

Tierphysiologischer Kurs für Bioinformatiker

Versuch C – Insekten–ERG

Gruppe B2a

Matthias Hannig, Stephan Körner, Thomas Holder

Dienstag, 22. März 2005



In folgendem Protokoll werden die Ergebnisse der Versuchreihe am Insektenauge dargestellt. Diese spiegeln die Eigenschaften von Photorezeptoren (z.B. Kennlinie, Farbempfindlichkeit, Latenzzeit, zeitliches Auflösungsvermögen) wieder. Die Ergebnisse wurden experimentell durch elektrophysiologische Ableitung (objektive Sinnesphysiologie) am Fliegenauge ermittelt. Des weiteren wurden einige Eigenschaften des Facettenauges mit den Eigenschaften des visuellen Systems des Menschen verglichen.

Erstellt mit L^AT_EX 2_ε und GNUPlot

Inhaltsverzeichnis

1	Räumliches Auflösungsvermögen	3
1.1	Einleitung	3
1.2	Methode	3
1.3	Ergebnis	4
1.4	Diskussion	4
2	Reaktions-Intensitäts-Kennlinie	6
2.1	Einleitung	6
2.2	Methode	6
2.3	Ergebnis	6
2.4	Diskussion	7
3	Spektralempfindlichkeit der Fliegenrezeptoren	10
3.1	Einleitung	10
3.2	Methode	10
3.3	Ergebnis	10
3.4	Diskussion	10
4	Verschmelzungsfrequenz bei verschiedenen Lichtintensitäten	13
4.1	Einleitung	13
4.2	Methode	13
4.3	Ergebnis	13
4.4	Diskussion	13
	Literatur	15

1 Räumliches Auflösungsvermögen

1.1 Einleitung

Bei der Wahrnehmung der Umwelt ist das Auge eines der wohl wichtigsten Sinnesorgane. Die Natur hat im Laufe der Evolution mehrere verschiedene Typen hervorgebracht. Die zwei wichtigsten seien das *Linsenauge* sowie das *Komplexauge*. Das Linsenauge ist aus dem *dioptischen Apparat*, bestehend aus Hornhaut, Linse, Glaskörper, sowie der Netzhaut, bestehend aus Photorezeptoren und deren nachgeschalteten Neuronen sowie Pigmentzellen, aufgebaut.

Das Komplexauge ist aus vielen Einzelaugen, den Ommatidien, aufgebaut. Selbige bestehen aus *Cornea*, *Kristallkegel*, *Rhabdomer*. Letzterer ist der lichtempfindliche Teil des Ommatidiums.

Doch obgleich bei ersterem das räumliche Auflösungsvermögen von der Dichte der Rezeptoren auf der Retina abhängt, so hängt es bei dem Komplexauge von zwei Faktoren ab:

- Der physiologische Öffnungswinkel.
- Der Divergenzwinkel.

Um nun das räumliche Auflösungsvermögen beim *Kaisermantel* sowie bei der *Wachsmotte* zu bestimmen waren wir aus technischen Gründen leider auf den Divergenzwinkel beschränkt. Eine Bestimmung des physiologischen Öffnungswinkels würde den Rahmen dieser Versuchsreihe sprengen.

1.2 Methode

Zwecks Bestimmung des Divergenzwinkels waren uns zwei Horizontalschnitte (Fotos) der jeweiligen Insekten zur Verfügung gestellt. Den Divergenzwinkel bestimmten wir durch Messung des Winkels von 10 Ommatidien, woraus wir den Divergenzwinkel für ein Ommatidium errechnen konnten. Im weiteren Verlauf unseres Versuches sollte das Auflösungsvermögen des menschlichen Auges bestimmt werden: Die Versuchsperson saß in einem Abstand von 4m vor einem Computerbildschirm. Das Programm "aufloese" präsentierte selbiger Punkte mit systematisch kleiner werdendem Abstand, 5° außerhalb ihres Sehzentrums.

