



ZAKLJUČNO POROČILO RAZISKOVALNEGA PROJEKTA

A. PODATKI O RAZISKOVALNEM PROJEKTU

1. Osnovni podatki o raziskovalnem projektu

Šifra projekta	Z1-4228
Naslov projekta	Filiformne senzile stenice <i>Pyrrhocoris apterus</i> : modelni sistem za biofizikalne in fiziološke raziskave mehanorecepcije
Vodja projekta	24293 Aleš Škorjanc
Tip projekta	Z Podoktorski projekt
Obseg raziskovalnih ur	3400
Cenovni razred	A
Trajanje projekta	09.2011 - 08.2013
Nosilna raziskovalna organizacija	481 Univerza v Ljubljani, Biotehniška fakulteta
Raziskovalne organizacije - soizvajalke	
Raziskovalno področje po šifrantu ARRS	1 NARAVOSLOVJE 1.03 Biologija 1.03.01 Zoologija in zoofiziologija
Družbeno-ekonomski cilj	13.01 Naravoslovne vede - RiR financiran iz drugih virov (ne iz SUF)
Raziskovalno področje po šifrantu FOS	1 Naravoslovne vede 1.06 Biologija

B. REZULTATI IN DOSEŽKI RAZISKOVALNEGA PROJEKTA

2. Povzetek raziskovalnega projekta¹

SLO

V okviru projekta sem izdelal integrativno študijo filiformnih senzil stenice *Pyrrhocoris apterus*, s katero sem želel odgovoriti na nekatera vprašanja detekcije mehanskih dražljajev, ki kljub intenzivnim molekularnim in biofizikalnim raziskavam ostajajo odprta. Pri tem sem realiziral večino zastavljenih ciljev. **(1)** Razvil sem matematični model senzile tipa T_1 , ki ima vse ključne funkcionalne lastnosti senzile. Model ima 3 stopnje: **(i)** transformacija premika laska v silo, ki deluje na mehansko občutljive ionske kanale, **(ii)** transdukcija sile v receptorski tok in **(iii)** transformacija receptorskega toka v frekvenco živčnih impulzov. Glede na model je hitra čutilna adaptacija posledica visko-elastičnih lastnosti senzile ter adaptacije generatorja

impulzov, medtem ko je počasna adaptacija posledica rušenja elektrokemičnega gradienta, ki poganja receptorski tok. Odvisnost maksimalne frekvence impulzov dinamične in statične faze odziva od intenzitete dražljaja pa v veliki meri določa nelinearna pretvorba mehanske sile v verjetnost odprtega stanja ionskih kanalov ter pretvorba receptorskega toka v frekvenco impulzov. Model je potrditev hipotez o delovanju senzila, je pa tudi pomembno orodje za ugotavljanje funkcije posameznih elementov senzile v procesu kodiranja dražljaja. **(2)** V laboratoriju prof. Jeroma Casasa smo izmerili hitrost zračnega toka okoli zadka stenice *P. apterus* in frekvenčne lastnosti sklopitve čutilnega laska senzile T_1 s tokom ter njenega fiziološkega odziva. Ugotovili smo, **(i)** da položaj senzila na zadku stenice *P. apterus* omogoča optimalno detekcijo hitrosti zračnega toka, **(ii)** mejna plast zraka ob zadku in mehanske lastnosti laska pa delujejo kot biomehanski filter, ki favorizira detekcijo zračnih tokov z visoko frekvenco. **(iii)** Temu je prilagojen tudi fiziološki odziv senzile, ki najbolj učinkovito kodira informacijo o dražljaju pri frekvencah med 50 in 150 Hz. To je prvi eksperimentalni podatek, da je fiziološki odziv filiformnih senzila prilagojen biomehanskim lastnostim sklopitve čutilnega laska senzile z zračnim tokom. **(3)** Izmeril sem frekvenco spontanega proženja živčnih impulzov senzila pri stenici *P. apterus* s širšega geografskega področja (Francija, Madžarska, Poljska, Rusija) ter pri stenicah vrst *Leptoglossus occidentalis*, *Coreus marginatus* in *Scantius aegyptius*. Izkazalo se je, da je spontana aktivnost natančno reguliran čutilni proces. Izjemno majhne razlike v frekvenci impulzov pa kažejo, da obstaja močan selekcijski pritisk, ki ohranja aktivnost na točno določenem nivoju. Slednji torej igra pomembno vlogo v funkciji senzile, kar do sedaj ni bilo znano. **(4)** Razvil sem novo metodo, ki omogoča rekonstrukcijo časovnega poteka membranskega potenciala na osnovi zunajcelične registracije živčnih impulzov. Metodo sem uspešno testiral na modelnih nevronih, izkazalo pa se je tudi, da je metoda bolj učinkovita za oceno stopnje šuma vhodnega toka v nevron od ostalih standardnih metod.

ANG

The objective of this project was an integral study of filiform sensilla in the bug *Pyrrhocoris apterus*, which would give new insights into the problems of mechanoreception that remain unresolved despite intensive molecular and biophysical research. I met most goals set in the project proposal. **(1)** I developed a mathematical model of type T_1 filiform sensillum, which mimics the major functional properties of the sensillum. It has three parts: **(i)** transformation of the sensory hair motion into the mechanical force that acts on transduction channels; **(ii)** transduction of the force into the receptor current; and **(iii)** transformation of the receptor current into the spike frequency. According to the model, the fast sensory adaptation of the sensillum results from the visco-elastic properties of the stimulus transmitting apparatus and from the adaptation of the spike generator; whereas the dissipation of the electrochemical gradient due to the receptor current causes the slow drop in the spike frequency during the static phase of the stimulus. The onset and steady-state response curves are on the other hand shaped by the non-linearities of the stimulus transduction and spike encoding process. The model confirms the sensory process hypotheses and it is an important tool for studying the role of individual mechanisms in the sensory process. **(2)** In the laboratory of prof. Jerome Casasa we measured the velocity of an oscillating air-flow around the abdomen of *P. apterus*, and the frequency characteristics of the air-hair coupling and that of the spike-response in T_1 sensillum. We showed **(i)** that the position of sensilla allows for optimal detection of air-flow velocity; **(ii)** that the boundary layer effect and mechanical properties of the hair act as a high-pass filter, making sensilla more sensitive to high-frequency stimuli and **(iii)** that the spike-response peaks at frequencies between 50 and 150 Hz. To our knowledge, this is the first experimental data showing that the physiological response of filiform sensilla is adapted to biomechanical properties of air-hair coupling. **(3)** I measured the frequency of spontaneous nerve impulse discharge in filiform sensilla of *P. apterus* from France, Hungary, Poland and Russia, and in 3 other bug species *Leptoglossus occidentalis*, *Coreus marginatus* and *Scantius aegyptius*. The results show that the spontaneous impulse discharge is a highly regulated sensory process. Low variability of the impulse frequency demonstrates that strong selection pressure fixates the discharge at a particular level, which seems to play an important role in the function of the sensillum. This has not been known so far. **(4)** I developed a novel method for membrane potential time-course reconstruction of a neural cell based on extracellular recordings of its impulses. I tested the method successfully on model neurons, which also showed that the method is more precise in estimating the level of input current noise than some other standard methods.

3. Poročilo o realizaciji predloženega programa dela na raziskovalnem projektu²

1) MODEL SENZILE

Problem: Kljub napredku v identifikaciji molekularskih komponent mehano-električne transdukcije žuželčnih senzil ostaja razumevanje mehanorepcije nepopolno. V preteklosti je bilo narejenih precej fizioloških študij senzil ter nekaj elementarnih modelov posameznih mehanizmov čutilnega procesa, vendar pa manjka model senzile, ki bi opisoval celoten proces od detekcije dražljaja do kodiranja informacije v živčne impulze.

Cilji: Razvoj minimalnega matematičnega modela senzile tipa T_1 stenice *Pyrrhocoris apterus*, ki bi imel vse ključne funkcionalne lastnosti senzile.

Material in metode: Model sem razvil v sodelovanju s prof. dr. Janom Bendo (Univerza v Tübingenu). Proste parametre modela sem optimiziral glede na realen odziva senzile. Pri tem sem želel najti en niz vrednosti parametrov, ki bi dal optimalen odziv na različne dražljaje.

Rezultati: Končni model ima naslednje faze: **1) Transformacija premika laska (x) v silo (F)**, ki deluje na mehansko občutljive ionske kanale. **2) Transdukcija F v receptorski tok (I)**. I je produkt verjetnosti odprtega stanja ionskih kanalov (P) ter gonilne napetosti (E). P je Boltzmannova funkcija F, E pa je odvisna od intenzitete I (enačba 2.2.3, sl. 1). **3)**

Transformacija I v frekvenco živčnih impulzov (f). Za opis te faze zadostuje fenomenološki model generatorja impulzov, ki predvideva korensko odvisnost f od I ter adaptacijski tok A (sl. 1, glej Prilogo). S končnim modelom je mogoče simulirati odziv senzile T_1 na različne dražljaje (sl. 2). Poleg tega model predvideva tudi ustrezen dinamičen obseg ter občutljivost senzile (sl. 3).

Sklepi: S postopnim nadgrajevanjem kompleksnosti modela sem ugotovil, da na lastnosti odziva senzile vplivajo vse 3 faze čutilnega procesa. Glede na model je hitra čutilna adaptacija posledica visko-elastičnih lastnosti senzile ter adaptacije generatorja impulzov, medtem ko je počasna adaptacija posledica rušenja elektrokemičnega gradienta, ki poganja receptorski tok. Odvisnost maksimalne frekvence impulzov dinamične in statične faze odziva od intenzitete dražljaja pa v veliki meri določa nelinearna pretvorba mehanske sile v verjetnost odprtega stanja ionskih kanalov ter pretvorba receptorskega toka v frekvenco impulzov.

Realizacija ciljev in pomen: Model je dal nov vpogled v mehanizme čutilnega procesa senzile, hkrati pa je pomembno orodje, ki bo omogočilo testiranje pomena posameznega mehanizma za kodiranje dražljaja.

2) INTERAKCIJA ČUTILNEGA LASKA IN ZRAČNEGA TOKA

Problem: Veliko raziskovalnega truda je bilo vložena v razumevanje mehanike sklopitve čutilnih laskov senzil z zračnim tokom pri različnih vrstah členonožcev. Izkazalo se je da so mehanske lastnosti senzile prilagojene specifičnim lastnostim relevantnih naravnih dražljajev, pri čemer pa ni znano, ali so temu prilagojene tudi frekvenčne lastnosti fiziološkega odziva.

Cilji: Izmeriti hitrost zračnega toka okoli zadka stenice *P. apterus* in frekvenčne lastnosti sklopitve čutilnega laska senzile T_1 s tokom ter njenega fiziološkega odziva.

Material in metode: **1)** Hitrost zračnega toka in gibanje čutilnega laska smo izmerili v laboratoriju prof. dr. Jeroma Casasa (Institut de Recherche en Biologie de l'Insecte, Univerza v Toursu, Francija) s pomočjo metode »piv« (Particle Image Velocimetry). Tanek sloj zraka smo osvetlili z laserjem, na osnovi zaporedne sekvence slik zračnih delcev v tem sloju pa smo izdelali kvantitativno analizo zračnega toka in gibanja čutilnega laska senzile. **2)** Frekvenčne lastnosti fiziološkega odziva senzile T_1 sem določil iz vlaka živčnih impulzov, ki sem ga izzval s **i)** šumom ali **ii)** sinusnim odklanjanjem laska. Lasek sem odklanjal neposredno s piezo-keramičnim stimulatorjem.

Rezultati: **1)** Hitrost toka smo izmerili v različnih orientacijah toka glede na os živali (sl. 4). V sagitalnem toku je hitrost največja ob robovih zadka, kjer so nameščene lateralne senzile, v transverzalnem toku pa na mestu ventralnih senzil. Hitrost longitudinalnega toka je, razen pri glavi in konici zadka, ob vseh delih zadka bolj ali manj enaka. Pri nizkih frekvencah toka prihaja do močnega zmanjšanja hitrosti tik ob lasku zaradi učinka mejne plasti. Ta učinek dodatno ojači sam lasek, ki bolj učinkovito sledi toku z visoko frekvenco (sl. 5). **2)** Fiziološki odziv senzile T_1 ima izrazit maksimum pri odklanjanju čutilnega laska s frekvenco cca. 50 Hz, če je amplituda odklona majhna. Če pa je amplituda odklona velika, se vrha pomakne proti cca. 150 Hz (sl. 6).

