

Az *Electrogena lateralis* kérész ivarilag kétalakú látórendszerének elektroretinográfiás vizsgálata különös tekintettel az időbeli felbontásra

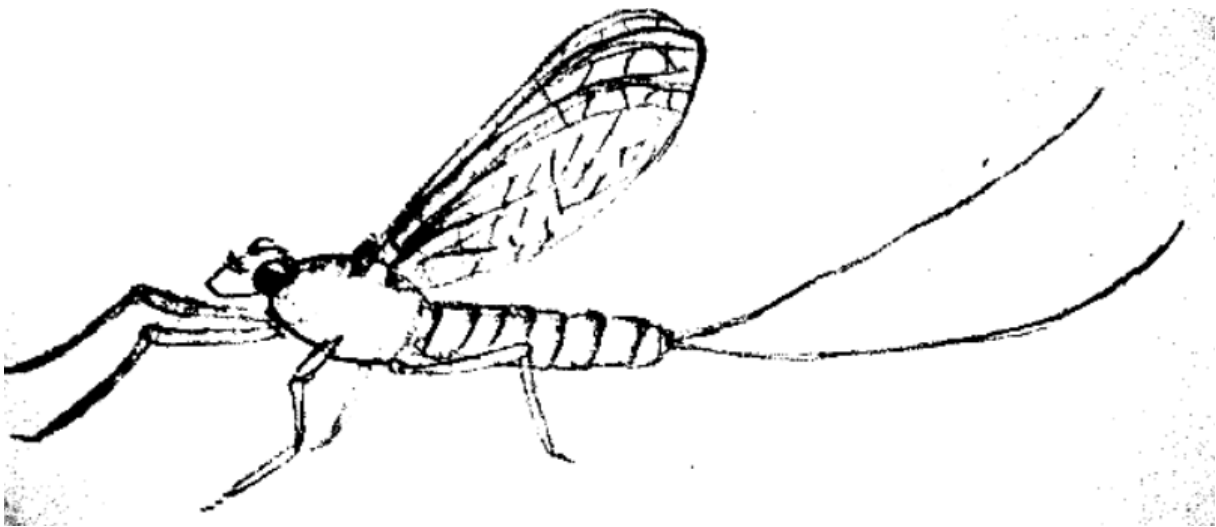
Jásdi Mihály

ELTE TTK Biológia BSc III. év, VI. félév

Kutatás intézménye: Ökológiai Kutatóközpont, Vízi Ökológiai Intézet

37. OTDK Biológia Szekció

2025. Április



Témavezető:

Egri Ádám tudományos munkatárs, PhD

HUN-REN Ökológiai Kutatóközpont,
Vízi Ökológiai Intézet,
Lendület Folyóvízi Ökológiai Kutatócsoport

Tartalom

Rövidítésjegyzék.....	3
Bevezetés.....	3
Anyag és módszer.....	8
Elektrofiziológiai mérések	9
Mérések elemzése.....	10
Statisztika.....	14
Eredmények	15
Diskusszió	16
Tételes szerzői hozzájárulás	18
Köszönetnyilvánítás	19
Hivatkozások.....	19

Absztrakt

A kérészek és más rovarok körében gyakori a látórendszer ivari kétalakúsága. Ez megnyilvánulhat mind morfológiai, viselkedésbeli és működésbeli különbségekben is, melyek rendkívül érdekesek, és érdemes őket eltérő módszerekkel vizsgálni. Kutatásom során az *Electrogena lateralis* [Heptageniidae] kérészfaj összetett szemének szexuális dimorfizmusát vizsgáltam az időbeli felbontás terén. A vizsgált faj hímjeinek összetett szeme két régióra osztható, melyből a ventrális a zöld és az UV tartományokra is érzékeny. Ezzel szemben a hímek dorzális szemrégiója csak UV fényre érzékeny és feltehetően a nőstények gyors érzékelésére szolgálhat. Hipotézisem szerint a hímek dorzális szemrégiójának nagyobb az időbeli felbontása, mint a ventrális szemrégióé és a nőstények osztatlan szemének. Vizsgálataim során elektroretinográfiás módszerekkel mértem sötétadaptált hímek és nőstények különböző szemrégióinak kritikus fúziós frekvenciáját (KFF), azaz időbeli felbontását. Eredményeim igazolták a hipotézisemet, miszerint a hímek dorzális szemrégiója jelentősen gyorsabban reagál a vizuális ingerekre (KFF = 148,7 Hz), mint a ventrális szemrégió (KFF = 104,1 Hz), illetve a nőstények szeme (KFF = 104,5 Hz). Ez a tulajdonság feltehetően a nőstények gyors felismerését szolgálja. A hímek ventrális szemrégiója és a nőstények osztatlan szeme gyakorlatilag azonos időbeli felbontással rendelkezik, ami vélhetően az általános tájékozódásban játszik szerepet.

Rövidítésjegyzék

KFF: Kritikus Fúziós Frekvencia

ERG: Elektroretinográfia

n. s.: Nem szignifikáns

UV: ultraibolya

tetsz. m.e.: tetszőleges mértékegység

f_{stim} : adott stimulus frekvenciája

$A(f)$: Amplitúdó-frekvencia függvény, röviden amplitúdó spektrum

ϵ : Az amplitúdó spektrum zajsintje az f_{stim} 25 Hz-es környezetében.

$A(f_{stim})$: $A(f)$ függvény értéke f_{stim} frekvenciánál

Bevezetés

A rovarok életmódjára, viselkedésére a fény igen jelentős hatással lehet (Owens és Lewis, 2018). Nem csoda, hiszen a látás a rovarvilágban is egy alapvető képesség. A fény rengeteg információt hordozhat egy élőlény számára, amiknek felfogásához megfelelően kifejlesztett látórendszer szükséges. A látórendszer akkor igazán jó, ha az adott viselkedéshez idomult, legyen az táplálkozás, navigáció vagy párkeresés.

Fény nélkül látás sem lenne. A fény elektromágneses hullám, amiben az elektromos térerősség a terjedési irányra merőlegesen rezeg. A fénynek alapvetően három tulajdonsága van: hullámhossz, intenzitás és polarizáció (Cronin és mtsai, 2014). A fény hullámhosszával két szomszédos, ugyanabban a fázisban rezgő elektromos térerősségvektor távolságát adjuk meg. Ez a fény színével kapcsolatos információt hordoz. Az emberi szem számára látható fény tipikus hullámhossz tartománya 400 nm és 700 nm között van. A fényintenzitás a rezgő elektromos tér amplitúdójával függ össze. Ha a fényt részecskeként értelmezzük, akkor a fény intenzitása a fotonszámmal arányos, vagyis, hogy egyszerre hány foton halad egy fénysugárban. Végül a fény polarizációját az elektromos tér rezgéssíkja határozza meg. Ha egy fénynyalábban az elektromos tér véletlenszerűen, mindenféle irányokban rezeg, akkor polarizálatlan fényről beszélünk, ha azonban van egy kitüntetett irány, akkor azt mondhatjuk, hogy a fény abban a kitüntetett irányban polarizált.

