

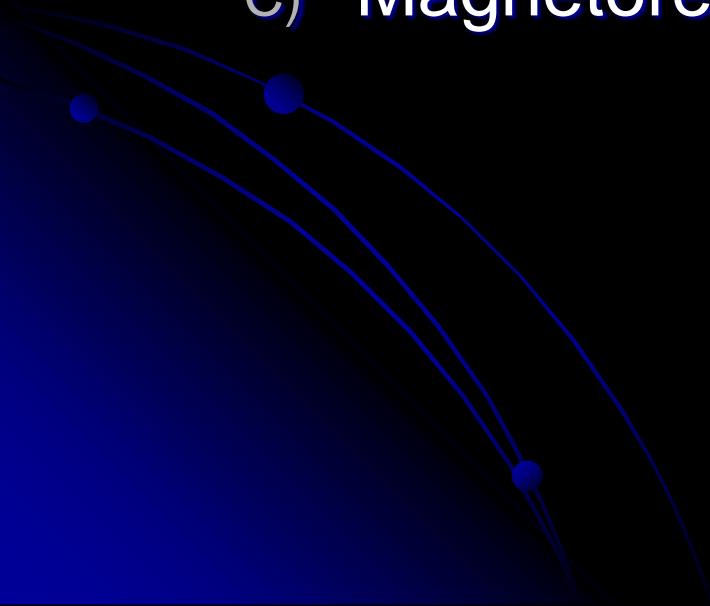
Bezobratlí v neuroetologii

Martin Vácha



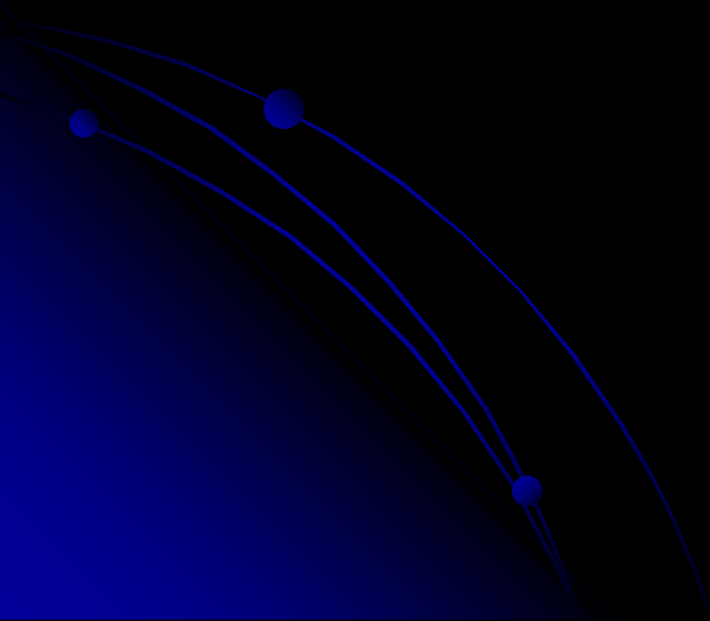
Bezobratlí v neuroetologii

- A) Bezobratlí jako model neuroetologických experimentů
- B) Podmiňování jako klíč k funkcím NS a smyslů
- C) Magnetorecepce hmyzu



Neuroetologie (behaviorální neurobiologie):

- Syntéza etologie a neurobiologie (60.I)
- Neurální podstata chování
- Nástroj řešení otázek neurofyzologie



A) Bezobratlí v neuroetologii:

- Jednoduchý, snadno přístupný nervový systém
 - Larva 10 tis neuronů, ad 100 tis. 3 mil.synapsí
- „Robustní“ behaviorální projev
- Laboratorní podmínky
- Snadný, levný a rychlý chov
- Mutantní linie

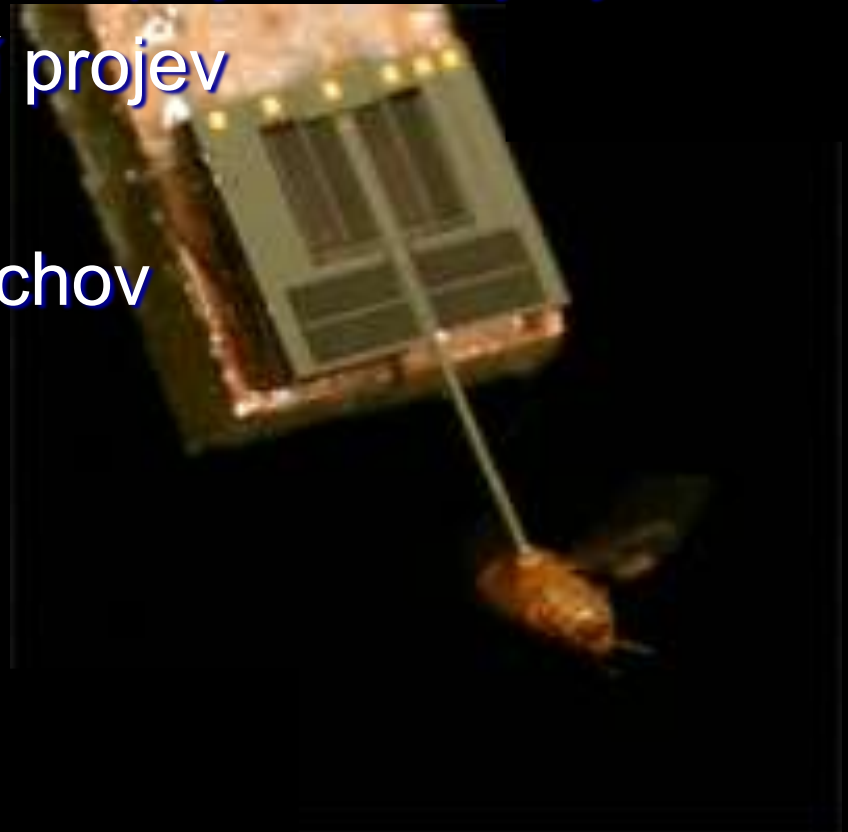


Bezobratlí v neuroetologii:

- Jednoduchý, snadno přístupný nervový systém
- „Robustní“ behaviorální projev
- Laboratorní podmínky
- Snadný, levný a rychlý chov
- Mutantní linie

=

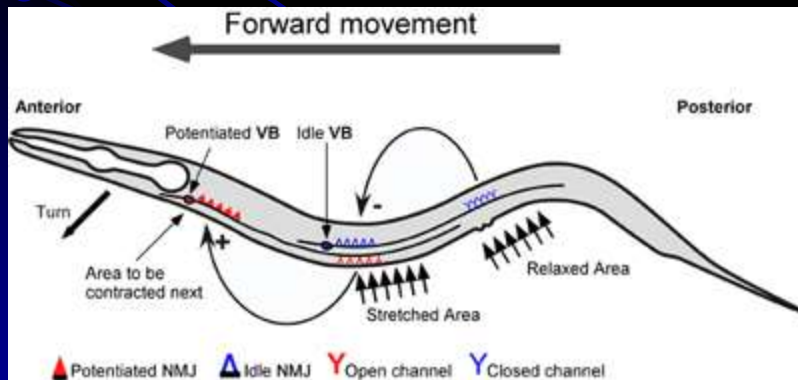
- Mimořádný význam



Bezobratlí v neuroetologii:

- Sensomotorické reflexy

Caenorhabditis elegans (hádčátko)



Bezobratlí v neuroetologii:

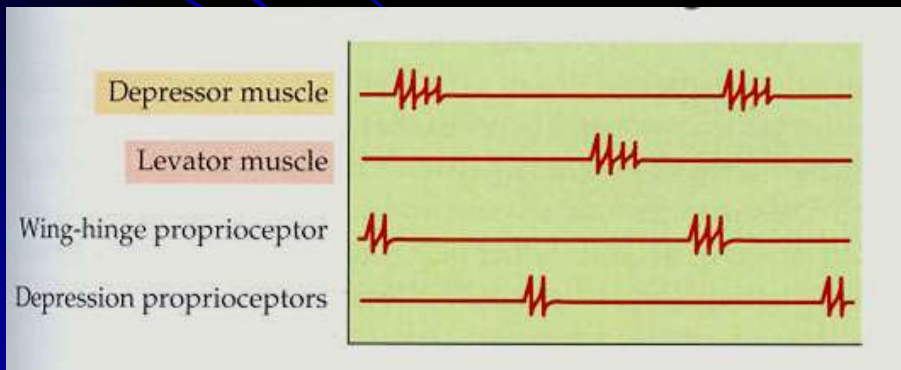
- Sensomotorické reflexy

Caenorhabditis elegans (hád'átko)



Bezobratlí v neuroetologii:

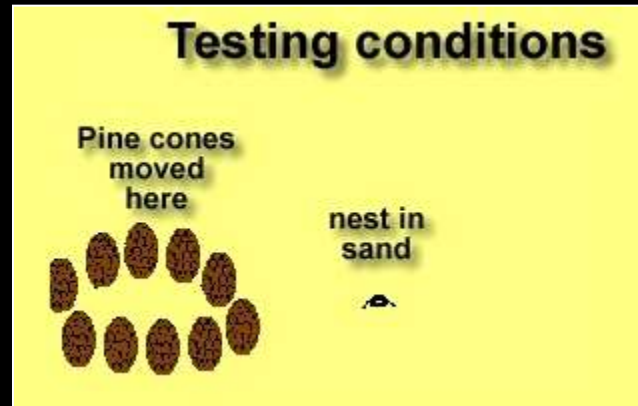
- Sensomotorické reflexy
- Motorické sekvence



Clione limacina (valovka plžovitá)
„Sea angel“

Bezobratlí v neuroetologii:

- Sensomotorické reflexy
- Motorické sekvence
- Orientace



N. Tinbergen
Nobelova cena 1973



Philanthus triangulum

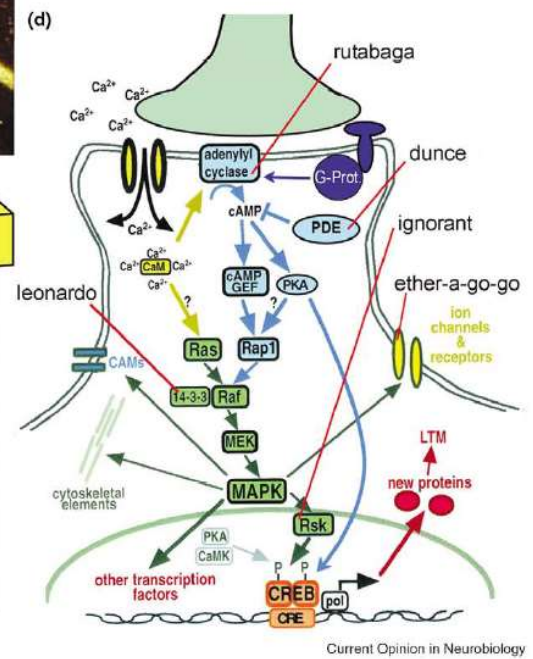
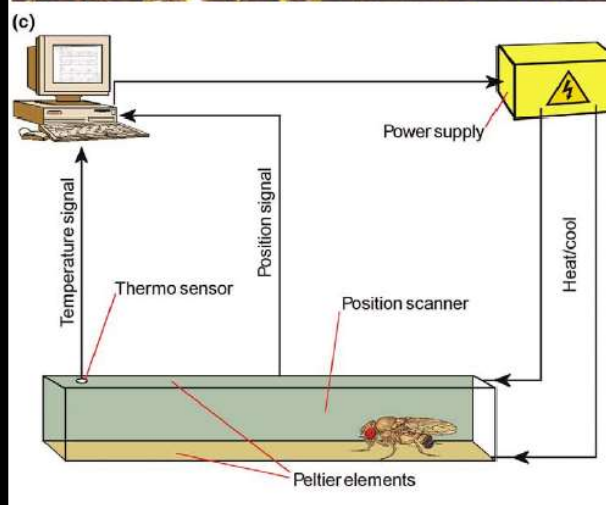
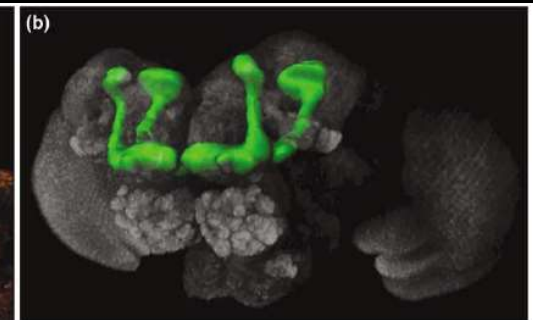
Bezobratlí v neuroetologii:

- Sensomotorické reflexy
- Motorické sekvence
- Orientace
- Komunikace



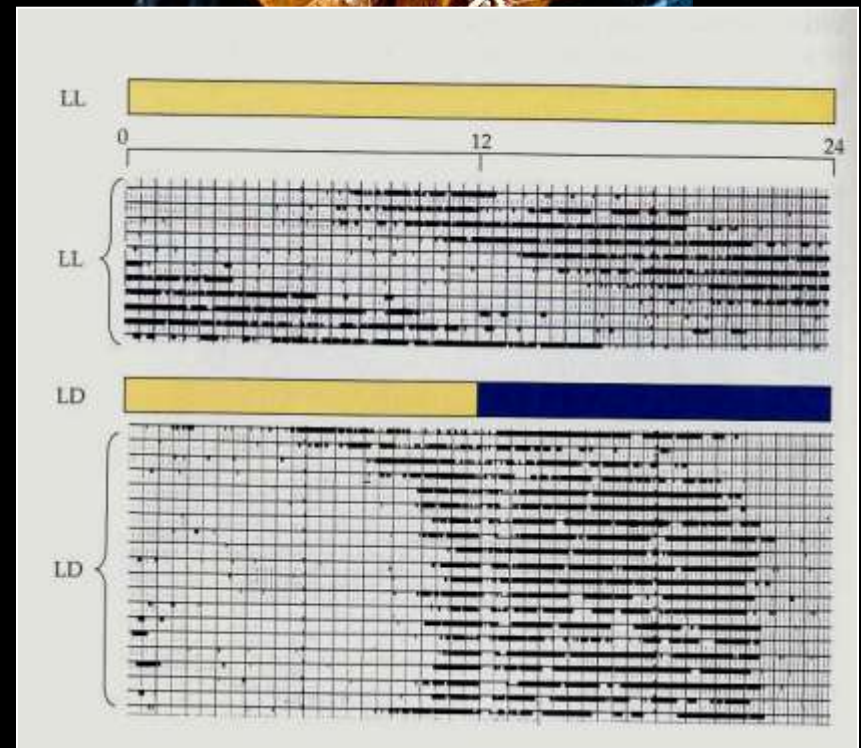
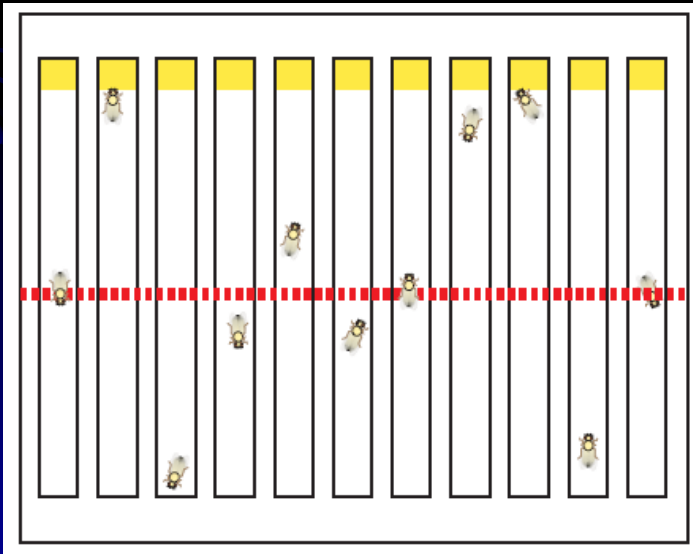
Bezobratlí v neuroetologii:

- Sensomotorické reflexy
- Motorické sekvence
- Orientace
- Komunikace
- Učení a paměť



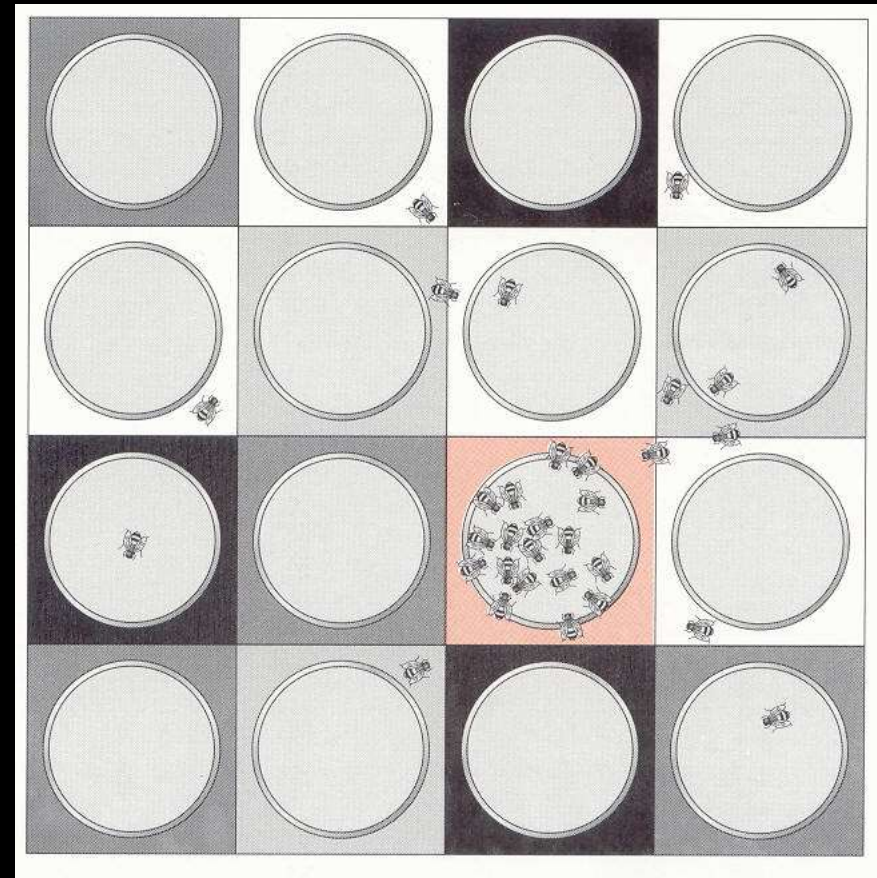
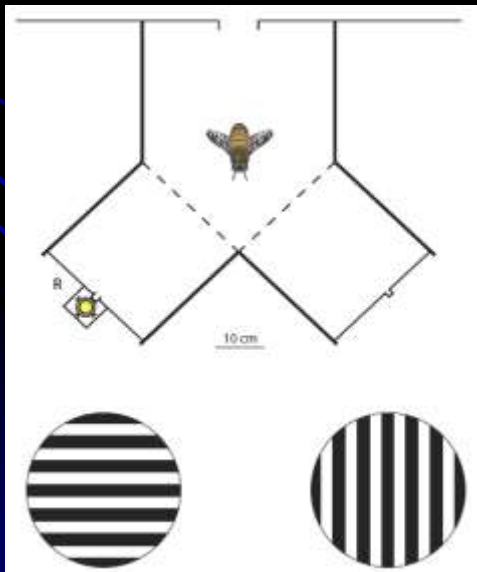
Bezobratlí v neuroetologii:

- Sensomotorické reflexy
- Motorické sekvence
- Orientace
- Komunikace
- Učení a paměť
- Circadiální rytmy



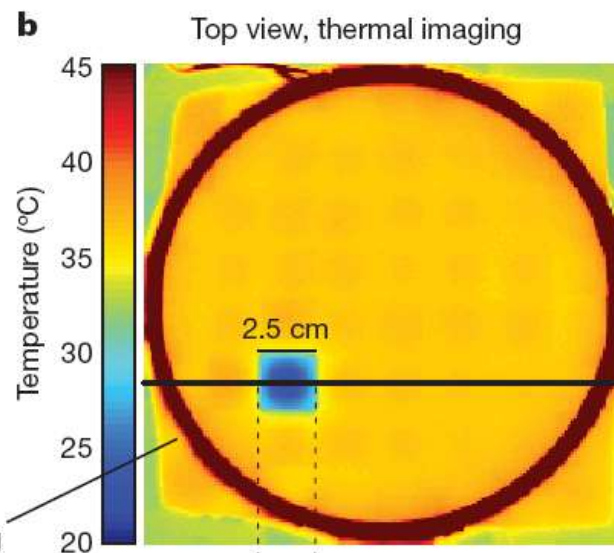
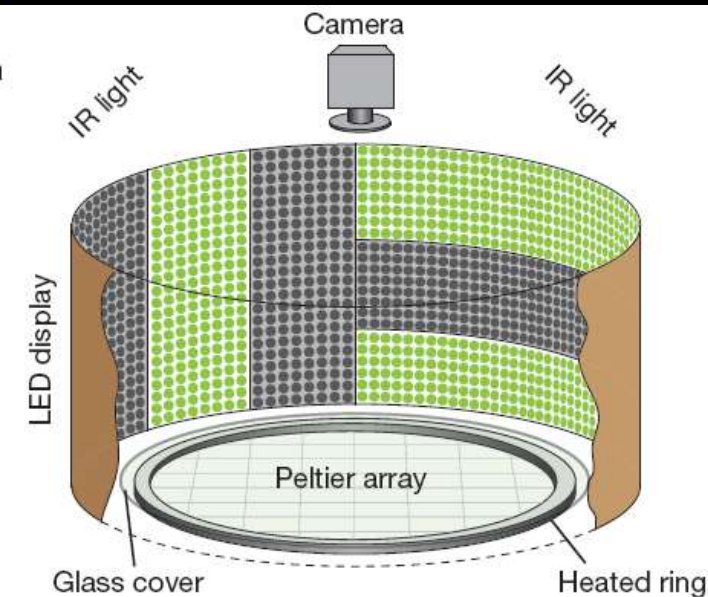
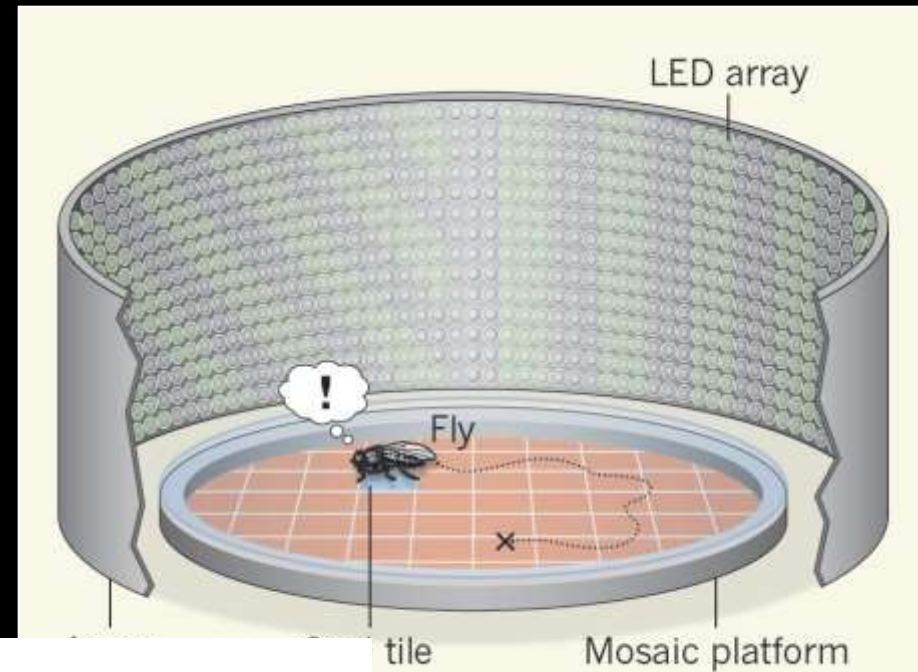
Bezobratlí v neuroetologii:

- Sensomotorické reflexy
- Motorické sekvence
- Orientace
- Komunikace
- Učení a paměť
- Circadiální rytmy
- Smyslové schopnosti



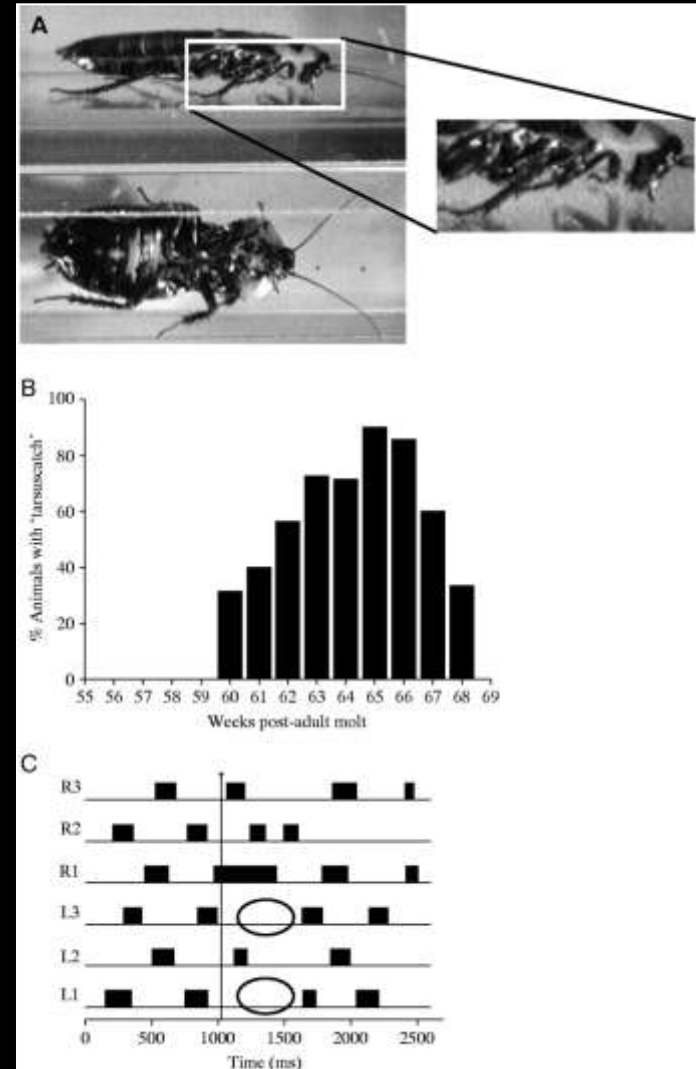
Bezobratlí v neuroetologii:

- Sensomotorické reflexy
- Motorické sekvence
- Orientace
- Komunikace
- Učení a paměť
- Circadiánní rytmy
- Smyslové schopnosti



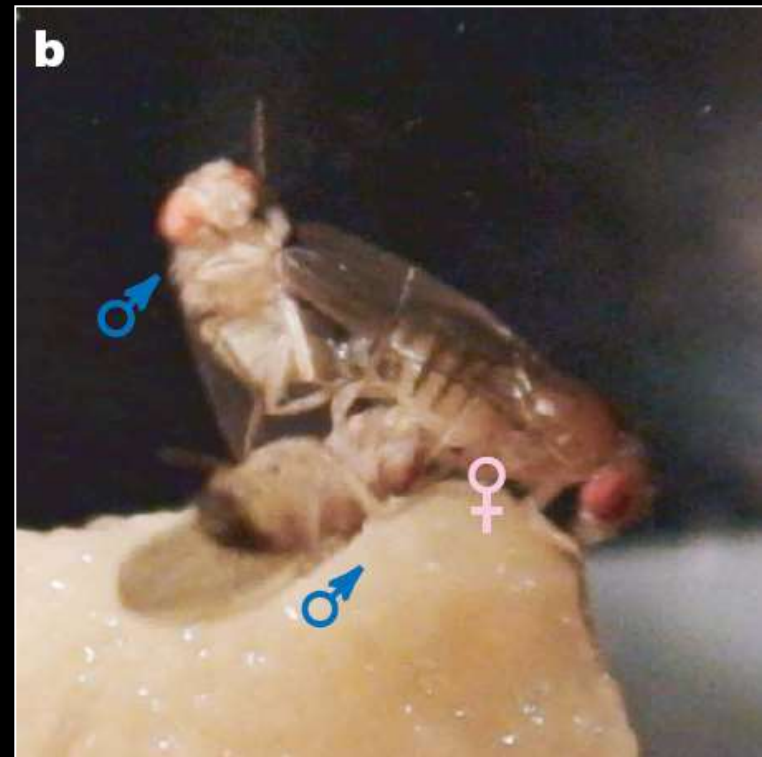
Bezobratlí v neuroetologii:

- Sensomotorické reflexy
- Motorické sekvence
- Orientace
- Komunikace
- Učení a paměť
- Circadiánní rytmy
- Smyslové schopnosti a dráhy
- Stárnutí



Bezobratlí v neuroetologii:

- Sensomotorické reflexy
- Motorické sekvence
- Orientace
- Komunikace
- Učení a paměť
- Circadiánní rytmy
- Smyslové schopnosti
- Stárnutí
- Sexuální orientace



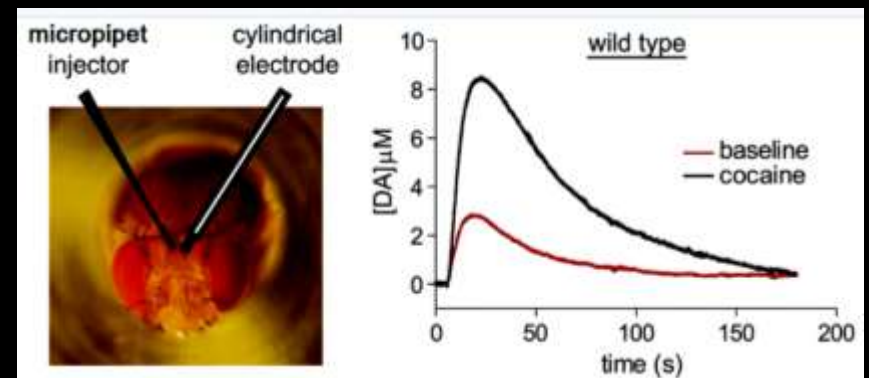
Bezobratlí v neuroetologii:

- Sensomotorické reflexy
- Motorické sekvence
- Orientace
- Komunikace
- Učení a paměť
- Circadiánní rytmy
- Smyslové schopnosti
- Stárnutí
- Sexuální orientace
- Agresivita



Bezobratlí v neuroetologii:

- Sensomotorické reflexy
- Motorické sekvence
- Orientace
- Komunikace
- Učení a paměť
- Circadiánní rytmy
- Smyslové schopnosti a dráhy
- Stárnutí
- Sexuální orientace
- Agresivita
- Působení drog a farmak



Bezobratlí v neuroetologii:

- Sensomotorické reflexy
- Motorické sekvence
- Orientace
- Komunikace
- Učení a paměť
- Circadiánní rytmy
- Smyslové schopnosti
- Stárnutí
- Sexuální orientace
- Agresivita
- Působení drog a farmak
- Ochota riskovat, emoce atd...



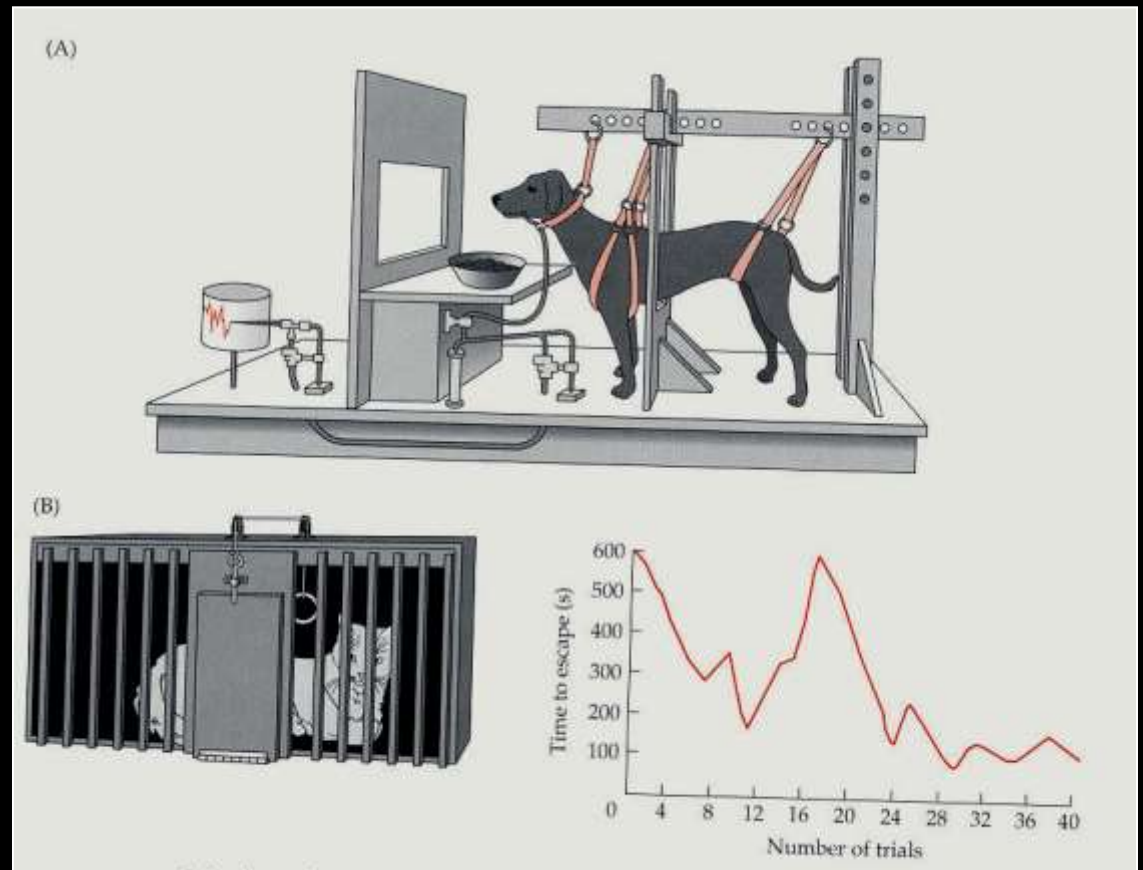
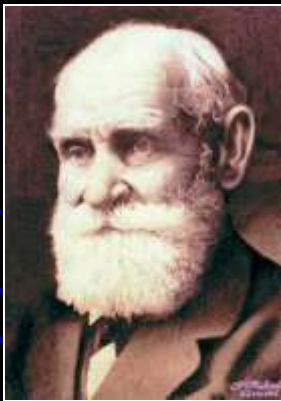
Souhrn současných témat řešených behaviorálními přístupy

- Paměť a Alzheimerova choroba
- Parkinsonismus a jeho léčba
- Paměť a stárnutí
- Léčba depresí
- Účinky drog, závislost/léčba
- Autismus a jeho léčba
- Strach a jeho podstata/léčba
- Výzkum agresivity
- Účinky alkoholu a léčba závislosti na něm
- Podstata učení – bezobratlí
- Podstata učení - obratlovci
- Orientace v prostoru
- Čichové schopnosti – bezobratlí
- Čichové schopnosti – obratlovci
- Výzkum citlivost na dotek
- Vnímání magnetického pole
- Vnímání polarizovaného světla
- Vnímání teploty
- Zrakové schopnosti
- Pohybové poruchy
- Léčba bolesti
- Denní rytmy a jejich poruchy
- Sociální vztahy a jejich poruchy
- Testování sedativ a analgetik
- Hyperkinetická porucha a její léčba
- Výzkum funkcí mozku a jeho oddílů
- Repelenty a boj proti přenašečům nemocí
- Boj proti hospodářským škůdcům
- Výzkum pozornosti a jejích poruch
- Welfare hospodářských zvířat
- Výzkum komunikace zvířat
- Výzkum sexuální orientace
- Výzkum ochoty riskovat
- Zvířata jako biosensory

B) Podmiňování jako klíč k funkci NS a smyslů

Vytvoření podmíněného spojení je důkazem plasticity NS a základem paměti a učení.