Sklepi: Položaj senzil na zadku stenice *P. apterus* je optimiziran glede na maksimalno hitrost zračnega toka, kar zagotavlja maksimalno občutljivost senzil. Mejna plast zraka ob zadku in mehanske lastnosti laska delujejo kot biomehanski filter, ki favorizira detekcijo zračnih tokov z visoko frekvenco. Temu je prilagojen tudi fiziološki odziv senzile, ki najbolj učinkovito kodira informacijo o dražljaju pri frekvencah med 50 in 150 Hz.

Realizacija ciljev in pomen: Predstavljeni rezultati so prva potrditev, da je fiziološki odziv filiformne senzile prilagojen biomehanskim lastnostim prenosa dražljaja. Poleg tega dajejo nov vpogled v optimizacijo sistema senzil ter njihovo funkcijo pri stenicah. Raziskava je bila uspešno predstavljena na konferenci v Glasgowu (Invertebrate Sound and Vibration, 2013), trenutno pa je v fazi priprave tudi znanstveni članek, ki bo povzel njene ključne ugotovitve.

3) SPONTANA AKTIVNOST FILIFORMNIH SENZIL

Problem: Proženje živčnih impulzov v odsotnosti zunanje dražljaja je značilna za večino filiformnih senzil. Kljub temu so mehanizmi generiranja spontane aktivnosti slabo preučeni.

Cilji: 1) Izmeriti nivo spontane aktivnosti filiformnih senzil pri stenici *P. apterus* s širšega geografskega področja ter pri različnih vrstah stenic. **2)** Določiti vpliv termalne aklimatizacija na spontano aktivnost filiformnih senzil tipa T_1 in T_2 ter njihov odziv na standarden trapezast dražljaj pri stenicih *P. apterus*. Predhodne meritve spontane aktivnosti pri živalih aklimatiziranih na zunanje pogoje med mesecem oktobrom in majem so pokazale, da te spremembe vplivajo na spontano aktivnost ter da je vpliv različen pri tipih T_1 in T_2 , kar kaže na različne mehanizme aktivnosti. V okviru projekta sem želel dodatno potrditi te ugotovitve in testirati, če se prihaja do sprememb tudi v odzivu senzil.

Material in metode: 1) Spontano aktivnost filiformnih senzil sem izmeril pri stenicih *P. apterus* iz Francije (Tours, 24 osebkov), Madžarske (Budimpešta, 15 osebkov), Rusije (Ryazan, 23 osebkov) in Poljske (Lomna-Łas, 10 osebkov) ter še pri 3 drugih vrstah stenic iz Slovenije: *Leptoglossus occidentalis* (19 osebkov), *Coreus marginatus* (13 osebkov) in *Scantius aegyptius* (8 osebkov). Pred meritvami sem živali vedno aklimiral najmanj en teden na laboratorijske pogoje, vse meritve pa sem izvedel pri 20 °C. **2)** Spontano aktivnost ter odziv senzil na trapezast dražljaj smo izmerili pri stenicih *P. apterus*, aklimatiziranih na zimske ter poletne ambientalne temperature.

Rezultati: 1) Variabilnost nivoja spontane aktivnosti filiformnih senzil pri stenicih *P. apterus* s širšega geografskega območja je zanemarljivo majhna (sl. 7). Spontano aktivne so tudi senzile pri ostalih treh vrstah stenic, vendar pa so frekvence impulzov nekoliko nižje (sl. 8). **2)** Meritve spontane aktivnosti pri toplo in hladno aklimatiziranih stenicih so potrdile vpliv termalne aklimatizacije na spontano aktivnost, medtem ko pa aklimatizacija nima značilnega vpliva na odziv senzil.

Sklepi: Spontana aktivnost je natančno reguliran čutilni proces. Izjemno majhne razlike v nivoju aktivnosti pri *P. apterus* kažejo, da obstaja močan selekcijski pritisk, ki ohranja ta nivo. To pa nam daje nov vpogled v funkcijo spontane aktivnosti. Slednja namreč glede na sedanje teorije omogoča kodiranje smeri dražljaja z nastavitvijo ničelnega nivoja, ki ga modulira dražljaj glede na smer »gor« ali »dol, ter poveča občutljivost senzile, vendar pa nobena od teh funkcij ne zahteva točno določenega nivoja aktivnosti. Po drugi strani je spontana aktivnost odvisna od fiziološkega stanja živali, kot je npr. stopnja termalne aklimatizacije, pri čemer se kažejo izrazite razlike med tipoma T_1 in T_2 .

Realizacija ciljev in pomen: Trenutno sta v pripravi dva znanstvena članka, ki bosta predstavila spontano aktivnost filiformnih senzil pri stenici *P. apterus* s širšega geografskega področja ter pri treh različnih vrstah stenic. Vpliv termalne aklimatizacije na odziv senzile T_1 je predstavljen v diplomskem delu »Vpliv temperaturne aklimacije na delovanje filiformnih senzil stenice *Pyrrhocoris apterus*« študentke Polona Raspor, vpliv na letno dinamiko spontane aktivnosti pa v znanstvenem članku »Effects of prolonged exposure to cold on the spontaneous activity of two different types of filiform sensilla in *Pyrrhocoris apterus*« (Journal of Comparative Physiology A, 2013; 199(10):807-15).

4) METODA ZA REKONSTRUKCIJO POTEKA MEMBRANSKEGA POTENCIALA

Problem: Zaradi nedostopnosti številnih živčnih celic za bolj napredne metode ostaja zunajcelična registracij živčnih impulzov ena od osnovnih eksperimentalnih metod v nevrobiologiji, čeprav ne omogoča natančnejše analize električnih parametrov celice.

Cilji: Razvoj metode, ki bi omogočala rekonstrukcijo časovnega poteka membranskega potenciala na osnovi zunajcelične registracije živčnih impulzov. S to metodo bi lahko bolj natančno preučili generiranje impulzov pri filiformnih senzilah stenice *P. apterus*, uporabili pa bi jo lahko tudi za preučevanje drugih celic.

Material in metode: Osnovna predpostavka metode je, da je latenca impulza, ki ga sprožimo s testnim dražljajem, sorazmerna z oddaljenostjo membranskega potenciala od praga za sprožitev impulza. Ker se potencial z oddaljenostjo od impulza približuje pragu (celica mora kontinuirano prežiti impulze), se latenca izzvanega impulza skrajšuje. Moja hipoteza je bila, da je torej mogoče iz odvisnosti latence izzvanega impulza (y) od časovnega zamika med predhodnim impulzom in testnim dražljajem (x) rekonstruirati potek potenciala. Metodo sem testiral na **1)** modelnih nevronih LIF (»Leaky Integrate-and-Fire model), Hodgkin-Huxley in Traub-Miles pri različnih povprečnih intenzitetah ter stopnjah šuma vhodnega toka, na katerega sem superponiral testne pulze. **2)** Clemens Boucsein (Univerza v Freiburgu, Nemčija) je metodo nato testiral še na kortikalnih piramidalnih celicah podgane. Tudi v tem primeru je s konstantnim injiciranim tokom vzdrževal proženje živčnih impulzov, s testnimi tokovnimi pulzi pa je določil x in y .

Rezultati: 1) Simulacije so potrdile učinkovitost metode v primeru modelnih celic, na kar kaže primerljiva časovna konstanta dejanskega poteka membranskega potenciala med dvema živčnima impulzoma ter diagrama $y(x)$ (sl. 9a). Poleg tega je standardna deviacija y sorazmerna s stopnjo šuma vhodnega toka (sl. 9b), medtem ko je relativno neobčutljiva na

povprečno intenziteto toka (sl. 9c). Iz tega vidika je metoda učinkovitejša za oceno šuma od običajno uporabljenega koeficienta variacije (KV) in stopnje šuma D , ki se izračunata na osnovi distribucije intervalov med impulzi. **2)** Rezultati testiranja metode na kortikalnih celicah so bili manj predvidljivi. Nekaj meritev sicer nakazuje, da je potek $y(x)$ sorazmeren s potekom membranskega potenciala, vendar pa prihaja do odstopanj v fazi relativne refraktarnosti, ki je izrazito dolga.

Sklepi: Simulacije na modelnih nevronih so pokazale, da je z metodo mogoče rekonstruirati časovni potek membranskega potenciala ter oceniti stopnjo šuma vhodnega toka.

Realizacija ciljev in pomen: Menim, da bi lahko bila v tej fazi metoda že primerna za objavo v znanstveni reviji, vendarle pa jo želim za dokončno potrditev še dodatno testirati na realnih celicah.

4. Ocena stopnje realizacije programa dela na raziskovalnem projektu in zastavljenih raziskovalnih ciljev³

Menim, da sem izpolnil večino ciljev, ki sem jih zastavil v predlogu projekta. **(1)** V sodelovanju s prof. Janom Bendo sem izdelal delujoč model filiformne senzile tipa T_1 pri stenici *P. apterus*. Z nadgradnjo eksperimentalnega sistema sem pridobil podatke, ki so bili dovolj kvalitetni za optimizacijo parametrov modela. Končni model omogoča vpogled v mehanizme čutilnega procesa senzile ter je pomembno orodje za testiranje vloge posameznega mehanizma v kodiranju dražljaja. **(2)** V sodelovanju s prof. Jeromom Casasom sem izmeril tokovno polje ob zadku stenice *P. apterus* v oscilirajočem zračnem toku ter interakcijo laska senzile T_1 s tokom. Pokazal sem, da je položaj senzila na zadku optimiziran glede na maksimalno hitrost zračnega toka, da mejna plast zraka ob zadku in mehanske lastnosti laska delujejo kot biomehanski filter, ki favorizira detekcijo zračnih tokov z visoko frekvenco, ter da je temu prilagojen tudi fiziološki odziv senzile. **(3)** Izmeril sem spontano aktivnost filiformnih senzila pri stenicah vrste *Pyrrhocoris apterus*, nabranih na 4 različnih lokacijah (Tours, Francija; Budimpešta, Madžarska; Ryazan, Rusija; Lomna Las, Poljska) ter pri 3 drugih vrstah: *Leptoglossus occidentalis*, *Coreus marginatus* in *Scantius aegyptius*. Pokazal sem, da je spontana aktivnost natančno reguliran čutilni proces ter da je njen nivo pomemben za delovanje senzile. Po drugi strani pa je spontana aktivnost odvisna od fiziološkega stanja živali, kot je npr. stopnja termalne aklimatizacije, pri čemer se kažejo izrazite razlike med tipoma T_1 in T_2 . **(4)** Razvil in testiral sem metodo za rekonstrukcijo časovnega poteka membranskega potenciala ter oceno stopnje šuma vhodnega toka v živčno celico na osnovi zunajcelične registracije živčnih impulzov. **(5)** S prof. Janom Bendo sem organiziral mednarodno poletno šolo za študente, kjer smo obravnavali čutilne sisteme žuželk v kontekstu njihovega naravnega okolja, med drugim tudi filiformne senzile pri stenicah. **(6)** Bil sem somentor pri izdelavi diplomske naloge »Vpliv temperaturne aklimacije na delovanje filiformnih senzila stenice *Pyrrhocoris apterus*« študentke Polona Raspor.

Rezultati raziskave vpliva termalne aklimatizacije na spontano aktivnost senzila pri stenici *P. apterus* so bili objavljeni v znanstveni reviji *Journal of Comparative Physiology A*, 2013 (199(10):807-15), rezultati raziskave mehanskih lastnosti senzila in njihove sklopitve z zračnim tokom pa so bili predstavljeni v obliki predavanja na konferenci *Invertebrate Sound and Vibration 2013* v Glasgouu.

Na osnovi zgoraj navedenih podatkov ocenjujem, da je bila izvedba projekta uspešna. Opravljena je bila večina predvidenih nalog, v projekt pa sem vključil dodatne raziskave v sodelovanju s prof. Jeromom Casasom. Poleg tega sem s prof. Janom Bendo organiziral poletno šolo, v kateri smo obravnavali probleme, ki so del vsebine projekta, ter na ta način dodal projektu poleg raziskovalne tudi pedagoško vsebino.

