

3.1. Ergebnisse der Sensitisierungsexperimente

Das Sensitisierungsexperiment diente dazu, ein neuronales Korrelat für die Verhaltensreaktion zu finden, die Bienen nach einer Sensitisierung mit Zuckerwasser zeigen. Es handelt sich dabei um eine erhöhte Wahrscheinlichkeit auf einen Duft hin den Rüssel auszustrecken. Es wurden zum einen Verhaltensexperimente durchgeführt und zum anderen wurden diese Experimente ebenso bei gleichzeitiger optischer Registrierung der Kalziumsignale im Antennallobus durchgeführt.

Abbildung 3 zeigt die duft-induzierten PER's für drei verschiedene Testgruppen (ursprünglich, neu und 1xkonditioniert). Die Daten für die Gruppen „ursprünglich“ und „1xkonditioniert“ wurden von Menzel (1990) übernommen. Die Daten für die Gruppe

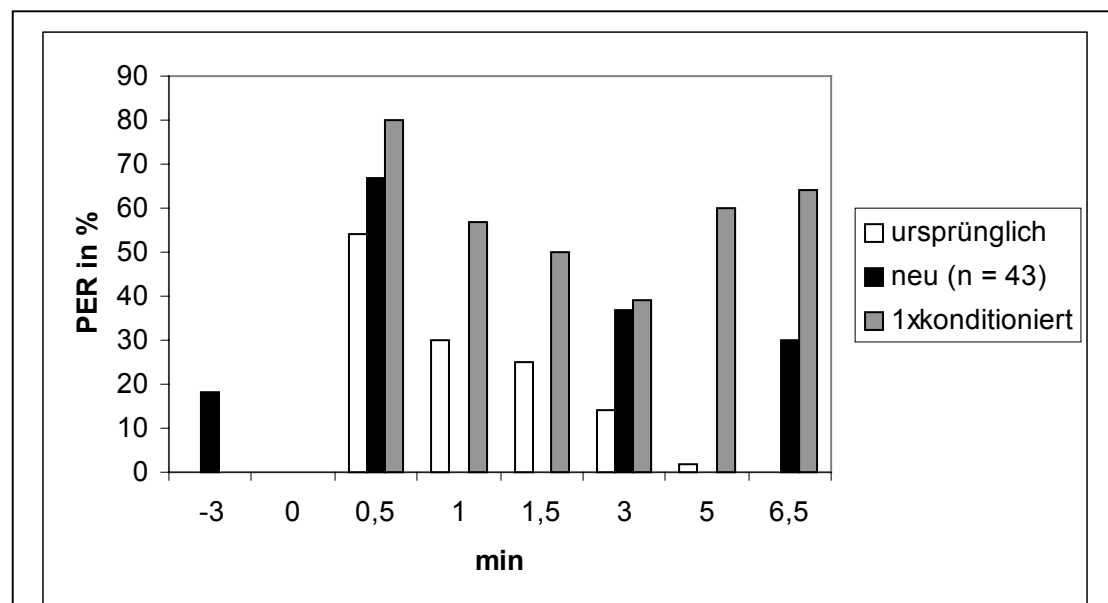


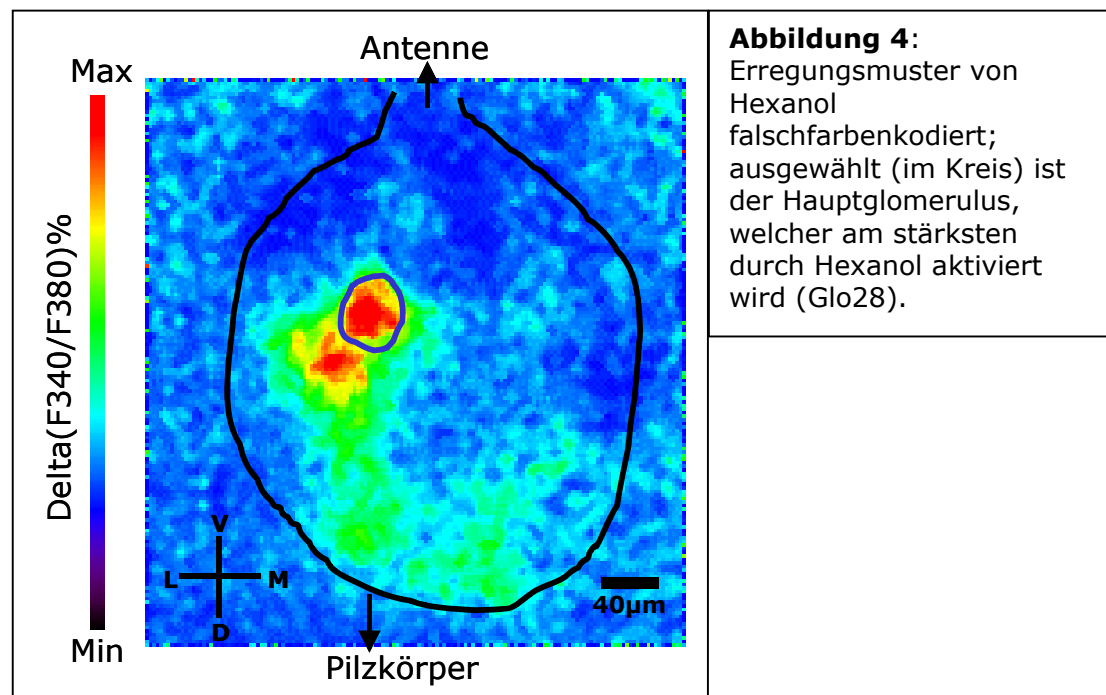
Abbildung 3:

Duftinduzierte PER's zu verschiedenen Zeitpunkten für verschiedene Gruppen („ursprünglich“, „neu“ und „1xkonditioniert“); bei 0 entweder Sensitisierung oder einmalige Konditionierung; die Gruppen „ursprünglich“ und „1xkonditioniert“ bestehen in den einzelnen Punkten aus unterschiedlichen Tieren; in der Gruppe „neu“ wurde das Verhalten zu jedem angegebenen Zeitpunkt getestet.

