоре. Из свега наведеног би се могло претпоставити да ове јединке, које су укрштане у сродству брат-сестра током пет генерација поседују неку хомозиготну комбинацију и/или неке коадаптивне комплексе, који могу бити од значаја за адаптацију у различитим срединама.

Анализом параметара локомоторне активности адулата, у одговору на примењено магнетно поље, такође је уочена и разлика у одговору између мужјака и женки. Већ је познато да мужјаци и женке у контролисаним условима имају различиту локомоторну активност (Helfrich-Forster, 2005; Shaw и сар., 2000). У овим студијама је показано да у оптималним лабораторијским условима (12 сати: 12 сати = светлост : мрак) мужјаци имају највишу активност око периода када треба да се укључи или искључи светло. Са друге стране, женке, како невинне, тако и оплођене, показују највишу активност један сат након што се укључи светло и остају активне дуже од мужјака. Током дана локомоторна активност невинних женки је сличнија мужјацима у поређењу са евидентно другачијом локомоторном активношћу оплођених женки. Постоји део мозга који је задужен за контролу ових промена и који је и мапиран (Belgacem и Martin, 2002). Неурони централног неуроендокриног система у оквиру дела *pars intercerebralis* су задужени за разлику у локомоторној активности између мужјака и женки. У оквиру ИФ линија код којих постоји значајно краћи пређени пут и значајно мања покретљивост адулата излаганих магнетном пољу, код мужјака се ова разлика уочава током првих десет минута праћења локомоторне активности, за разлику од женки код

којих је ова разлика уочена током целокупног периода праћења локомоторне активности. Ово може указати на различите механизме деловања магнетног поља, на нивоу различитих структура код мужјака и женки. Наиме, у случају мужјака је очигледно да је ефекат експримиран на нивоу иницијалне (експлораторне) активности, а у случају женки су укључени и механизми који поред ових регулишу и касније фазе активности јединки у *open field* арени.

Тип хабитата, природне средине у којој организми живе, или физичка средина која окружује популацију, је од велике важности за различите типове активности организама. Примена променљивог магнетног поља у нашој студији и уочене промене на разматраним параметрима, свакако омогућава да променљиво магнетно поље сматрамо стресогеним фактором. Познате су студије које су испитивале утицај ЕНФ магнетних поља на хумани материјал (Goodman и сар., 1989; Lange и сар., 2002). Међутим, бројније су студије које утицај ЕНФ магнетних поља истражују на различитим модел системима који имају сличности са човеком у метаболичким путевима, присуству конзервативних гена и пружају могућност екстраполације добијених резултата на хуману популацију (ревијски радови: Mattsson и Simkó, 2012; Schütz, 2011). Ранијих година су урађене важне студије испитивања осетљивости инсеката и сисара на различите типове електромагнетних зрачења (Koval и сар., 1977, 1979; Koval и Kazmar, 1988). Добијено је да је осетљивост на електромагнетна поља већа код инсеката у поређењу са сисарима. На основу утврђеног могуће је утицај електромагнетних поља регистрован на инсектима, у некој мери екстраполирати на хуману популацију.

6. ЗАКЉУЧЦИ

Како је научни циљ ове докторске дисертације био процена степена одговора јединки ИФ линија врсте *D. subobscura* на променљиво магнетно поље (50 Hz, 0,5 mT, 48 сати), на основу свих добијених резултата могу се извући следећи закључци:

- ❖ Променљиво магнетно поље (50 Hz, 0,5 mT) статистички значајно утиче на локомоторну активност адулата *D. subobscura* и степен промене зависи од стадијума развића у ком је примењен:
 - Јединке из група које су биле излагане магнетном пољу прелазе краћи пут и мање су покретне,
 - Промене у локомоторној активности су краткотрајне (првих 10 минута целокупног времена праћења) код адулата који су у стадијуму јаје-први ступањ ларва излагани променљивом магнетном пољу,
 - Промене у локомоторној активности су дуготрајне (током целокупног времена праћења од 30 минута) код адулата који су у стадијуму адулта старости један дан излагани променљивом магнетном пољу;
- ❖ Променљиво магнетно поље (50 Hz, 0,5 mT), примењено у стадијуму јаје-први ступањ ларва, има статистички значајан утицај на неке компоненте адаптивне вредности *D. subobscura*:
 - скраћује се дужина развића и
 - боље је преживљавање.
- ❖ Постоји значајна разлика у утицају променљивог магнетног поља (50 Hz, 0,5 mT) на компоненте адаптивне вредности и локомоторну активност јединки појединачних ИФ линија:

- Након излагања стадијума јаје-први ступањ ларве мења се дужина развића код ИФ линија које припадају најучесталијем хаплотипу I (јединкама ИФ линије Б69/5 је скраћено развиће, а у поређењу са осталим ИФ линијама, дужина развића јединки ИФ линије Б57/2 је продужена),
- Након излагања стадијума адулта један дан старости јединке ИФ линија које припадају најучесталијем хаплотипу II и ретком хаплотипу III прелазе краћи пут и мање су покретне.

На основу свега изнетог у овој докторској дисертацији, може се извући један општи закључак:

Променљиво магнетно поље (50 Hz, 0,5 mT) примењено током 48 сати на ИФ линије различите генетичке структуре у различитим стадијумима развића доводи до значајних промена у компонентама адаптивне вредности и локомоторној активности адулата

7. ЛІТЕРАТУРА

- Abracado LG, Esquivel DMS, Alves OC, Wajnberg E. 2005. Magnetic material in head, thorax, and abdomen of *Solenopsis substituta* ants: A ferromagnetic resonance study. *J Magn Res* 175: 309-316.
- Abrams JK, Johnson PL, Hollis JH, Lowry CA. 2004. Anatomic and functional topography of the dorsal raphe nucleus. *Annals of the New York Academy of Sciences* 1018: 46-57.
- Adey WR. 1981. Tissue interactions with nonionizing electromagnetic fields. *Physiol Rev* 61: 435-514.
- Alfonso MJ, Volz A, Hernandez M, Ruttkay H, Gonzalez M, Larruga JM, Cabrera V, Sperlich D. 1990. Mitochondrial DNA variation and genetic structure in old-world populations of *Drosophila subobscura*. *Mol Biol Evol* 7: 123-142.
- Allada R, Chung BY. 2010. Circadian organization of behavior and physiology in *Drosophila*. *Annu Rev Physiol* 72: 605-624.
- Anderson JB, Vander Meer RK. 1993. Magnetic orientation in the fire ant, *Solenopsis invicta*. *Naturwissenschaften* 80: 568-570.
- Andjelković M, Savković V, Kalajdžić P. 2003. Inversion polymorphism in *Drosophila subobscura* from two different habitats from the mountain of Goc. *Hereditas* 138:241-243.
- Andjelković M, Stamenković-Radak M, Kurbalija Z, Kenig B, Rašić G, Savković V. 2007. The study of chromosomal inversion polymorphism of *Drosophila subobscura* over years in two different habitats from mountain Goc. *Genetika* 39: 155-167.
- Ayala FJ, Serra LL, Prevosti A. 1989. A grand experiment in evolution: the *Drosophila subobscura* colonisation of the Americas. *Genome* 31: 246-255.
- Ayrapetyan SN, Beglarian RA, Gregorian K, Avanesian AS, Gregorian L, Stamboltsian KV. 1986. On the mechanism of magnetic fields on unit electrical conductivity and osmotic characteristics of neurons of the snail. *Proc Armenian Acad Sci* 82: 184-187 (in Russian).
- Bahn JH, Lee G, Park JH. 2009. Comparative analysis of Pdf-mediated circadian behaviors between *Drosophila melanogaster* and *D. virilis*. *Genetics* 181: 965-975.
- Bainton RJ, Tsai LT, Singh CM, Moore MS, Neckameyer WS. 2000. Dopamine modulates acute responses to cocaine, nicotine and ethanol in *Drosophila*. *Current Biology* 10: 187-194.