5. Utemeljitev morebitnih sprememb programa raziskovalnega projekta oziroma sprememb, povečanja ali zmanjšanja sestave projektne skupine⁴

V programu raziskovalnega projekta je prišlo do naslednjih večjih sprememb:

1) Problematika sklopitve čutilnih laskov z zračnim tokom ter frekvenčnih lastnosti odziva senzil ni bila vključena v prvotni predlog projekta. Ker pa gre za zelo aktualna vprašanja, sem po vzpostavitvi sodelovanja s prof. Casasom del projekta usmerili v iskanje odgovorov na le-ta. Odločitev se je izkazala za zelo smotrno, saj so predstavljeni rezultati prva potrditev, da je fiziološki odziv filiformne senzile prilagojen biomehanskim lastnostim sklopitve čutilnega laska senzile z zračnim tokom. Poleg tega dajejo nov vpogled v optimizacijo sistema senzil ter njihovo funkcijo pri stenicah, ki so zelo velika in pomembna skupina žuželk z zelo konzervativno in specifično ureditvijo filiformnih senzil na zadku.

2) V predlogu projekta sem zapisal, da bom v sodelovanju s prof. Martinom Göpfertom (Inštitut Maxa Plancka za eksperimentalno medicino, Göttingen, Nemčija) z metodo laserske vibrometrije določil mehanske lastnosti filiformnih senzil pri stenici *P. apterus* ter poskušal ugotoviti prisotnost aktivnega mehanskega ojačenja vhodnega signala. Posledica aktivnega sistema s povratno zanko je med drugim nelinearen odnos med dražljajem in odklonom laska ter prisotnost spontanih mehanskih nihanj laska v odsotnosti dražljaja. Vendar pa smo pri meritvah interakcije laska senzile z zračnim tokom v laboratoriju prof. Jeroma Casasa ugotovili, da pri senzilah stenice *P. apterus* ni spontanih mehanskih nihanj laska. Zato predvidevam, da pri senzilah stenice *P. apterus* ni prisotno aktivno mehansko ojačenje vhodnega signala, oziroma le-to ni pomembno za kodiranje dražljaja. Iz tega razloga sem meritve mehanskih lastnosti senzil z lasersko vibrometrijo opustil in dal več poudarka meritvam interakcije senzil z zračnim tokom ob zadku stenice.

3) Eden od ciljev projekta je bila tudi uporaba metode za rekonstrukcijo časovnega poteka membranskega potenciala za analizo spontanosti in odziva filiformnih senzil. Ker pa metode nismo dokončno potrdili s testiranjem na realnih celicah, sem raziskave usmeril predvsem v teoretično analizo same metode.

6. Najpomembnejši znanstveni rezultati projektne skupine⁵

Znanstveni dosežek		
1.	COBISS ID	2852687
		Vir: COBISS.SI
	Naslov	SLO Učinek dolgotrajne izpostavitve stenice <i>Pyrrhocoris apterus</i> nizkim temperaturam na spontano aktivnost filiformnih senzil
		ANG Effects of prolonged exposure to cold on the spontaneous activity of two different types of filiform sensilla in <i>Pyrrhocoris apterus</i>
	Opis	SLO Spontano aktivnost filiformnih senzil T1 in T2 smo registrirali med oktobrom in majem pri stenicah <i>Pyrrhocoris apterus</i> , ki so bile aklimatizirane na zunanje pogoje. Z raziskavo smo želeli določiti, kako dolgotrajna izpostavitvev nizkim temperaturam vpliva na dve zelo sorodni mehanosenzitivni senzili. Aktivnost smo registrirali pri 7 temperaturah preparata med 5 in 35 °C. V zimskem obdobju je aktivnost obeh senzil upadla. Padec je sovpadal s temperaturo aklimatizacije ($r=0.7$) ter je bil največji pri višjih temperaturah preparata. Učinek aklimatizacije je bil reverzibilen in ga je bilo mogoče izničiti s prenosom živali v laboratorij. Vendar pa je bila med senzilama ključna razlika v temperaturni odvisnosti spontanosti. Spontana aktivnost senzile T1 je vedno naraščala monotono v območju med 5 in 35 °C, aktivnost T2 pa je pri živalih, ki so bile hladno aklimatizirane, naraščala do temperature med 20 in 30 °C, nato pa začela upadati. Posledično se je v hladnih mesecih značilno znižala temperaturna občutljivost aktivnosti T2 (Q10 se je znižal s 3.5 v oktobru na 1.4 v januarju, medtem ko je bil padec v primeru T1 s 2.5 na 2.2). S tem smo pokazali, da izpostavitvev nizkim temperaturam vpliva na spontano aktivnost senzil stenice <i>P. apterus</i> , da pa je vpliv značilno različen pri

		različnih tipih senzil.
	ANG	We recorded the spontaneous activity of T1 and T2 filiform sensilla from October to May in <i>Pyrrhocoris apterus</i> acclimatized to outdoor conditions. The aim of the study was to determine how prolonged exposure to cold affects two closely related mechanosensitive sensilla. We recorded the activity at seven temperatures from 5 to 35 °C. In both sensilla types the activity level was reduced during winter, which correlated to changes in acclimatization temperature ($r = 0.7$), the reduction was greater at high recording temperatures, and the effects of exposure to cold were reversed by transferring the animals indoors. However, T1 activity always increased monotonically, if the recording temperature was increased from 5 to 35 °C, whereas T2 activity in cold-acclimatized animals increased to temperatures between 20 and 30 °C and then started decreasing. As a result, the temperature sensitivity of the activity was reduced more profoundly in T2 sensilla (in T2 Q 10 was reduced from 3.5 in October to 1.4 in January, whereas in T1 it was reduced from 2.5 to 2.2). In conclusion, we have shown that prolonged exposure to cold does affect filiform sensilla; however, the effect is significantly different in the two sensilla types.
Objavljeno v		Springer; Journal of comparative physiology. A, Sensory, neural, and behavioral physiology; 2013; Vol. , iss.; 9 str., [in press]; Impact Factor: 1.856; Srednja vrednost revije / Medium Category Impact Factor: 1.296; A': 1; WoS: CN, RU, UM, ZM; Avtorji / Authors: Škorjanc Aleš, Lipičnik Aleš, Drašlar Kazimir
Tipologija		1.01 Izvirni znanstveni članek

7. Najpomembnejši družbeno-ekonomski rezultati projektne skupine⁶

	Družbeno-ekonomski dosežek	
1.	COBISS ID	
	Naslov	SLO
		ANG
	Opis	SLO
		ANG
	Šifra	
	Objavljeno v	
	Tipologija	

8. Drugi pomembni rezultati projektne skupine⁷

1) Organizacija mednarodne poletne šole "Sensory systems in natural environments"
V okviru svojega podoktorskega projekta sem poskušal najti odgovore na zastavljena vprašanja s povezovanjem matematičnega modeliranja čutilnih in živčnih procesov z realnim eksperimentom. Ker postaja takšen pristop paradigma modernih fizioloških raziskav, sva v ta proces želela s prof. Janom Bendo vključiti tudi študente. Zato sva v letih 2012 in 2013 organizirala mednarodno poletno šolo za slovenske in nemške študente, ki se ji je 2013 pridružil še prof. Michael Gebhardt (Tehniška univerza v Münchnu, Nemčija). Tema šole so bili čutilni sistemi žuželk, med drugim tudi filiformne senzile stenice <i>Pyrrhocoris apterus</i> , s poudarkom na razumevanju njihove interakcije z naravnimi dražljaji, ki so pogojevali razvoj njihovih specifičnih lastnosti. Ocenjujem, da je šola pomembno prispevala k izobraževanju študentov, hkrati pa sem s šolo pridobil pomembne podatke za uresničevanje ciljev podoktorskega projekta.

2) Somentorstvo pri diplomskem delu

V letu 2012 sem bil somentor pri izdelavi diplomskega dela Polone Raspor z naslovom Vpliv temperaturne aklimacije na delovanje filiformnih senzil stenice *Pyrrhocoris apterus*. V diplomskem delu je Polona Raspor preučevala vpliv temperaturne aklimacije na odziv filiformnih senzil na standarden trapezast dražljaj. Rezultati njenega dela so dali dodaten vpogled v procese ekscitacije in adaptacije filiformnih senzil.

9. Pomen raziskovalnih rezultatov projektne skupine⁸

9.1. Pomen za razvoj znanosti⁹

SLO

Raziskave mehanorepcije so postale z razvojem molekularne biologije ponovno zelo aktualne. Pri tem so pomembno vlogo odigrale žuželčje senzile. Kljub napredku pa je razumevanje osnovnih mehanizmov čutilnega procesa senzil še zmeraj nepopolno. V okviru tega projekta smo zato izdelali integrativno študijo filiformnih senzil stenice *Pyrrhocoris apterus*. Razvili smo matematični model senzile, ki pojasnjuje nelinearnosti v njenem odzivu ter izvor hitre in počasne čutilne adaptacije. Eksperimentalno smo pokazali, da je položaj senzil na zadku stenice optimiziran za čim bolj učinkovito detekcijo zračnega toka ter da je fiziološki odziv senzile prilagojen visokofrekvenčnim lastnostim sklopitve zračnega toka in čutilnega laska. Pokazali smo tudi, da je spontana aktivnost senzile natančno reguliran čutilni proces ter da nivo aktivnosti igra pomembno vlogo v funkciji senzile, kar do sedaj ni bilo znano. Razvili pa smo tudi novo elektrofiziološko metodo, ki omogoča rekonstrukcijo časovnega poteka membranskega potenciala živčne ali čutilne celice na osnovi zunajcelične registracije živčnih impulzov. Z rezultati tega projekta smo tako pripomogli k reševanju nekaterih problemov detekcije mehanskega dražljaja, filiformne senzile stenice *P. apterus* pa smo uvedli v raziskave mehanorepcije kot potencialni modelni sistem.

ANG

The study of mechanoreception gained a new momentum with the development of molecular biology. Insect sensilla played a crucial role in this development. However, despite new insights the overall understanding of the sensory process of sensilla remains incomplete. In this project we therefore made an integral study of filiform sensilla in the bug *Pyrrhocoris apterus*. We developed a mathematical model of the sensillum, which explains the non-linearity of its response and the origin of fast and slow sensory adaptation. We experimentally showed that the location of sensilla on the abdomen of the bug allows for optimal detection of air-flow, and that the physiological response of the sensillum is adapted to the high-pass filter properties of the air-flow to hair-motion coupling. We also showed that the spontaneous activity of filiform sensilla is a precisely regulated process. The defined level of the activity plays an important role in the function of sensilla, which has not been known so far. We also developed a novel electrophysiological method for a reconstruction of the membrane potential time-course in sensory and neural cells, based on extracellular registration of nerve impulses. With this project, we have therefore contributed to a better understanding of some basic problems of mechanoreception, and we have introduced the bug *P. apterus* as a potential model organism for the research of mechanosensitive sensilla.

9.2. Pomen za razvoj Slovenije¹⁰

SLO

Stenice so velika skupina žuželk, med katerimi so tudi vrste, ki v Sloveniji povzročajo ekonomsko škodo na gojenih rastlinah. V boju proti škodljivcem postajajo z zavedanjem o nevarnosti uporabe insekticidov vse pomembnejša druga sredstva. Ena od možnih strategij boja proti stenicam je razvoj obrambnih sredstev na osnovi imitacije signalov, ki jih oddajo njihovi naravni sovražniki. V okviru tega projekta smo izmerili mehanske lastnosti filiformnih senzil in frekvenčne lastnosti njihove sklopitve z zračnim tokom. Ugotovili smo, da se le-te ujemajo s frekvenčnimi lastnostmi zračnih oscilacij, ki jih ustvarjajo nekateri naravni sovražniki stenic. Verjamemo, da bi lahko ti izsledki pripomogli k razvoju novih obrambnih sredstev na osnovi

mehanskih dražljajev.

Uspeh tega podoktorskega projekta, ki ima širše implikacije za slovensko družbo, pa je tudi ustanovitev mednarodne poletne šole za študente "Sensory systems in natural environments". Šola sva ustanovila s prof. Janom Bendo (Univerza v Tübingenu) leta 2012, leta 2013 pa se je šoli pridružil še prof. Michael Gebhardt (Tehniška univerza v Münchnu). Namen šole je vpeljati študente v raziskave nevrobiologije. Tema šole so čutilni sistemi žuželk s poudarkom na razumevanju njihove interakcije z naravnimi dražljaji, ki so pogojevali razvoj njihovih specifičnih lastnosti. Šola poteka 3 tedne, in sicer dva tedna v Sloveniji in en teden v Nemčiji. Šola študentom omogoča pridobivanje znanj iz biofizike in fiziologije čutilnih sistemov, elektrofizioloških metod, analize signalov ter matematičnega modeliranja procesov. Poleg tega študentje spoznajo, kako poteka delo na tujih univerzah, in vzpostavijo poznanstva, ki so zelo pomembna za razvoj kariere v znanosti. Šola je v letu 2013 postala del rednega študijskega programa biologije ter poleg izobraževanja mladih znanstvenikov zagotavlja tesno sodelovanje med Univerzo v Tübingenu, Tehniško univerzo v Münchnu ter Univerzo v Ljubljani.