1.3 Ergebnis

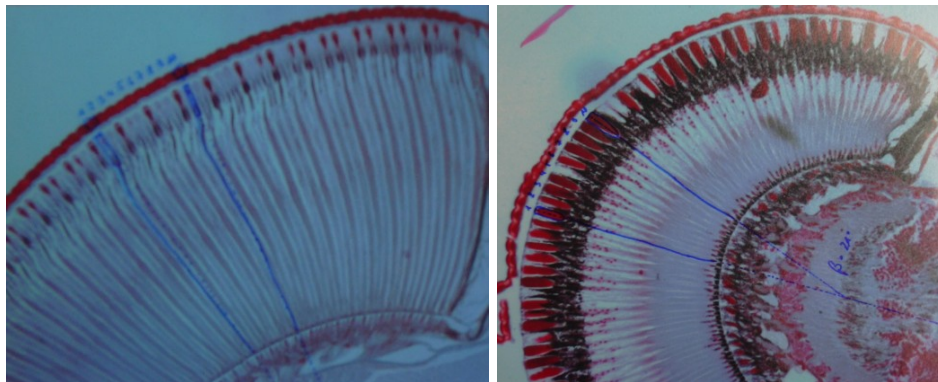


Abbildung 1: Horizontalschnitte: Kaisermantel, Appositionsauge (links),
Wachsmotte, optisches Superpositionsauge (rechts)

Divergenzwinkel:

- Kaisermantel: $1,2^\circ$ – $7,2$ Winkelminuten
- Wachsmotte: $2,2^\circ$ – $13,2$ Winkelminuten

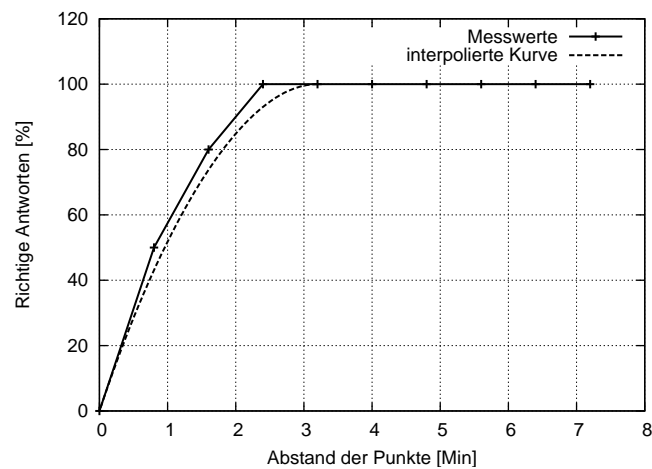


Abbildung 2: psychometrische Kurve

1.4 Diskussion

Deutlich zu erkennen war die Überlegenheit des menschlichen (Linsen-) Auges gegenüber dem Komplexauge der Insekten. Derer Typen hatten wir im Versuch zweien: Beim Vergleich des Auges des tagaktiven Kaisermantels mit dem der nachtaktiven Wachsmotte

erkannte man deutlich, die bessere räumliche Auflösungsfähigkeit des Auges des ersteren. Der Grund dafür sei wohl die größere Dichte an Ommatidien im Auge des Kaisermantels.

2 Reaktions-Intensitäts-Kennlinie

2.1 Einleitung

Bei diesem Versuch wollten wir mit Hilfe des Elektretinogramms, kurz ERG die Summenpotentiale der gesamten elektrischen Aktivität einer Fliege messen, wenn ein Lichtreiz gegeben wird. Wir erwarteten, dass unsere Reizantwort sich bei stärkerer Lichtintensität aber gleichbleibender Wellenlänge erhöht.