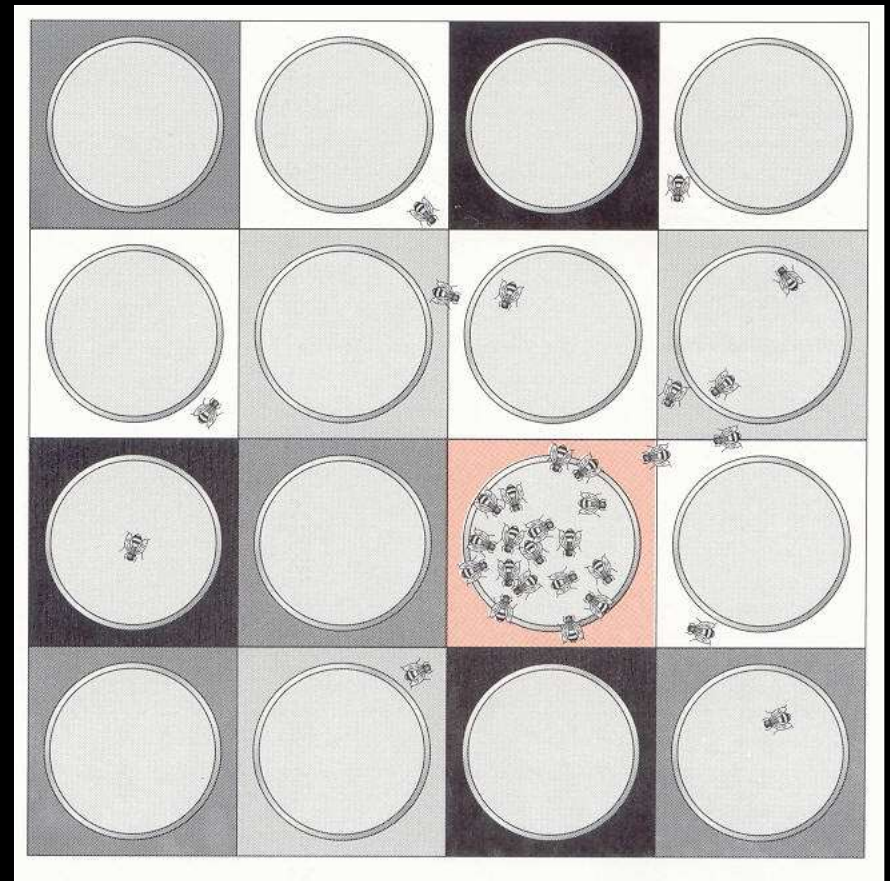
Pavlov



Podmiňování jako klíč k funkci NS a smyslů

Vytvoření podmíněného spojení je důkazem plasticity NS a základem paměti a učení.

von Frish

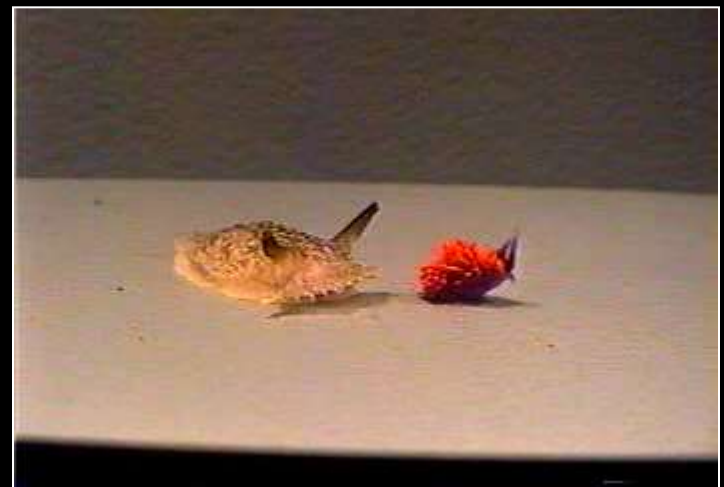


Vytvoření podmíněného spojení může být:
cílem výzkumu paměti a učení



Tritonia diomedea

I měkkýši se učí



Vytvoření podmíněného spojení může být: cílem výzkumu paměti a učení



Aplysia – zej
„mořský zajíc“

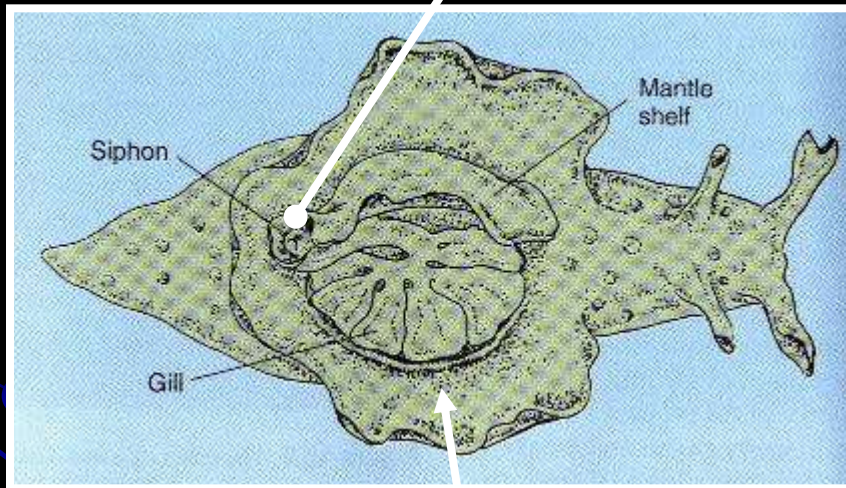
Aplysia

Eric Kandel
Nobelova cena 2000



Vytvoření podmíněného spojení může být:
cílem výzkumu paměti a učení

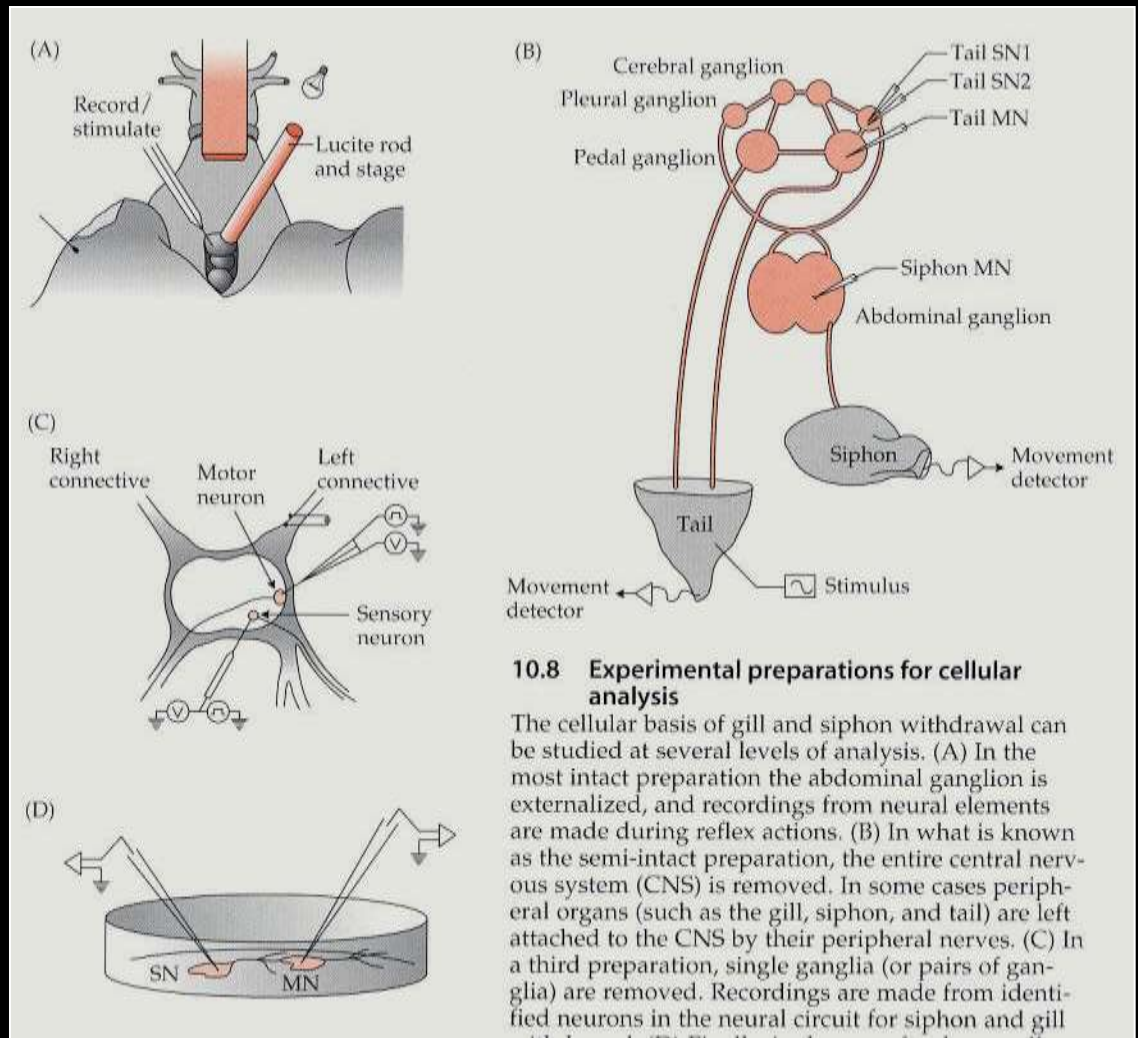
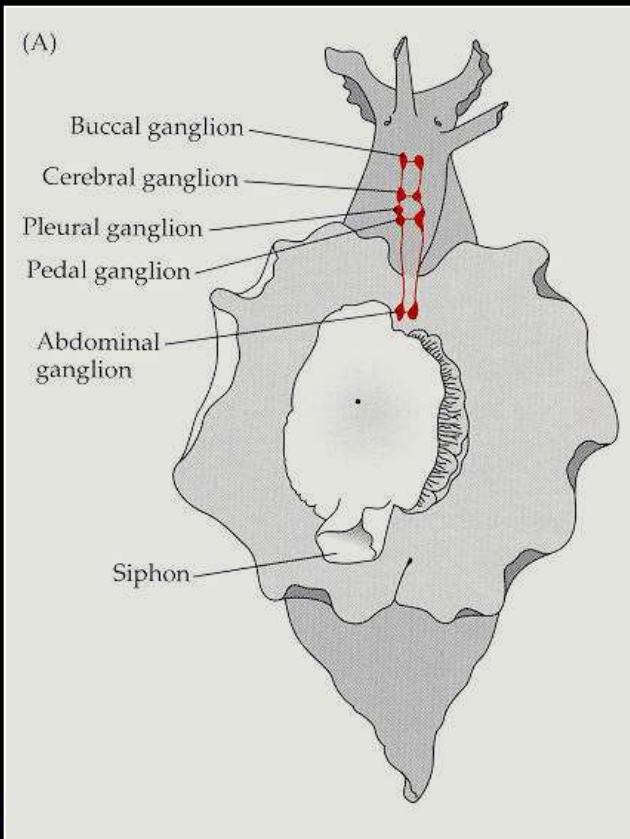
Dotek na sifon...



...a žábra se stáhnou

Habituace u *Aplysia*

Plasticita nervového spojení i na izolovaných gangliích

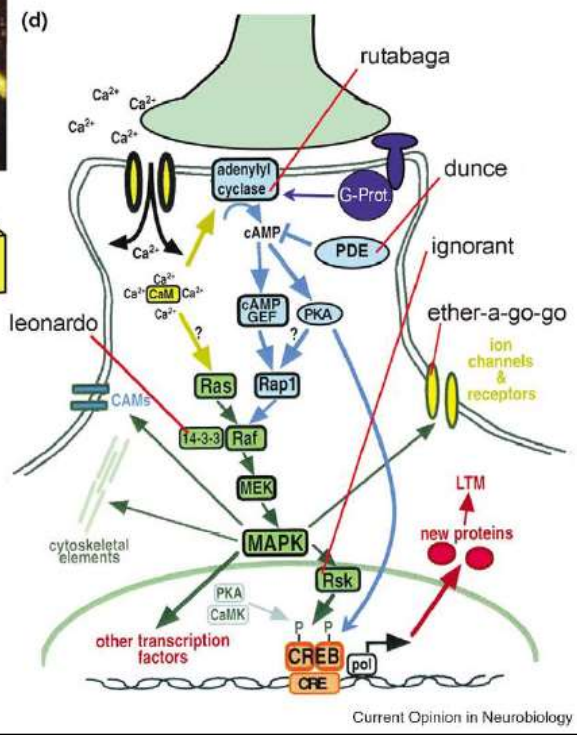
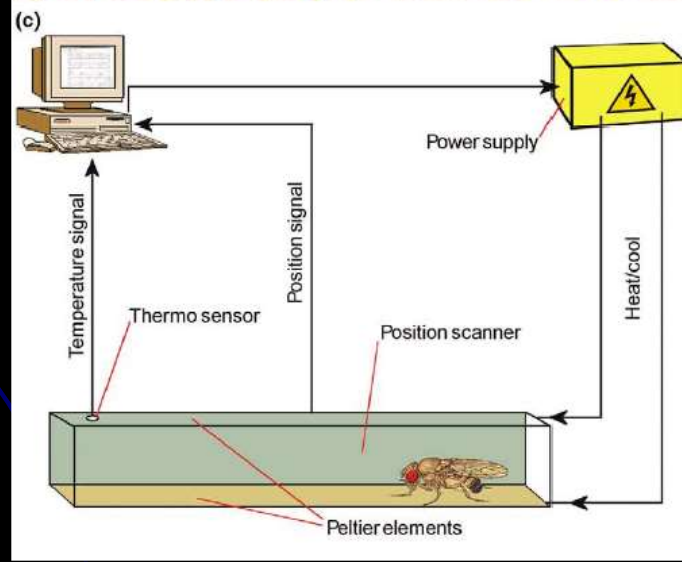
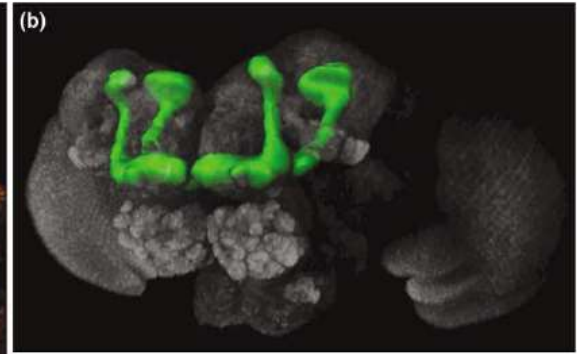


10.8 Experimental preparations for cellular analysis

The cellular basis of gill and siphon withdrawal can be studied at several levels of analysis. (A) In the most intact preparation the abdominal ganglion is externalized, and recordings from neural elements are made during reflex actions. (B) In what is known as the semi-intact preparation, the entire central nervous system (CNS) is removed. In some cases peripheral organs (such as the gill, siphon, and tail) are left attached to the CNS by their peripheral nerves. (C) In a third preparation, single ganglia (or pairs of ganglia) are removed. Recordings are made from identified neurons in the neural circuit for siphon and gill

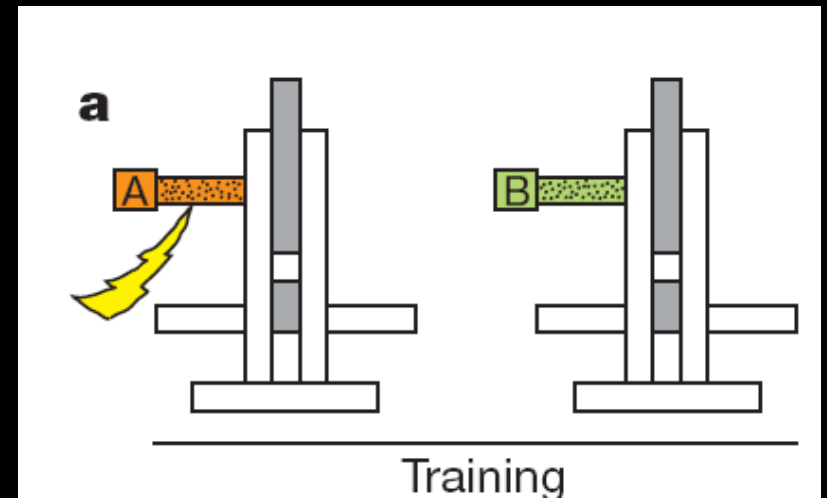
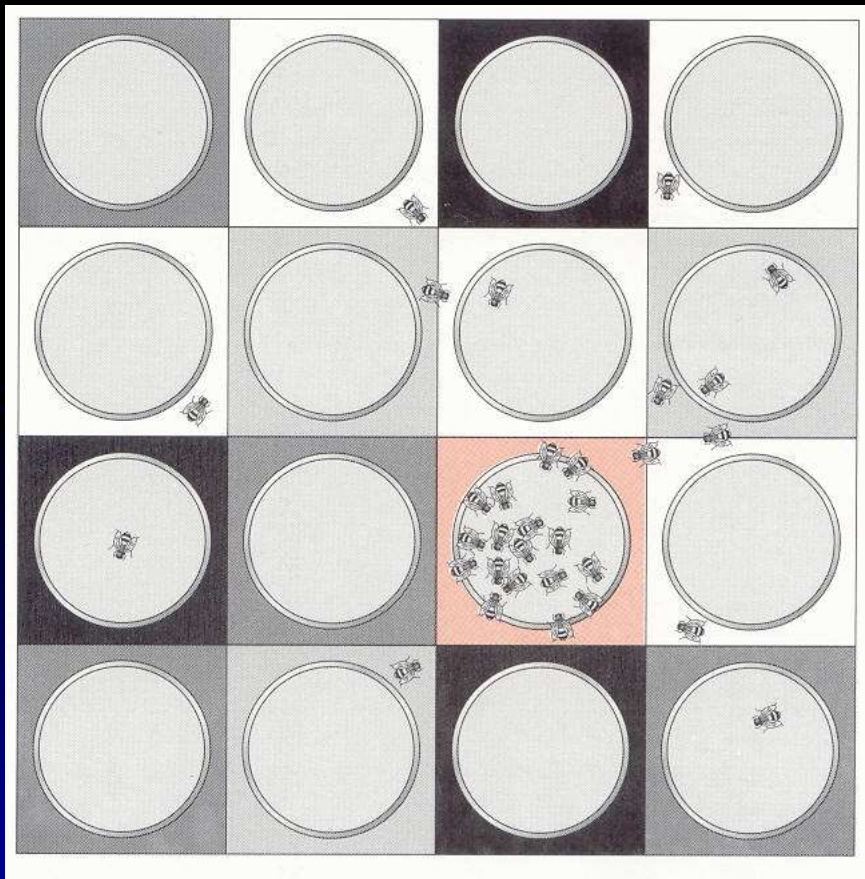
Vytvoření podmíněného spojení může být: cílem výzkumu paměti a učení

Trénink a test



Vytvoření podmíněného spojení může být: nástrojem výzkumu smyslových schopností

Odměna nebo trest při tréninku



Video

Vytvoření podmíněného spojení může být: nástrojem výzkumu smyslových schopností

Richard Axel

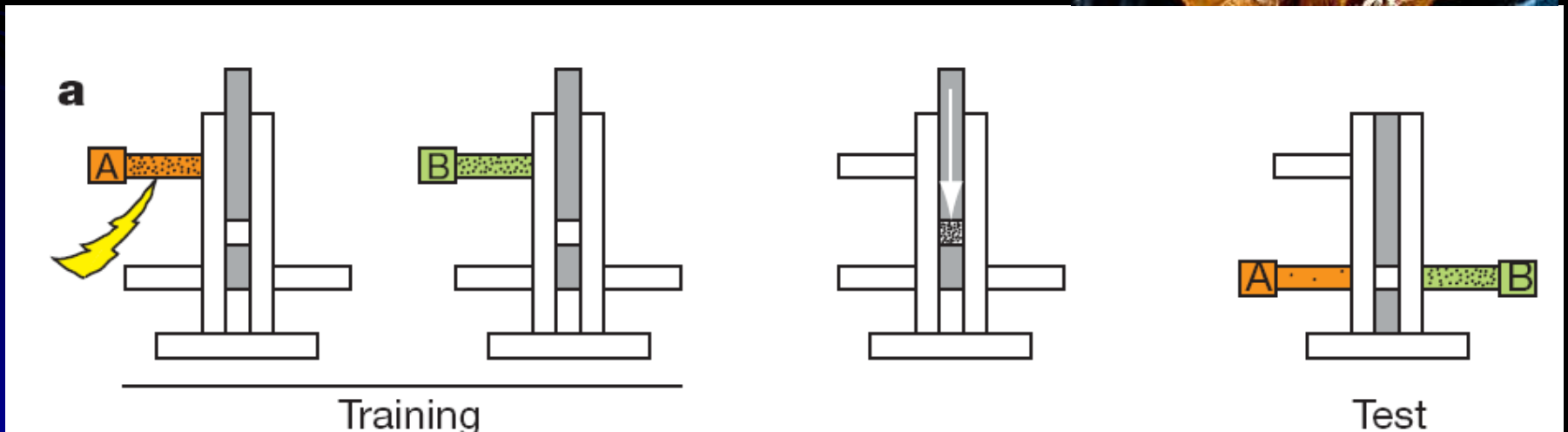
Nobelova cena 2004 za objevy podstaty čichu



Vytvoření podmíněného spojení může být: nástrojem výzkumu smyslových schopností

Richard Axel

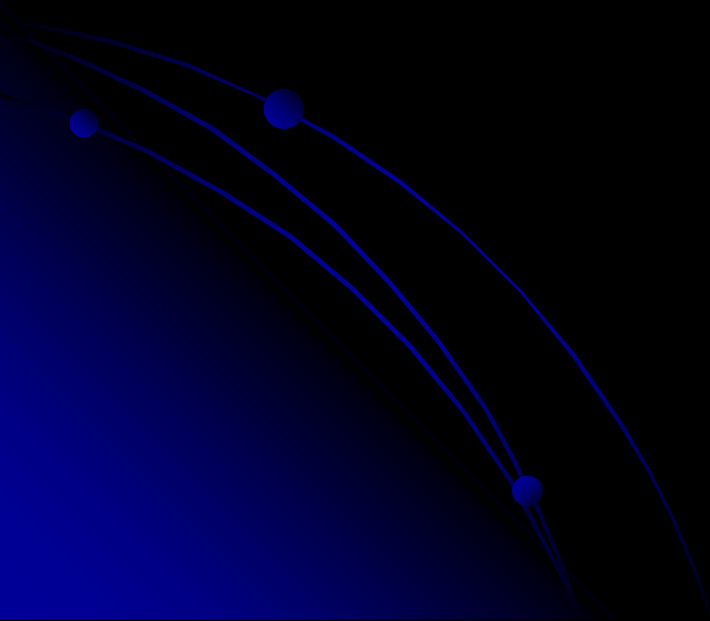
Nobelova cena 2004 za objevy podstaty čichu



Podmiňování jako klíč k funkci NS a smyslů

Vytvoření podmíněného spojení může být:

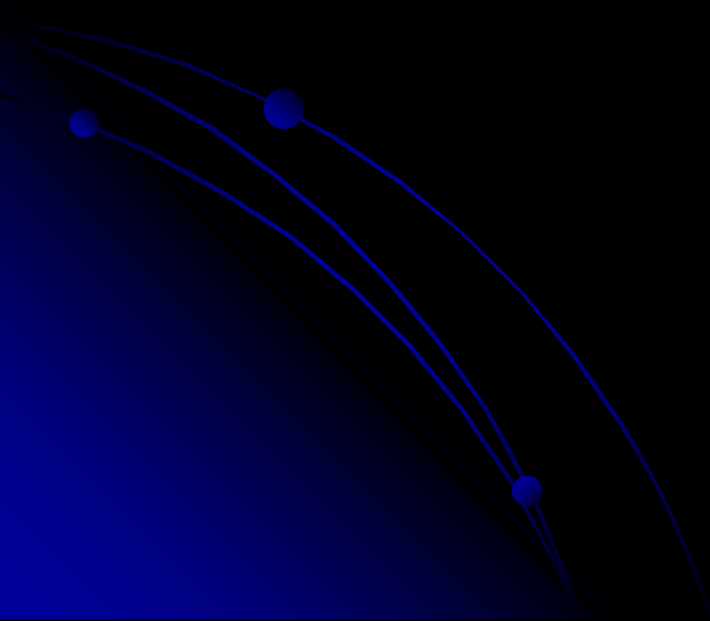
- cílem výzkumu paměti a učení



Podmiňování jako klíč k funkci NS a smyslů

Vytvoření podmíněného spojení může být:

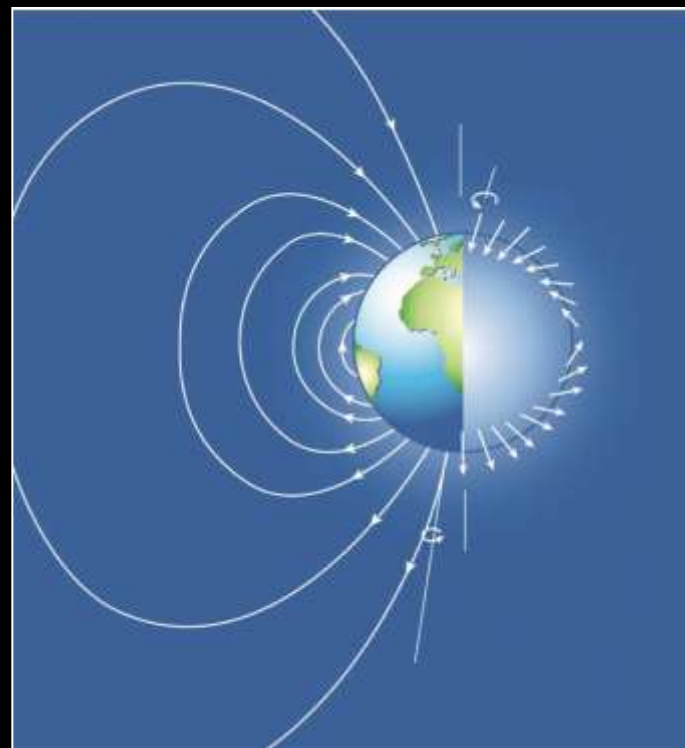
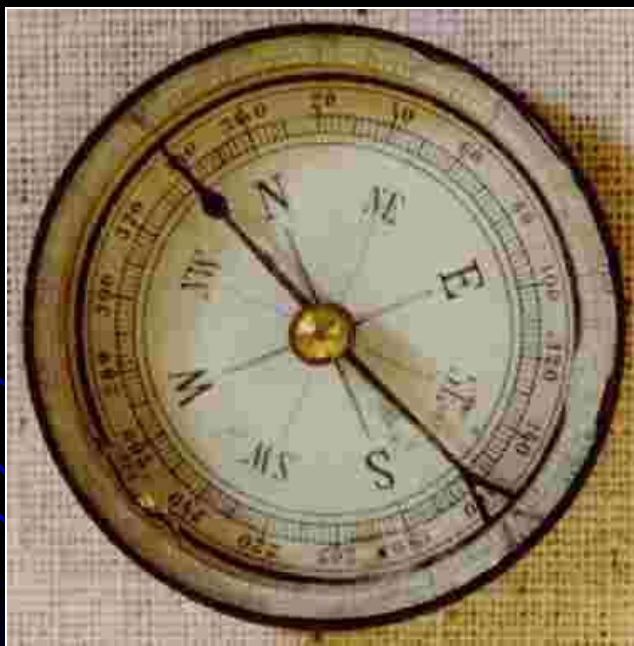
- nebo nástrojem výzkumu smyslových schopností



C) Magnetorecepce – výzva smyslové fyziologii



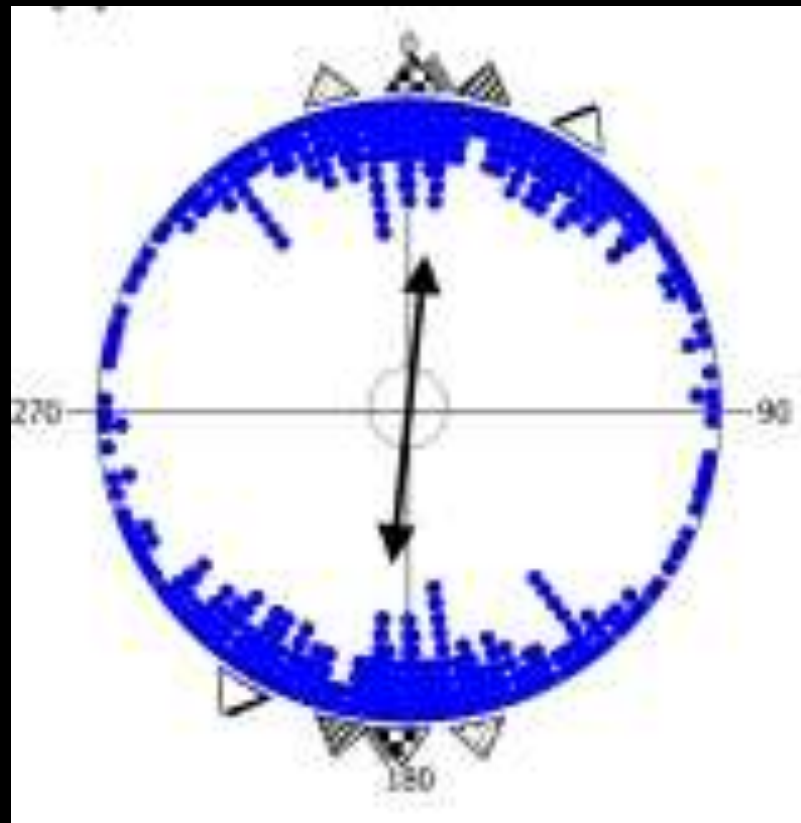
Kompas: Všudypřítomné vodítko



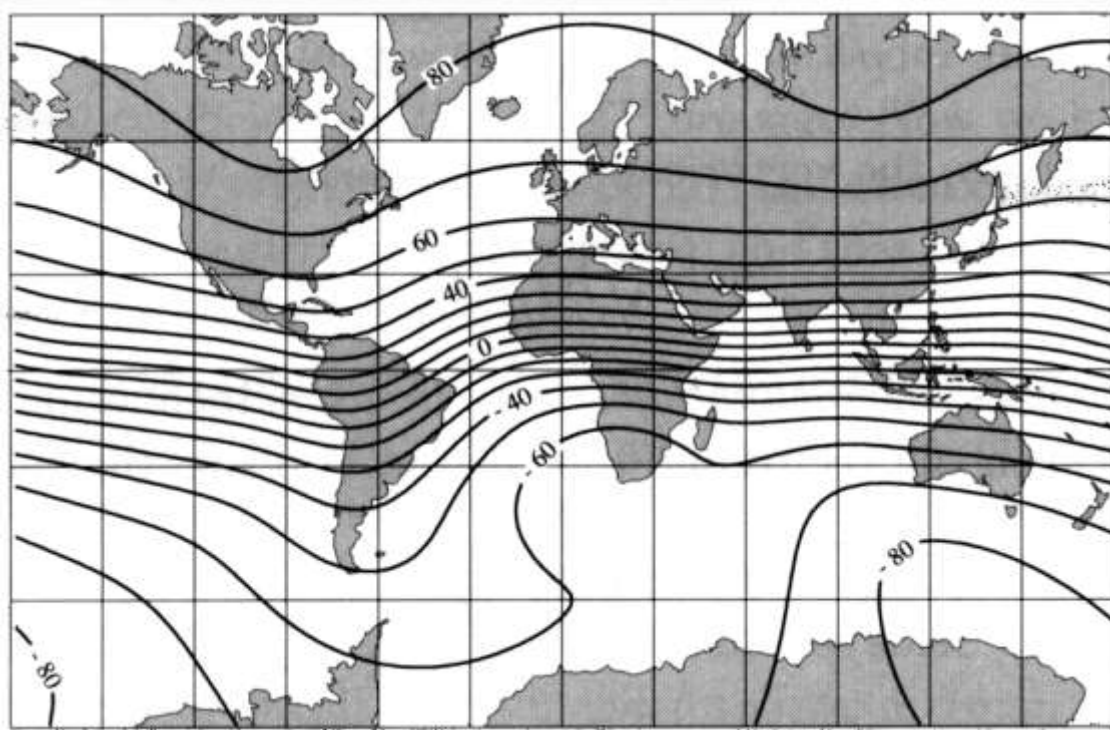
Severo-jížní orientace pasoucích se krav