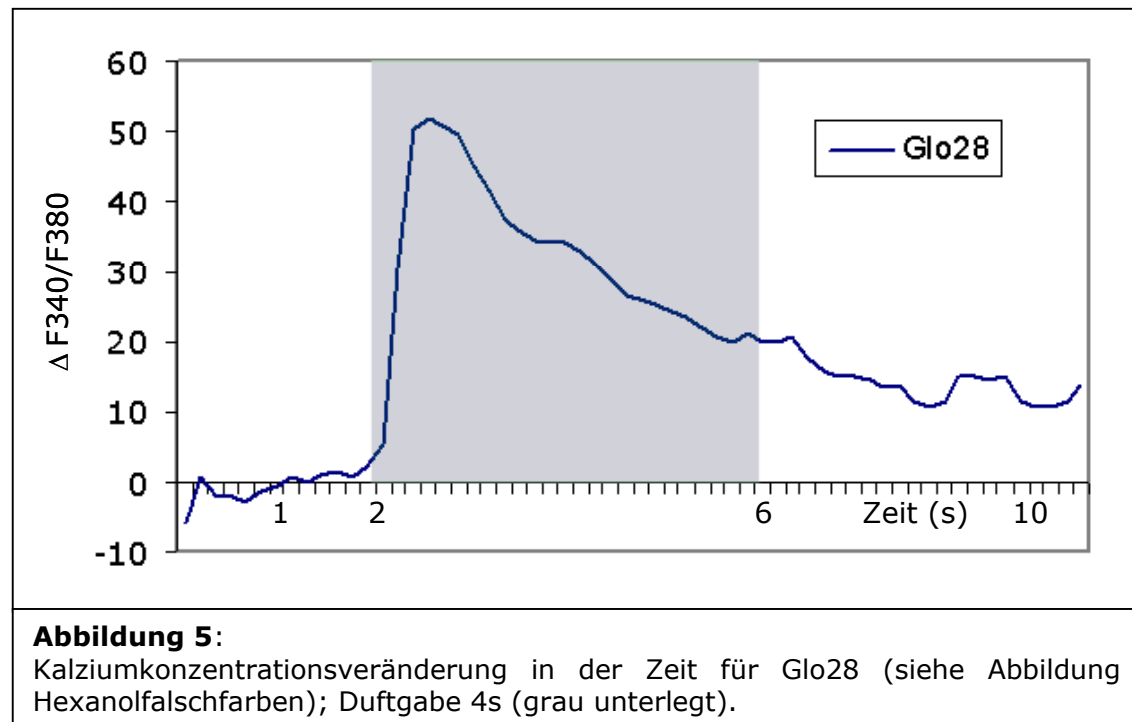
„neu“ wurden im Rahmen dieser Arbeit erworben. Es muss berücksichtigt werden, dass es sich bei den einzelnen Punkten in

den Gruppen „ursprünglich“ und „1xkonditioniert“ jeweils um verschiedene Tiere handelt. Zum Zeitpunkt 0 erfolgte für die Gruppen „ursprünglich“ und „neu“ eine Sensitisierung mit Zuckerwasser, für die Gruppe „1xkonditioniert“ erfolgte eine einmalige Paarung von Duft mit Zuckerwasser. Lediglich die Gruppe „neu“ erhielt 3 Minuten vor der Sensitisierung eine Duftpräsentation. Man erkennt, dass die Tiere aus der Gruppe „1xkonditioniert“ am längsten und am häufigsten den Rüsselreflex zeigen. Im Vergleich zwischen den Gruppen „neu“ und „ursprünglich“ zeigt sich, dass die Tiere der Gruppe „neu“ länger und häufiger PER zeigen als die Tiere der Gruppe „ursprünglich“, aber nicht so lang und häufig wie die Tiere aus der Gruppe „1xkonditioniert“.

Um die neuronalen Grundlagen für die duft-induzierten PER's nach der Sensitisierung für die Gruppe „neu“ zu verstehen, wurden die Duftantworten im Antennallobus zu den entsprechenden Zeitpunkten optisch registriert. Abbildung 4 zeigt das Duftmuster für Hexanol. Ausgewählt für die weitere Analyse wurde der



mit der stärksten Antwort (Kreis, in diesem Fall Glomerulus 28). Abbildung 5 stellt den zeitlichen Verlauf der Kalziumkonzentration während der Messung für die angegebene Region dar. Man erkennt den deutlichen und schnellen Anstieg von Kalzium zu Beginn der Duftstimulation (grau unterlegt) und die spätere Abnahme. Aus diesen Zeitverläufen wurde für die



anschließende Analyse das Maximum extrahiert. Abbildung 6 zeigt die Mittelwerte der auf den ersten Maximalwert normierten Maxima. Man beachte, dass bereits bei der ersten Duftgabe nach der Sensibilisierung (beziehungsweise bei der zweiten Duftgabe bei den Kontrolltieren) die Tiere der Sensibilisierungsgruppe den Duft signifikant stärker beantworten als nicht sensibilisierte Tiere ($p = 0,003$, ANOVA). Diese Beobachtung trifft auch auf die zwei weiteren Messpunkte zu.