- Balanya J, Sole E, Oller JM, Sperlich D, Serra L. 2004. Long-term changes in the chromosomal inversion polymorphism of *Drosophila subobscura*. II. European populations. *J Zool Syst Evol Res* 42: 191-201.
- Balcavage WX, Alvager T, Swez J, Goff CW, Fox MT, Abdullyava S, King MW. 1996. A mechanism for action of extremely low frequency electromagnetic fields on biological systems. *Biochem Biophys Res Commun*. 222: 374-378.
- Banks AN, Srygley RB. 2003. Orientation by magnetic field in leaf-cutter ants, *Atta colombica* (Hymenoptera: Formicidae). *Ethology* 109: 835-846.
- Barwanell FH, Webb HM. 1961. Responses of the mud-snail, *Nassarius*, to experimental reversals in direction of very weak magnetic fields. *Biol Bull* 121: 381.
- Belgacem YH, Martin JR. 2002. Neuroendocrine control of a sexually dimorphic behavior by a few neurons of the pars intercerebralis in *Drosophila*. *Proc Natl Acad Sci USA* 99: 15154-15158.
- Berg H. 1993. Electrostimulation of cell metabolism by low frequency electric and electromagnetic fields. *Bioelectrochem Bioenerg* 31: 1-25.
- Bijlsma K, Loeschcke V. 2005. Environmental stress, adaptation and evolution: an overview. *J Evol Biol* 18: 744-749.
- Bijlsma R, Bundgaard J, Boerema AC, Van Putten WF. 1997. Genetic and environmental stress, and the persistence of population, pp. 193-207 in: *Environmental Stress, Adaptation and Evolution*, edited by Bijlsma R and Loeschcke V, Birkhäuser Verlag, Basel, CH.
- Bijlsma R, Bundgaard J, Boerema AC. 2000. Does inbreeding affect the extinction risk of small populations? Predictions from *Drosophila*. *J Evol Biol* 13: 502-514.
- Binhi VN. 2006. Stochastic dynamics of magnetosomes and a mechanism of biological orientation in the geomagnetic field. *Bioelectromagnetics* 27: 58-63.
- Blackman CF, Benane SG, Rabinowitz JR, House DE, Joines WT. 1985. A role for the magnetic field in the radiation-induced efflux of calcium ions from brain tissue in vitro. *Bioelectromagnetics* 6: 327-337.
- Bodenstein D. 1950. The postembryonic development of *Drosophila*. *Demerec* 1950: 275-367.
- Brown FA Jr. 1966. Effects and after-effects on planarians of reversal of the horizontal magnetic vector. *Nature (London)* 209: 533-535.
- Brown FA Jr. 1971. Some orientational influences of nonvisual, terrestrial electromagnetic fields. *Ann NY Acad Sci* 188: 224-241.
- Brown FA, JR., Barnwell FH, 1961. Organismic orientation relative to magnetic axes, in responses to weak magnetic fields. *Biol Bull* 121: 384.

- Brown FA. 1962. Response of the planarian, *Dugesia*, to very weak horizontal electrostatic fields. *Biol Bull* 123: 282-294.
- Bryant PJ. 1978. Pattern formation in imaginal discs, pp. 229-335 in: *The Genetics and Biology of Drosophila*, edited by Ashburner M and Wright TRF, Academic Press Inc, London.
- Burnell AM, Daly BA. 1982. Spontaneous locomotor activity and dopamine levels in *tyr-1*, pp. 361-370 in *Advances in Genetics, Development and Evolution of Drosophila*, edited by S. Lakovaara. Plenum Press, New York.
- Cain CD, Adey WR, Luben RA. 1987. Evidence that pulsed electromagnetic fields inhibit coupling of adenylate cyclase by parathyroid hormone in bone cells. *J Bone Miner Res* 2: 437-441.
- Callaerts P, Leng S, Clements J, Benassayag C, Cribbs C. 2001. *Drosophila Pax-6/eyeless* is essential for normal adult brain structure and function. *J Neurobiol* 46: 73-88.
- Camlitepe Y, Stradling DJ. 1995. Wood ants orient to magnetic fields. *Proc R Soc Lond B* 261: 37-41.
- Campos-Ortega JA, Hartenstein V. 1985. *The Embryonic development of Drosophila melanogaster*. Springer-Verlag, Berlin.
- Castro JA, Ramon M, Picornell A, Moya A. 1999. The genetic structure of *Drosophila subobscura* populations from the islands of Majorca and Minorca (Balearic Islands, Spain) based on allozymes and mitochondrial DNA. *Heredity* 83: 271-279.
- Colas J, Launay J, Maroteaux L. 1999. Maternal and zygotic control of serotonin biosynthesis are both necessary for *Drosophila* germband extension. *Mech Dev* 87: 67-76.
- Collett TS, Baron J. 1994. Biological compasses and the coordinate frame of landmark memories in honeybees. *Nature* 368: 137-140.
- Connolly K, Tunnicliff G, Rick JT. 1971. The effects of gamma-hydroxybutyric acid on spontaneous locomotor activity and dopamine level in a selected strain of *Drosophila melanogaster*. *Comp Biochem Physiol B* 40: 321-326.
- Connolly K. 1966. Locomotor activity in *Drosophila*. II. Selection for active and inactive strains. *Anim Behav* 14: 444-449.
- Cui Y, Ge Z, Rizak JD, Zhai C, Zhou Z, Gong S, Che Y. 2012. Deficits in water maze performance and oxidative stress in the hippocampus and striatum induced by extremely low frequency magnetic field exposure. *PLoS One* 7: e32196.
- De J, Varma V, Saha S, Sheeba V, Sharma VK. 2013. Significance of activity peaks in fruit flies, *Drosophila melanogaster*, under seminatural conditions. *Proc Natl Acad Sci U S A* 110: 8984-8989.

- De Maio A. 1999. Heat shock proteins: facts, thoughts, and dreams. *Shock* (Augusta, Ga.) 11: 1-12.
- Delezie J, Challet E. 2011. Interactions between metabolism and circadian clocks: reciprocal disturbances. *Ann NY Acad Sci.* 1243: 30–46.
- Deng Y, Zhang Y, Jia S, Liu J, Liu Y, Xu W, Liu L. 2013. Effects of aluminum and extremely low frequency electromagnetic radiation on oxidative stress and memory in brain of mice. *Biol Trace Elem Res* 156: 243-252.
- Deno DW, Carpenter DO. 1994. Sources and characteristic of electric and magnetic fields in the environment, pp. 3-51 in Carpenter DO and Ayrapetyan S (Eds), *Biological effects of electric and magnetic fields*. Academic Press, San Diego, CA.
- Desoil M, Gillis P, Gossuin Y, Pankhurst QA, Hautot D. 2005. Definitive identification of magnetite nanoparticles in the abdomen of the honeybee *Apis mellifera*. *J Physics: Conference Series* 17: 45-49.
- Dimitrijević D, Janać B, Anđelković M, Savić T. 2013. Spontaneous locomotor activity of *Drosophila subobscura* under controlled laboratory conditions. *Arch Biol Sci Belgrade* 65: 977-987.
- Dingemanse NJ, Kazem AJ, Réale D, Wright J. 2010. Behavioural reaction norms: animal personality meets individual plasticity. *Trends Ecol Evol* 25: 81-89.
- Ditty JL, Williams SB, Golden SS. 2003. A cyanobacterial circadian timing mechanism. *Annual Review of Genetics* 37: 513–543.
- Domjan M. 2005. Pavlovian conditioning: a functional perspective. *Annu Rev Psychol* 56: 179-206.
- Dubruille R, Emery P. 2008. A plastic clock: how circadian rhythms respond to environmental cues in *Drosophila*. *Mol Neurobiol* 38: 129-145.
- Ferrarelli F, Massimini M, Esser SK, Riedner BA, Huber R, Murphy M, Peterson MJ, Tononi G. 2007. Triggering sleep slow waves by transcranial magnetic stimulation. *Proc Natl Acad Sci U S A* 104: 8496-8501.
- Ferreira J, Cernicchiaro G, Winklhofer M, Dutra H, de Oliveira PS. 2005. Comparative magnetic measurements on social insects. *J Magn Magn Mater* 289: 442-444.
- Fleury, F, Vavre F, Ris N, Fouillet P, Bouletreau M. 2000. Physiological cost induced by the maternally transmitted endosymbiont *Wolbachia* in the *Drosophila* parasitoid *Leptopilina heterotoma*. *Parasitology* 121: 493-500.
- Foe VE. 1998. Mitotic domains reveal early commitment of cells in *Drosophila* embryos. *Development* 107: 1-22.
- Frahm J, Mattsson MO, Simkó M. 2010. Exposure to ELF magnetic fields modulate redox related protein expression in mouse macrophages. *Toxicol Lett* 192: 330-336.