ANG

Bugs are a large group of insects, which includes some species that are becoming significant pests of crops in Slovenia. With increasing awareness of the danger of insecticides there is a need for a development of other means of pest control. One possible strategy is a development of repellents based on imitation of signals, created by the natural enemies of bugs. In this project, we measured the mechanical properties of filiform sensilla and the frequency properties of the air-flow to sensory hair-motion coupling. We have found that the latter correspond to the frequency characteristics of the air-flow oscillation generated by some of the natural enemies of bugs. We believe that these findings can contribute to the development of new repellents based on mechanical stimuli.

Another accomplishment of this project with important implications for the development of Slovenia is a foundation of an international summer school for students "Sensory systems in natural environments". I founded the school with Prof. Jan Benda from the University of Tübingen in 2012. In 2013 the school was joined also by Prof. Michael Gebhardt from the Technical University of Munich. The goal of the school is to introduce students into the neurobiology research. In the school we focus on sensory systems of insects and their interaction with natural stimuli, to which the sensory systems have adapted. The first two weeks of the school take place in Slovenia and the last week in Germany. By joining the school the students gain knowledge in biophysics and physiology of sensory systems, electrophysiological methods and signal analysis and in mathematical modelling of sensory processes. They also gain some study abroad experience and make connections with other students and professors which is crucial for making a career in science. In 2013 the school became a part of the program in biology at the University of Ljubljana. This ensures not only an education of young scientists but also a close collaboration between the University of Tübingen, the Technical University of Munich and the University of Ljubljana.

**10. Samo za aplikativne projekte in podoktorske projekte iz gospodarstva!
Označite, katerega od navedenih ciljev ste si zastavili pri projektu, katere konkretne rezultate ste dosegli in v kakšni meri so doseženi rezultati uporabljeni**

Cilj		
F.01	Pridobitev novih praktičnih znanj, informacij in veščin	
	Zastavljen cilj	<input type="radio"/> DA <input type="radio"/> NE
	Rezultat	<input type="text"/>
	Uporaba rezultatov	<input type="text"/>
F.02	Pridobitev novih znanstvenih spoznanj	
	Zastavljen cilj	<input type="radio"/> DA <input type="radio"/> NE
	Rezultat	<input type="text"/>

	Uporaba rezultatov	<input type="text"/>
F.03	Večja usposobljenost raziskovalno-razvojnega osebja	
	Zastavljen cilj	<input type="radio"/> DA <input type="radio"/> NE
	Rezultat	<input type="text"/>
	Uporaba rezultatov	<input type="text"/>
F.04	Dvig tehnološke ravni	
	Zastavljen cilj	<input type="radio"/> DA <input type="radio"/> NE
	Rezultat	<input type="text"/>
	Uporaba rezultatov	<input type="text"/>
F.05	Sposobnost za začetek novega tehnološkega razvoja	
	Zastavljen cilj	<input type="radio"/> DA <input type="radio"/> NE
	Rezultat	<input type="text"/>
	Uporaba rezultatov	<input type="text"/>
F.06	Razvoj novega izdelka	
	Zastavljen cilj	<input type="radio"/> DA <input type="radio"/> NE
	Rezultat	<input type="text"/>
	Uporaba rezultatov	<input type="text"/>
F.07	Izboljšanje obstoječega izdelka	
	Zastavljen cilj	<input type="radio"/> DA <input type="radio"/> NE
	Rezultat	<input type="text"/>
	Uporaba rezultatov	<input type="text"/>
F.08	Razvoj in izdelava prototipa	
	Zastavljen cilj	<input type="radio"/> DA <input type="radio"/> NE
	Rezultat	<input type="text"/>
	Uporaba rezultatov	<input type="text"/>
F.09	Razvoj novega tehnološkega procesa oz. tehnologije	
	Zastavljen cilj	<input type="radio"/> DA <input type="radio"/> NE
	Rezultat	<input type="text"/>
	Uporaba rezultatov	<input type="text"/>
F.10	Izboljšanje obstoječega tehnološkega procesa oz. tehnologije	
	Zastavljen cilj	<input type="radio"/> DA <input type="radio"/> NE
	Rezultat	<input type="text"/>
	Uporaba rezultatov	<input type="text"/>
F.11	Razvoj nove storitve	
	Zastavljen cilj	<input type="radio"/> DA <input type="radio"/> NE

	Rezultat	<input type="text"/>
	Uporaba rezultatov	<input type="text"/>
F.12	Izboljšanje obstoječe storitve	
	Zastavljen cilj	<input type="radio"/> DA <input type="radio"/> NE
	Rezultat	<input type="text"/>
	Uporaba rezultatov	<input type="text"/>
F.13	Razvoj novih proizvodnih metod in instrumentov oz. proizvodnih procesov	
	Zastavljen cilj	<input type="radio"/> DA <input type="radio"/> NE
	Rezultat	<input type="text"/>
	Uporaba rezultatov	<input type="text"/>
F.14	Izboljšanje obstoječih proizvodnih metod in instrumentov oz. proizvodnih procesov	
	Zastavljen cilj	<input type="radio"/> DA <input type="radio"/> NE
	Rezultat	<input type="text"/>
	Uporaba rezultatov	<input type="text"/>
F.15	Razvoj novega informacijskega sistema/podatkovnih baz	
	Zastavljen cilj	<input type="radio"/> DA <input type="radio"/> NE
	Rezultat	<input type="text"/>
	Uporaba rezultatov	<input type="text"/>
F.16	Izboljšanje obstoječega informacijskega sistema/podatkovnih baz	
	Zastavljen cilj	<input type="radio"/> DA <input type="radio"/> NE
	Rezultat	<input type="text"/>
	Uporaba rezultatov	<input type="text"/>
F.17	Prenos obstoječih tehnologij, znanj, metod in postopkov v prakso	
	Zastavljen cilj	<input type="radio"/> DA <input type="radio"/> NE
	Rezultat	<input type="text"/>
	Uporaba rezultatov	<input type="text"/>
F.18	Posredovanje novih znanj neposrednim uporabnikom (seminarji, forumi, konference)	
	Zastavljen cilj	<input type="radio"/> DA <input type="radio"/> NE
	Rezultat	<input type="text"/>
	Uporaba rezultatov	<input type="text"/>
F.19	Znanje, ki vodi k ustanovitvi novega podjetja ("spin off")	
	Zastavljen cilj	<input type="radio"/> DA <input type="radio"/> NE
	Rezultat	<input type="text"/>
	Uporaba rezultatov	<input type="text"/>

F.20	Ustanovitev novega podjetja ("spin off")	
	Zastavljen cilj	<input type="radio"/> DA <input type="radio"/> NE
	Rezultat	<input type="text"/>
	Uporaba rezultatov	<input type="text"/>
F.21	Razvoj novih zdravstvenih/diagnostičnih metod/postopkov	
	Zastavljen cilj	<input type="radio"/> DA <input type="radio"/> NE
	Rezultat	<input type="text"/>
	Uporaba rezultatov	<input type="text"/>
F.22	Izboljšanje obstoječih zdravstvenih/diagnostičnih metod/postopkov	
	Zastavljen cilj	<input type="radio"/> DA <input type="radio"/> NE
	Rezultat	<input type="text"/>
	Uporaba rezultatov	<input type="text"/>
F.23	Razvoj novih sistemskih, normativnih, programskih in metodoloških rešitev	
	Zastavljen cilj	<input type="radio"/> DA <input type="radio"/> NE
	Rezultat	<input type="text"/>
	Uporaba rezultatov	<input type="text"/>
F.24	Izboljšanje obstoječih sistemskih, normativnih, programskih in metodoloških rešitev	
	Zastavljen cilj	<input type="radio"/> DA <input type="radio"/> NE
	Rezultat	<input type="text"/>
	Uporaba rezultatov	<input type="text"/>
F.25	Razvoj novih organizacijskih in upravljavskih rešitev	
	Zastavljen cilj	<input type="radio"/> DA <input type="radio"/> NE
	Rezultat	<input type="text"/>
	Uporaba rezultatov	<input type="text"/>
F.26	Izboljšanje obstoječih organizacijskih in upravljavskih rešitev	
	Zastavljen cilj	<input type="radio"/> DA <input type="radio"/> NE
	Rezultat	<input type="text"/>
	Uporaba rezultatov	<input type="text"/>
F.27	Prispevek k ohranjanju/varovanju naravne in kulturne dediščine	
	Zastavljen cilj	<input type="radio"/> DA <input type="radio"/> NE
	Rezultat	<input type="text"/>
	Uporaba rezultatov	<input type="text"/>
F.28	Priprava/organizacija razstave	
	Zastavljen cilj	<input type="radio"/> DA <input type="radio"/> NE
	Rezultat	<input type="text"/>

	Uporaba rezultatov	<input type="text"/>
F.29	Prispevek k razvoju nacionalne kulturne identitete	
	Zastavljen cilj	<input type="radio"/> DA <input type="radio"/> NE
	Rezultat	<input type="text"/>
	Uporaba rezultatov	<input type="text"/>
F.30	Strokovna ocena stanja	
	Zastavljen cilj	<input type="radio"/> DA <input type="radio"/> NE
	Rezultat	<input type="text"/>
	Uporaba rezultatov	<input type="text"/>
F.31	Razvoj standardov	
	Zastavljen cilj	<input type="radio"/> DA <input type="radio"/> NE
	Rezultat	<input type="text"/>
	Uporaba rezultatov	<input type="text"/>
F.32	Mednarodni patent	
	Zastavljen cilj	<input type="radio"/> DA <input type="radio"/> NE
	Rezultat	<input type="text"/>
	Uporaba rezultatov	<input type="text"/>
F.33	Patent v Sloveniji	
	Zastavljen cilj	<input type="radio"/> DA <input type="radio"/> NE
	Rezultat	<input type="text"/>
	Uporaba rezultatov	<input type="text"/>
F.34	Svetovalna dejavnost	
	Zastavljen cilj	<input type="radio"/> DA <input type="radio"/> NE
	Rezultat	<input type="text"/>
	Uporaba rezultatov	<input type="text"/>
F.35	Drugo	
	Zastavljen cilj	<input type="radio"/> DA <input type="radio"/> NE
	Rezultat	<input type="text"/>
	Uporaba rezultatov	<input type="text"/>

Komentar

11. Samo za aplikativne projekte in podoktorske projekte iz gospodarstva!
Označite potencialne vplive oziroma učinke vaših rezultatov na navedena področja

	Vpliv	Ni vpliva	Majhen vpliv	Srednji vpliv	Velik vpliv	

G.01	Razvoj visokošolskega izobraževanja					
G.01.01.	Razvoj dodiplomskega izobraževanja	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	
G.01.02.	Razvoj podiplomskega izobraževanja	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	
G.01.03.	Drugo:	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	
G.02	Gospodarski razvoj					
G.02.01	Razširitev ponudbe novih izdelkov/storitev na trgu	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	
G.02.02.	Širitev obstoječih trgov	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	
G.02.03.	Znižanje stroškov proizvodnje	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	
G.02.04.	Zmanjšanje porabe materialov in energije	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	
G.02.05.	Razširitev področja dejavnosti	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	
G.02.06.	Večja konkurenčna sposobnost	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	
G.02.07.	Večji delež izvoza	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	
G.02.08.	Povečanje dobička	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	
G.02.09.	Nova delovna mesta	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	
G.02.10.	Dvig izobrazbene strukture zaposlenih	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	
G.02.11.	Nov investicijski zagon	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	
G.02.12.	Drugo:	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	
G.03	Tehnološki razvoj					
G.03.01.	Tehnološka razširitev/posodobitev dejavnosti	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	
G.03.02.	Tehnološko prestrukturiranje dejavnosti	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	
G.03.03.	Uvajanje novih tehnologij	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	
G.03.04.	Drugo:	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	
G.04	Družbeni razvoj					
G.04.01	Dvig kvalitete življenja	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	
G.04.02.	Izboljšanje vodenja in upravljanja	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	
G.04.03.	Izboljšanje delovanja administracije in javne uprave	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	
G.04.04.	Razvoj socialnih dejavnosti	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	
G.04.05.	Razvoj civilne družbe	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	
G.04.06.	Drugo:	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	
G.05.	Ohranjanje in razvoj nacionalne naravne in kulturne dediščine in identitete					
G.06.	Varovanje okolja in trajnostni razvoj					
G.07	Razvoj družbene infrastrukture					
G.07.01.	Informacijsko-komunikacijska infrastruktura	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	
G.07.02.	Prometna infrastruktura	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	
G.07.03.	Energetska infrastruktura					