A rovarok látórendszere, annak működése, ökológiája és evolúciója rendkívül érdekes és változatos. Általában a rovarok kétféle szemmel rendelkeznek, egy kisebb méretű és egyetlen

struktúrából álló pontszemmel (ocellusszal) továbbá egy több strukturális elemből álló, általában nagyobb, összetett szemmel. Az összetett szem, ahogy a neve is mutatja több kisebb egységből áll, melyeket ommatídiumoknak nevezünk. Egy összetett szem akár több ezer ommatídiumból is állhat, melyek mindegyike a tér egy jól meghatározott irányába néz és egy kis térszögből gyűjti a fényt. Az ommatídiumok száma nagyban meghatározza, hogy az adott összetett szemnek mekkora a térbeli felbontása. A legnagyobb térbeli felbontással a szitakötők összetett szeme rendelkezik (Cronin és mtsai, 2014), kiknek az összetett szeme meglehetősen kiterjedt (Futahashi, 2016). Vannak azonban olyan rovarok, melyeknek sokkal kevesebb ommatídiumból áll az összetett szemük. Egészen extrém példaként említhetjük az *Eciton burchellii* hangyafaj katonáit, amiknek a szemét egyetlen ommatídium alkotja (Werringloer, 1932). Az ommatídium magában foglal egy lencsét, egy vagy több fényterelő kristályt és változó számú, általában 8 fényre érzékeny retinula sejtet (fotoreceptort), melyek mikrovillusos rhabdoméra régiói a szomszédos retinula sejtek azonos régiójával együtt képezik a rhabdomot (Kumar, 2012). Itt történik a fény ingerületté alakítása, azaz fototranszdukciója. A fényt rodopszinmolekulák nyelik el, majd egy kaszkádreakció eredményeképp Na^+ és Ca^{2+} kationok áramlanak be a fotoreceptorba, aminek következtében a fotoreceptorhoz csatlakozó idegsejtben hiperpolarizáció következik be (Montell, 1999; Hardie és Raghu, 2001) és létrejön az ingerület. Látórendszerük közvetítése által a rovarokra jelentős hatással lehetnek a környezetben előforduló vizuális ingerek.

Adott rovarfajok szemei nem ritkán más és más hullámhossz tartományokra érzékenyek és a látórendszerük felfogóképességének gyorsasága is nagyon változatos. Mi, emberek általában három féle fotoreceptor típussal rendelkezünk, amelyek a spektrum kék, zöld és vörös tartományára érzékenyek. Számos rovar ugyanígy három fotoreceptor típussal rendelkezik, ám azok az ultraibolya (UV), zöld és kék tartományokra érzékenyek (Menzel és Bakers, 1976). Vannak olyan hártácsszárnyú fajok és lepkék, amik vörös fényre érzékeny fotoreceptorral is rendelkeznek (Peitsch és mtsi, 1992, van der Kooi és mtsi 2021) továbbá a csupán két fotoreceptor típusból álló látórendszer (pl. UV és zöld) sem ritka a rovarvilágban. Például bizonyos csótányok, bogarak és poloskák esetében csak UV- és zöldérzékeny fotoreceptorokat találtak (Mazokhin-Porshnyakov és Chersakov, 1985; Jackowska és mtsai, 2007; Egri és mtsai, 2024).

Az elmúlt évtizedek során számos rovarfaj esetében az is kiderült, hogy a fény polarizációját is képesek érzékelni. E képesség többféle látási feladat során jól alkalmazható, legyen az méhek égboltpolarizáción alapuló navigációja (von Frisch 1949), a vízirovarok polarotaktikus vízdetekciója (Horváth és Csabai, 2014), vagy éppen nőstény bögölyök fénypolarizáción alapuló gazdaállatkeresése (Egri és mtsai, 2012).

Hogy egy adott élőlény szeme melyik spektrális tartományra mennyire érzékeny, elektroretinográfiás (ERG) mérésekkel határozható meg (Menzel, 1986; DeVoe és mtsai, 1997). Ugyancsak használhatóak elektrofiziológiai módszerek fotoreceptorok polarizációérzékenységének vizsgálatához (Belušić és mtsai, 2017). Elektroretinográfia során elektródát helyezünk a fotoreceptorok közé, majd fénnel való ingerlés mellett mérjük a receptorok elektromos potenciálváltozásként megnyilvánuló válaszreakcióit (DeVoe és mtsai, 1997).

A spektrális és polarizációérzékenységen kívül fontos jellemzője a szemnek az időbeli felbontása is. Vegyünk például egy képzeletbeli ki-be kapcsolható lámpát, ami egy adott frekvenciával villog. Ha a villogás frekvenciáját kezdetben 1 Hz-re állítjuk, majd elkezdjük növelni, akkor értelemszerűen látni fogjuk, ahogy egyre gyorsabban villog. Ha a lámpa másodpercenként ötvenszer villan fel, akkor azt mi, az emberi szemünkkel már gyakorlatilag egy folyamatosan világító fényforrásként látjuk (Inger és mtsai, 2014), míg a szobában lévő légy még villogásként észleli (Inger és mtsai, 2014). Azt a frekvenciát, aminél egy élőlény már éppen nem felvillanásokat lát, hanem folyamatosan jelenlévő fényt, Kritikus Fúziós Frekvenciának nevezzük (KFF). Ezt a szakirodalomban Critical Fusion Frequency-ként (CFF) vagy Flicker Fusion Frequency-ként (FFF) emlegetik (Meyer-Rochow, 2001) A dolgozat során én a KFF rövidítést fogom használni. A KFF mértékegysége Hertz (1/s) és arra utal, hogy milyen „gyorsan” képes a látórendszer reagálni a látómezőben bekövetkező változásokra. A KFF mérése szintén mérhető elektroretinográfiával (Warrant, 2016), azonban viselkedéses kísérletekből is következtethetünk az értékére (Mebourou és mtsai, 2018).

A különböző állati szemekben a kritikus fúziós frekvencia meglehetősen változatos határok között mozog. A legnagyobb KFF a rovarvilágban fordul elő legyekkel és szitakötőkkel az élen, kb. 300 Hz-es kritikus fúziós frekvenciával. Általánosságban elmondható, hogy azoknak a repülő rovaroknak magas a KFF értékük, amik gyorsan repülnek (Inger és mtsai, 2014). A magas KFF érték lehetővé teszi az akadályok, illetve például a préda gyors vizuális felismerését

(Warrant, 2016). A KFF értéke különbözhet a nappali, illetve éjszakai fajoknál is (Chatterjee, 2020; Ruck, 1958), továbbá az sem mindegy, hogy egy adott faj fényre adott válaszát melyik szemtípusban (összetett szem vagy ocellusz), vagy a szem melyik régiójában mérjük. Vannak az ocelluszt és az összetett szemeket érintő összehasonlító érdekes kutatások, melyek alapján nem válik szét az összetett szem és az ocellusz felbontóképessége (Ruck, 1961).

Ha vesszük ezeket a változókat, akkor máris rengeteg érdekességnek lehetünk szemtanúi. Egy változó vagy adott környezet érdekesebbnél-érdekesebb adaptációkat eredményezhet a rovarok látása kapcsán.

Erre jó példa, hogy egyes rovarok összetett szemének vagy azok egy apró részleteinek lehetnek kiemelt funkciói például a szaporodásban. Egyes legyek, például a *Musca domestica* hímjeinek esetében, a szem egy jól meghatározott frontális régiójának, melyet „love spot”-nak hívnak, nemcsak a térbeli felbontása nagyobb mint a környező szemrégióké, de az itteni fotoreceptorok 60%-kal gyorsabbak is. Mindennek a szaporodásban van fontos szerepe, hiszen megkönnyíti a nőstények gyors észrevételét (Hornstein, 2000).

A szem osztottságának drasztikus példájaként említhető a teleszkópszemű kérészek [Baetidae] látórendszere, ahol ez a tulajdonság ivari kétalakúsággal is párosul. A hímek rendelkeznek egy külön felfelé tekintő szempárral, az úgynevezett turbánszemekkel, amik kifejezetten a hímek felett elrepülő nőstények észrevételében játszanak fontos szerepet (Belfiore, 1981). A kérészek imágó állapotuk kezdetétől már csak a szaporodásra koncentrálnak. Többféle rajzás is lehetséges mely csoportonként másféle. Az erezett kérészek [Heptageniidae] és a teleszkópszemű kérészek [Baetidae] rajzása úgy épül fel, hogy a hímek alacsonyabban, a vízhez közel repülnek egy olyan helyen, ahol lehetőleg szabad rálátásuk van a nyílt égboltra. Amennyiben egy nőstény elrepül fölöttük azt üldözőbe veszik (Brodskiy, 1973). Horridge és McLean (1978) megmutatta, hogy az *Atalophlebia* kérészek felfelé tekintő turbánszemei kizárólag az ultraibolya fényre érzékenyek, ami a hímek számára a nőstények az égbolt, mint világos háttér előtt való elrepülésének hatékony detektálását teszi lehetővé.