Während die sichtbare Abnahme der Mittelwerte der Maxima bei den Kontrolltieren zu keinem Zeitpunkt signifikant gegenüber dem Ausgangswert ist, verhält es sich bei den sensibilisierten Tieren anders. Die Mittelwerte der Maxima des dritten und des vierten

Messpunktes liegen signifikant höher als der Ausgangswert ($p = 0,0115$ bzw. $0,0016$ respektive, ANOVA).

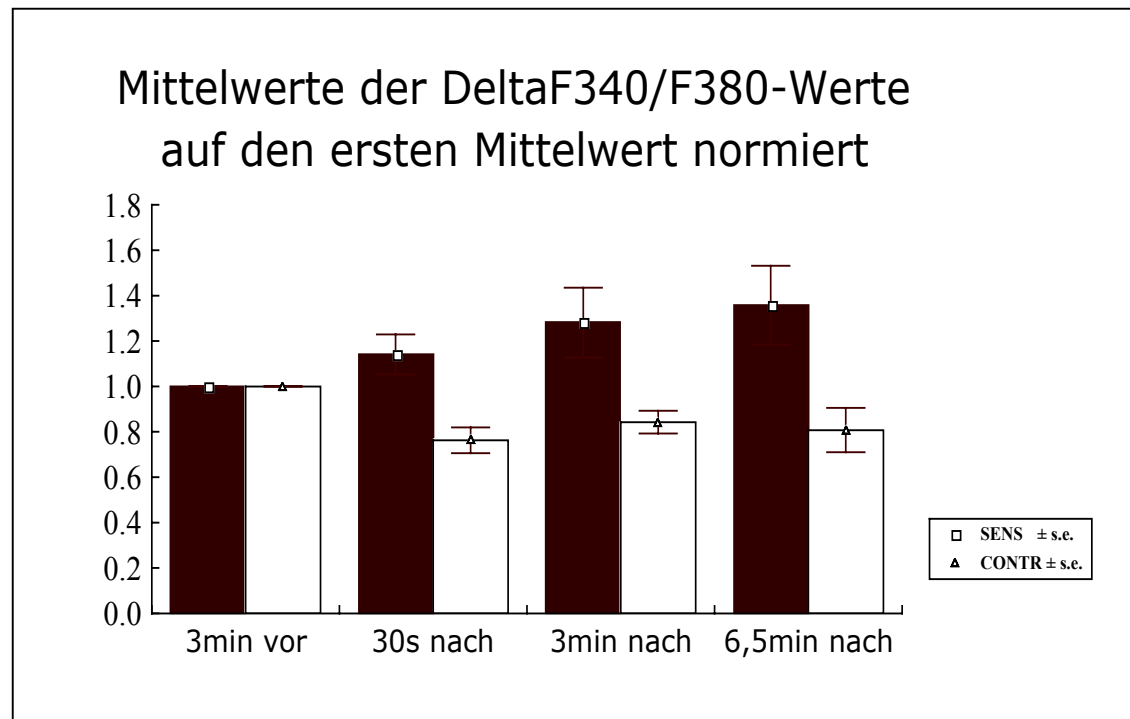


Abbildung 6:

Mittelwerte der $\Delta F_{340}/F_{380}$ -Werte auf den ersten Wert normiert für die zwei Gruppen (Sens ($n=11$) und Contr ($n=7$)); zeitlicher Verlauf wie in Abbildung Senstrial; signifikante Veränderungen (ANOVA, $p < 0,05$) zwischen allen Wertepaaren Sens-Kontr nach der Sensitisierung; außerdem zwischen den Wertepaaren Sens(3min vor)-Sens(3min nach) bzw. Sens(6,5min nach).

Eine mehrmalige Sensitisierung, also mehrmaliges Berühren der Antenne mit Zuckerwasser, zeigte keine Effekte auf die Maxima (Daten nicht gezeigt), was nach den Verhaltensdaten von Menzel (1990) auch nicht zu erwarten war. Menzel konnte zeigen, dass einmaliges Sensitisieren denselben Effekt hat wie dreimaliges.

3.2. Ergebnisse zur Untersuchung der Spontanaktivität

Die Untersuchung der Spontanaktivität beschäftigte sich nicht mit der unmittelbaren neuronalen Aktivität auf einen Stimulus (Duft). Es sollte vielmehr untersucht werden, was im Antennallobus vor sich geht, wenn das Tier nicht stimuliert wird und keine offensichtliche Reaktion zeigt. Dafür waren Messungen nötig, die sich über einen langen Zeitraum erstreckten (bis zu insgesamt 4 Minuten). Es sollte geprüft werden, ob sich die spontanen Kalziumfluktuationen in und zwischen den Glomeruli aufgrund eines Duftstimulus' ändern. Möglicherweise würde dieser Stimulus in einer Art sensorischem Gedächtnis im Antennallobus festgehalten werden. Dabei könnte die gleichzeitige Aktivierung der Glomeruli während des Stimulus' die Korrelation im Antennallobus erhöhen.

In Abbildung 7 sind die Mittelwerte der Korrelationsmatrizen für verschiedene Tiere zu sehen. Die Mehrheit der Wertepaare „vorher/nachher“ zeigt hierbei eine Abnahme.