2.2 Methode

Zur Durchführung eines ERGs benutzten wir einen Diaprojektor, der den Lichteinfall auf das Auge repräsentierte. Zur Abdunklung des Projekts und zur Abschirmung gegenüber anderen elektrischen Feldern wurde ein Kasten als Faraday-Käfig über den Versuchsaufbau gestellt. Im Versuchsaufbau selber wurde eine Fliege, die zuvor betäubt wurde und mit Klebestreifen sowie Sekundenkleber fixiert wurde auf einem Objektträger befestigt. Danach wurde die indifferente Elektrode unter dem Binokular in den Thorax gestochen. Die Ableitelektrode wurde auf der Corneaoberfläche befestigt und deren Leitfähigkeit mit Elektronenpaste verbessert. Beide Elektroden sind über einen Differenzverstärker mit dem Oszilloskop verbunden. Der Reizverlauf wird über eine Photozelle am Oszilloskop registriert. Danach wurde der Käfig geschlossen und wir starteten mit unserer Versuchsreihe. Wir reizten von einer Lichtintensität mit 0,001 Prozent bis zu einer Intensität von 10 Prozent. Dabei wurde, bis auf die letzte Intensität aller Intensitäten drei mal gemessen und ein Durchschnittswert gebildet um ein möglichst genaues Ergebnis zu Erhalten und etwaige Messfehler zu vermeiden. Die Reizdauer betrug in etwa immer zwei Sekunden, wobei kleine Schwankungen aufgrund der manuellen Reizgabe durchaus möglich sind.



Abbildung 3: Versuchsaufbau

2.3 Ergebnis

Unsere Ergebnisse sind in Tabelle 1 und Abbildung 4 sowie in Abbildung 5 dargestellt.

Tabelle 1: Reaktions-Intensitäts-Kennlinie

Filter	Lichteinfall [%]	MW 1 [V]	MW 2 [V]	MW 3 [V]	Durchschnitt [V]
10^{-5}	0,001	0,15	0,15	0,15	0,15
$10^{-4,5}$	0,003	0,2	0,2	0,2	0,2
10^{-4}	0,01	0,3	0,3	0,3	0,3
$10^{-3,5}$	0,03	0,25	0,3	0,4	0,32
10^{-3}	0,1	0,4	0,45	0,3	0,38
$10^{-2,5}$	0,3	0,45	0,35	0,425	0,41
10^{-2}	1	0,35	0,35	0,5	0,4
$10^{-1,5}$	3	0,4	0,35	0,3	0,35
10^{-1}	10	0,44	–	–	0,44

2.4 Diskussion

Die Ausdrücke zeigen, dass alle Rezeptorpotentiale ähnlich sind, und sich nur durch die Amplitude unterscheiden. Diese nimmt zu, je schwächer der Graufilter wird, wie erwartet. Die Peaks zu Beginn steil nach oben, die sogenannte on-Antwort und zum Schluß der Peak nach unten, die sogenannte off-Antwort werden vom ersten optischen Ganglion (*Lamina ganglionaris*) verursacht. Das Summenpotential ist der etwas größere Bauch dazwischen. Dieser ist immer negativ, da extrazellulär abgeleitet wird, obwohl die Rezeptorzellen eigentlich depolarisieren.