- Frankel RB, Blakemore RP. 1989. Magnetite and magnetotaxis in microorganisms. *Bioelectromagnetics* (N.Y.) 10: 223-237.
- Friggi-Grelín F, Coulom H, Meller M, Gomez D, Hirsh J, Birman S. 2003. Targeted gene expression in *Drosophila* dopaminergic cells using regulatory sequences from tyrosine hydroxylase. *J Neurobiol*, 54: 618–627.
- García-Martínez J, Castro JA, Ramon M, Latorre A, Moya A. 1998. Mitochondrial DNA haplotype frequencies in natural and experimental populations of *Drosophila subobscura*. *Genetics* 149: 1377-1382.
- Garip AI, Akan Z. 2010. Effect of ELF-EMF on number of apoptotic cells; correlation with reactive oxygen species and HSP. *Acta Biol Hung* 61: 158-167.
- Gaspar P, Cases O, Maroteaux L. 2003. The developmental role of serotonin: news from mouse molecular genetics. *Nature Reviews Neuroscience* 4:1002–1012.
- Gegear RJ, Casselman A, Waddell S, Reppert SM. 2008. Cryptochrome mediates light-dependent magnetosensitivity in *Drosophila*. *Nature* 454: 1014-1018.
- Gegear RJ, Foley LE, Casselman A, Reppert SM. 2010. Animal cryptochromes mediate magnetoreception by an unconventional photochemical mechanism. *Nature* 463: 804-807.
- Gibert P, Huey RB, Gilchrist GW. 2001. Locomotor performance of *Drosophila melanogaster*: interactions among developmental and adult temperatures, age, and geography. *Evolution* 55: 205-209.
- Gilchrist GW, Huey RB, Partridge L. 1997. Thermal sensitivity of *Drosophila melanogaster*: evolutionary responses of adults and eggs to laboratory natural selection at different temperatures. *Physiol Zool* 70: 403-414.
- Gilchrist GW, Huey RB, Serra L. 2001. Rapid evolution of wing size clines in *Drosophila subobscura*. *Genetica* 112/113: 273-286.
- Giorgi G, Guerra D, Pezzoli MC, Cavicchi S, Bersani F. 1992. Genetic effects of static magnetic fields. Body size increase and lethal mutations induced in populations of *Drosophila melanogaster* after chronic exposure. *Genet Sel Evol* 24: 393-413.
- Gonet B, Kosik-Bogacka DI, Kuźna-Grygiel W. 2009. Effects of extremely low-frequency magnetic fields on the oviposition of *Drosophila melanogaster* over three generations. *Bioelectromagnetics* 30: 687-689.
- Goodman R, Abbot J, Henderson AS. 1987. Transcriptional patterns in the X chromosome of *Sciara coprophila* following exposure to magnetic fields. *Bioelectromagnetics* (N.Y.) 8: 1-7.
- Goodman R, Blank M. 1998. Magnetic field stress induces expression of hsp70. *Cell Stress Chap* 3: 79-88.

- Goodman R, Wei L-X Xu J-C, Henderson A. 1989. Exposure of human cells to low-frequency electromagnetic fields results in quantitative changes in transcripts. *Biochim Biophys Acta* 1009: 216-220.
- Goodman R1, Lin-Ye A, Geddis MS, Wickramaratne PJ, Hodge SE, Pantazatos SP, Blank M, Ambron RT. 2009. Extremely low frequency electromagnetic fields activate the ERK cascade, increase hsp70 protein levels and promote regeneration in *Planaria*. *Int J Radiat Biol* 85: 851-859
- Götz KG. 1980. Visual guidance in *Drosophila*, pp. 391-407 in *Development and neurobiology of Drosophila*, edited by Siddiqui O, Babu P, Hall LM, Hall JC. Plenum Press, New York.
- Götz KG. 1989. Search and choice in *Drosophila*, pp. 139-153 in *Neurobiology of sensory systems*, edited by Singh RN, Strausfeld NJ. Plenum Press, New York.
- Gould JL. 1984. Magnetic field sensitivity in animals. *Annu Rev Physiol* 46: 585-598.
- Graham JH, Fletcher D, Tigue J, McDonald M. 2000. Growth and developmental stability of *Drosophila melanogaster* in low frequency magnetic fields. *Bioelectromagnetics* 21: 465-472.
- Grahn RE, Will MJ, Hammack SE, Maswood S, McQueen MB, Watkins LR, Maier SF. 1999. Activation of serotonin-immunoreactive cells in the dorsal raphe nucleus in rats exposed to an uncontrollable stressor. *Brain Research* 826: 35-43.
- Hall JC. 1995. Tripping along the trail to the molecular mechanisms of biological clocks. *Trends Neurosci* 18: 230-240.
- Hay DA. 1980. Genetics in the analysis of behaviour. *Neurosci Biobehav Rev* 4: 489-508.
- He LH, Shi HM, Liu TT, Xu YC, Ye KP, Wang S. 2011. Effects of extremely low frequency magnetic field on anxiety level and spatial memory of adult rats. *Chin Med J (Engl)* 124: 3362-3366.
- Helfrich-Förster C. 2005. Neurobiology of the fruit fly's circadian clock. *Genes Brain Behav* 4: 65-76.
- Heym J, Trulson ME, Jacobs BL. 1982. Raphe unit activity in freely moving cats: effects of phasic auditory and visual stimuli. *Brain Res* 232: 29-39.
- Hinze WJ. 1985. *The Utility of Regional Gravity and Magnetic Anomaly maps*. Society of Exploration Geophysicists, Tulsa, UK.
- Hirota T, Fukada Y. 2004. Resetting mechanism of central and peripheral circadian clocks in mammals. *Zoolog Sci* 21: 359-368.
- Ho MW, Stone TA, Jerman I, Bolton J, Bolton H, Goodwin BC, Saunders PT, Robertson F. 1992. Brief exposures to weak static magnetic field during early