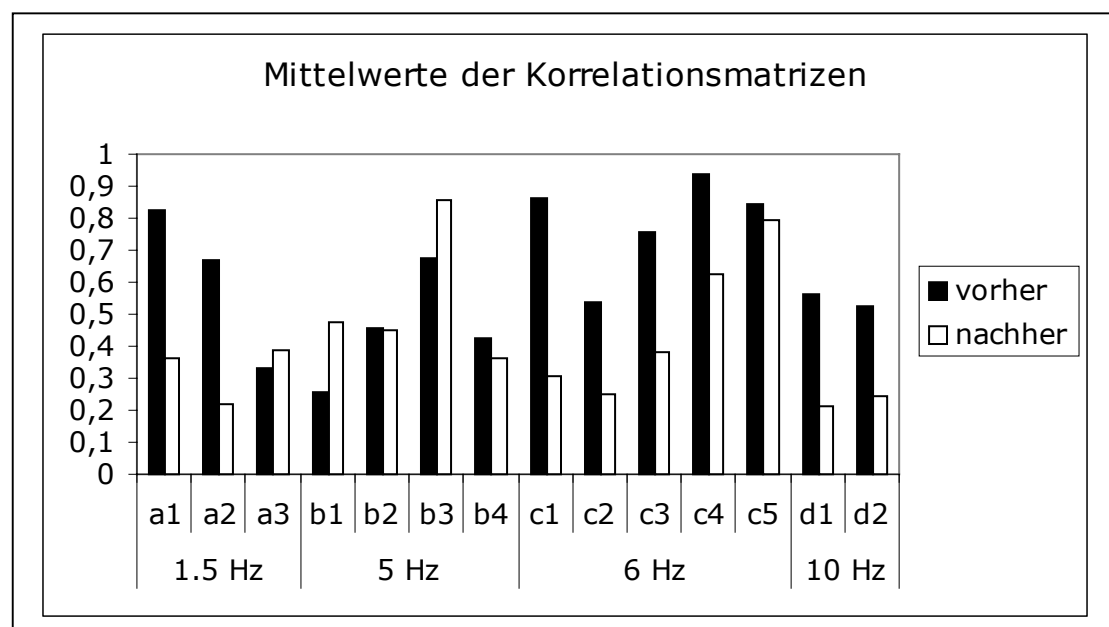


Abbildung 7:

Mittelwerte der Korrelationsmatrizen für verschiedene Tiere (a1 bis d2) und verschiedene Messfrequenzen ermittelt vor und nach der Duftpräsentation; in 8 von 14 Fällen ist die Abnahme signifikant (t-test, gepaart, $p < 0,05$).

Einzig die mit 5 Hz gemessenen Tiere zeigten keinen deutlichen Trend. Dass die Korrelation, als Zeichen einer nach der Duftstimulation häufiger auftretenden gleichzeitigen Aktivierung duftrelevanter Glomeruli, zunehmen könnte, trifft zumindest bei der Betrachtung der Mittelwerte nicht zu.

Ähnlich verhält es sich bei der Hauptkomponentenanalyse (Abb. 8). Es sollte geprüft werden, ob die Duftstimulation die sich möglicherweise gebildeten Cluster verändert. Hauptaugenmerk lag dabei auf den Glomeruli, die das Duftmuster hauptsächlich tragen und ob sie möglicherweise ein Cluster bilden, welches nach der Duftstimulation seine Position in der Ebene der ersten beiden Hauptkomponenten verändert. Dies hätte als Anhaltspunkt dafür