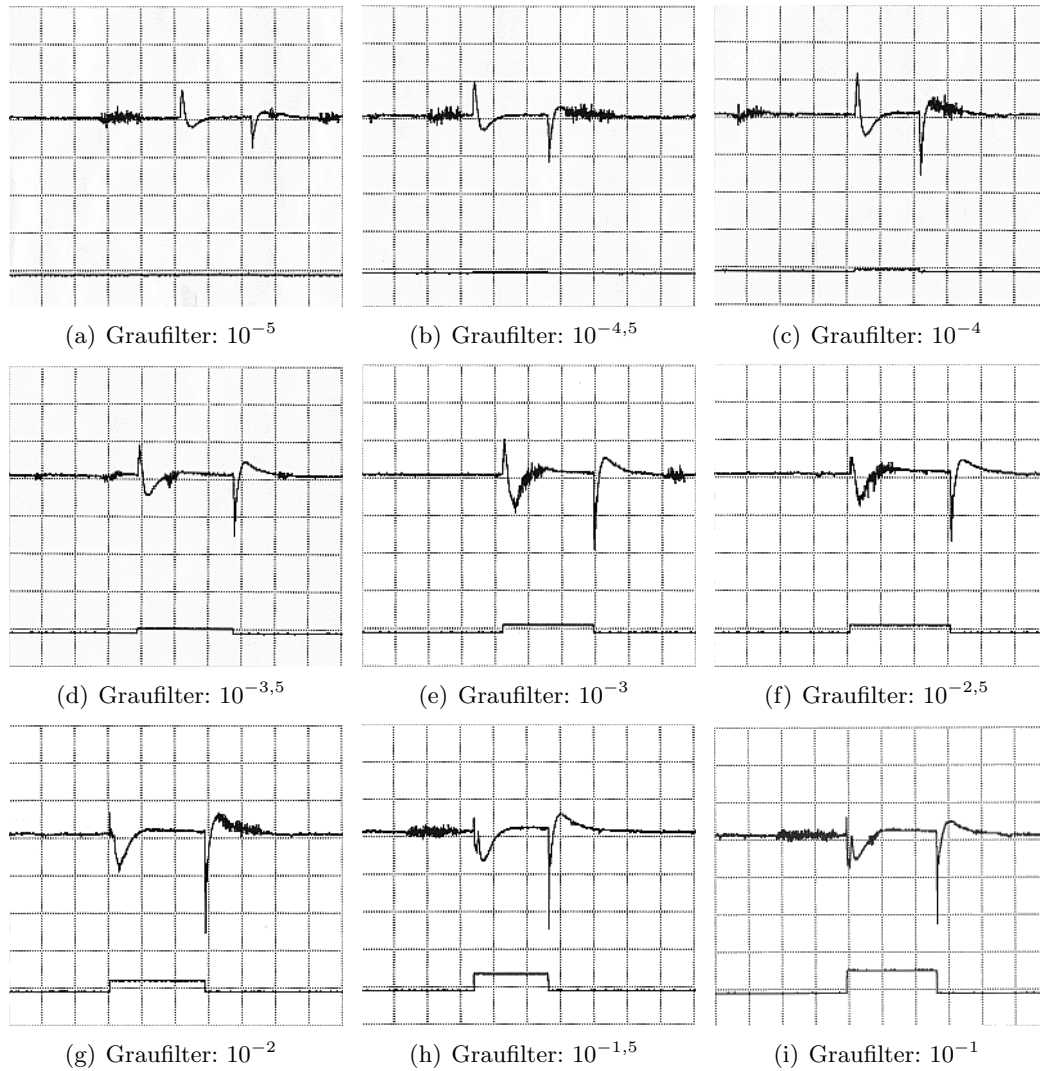


Abbildung 4: Amplituden des Zwischenpotentials bei unterschiedlichen Graufiltern
[Zeitachse: 1s; Ch1: 0,5V; Ch2: 0,2V 100fach verstärkt]