- embryogenesis cause cuticular pattern abnormalities in *Drosophila* larvae. *Phys Med Biol* 37: 1171-1179.
- Hong FT. 1995. Magnetic field effects on biomolecules, cells, and living organisms. *Biosystems* 36: 7-229.
- Hsu CY, Ko FY, Li CW, Fann K, Lue JT. 2007. Magnetoreception system in honeybees (*Apis mellifera*). *PLoS One* 2: e395.
- Huey RB, Gilchrist GW, Carlson ML, Berrigan D, Serra L. 2000. Rapid evolution of a geographic cline in size in an introduced fly. *Science* 287: 308-309.
- Ikehara T, Yamaguchi H, Hosokawa K, Miyamoto H, Aizawa K. 2003. Effects of ELF magnetic field on membrane protein structure of living HeLa cells studied by Fourier transform infrared spectroscopy. *Bioelectromagnetics* 24: 457-464.
- Inoue T, Tsuchiya K, Koyama T. 1994. Regional changes in dopamine and serotonin activation with various intensity of physical and psychological stress in the rat brain. *Pharmacology Biochemistry and Behavior* 49: 911-920.
- Ivancsits S, Diem E, Jahn O, Rüdiger HW. 2003. Intermittent extremely low frequency electromagnetic fields cause DNA damage in a dose-dependent way. *Int Arch Occup Environ Health* 76: 431-436.
- Iwasaka M, Ueno S. 1998. Structure of water molecules under 14 T magnetic field. *Journal of Applied Physics* 83: 6459-6461.
- Jacobs BL, Fornal CA. 1999. Activity of serotonergic neurons in behaving animals. *Neuropsychopharmacology* 21: S9-S15.
- Jajte J, Zmyslony M, Rajkowska E. 2003. Protective effect of melatonin and vitamin E against prooxidative action of iron ions and static magnetic field. *Med Pr* 54: 23-28.
- Janać B, Pesić V, Jelenković A, Vorobyov V, Prolić Z. 2005. Different effects of chronic exposure to ELF magnetic field on spontaneous and amphetamine-induced locomotor and stereotypic activities in rats. *Brain Res Bull* 67: 498-503.
- Janać B, Selaković V, Rauš S, Radenović L, Zrnić M, Prolić Z. 2012. Temporal patterns of extremely low frequency magnetic field-induced motor behavior changes in Mongolian gerbils of different age. *Int J Radiat Biol* 88: 359-66.
- Janać B, Tovilović G, Tomić M, Prolić Z, Radenović L. 2009. Effect of continuous exposure to alternating magnetic field (50 Hz, 0.5 mT) on serotonin and dopamine receptors activity in rat brain. *Gen Physiol Biophys* 28 Spec No: 41-6.
- Jander R, Jander U. 1998. The light and magnetic compass of the weaver ant, *Oecophylla smaragdina* (Hymenoptera: Formicidae). *Ethology* 104: 743-758.
- Jelić M, Castro JA, Kurbalija Novičić Z, Kenig B, Dimitrijević D, Savić Veselinović M, Jovanović M, Milovanović D, Stamenković-Radak M, Andjelković M. 2012. Absence of linkage disequilibria between chromosomal arrangements and mtDNA

- haplotypes in natural populations of *Drosophila subobscura* from the Balkan Peninsula. *Genome* 55: 214-221.
- Jelić M, Kenig B, Kurbalija Z, Stamenković-Radak M, Andjelković M. 2009. Intra-species differentiation among *Drosophila subobscura* from different habitats in Serbia. *Arch Biol Sci Belgrade* 61: 513-521.
- Jensen D, Overgaard J, Sørensen JG. 2007. The influence of developmental stage on cold shock resistance and ability to cold-harden in *Drosophila melanogaster*. *J Insect Physiol* 53: 179-186.
- Jeong JH, Kum C, Choi HJ, Park ES, Sohn UN. 2006. Extremely low frequency magnetic field induces hyperalgesia in mice modulated by nitric oxide synthesis. *Life Sci* 78: 1407-1412.
- Joshi D, Barnabas R, Martin ER, Parihar V, Kanojiya M. 1999. Aging alters properties of the circadian pacemaker controlling the locomotor activity rhythm in males of *Drosophila nasuta*. *Chronobiol Int* 16: 751-758.
- Kavaliers M, Choleris E, Prato FS, Ossenkopp K. 1998. Evidence for the involvement of nitric oxide and nitric oxide synthase in the modulation of opioid-induced antinociception and the inhibitory effects of exposure to 60 Hz magnetic fields in the land snail. *Brain Res* 809: 50-57.
- Kefuss J, M'Diaye K, Bounias M, Vanpoucke J, Ecochard J. 1999. Biochemical effects of high intensity constant magnetic fields on worker honey bees. *Bioelectromagnetics* 20: 117-122.
- Kenig B, Jelić M, Kurbalija Z, Stamenković-Radak M, Andjeković M. 2010. Inversion polymorphism in populations of *Drosophila subobscura* from urban and non-urban environments. *Arch Biol Sci Belgrade* 62: 565-574.
- Kimchi T, Etienne AC, Terkel J. 2004. A subterranean mammal uses the magnetic compass for path integration. *PNAS* 101: 1105-1109.
- Kirschvink JL. 1981. The horizontal magnetic dance of the honeybee is compatible with a single-domain ferromagnetic magnetoreceptor. *Biosystems* 14: 193-203.
- Klarsfeld A, Leloup JC, Rouyer F. 2003. Circadian rhythms of locomotor activity in *Drosophila*. *Behav Process* 64: 161-175.
- Klassen VI. 1982. Omagnichivanje vodnih sistem. *Himija*, Moskow, 296.
- Kliethermes CL. 2013. Food deprivation increases the low-dose locomotor stimulant response to ethanol in *Drosophila melanogaster*. *Pharmacol Biochem Behav* 111: 76-83.
- Klotz J, Jander R. 2003. Magnetic sense, in: *Encyclopedia of insects*, edited by Resh VH, Cardé RT. Academic Press.

- Kobayashi A, Kirschvink J. 1995. Magnetoreception and electromagnetic field effects: sensory perception of the geomagnetic field in animals and humans, pp. 367-394 in *Electromagnetic Fields*, edited by Blank M. Washington, DC: American Chemical Society.
- Konopka RJ, Benzer S. 1971. Clock mutants of *Drosophila melanogaster*. *Proc Natl Acad Sci USA*. 68: 2112–2116.
- Koshland DE. 1998. Conformational changes: how small is big enough? *Natl Med* 4: 1110-1114.
- Koval TM, Hart RW, Myser WC, Hink WF. 1977. A comparison of survival and repair of UV-induced DNA damage in cultured insect versus mammalian cells. *Genetics* 87: 513-518.
- Koval TM, Hart RW, Myser WC, Hink WF. 1979. DNA single-strand break repair in cultured insects and mammalian cells after x-irradiation. *Int J Radiat Biol Relat Stud Phys Chem Med* 35: 183-188.
- Koval TM, Kazmar ER. 1988. DNA double-strand break repair in eukaryotic cell lines having radically different radio sensitivities. *Radiat Res* 113: 268-277.
- Krebs RA, Loeschcke V. 1994. Response to environmental change: genetic variation and fitness in *Drosophila buzzatii* following temperature stress. *EXS* 68: 309-321.
- Krebs RA, Loeschcke V. 1996. Acclimation and selection for increased resistance to thermal stress in *Drosophila buzzatii*. *Genetics* 142: 471-479.
- Krimbas CB. 1993. *Drosophila subobscura*: Biology, Genetics and Inversion Polymorphism. Dr. Kovacs Verlag. Hamburg.
- Kume K, Kume S, Park SK, Hirsh J, Jackson FR. 2005. Dopamine is a regulator of arousal in the fruit fly. *J Neurosci*, 25: 7377–7384.
- Kurbalija-Novičić Z, Jelić M, Savić T, Savić-Veselinović M, Dimitrijević D, Jovanović M, Kenig B, Stamenković-Radak M, Andjelković M. 2013. Effective population size in *Drosophila subobscura*: ecological and molecular approaches. *J BIOL RES-THESSALON* 19: 65-74.
- Lange S, Richard D, Viergutz T, Kriehuber R, Weiss DG, Simkó M. 2002. Alterations in the cell cycle and in the protein level of cyclin D1, p21CIP1, and p16INK4a after exposure to 50 Hz MF in human cells. *Radiat Environ Biophys* 41: 131-137.
- Latorre A, Hernandez C, Martinez D, Castro JA, Ramon MM, Moya A. 1992. Population structure and mitochondrial DNA gene flow in Old World populations of *Drosophila subobscura*. *Heredity* 68: 15-24.
- Latorre A, Moya A, Ayala FJ. 1986. Evolution of mitochondrial DNA in *Drosophila subobscura*. *Proc Natl Acad Sci USA* 83: 8649-8653.