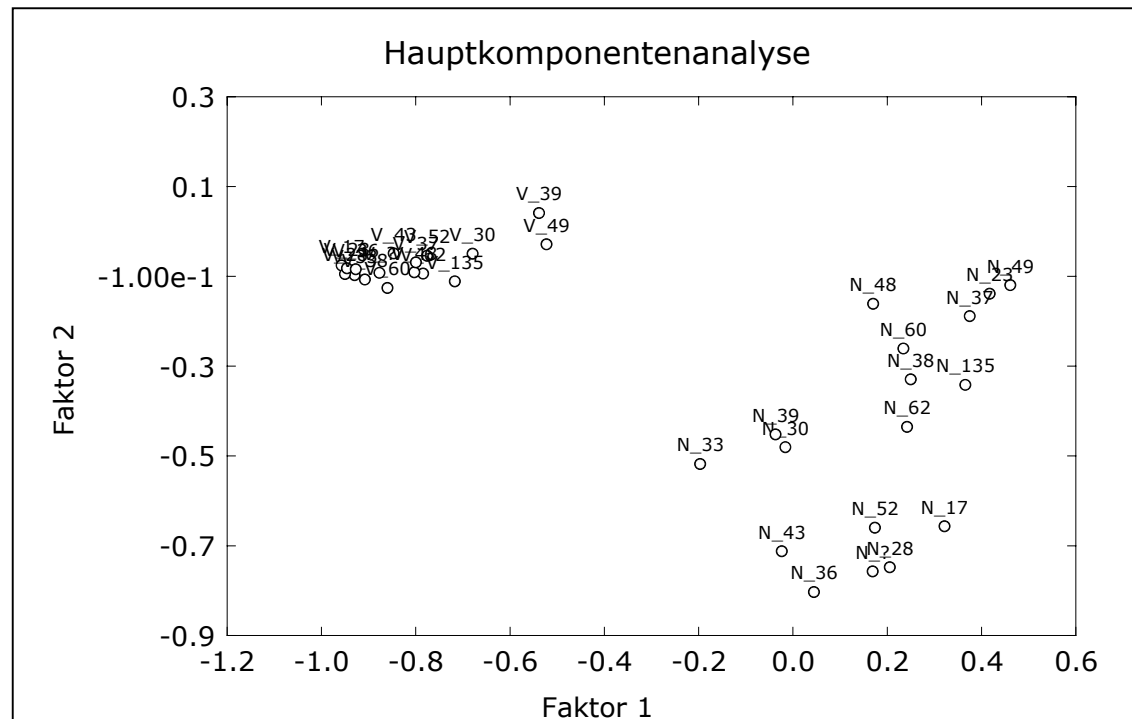


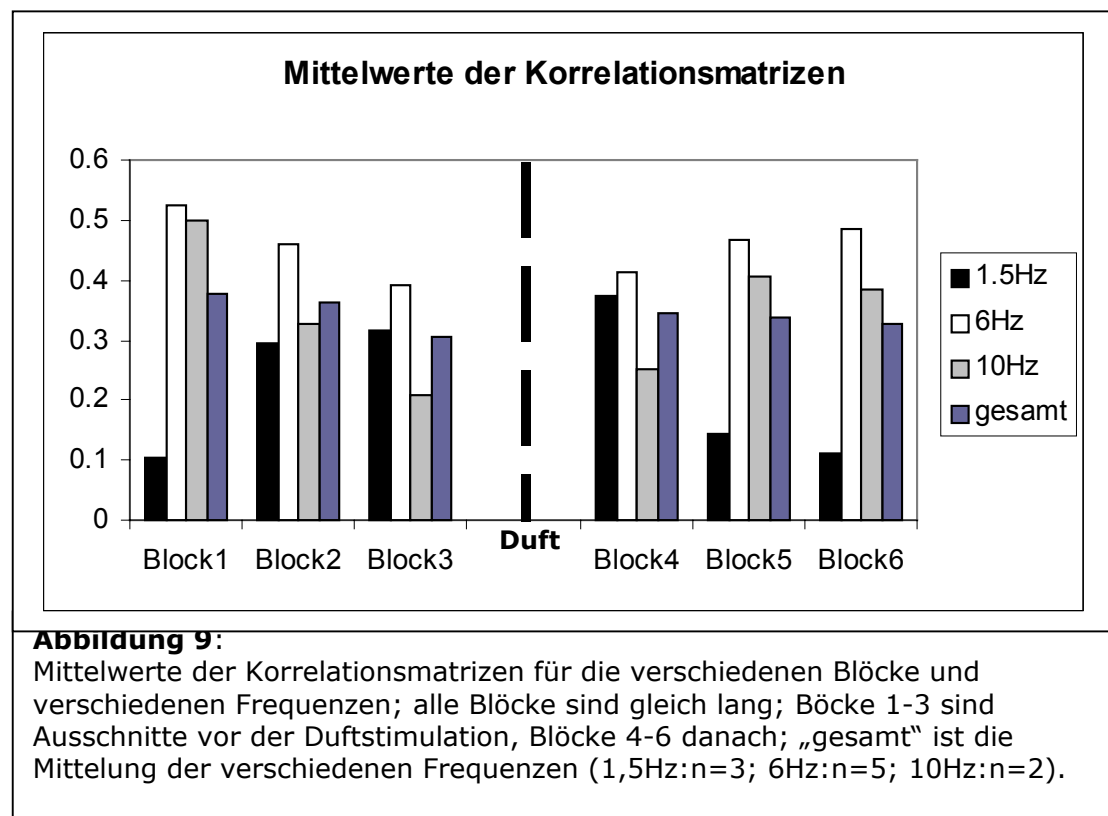
Abbildung 8:

Lage der verschiedenen Glomeruli eines Tieres in der Ebene aufgespannt durch die ersten beiden Hauptkomponenten; „v“ bezeichnet die Lage der Glomeruli vor der Duftstimulation, „n“ danach; die Zahl dahinter bezeichnet den Namen des Glomerulus.

dienen können, dass die durch den Duft hervorgerufenen Veränderungen vor allem die Hauptglomeruli betreffen und nicht den gesamten Antennallobus. Abbildung 8 zeigt exemplarisch wie die Glomeruli ihre Lage in der Ebene, die durch die ersten beiden

Hauptkomponenten aufgespannt wird, nach der Duftpräsentation verändern. Diese Veränderung war bei allen 14 Tieren zu beobachten und auch die mit 5 Hz gemessenen Tiere bildeten hier keine Ausnahme. Die Veränderungen waren zwar nicht bei allen Tieren derart deutlich, jedoch konnten stets zwei Cluster unterschieden werden. Ein Cluster, welcher aus den Hauptglomeruli bestand und nach der Duftstimulation seine Position veränderte wurde nicht gefunden. Ein weiterer Aspekt, der nicht immer so klar zu erkennen war wie in Abbildung 8, waren die dicht beieinander liegenden Glomeruli vor dem Duft und die größere Streuung danach. Da keine Statistik mit den Hauptkomponenten durchgeführt wurde, bleibt dies lediglich als Beobachtung festzuhalten.

Um zu überprüfen, ob die Abnahme in der paarweisen Korrelation eventuell eine Verschlechterung in der optischen Registrierung widerspiegelt, wurden die Abschnitte vor und nach der Duftstimulation in drei Blöcke geteilt. Eine Abnahme hätte in diesem Fall stetig über alle Blöcke verlaufen müssen. Abbildung 9 bestätigt diese Annahme nicht. Weder für die verschiedenen



Frequenzen noch für alle Frequenzen zusammen (gesamt) ließ sich eine kontinuierliche Abnahme innerhalb der Korrelationsmatrizen feststellen.