Az összetett szem sok esetben a vízszintes tengely mentén hát-hasi irányban osztott, mely akkor előnyös, ha a tengely alatt és felett jellemzően más fajta ingereket kell észlelni. Kérészek esetén ez elterjedt tulajdonsága a szemnek (Kluge, 2004), azonban szintén hát-hasi osztottság

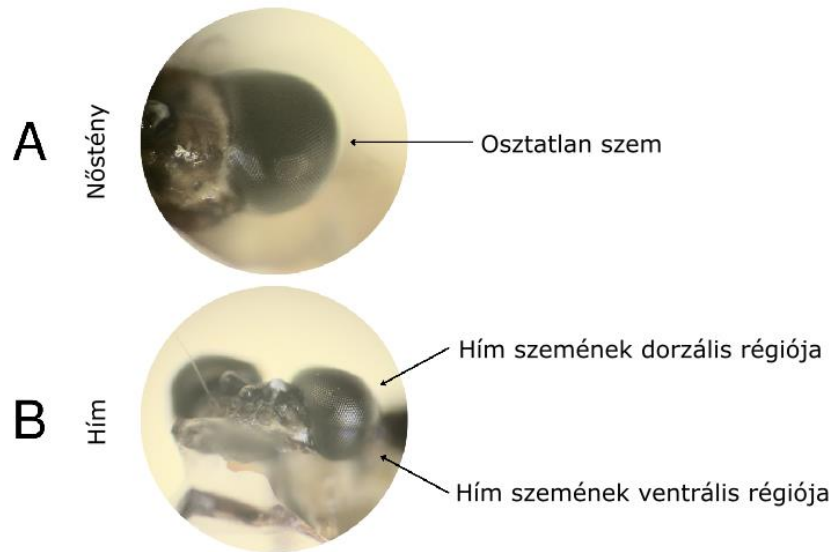
jellemző *Sympetrum* szitakötők és púposzúnyogok szemére, ahol a felső régió a kék ég, mint háttér előtt érzékeli a látómezőn átrepülő prédát (Labhart és Nilson, 1994; Stavenga, 1992).

Az *Electrogena lateralis* [Heptageniidae] kérész (1. ábra) hímjeinek összetett szeme ugyancsak két régióra osztott (2. ábra), melyek közül a felső (innentől dorzális) régiónak feltételezésem szerint hasonló a funkciója, mint a Baetidae hímek teleszópszemének (Belfiore, 1981). Az alsó (ventrális) szemrégió funkciója inkább az általános tájékozódásban játszhat szerepet. A nőstény összetett szeme a hímével ellentétben nem osztott. A hímek esetében a két szemrégió morfológiailag megkülönböztethető, határukon relatíve éles vonal látható.

Kutatásom előtt témavezetőm már mérte ez *E. lateralis* összetett szemeinek és szemrégióinak spektrális érzékenységét. Ebben én még nem vettem részt, azonban e még publikálatlan eredmények fontos alapját képezik a munkámnak. Az előzetes spektrális érzékenység mérések eredményeként elmondható, hogy a hímek alsó, ventrális szemrégiója és a nőstények szeme nagyon hasonló módon elsősorban a zöld spektrális tartományra érzékeny hozzávetőlegesen 540 nm-nél mért érzékenységi maximummal. E mellett az UV-ben is van egy másodlagos érzékenységi maximum 370 nm-nél. A hímek dorzális szemrégiója azonban csak és kizárólag az UV fényre érzékeny hozzávetőlegesen 350 nm-nél mérhető érzékenységi maximummal.



1. ábra: Egy *Electrogena lateralis* nőstény egyed, ami éppen az akvárium üvegfalán pihen. A fényképet Egri Ádám készítette.



2. ábra: Az *Electrogena lateralis* kérészek összetett szemei. (A) A nőstények szemei egyetlen régióból állnak, osztatlanok, míg a hímek összetett szemei (B) egy dorzális és egy ventrális régióból állnak, mely két régió sztereomikroszóp alatt elkülöníthető. A fényképet Egri Ádám készítette.

Korábban Horridge és McLean (1977) ugyan már kimutatott eltérést az *Atalophlebia* kérészfaj esetén a turbánszem és ventrális szem régió spektrális érzékenysége között, azonban időbeli felbontás terén lévő különbséget vizsgáló kutatásra eddig nem volt példa kérészek esetén. Emellett más rovarrendeket figyelembe véve is csak Hornstein (2000) cikkje áll rendelkezésre, mely az időbeli felbontás terén ivari dimorfizmust vizsgál.

A kutatásom alapkérdése az, hogy az *E. lateralis* összetett szemének ivari kétalakúsága vajon milyen látásbeli különbségeket von maga után, különös tekintettel a szem időbeli felbontására. Gyorsabb reagálású-e a hímek dorzális szeme a ventrálisnál és a hímek ventrális szeme vajon azonos „sebességgel” észleli-e a világot, mint a nőstények szeme?

Ezeket a kérdéseket vizsgáltuk elektroretinográfiával és matematikai módszerekkel.

Anyag és módszer

A vizsgált kérészeket lárvá korban gyűjtöttük be a Holdvilág-árokbanál (47° 40' 6.898" 18° 58' 0.109") 2023. május 2-án. A kikelésig, ami körül-belül 2-3 héten belül megtörtént, egy rovarketrecbe helyezett levegőztetett akváriumban tartottuk őket. Táplálékul a patakából származó kövek algabevonata szolgált számukra.

Elektrofiziológiai mérések

A KFF mérésének a lényege, hogy meghatározzuk azt a legnagyobb frekvenciát, aminél a vizsgált szem még éppen villogásként érzékel egy adott spektrumú stroboszkopikus fényinger. Ehhez változtatható frekvenciával villogó fénnel ingereljük a szemet és vizsgáljuk, hogy a fotoreceptorok elektromos válaszjeleiben jelen van-e az eredeti stroboszkopikus fényinger frekvenciájának megfelelő moduláció.

Egy adott mérés előkészületeként következőképpen preparáltuk a vizsgálandó egyedeket: az imágókat a rovarketrecből való befogás után egy plexidarabkára helyeztük, majd celluxszal leszorítottuk az egyedek torát, szárnyait és potrohát, majd olvasztott paraffinnal a szájszervet és a csápokat rögzítettük a plexihez, úgy, hogy a szemek hozzáférhetőek maradjanak, de a rovar ne tudjon hozzáérni az elektródokhoz, vagy elmozdulni, ezzel befolyásolva a mérést.

Ezt követően telített KNO_2 oldatban hegyezett volfrám elektródokat illesztettünk a preparátumba. A mérőelektródot a szembe, a referenciaelektródot pedig a torba szúrtuk sztereomikroszkóp alatt manuális mikromanipulátorok segítségével. Ezután harminc perc sötétadaptáció következett, miáltal a fotoreceptorok a lehető leginkább fényérzékenyekké váltak. Ezt követően kezdődhetett a mérés.

Fényforrásként egy házilag épített, Arduino UNO fejlesztőpanelre alapozott, LED-es eszközt használtunk, ami 16 különféle hullámhosszú, kvázi monokromatikus stroboszkopikus fényingert volt képes létrehozni és egy fényvezetőn keresztül a preparátum szemébe juttatni. Minthogy a spektrális érzékenység előzetes vizsgálata során témavezetőm már meghatározta, hogy az *Electrogena lateralis* kérészek összetett szemében legalább két, egy UV- és egy zöldérzékeny fotoreceptor található, két hullámhosszon, 372 nm-en (UV) és 520 nm-en (zöld) végeztünk méréseket. Ez alól csak a hímek dorzális szemrégiója volt kivétel, amiket csak 372 nm-es UV fénnel stimuláltunk, mivel azok kizárólag az UV fényre érzékenyek. A fényforrásról további részletek Egri és Kriska (2019) munkájában olvashatóak.