- Leal SM, Neckameyer WS. 2002. Pharmacological evidence for GABAergic regulation of specific behaviors in *Drosophila melanogaster*. J Neurobiol 50: 245-261.
- Lear BC, Zhang L, Allada R. 2009. The neuropeptide PDF acts directly on evening pacemaker neurons to regulate multiple features of circadian behavior. PLoS Biol 7: e1000154.
- Lee BC, Johnny HM, Lim JK, Jeong JH, Bajk KEY, Nam TJ, Lee JH, Kim J, Sohn UD, Yoon G, Shin S, Soh KS. 2004. Effects of extremely low frequency magnetic field on the antioxidant defense system in mouse brain: a chemiluminescence study. J Photochem Photobiol 73: 43-48.
- Lefkowitz RJ, Whalen EJ. 2004. beta-arrestins: traffic cops of cell signaling. Current Opinion in Cell Biology 16:162-168.
- Lehmann FO, Cierotzki V. 2010. Locomotor performance in the *Drosophila* brain mutant drop-dead. Comp Biochem Physiol A Mol Integr Physiol 156: 337-343.
- Leonardo ED, Hen R. 2006. Genetics of affective and anxiety disorders. Annu Rev Psychol 57: 117-137.
- Li SS, Zhang ZY, Yang CJ, Lian HY, Cai P. 2013. Gene expression and reproductive abilities of male *Drosophila melanogaster* subjected to ELF-EMF exposure. Mutat Res 758:95-103.
- Lima SQ, Miesenbock G. 2005. Remote control of behavior through genetically targeted photostimulation of neurons. Cell 121: 141-152.
- Liu L, Davis RL, Roman G. 2007. Exploratory activity in *Drosophila* requires the kurtz nonvisual arrestin. Genetics 175: 1197-1212.
- Liu T, Wang S, He L, Ye K. 2008. Chronic exposure to low-intensity magnetic field improves acquisition and maintenance of memory. Neuroreport 19: 549-552.
- Lohmann K, Johnsen S. 2000. The neurobiology of magnetoreception in vertebrate animals. Trends Neurosci 23: 153-159.
- Lohmann KJ, Lohmann CMF, Ehrhart LM, Bagley DA, Swing T. 2004. Geomagnetic map used in sea-turtle navigation. Nature 428: 909-910.
- Lu B, Liu W, Guo F, Guo A. 2008. Circadian modulation of light-induced locomotion responses in *Drosophila melanogaster*. Genes Brain Behav 7:730-739.
- Lundell MJ, Hirsch J. 1998. Eagle is required for the specification of serotonin neurons and other neuroblast 7-3 progeny in the *Drosophila* CNS. Development 125: 463-472.
- Mannerling AC, Simkó M, Mild KH, Mattsson MO. 2010. Effects of 50-Hz magnetic field exposure on superoxide radical anion formation and HSP70 induction in human K562 cells. Radiat Environ Biophys 49: 731-741.

- Marinković D, Ayala FJ, Andjelković M. 1978. Genetic polymorphism and phylogeny of *Drosophila subobscura*. *Evolution* 32: 164-173.
- Mariucci G, Villarini M, Moretti M, Taha E, Conte C, Minelli A, Aristei C, Ambrosini MV. 2010. Brain DNA damage and 70-kDa heat shock protein expression in CD1 mice exposed to extremely low frequency magnetic fields. *Int J Radiat Biol* 86: 701-710.
- Martin JR, Ernst R, Heisenberg M. 1998. Mushroom bodies suppress locomotor activity in *Drosophila melanogaster*. *Learn Mem* 5: 179-191.
- Martin JR, Ollo R. 1996. A new *Drosophila* Ca²⁺/calmodulin-dependent protein kinase (Caki) is localized in the central nervous system and implicated in walking speed. *EMBO J* 15: 1865-1876.
- Martin JR, Rabbe T, Heisenberg M. 1999. Central complex substructures are required for the maintenance of locomotor activity in *Drosophila melanogaster*. *J Comp Physiol A* 185: 277-288.
- Martin JR. 2004. A portrait of locomotor behaviour in *Drosophila* determined by a video-tracking paradigm. *Behav Process* 67: 207-219.
- Martinez D, Moya A, Latorre A, Fereres A. 1992. Mitochondrial DNA variation in *Rhopalosiphum padi* (Homoptera: Aphididae) populations from four Spanish localities. *Ann Entomol Soc Am* 85: 241-246.
- Mattsson MO, Simkó M. 2012. Is there a relation between extremely low frequency magnetic field exposure, inflammation and neurodegenerative diseases? A review of *in vivo* and *in vitro* experimental evidence. *Toxicology* 301: 1-12.
- Mayer PJ, Baker GT. 1984. Developmental time and adult longevity in two strains of *Drosophila melanogaster* in a constant low-stress environment. *Mech Ageing Dev* 26: 283-298.
- Mayr E. 1963. *Animal species and evolution*. MA: Harvard Univ. Press, Cambridge.
- Mayr E. 1974. Behavior programs and evolutionary strategies. *American Scientist* 62: 650-659.
- McCreary CR, Dixon SJ, Fraher LJ, Carson JJ, Prato FS. 2006. Real-time measurement of cytosolic free calcium concentration in Jurkat cells during ELF magnetic field exposure and evaluation of the role of cell cycle. *Bioelectromagnetics* 27: 354-364.
- Meehan MJ, Wilson R. 1987. Locomotor activity in the Tyr-1 mutant of *Drosophila melanogaster*. *Behav Genet* 17: 503-512.
- Mirabolghasemi G, Azarnia M. 2002. Developmental changes in *Drosophila melanogaster* following exposure to alternating electromagnetic fields. *Bioelectromagnetics* 23: 416-420.

- Mouritsen H, Janssen-Bienhold U, Liedvogel M, Feenders G, Stalleicken J, Dirks P, Weiler R. 2004. Cryptochromes and neuronal-activity markers colocalize in the retina of migratory birds during magnetic orientation. PNAS 101: 14294-14299.
- Mouritsen H, Ritz T. 2005. Magnetoreception and its use in bird navigation. Curr Opin Neurobiol 15: 406-414.
- Nakaoka Y, Itoh J, Shimizu K. 2011. Orientation of paramecium swimming in a static magnetic field: Dependence on membrane lipid fluidity. Bioelectromagnetics 32: 66-72.
- Nakaoka Y, Shimizu K, Hasegawa K, Yamamoto T. 2000. Effect of a 60 Hz magnetic field on the behavior of Paramecium. Bioelectromagnetics 21: 584-588.
- Nakaoka Y, Takeda R, Shimizu K. 2002. Orientation of paramecium swimming in a DC magnetic field. Bioelectromagnetics 23: 607-613.
- Neumann E. 2000. Digression on chemical electromagnetic field effects in membrane signal transduction--cooperativity paradigm of the acetylcholine receptor. Bioelectrochemistry 52: 43-49.
- Nikolić L, Todorović N, Zakrzewska J, Stanić M, Rauš S, Kalauzi A, Janać B. 2012. Involvement of Na⁺/K⁺ pump in fine modulation of bursting activity of the snail Br neuron by 10 mT static magnetic field. J Comp Physiol A Neuroethol Sens Neural Behav Physiol 198: 525-40.
- Niven JE, Vähäsöyrinki M, Juusola M. 2003. Shaker K(+) channels are predicted to reduce the metabolic cost of neural information in Drosophila photoreceptors. Proc R Soc B Biol Sci 270: S58-61.
- Noda Y, Mori A, Liburdy RP, Packer L. 2000. Pulsed magnetic fields enhance nitric oxide synthase activity in rat cerebellum. Pathophysiology 7: 127-130.
- Novikov VV, Sheiman IM, Fesenko EE. 2008. Effect of weak static and low-frequency alternating magnetic fields on the fission and regeneration of the planarian dugesia (Girardia) tigrina. Bioelectromagnetics 29: 387-393.
- O'Dell K, Burnet B. 1988. The effect of locomotor activity and reactivity of the hypoactive and inactive mutations in *Drosophila melanogaster*. Heredity 61: 199-207.
- Orengo DJ, Prevosti A. 1996. Temporal changes in chromosomal polymorphism of *Drosophila subobscura* related to climatic changes. Evolution 50: 1346-1350.
- Osborne RH. 1996. Insect neurotransmission: neurotransmitters and their receptors. Pharmacol Ther 69: 117-142.
- Palmer JD. 1963. Organismic spatial orientation in very weak magnetic fields. Nature (London) 198: 1061-1062.