Somit musste eine weitere Analyse unternommen werden, um zu verstehen, warum die gemittelte paarweise Korrelation abnimmt. Es sollte untersucht werden, ob möglicherweise die Aktivität der Glomeruli abnimmt. Hierfür wurden nun nicht mehr die Zeitspuren als solches verwendet, sondern nur noch die Events (spontane Aktivität eines Glomerulus, siehe Material und Methoden; Abb. 10). Zunächst wurde die Anzahl aller Events aller

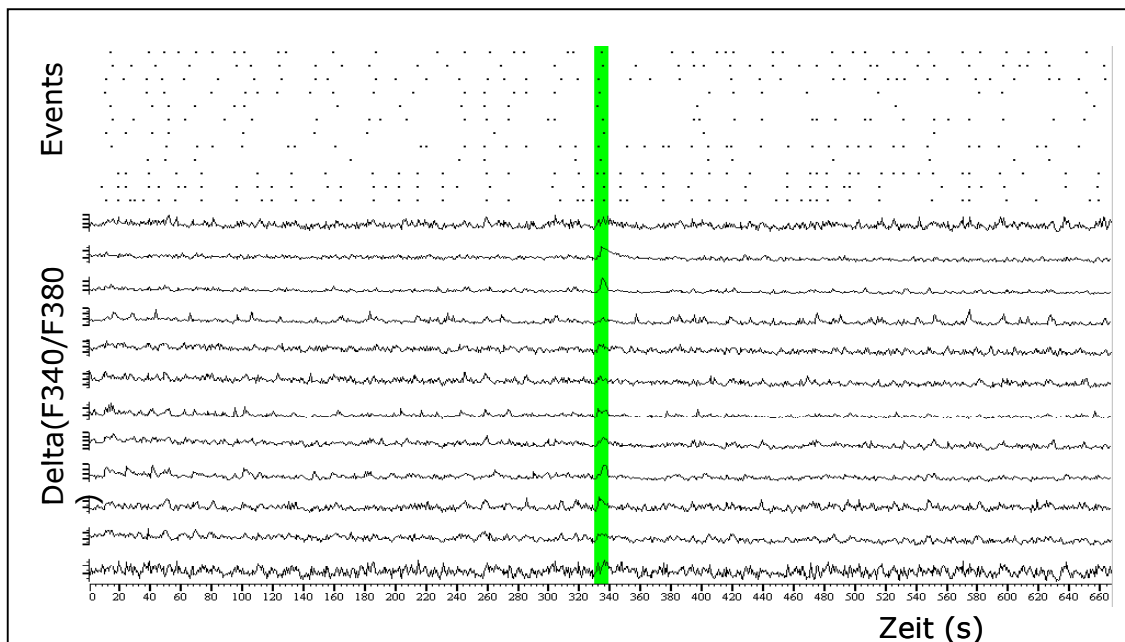
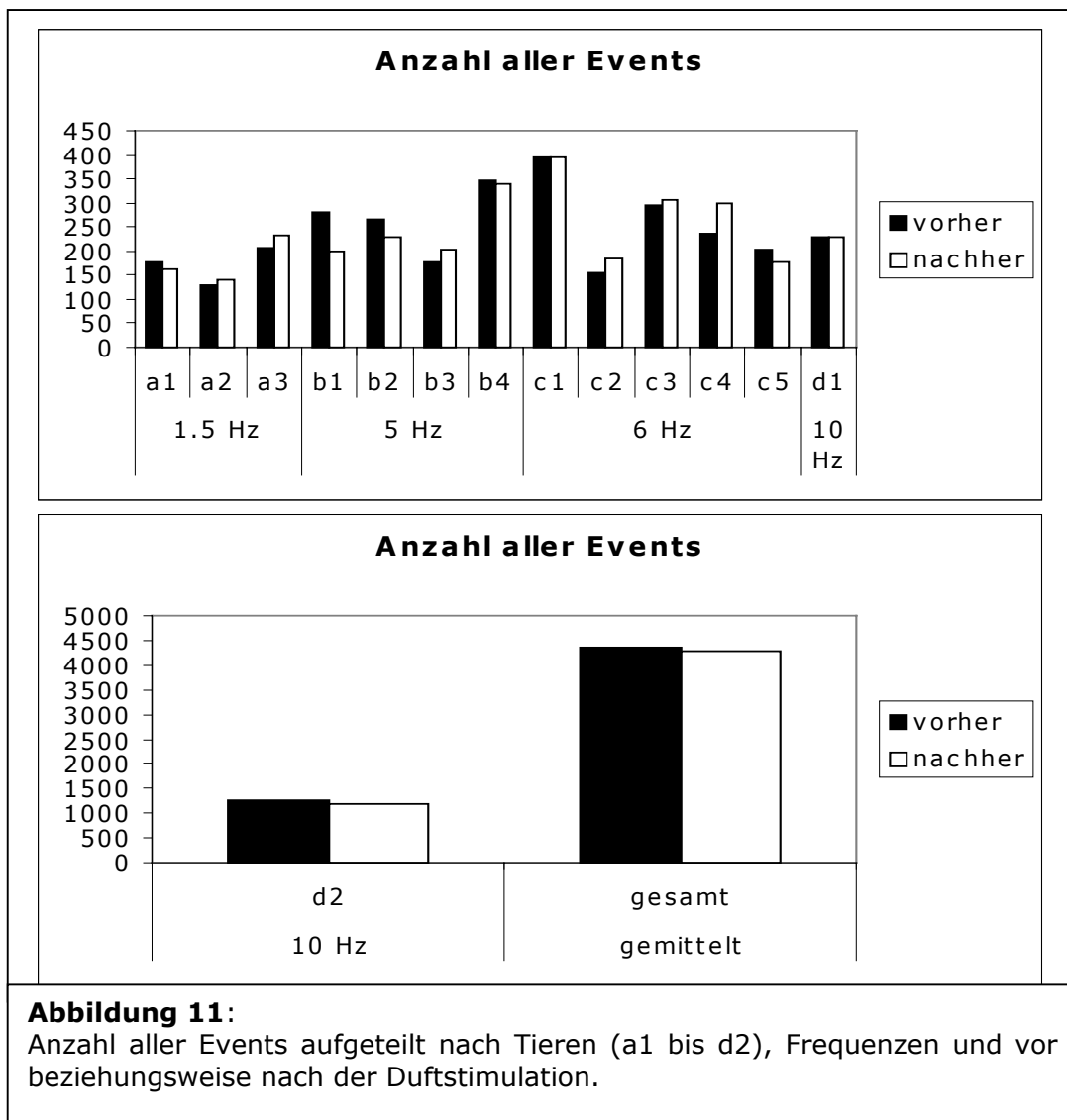