A fotoreceptorok válaszjeleit egy Model 3000 AC/DC differenciális erősítő (A-M Systems, Carlsborg, Washington, USA) segítségével erősítettük, majd egy USB-s hangkártyába (C-Media CM6206 chipset) vezettük, ami házilag át volt alakítva DC jelek felvételére. Az erősítő beállításainál külön figyeltünk arra, hogy a 0.1 – 150 Hz-es frekvenciák csillapítatlanul áthaladhassanak rajta. A fotoreceptorok elektromos válaszait, mint elektromos potenciált az

idő függvényében az ingyenes Audacity 2.2.1 hangrögzítő szoftver (<https://www.audacityteam.org>) segítségével rögzítettük 16-bites veszteségmentes WAV formátumban 8000 Hz-es mintavételi frekvenciával. A méréshez a hangkártya mindkét, bal és jobb csatornáját használtuk. A bal csatornán rögzítettük a fotoreceptorok ERG jeleit, míg a jobb csatornán egy referenciajelet, ami minden fényinger esetén egy ismert amplitúdójú impulzussorozatként jelezte a fény jelenlétét. A referenciajelnek két szempontból volt haszna. Egyrészt a későbbi kiértékelés során megkönnyítette a fotoreceptorok válaszeleinek automatizált megtalálását a bal csatornán, illetve általa vált lehetségessé a mért jelek potenciáljának kalibrálására. A mérések előtt mind a bal és jobb csatorna esetében megbizonyosodtunk arról, hogy a WAV hangfájl adatpontjai hangkártya bemeneteinek lineáris függvénye. Ez a ± 1 V tartományban teljesült, így minden esetben úgy állítottuk be az erősítést, hogy e tartományban mozogjon a hangkártyába bemenő jel amplitúdója.

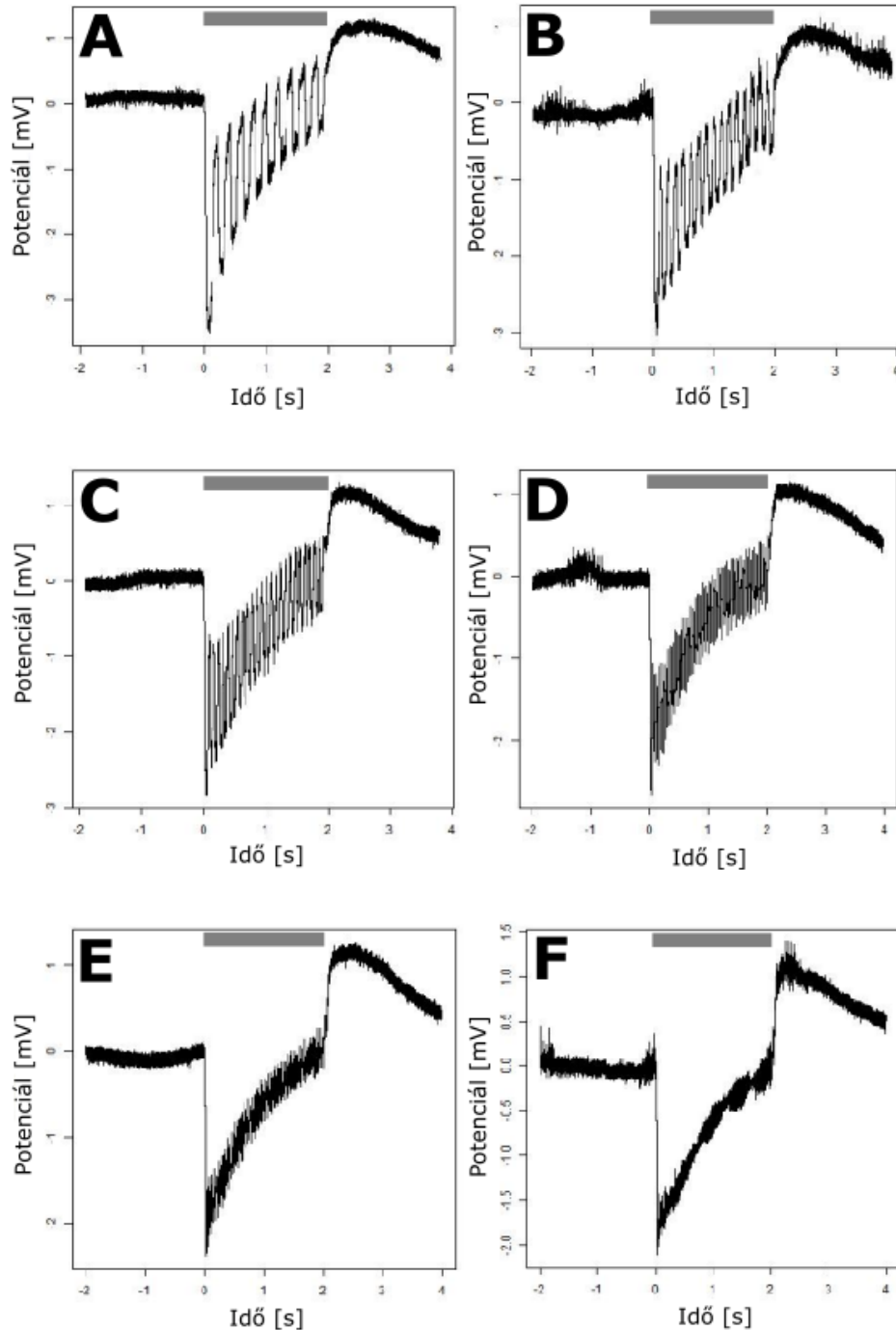
A mérés menete a következő volt. A sötétadaptáció után 5 és 150 Hz között 25 -féle (5, 6, 7, 8, 9, 10, 12, 13, 16, 18, 21, 24, 27, 32, 36, 42, 48, 56, 64, 74, 85, 98, 113, 130, 150 Hz) logaritmikusan növekvő frekvenciájú, 372 nm (UV) és 520 nm (zöld) hullámhosszú stroboszkópikus fényinger sorozattal ingereltük az összetett szemet. Minden fényinger 2 másodperc hosszú volt és 10 másodperces sötét szakaszok határolták őket, hogy a sötétadaptáltság minél inkább megmaradjon. Az UV és zöld fény átlagos intenzitása rendre 2×10^{15} és $1,2 \times 10^{15}$ foton $\cdot$ cm $^{-2}$ $\cdot$ s $^{-1}$ volt. Először az 520 nm esetén futott végig a stimulussorozat, majd a 372 nm esetén, majd az egész 3-szor megismétlődött. Hímek esetén külön mérést végeztünk az összetett szem dorzális és ventrális régióján, míg a nőstények esetén az összetett szem közepébe helyezett elektródával mértünk. A mérés befejeztével az egyedeket alkoholban tároltuk.

A kísérletek során összesen 9 hím és 6 nőstényt vizsgáltunk meg, így összesen huszonnégyszer mérésünk volt.

Mérések elemzése

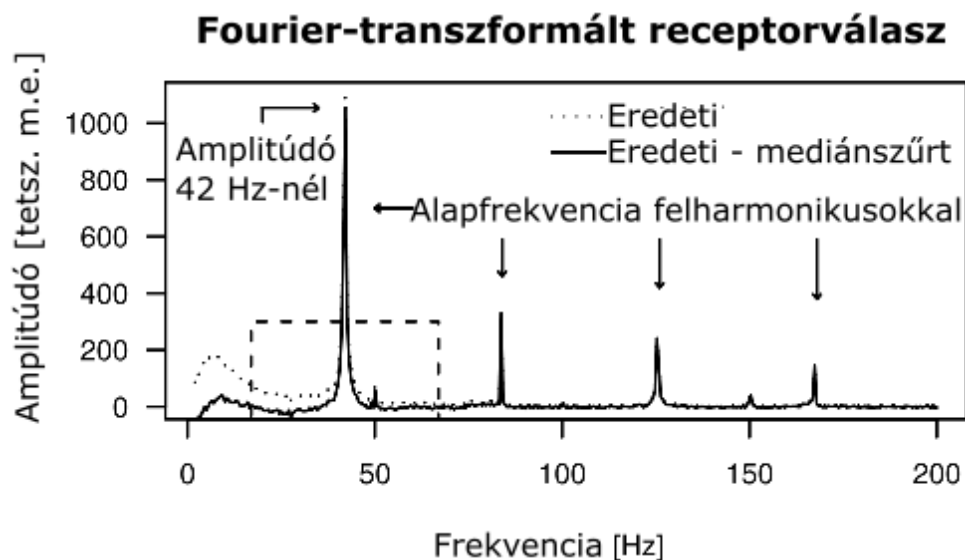
Az elemzéshez az R 4.3.2-t (R Core Team, 2023) és hozzá tartozó package-eket („bioacoustics”, „minpack.lm” és „readODS”) használtam föl.