- Pascual M, Aquadro C, Soto V, Serra L. 2001. Microsatellite variation in colonizing and Palearctic populations of *Drosophila subobscura*. Mol Biol Evol 18: 731-740.
- Pascual M, Schug MD, Aquadro CF. 2000. High density of long dinucleotide microsatellites in *Drosophila subobscura*. Mol Biol Evol 17: 1259-1267.
- Pendleton RG, Rasheed A, Sardina T, Tully T, Hillman R. 2002. Effects of tyrosine hydroxylase mutants on locomotor activity in *Drosophila*: a study in functional genomics. Behav Genet 32: 89-94.
- Phillips JB, Jorge PE, Muheim R. 2010a. Light-dependent magnetic compass orientation in amphibians and insects: candidate receptors and candidate molecular mechanisms. J R Soc Interface 7: S241-S256.
- Phillips JB, Muheim R, Jorge PE. 2010b. A behavioral perspective on the biophysics of the light-dependent magnetic compass: a link between directional and spatial perception? J Exp Biol 213: 3247-3255.
- Phillips JB, Sayeed O. 1993. Wavelength-dependent effects of light on magnetic compass orientation in *Drosophila melanogaster*. J Comp Physiol A 172: 303-308.
- Picot M, Cusumano P, Klarsfeld A, Ueda R, Rouyer F. 2007. Light activates output from evening neurons and inhibits output from morning neurons in the *Drosophila* circadian clock. PLoS Biol 5: e315.
- Pielage J, Steffes G, Lau DC, Parente BA, Crews ST. 2002. Novel behavioral and developmental defects associated with *Drosophila* single-minded. Dev Biol 249: 283-299.
- Pinto F, Brehm A, Hernandez M, Larruga JM, Gonzalez AM, Carera V. 1997. Population genetic structure and colonization sequence of *Drosophila subobscura* in the Canaries and Madeira Atlantic Islands as inferred by autosomal, sex-linked and mtDNA traits. J Hered 88: 108-114.
- Portas CM, Bjorvatn B, Ursin R. 2000. Serotonin and the sleep/wake cycle: special emphasis on microdialysis studies. Progress in Neurobiology 60: 13-35.
- Poulson DF. 1950. Histogenesis, organogenesis and differentiation in the embryo of *Drosophila melanogaster*, pp 168-270 in Biology of *Drosophila*, edited by Demerec M. New York: Wiley and Son.
- Prasad KN. 1995. Handbook of Radiobiology, 2nd ed. CRC Press.
- Prevosti A, Ribo G, Serra L, Aguade M, Balanya J, Monclus M. 1988. Colonization of America by *D. subobscura*: experiment in natural populations that supports the adaptive role of chromosomal inversion polymorphism. Proc Natl Acad Sci USA 85: 5597-5600.
- Prevosti A. 1974. Chromosomal inversion polymorphism in the southwestern range of *Drosophila subobscura* distribution area. Genetica 45: 111-124.

- Prokop A, Technau GM. 1991. The origin of postembryonic neuroblasts in the ventral nerve cord of *Drosophila melanogaster*. *Development* 111: 79-88.
- Prolić Z, Andjelković M. 1992. The effect of a strong magnetic field on the frequency of genetic loads in *Drosophila melanogaster*. *Acta Vet* 42: 343-350.
- Prolić Z, Jovanović R, Konjević Đ, Janać B. 2003. Behavioral differences of the insect *Morimus funereus* (Coleoptera, Cerambycidae) exposed to an extremely low frequency magnetic field. *Electromagn Biol Med* 22: 63-73.
- Pum M, Huston JP, De Souza Silva MA, Muller CP. 2008. Visual sensory-motor gating by serotonin activation in the medial prefrontal and occipital, but not in the rhinal, cortices in rats. *Neuroscience* 153: 361-372.
- Ramirez E, Monteagudo JL, Garcia-Gracia M, Delgado JM. 1983. Oviposition and development of *Drosophila* modified by magnetic fields. *Bioelectromagnetics* 4: 315-326.
- Rauš S, Selaković V, Manojlović-Stojanoski M, Radenović L, Prolić Z, Janać B. 2013. Response of hippocampal neurons and glial cells to alternating magnetic field in gerbils submitted to global cerebral ischemia. *Neurotox Res* 23: 79-91.
- Rauš S, Selaković V, Radenović L, Prolić Z, Janać B. 2012. Extremely low frequency magnetic field induced changes in motor behaviour of gerbils submitted to global cerebral ischemia. *Behav Brain Res* 228: 241-246.
- Reiter RJ. 1993. Static and extremely low frequency electromagnetic field exposure: reported effects on the circadian production of melatonin. *J Cell Biochem* 51: 394-403.
- Ritz T, Adem S, Schulten K. 2000. A model for photoreceptor-based magnetoreception in birds. *Biophys J* 78: 707-718.
- Ritz T, Ahmad M, Mouritsen H, Wiltschko R, Wiltschko W. 2010. Photoreceptor-based magnetoreception: optimal design of receptor molecules, cells, and neuronal processing. *J R Soc Interface* 7: S135-S146.
- Ritz T, Thalau P, Phillips J, Wiltschko R, Wiltschko W. 2004. Resonance effects indicate a radical-pair mechanism for avian magnetic compass. *Nature* 429: 177-180.
- Ritz T, Wiltschko R, Hore PJ, Rodgers CT, Stapput K, Thalau P, Timmel CR, Wiltschko W. 2009. Magnetic compass of birds is based on a molecule with optimal directional sensitivity. *Biophys J* 96: 3451-3457.
- Robertson FW. 1963. The genetic correlation between the duration of the larval period and body size in relation to larval diet. *Genet Res* 4: 74-92.
- Rodgers CT, Hore PJ. 2009. Chemical magnetoreception in birds: the radical pair mechanism. *Proc Natl Acad Sci USA* 106: 353-360.

- Rollwitz J, Lupke M, Simkó M. 2004. Fifty-hertz magnetic fields induce free radical formation in mouse bone marrow-derived promonocytes and macrophages. *Biochim Biophys Acta* 1674: 231-238.
- Roman G, He J, Davis RL. 2000. kurtz, a novel nonvisual arrestin, is an essential neural gene in *Drosophila*. *Genetics* 155: 1281-1295.
- Rosato E, Kyriacou CP. 2006. Analysis of locomotor activity rhythms in *Drosophila*. *Nat Protoc* 1: 559-568.
- Rosen MS, Rosen AD. 1990. Magnetic field influence on paramecium mobility. *Life Sci* 46: 1509-1515.
- Rosenblatt C, Yager P, Schoen PE. 1987. Orientation of lipid tubules by a magnetic field. *Biophys J* 52: 295-301.
- Rozas JM, Hernandez M, Cabrera VM, Prevosti A. 1990. Colonisation of America by *Drosophila subobscura*: effect of the founder event on the mitochondrial DNA polymorphism. *Mol Biol Evol* 7: 103-109.
- Santini MT, Rainaldi G, Indovina PL. 2009. Cellular effects of extremely low frequency (ELF) electromagnetic fields. *Int J Radiat Biol* 85: 294-313.
- Santos J, Serra L, Sole E, Pascual M. 2010. FISH mapping of microsatellite loci from *Drosophila subobscura* and its comparison to related species. *Chromosome Res* 18: 213-226.
- Santos M, Brites D, Laayouni H. 2006. Thermal evolution of pre-adult life history traits, geometric size and shape, and developmental stability in *Drosophila subobscura*. *J Evolution Biol* 19:6, 2006-2021.
- Savić T, Janać B, Todorović D, Prolić Z. 2011. The embryonic and post-embryonic development in two *Drosophila* species exposed to the static magnetic field of 60 mT. *Electromagn Biol Med* 30(2):108-114.
- Savković V, Stamenković-Radak M, Andjelković M. 2004. Diurnal variability of gene arrangement frequencies in *Drosophila subobscura* populations from two habitats. *J Zool Syst Evol Res* 42: 208-214.
- Schmitt DE, Esch HE. 1993. Magnetic orientation of honeybees in the laboratory. *Naturwissenschaften* 80: 41-43.
- Seligman SA. 1970. Dangers of decimals. *Lancet* 1: 306.
- Serway CN, Kaufman RR, Strauss R, de Belle JS. 2009. Mushroom bodies enhance initial motor activity in *Drosophila*. *J Neurogenet* 23: 173-184.
- Shaw PJ, Cirelli C, Greenspan RJ, Tonon G. 2000. Correlates of sleep and waking in *Drosophila melanogaster*. *Science* 287: 1834-1837.