Abbildung 10:

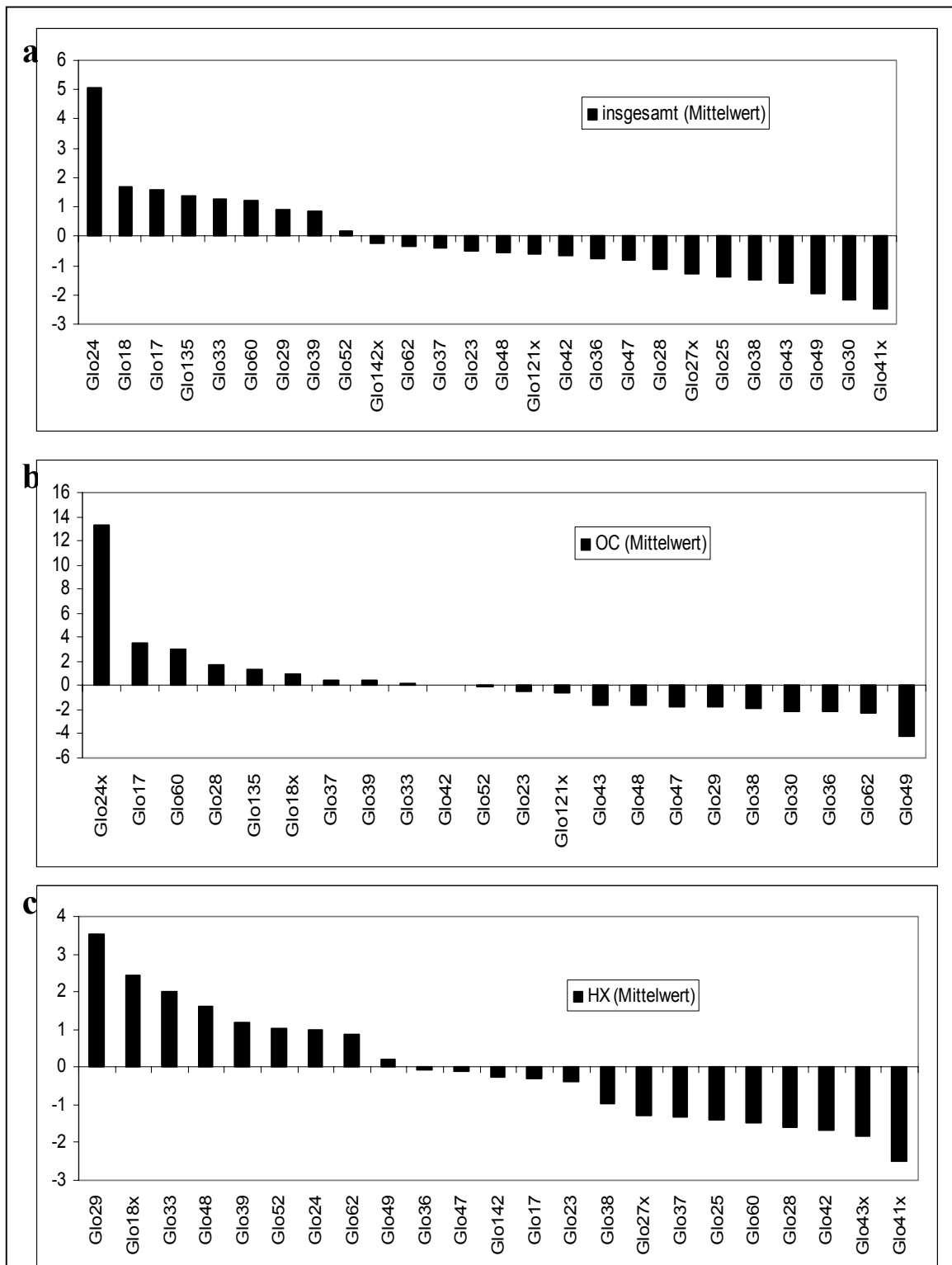
Die unteren Spuren stellen die Veränderungen der Kalziumkonzentration verschiedener Glomeruli über die Zeit dar, darüber stellen die einzelnen Punkte extrahierte Events (siehe Material und Methoden) dar; der grüne Balken zeigt den Duftstimulus an.