Egy adott preparátum és adott hullámhossz esetén a KFF meghatározása a következőképpen történt. Minden egyes alkalmazott f_{stim} stimuláló frekvencia esetén kivágtam a mért idősből azt a bizonyos 2 másodpercet, amíg a stroboszkopikus stimulus tartott (3. ábra).



3. ábra: Egy 5 (A), 8 (B), 12 (C), 18 (D), 27 (E) és 42 (F) Hz-es stimulusra adott receptorválasz az idő függvényében. Minden grafikon esetén a $t = 0$ s-nál indul a 2 másodperc hosszú fényinger (szürke sáv).

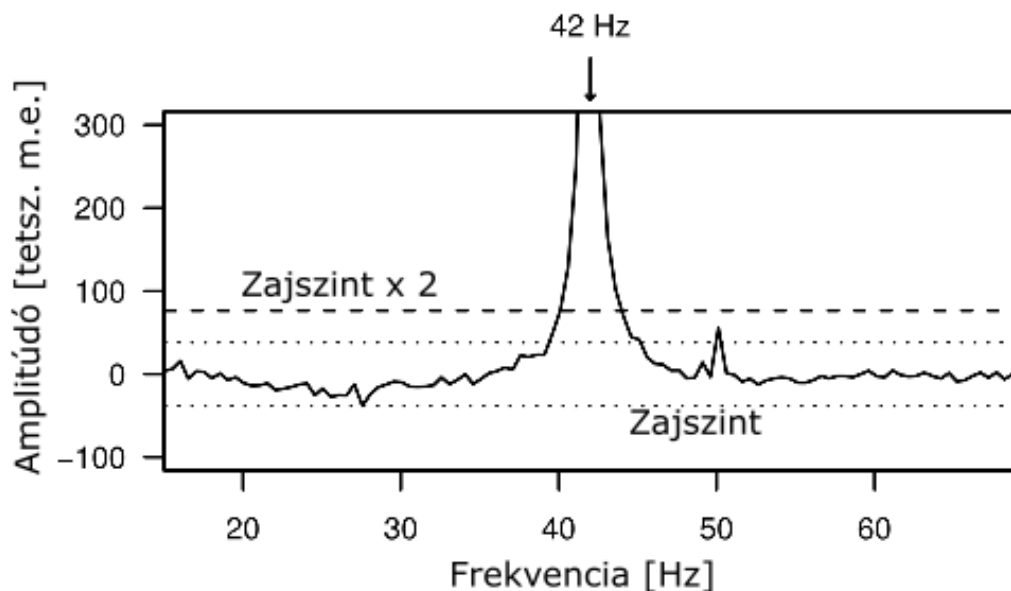
Ezt követően a kivágott jelet Fourier transzformáltam, így az adott stimulushoz egy $A(f)$ amplitúdó spektrumot kaptam, aminek pontjai arról szolgáltatnak információt, hogy a receptorválaszban a különböző frekvenciájú komponensek mekkora amplitúdóval vannak jelen. Az amplitúdó spektrumból kivontam önmagának egy 50 Hz széles ablakkal mediánszűrt változatát, így az eredeti spektrum alapvonala minden frekvencián a nullához közel került (a dolgozat során a későbbiekben amplitúdó spektrumként erre a korrigált spektrumra gondolok). Ezután az amplitúdó spektrumban megkerestem azt az amplitúdó értéket, amit az adott stimulusfrekvenciához (f_{stim}) tartozott, vagyis számszerűsítettük, hogy a stroboszkopikus stimuláció mennyire volt képes oszcillációt létrehozni a receptorválaszban. Tehát az adott f_{stim} -nél lévő amplitúdót megkeresve, megkaptam a receptorválasz mértékét az adott stimulusra (4. ábra).



4. ábra: Egy 42 Hz-es stroboszkopikus fényingerre adott receptorválasz Fourier-transzformáltja. A pontozott vonal az eredeti amplitúdó spektrumot mutatja, a folyamatos az eredeti és a mediánszűrt spektrum különbségét. A szaggatott vonallal jelölt négyzet szélessége egyrészt a mediánszűréshez használt ablak méretét mutatja. Másrészt pedig a stimulusfrekvencia (jelen esetben 42 Hz) azon környezete, amin belül a további kiértékelés történt. Az ábrán jól láthatóak a receptorválasz spektrumában a felharmonikusok, melyek a stimulusfrekvencia egész számú többszörösei.

KFF méréseknél általános jelenség, hogy a frekvencia növekedtével csökken a moduláció amplitúdója a receptorválaszban, majd a KFF elérésekor beleolvad a zajba. Annak automatikus

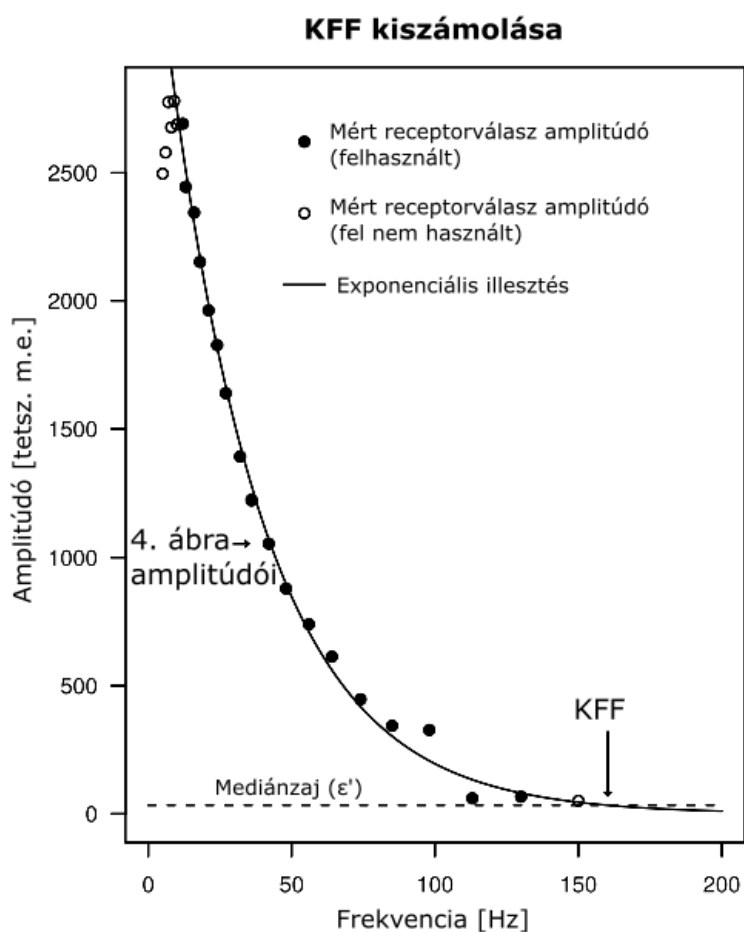
eldöntésére, hogy egy adott frekvenciánál van-e mérhető moduláció, vagy már beleolvadt-e a zajba, a következő eljárást alkalmaztam. Az amplitúdó spektrumban az f_{stim} 25 Hz-es környezetében (4. és 5. ábrák) meghatároztam a legkisebb amplitúdóértéknek az abszolútértékét (ϵ), amit a zaj amplitúdójának neveztem el (5. ábra)



5. ábra: A példaként felhozott $f_{\text{stim}} = 42$ Hz-es stimulus esetén az amplitúdó spektrum az f_{stim} 25 Hz-es környezetében (4. ábra szaggatott vonallal jelölt téglalapja). Az ábrán az ϵ zajszint pontozott vonalpárral van jelölve. A további számoláshoz használt kétszeres zajszintet (2ϵ) szaggatott vonal jelöli. Mivel az amplitúdó $f_{\text{stim}} = 42$ Hz-nél nagyobbak adódott, mint 2ϵ , a stimuláció hatása egyértelműen megmutatkozott a receptorválaszban, azaz a szem villogónak érzélte a fényingert.