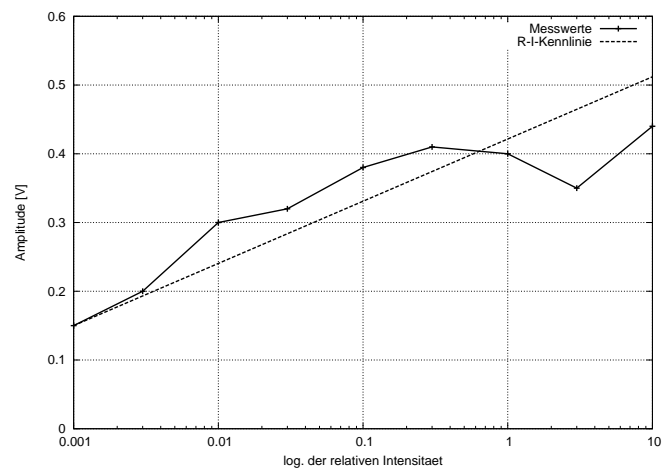


Abbildung 5: Reaktions-Intensitäts-Kennlinie

3 Spektralempfindlichkeit der Fliegenrezeptoren

3.1 Einleitung

Die Fähigkeit des Sehens beschränkt sich auf einen bestimmten **Wellenlängenbereich elektromagnetischer Wellen**. Der Mensch kann Wellenlängen von ca. 400nm bis 750nm wahrnehmen, bei Arthropoden ist das Intervall mehr in den kurzwelligen Bereich verschoben, sie können also auch im ultravioletten Bereich sehen, sind dafür im Längerwelligen (Rot) blind. Die **spektrale Empfindlichkeit** des Auges wird durch die **Absorptionseigenschaften** des dioptrischen Apparates und des Photopigments in den Rezeptoren bestimmt. Den Vertebraten z.B. wird das UV-Licht „vorenthalten“, weil es durch die Linse des inversen Auges absorbiert wird (Quelle: Versuchsanleitung und [ECKERT 1993, Seite 233ff]).

Das Auge ist im adäquaten Wellenlängenbereich nicht für alle Wellenlängen gleich empfindlich, das Menschliche Auge z.B. ist mit einer Wellenlänge von ca. 550nm maximal erregbar. Im folgenden Versuch soll die Spektralempfindlichkeit des Facettenauges einer Fliege experimentell untersucht werden.

3.2 Methode

In der bereits im vorigen Versuch verwendeten Apparatur zur Belichtung der Fliege und zum Ableiten des ERGs wurde nun zusätzlich zum Helligkeitsfilter ein Farbfilter eingebaut. Im Bereich des für die Fliege sichtbaren Lichts wurden drei Wellenlängen ausgewählt, (relativ) kurzwelliges (380nm), mittelwelliges (515nm) und langwelliges (621nm) Licht. Mit jeder Wellenlänge wurde die Fliege mit drei unterschiedlichen Lichtintensitäten belichtet. Dabei wurde nicht nach dem Zahlenwert der Lichtintensität, sondern nach dem Zahlenwert des Zwischenpotentials (also der abgeleiteten Antwort) ausgewählt.

3.3 Ergebnis

Tabelle 2 zeigt die Ergebnisse unserer Versuchsreihe. Die zur Interpretation relevanten Daten sind fett gedruckt. In Abb. 6 sind die gemittelten Zwischenpotentialamplituden als Funktion der Lichtintensität halblogarithmisch aufgetragen, man erhält **Intensitätskennlinien**. Die **Isopotentialkurven**, welche die Farbempfindlichkeit des Tieres charakterisieren, sind in Abb. 7 dargestellt.

3.4 Diskussion

Der Messwerttabelle und den Intensitätskennlinien (Abb. 6) ist zu entnehmen, dass die Fliege wie erwartet im mittleren Wellenlängenbereich die besten sieht. Die Kennlinie des kurzwelligen Bereichs (380nm) liegt außerdem deutlich über der des langwelligen Bereichs (621nm), was die in der Einleitung bereits erwähnte Eigenschaft der guten UV-Sichtigkeit bei den Invertebraten bestätigt.

Was mir völlig schleierhaft ist, ist der Verlauf unserer Isopotentialkurven!? Im Vergleich mit Literaturquellen sollten die Kurven genau anders herum verlaufen (die zweite

Tabelle 2: Versuchsreihe zur Spektralempfindlichkeit der Fliegenrezeptoren

Wellenlänge (nm)	Graufilter	Absolute Intensität (W/m^2)	Amplitude des Zwischenpotentials			Durchschnitt
380	$10^{-0,3}$	1,85	0,38V	0,36V	0,38V	0,37V
	$10^{-0,5}$	1,17	0,36V	0,38V	0,32V	0,35V
	$10^{-0,8}$	0,57	0,28V	0,30V	0,32V	0,30V
515	$10^{-1,0}$	2,83	0,36V	0,36V	0,32V	0,34V
	$10^{-1,6}$	0,71	0,32V	0,30V	0,33V	0,31V
	$10^{-3,0}$	0,03	0,26V	0,28V	0,24V	0,26V
621	$10^{-1,3}$	1,02	0,38V	0,36V	0,38V	0,37V
	$10^{-2,0}$	0,20	0,34V	0,30V	0,32V	0,32V
	$10^{-2,3}$	0,10	0,24V	0,27V	0,25V	0,25V