			<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	
G.07.04.	Drugo:		<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	
G.08.	Varovanje zdravja in razvoj zdravstvenega varstva		<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	
G.09.	Drugo:		<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	

Komentar

--

12.Pomen raziskovanja za sofinancerje¹¹

	Sofinancer		
1.	Naziv		
	Naslov		
	Vrednost sofinanciranja za celotno obdobje trajanja projekta je znašala:		EUR
	Odstotek od utemeljenih stroškov projekta:		%
	Najpomembnejši rezultati raziskovanja za sofinancerja	Šifra	
		1.	
		2.	
		3.	
		4.	
		5.	
	Komentar		
	Ocena		

13.Izjemni dosežek v letu 2013¹²**13.1. Izjemni znanstveni dosežek**

--

13.2. Izjemni družbeno-ekonomski dosežek

--

C. IZJAVE

Podpisani izjavljam/o, da:

- so vsi podatki, ki jih navajamo v poročilu, resnični in točni
- se strinjamo z obdelavo podatkov v skladu z zakonodajo o varstvu osebnih podatkov za potrebe ocenjevanja ter obdelavo teh podatkov za evidence ARRS
- so vsi podatki v obrazcu v elektronski obliki identični podatkom v obrazcu v pisni obliki
- so z vsebino zaključnega poročila seznanjeni in se strinjajo vsi soizvajalci projekta

Podpisi:

*zastopnik oz. pooblaščen oseba
raziskovalne organizacije:*

in

vodja raziskovalnega projekta:

Univerza v Ljubljani, Biotehniška
fakulteta

Aleš Škorjanc

ŽIG

Kraj in datum:

Ljubljana	11.4.2014
-----------	-----------

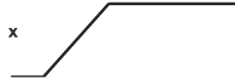
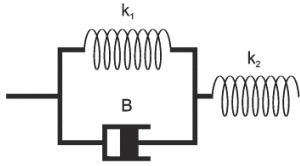
Oznaka prijave: ARRS-RPROJ-ZP-2014/106

- ¹ Napišite povzetek raziskovalnega projekta (največ 3.000 znakov v slovenskem in angleškem jeziku) [Nazaj](#)
- ² Napišite kratko vsebinsko poročilo, kjer boste predstavili raziskovalno hipotezo in opis raziskovanja. Navedite ključne ugotovitve, znanstvena spoznanja, rezultate in učinke raziskovalnega projekta in njihovo uporabo ter sodelovanje s tujimi partnerji. Največ 12.000 znakov vključno s presledki (približno dve strani, velikost pisave 11). [Nazaj](#)
- ³ Realizacija raziskovalne hipoteze. Največ 3.000 znakov vključno s presledki (približno pol strani, velikost pisave 11) [Nazaj](#)
- ⁴ V primeru bistvenih odstopanj in sprememb od predvidenega programa raziskovalnega projekta, kot je bil zapisan v predlogu raziskovalnega projekta oziroma v primeru sprememb, povečanja ali zmanjšanja sestave projektne skupine v zadnjem letu izvajanja projekta, napišite obrazložitev. V primeru, da sprememb ni bilo, to navedite. Največ 6.000 znakov vključno s presledki (približno ena stran, velikost pisave 11). [Nazaj](#)
- ⁵ Navedite znanstvene dosežke, ki so nastali v okviru tega projekta. Raziskovalni dosežek iz obdobja izvajanja projekta (do oddaje zaključnega poročila) vpišete tako, da izpolnite COBISS kodo dosežka – sistem nato sam izpolni naslov objave, naziv, IF in srednjo vrednost revije, naziv FOS področja ter podatek, ali je dosežek uvrščen v A'' ali A'. [Nazaj](#)
- ⁶ Navedite družbeno-ekonomske dosežke, ki so nastali v okviru tega projekta. Družbeno-ekonomski rezultat iz obdobja izvajanja projekta (do oddaje zaključnega poročila) vpišete tako, da izpolnite COBISS kodo dosežka – sistem nato sam izpolni naslov objave, naziv, IF in srednjo vrednost revije, naziv FOS področja ter podatek, ali je dosežek uvrščen v A'' ali A'.
- Družbeno-ekonomski dosežek je po svoji strukturi drugačen kot znanstveni dosežek. Povzetek znanstvenega dosežka je praviloma povzetek bibliografske enote (članka, knjige), v kateri je dosežek objavljen.
- Povzetek družbeno-ekonomskega dosežka praviloma ni povzetek bibliografske enote, ki ta dosežek dokumentira, ker je dosežek sklop več rezultatov raziskovanja, ki je lahko dokumentiran v različnih bibliografskih enotah. COBISS ID zato ni enoznačen, izjemoma pa ga lahko tudi ni (npr. prehod mlajših sodelavcev v gospodarstvo na pomembnih raziskovalnih nalogah, ali ustanovitev podjetja kot rezultat projekta ... - v obeh primerih ni COBISS ID). [Nazaj](#)
- ⁷ Navedite rezultate raziskovalnega projekta iz obdobja izvajanja projekta (do oddaje zaključnega poročila) v primeru, da katerega od rezultatov ni mogoče navesti v točkah 6 in 7 (npr. ni voden v sistemu COBISS). Največ 2.000 znakov, vključno s presledki. [Nazaj](#)
- ⁸ Pomen raziskovalnih rezultatov za razvoj znanosti in za razvoj Slovenije bo objavljen na spletni strani: <http://sicris.izum.si/> za posamezen projekt, ki je predmet poročanja [Nazaj](#)
- ⁹ Največ 4.000 znakov, vključno s presledki [Nazaj](#)
- ¹⁰ Največ 4.000 znakov, vključno s presledki [Nazaj](#)
- ¹¹ Rubrike izpolnite / prepisite skladno z obrazcem "izjava sofinancerja" <http://www.arrs.gov.si/sl/progproj/rproj/gradivo/>, ki ga mora izpolniti sofinancer. Podpisan obrazec "Izjava sofinancerja" pridobi in hrani nosilna raziskovalna organizacija – izvajalka projekta. [Nazaj](#)
- ¹² Navedite en izjemni znanstveni dosežek in/ali en izjemni družbeno-ekonomski dosežek raziskovalnega projekta v letu 2013 (največ 1000 znakov, vključno s presledki). Za dosežek pripravite diapozitiv, ki vsebuje sliko ali drugo slikovno gradivo v zvezi z izjemnim dosežkom (velikost pisave najmanj 16, približno pol strani) in opis izjemnega dosežka (velikost pisave 12, približno pol strani). Diapozitiv/-a priložite kot priponko/-i k temu poročilu. Vzorec diapozitiva je objavljen na spletni strani ARRS <http://www.arrs.gov.si/sl/gradivo/>, predstavitev dosežkov za pretekla leta pa so objavljena na spletni strani <http://www.arrs.gov.si/sl/analize/dosez/>. [Nazaj](#)

Obrazec: ARRS-RPROJ-ZP/2014 v1.03
55-0D-58-AF-65-8A-74-28-0F-FA-7C-90-4C-5E-97-1A-8A-E5-45-D2

Priloga 1

prenos dražljaja

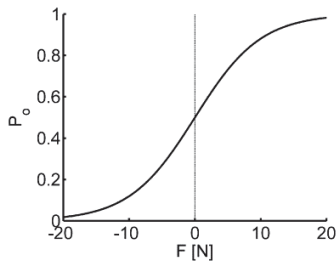


$$\tau_F \frac{dF}{dt} = k_2(1 - S)(x_0 + x) + \tau_F k_2 \frac{dx}{dt} - F \quad (1)$$