Ha az amplitúdó spektrum értéke f_{stim} -nél nagyobb volt, mint 2ϵ , akkor úgy vettem, hogy a stimuláció hatása modulációként jelen van a receptorválaszban. Más szóval az amplitúdó spektrumban f_{stim} -nél határozottan jelen van egy zajból kiemelkedő csúcs, ami a stimuláció következménye. Az összes stimuláló frekvencia kiértékelése után ábrázoltam az f_{stim} függvényében az $A(f_{\text{stim}})$ amplitúdókat és csak azokat a pontokat figyelembe véve, ahol a stimuláció hatása modulációként jelen volt a receptorválaszban, egy lecsengő exponenciális függvényt illesztettem a pontokra. Azt a frekvenciát vettem KFF-nak, ahol ez az exponenciális függvény metszette az $A(f) = \epsilon'$ konstans függvényt, ahol ϵ' azoknak az amplitúdózaj

értékeknek a mediánja, amiknél a stimuláció még modulációt eredményezett a receptorválaszban (6. ábra). Preparátumonként és hullámhosszanként 3 stimulussorozat-ismétlést alkalmaztunk, így mindegyik esetre külön elvégeztem a fenti számítást. Adott hullámhosszra átlagoltam a kapott 3 KFF értéket. Így az UV és zöld stimuláció esetére kaptam egy-egy KFF értéket az adott preparátumhoz.



6. ábra: A receptorválaszok amplitúdóspektrumának amplitúdó értékei különböző stimuláló frekvenciánál az illesztett lecsengő exponenciális görbével. A fekete pontok azokat a stimulusfrekvenciákat jelölik, amik egyértelmű modulációt okoztak a receptorválaszban, míg az üres karikák azokat a stimulusfrekvenciákat, amikre a receptorválasz elveszett a zajban. Azt a frekvencia értéket tekintettük KFF-nak ahol az exponenciális görbe metszi az ϵ' értékű konstans függvényt (szaggatott vonal).

Statistika

Az egyes egyedekhez tartozó KFF értékeket 6 csoportba raktam aszerint, hogy hímek vagy nőstények, UV vagy zöld fénnel stimuláltuk őket, és hímek esetében az alapján is, hogy a ventrális, vagy dorzális szemrégió zajlott a mérés.

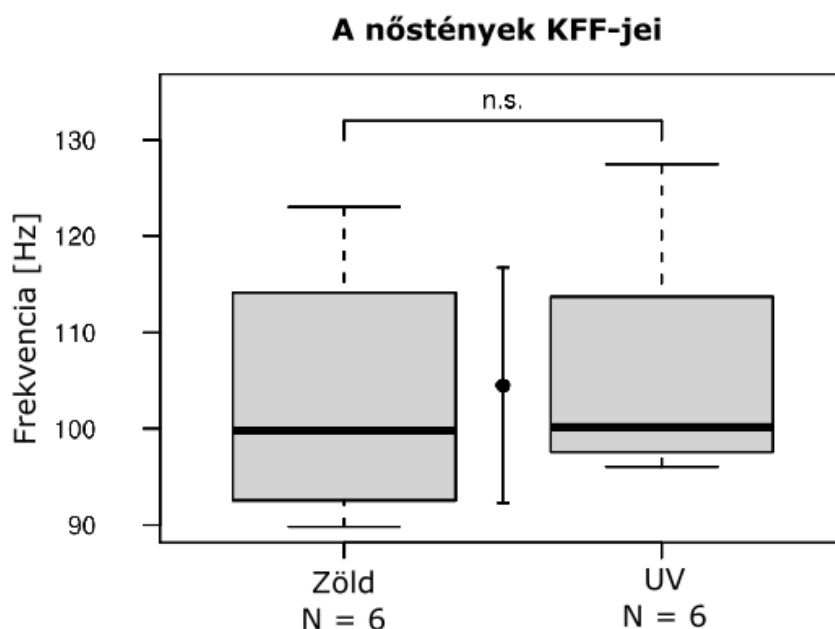
A nőstények szemeinek UV és zöld fénnel mért KFF értékeit párosítatlan Wilcoxon-féle rangösszeg próbával hasonlítottam össze.

A hímek ventrális szemének UV-ban és zöldben mért KFF értékeit és a hímek dorzális szemének UV-ban meghatározott KFF értékeit páronkénti párosítatlan Wilcoxon-féle rangösszeg próbával hasonlítottam össze Bonferroni korrekciót alkalmazva.

Eredményeinket Boxplotokon ábrázoltam.

Eredmények

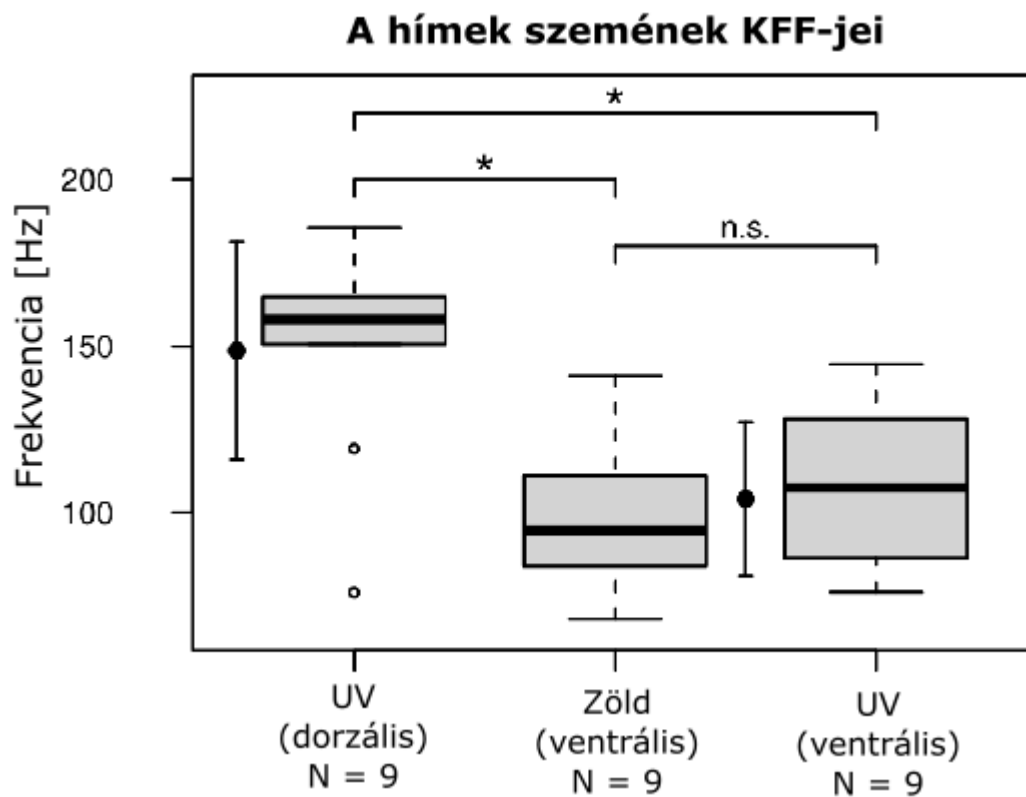
A nőstények UV és zöld fényben mért KFF-jei $\alpha = 0,05$ szignifikanciaszint mellett nem tértek el szignifikánsan egymástól a Wilcoxon-féle rangösszeg próba alapján ($W = 22$, $p = 0,5887$). Az összes nőstény szemben mért adatok alapján a nőstények KFF-je $104,5 \text{ Hz} \pm 12,2 \text{ Hz}$ (átlag $\pm$ szórás) (7. ábra).



7. ábra: A nőstények KFF-je zöld és UV fény mellett nem tér el. A középen található pont és a hibasávok az összes nőstény KFF adat átlagát és szórását mutatják. A két minta között nincs szignifikáns eltérés.