- Sheeba V, Chandrashekar MK, Joshi A, Sharma VK. 2002. Locomotor activity rhythm in *Drosophila melanogaster* after 600 generations in an aperiodic environment. *Naturwissenschaften* 89: 512-514.
- Sheĭman IM, Kreshchenko ND. 2009. Influence of weak electromagnetic field on different forms of behavior in grain beetle *Tenebrio molitor*. *Zhurnal vysshei nervnoi deiatelnosti imeni I P Pavlova* 59: 488-494.
- Sheiman IM, Kreshchenko ND. 2010. Effects of weak electromagnetic irradiation on various types of behavior in the mealworm *Tenebrio molitor*. *Neurosci Behav Physiol* 40: 863-868.
- Shin EJ, Jeong JH, Kim HJ, Jang CG, Yamada K, Nabeshima T, Kim HC. 2007. Exposure to extremely low frequency magnetic fields enhances locomotor activity via activation of dopamine D1-like receptors in mice. *J Pharmacol Sci* 105: 367-371.
- Shtemberg AS, Uzbekov MG, Shikhov SN, Bazian AS, Cherniakov GM. 2000. The neurotropic effects of low-intensity electromagnetic waves in rats with different typological characteristics of higher nervous activity. *Zhurnal vysshei nervnoi deiatelnosti imeni I P Pavlova*. 50: 867-877.
- Singh BN. 1994. Hybrid sterility and its genetic basis in *Drosophila*. *Ind Rev Life Sci* 14: 3-20.
- Sokal RR, Rohlf FI. 1969. *Biometry: the principles and practice of statistics in biological research*, p 776, edited by Freeman WH. Department of Ecology and Evolution, State University of New York, Stony Brook, NY
- Solovyov I, Hore P, Ritz T, Schulten K. 2011. A chemical compass for bird navigation, in *Quantum Effects in Biology*, edited by Mohseni M, Omar Y, Engel G, Plenio M. Cambridge: Cambridge University Press.
- Stamenković-Radak M, Kitanović I, Prolić Z, Tomišić I, Stojković B, Andjelković M. 2001. Effect of a permanent magnetic field on wing size parameters in *Drosophila melanogaster*. *Bioelectromagnetics* 22: 365-369.
- Stamenković-Radak M, Rašić G, Savić T, Kalajdžić P, Kurbalija Z, Kenig B, Andjelković M. 2008. Monitoring of the genetic structure of natural populations: change of the effective population size and inversion polymorphism in *Drosophila subobscura*. *Genetica* 133: 57-63.
- Stanojević V, Prolić Z, Savić T, Todorović D, Janać B. 2005. Effects of Extremely Low Frequency (50 Hz) Magnetic Field on Development Dynamics of the Housefly (*Musca domestica* L.). *Electromagn Biol Med* 24: 99-107.
- Stojiljković MR. 1998. *Osnovni principi molekularne neurobiologije*. Nova prosveta.

- Stoleru D, Peng Y, Agosto J, Rosbash M. 2004. Coupled oscillators control morning and evening locomotor behavior of *Drosophila*. *Nature* 431: 862-868.
- Stoleru D, Peng Y, Nawathean P, Rosbash M. 2005. A resetting signal between *Drosophila* pacemakers synchronizes morning and evening activity. *Nature* 438: 238-242.
- Strauss R, Hanesch U, Kinkelin M, Wolf R, Heisenberg M. 1992. No-bridge of *Drosophila melanogaster*: portrait of a structural brain mutant of the central complex. *J Neurogenet* 8: 125-155.
- Strauss R, Heisenberg M. 1993. A higher control center of locomotor behavior in the *Drosophila* brain. *J Neurosci* 13: 1852-1861.
- Strauss R. 2002. The central complex and the genetic dissection of locomotor behaviour. *Curr Opin Neurobiol* 12: 633-638.
- Till U, Timmel CR, Brocklerhurst B, Hore PJ. 1998. The influence of very small magnetic fields on radical recombination reactions in the limit of slow recombination. *Chem Phys Lett* 208: 7-14.
- Tinette S, Zhang L, Garnier A, Engler G, Tares S, Robichon A. 2007. Exploratory behaviour in NO-dependent cyclase mutants of *Drosophila* shows defects in coincident neuronal signaling. *BMC Neuroscience* 8: 65.
- Todorović D, Marković T, Prolić Z, Mihajlović S, Rauš S, Nikolić L, Janać B. 2013. The influence of static magnetic field (50 mT) on development and motor behaviour of *Tenebrio* (Insecta, Coleoptera). *Int J Radiat Biol* 89: 44-50.
- Tsutsayeva AA, Sevryukova LG. 2001. Effect of cold exposure on survival and stress protein expression of *Drosophila melanogaster* at different development stages. *Cryo Letters* 22: 145-150.
- Ulku R, Akdag MZ, Erdogan S, Akkus Z, Dasdag S. 2011. Extremely low-frequency magnetic field decreased calcium, zinc and magnesium levels in costa of rat. *Biol Trace Elem Res* 143: 359-367.
- Umezaki Y, Tomioka K. 2008. Behavioral dissection of the *Drosophila* circadian multioscillator system that regulates locomotor rhythms. *Zoolog Sci* 25: 1146-1155.
- Vácha M, Půzová T, Drstková D. 2008. Effect of light wavelength spectrum on magnetic compass orientation in *Tenebrio molitor*. *J Comp Physiol A Neuroethol Sens Neural Behav Physiol* 194: 853-859.
- Vácha M. 1997. The influence of a static, homogenous magnetic field (B=320 mT) on extracardiac pulsations of *Tenebrio molitor* pupae (Coleoptera: Tenebrionidae). *J Ins Physiol* 43: 979-989.
- Valente D, Golani I, Mitra PP. 2007. Analysis of the trajectory of *Drosophila melanogaster* in a circular open field arena. *PLoS One* 2: e1083.