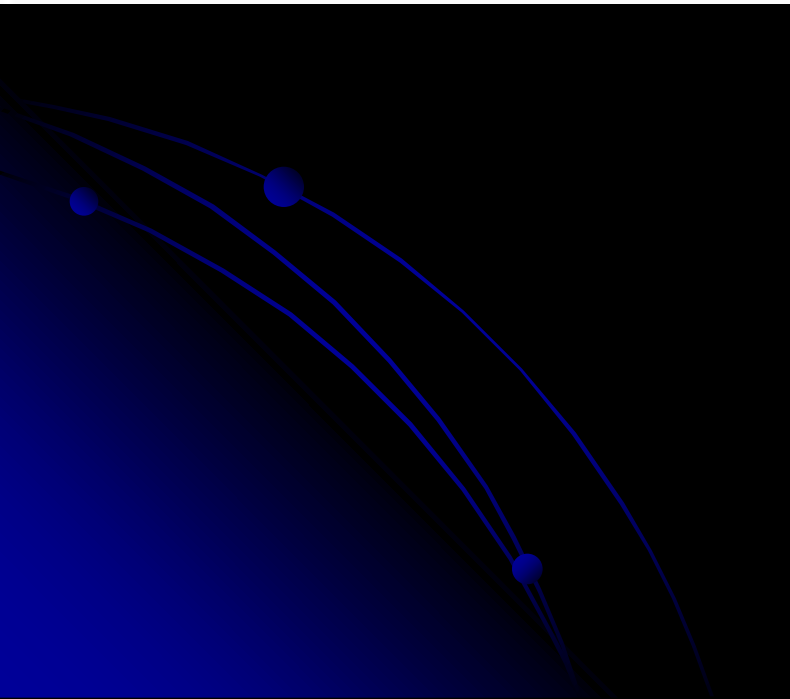
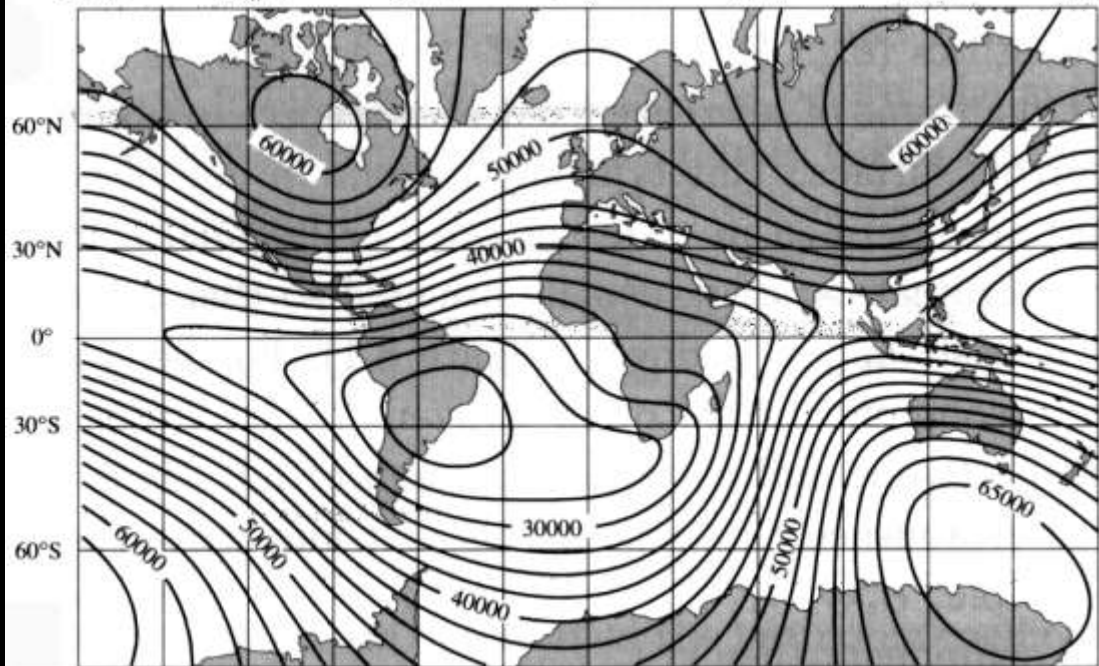
Severo-jížní orientace pasoucích se krav



Mapa – „GPS“



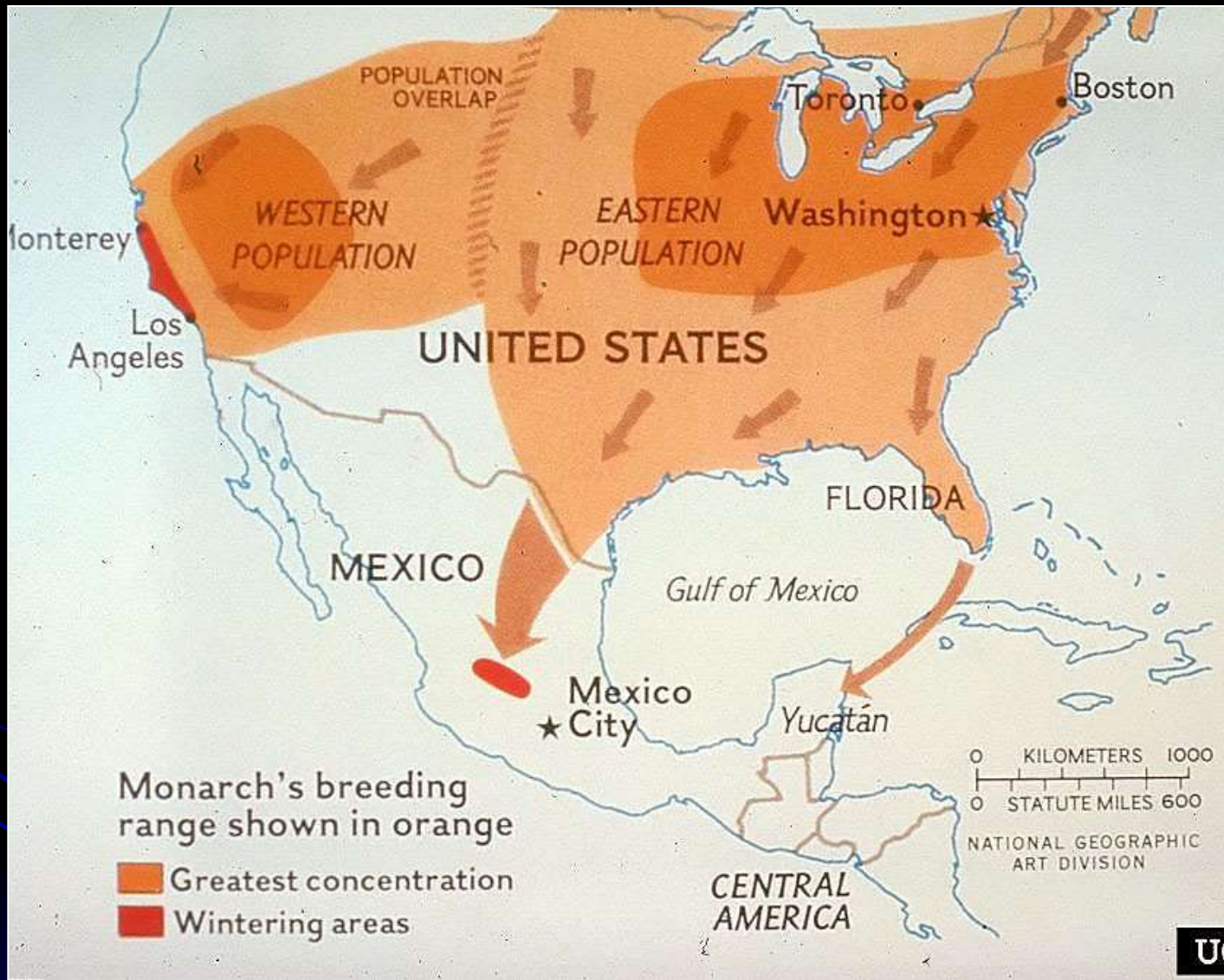
180°W 120°W 60°W 0° 60°E 120°E 180°E



Orientace hmyzu

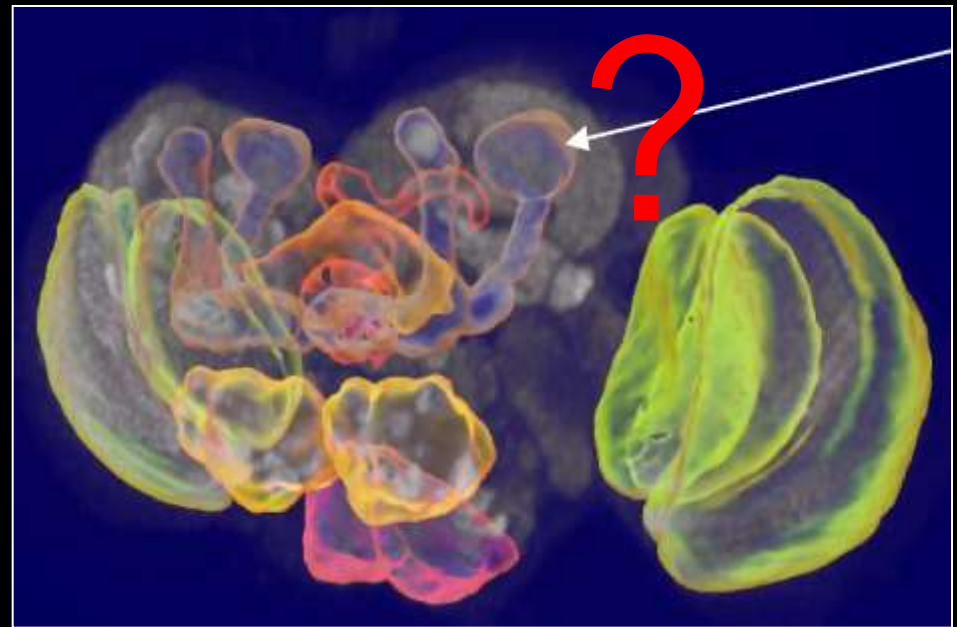


Migrující hmyz:
monarcha stěhovavý

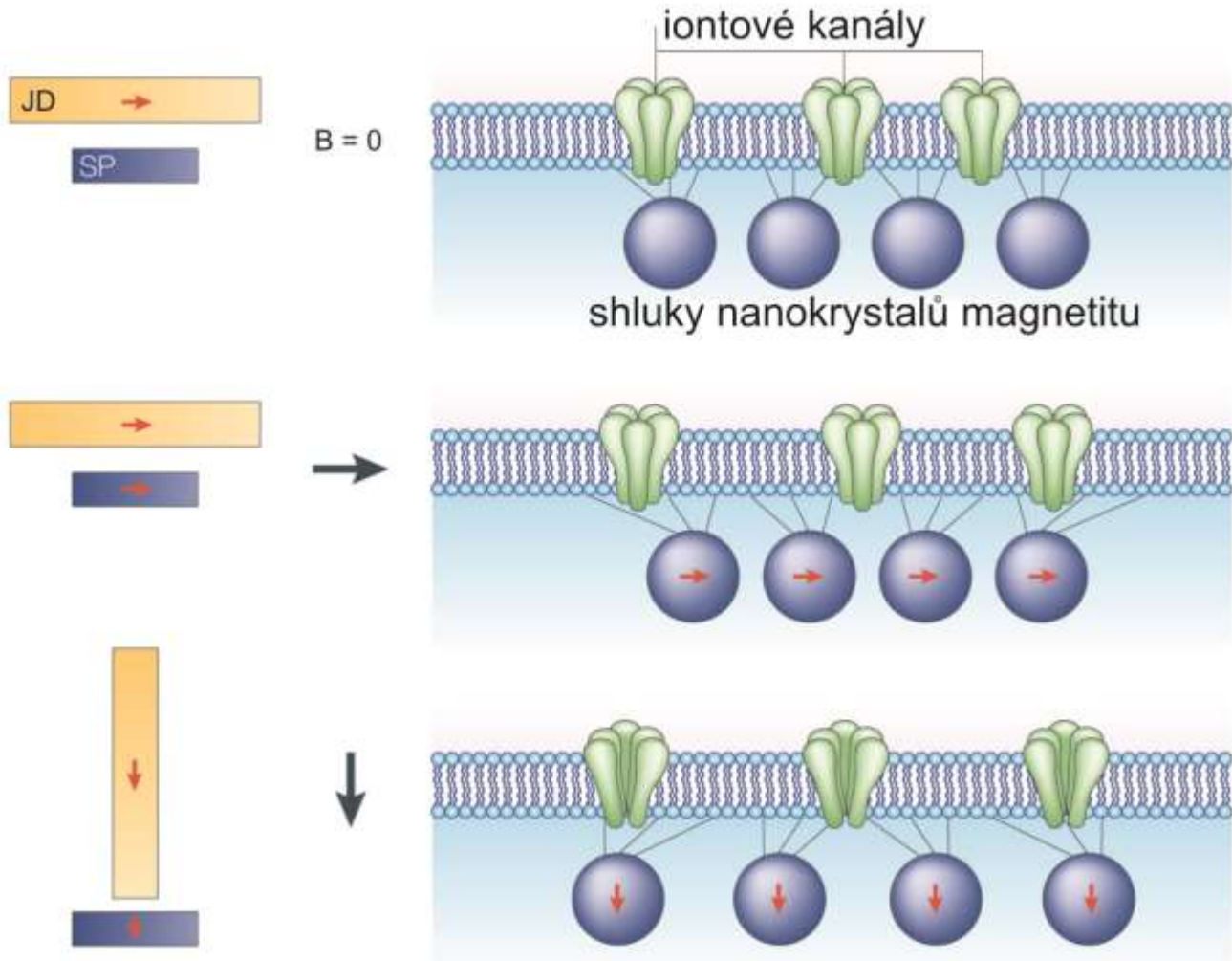


Neznáme:

- Mechanismus recepce
- Lokalizaci receptoru
- Adaptivní význam



Magnetit?



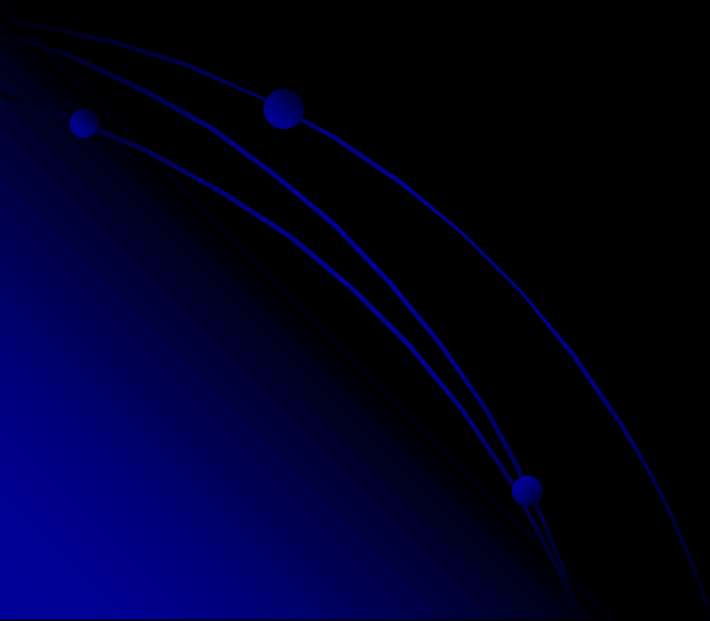
Důkazy pro magnetitový kompas :

Nezávislý na světle

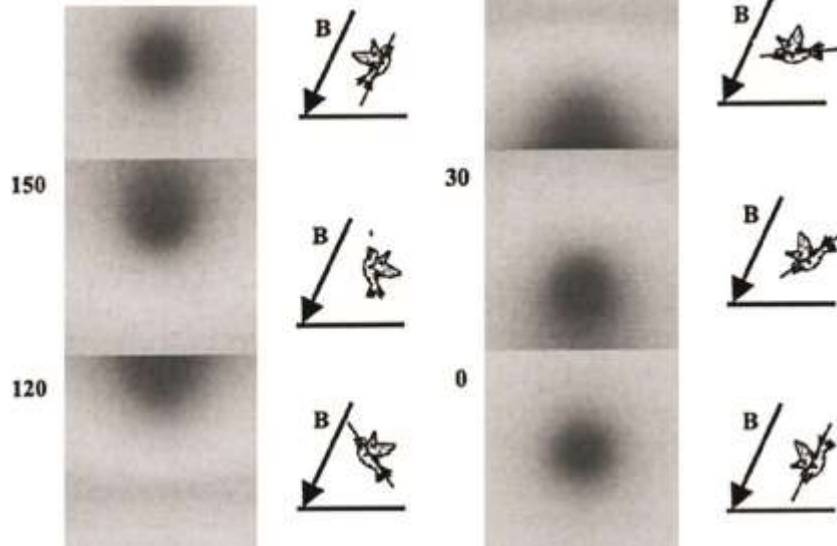
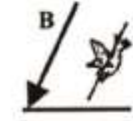
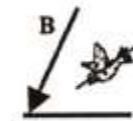
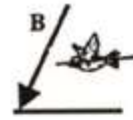
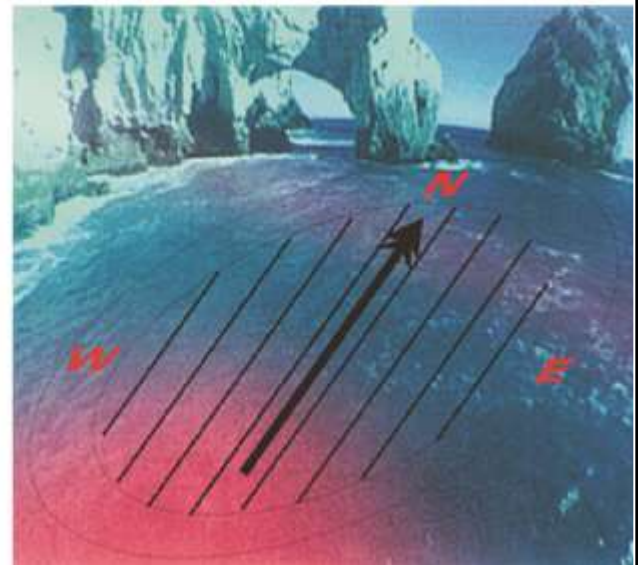
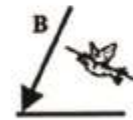
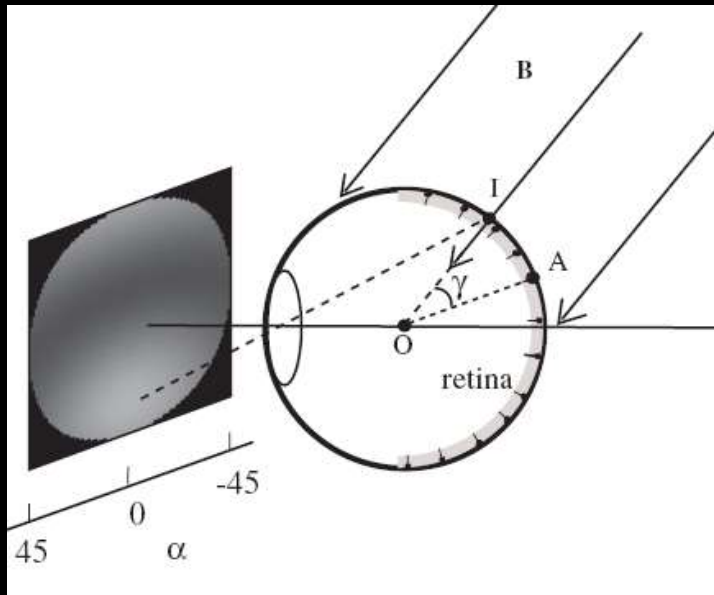
Rozeznává polaritu pole (S od J)

Citlivý na silný magnetický pulz

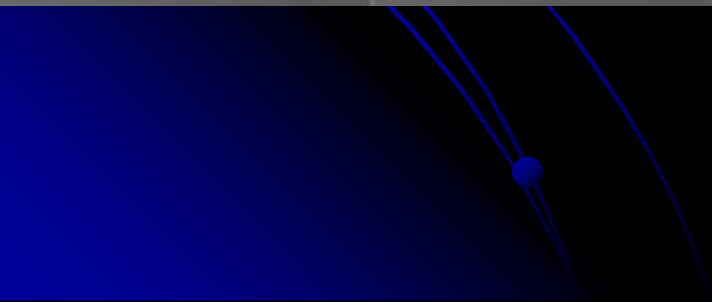
Necitlivý na slabé RF oscilace



Modifikace zraku?



Photochemický model: GMF
vektor moduluje schopnost
receptorů vnímat světlo a pole
se tak stává viditelné



Fotochemický model:

Základní teze: Biochemická reakce může být ovlivněna GMF.

Nepárové elektrony mají svůj magnetický moment, který interaguje s okolním polem

Nepárové elektrony najdeme v radikálových párech. Ty vznikají např. po dopadu fotonu (chlorofyl, fotolyázy)

Fotochemický model:

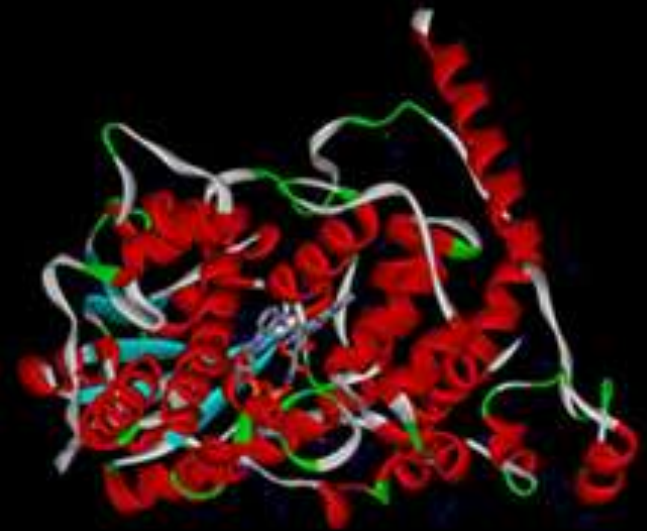
Fotosensitivní molekulou s kýženými vlastnostmi je nejspíše Kryptochrom

Nalezené v rostlinách

Příbuzné fotolyázám

Řídící vnitřní hodiny

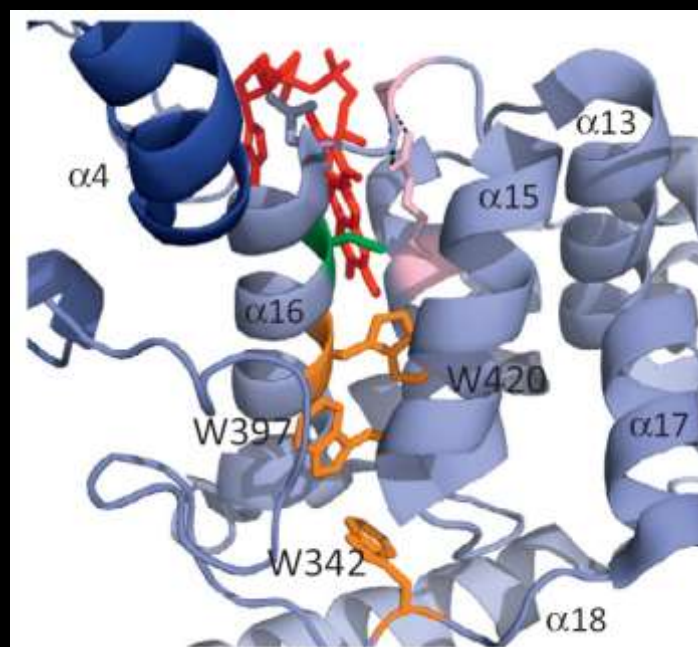
Tvořící radikálové páry



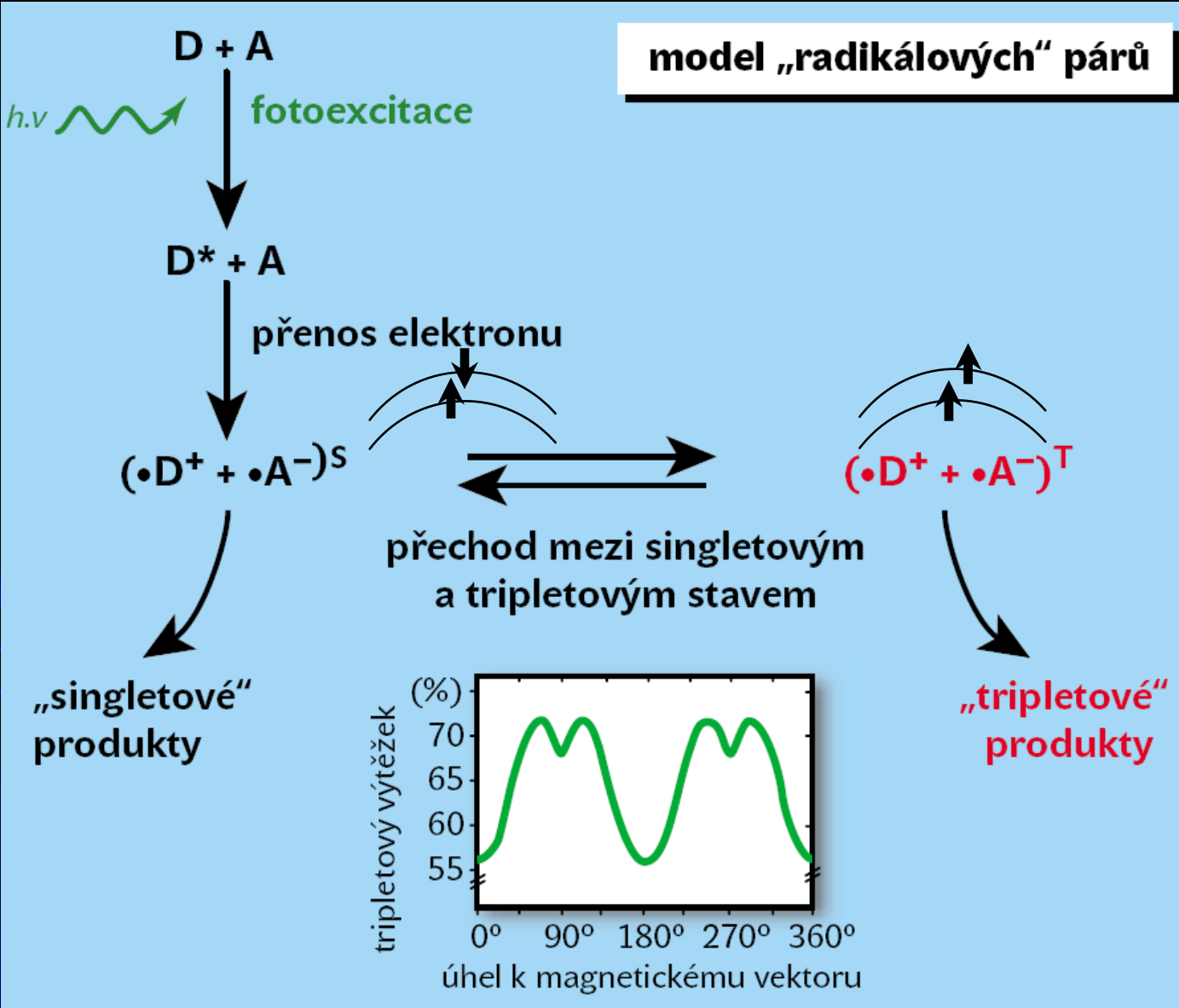
Fotochemický model:

Citlivost Cry k GMP leží ve „hře“ s elektrony mezi proteinem a kofaktorem FAD.

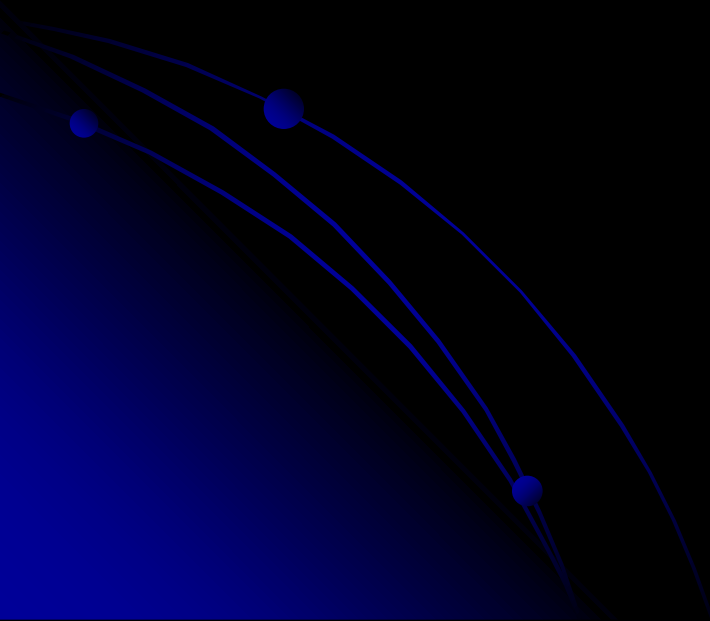
Po excitaci světlem je Trp donorem e^- a FAD akceptorem



Osud radikálového páru závisí na vzájemné konfiguraci elektronů



Metody výzkumu





Blacksburg VA



Lund



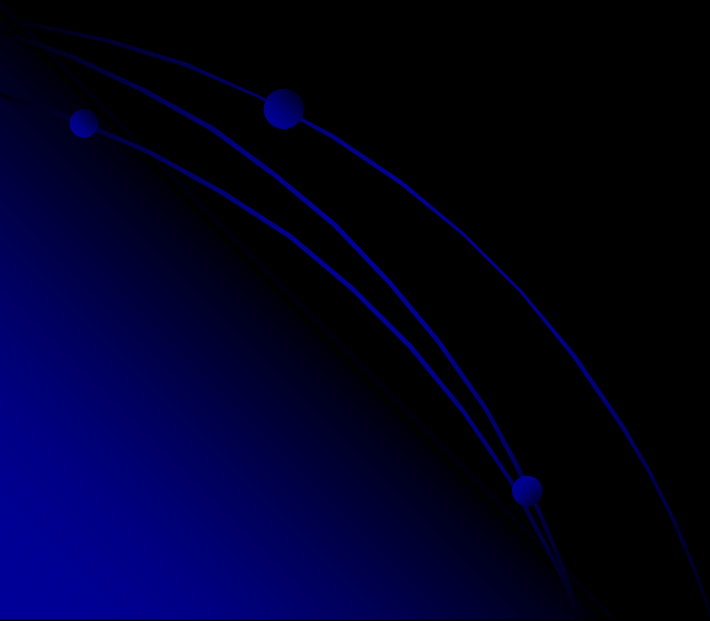
Neuroetologické metody smyslové fyziologie

Podmiňování a spontánní reakce



Neuroetologické metody smyslové fyziologie

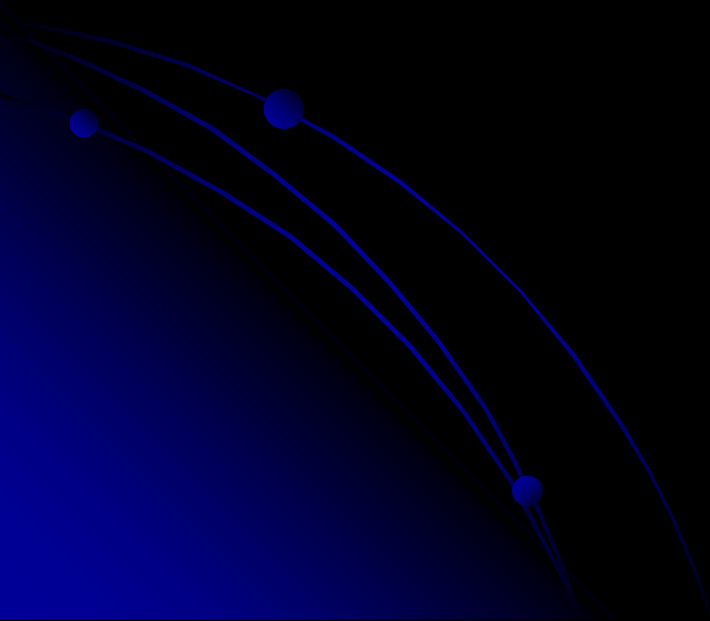
Podmiňování: Trénink a test



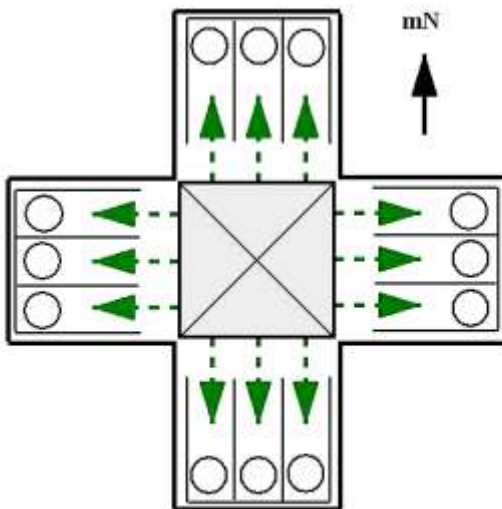
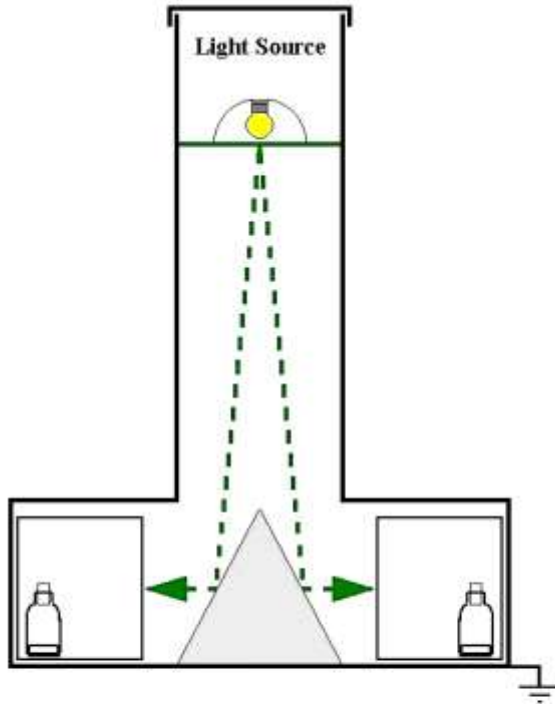
Neuroetologické metody smyslové fyziologie