A Bonferroni korrigált páronkénti Wilcoxon-féle rangösszeg próba alapján $\alpha = 0,05$ esetén a hímek dorzális szemének KFF értéke szignifikánsan nagyobbak adódtak, mint a ventrális szemeké (ventrális zöld – dorzális: $p = 0,017$; ventrális UV – dorzális: $p = 0,032$). Emellett, a ventrális szem esetén zöld és UV fényt használva statisztikailag hasonló KFF értékeket kaptunk ($p = 1$). A dorzális szemnél a KFF $148,7 \text{ Hz} \pm 32,7 \text{ Hz}$ -nek, a ventrális szemnél pedig $104,1 \text{ Hz} \pm$

23,2 Hz-nek adódott (8. ábra). A ventrális szem esetén az átlag és szórás számításába mind a zöld és UV fény esetén mért KFF értékeket felhasználtuk.



8. ábra: A hímek dorzális és ventrális szemrégiójának KFF értékei. A ventrális szem esetén zöld és UV fénnel is végeztünk méréseket, míg a dorzális szem esetén csak UV fénnel. A két hibasávval ellátott pont, a dorzális és ventrális szemrégióra mért KFF értékek átlagát és szórását mutatja.

Diszkusszió

Az *Electrogena lateralis* [Heptageniidae] kérészek látására ivari dimorfizmus jellemző (Belfiore, 1981). A nőstények szeme és a hímek ventrális szeme zöld és UV fényt is érzékel, míg a hímek dorzális szeme csak UV fényre érzékeny. Vizsgálataim rámutattak arra, hogy nem csak a spektrális érzékenység, hanem a két szemrégió időbeli felbontása, tehát KFF-je között is eltérés található, miszerint a hímek dorzális szeme mintegy átlagosan 42%-kal „gyorsabb”.

A hímek ventrális szeme és a nőstények szeme hasonló funkciókat láthat el, melynek inkább az általános tájékozódáshoz és a veszély elkerüléséhez lehet köze. A kérészek nem a leggyorsabb röptű rovarok közül valók, így alapvetően nincs szükségük arra, hogy az esetleges akadályokat

gyorsan ki tudják kerülni. Ezért nem feltétlenül szükséges olyan „gyors” szemet fenntartaniuk az általános tájékozódáshoz, amilyennel például az akár 27-30 m/s-mal repülni képes bögyölök rendelkeznek (Mullen és Durden, 2019)

A hímek dorzális szemének feladata a hatékony párkeresés és a nőstények gyors észlelésének elősegítése lehet, akárcsak a *Musca domestica* „love spot”-jánál (Hornstein, 2000). Rajzásuk során a hím erezett kérészek [Heptageniidae] alacsonyabban repülnek, míg a nőstények magasabban (Brodskiy, 1973). Egy hím kérész a felfelé néző gyorsabb reagálású szemekkel hatékonyan tudja észlelni és követni a nőstényt, kihasználva az ég által adott világos háttérrel, hasonlóan, mint ahogyan a *Sympetrum* szitakötő fajok üldözik zsákmányukat a kék ég előtt (Labhart és Nilson, 1994). Így az általunk vizsgált fajnál valószínűleg az UV fényt kitakaró, felettük elrepülő nőstényeket keresik a hímek dorzális szemeikkel.

Az irodalomból ismert, hogy a KFF függ a szem fényadaptáltságától (Miall, 1978). Általában igaz az, hogy egy szemnek sötétadaptált állapotban kisebb az időbeli felbontása, mint fényadaptált állapotban. Rovaroknál akár 40-70% különbség is adódhat a KFF-ben abból, hogy a szem mennyire van hozzászokva a sötétséghez (Miall, 1978). Mivel a kísérleteinket sötétadaptált preparátumokon végeztük, valószínűsíthető, hogy egy életszerű szituációban az *E. lateralis* kérészek esetében az általunk kapott KFF értékeknél nagyobb értékek felelnek meg a valóságnak. Azonban a kapott különbségek minden bizonnyal megmaradnak, vagyis a hímek dorzális szeme terepen, az égboltfény által dominált szituációkban is jelentősen gyorsabb reagálású a ventrális szemnél, illetve a nőstények szeménél.

A jelenség kialakulására valószínűleg ivari szelekció hatott. Kérészeknél figyelték meg az üldözési játékot, mely során a nőstény nagy sebességgel halad és közben a hím próbálja őt a látóterében tartani és utolérni, (Horridge és McLean, 1978) ezen műveletre a szem területeinek megosztása egy remek stratégia. Vélhetően ez a működésbeli ivari különbség az összetett szemek felbontási sebességének terén nem csak az általunk vizsgált *Electrogena lateralis* [Heptageniidae] kérészfaj esetén áll fent, hanem a hasonlóan, vagy még extrémebb szexuális dimorfizmust mutató látórendszerek esetén is, ahol ezen tulajdonság fontos szerepet tölthet be a szaporodás sikerességében.

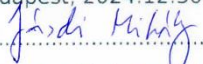
Tételes szerzői hozzájárulás

TÉTELES SZERZŐI HOZZÁJÁRULÁS

Alulírott **Jásdi Mihály** nyilatkozom, hogy a 37. OTDK-ra benyújtott (**Az Electrogena lateralis kérész ivarilag kétalakú látórendszerének elektroretinográfiás vizsgálata különös tekintettel az időbeli felbontásra**) című pályamunkámban leírtak esetében az alábbi munkafolyamatok elvégzésében vettem részt[1]:

Részfeladat ^[1]	A részvétel mértéke (öt fokozatú skálán* jellemezve)
Állatok preparálása	3
Elektroretinográfiás mérés	3
Mérések elemzéséhez R szkript írása	5
Adatok kivágása	5
Adatok Fourier-transzformációja	5
Regresszióanalízis elvégzése	5
KFF értékek meghatározása	5
Adatokon való statisztika elvégzése	5

Budapest, 2024.12.30.



Pályamunkát benyújtó hallgató (Jásdi Mihály) aláírása

A nyilatkozatban foglaltak helyességét megerősítem:



Témavezető (Egri Ádám, HUN-REN Ökológiai Kutatóközpont, Vízi Ökológiai Intézet) aláírása

5 - Felkészítés után a feladat teljes egészét önállóan végeztem a pályamunkához szükséges mennyiségben.

4 - Felkészítés után a feladat több mint felét önállóan végeztem a pályamunkához szükséges mennyiségben.

3 - Felkészítés után a részfeladat felét önállóan végeztem a pályamunkához szükséges mennyiségben.

2 - Felkészítés után a részfeladat kevesebb mint felét önállóan végeztem a pályamunkához szükséges mennyiségben.

1 - A részfeladatot folyamatos segítséggel végeztem a pályamunkához szükséges mennyiségben.

Köszönetnyilvánítás

Köszönöm szépen Egri Ádámnak, hogy részt vehettem eme érdekes téma kutatásában, valamint, hogy tanácsal és segítséggel látott el, amikor az elemzés és az elemzést lehetővé tevő R szkriptek írása során elakadtam.

Köszönöm szépen Dr. Kriska Györgynek, hogy továbbbított az adott témához, amikor megkerestem TDK-zási szándékommal.

Hivatkozások

Belfiore, C. (1981). On the Italian species of the *ecdyonurus lateralis* group (ephemeroptera, heptageniidae)*. Aquatic Insects, 3(3), 171–178.
<https://doi.org/10.1080/01650428109361059>

Belušič, G., Šporar, K., & Meglič, A. (2017). Extreme polarization sensitivity in the retina of the corn borer moth *Ostrinia*. Journal of Experimental Biology, jeb.153718.
<https://doi.org/10.1242/jeb.153718>

Brodskiy, A. K. (1973). The swarming behavior of mayflies (Ephemeroptera). *Entomol Rev*, 52(1), 33-9.

Chatterjee, P., Mohan, U., Krishnan, A., & Sane, S. P. (2020). Evolutionary constraints on flicker fusion frequency in Lepidoptera. *Journal of Comparative Physiology A*, 206(5), 671–681.
<https://doi.org/10.1007/s00359-020-01429-3>

Cronin, T. W. (2014). Visual ecology. Princeton University Press.