$$\tau_F = \frac{B}{k_1 + k_2} \quad (1.2)$$

$$S = \frac{k_2}{k_1 + k_2} \quad (1.3)$$

transdukcija dražljaja



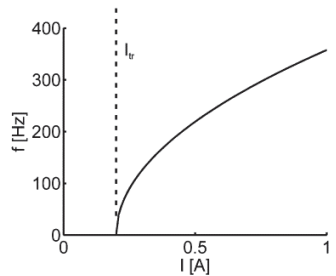
$$I = PE \quad (2)$$

$$P = \frac{1}{1 + e^{-\kappa F}} \quad (2.1)$$

$$\tau_E \frac{dE}{dt} = E_\infty - E \quad (2.2)$$

$$E_\infty = (1 - E_{\min})e^{-\frac{I}{\tau_I}} + E_{\min} \quad (2.2.3)$$

kodiranje impulzov

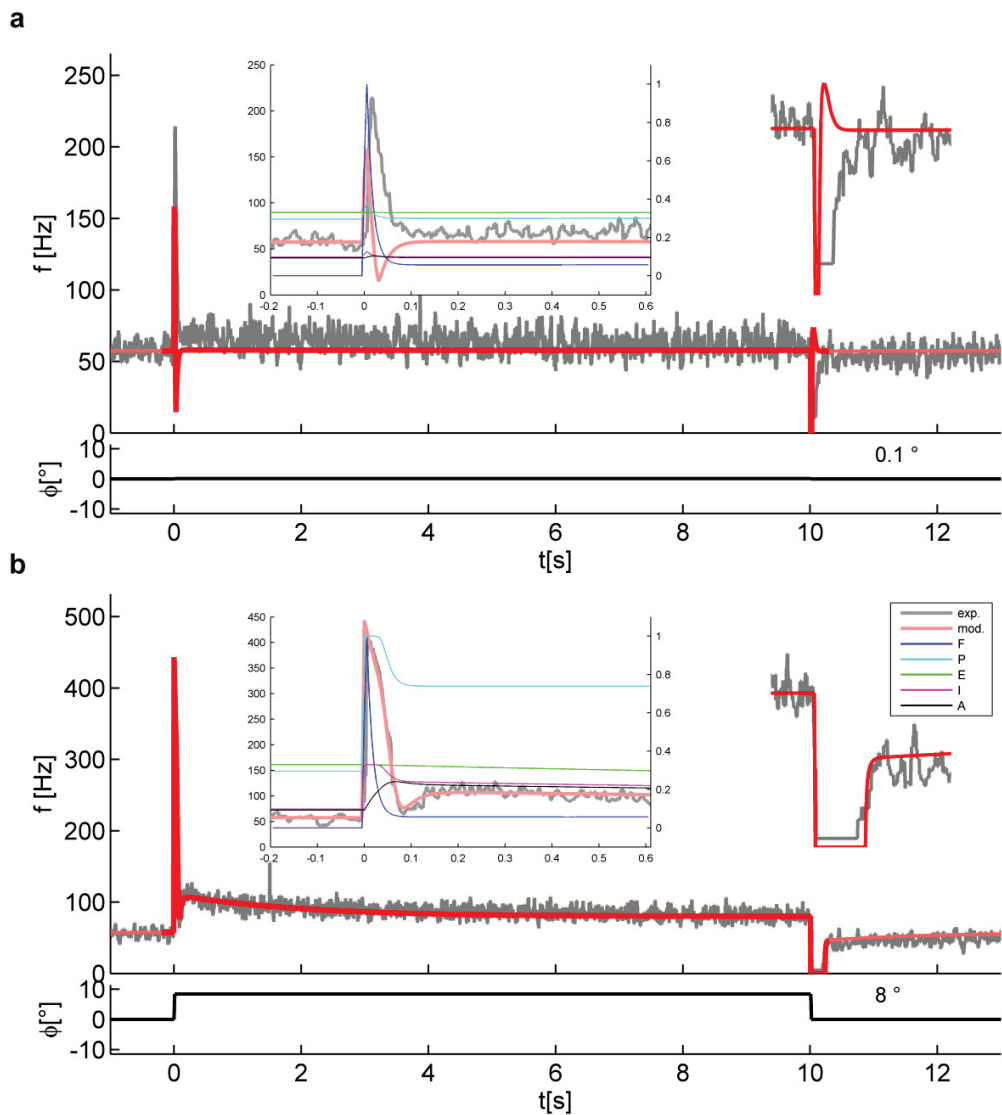


$$f = \frac{f_{\max}}{\sqrt{1 + I_{tr}}} \sqrt{I - A - I_{tr}} \quad (3)$$

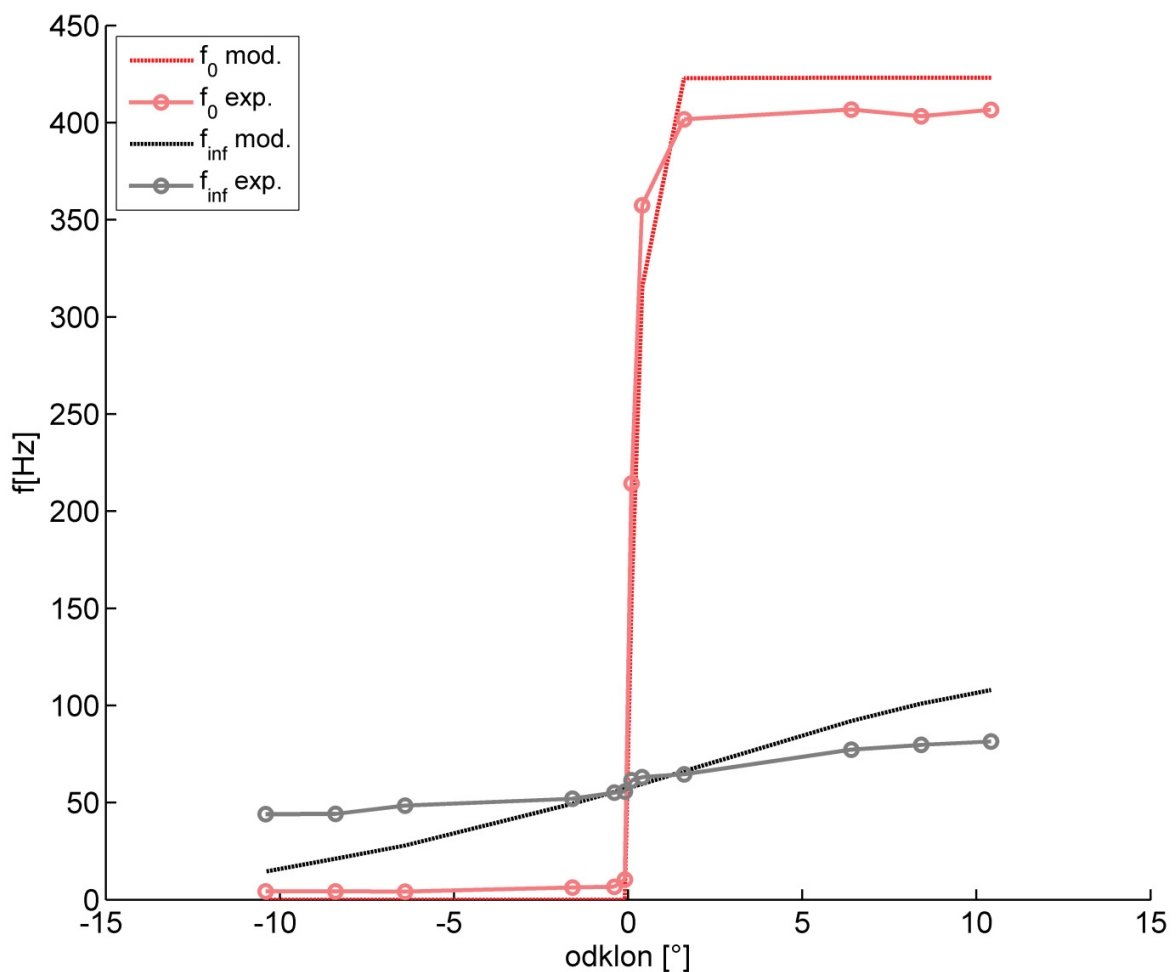
$$\tau_A \frac{dA}{dt} = cf - A \quad (3.1)$$



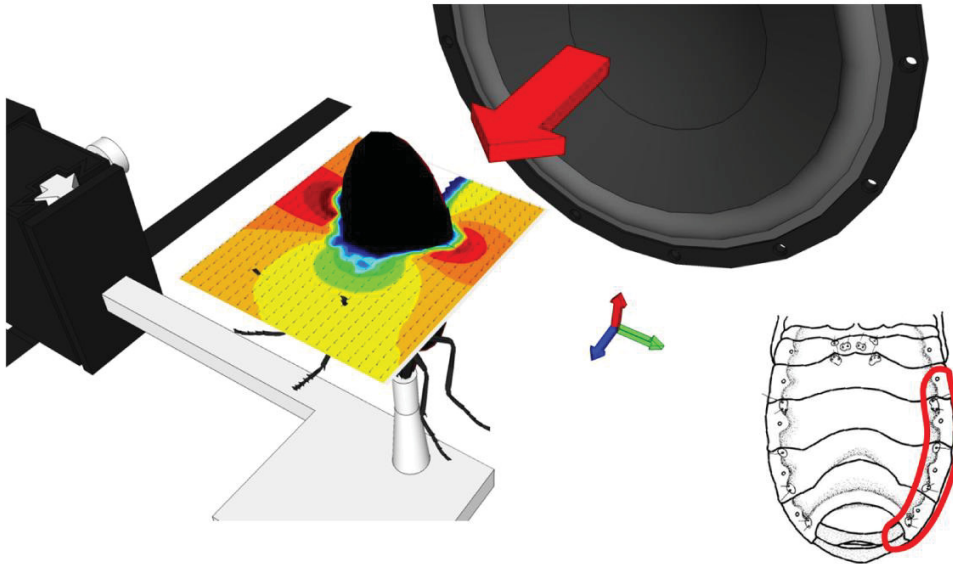
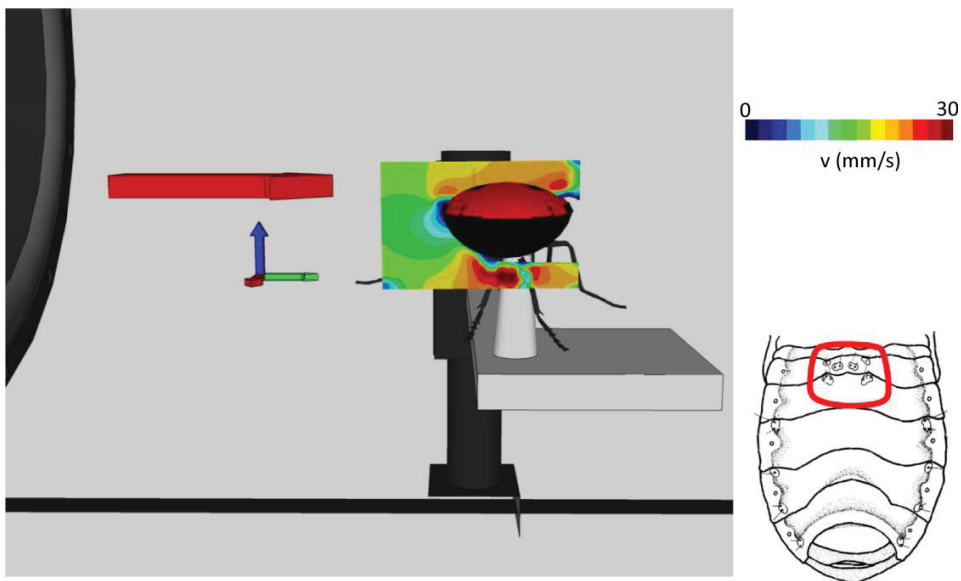
Slika 1: Matematični model kodiranja dražljaja filiformne senzile tipa T₁. Na sliki so shematsko prikazane zaporedne faze v procesu pretvorbe odklona laska senzile v frekvenco živčnih impulzov ter ustrezne matematične enačbe. V fazi prenosa dražljaja (stimulus transmission, enačba 1) se odklon laska (x) pretvori v mehansko silo (F), ki neposredno deluje na mehansko občutljive ionske kanale. Sistem prenosa dražljaja je modeliran kot dve zaporedni vzmeti s koeficientoma k₁ in k₂ ter vzporedno vezana dušilka s koeficientom dušenja B. V fazi transdukcije dražljaja se mehanska sila pretvori v verjetnost odprtja mehansko občutljivih ionskih kanalov (P). Verjetnost odprtja kanalov ter gonilna napetost (E) določata jakost receptorskega toka (I) (enačba 2). Verjetnost odprtja kanalov pri določeni mehanski sili opisuje Boltzmannova enačba (2.1), odvisnost gonilne napetosti od jakosti receptorskega toka pa enačba 2.2.3. Slednja je fenomenološki opis sesedanja gonilne napetosti zaradi receptorskega toka, ki je bilo eksperimentalno pokazano pri olfaktornih senzilah. V zadnji fazi (spike encoding) se receptorski tok pretvori v frekvenco živčnih impulzov (f) glede na enačbo 3. Impulzi se začnejo prožiti, ko jakost receptorskega toka preseže prazno vrednost I_{tr}, frekvenco impulzov pa poleg receptorskega toka določa še jakost adaptacije (A) generatorja impulzov (enačba 3.1)



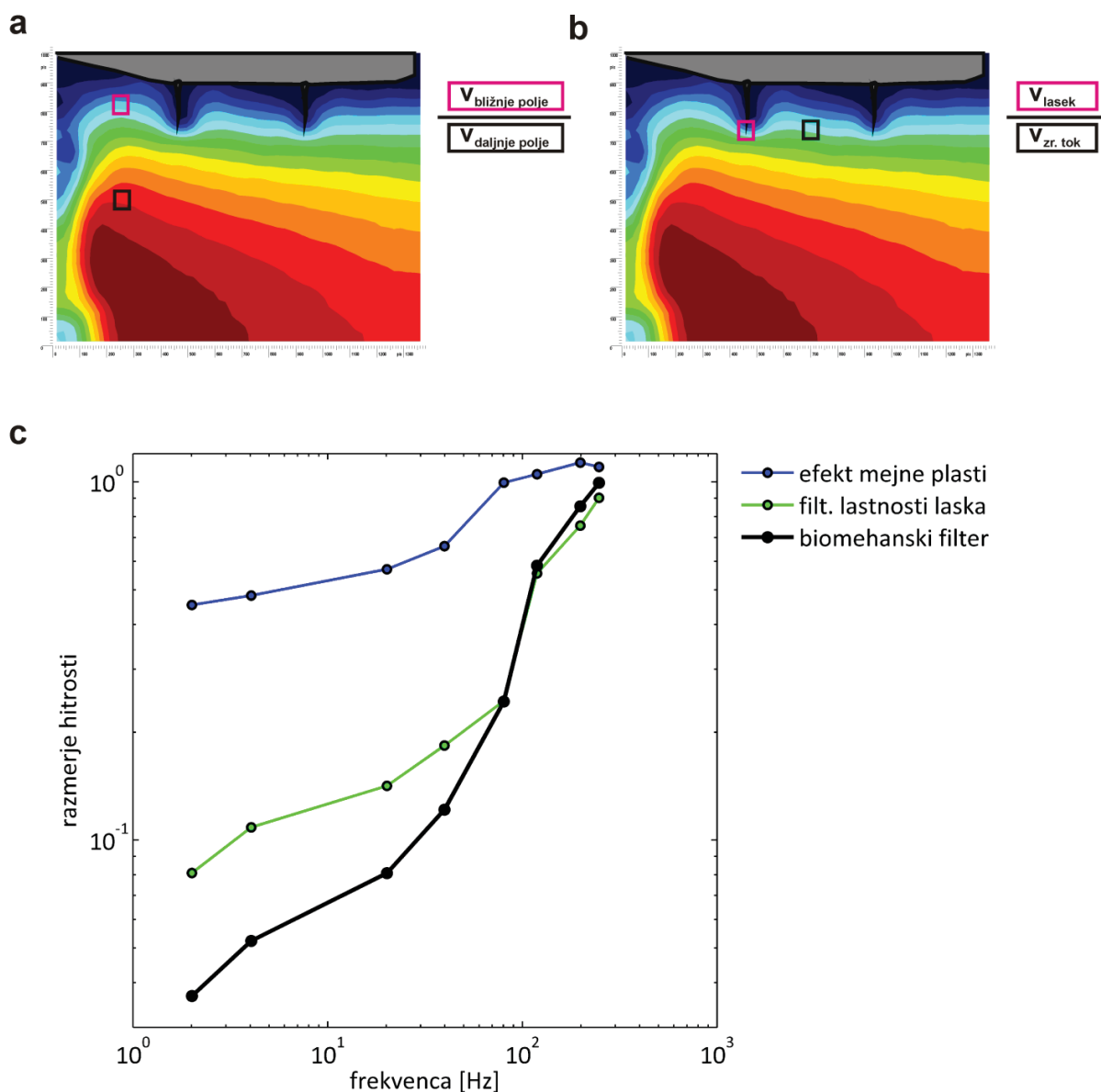
Slika 2: Simulacija odziva senzile T_1 , izdelana s pomočjo modela prikazanega na sl.1. Senzila T_1 je smerno občutljiva. Na odklon čutilnega laska v ekscitacijski smeri se odzove s povečanjem frekvence impulzov, na odklon v inhibicijski smeri pa z zmanjšanjem frekvence. Na sliki sta prikazana odziva senzile na odklon v ekscitacijski smeri, in sicer z majhnim (**a**, kot odklona Φ je 0.1°) in velikim kotom odklona (**b**, kot odklona Φ je 8°). V obeh primerih sem lasek s konstantno hitrostjo v 10 ms odklonil do končne lege, ga tam zadržal 10 s ter nato odklonil z isto hitrostjo nazaj v izhodiščno lego. Proste parametre modela (τ_F , k_1 , k_2 , S , x_0 , K , τ_E , E_{\min} , τ_I , F_{\max} , I_{tr} , τ_A , c) sem določili s pomočjo optimizacijskega algoritma tako, da se je odziv modela (rdeča črta, oznaka v legendi mod.), kar najboljše ujema z realnim odzivom senzile (siva črta, oznaka exp.). Iz slike je razvidno, da model relativno uspešno napove odziv senzile na šibek dražljaj in pa izjemno uspešno na močan dražljaj. Vstavka na diagramih natančneje prikazujeta dinamični del odziva senzile ob začetnem odklonu laska in povratku v začetno lego. Na levem vstavku je prikazan tudi potek sile (F), s katero lasek deluje na ionske kanale, sprememba verjetnosti odprtega stanja kanalov (P), sprememba gonilne napetosti (E), ki poganja receptorski tok (I) ter časovni potek jakosti adaptacije generatorja živčnih impulzov.