- Valiati VH, Valente VLS. 1997. Chromosomal polymorphism in urban populations of *Drosophila paulistorum*. *Revta bras. Genet* 20: 567-581.
- Vitaterna MH, King DP, Chang AM. 1994. Mutagenesis and mapping of a mouse gene, Clock, essential for circadian behavior. *Science* 264: 719-725.
- Walker MM, Bitterman M E. 1985. Conditioned responding to magnetic fields by honeybees. *J Comp Physiol* 157: 67-71.
- Wan HI, DiAntonio A, Fetter RD, Bergstrom K, Strauss R. 2000. Highwire regulates synaptic growth in *Drosophila*. *Neuron* 26: 313-329.
- Wang JW, Sylwester AW, Reed D, Wu DA, Soll DR, Wu CF. 1997. Morphometric description of the wandering behavior in *Drosophila* larvae: aberrant locomotion in Na⁺ and K⁺ channel mutants revealed by computer-assisted motion analysis. *J Neurogenet* 11: 231-254.
- Waterhouse B, Devilbliss D, Seiple S, Markowitz R. 2004. Sensorimotorrelated discharge of simultaneously recorded, single neurons in the dorsal raphe nucleus of the awake, unrestrained rat. *Brain Research* 1000: 183-191.
- Wiltschko R, Wiltschko W. 1995. *Magnetic Orientation in Animals*. Berlin: Springer.
- Wiltschko W, Wiltschko R. 2005. Magnetic orientation and magnetoreception in birds and other animals. *J Comp Physiol A Neuroethol Sens Neural Behav Physiol* 191: 675-693.
- Winklhofer M, Kirschvink JL. 2010. A quantitative assessment of torque transducer models for magnetoreception. *J R Soc Interface* 7: S273-S289.
- Wu LQ, Dickman JD. 2011. Magnetoreception in an avian brain in part mediated by inner ear lagena. *Curr Biol* 21: 418-423.
- Wu LQ, Dickman JD. 2012. Neural correlates of a magnetic sense. *Science* 336: 1054-1057.
- Yang S, Arguello JR, Li X, Ding Y, Zhou Q, Chen Y, Zhang Y, Zhao R, Brunet F, Peng L. 2008. Repetitive element-mediated recombination as a mechanism for new gene origination in *Drosophila*. *PLoS Genet* 4:e3.
- Yu-Hong Z, Yong Z, Tong-Jun Z, Ying-Tong H, Hui L. 2007. Mechanism of permeation in calcium channels activation by applied magnetic fields. *Conference Proceedings IEEE Eng Med Biol Soc* 2007: 1391-1393.
- Zar JH. 1999. *Biostatistical Analysis*. Prentice Hall, Englewood Cliffs, NJ.
- Zhang QM, Tokiwa M, Doi T, Nakahara T, Chang PW, Nakamura N, Hori M, Miyakoshi J, Yonei S. 2003. Strong static magnetic field and the induction of mutations through elevated production of reactive oxygen species in *Escherichia coli* sox. R. *Int J Radiat Biol* 79: 281-286.

- Zhang X, Liu X, Pan L, Lee I. 2010. Magnetic fields at extremely low-frequency (50 Hz, 0.8 mT) can induce the uptake of intracellular calcium levels in osteoblasts. Biochemical and Bioph Res Comm 396: 662-666.
- Živanović G, Milanović M, Andjelković M. 1995. Chromosomal inversion polymorphism of *Drosophila subobscura* populations from Jastrebac Mountain shows temporal and habitat-related changes. J Zool Syst Evol Res 33: 81-83.

БИОГРАФИЈА

Даница Димитријевић рођена је 16.07.1984. године у Београду, где је завршила основну школу и гимназију. Студије на Биолошком факултету Универзитета у Београду, на смеру Физиологија животиња, завршила је 2008. године са просечном оценом 8,65. Дипломски рад под називом „Утицај магнетног поља (ЕНФ, 50 Hz, 0,5 mT) на моторно понашање и продукцију азот оксида код *Meriones unguiculatus* различите старости“ урадила је у Лабораторији за магнетобиологију Одељења за неурофизиологију Института за биолошка истраживања „Синиша Станковић“ под менторством др Бранке Јанаћ и др Лидије Раденовић и одбранила га 04.08.2008. године са оценом 10. Исте године уписала је докторске студије на Биолошком факултету Универзитета у Београду на смеру Генетика. Експериментални део докторске дисертације урадила је у лабораторији Одељења за генетику популација и екогенотоксикологију Института за биолошка истраживања „Синиша Станковић“ под менторством др Татјане Савић и др Софије Павковић-Лучић, а у оквиру пројекта бр. 173012 и 173027 финансираних од стране Министарства просвете, науке и технолошког развоја Републике Србије.

Од фебруара 2011. године запослена је као истраживач приправник у Лабораторији за материјале (170) Института за нуклеарне науке „Винча“ на пројекту бр. 45012 финансиран од стране Министарства просвете, науке и технолошког развоја Републике Србије под руководством др Матовић Бранка, а звање истраживач сарадник стиче 2012. године. Члан је Ентомолошког друштва Србије и Друштва генетичара.

Даница Димитријевић је публиковала 7 научних радова, учествовала са 7 саопштења на међународним научним скуповима и 3 саопштења на скуповима националног значаја.

Прилог 1.

Изјава о ауторству

Потписани-а Даница Димитријевић

број уписа Б502/2008

Изјављујем

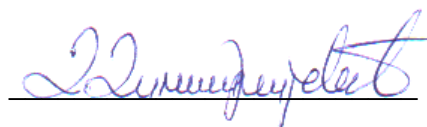
да је докторска дисертација под насловом

Утицај променљивог магнетног поља (50 Hz, 0,5 mT) на локомоторну активност и
компоненте адаптивне вредности *Drosophila subobscura* (Collin, 1936)

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

Потпис докторанда

У Београду, 20.06.2014.



Прилог 2.

Изјава о истовестности штампане и електронске верзије докторског рада

Име и презиме аутора Даница Димитријевић

Број уписа Б502/2008

Студијски програм Генетика

Наслов рада Утицај променљивог магнетног поља (50 Hz, 0,5 mT) на локомоторну активност и компоненте адаптивне вредности *Drosophila subobscura* (Collin, 1936)

Ментор др Татјана Савић и др Софија Павковић-Лучић

Потписани Даница Димитријевић

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

Дозвољавам да се објаве моји лични подаци везани за добијање академског звања доктора наука, као што су име и презиме, година и место рођења и датум одбране рада.

Ови лични подаци могу се објавити на мрежним страницама дигиталне библиотеке, у електронском каталогу и у публикацијама Универзитета у Београду.

Потпис докторанда

У Београду, 20.06.2014.

Прилог 3.

Изјава о коришћењу

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

Утицај променљивог магнетног поља (50 Hz, 0,5 mT) на локомоторну активност и компоненте адаптивне вредности *Drosophila subobscura* (Collin, 1936)

која је моје ауторско дело.

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

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

1. Ауторство

2. Ауторство - некомерцијално

③ Ауторство – некомерцијално – без прераде

4. Ауторство – некомерцијално – делити под истим условима

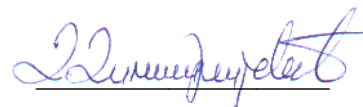
5. Ауторство – без прераде

6. Ауторство – делити под истим условима

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

Потпис докторанда

У Београду, 20.06.2014.



1. Ауторство - Дозвољавање умножавање, дистрибуцију и јавно саопштавање дела, и прераде, ако се наведе име аутора на начин одређен од стране аутора или даваоца лиценце, чак и у комерцијалне сврхе. Ово је најслободнија од свих лиценци.
2. Ауторство – некомерцијално. Дозвољавање умножавање, дистрибуцију и јавно саопштавање дела, и прераде, ако се наведе име аутора на начин одређен од стране аутора или даваоца лиценце. Ова лиценца не дозвољава комерцијалну употребу дела.
3. Ауторство - некомерцијално – без прераде. Дозвољавање умножавање, дистрибуцију и јавно саопштавање дела, без промена, преобликовања или употребе дела у свом делу, ако се наведе име аутора на начин одређен од стране аутора или даваоца лиценце. Ова лиценца не дозвољава комерцијалну употребу дела. У односу на све остале лиценце, овом лиценцом се ограничава највећи обим права коришћења дела.
4. Ауторство - некомерцијално – делити под истим условима. Дозвољавање умножавање, дистрибуцију и јавно саопштавање дела, и прераде, ако се наведе име аутора на начин одређен од стране аутора или даваоца лиценце и ако се прерада дистрибуира под истом или сличном лиценцом. Ова лиценца не дозвољава комерцијалну употребу дела и прерада.
5. Ауторство – без прераде. Дозвољавање умножавање, дистрибуцију и јавно саопштавање дела, без промена, преобликовања или употребе дела у свом делу, ако се наведе име аутора на начин одређен од стране аутора или даваоца лиценце. Ова лиценца дозвољава комерцијалну употребу дела.
6. Ауторство - делити под истим условима. Дозвољавање умножавање, дистрибуцију и јавно саопштавање дела, и прераде, ако се наведе име аутора на начин одређен од стране аутора или даваоца лиценце и ако се прерада дистрибуира под истом или сличном лиценцом. Ова лиценца дозвољава комерцијалну употребу дела и прерада. Слична је софтверским лиценцама, односно лиценцама отвореног кода.