Podmiňování: Trénink a test

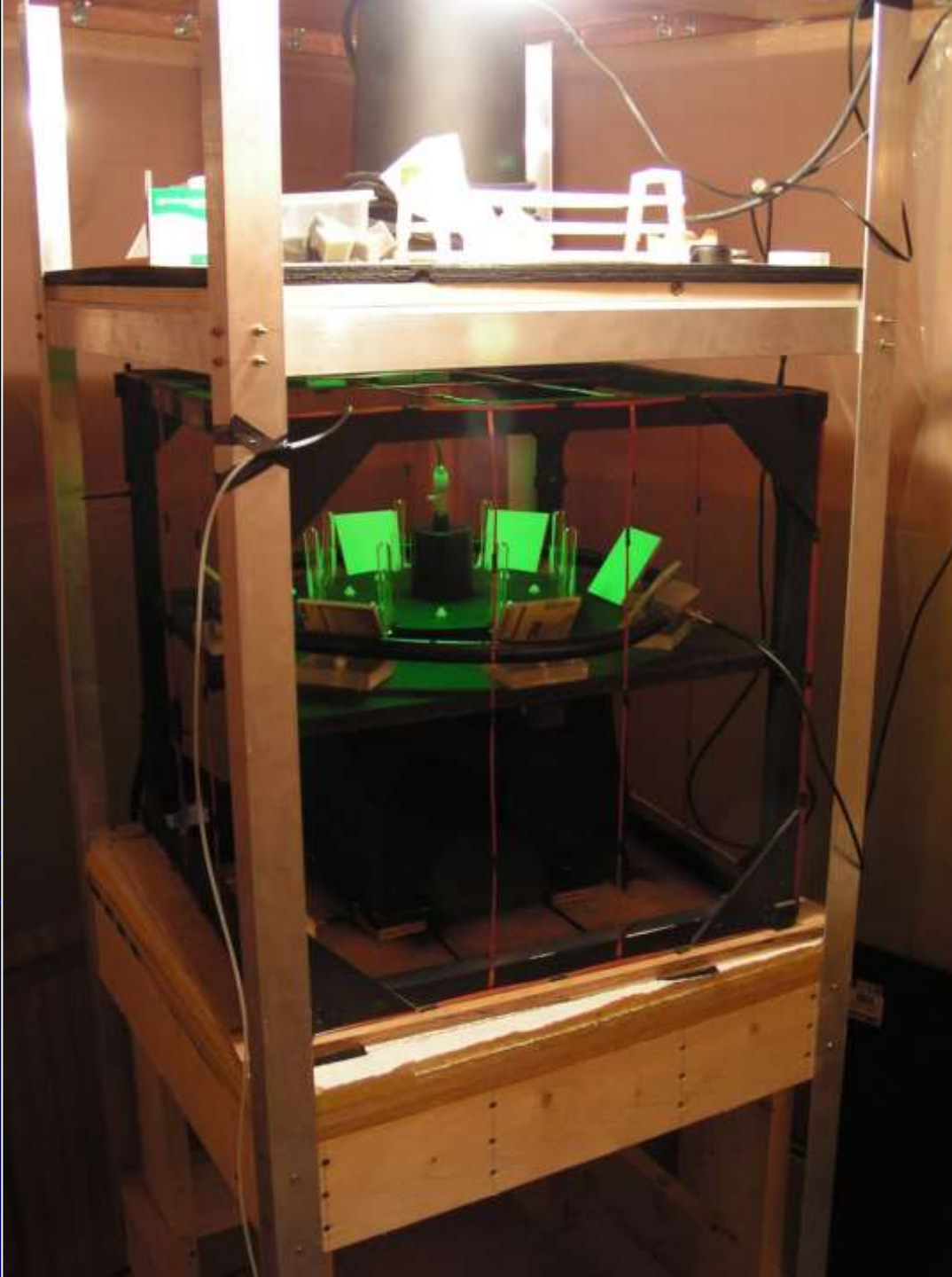
Trénink: Odměna nebo trest



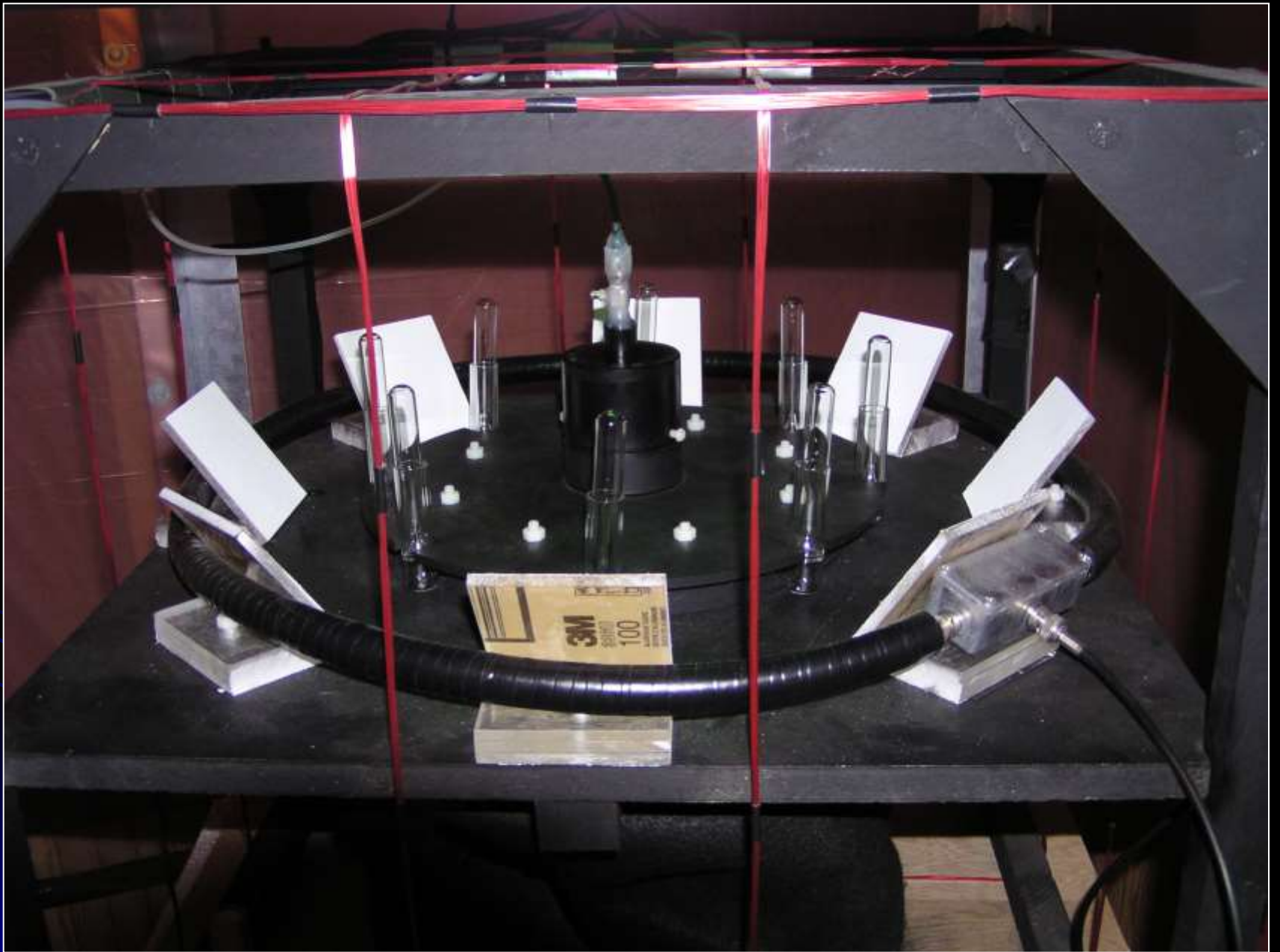
Trénink Drosophila Světlo jako atraktivní stimul



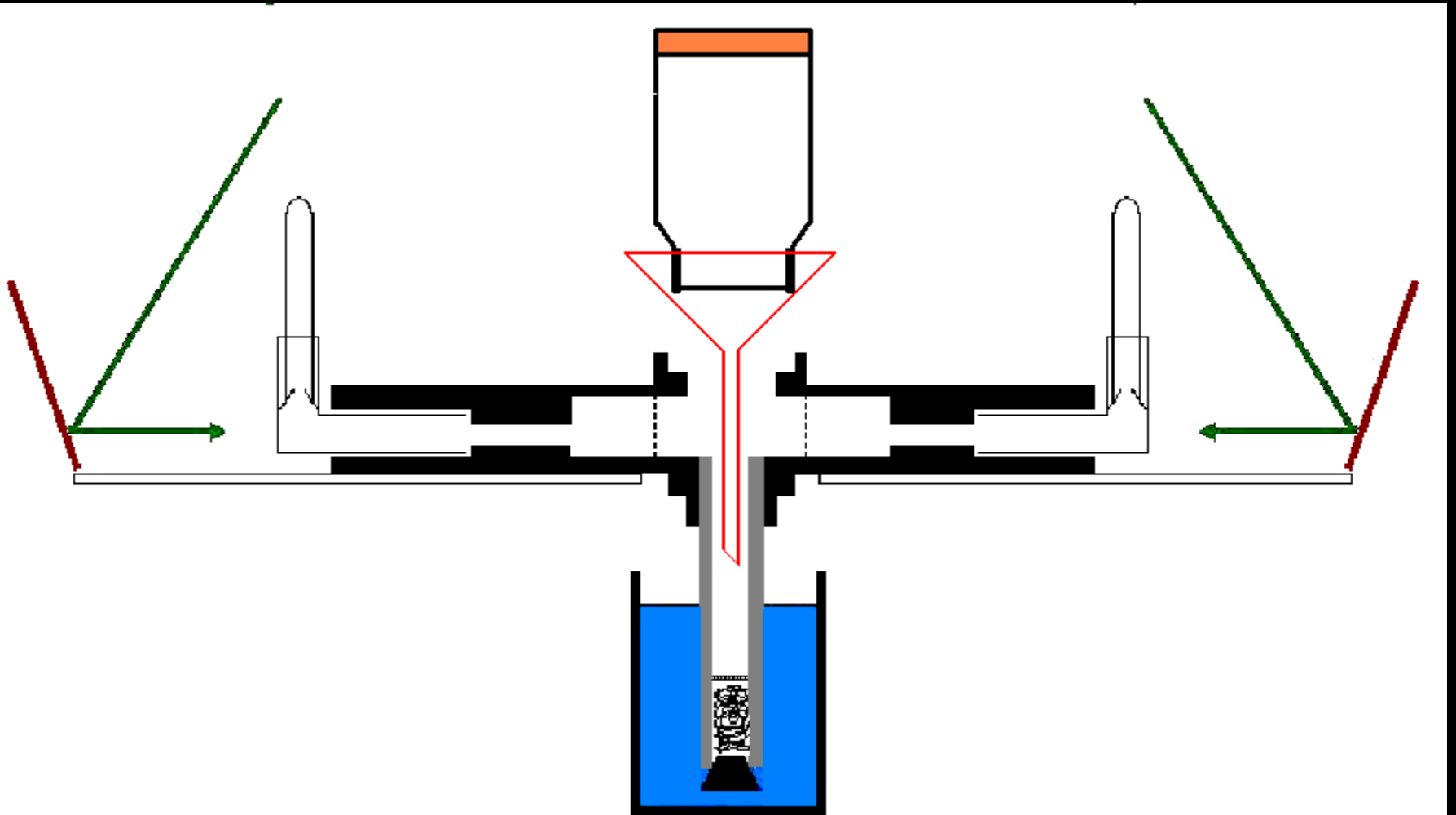




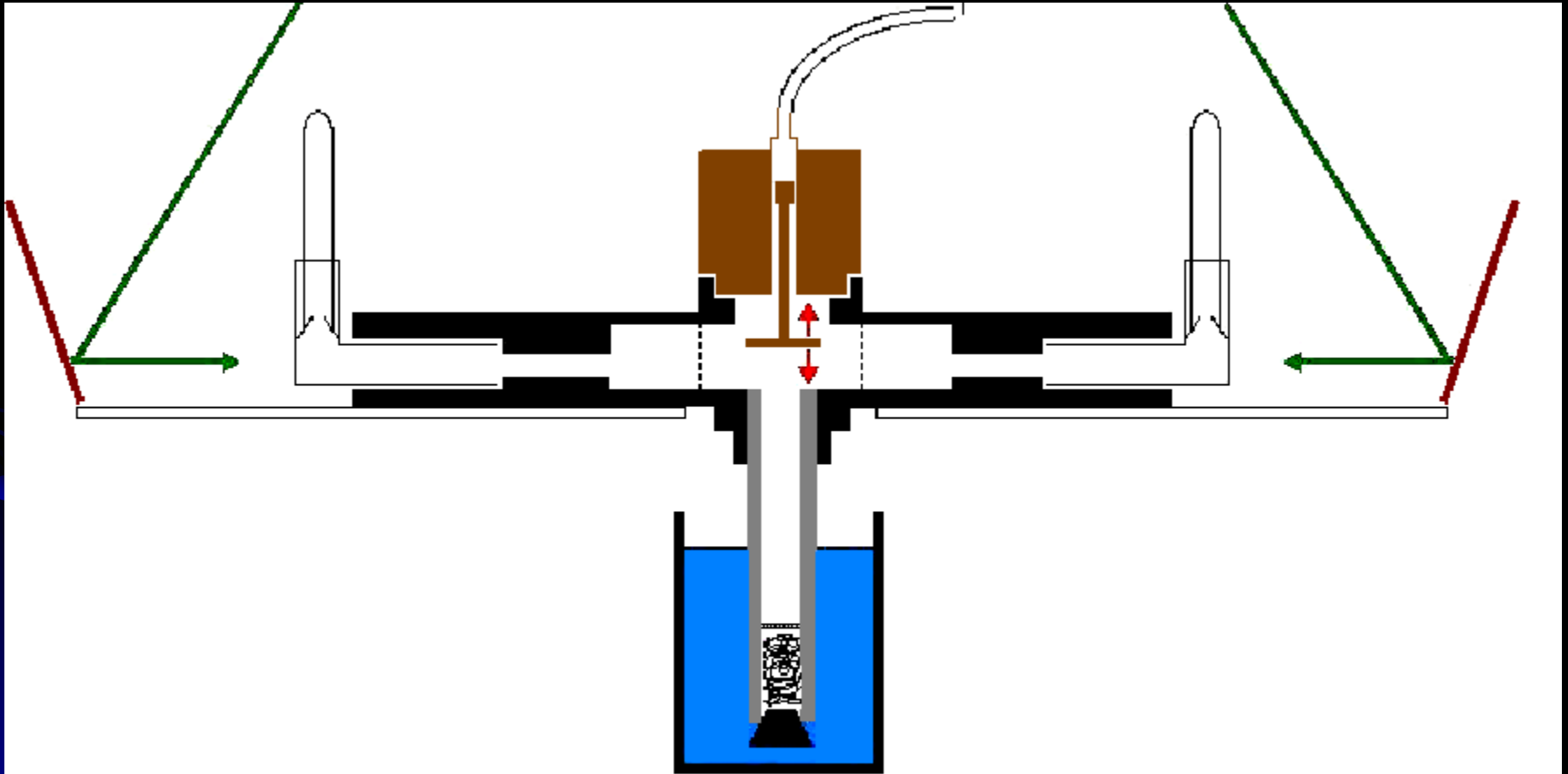
Test



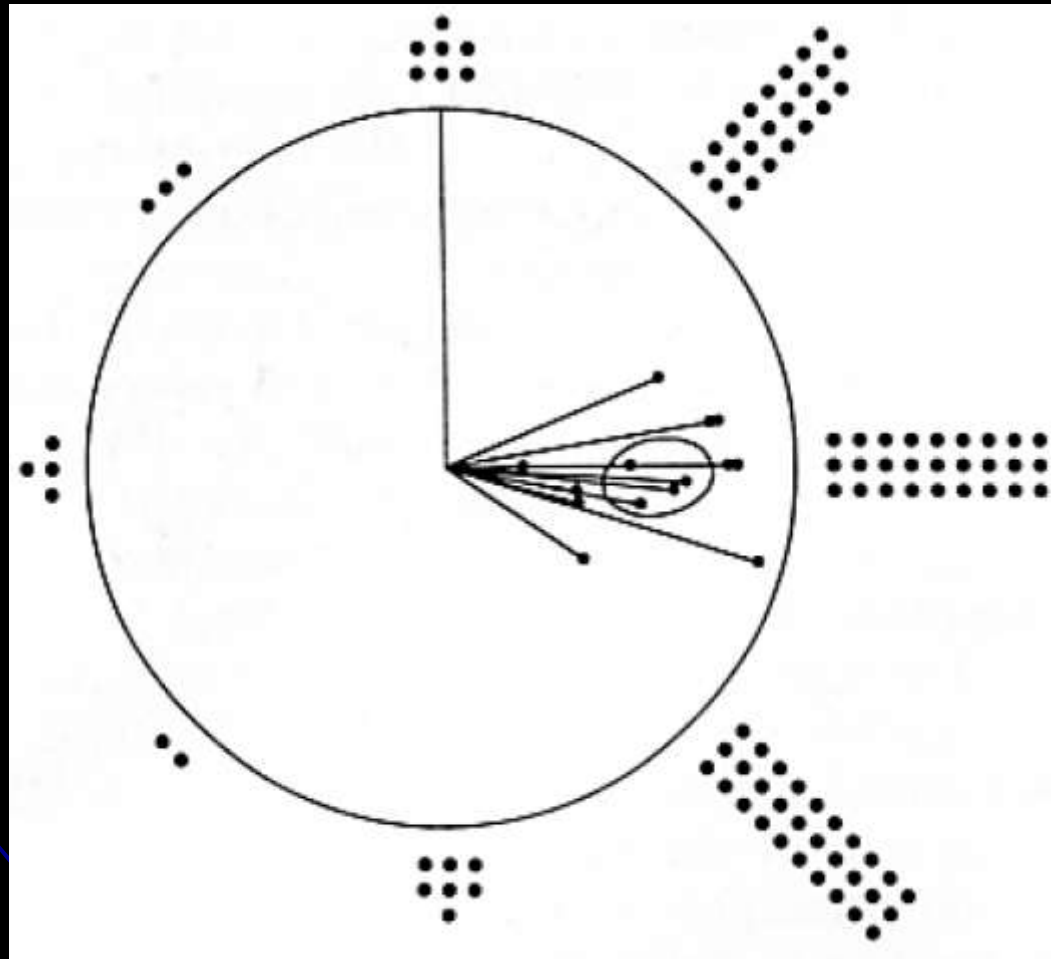
Test Drosophila



Test Drosophila



Cirkulární diagramy orientace

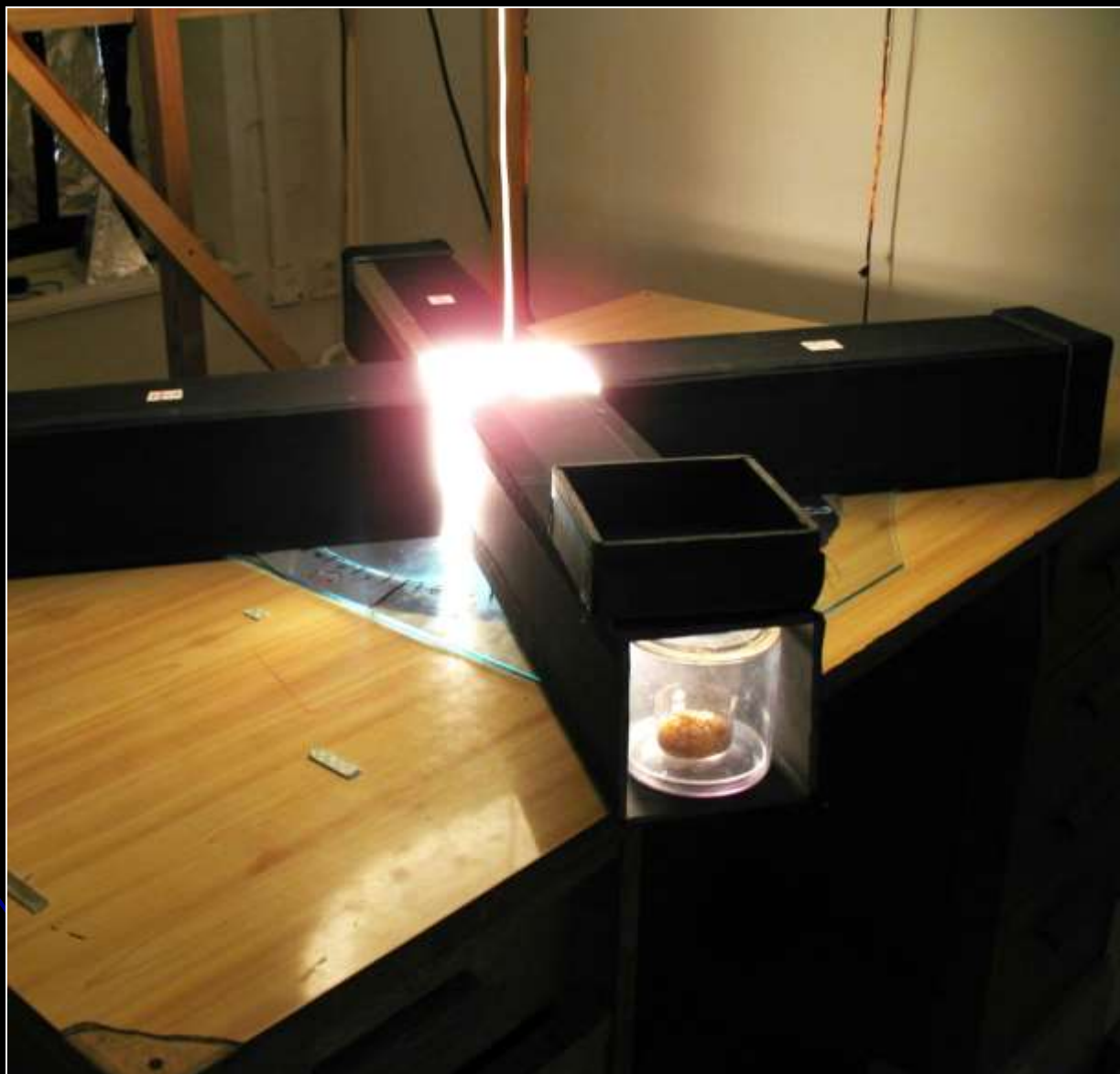


Tenebrio molitor

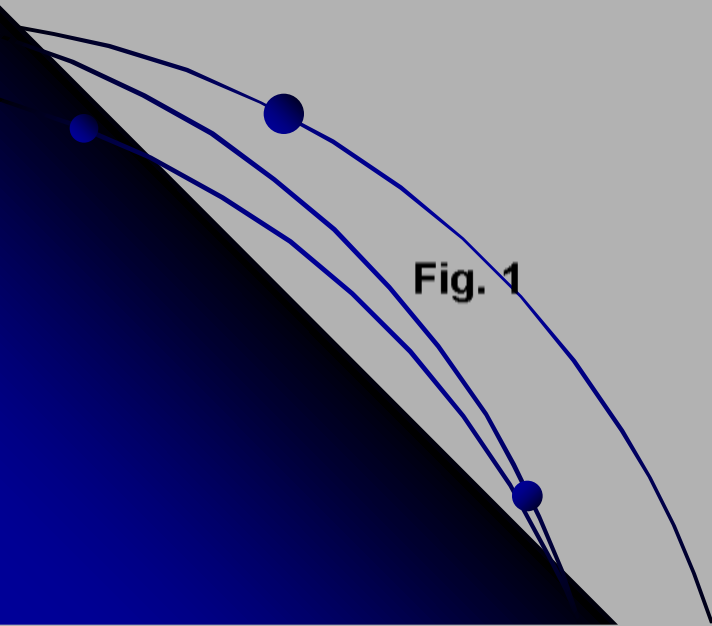
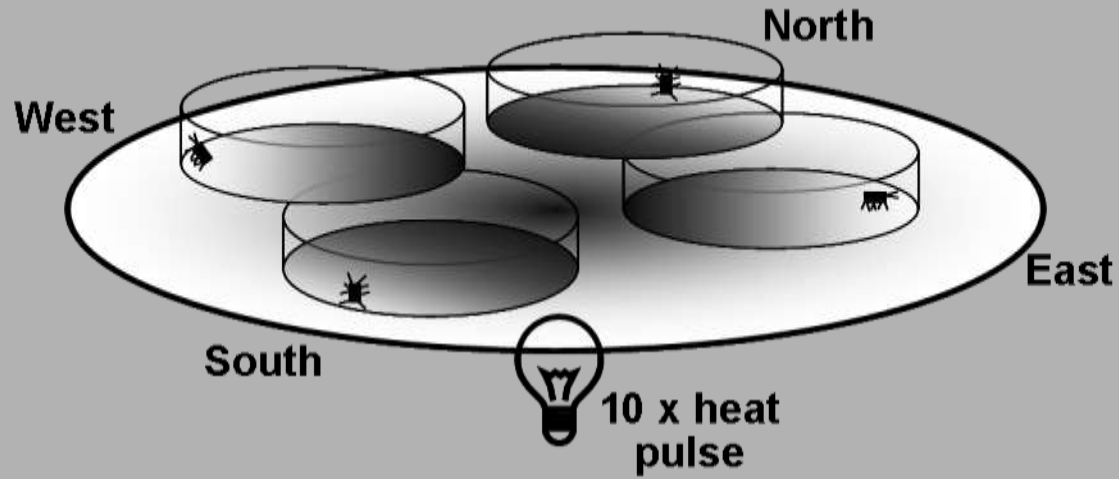


Tribolium castaneum

Trénink



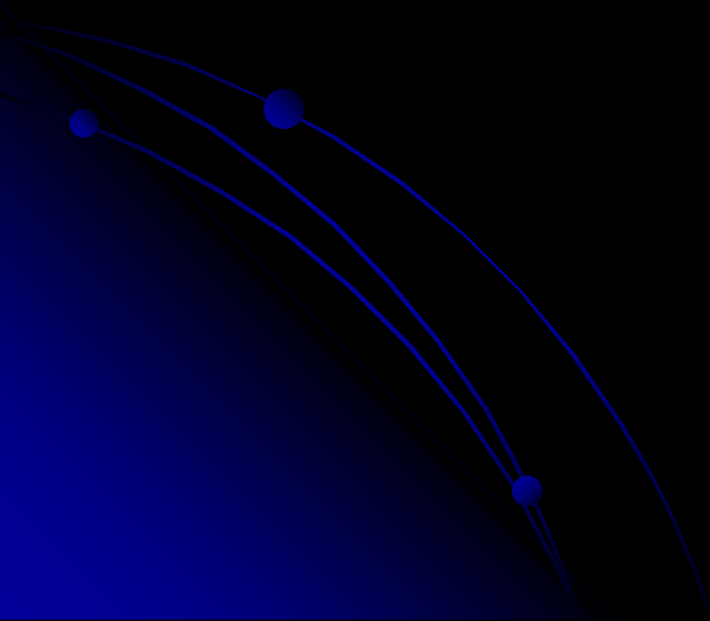
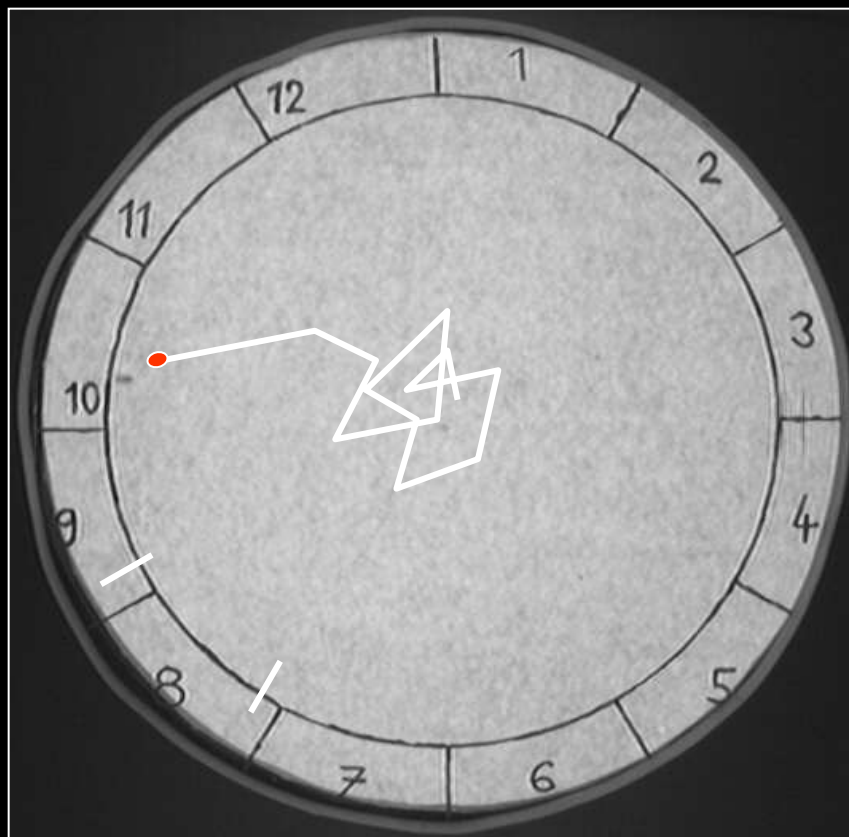
Trénink



Test

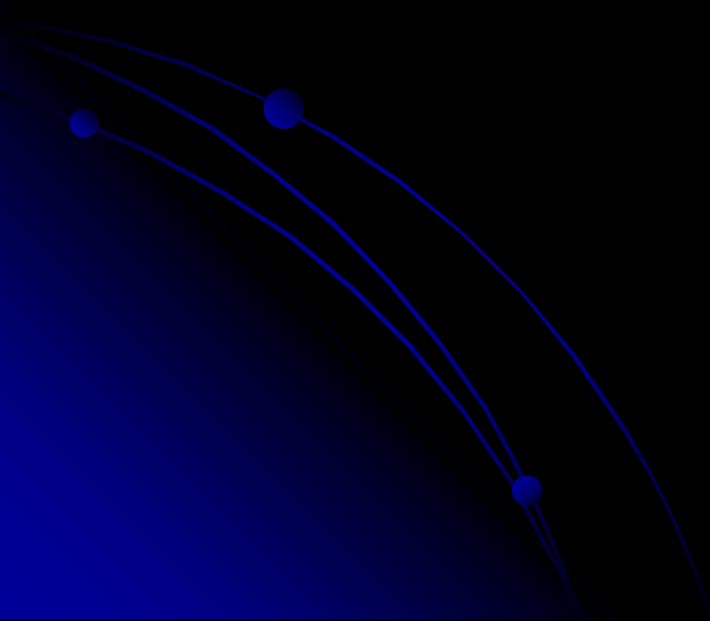


Pohled kamery

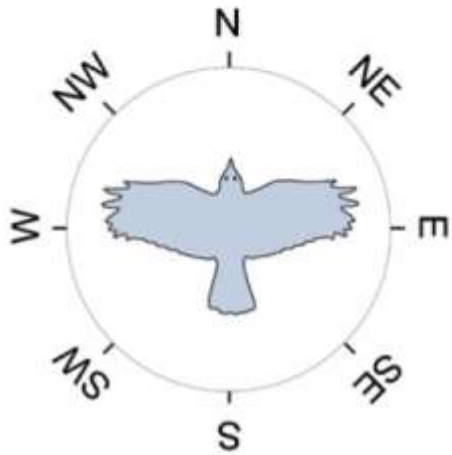
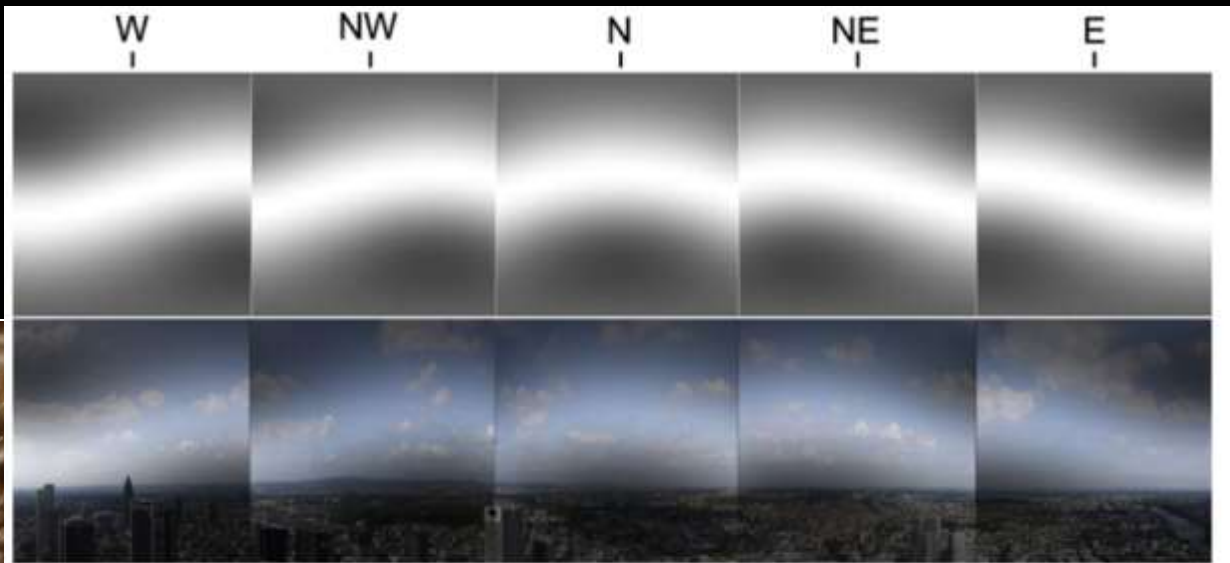


Problémy:

- Je magnetorecepce závislá na světle?
- Dokáže kompas rozlišit polaritu pole?

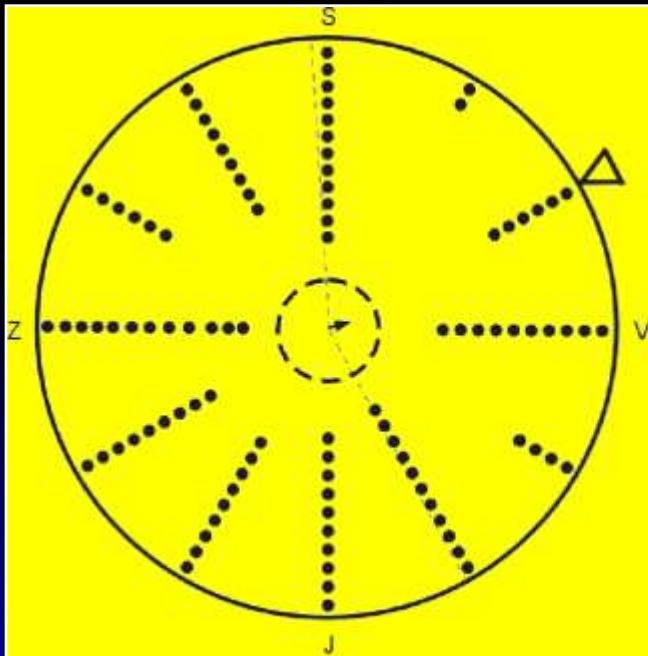


Otázky: můžou zvířata magnetické pole vidět? A co přesně vidí?