Ableitung sollte positiv sein). Hab ich irgendwas falsch ausgerechnet? Bei der Suche nach einschlägigen Stichwörtern (Isopotentialkurve etc.) bin ich außerdem nur auf Material gestoßen, welches unmittelbar mit dem Kurs an der Universität Tübingen zusammenhängt (Protokolle anderer Studenten), also keine „unabhängigen“ externen Vergleichswerte. Schade.

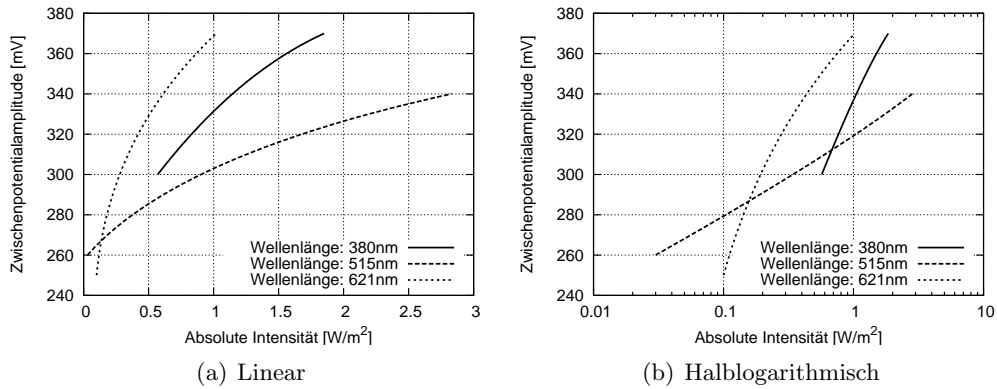


Abbildung 6: **Intensitätskennlinien:** Zwischenpotentialamplituden des Fliegen-ERG bei verschiedenen Wellenlängen (Farben) als Funktion der Lichtintensität (Kurven interpoliert)

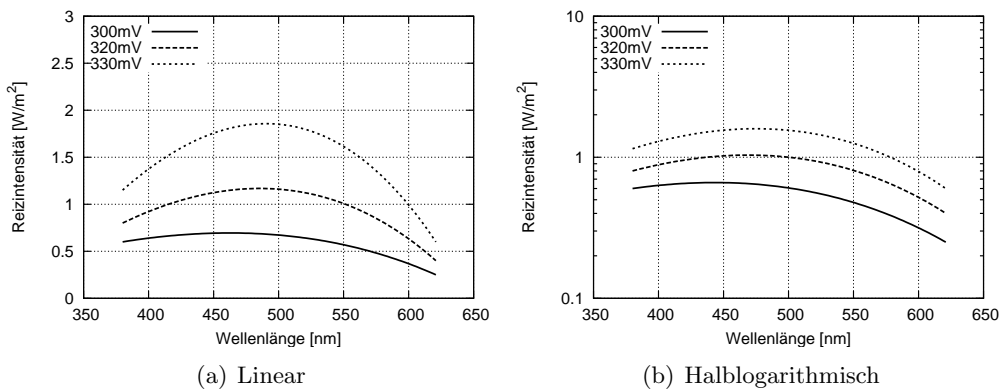


Abbildung 7: **Isopotentialkurven** unseres Versuchstieres

4 Verschmelzungsfrequenz bei verschiedenen Lichtintensitäten

4.1 Einleitung

Das zeitliche Auflösungsvermögen der Photorezeptorzellen und der nachgeschalteten neuronalen Verarbeitungskette (Ganglionzellen etc.) bestimmen die Fähigkeit, schnelle Bewegungen differenziert wahrzunehmen. Im diesem Versuchsteil soll die **Flickerfusionsschwelle**, also die Frequenz, ab welcher ein Blinklicht nur noch als Dauerleuchten wahrgenommen werden kann, von einer Fliege und vom Menschen bestimmt werden.