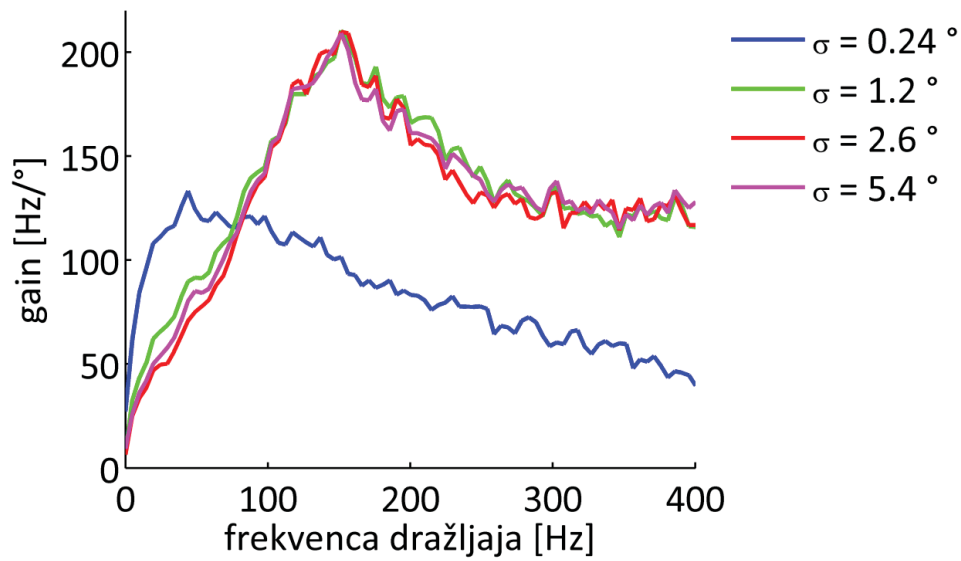
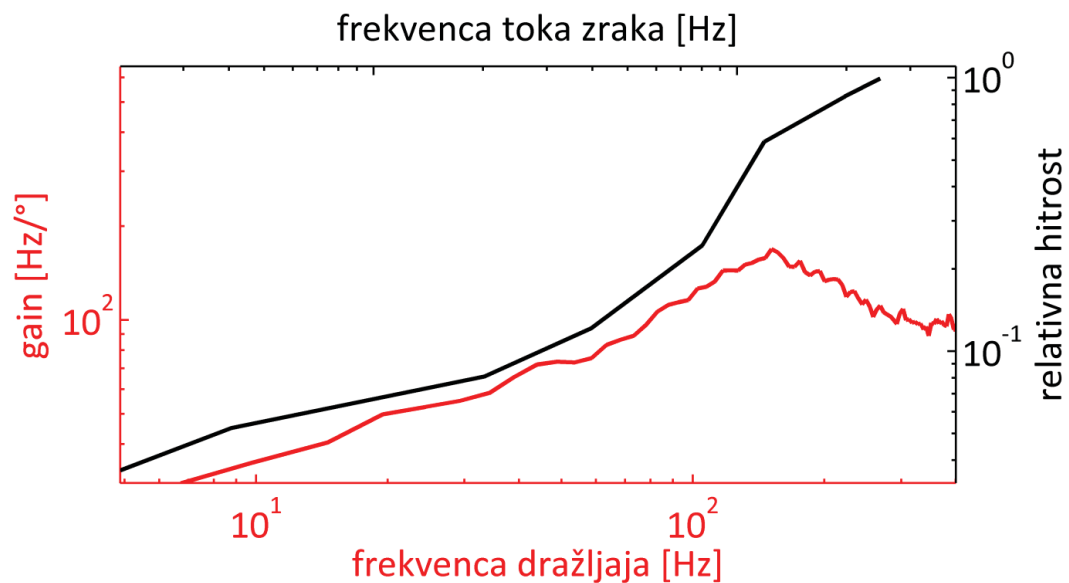
Slika 3: Odvisnost fazičnega (f_0 , rdeča črta, »onset response curve«) in toničnega odziva (f_{inf} , črna črta, »steady-state response curve«) senzile T_1 od kota odklona čutilnega laska pri realni (exp., neprekinjena črta, simboli označujejo posamezne meritve) in modelni senzili (mod., prekinjena črta). Fazični odziv sem definiriral kot maksimalno frekvenco živčnih impulzov, ki se sprožijo v fazi odklanjanja laska v smeri ekscitacijskega odziva, oziroma kot minimalno frekvenco v fazi odklanjanja laska v inhibicijski smeri. Tonični odziv sem definiriral kot frekvenco impulzov po 8 s, ko se frekvenca stabilizira. Ti dve krivulji sta pomembni za opredelitev odziva senzile, saj kažeta na njeno občutljivost in dinamični obseg odziva v primeru hitrih (fazični odziv) oziroma počasnih dražljajev (tonični odziv). Napoved modela se v primeru fazičnega odziva dobro ujema z eksperimentalnimi podatki, v primeru toničnega odziva pa so odstopanja večja. Kljub temu lahko ugotovimo, da modelna senzila z vidika občutljivosti in dinamičnega obsega odziva prepričljivo opisuje realno senzilo.

a**b**

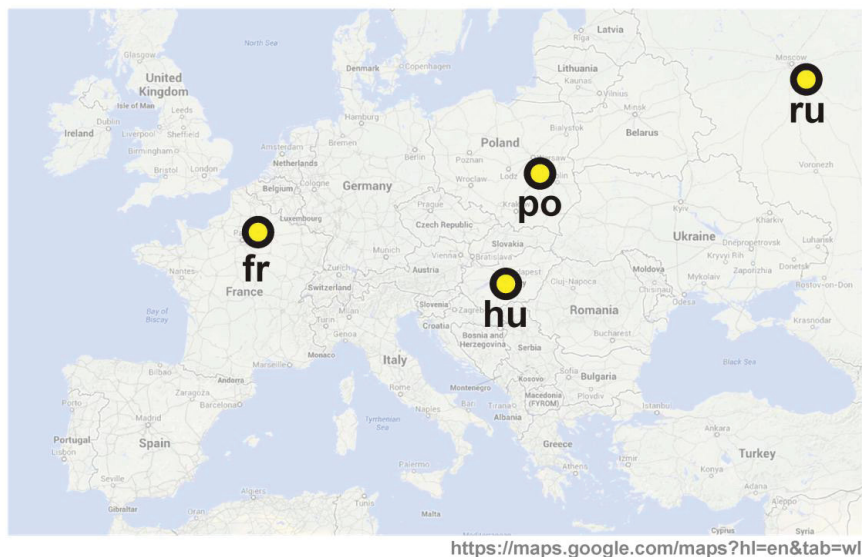
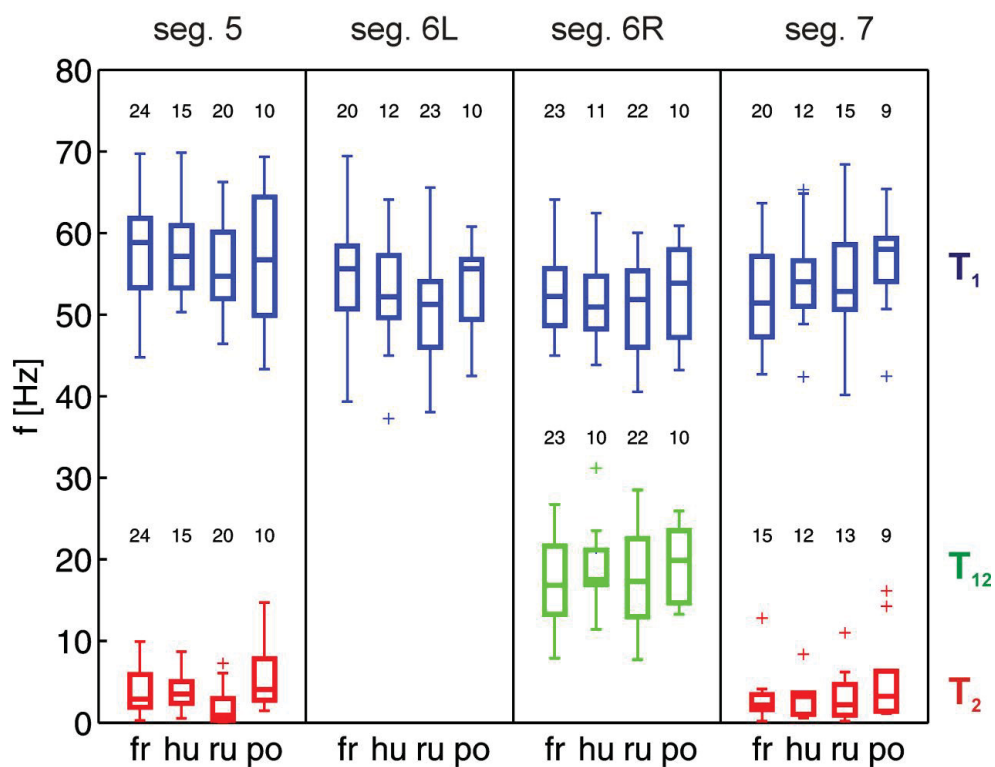
Slika 4: Hitrost oscilirajočega zračnega toka ob zadku stenice *P. apterus*. Zračni tok s frekvenco 100 Hz smo ustvarili s pomočjo zvočnika, in sicer vzdolž sagitalne (**a**) in transverzalne (**b**) osi živali. Hitrost toka smo izmerili z metodo piv (particle image velocimetry). Na sliki je hitrost barvno kodirana, in sicer rdeča predstavlja najvišjo vrednost. V sagitalnem zračnem toku je hitrost toka največja ob robovih zadka, kar se ujema s položajem lateralnih senzil. V transverzalnem toku je hitrost največja na mestu, kjer se nahajajo ventralne senzile. To kaže na optimizacijo položaja senzil glede na maksimalno hitrost zračnega toka. Pri tem velja omeniti, da longitudinalni tok (na sliki ni prikazan) verjetno ne igra večje vloge pri tej optimizaciji. Zaradi cilindrične oblike živali je namreč hitrost longitudinalnega toka, razen pri glavi in konici zadka, ob vseh delih zadka bolj ali manj enaka.