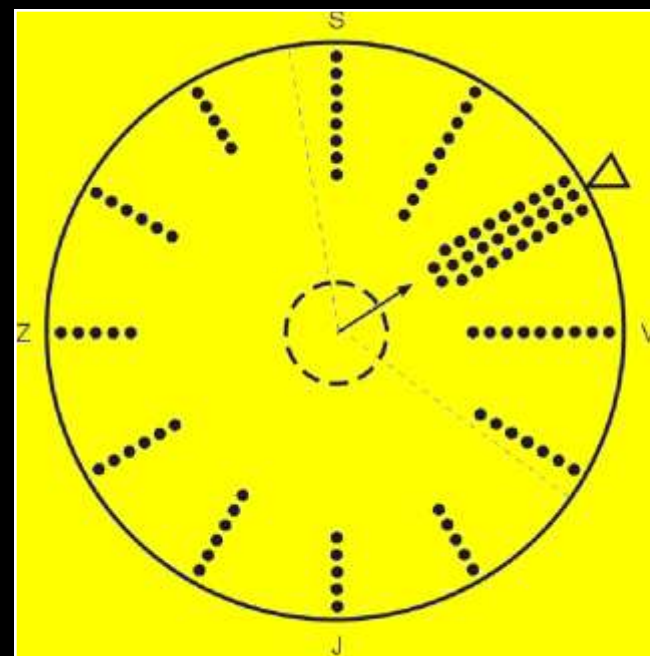
Ve tmě kompas potemníka nefunguje

Tma
0% RH



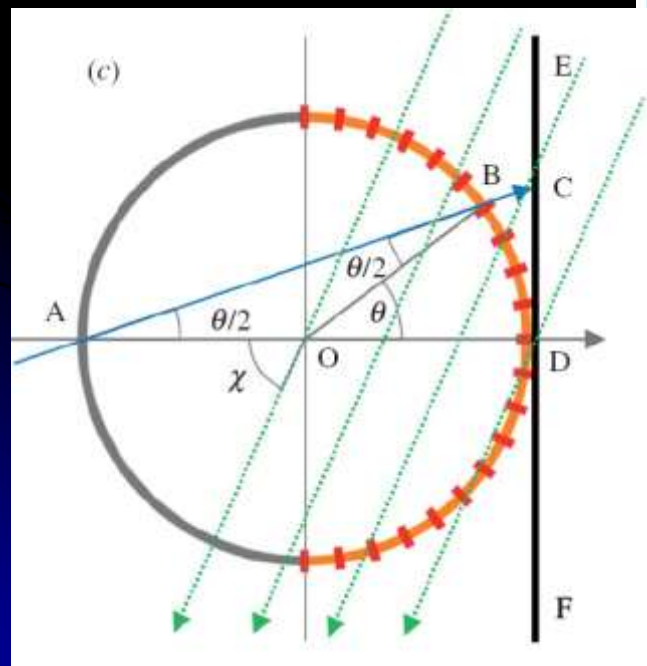
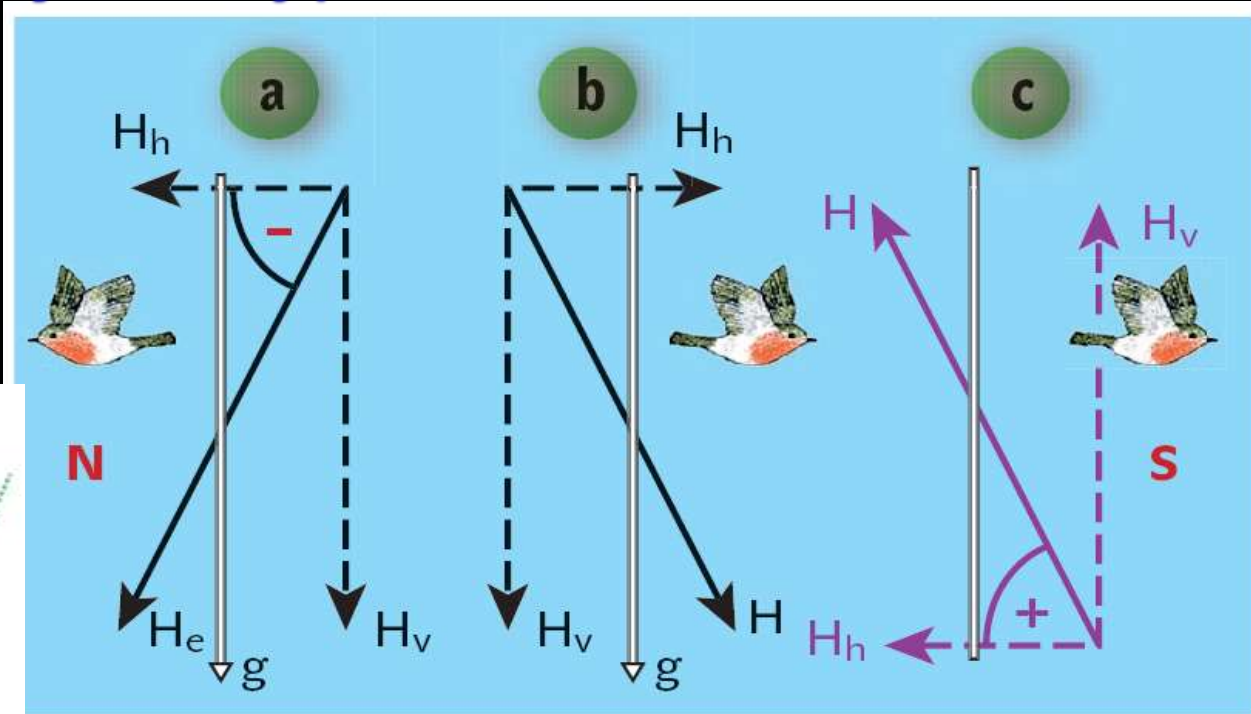
$N = 100$
 $\theta = 60^\circ$
 $\Phi = 74,6^\circ$
 $r = 0,08$
 $s = 78,0^\circ$

Světlo
0% RH



$N = 100$
 $\theta = 60^\circ$
 $\Phi = 57,1^\circ$
 $r = 0,31$
 $s = 67,3^\circ$

Rozlišení inklinanční a polaritní reakce ukazuje na typ recepce

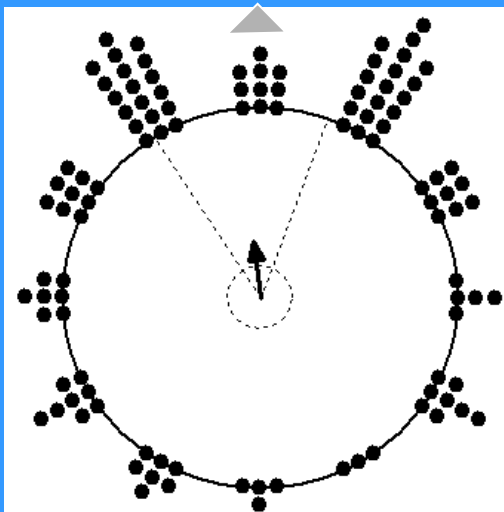


9. Inklinanční kompas ptáků. Normální orientace (a). Otočíme-li experimentálně vertikální složku geomagnetického pole (b), má to stejný účinek jako otočení složky horizontální (c). Ptáci (ale také čolci a želvy) odvozují tedy polaritu pole ze znaménka sklonu pole (inklinace). (Podle: Wiltschko W., Wiltschko R.: J. Comp. Physiol. A 191, 675–693, 2005)

Obrácení inklinace otočí orientaci potměníka – kompas není polaritní

Training ↙ Test ↘

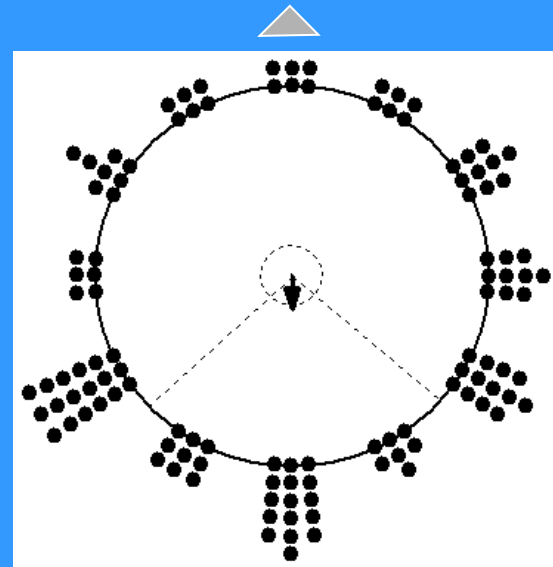
A



↔
 $P < 0.001$

Training ↙ Test ↘

B

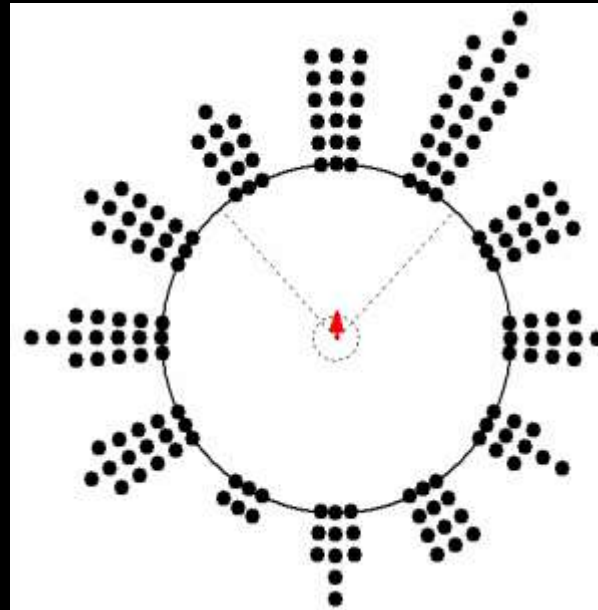


$N = 109$
 $MVB = 354^\circ$
 $P < 0.001$

$N = 115$
 $MVB = 179^\circ$
 $P = 0.03$

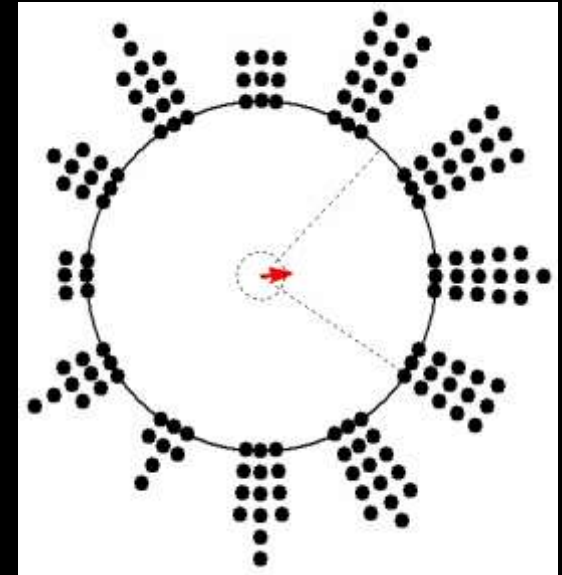
Změna barvy světla způsobí posun orientace

UV/UV



n=174
MVB=1
r=0.16
P=0.0143

UV/Green

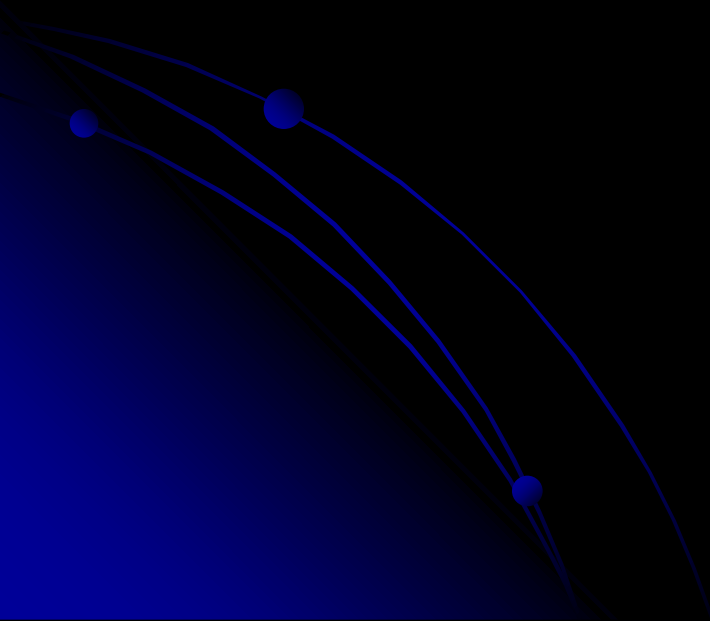


n=155
MVB=84
r=0.17
P=0.0106

Změna barvy světla způsobí posun orientace



Kompas potemníka Tenebrio má znaky na
světle závislého mechanismu.



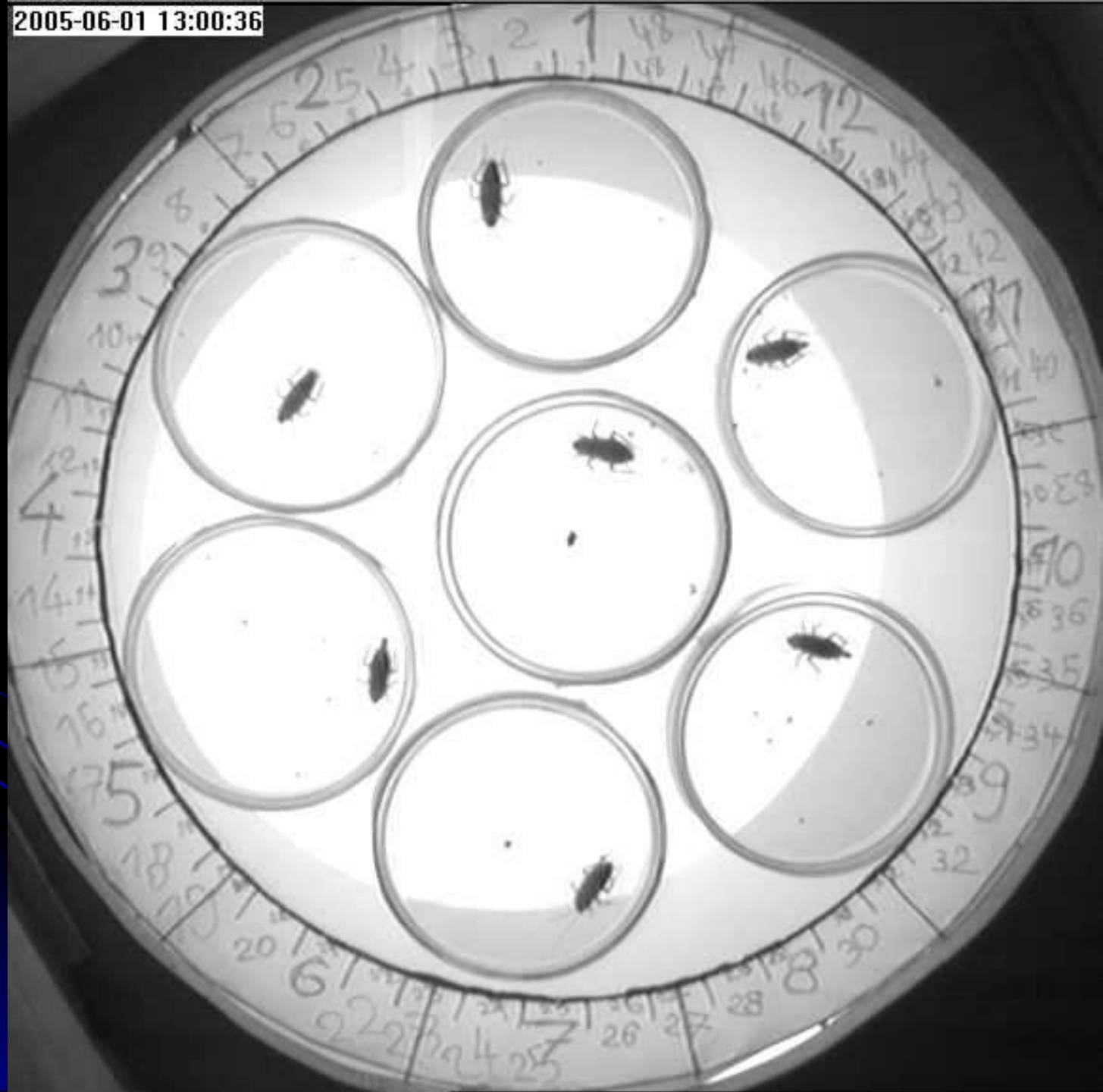
Nepodmíněná reakce?

- Poziční chování

Periplaneta americana

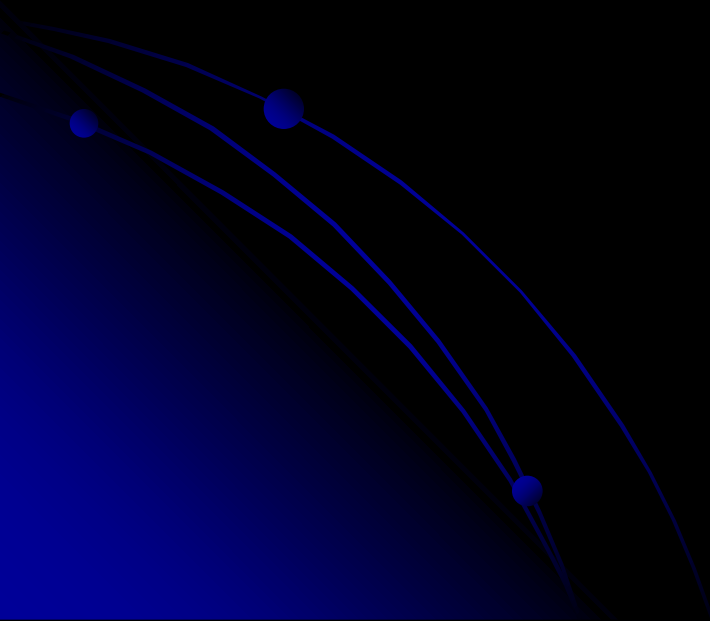


2005-06-01 13:00:36

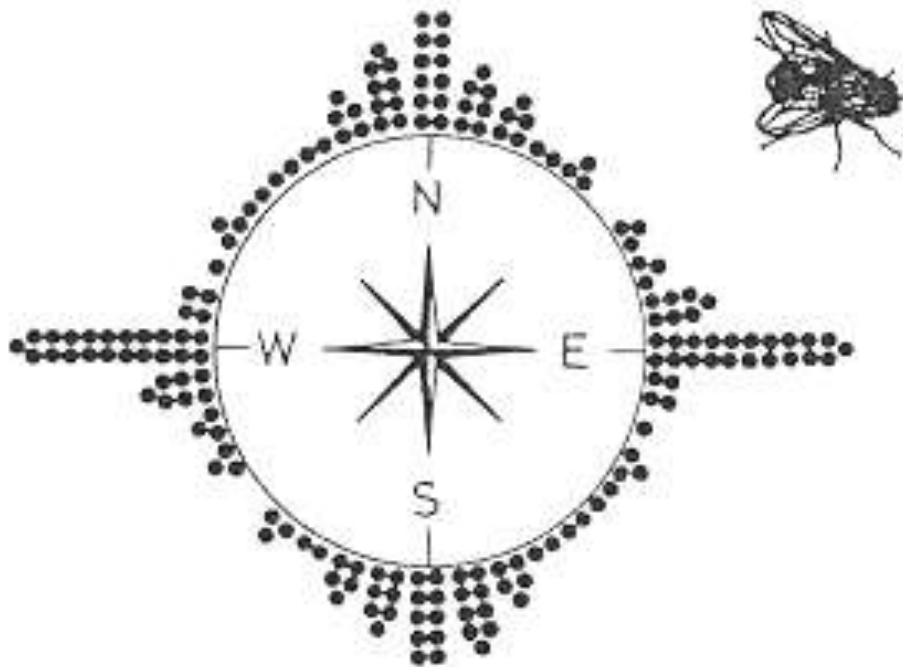


Methods:

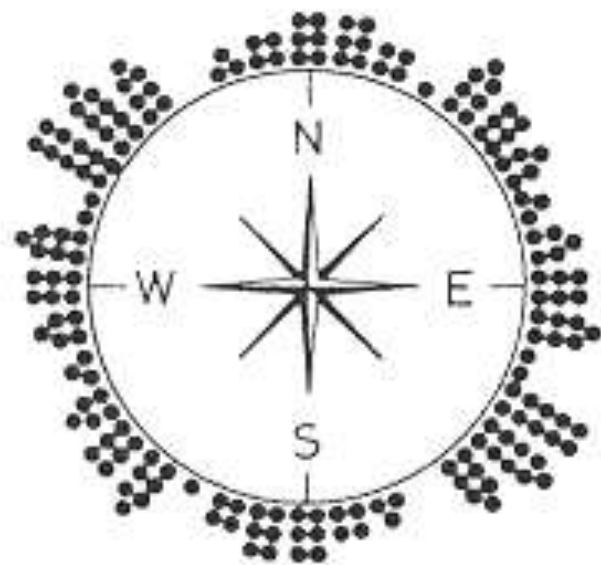
2x4 Helmholtz coil system
rotating GMF 60°CW



Alignment behavior



geomagnetic
field



compensated
magnetic field

Alignment behavior

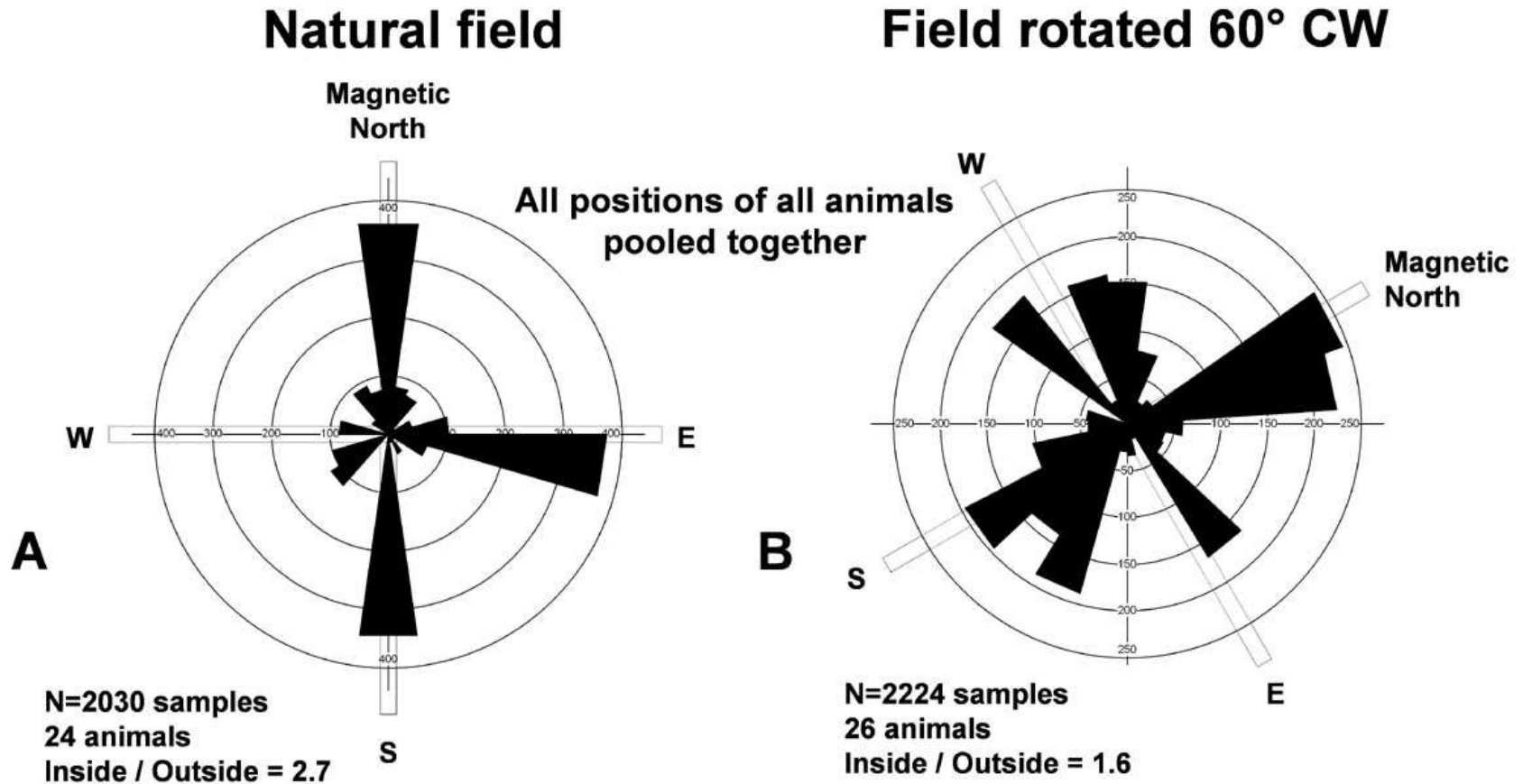
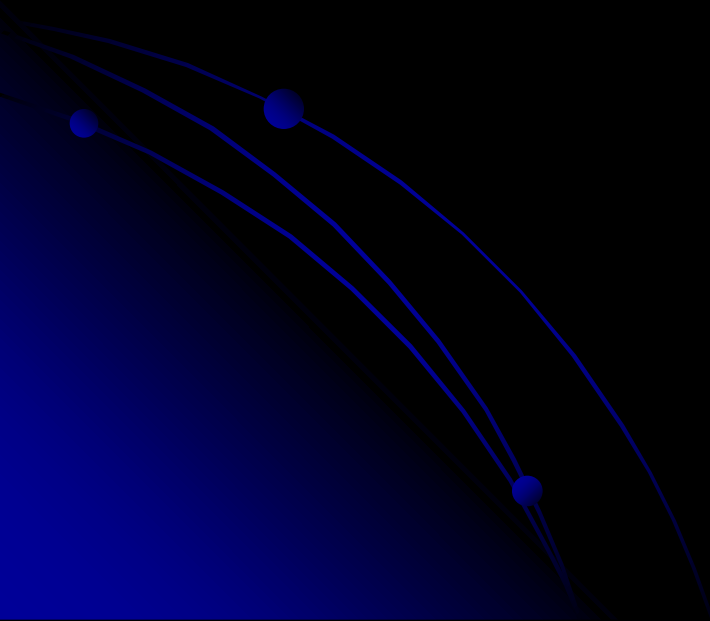
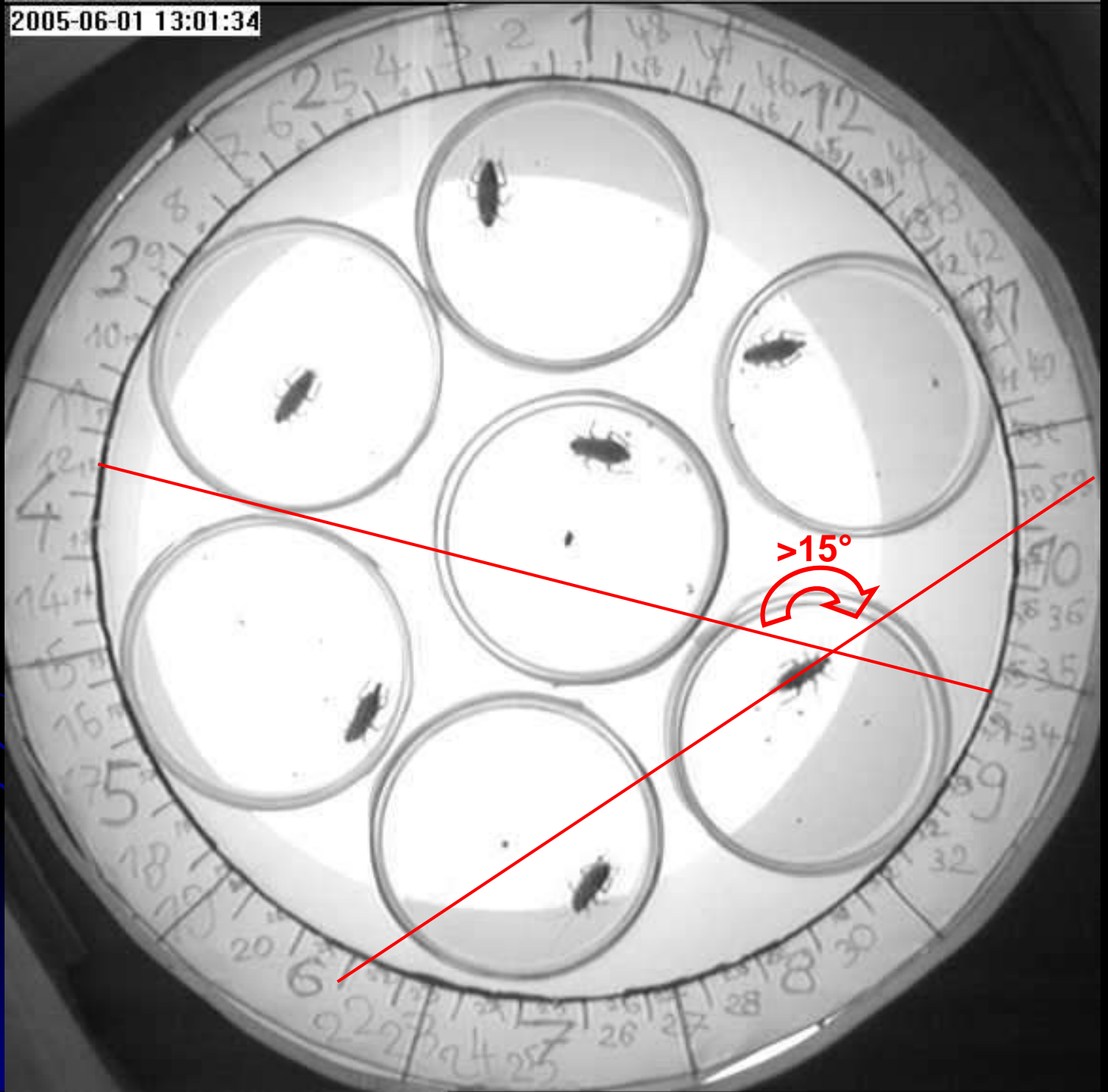


Fig. 1

B) Body turns in rotating field



2005-06-01 13:01:34



>15°

Time schedule:

Control



Dish loading

1 picture/min = 270 samples

Time schedule:

Test

GMF 60° CW rotation
Pulses 5min/5min

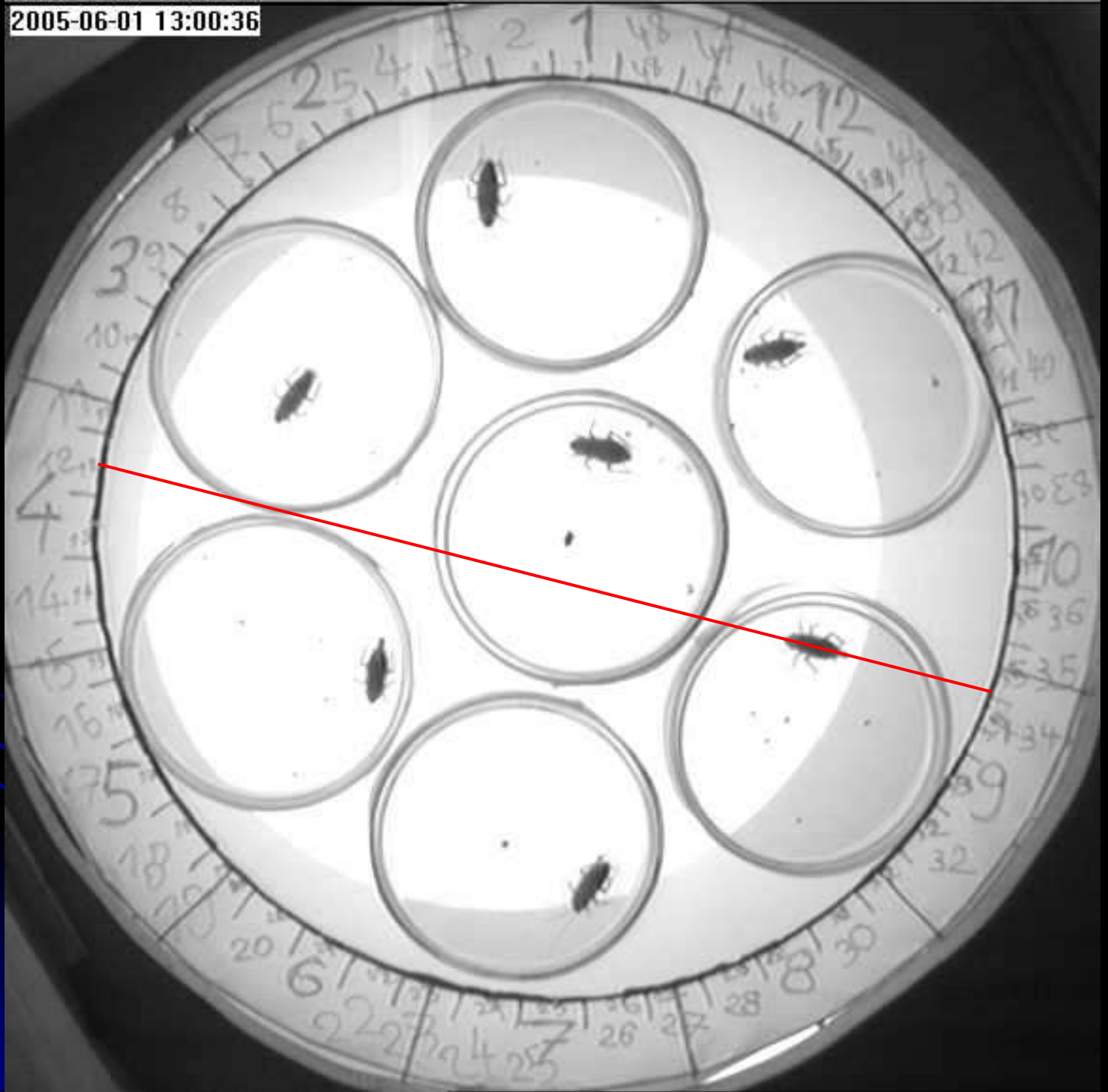


Dish loading

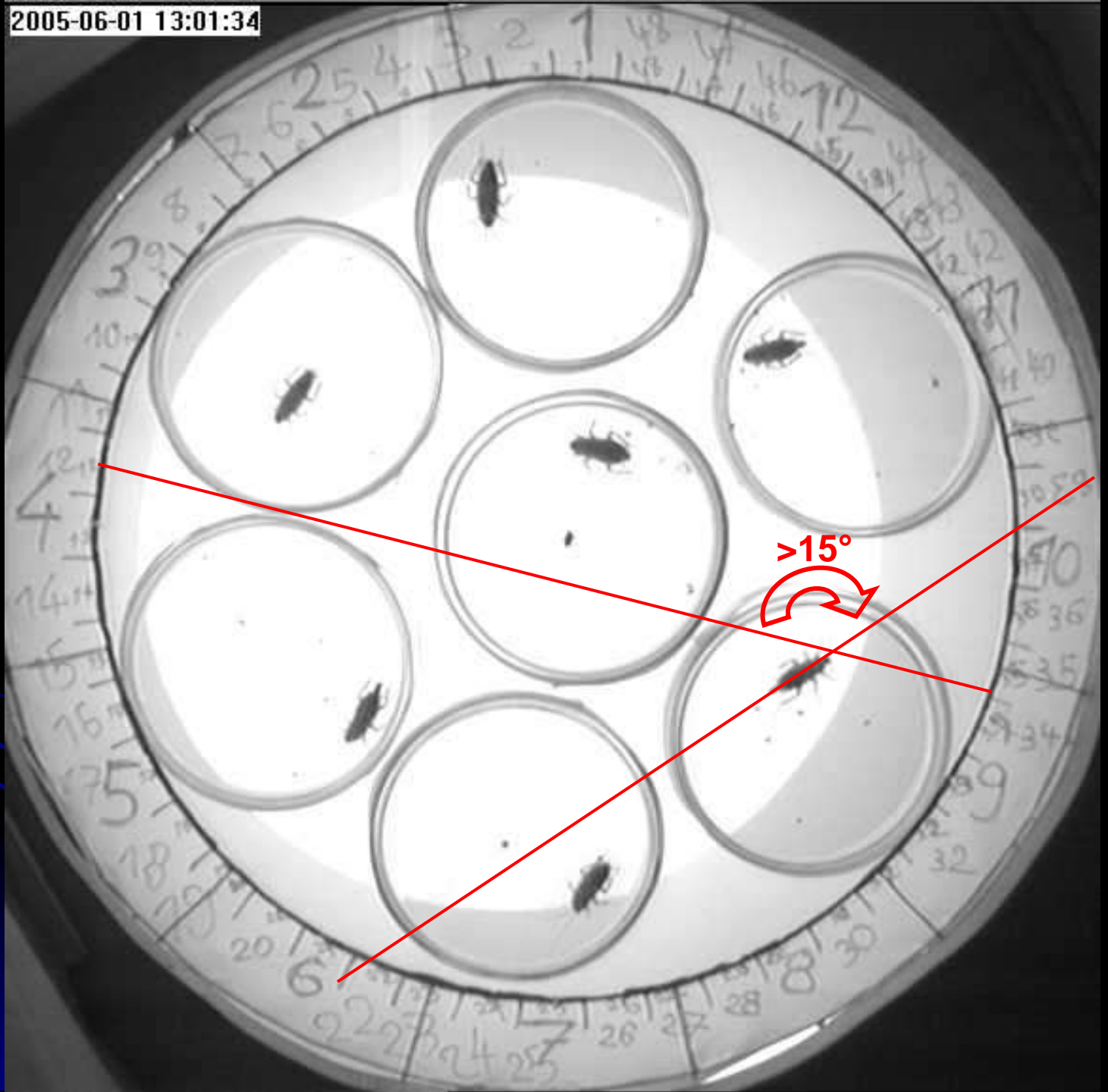


1 picture/min =
270 samples

2005-06-01 13:00:36



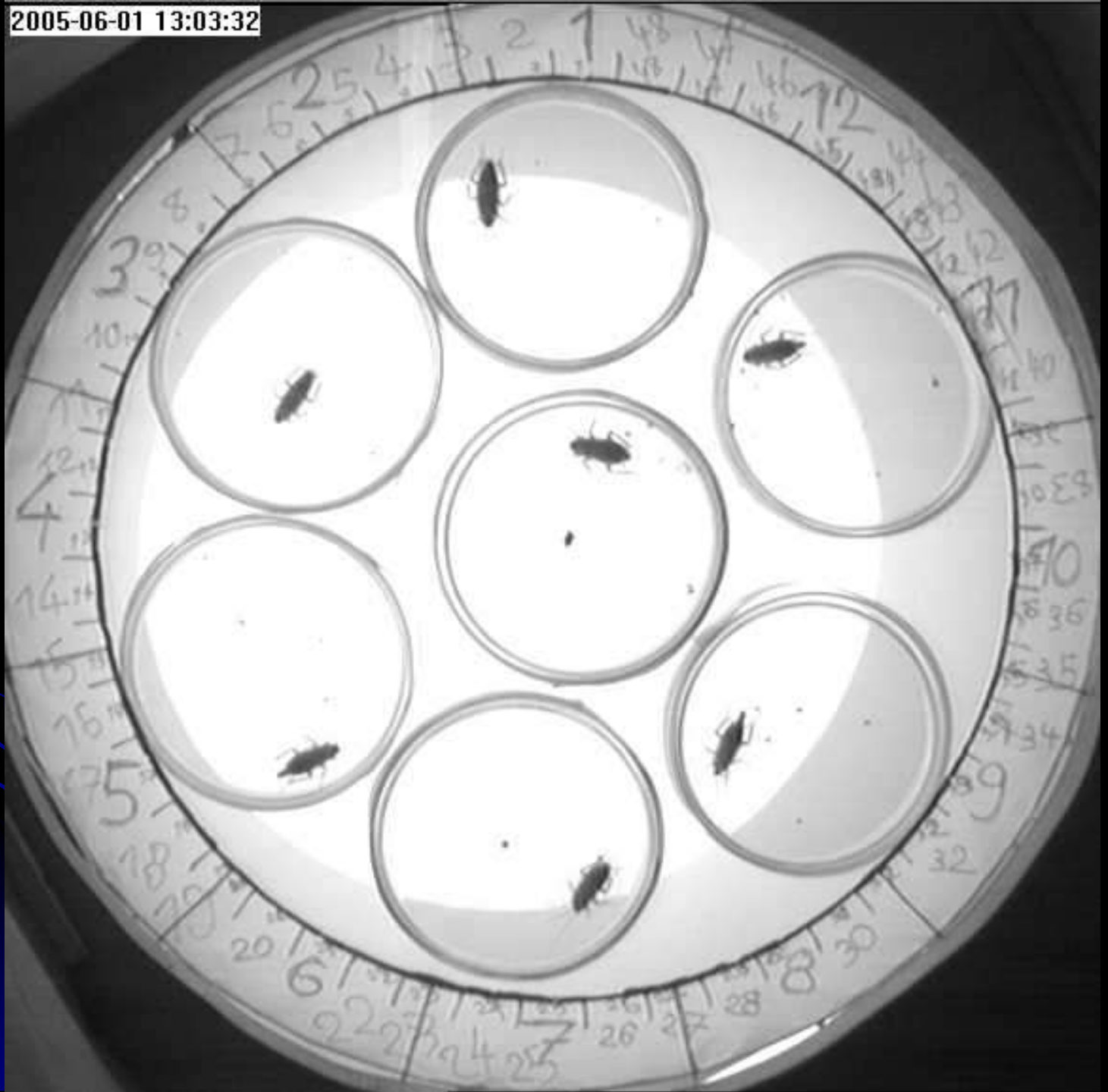
2005-06-01 13:01:34



2005-06-01 13:02:33



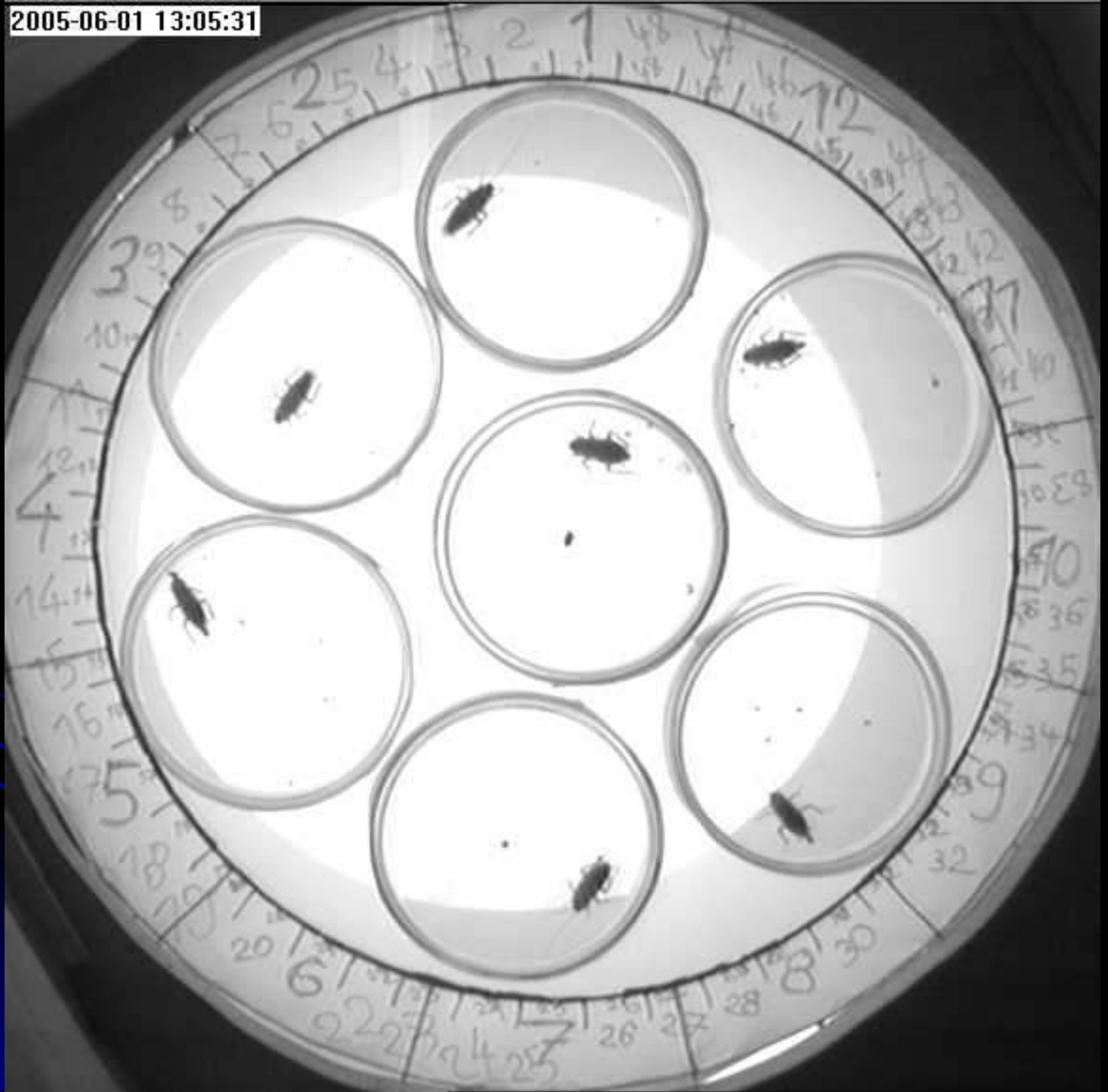
2005-06-01 13:03:32



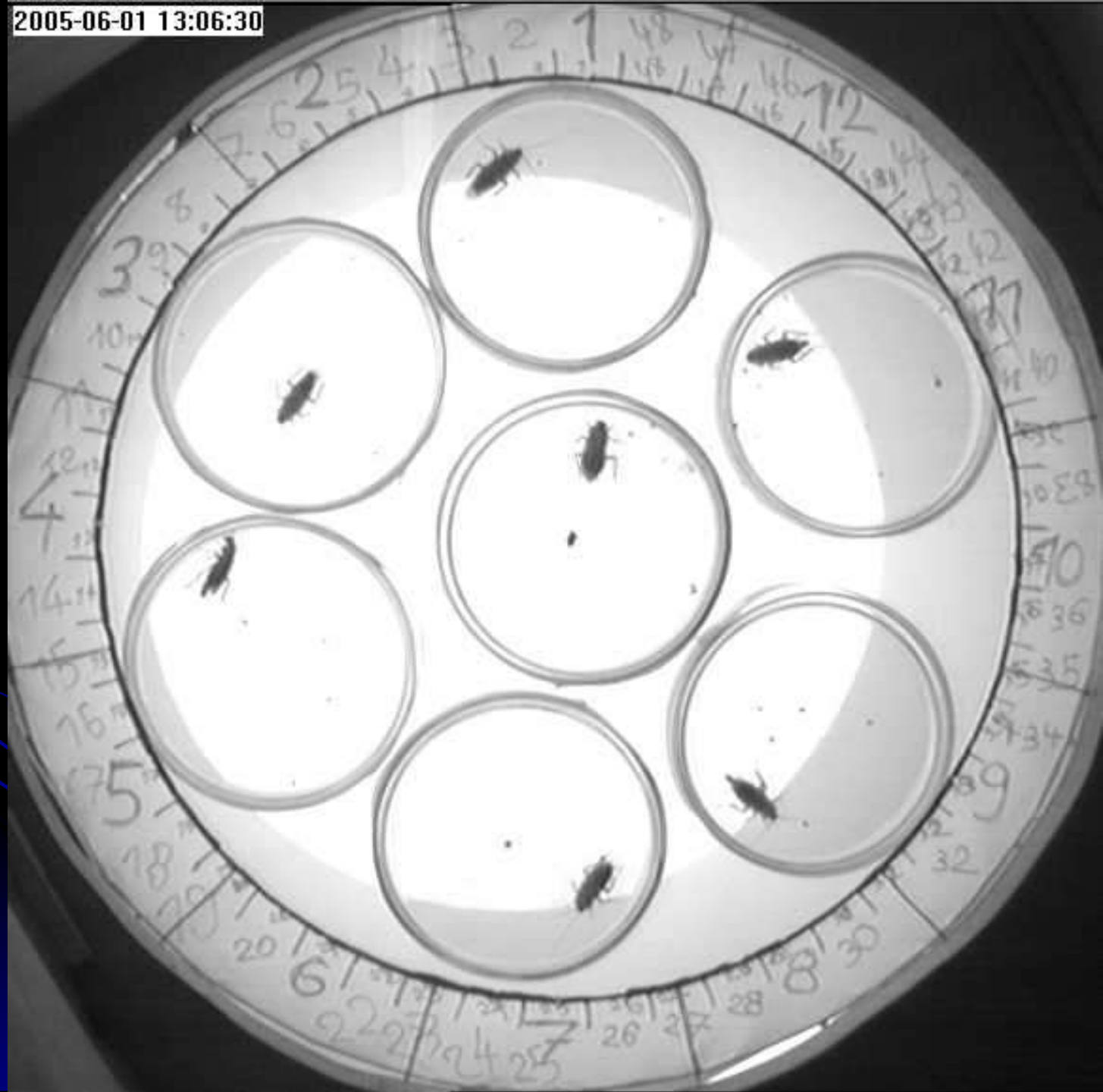
2005-06-01 13:04:31



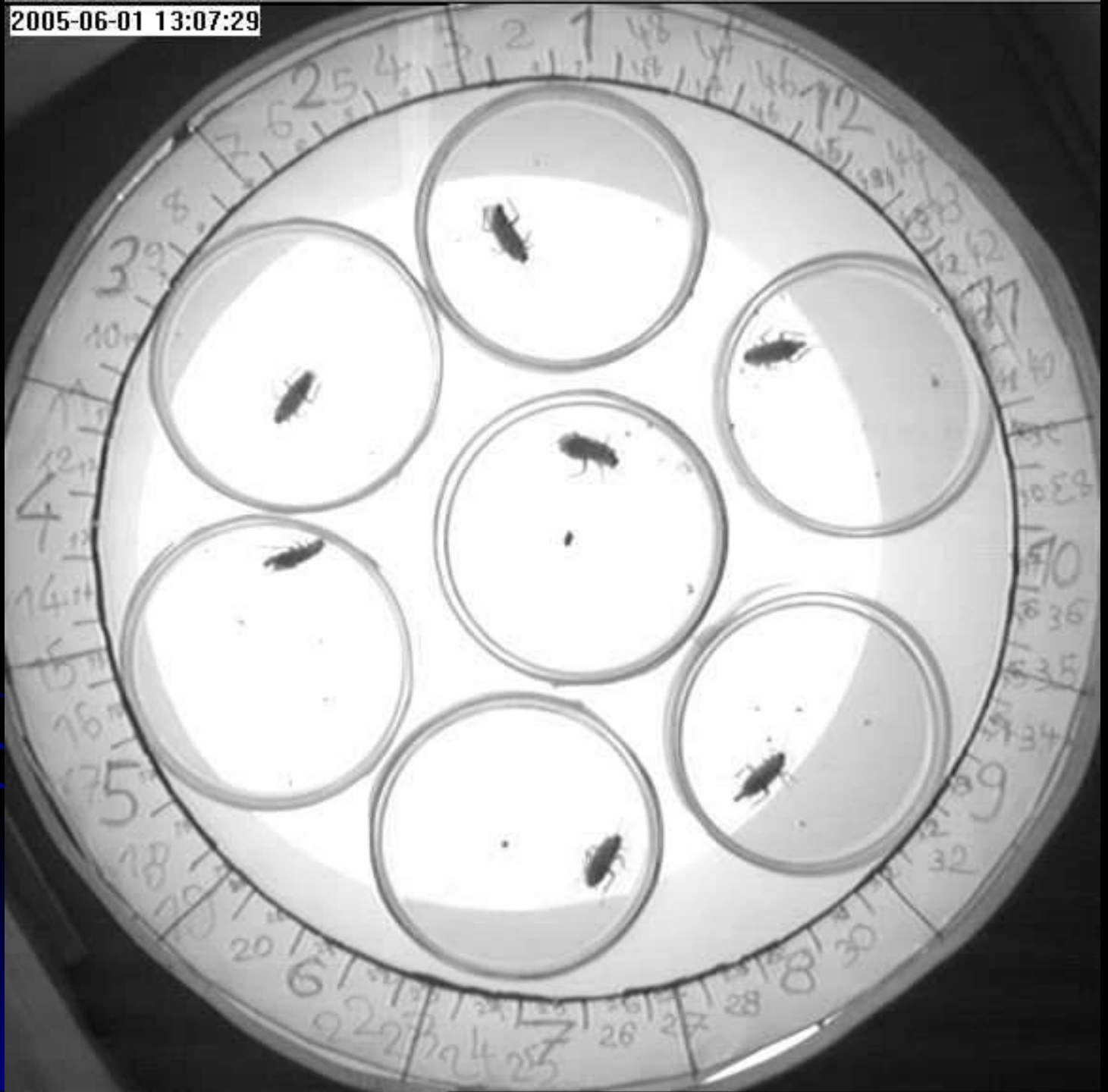
2005-06-01 13:05:31



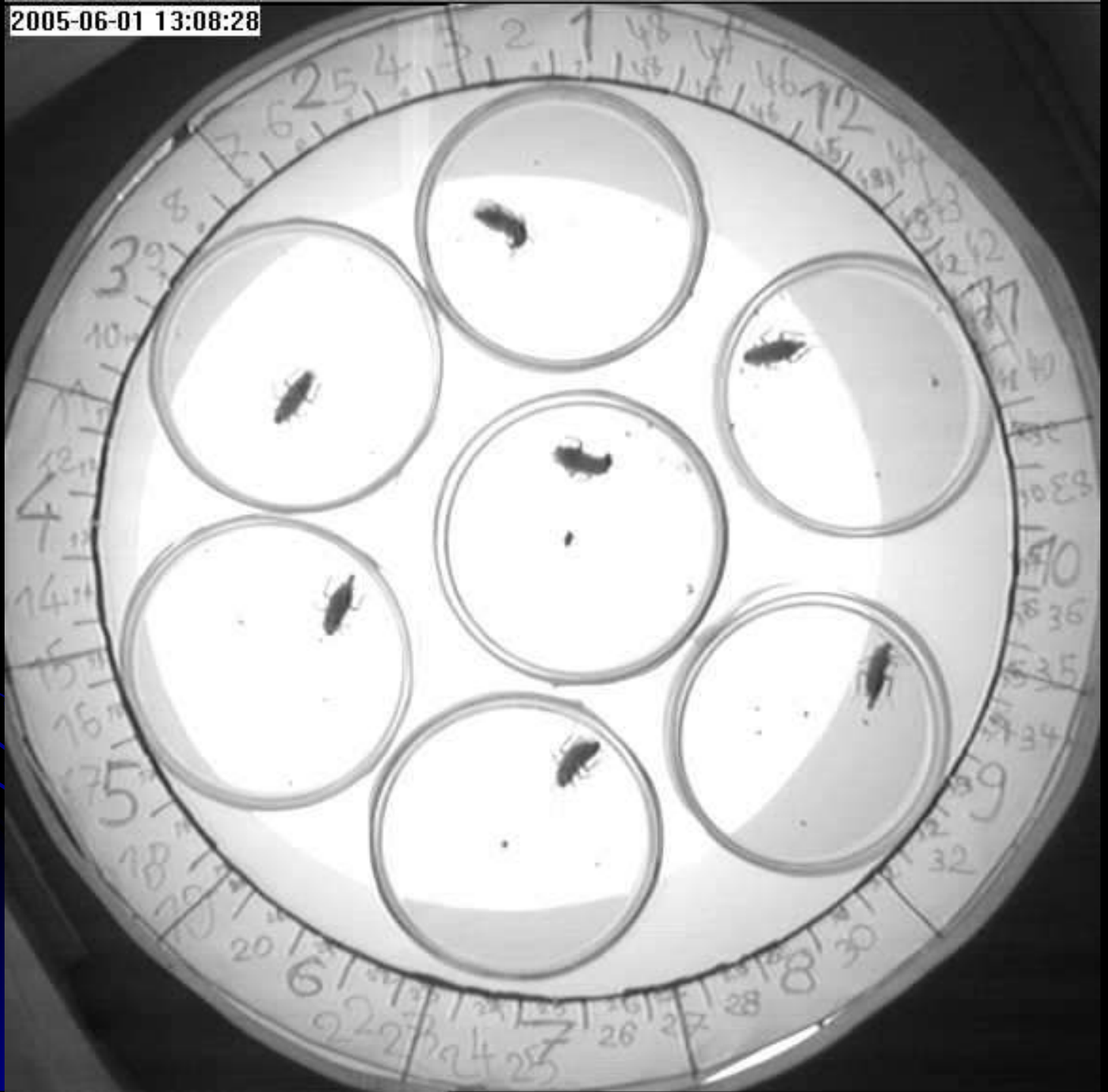
2005-06-01 13:06:30



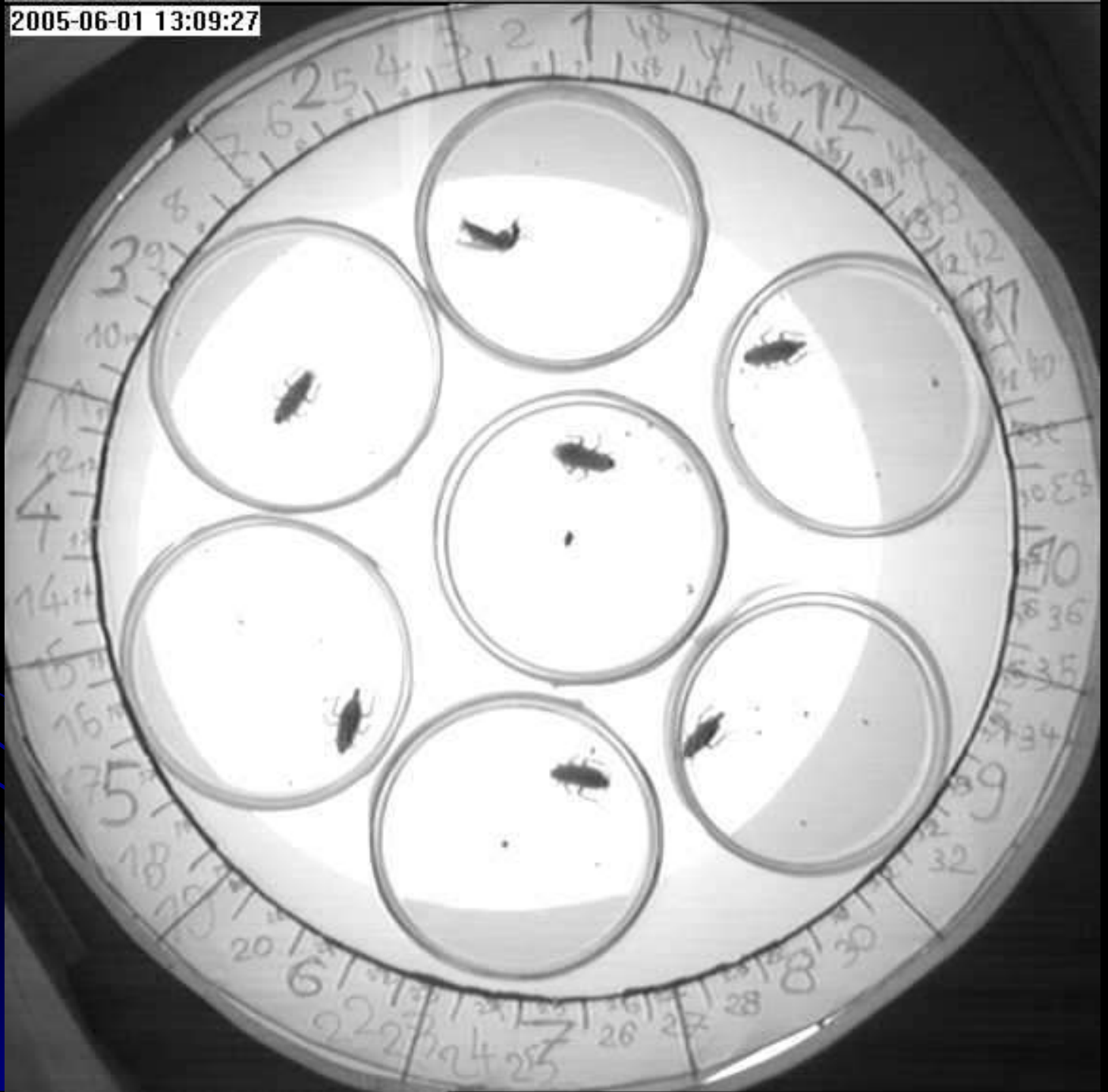
2005-06-01 13:07:29



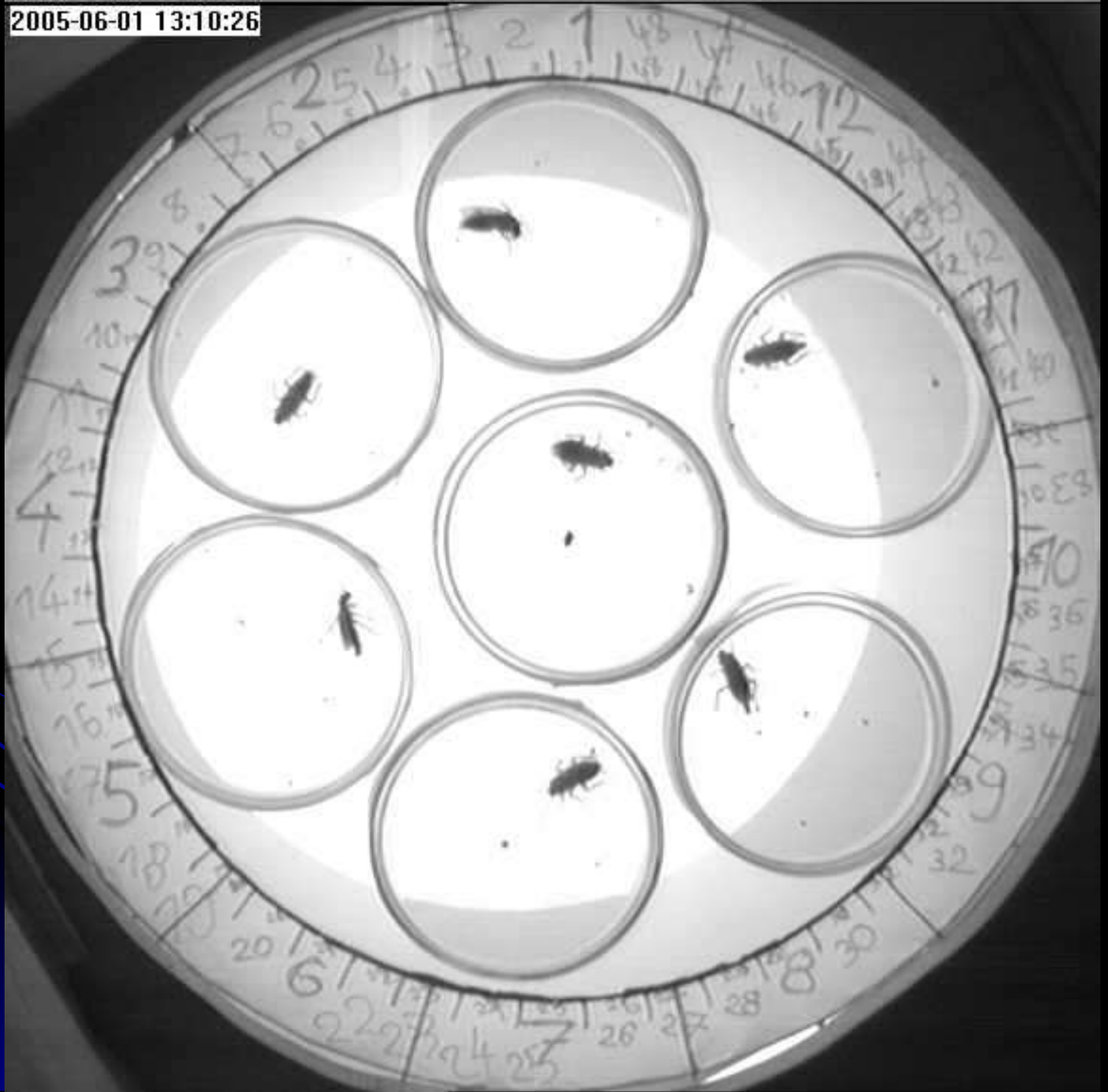
2005-06-01 13:08:28



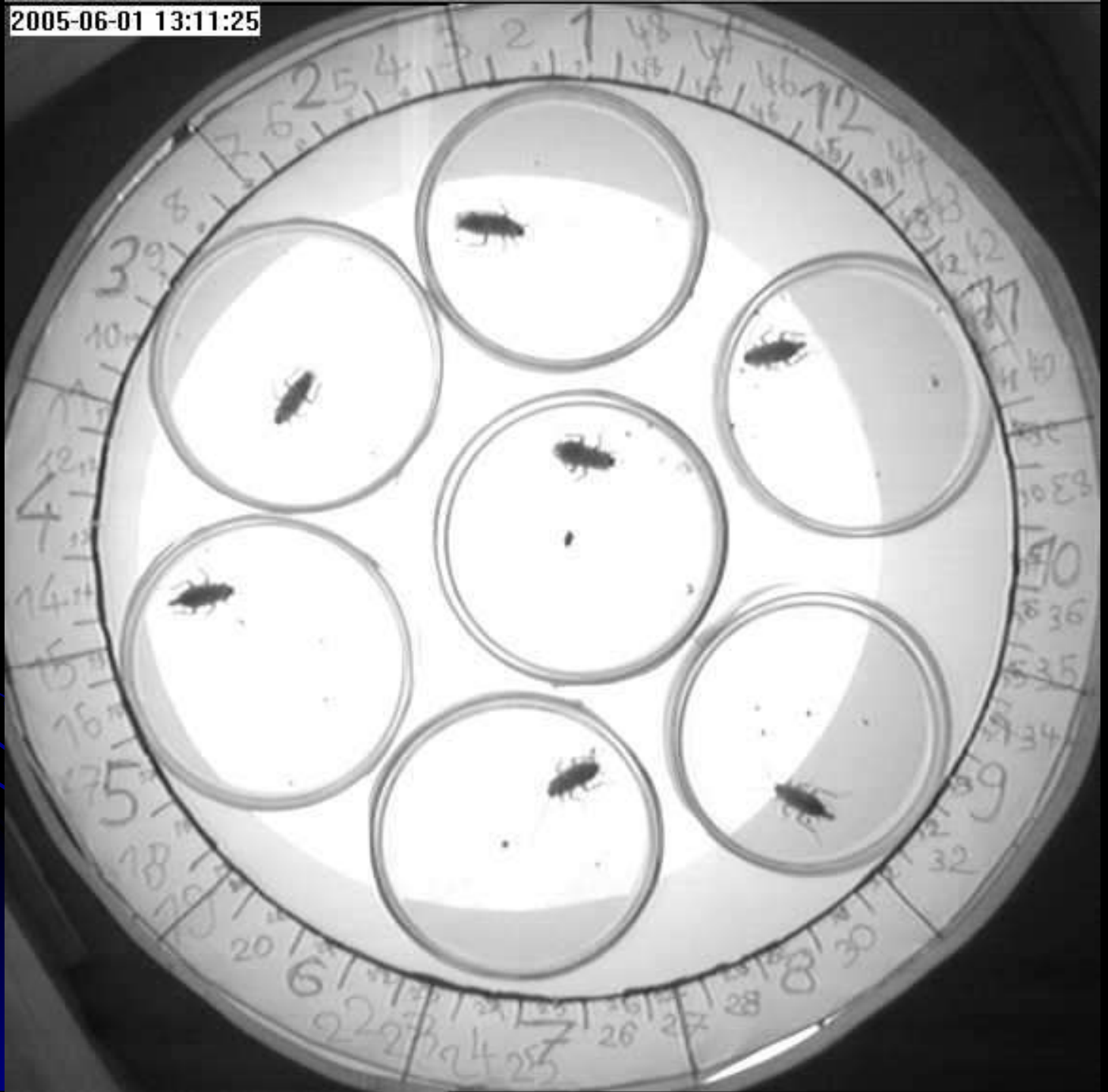
2005-06-01 13:09:27



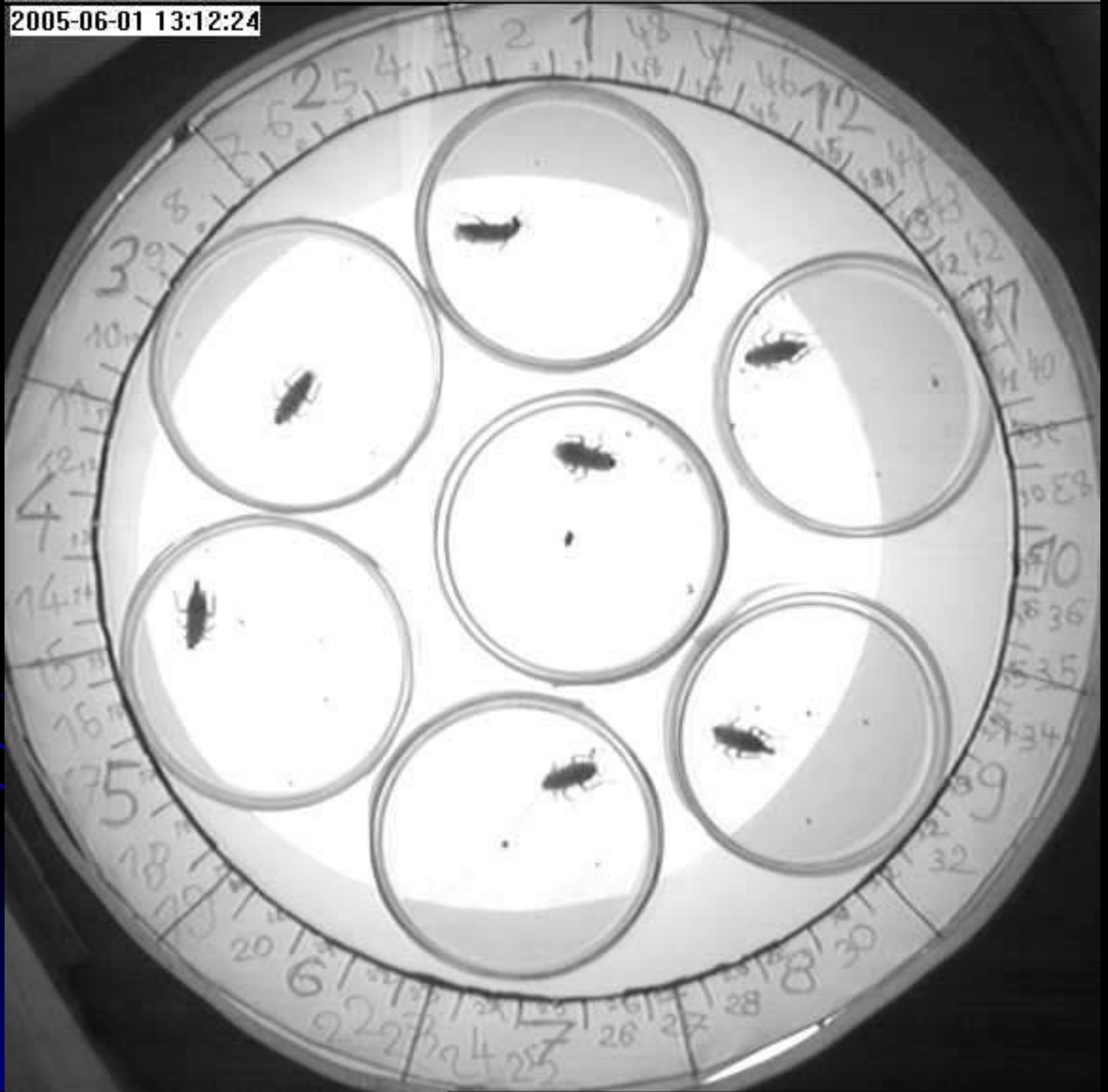
2005-06-01 13:10:26



2005-06-01 13:11:25



2005-06-01 13:12:24



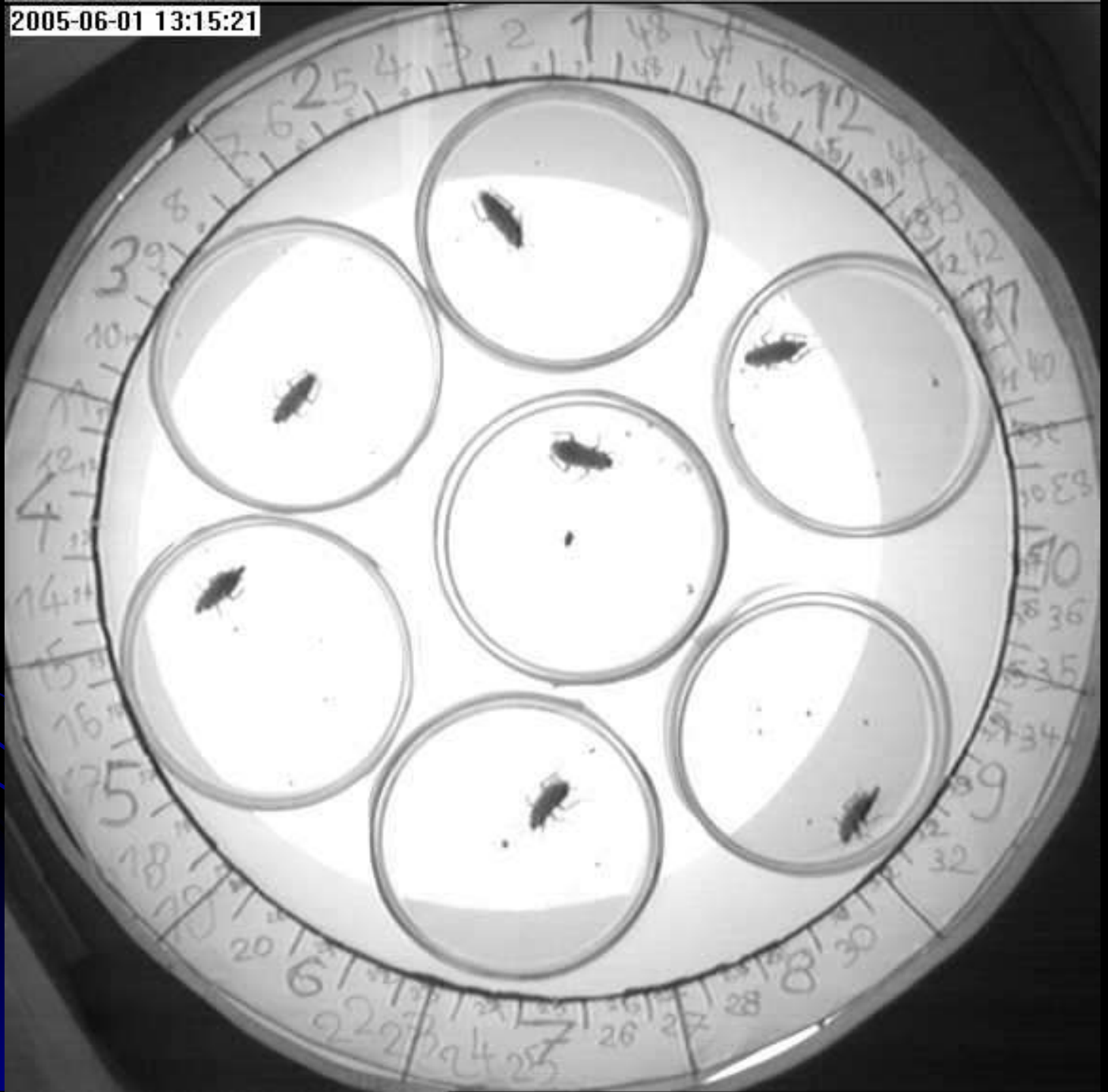
2005-06-01 13:13:23



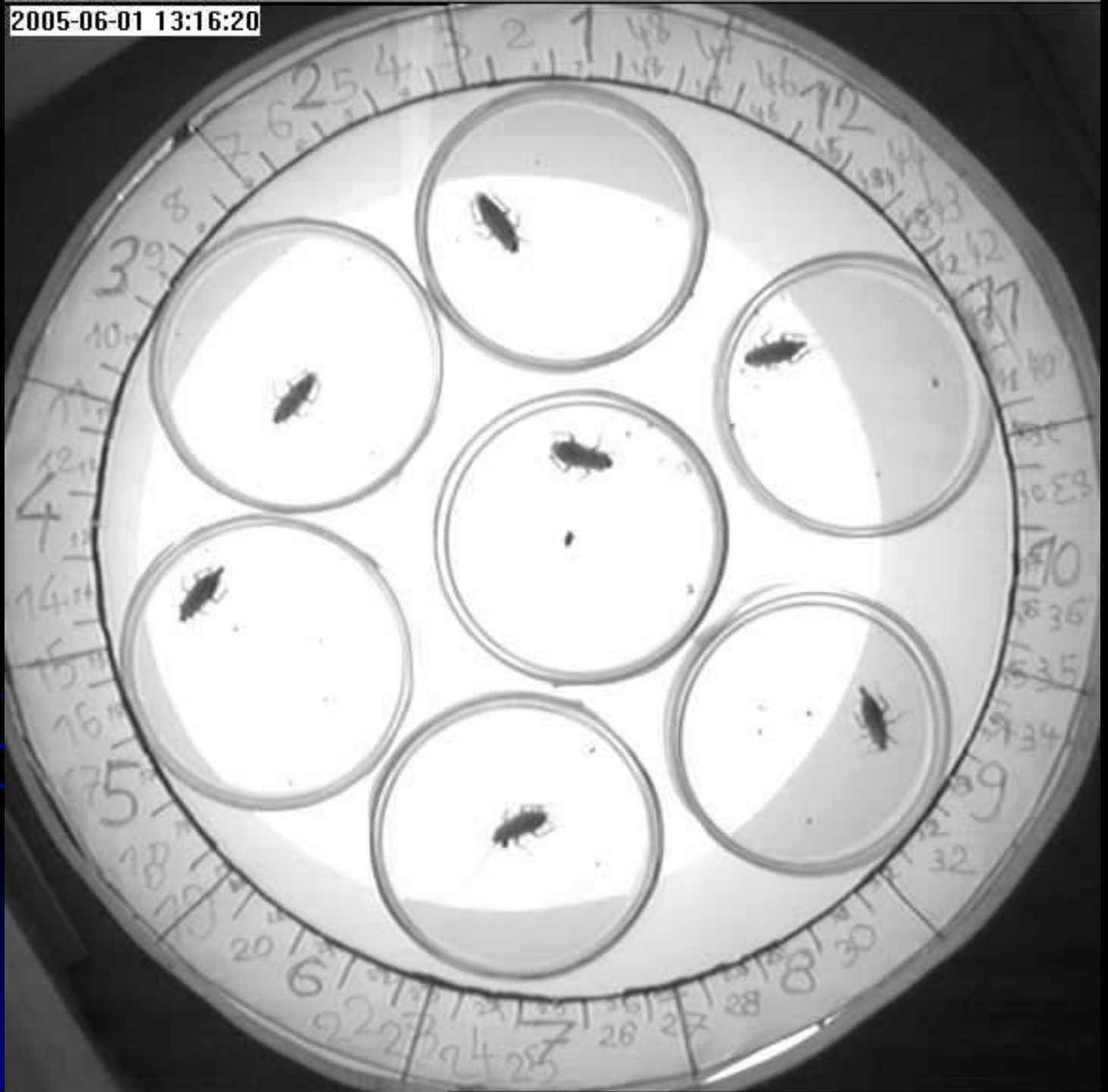
2005-06-01 13:14:22



2005-06-01 13:15:21



2005-06-01 13:16:20

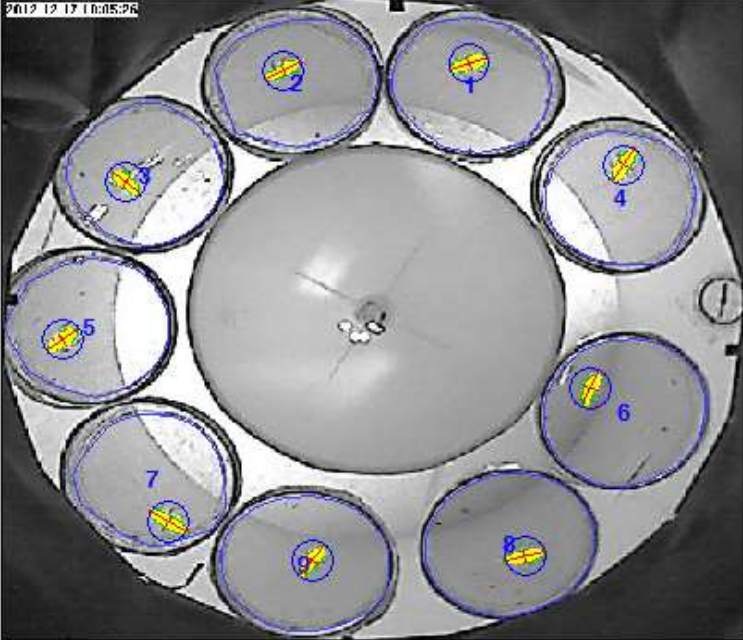


- Laboratorní testy chování
- Aktivity

Předvolby Pomoc

Obrázek

2012 12 17 16:05:26



Misky

Aktivní	Vyřazené
1	
2	
3	
4	
5	
6	
7	
8	
9	

Export do Excelu

Název listu

Cílová buňka

A1

Otevřít soubor po uložení

Měření pohybů

Považováno za pohyb

Rozdíl úhlů 15

Rozdíl pozic 20

Tloušťka okraje 1

Citlivost dotyků 3

Nezapočítávat dotyky

Zobrazit Uložit

Počet skupin 6

Měření úhlů