DeVoe, R. D., de-Souza, J. M., & Ventura, D. F. (1997). Electrophysiological measurements of spectral sensitivities: A review. *Brazilian Journal of Medical and Biological Research*, 30(2), 169–177. <https://doi.org/10.1590/S0100-879X1997000200003>

Egri, Á., Blahó, M., Sándor, A., Kriska, G., Gyurkovszky, M., Farkas, R., & Horváth, G. (2012). New kind of polarotaxis governed by degree of polarization: Attraction of tabanid flies to differently polarizing host animals and water surfaces. *Naturwissenschaften*, 99(5), 407–416.
<https://doi.org/10.1007/s00114-012-0916-2>

- Egri, Á., & Kriska, G. (2019). How does the water springtail optically locate proper habitats? Spectral sensitivity of photo- and polarotaxis in *Podura aquatica*. *Journal of Experimental Biology*, jeb.199760. <https://doi.org/10.1242/jeb.199760>
- Egri, Á., Mészáros, Á., Kriska, G., & Fail, J. (2024). Dichromacy in the brown marmorated stink bug? Spectral sensitivity of the compound eyes and phototaxis of *Halyomorpha halys*. *Journal of Pest Science*, 97(2), 657–666. <https://doi.org/10.1007/s10340-023-01655-z>
- Futahashi, R. (2016). Color vision and color formation in dragonflies. *Current Opinion in Insect Science*, 17, 32–39. <https://doi.org/10.1016/j.cois.2016.05.014>
- Hardie, R. C., & Raghu, P. (2001). Visual transduction in *Drosophila*. *Nature*, 413(6852), 186–193. <https://doi.org/10.1038/35093002>
- Hornstein, E. P., O'Carroll, D. C., Anderson, J. C., & Laughlin, S. B. (2000). Sexual dimorphism matches photoreceptor performance to behavioural requirements. *Proceedings of the Royal Society of London. Series B: Biological Sciences*, 267(1457), 2111–2117. <https://doi.org/10.1098/rspb.2000.1257>
- Horridge, G. A., & McLean, M. (1978). The dorsal eye of the mayfly *Atalophlebia* (Ephemeroptera). *Proceedings of the Royal Society of London. Series B. Biological Sciences*, 200(1139), 137–150. <https://doi.org/10.1098/rspb.1978.0011>
- Horváth, G., & Csabai, Z. (2014). Polarization Vision of Aquatic Insects. In G. Horváth (Szerk.), *Polarized Light and Polarization Vision in Animal Sciences* (o. 113–145). Springer Berlin Heidelberg. https://doi.org/10.1007/978-3-642-54718-8_5
- Inger, R., Bennie, J., Davies, T. W., & Gaston, K. J. (2014). Potential Biological and Ecological Effects of Flickering Artificial Light. *PLoS ONE*, 9(5), e98631. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0098631>
- Jackowska, M., Bao, R., Liu, Z., McDonald, E. C., Cook, T. A., & Friedrich, M. (2007). Genomic and gene regulatory signatures of cryptozoic adaptation: Loss of blue sensitive photoreceptors through expansion of long wavelength-opsin expression in the red flour beetle *Tribolium castaneum*. *Frontiers in Zoology*, 4(1), 24. <https://doi.org/10.1186/1742-9994-4-24>

Kluge, N. (2004). *The Phylogenetic System of Ephemeroptera*. Springer Netherlands. <https://doi.org/10.1007/978-94-007-0872-3>

Kumar, J. P. (2012). Building an ommatidium one cell at a time. *Developmental Dynamics*, 241(1), 136–149. <https://doi.org/10.1002/dvdy.23707>

Labhart, T., & Nilsson, D.-E. (1995). The dorsal eye of the dragonfly *Sympetrum*: Specializations for prey detection against the blue sky. *Journal of Comparative Physiology A*, 176(4). <https://doi.org/10.1007/BF00196410>

Mebourou, E. K., Bernáth, B., Schenker, D., & Guerin, P. M. (2018). Vision and genesis of survival strategies in tsetse flies: A laboratory study. *Journal of Insect Physiology*, 107, 212–223. <https://doi.org/10.1016/j.jinsphys.2018.04.008>

Menzel, R., & Blakers., M. (1976). Colour Receptors in the Bee Eye-Morphology and Spectral Sensitivity *. 108, 11–33.

Menzel, R., Ventura, D. F., Hertel, H., De Souza, J. M., & Greggers, U. (1986). Spectral sensitivity of photoreceptors in insect compound eyes: Comparison of species and methods. *Journal of Comparative Physiology A*, 158(2), 165–177. <https://doi.org/10.1007/BF01338560>

Meyer-Rochow, V. B. (2001). The Crustacean Eye: Dark/ Light Adaptation, Polarization Sensitivity, Flicker Fusion Frequency, and Photoreceptor Damage. *Zoological Science*, 18(9), 1175–1197. <https://doi.org/10.2108/zsj.18.1175>

Miall, R. C. (1978). The flicker fusion frequencies of six laboratory insects, and the response of the compound eye to mains fluorescent ‘ripple’. *Physiological Entomology*, 3(2), 99–106. <https://doi.org/10.1111/j.1365-3032.1978.tb00139.x>

Montell, C. (1999). Visual Transduction in *Drosophila*. *Annual Review of Cell and Developmental Biology*, 15(1), 231–268. <https://doi.org/10.1146/annurev.cellbio.15.1.231>

Mullen, G. R., & Duren, L. A. (2019). *Medical and Veterinary Entomology*, London, UK: Academic Press. <https://doi.org/10.1016/C2017-0-00210-0>

Owens, A. C. S., & Lewis, S. M. (2018). The impact of artificial light at night on nocturnal insects: A review and synthesis. *Ecology and Evolution*, 8(22), 11337–11358. <https://doi.org/10.1002/ece3.4557>

Peitsch, D., Fietz, A., Hertel, H., De Souza, J., Ventura, D. F., & Menzel, R. (1992). The spectral input systems of hymenopteran insects and their receptor-based colour vision. *Journal of Comparative Physiology A*, 170(1), 23–40. <https://doi.org/10.1007/BF00190398>

R Core Team (2023). *_R: A Language and Environment for Statistical Computing_*. R Foundation for Statistical Computing, Vienna, Austria. <https://www.R-project.org/>

Ruck, P. (1958). A comparison of the electrical responses of compound eyes and dorsal ocelli in four insect species. *Journal of Insect Physiology*, 2(4), 261–274. [https://doi.org/10.1016/0022-1910\(58\)90012-X](https://doi.org/10.1016/0022-1910(58)90012-X)

Ruck, P. (1961). Electrophysiology of the Insect Dorsal Ocellus. *The Journal of General Physiology*, 44(3), 641–657. <https://doi.org/10.1085/jgp.44.3.641>

Stavenga, D. G. (1992). Eye regionalization and spectral tuning of retinal pigments in insects. *Trends in Neurosciences*, 15(6), 213–218. [https://doi.org/10.1016/0166-2236\(92\)90038-A](https://doi.org/10.1016/0166-2236(92)90038-A)

V. Frisch, K. (1949). Die Polarisation des Himmelslichtes als orientierender Faktor bei den Tänzen der Bienen. *Experientia*, 5(4), 142–148. <https://doi.org/10.1007/BF02174424>

Van Der Kooi, C. J., Stavenga, D. G., Arikawa, K., Belušič, G., & Kelber, A. (2021). Evolution of Insect Color Vision: From Spectral Sensitivity to Visual Ecology. *Annual Review of Entomology*, 66(1), 435–461. <https://doi.org/10.1146/annurev-ento-061720-071644>

Warrant, E. J. (2016). Sensory matched filters. *Current Biology*, 26(20), R976–R980. <https://doi.org/10.1016/j.cub.2016.05.042>

Werringloer, A. (1932). Die Sehorgane und Sehzentren der Dorylinen nebst Untersuchungen über die Facettenaugen der Formiciden. *Z. Wissen. Zool.* 141, 432-524