4.2 Methode

Die Lichtimpulse wurden mit einer LED erzeugt, die Blink-Frequenz und die Helligkeit konnten am Netzgerät der LED verändert werden. Das Oszilloskop war ebenfalls mit dem Netzgerät der LED verbunden, so dass die Impulsfrequenz unmittelbar auf den Oszilloskopschirm projiziert werden konnte. Zuerst wurde die Fliege beblitzt (im Dunkeln unter dem Faraday-Käfig), dann ein Proband aus unserer Gruppe (ohne Käfig). Die Auflösungsfrequenz der Fliege wurde über das EMG bestimmt, die des Menschen subjektiv. Die Versuchsperson musste einmal zentral (mit der Fovea) in die Lichtquelle blicken, und einmal daran vorbei (so dass das Licht in die Peripherie der Retina trifft).

4.3 Ergebnis

Tabelle 3 zeigt die von uns ermittelten Flickerfusionsschwellen bei zwei verschiedenen Helligkeitsstufen.

Tabelle 3: Versuchsreihe zur Flickerfusionsschwelle

Intensität	Fliege	Mensch zentral	Mensch peripher
dunkel	50Hz	50Hz	70Hz
mittel	80Hz	45Hz	50Hz
hell	—	—	—

4.4 Diskussion

Wenn man unseren Versuchsergebnissen Glauben schenkt, dann steigt das Auflösungsvermögen eines Facettenauges mit der Lichtintensität. Beim Menschen scheint dies nicht der Fall zu sein, bei stärkerer Belichtung konnte unsere Versuchsperson schon bei geringerer Frequenz keine Blitze mehr differenzieren. Eindeutig zu sehen ist, dass das Auflösungsvermögen in der Peripherie der menschlichen Retina besser ist als in der Fovea.

Vergleicht man unsere Versuchsergebnisse jedoch mit Literaturwerten, so sind hier erhebliche Abweichungen festzustellen!

Für ein Insektenauge erwarten wir eine Flickerfrequenz von 200–300 Hz, unsere Fliege erkannte nicht mal die Hälfte der Lichtblitze. Wir können nur vermuten, dass sie zu

diesem Zeitpunkt schon zu „verbraucht“ war, um noch vernünftige Ergebnisse liefern zu können.

Unsere Versuchsergebnisse beim Menschen liegen mit Werten zwischen 50 und 70Hz im „grünen Bereich“, die meisten Quellen geben für den Menschen bei optimaler Belichtung eine Flickerfusionsschwelle von 60Hz an. Dass der Proband Frequenzen bei schwächerer Lichtintensität besser auflösen konnte als bei stärkerer, entspricht jedoch auch weder unseren Erwartungen, noch unseren Literaturquellen.

Ursache für die Unterschiede zwischen Auflösung der Fovea und der Peripherie sind zwei verschiedene Ganlionzelltypen. Im Zentrum der Retina befinden sich überwiegend **Parvozellen**. Sie schaffen eine hohe räumliche Auflösung bei geringerer zeitlicher Auflösung. In der Peripherie befinden sich **Magnozellen**, welche Helligkeitsänderungen bei hoher zeitlicher Auflösung ans Gehirn weitergeben können.

Literatur

[ECKERT 1993] ECKERT, ROGER (1993). *Tierphysiologie*. Georg Thieme Verlag, Stuttgart, 2. Aufl.

[KANDEL et al. 1995] KANDEL, ERIC R., J. H. SCHWARTZ und T. M. JESSELL (1995). *Neurowissenschaften, Eine Einführung*. Spektrum Akademischer Verlag.

[Wikipedia] WIKIPEDIA. *Die freize Enzyklopädie*. Internet.
<http://de.wikipedia.org/wiki/>.