Počet intervalů 24

Nulový úhel 0

Zobrazit Uložit

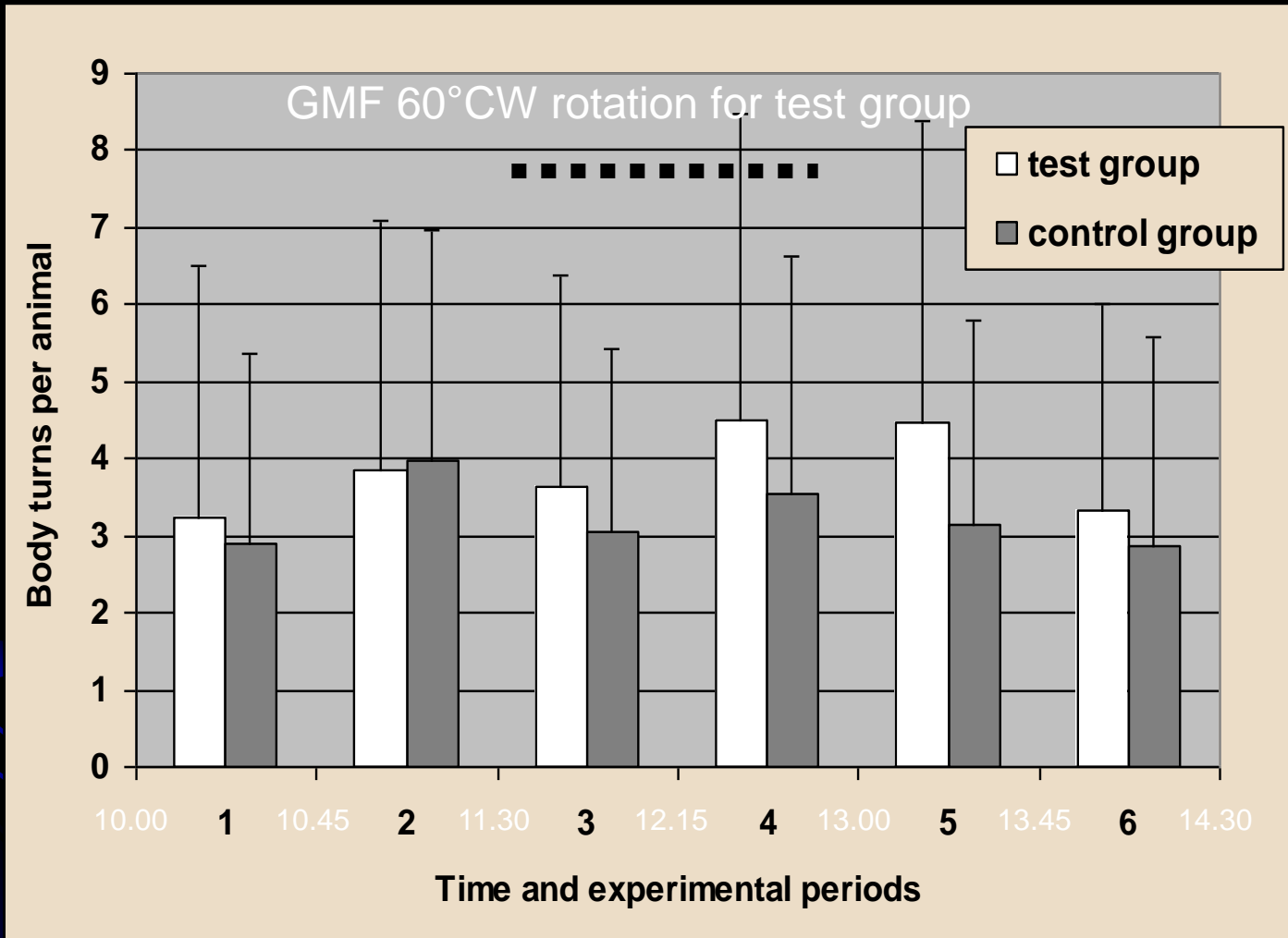
Orientace dat

Na výšku Na šířku

6 / 276

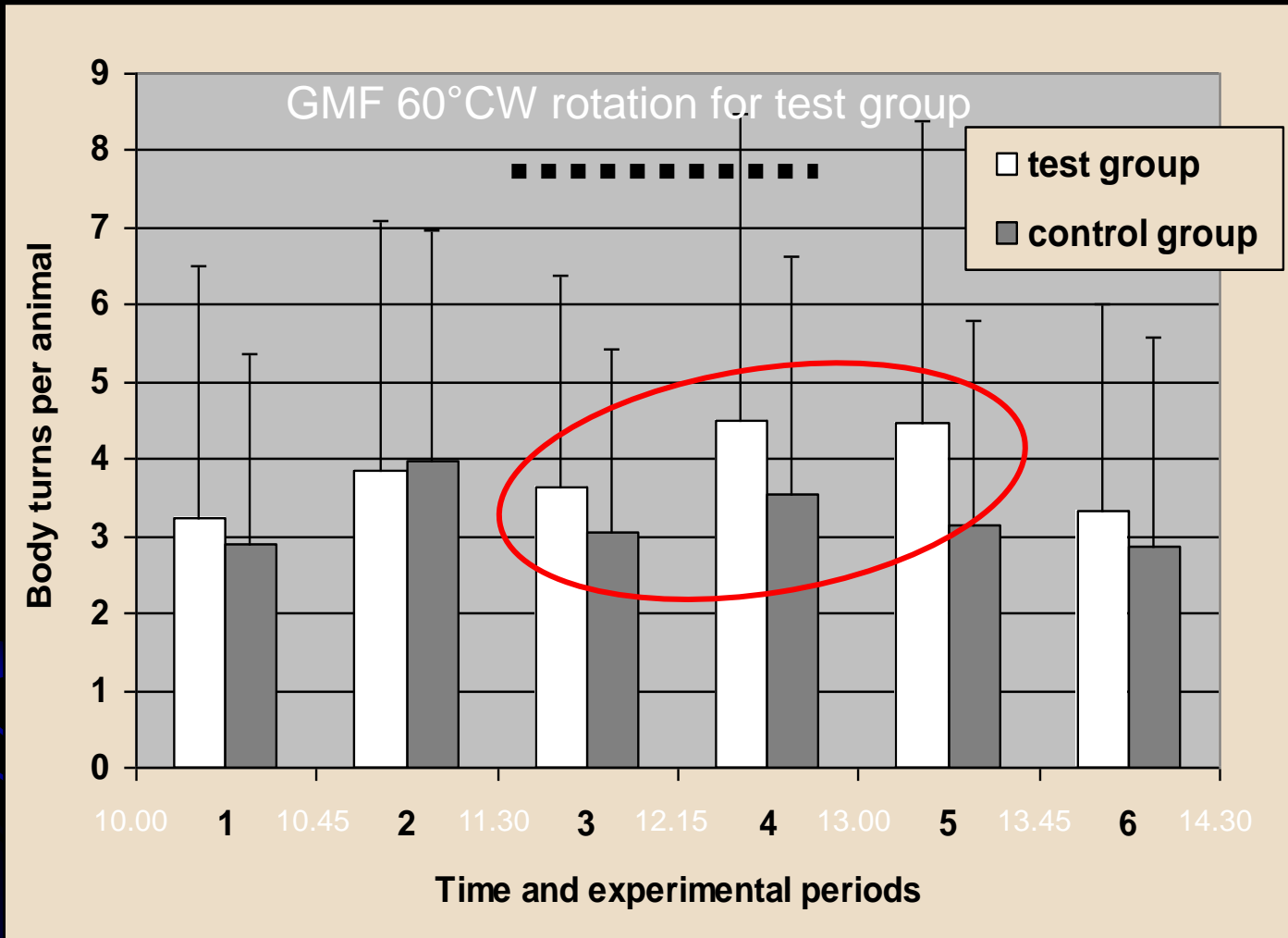
4943 s

Results:

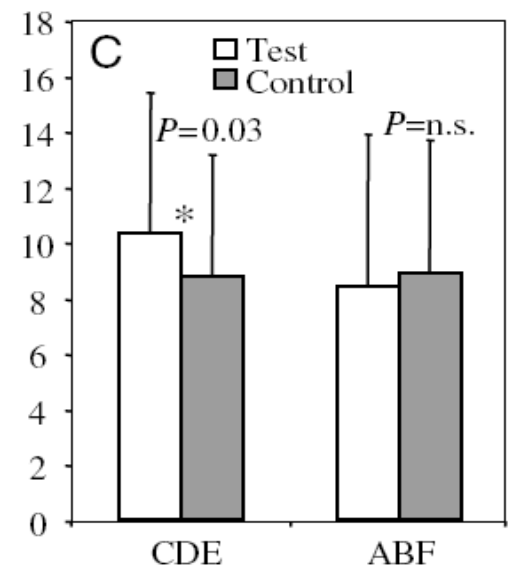
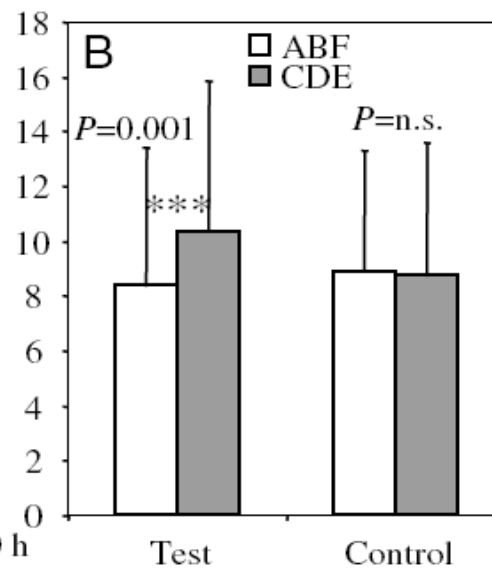
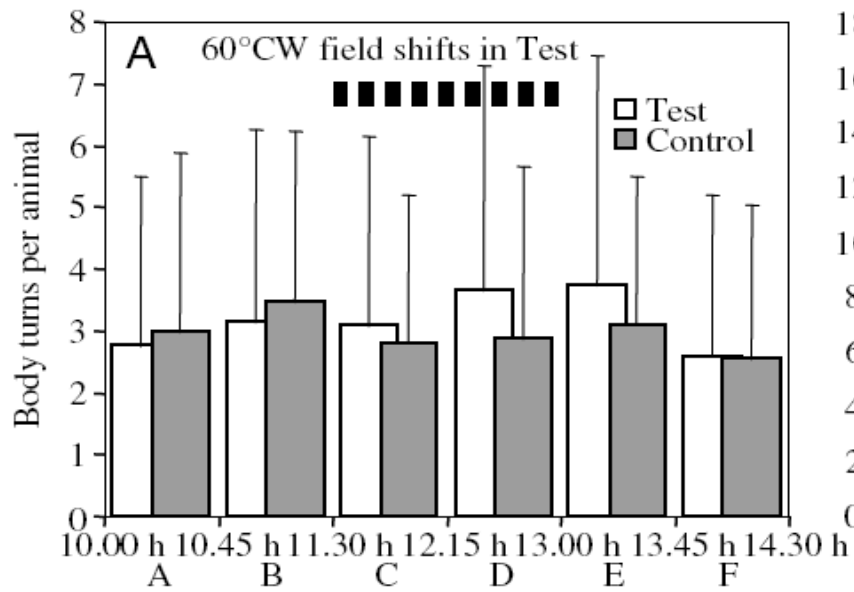


(n=62/66)

Results:



(n=62/66)



Kandidát na receptor ?

Periplaneta americana



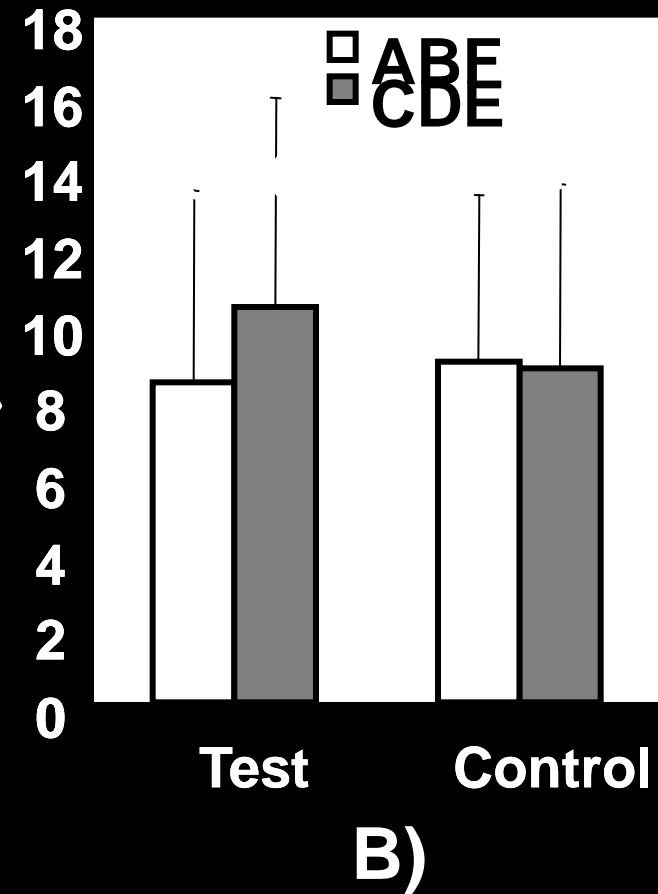
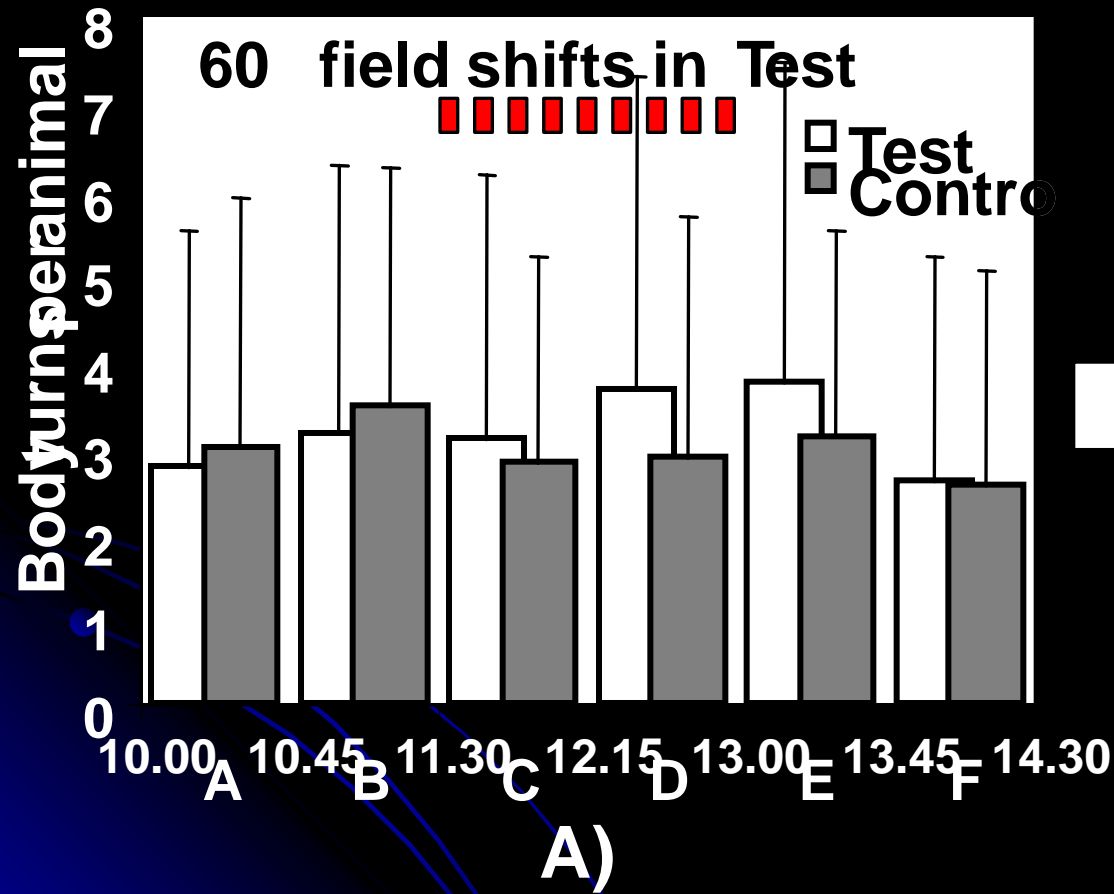
Amputace tykadel



Po týdnu

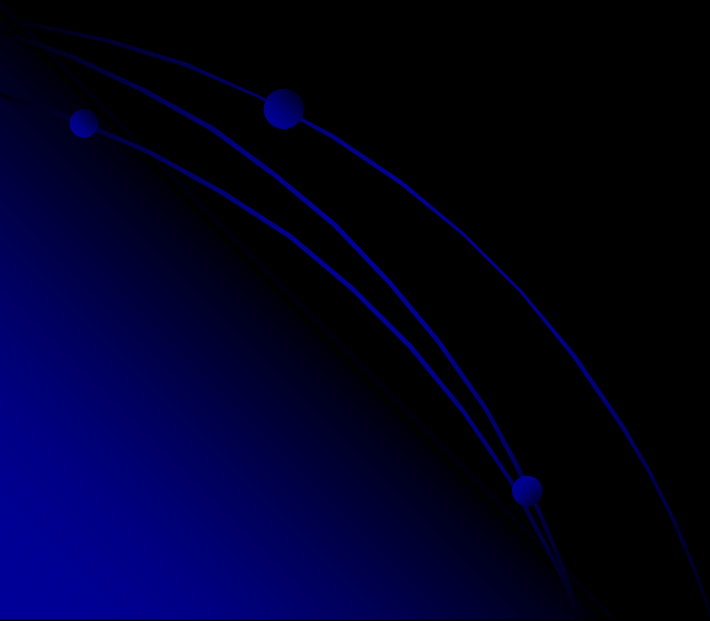


Rotace pole zvýší neklid

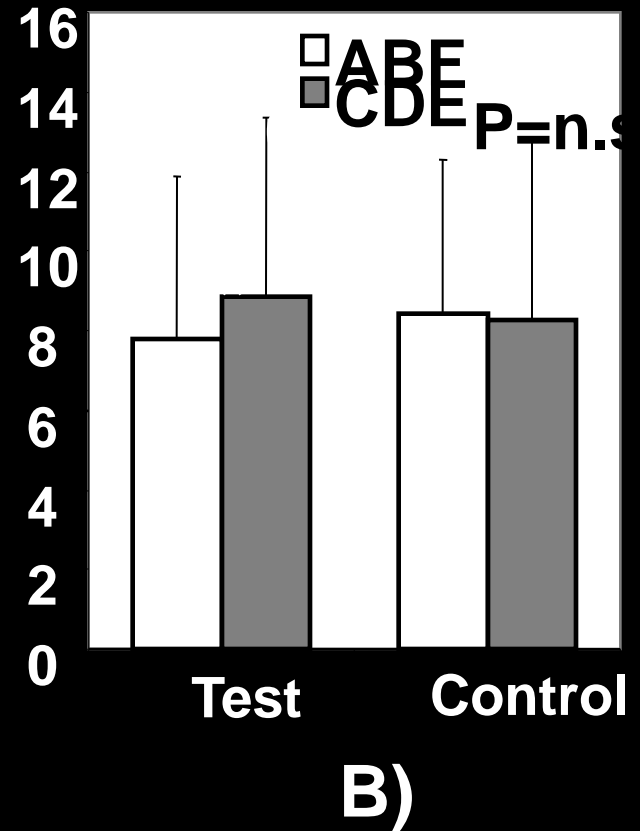
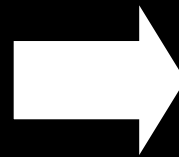
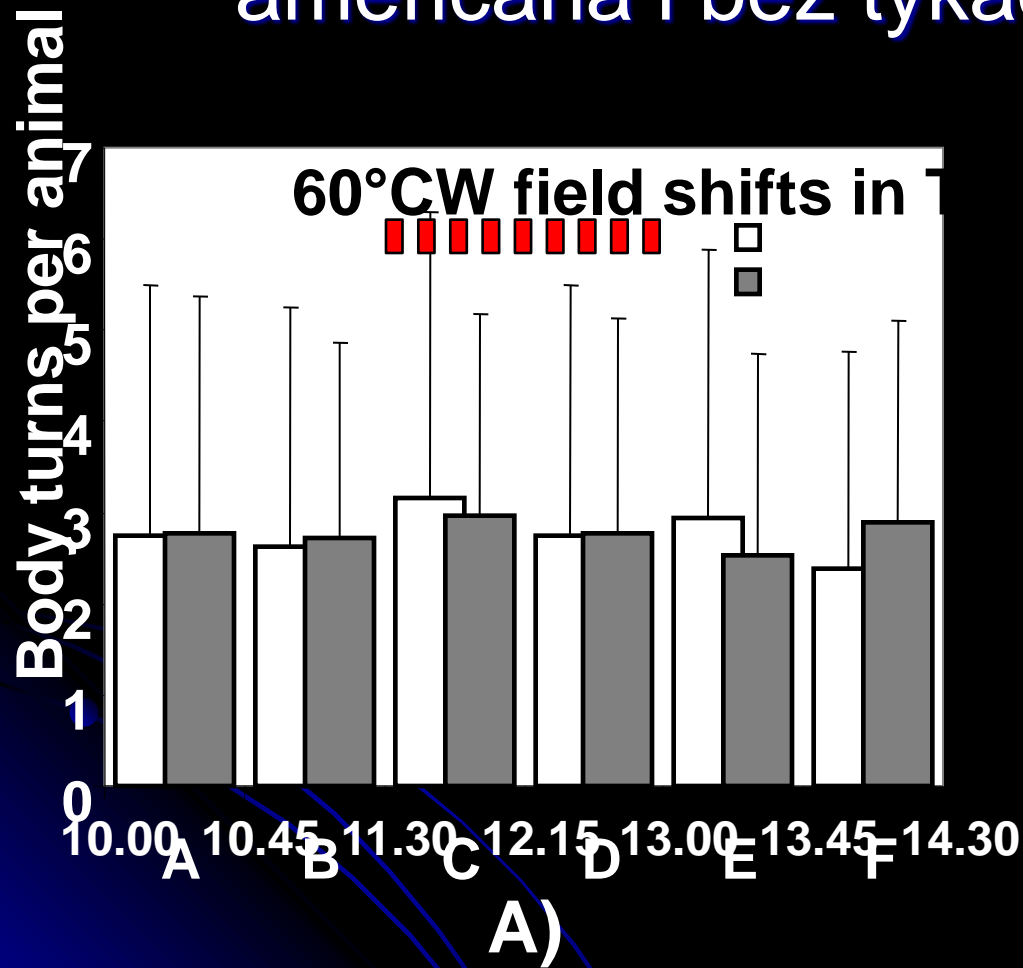


Amputace tykadel:

- Ztráta sensitivní reakce – receptor je v tykadlech nebo nespecifický vliv stresu
- Zachování reakce – receptor není v tykadlech

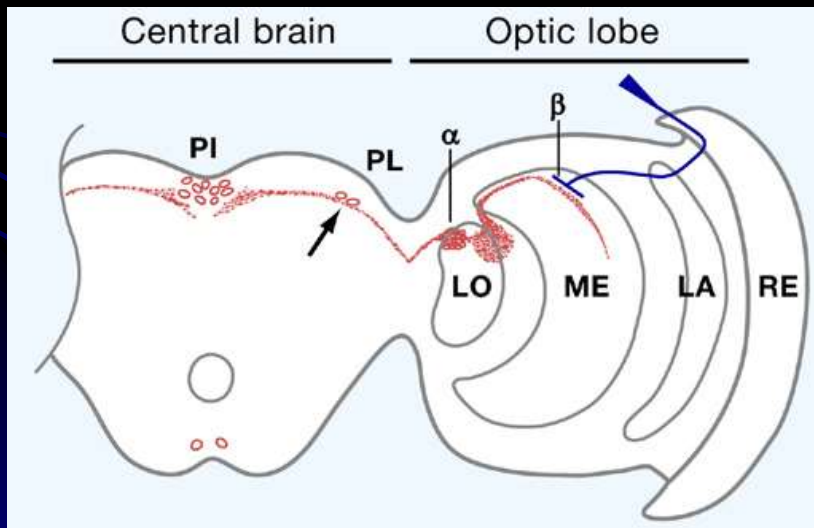


Rotace pole zvýší neklid Periplaneta americana i bez tykadel



Projekt kryptochrom

- Metody reverzní genetiky – iRNA
- Chirurgie – léze, ablace
- Imunohistochemie



Metody:

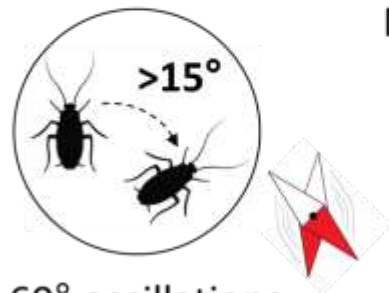
- Spontánní pohybová reakce *Periplaneta americana* na rotaci pole
- Nepodmíněná reakce
- Reverzní genetika – *RNA* interference



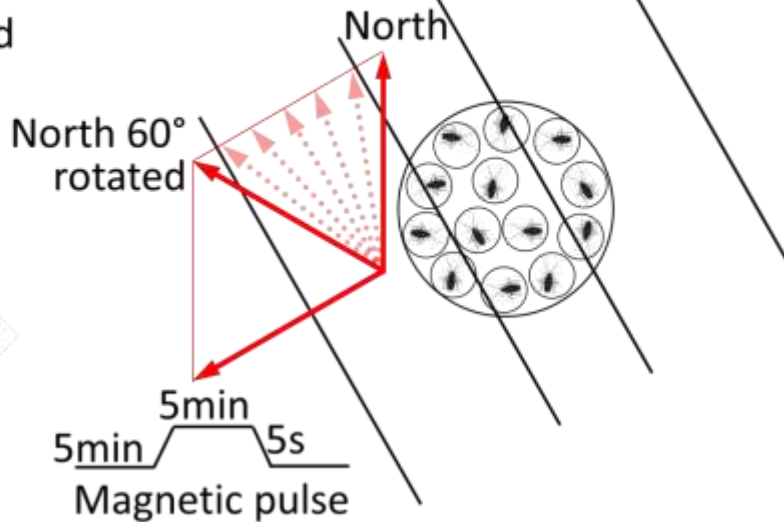
Vacha, M. 2006. Laboratory behavioural assay of insect magnetoreception: Magnetosensitivity of *Periplaneta americana*. *J. Exp. Biol.* 209: 3882-3886.