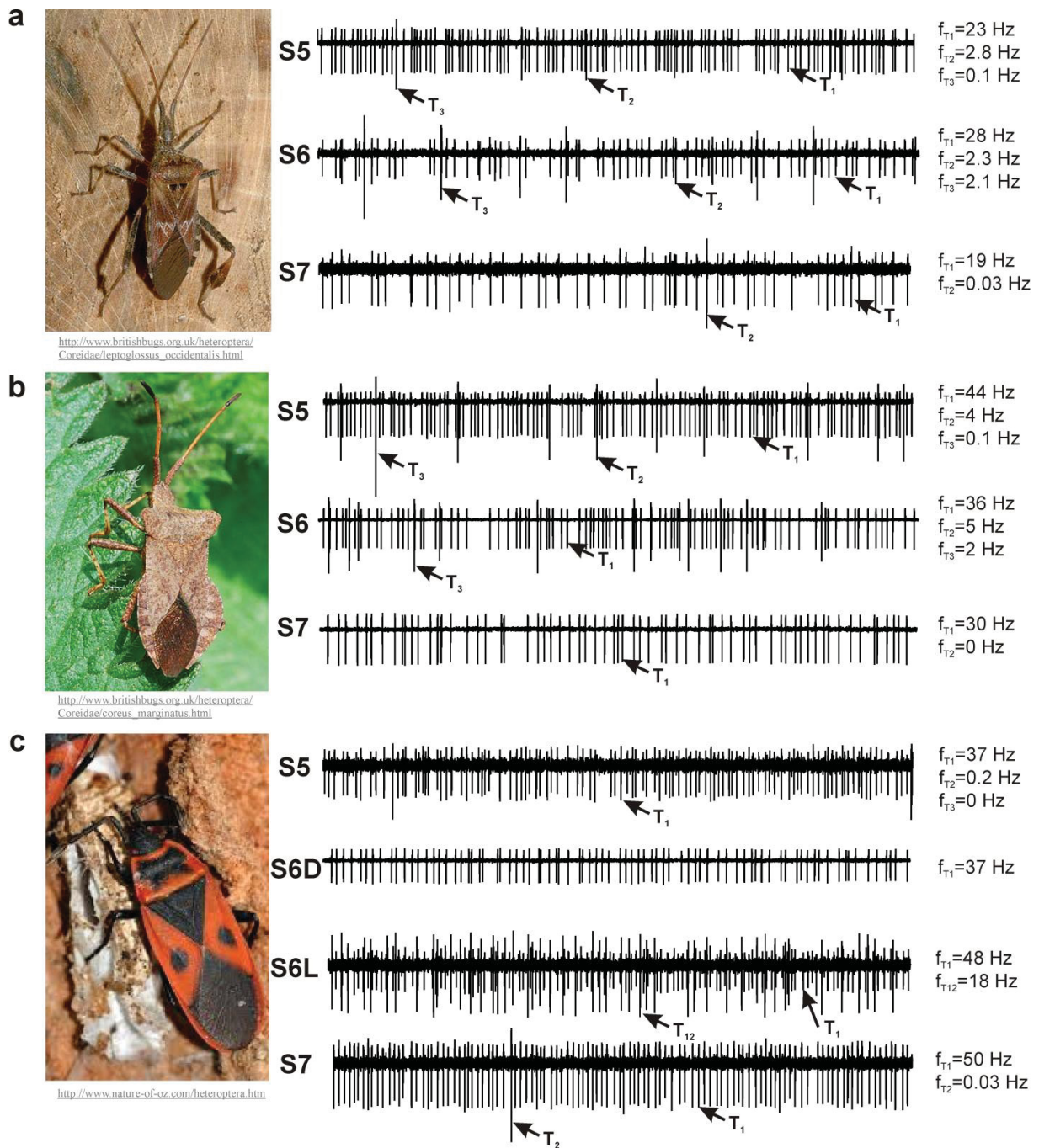
Slika 5: Frekvenčne lastnosti nihanja čutilnega laska senzile v oscilirajočem zračnem toku. Hitrostno polje zračnega toka, ki je bil usmerjen vzdolž longitudinalne osi živali, ter hitrost nihanja konice čutilnega laska smo izmerili pri različnih frekvencah toka v območju med 2 in 240 Hz. Vpliv mejne plasti zraka na prenos dražljaja smo določili tako, da smo izmerili razmerje med hitrostjo zračnega toka v bližnjem polju (tik ob lasku) ter daljnem polju (a). Vpliv intrinzičnih lastnosti laska (filterske lastnosti) na prenos dražljaja pa smo določili kot razmerje med hitrostjo nihanja konice laska in hitrostjo zračnega toka tik ob lasku (b). Na diagramu c je prikazana odvisnost obeh učinkov od frekvence zračnega toka. Razvidno je, da pri nizkih frekvencah prihaja do močnega zmanjšanja hitrosti zračnega toka tik ob lasku zaradi učinka mejne plasti. Ta učinek dodatno ojačijo mehanske lastnosti laska, zaradi katerih slednji bolj učinkovito sledi zračnemu toku z visoko frekvenco. Oba učinka skupaj delujeta kot visokofrekvenčni biomehanski filter, ki favorizira detekcijo zračnih tokov z visoko frekvenco.

a**b**

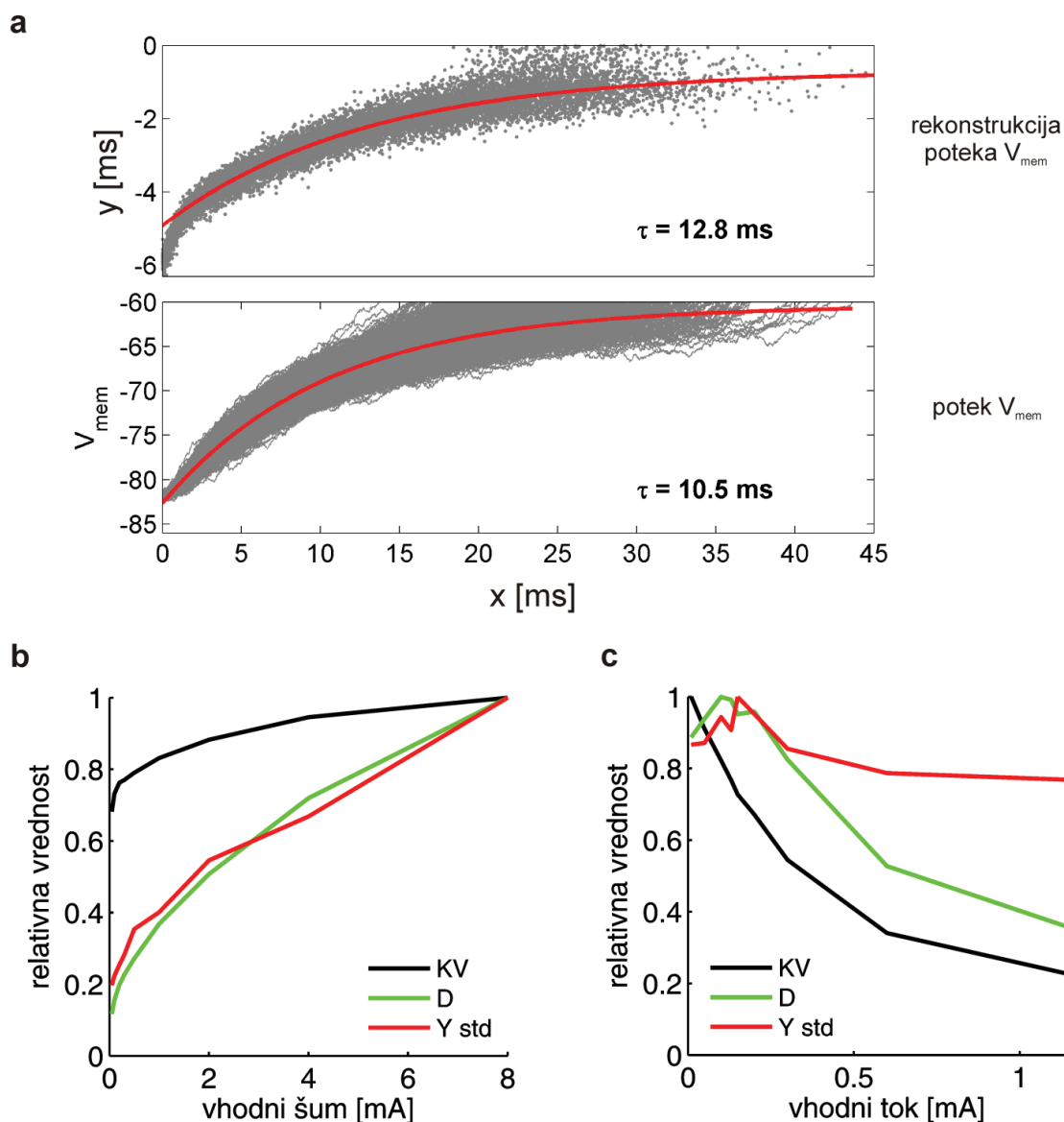
Slika 6: Prenosna funkcija odziva senzile T_1 . Prenosno funkcijo sem določil iz odziva senzile, ki sem ga izzval s šumom z enakomerno frekvenčno porazdelitvijo. Šum sem s pomočjo piezo-keramičnega stimulatorja aplicirali neposredno na lasek senzile. **a** Prenosne funkcije odziva senzile na dražljaj pri štirih različnih intenzitetah (t.j. različnimi variancami amplitude odklona laska σ). Ojačenje prenosne funkcije (gain) sem normaliziral glede na amplitudo dražljaja. Iz prenosnih funkcij je razvidno, da je odziv zmanjšan pri nizkih in visokih frekvencah. Pri dražljajih z visoko intenziteto odziv doseže vrh pri cca. 150 Hz, pri tistih z nižjo intenziteto pa pri nižjih frekvencah okoli 50 Hz. **b** Primerjava biomehanskega filtra senzile (črna črta) in prenosne funkcije odziva (rdeča črta) pa kaže, da je odziv prilagojen visokofrekvenčnim lastnostim biomehanskega filtra.

a**b**

Slika 7: Geografska distribucija spontane aktivnosti senzil stenice *P. apterus*. **a** Aktivnost sem registriral pri stenich, ki so bile ulovljene na lokacijah Tours (Francija, fr), Budimpešta (Madžarska, hu), Ryazan (Rusija, ru) in Lomna-Łas (Poljska, po). **b** Škatlasti diagrami prikazujejo porazdelitev frekvence spontano sproženih živčnih impulzov senzil znotraj posamezne populacije stenic (osrednja črta ustreza mediani, spodnji in zgornji rob škatle pa 1. in 3. kvartilu). Registriral sem spontano aktivnost senzil tipa T_1 , T_{12} in T_2 , ki se nahajajo v 4 skupinah na 5., 6. in 7. segmentu zadka. Nad škatlastimi diagrami so zapisana števila analiziranih senzil.



Slika 8: Spontana aktivnost filiformnih senzil pri treh vrstah stenic: **a** *Leptoglossus occidentalis* (Coreidae), **b** *Coreus marginatus* (Coreidae) in **c** *Scantius aegyptius* (Pyrrhocoridae). Na desni strani so posnetki spontano sproženih živčnih impulzov lateralnih senzil s 5., 6. in 7. člena zadka. Na vsakem členu se nahaja po ena skupina senzil (oznake S5, S6 in S7). Izjema je vrsta *S. aegyptius*, pri kateri se na 6. členu nahajata dve skupini, ki sem ju označili kot S6D in S6L. Ob vsakem posnetku so navedene posamezne senzile v skupini ter ustrezne frekvence živčnih impulzov.



Slika 9: Simulacija metode za rekonstrukcijo poteka membranskega potenciala, narejena s Traub-Milesovim modelnim nevrom. Metoda je primerna za nevrone, ki kontinuirano preživijo živčne impulze, temelji pa na stimulaciji nevrona s testnim dražljajem na različnih oddaljenostih (x) od naključnega živčnega impulza. Osnovna predpostavka je, da je latenca impulza (y), ki ga sprožimo s testnim dražljajem, sorazmerna z oddaljenostjo membranskega potenciala (V_{mem}) od praga za sprožitev impulza. Ker se z naraščanjem x V_{mem} približuje pragu, se y skrajšuje. **a** Potek membranskega potenciala med dvema živčnima impulzoma (spodnji diagram, prikazanih je več sto simulacij poteka) in rekonstrukcija poteka (zgornji diagram). Primerljive časovne konstante potrjujejo, da je z metodo mogoče rekonstruirati časovni potek membranskega potenciala. **b**, **c** Odvisnost relativne vrednosti standardne deviacije y od šuma (**a**) in povprečne vrednosti (**b**) vhodnega toka v modelni nevrom. Standardna deviacija y je odvisna od šuma vhodnega toka, je pa v primerjavi s koeficientom variacije (KV) in stopnjo šuma (D), ki ju določimo iz distribucije intervalov med impulzi, bistveno manj odvisna od povprečne intenzitete vhodnega toka.