Methods:

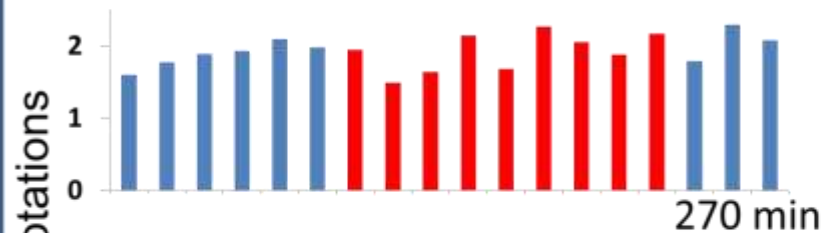
Magnetically Induced Restlessness (MIR)



60° oscillations
Period 5 min

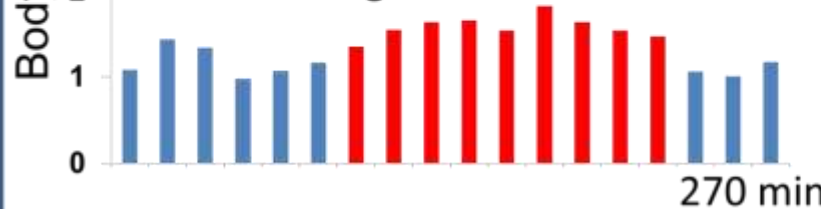


Control – no MGF rotation – no MIR reaction



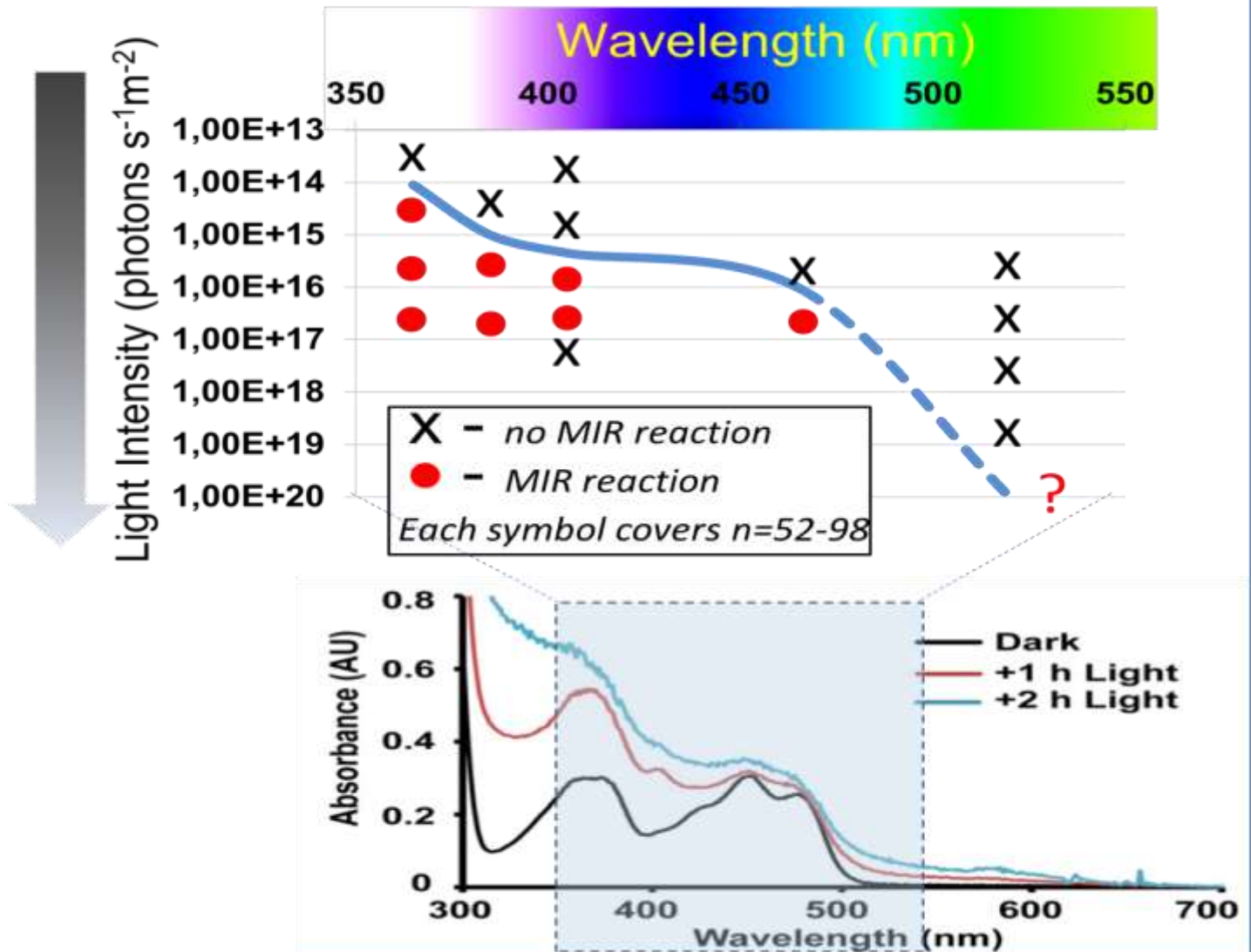
Wilcoxon
pair test,
N=119,
P=n.s.

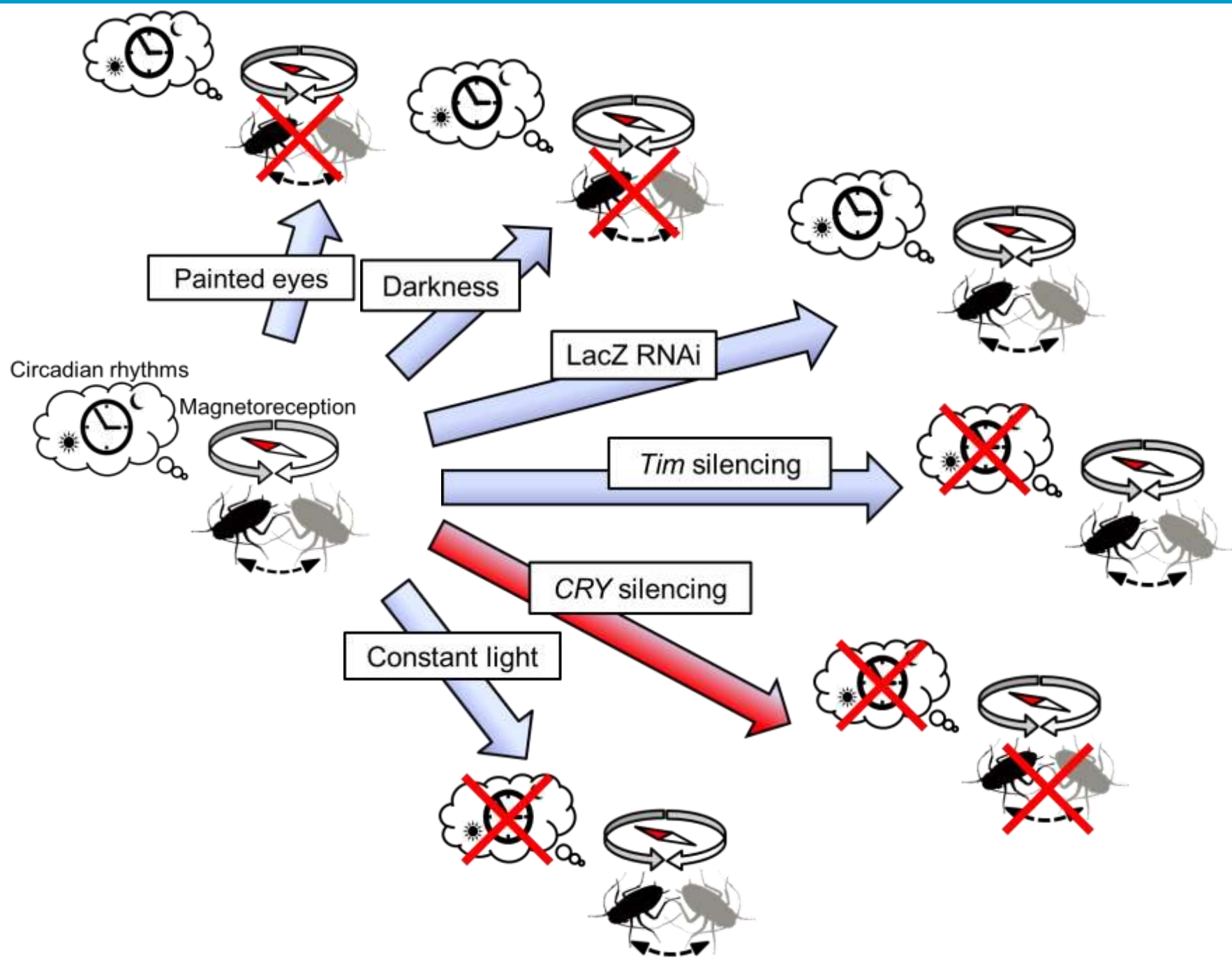
Test – rotating MGF – MIR reaction



**
Wilcoxon
pair test,
N=116,
P=0.00017

Spektrální křivka chování odpovídá absorpční křivce CRY

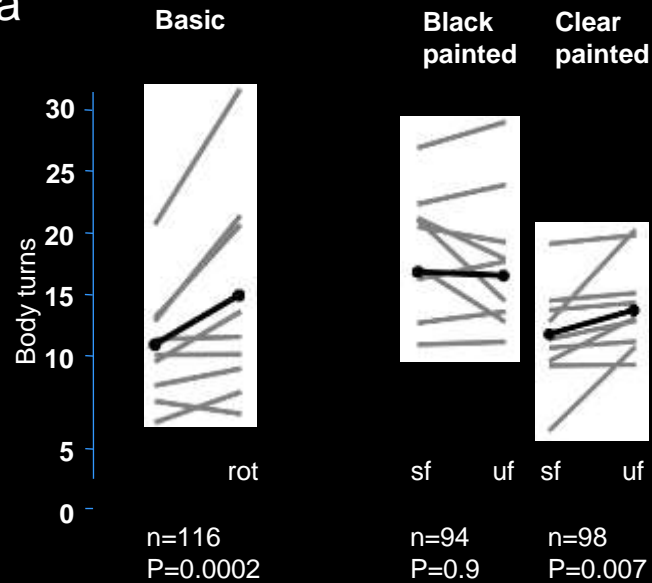




Po začernění očí se ztratí magnetická citlivost

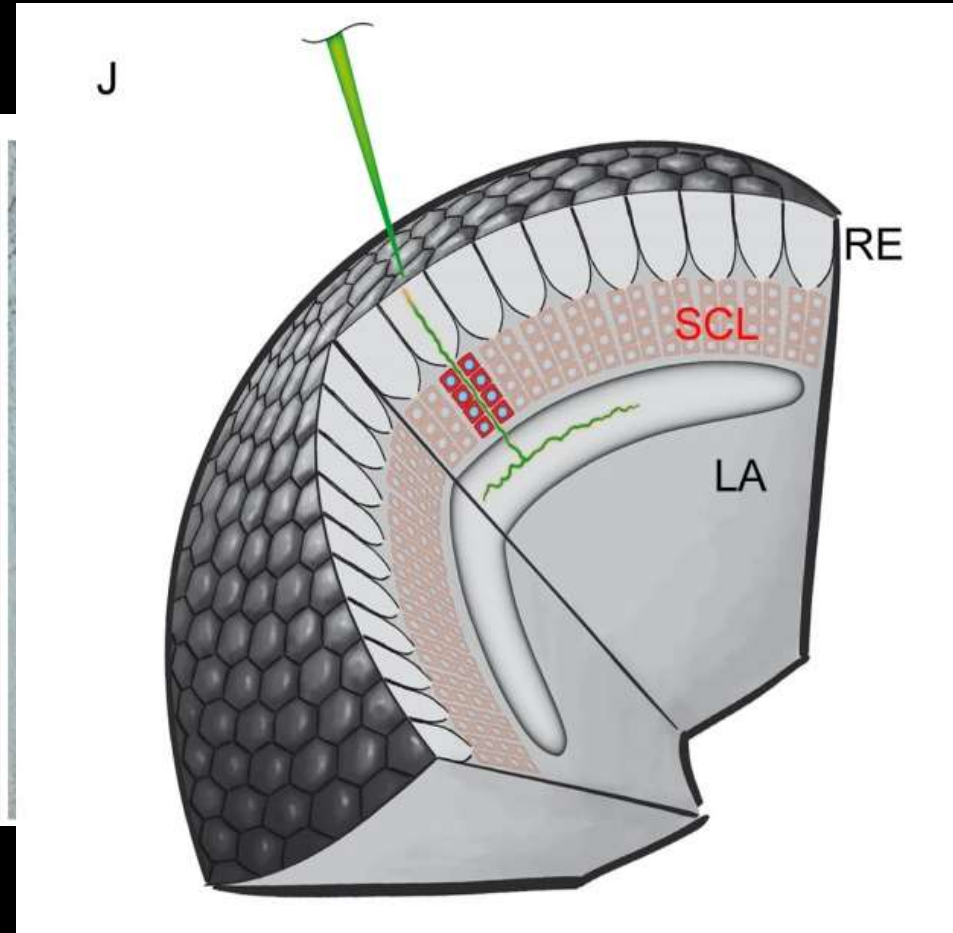
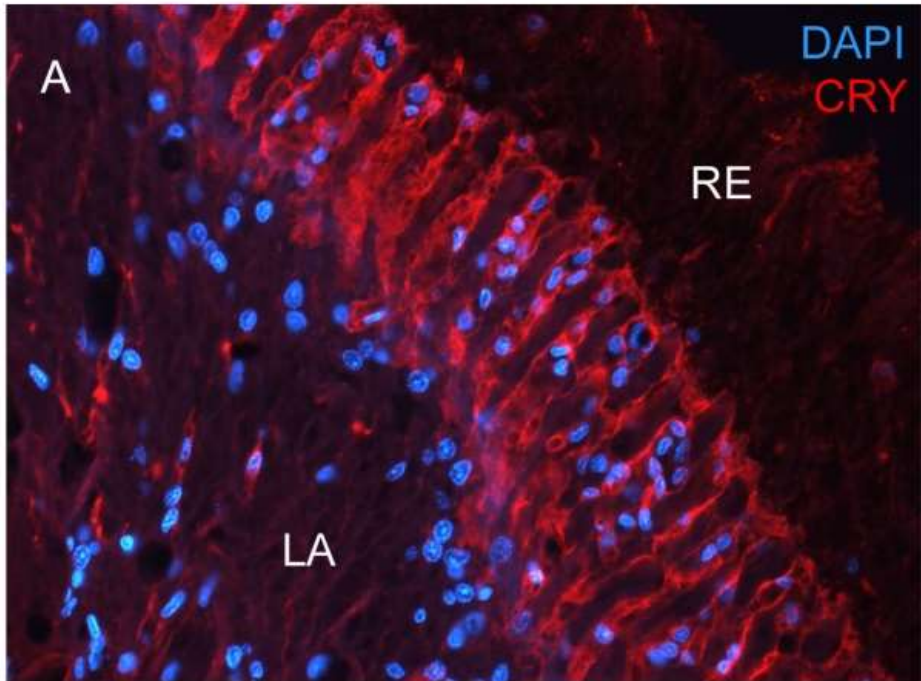


Blatella



Existuje polokruhovitá struktura s Cry?

Imunocytochemie: vrstva buněk zespodu kopírujících sítnici



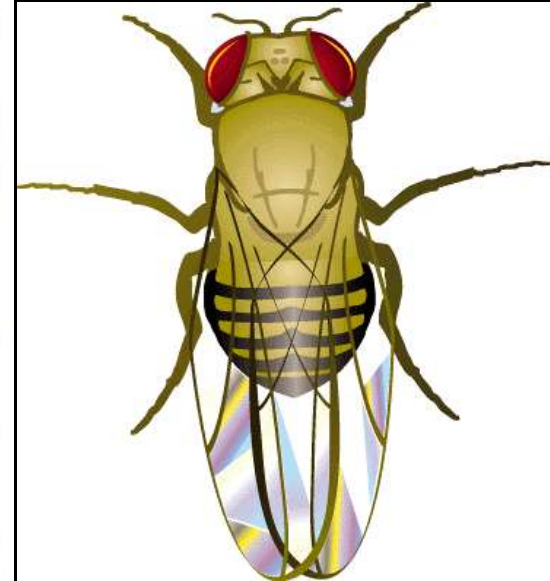
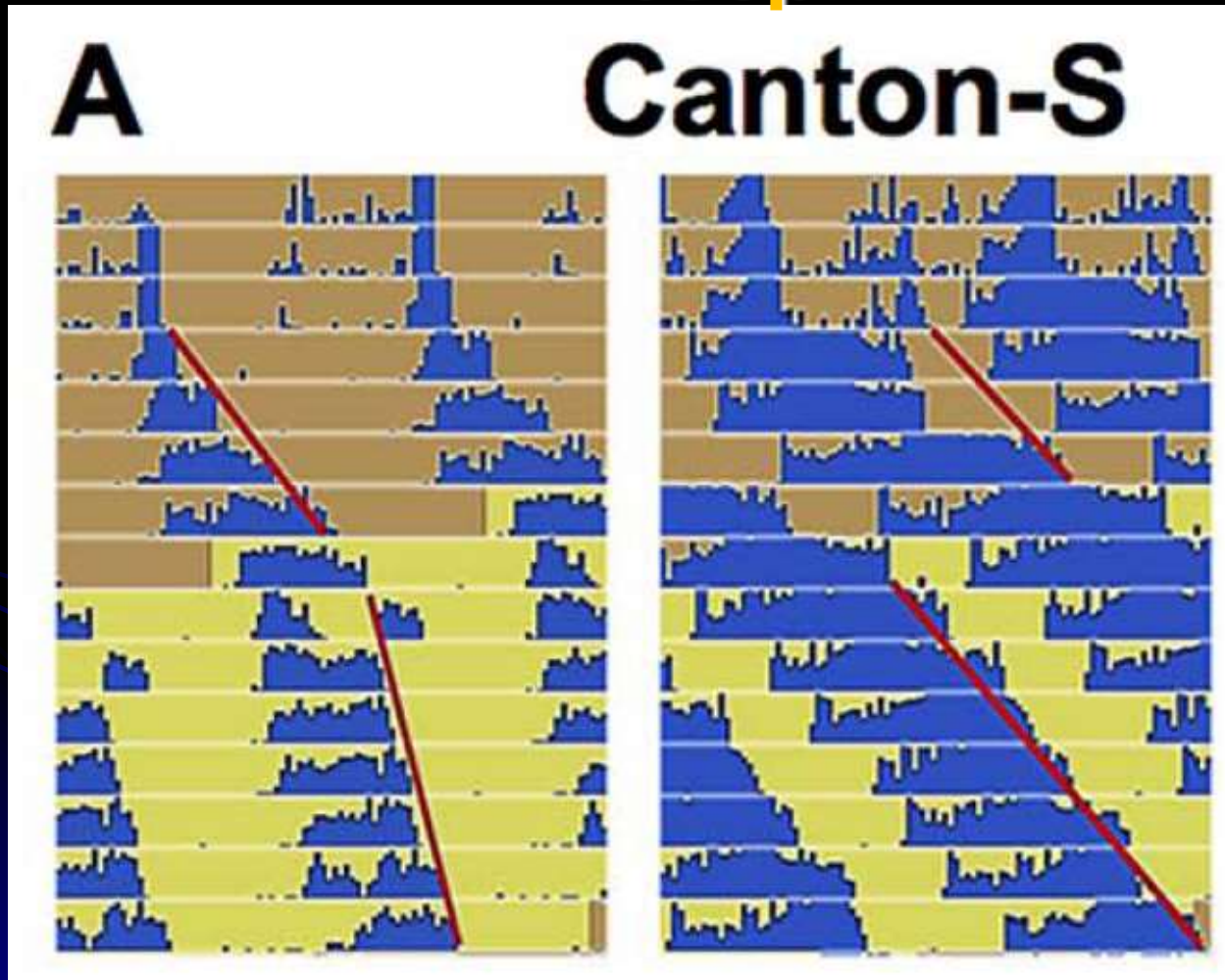
Shrnutí nových výsledků na *Periplaneta* a *Bletella*:

- Magnetorecepce je vázaná na oči
- Spektrální křivka směrové recepce odpovídá absorpci Cry
- *Směrová* magnetorecepce je závislá na funkčním Cry
- Cry je přítomen v polokruhové vrstvě pod sítnicí
- Fotochemický kompas je solidní hypotéza

Závěr a budoucnost hmyzího výzkumu?

- Role uvažovaných mechanismů se během doby vyměnily a hypotéza fotochemického vnímání geomagnetického pole nabývá na síle
- Živočichové dost možná pozorují magnetické okolí zrakově

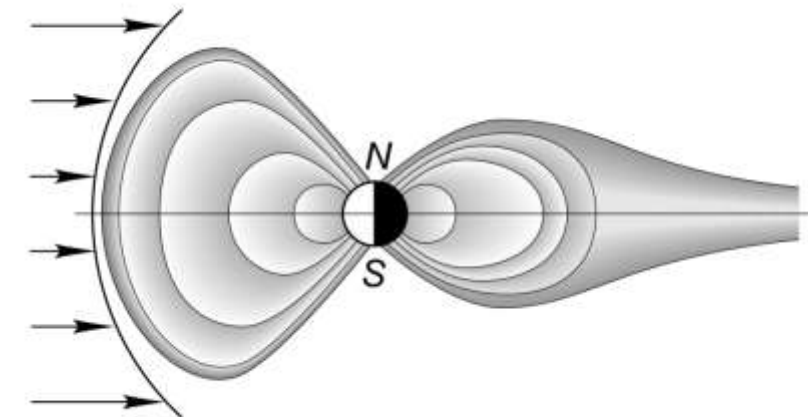
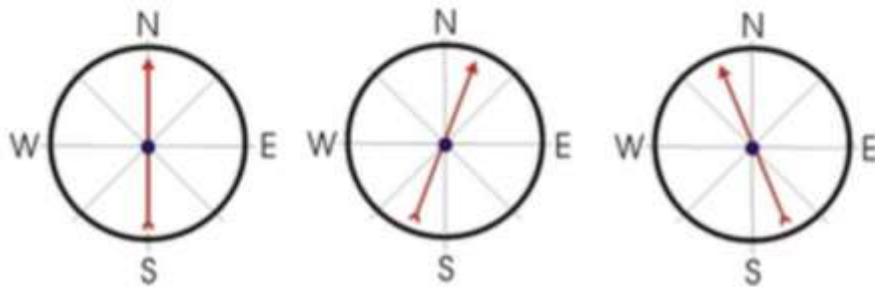
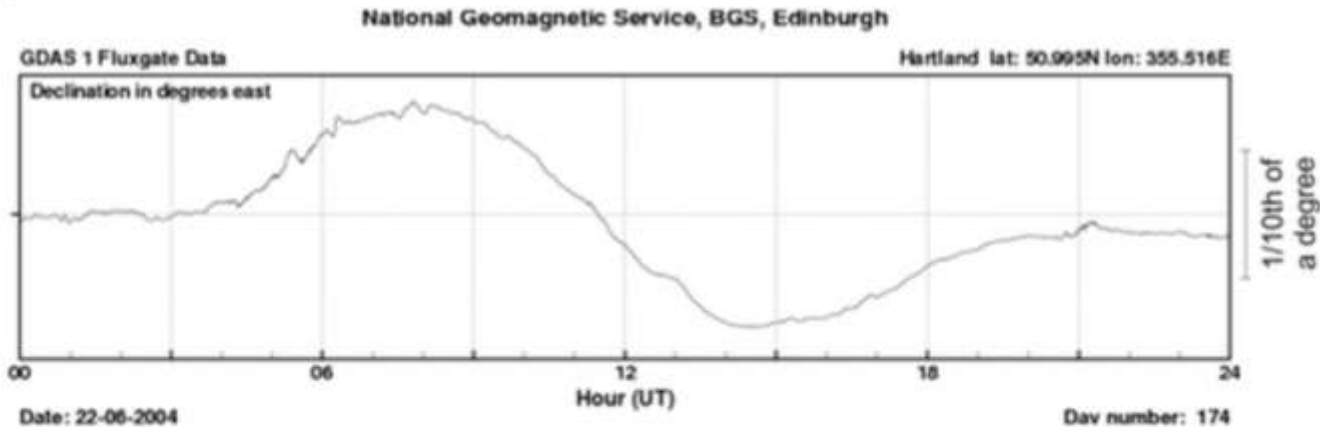
Nejen orientace. Magnetické pole přes Cry ovlivňuje rytmus, geotaxi Drosophil...



Fedele, G., Edwards, M. D., Bhutani, S., Hares, J. M., Murbach, M., Green1, E. W., et al. (2014). Genetic Analysis of Circadian Responses to Low frequency Electromagnetic Fields in *Drosophila melanogaster*. *PLOS Genetics*, 10(12), e1004804.

Fedele, G., Green, E. W., Rosato, E., & Kyriacou, C. P. (2014). An electromagnetic field disrupts negative geotaxis in *Drosophila* via a CRY-dependent pathway. *Nature Communication*, DOI: 10.1038/ncomms5391.

Nejen orientace. Magnetické pole ovlivňuje cirkadiální a možná i anuální rytmy – sezónní diapauzu

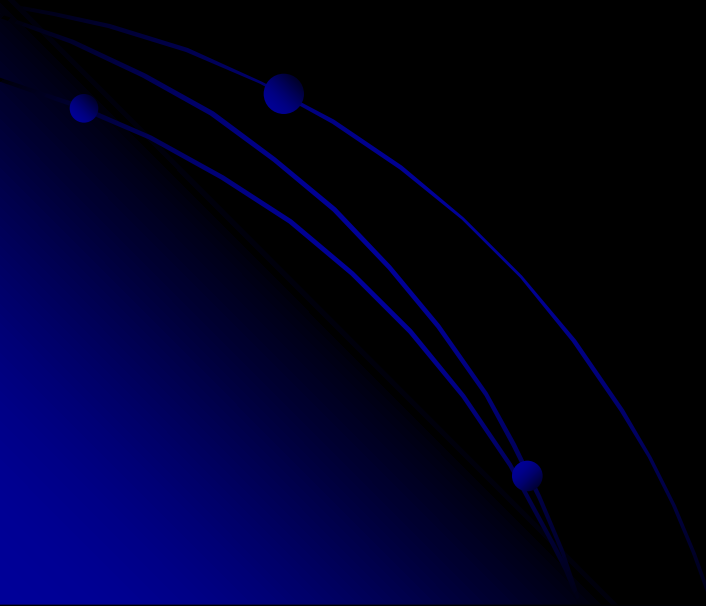


Závěr a budoucnost hmyzího výzkumu magnetorecepce živočichů?

- Hmyz díky molekulárním technikám odpovídá na zásadní otázky o mechanismu
- O to hůře se ale odpovídá na otázku po významu recepce (octomilka, rus).

Závěr a budoucnost hmyzího výzkumu?

- Třeba ale právě to upozorňuje na to, že směr magnetického pole je pro živé systémy důležitější než kompas v ruce pro člověka



Nejen laboratoř...

Arthropoda,
Malacostraca
Amphipoda

Bleřivci
Antarktidy



FABIENNE NYSSSEN

Pláž na Lachmanově mysu



S

Y- osa azimut 50-90°

Vrtulovna



Vrtulovna

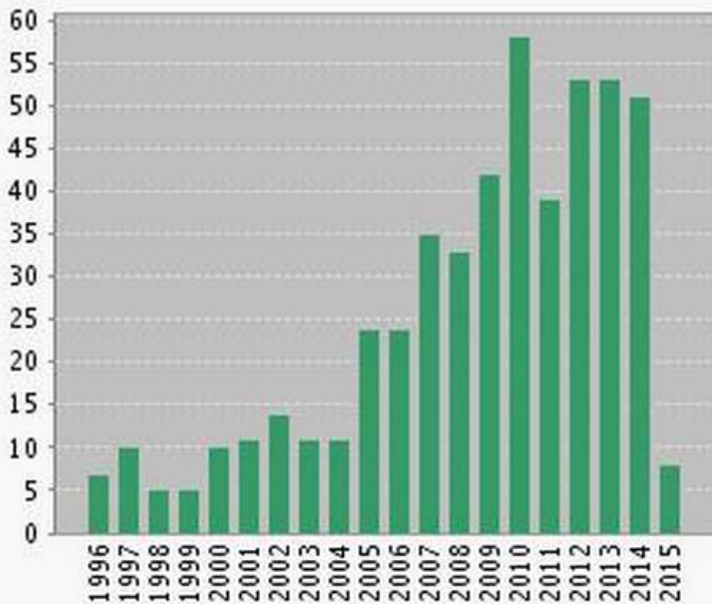


Dosavadní granty:

- Ověření magnetorecepce potemníka moučného. GAČR 2001-2003
- Analýza magnetorecepčního chování laboratorních druhů hmyzu. GAČR 2005-2008
- Neurální podstata magnetorecepce hmyzu. GAČR 2007-2010
- Fyziologická a funkčně genetická analýza magnetorecepce na hmyzím modelu GAČR 2013-2015.
- Spolupráce

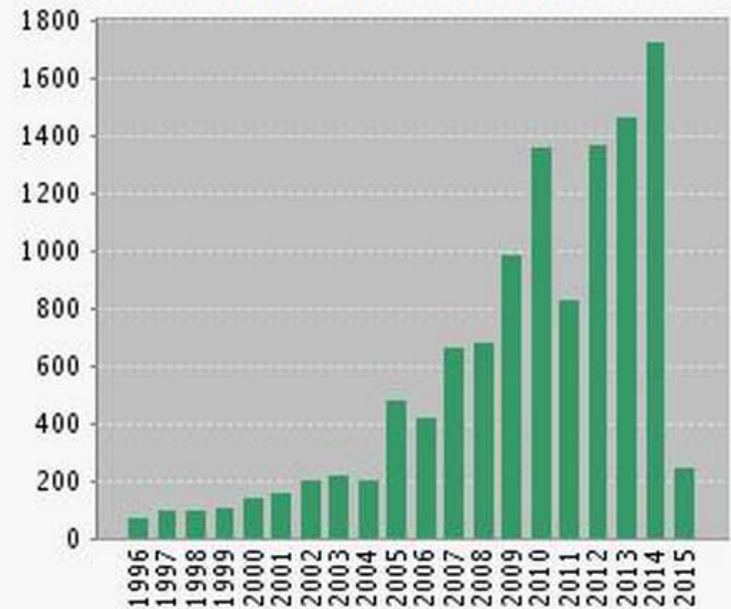
Heslo „magnetoreception“ na WOS

Published Items in Each Year




The latest 20 years are displayed.
[View a graph with all years.](#)

Citations in Each Year



The latest 20 years are displayed.
[View a graph with all years.](#)

ZÁVĚR:

- Bezobratlí jsou vděčným neuroetologickým modelem.
 - Podmiňování je užitečným nástrojem smyslové fyziologie a neurofyziologie.
 - Bezobratlí pomáhají odhalit tajemství magnetorecepce
- 

Děkuji za pozornost.