Glomeruli vor und nach der Duftstimulation ermittelt. Abbildung 11 zeigt die Verteilung der Events vor und nach der Duftgabe. Anders als beim Vorher-Nachher-Vergleich der Mittelwerte der Korrelationsmatrizen konnte hier keine Abnahme bei der Mehrheit Wertepaare „vorher/nachher“ festgestellt werden. Die mit 5 Hz gemessenen Tiere bildeten in diesem Fall keine Ausnahme.

**Abbildung 11:**

Anzahl aller Events aufgeteilt nach Tieren (a1 bis d2), Frequenzen und vor beziehungsweise nach der Duftstimulation.

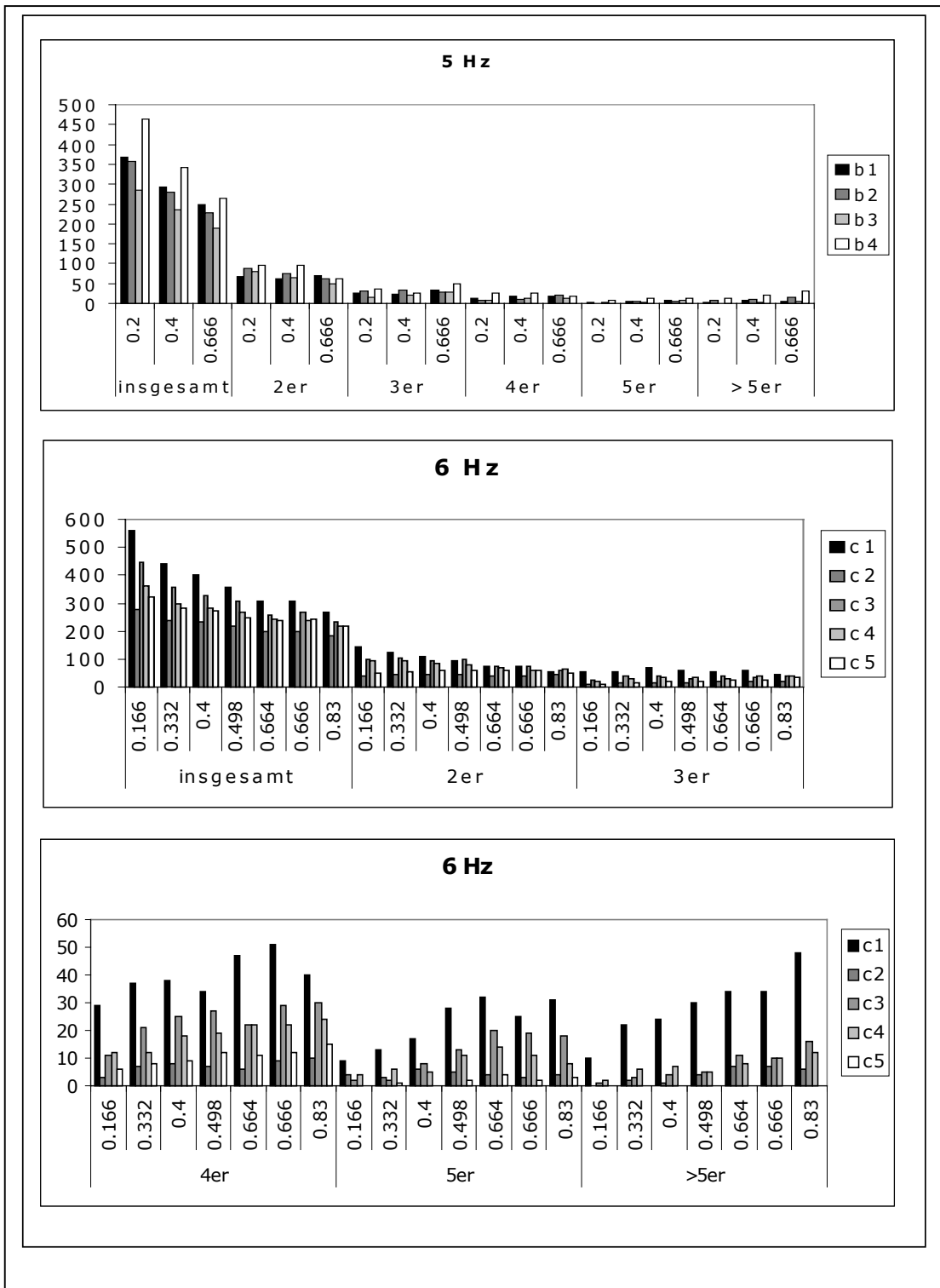
Im nächsten Schritt wurde die Verteilung der Events für die Hexanol- und Octanolstimulationen auf einzelne Glomeruli bezogen. Hierbei wurde allerdings nicht die Anzahl der Events berücksichtigt, sondern das Verhältnis der Events eines Glomeruli zur Gesamtheit aller Events und zwar als Differenz vor und nach der Duftpräsentation (siehe Material und Methoden). Dadurch sollte festgestellt werden, welchen Anteil jeder Glomerulus an der Gesamtaktivität hat und ob vor allem Glomeruli, die das Duftmuster bilden, einen Hauptanteil stellen. Abbildung 12a zeigt, dass sich unter den ersten drei Glomeruli, welche nach der Duftpräsentation eine höhere Aktivität im Verhältnis zur Gesamtaktivität zeigten, zwei Glomeruli befinden, die zum Duftmuster des präsentierten Duftes gehören (Glo24 und Glo17 gehören beide zum Muster von

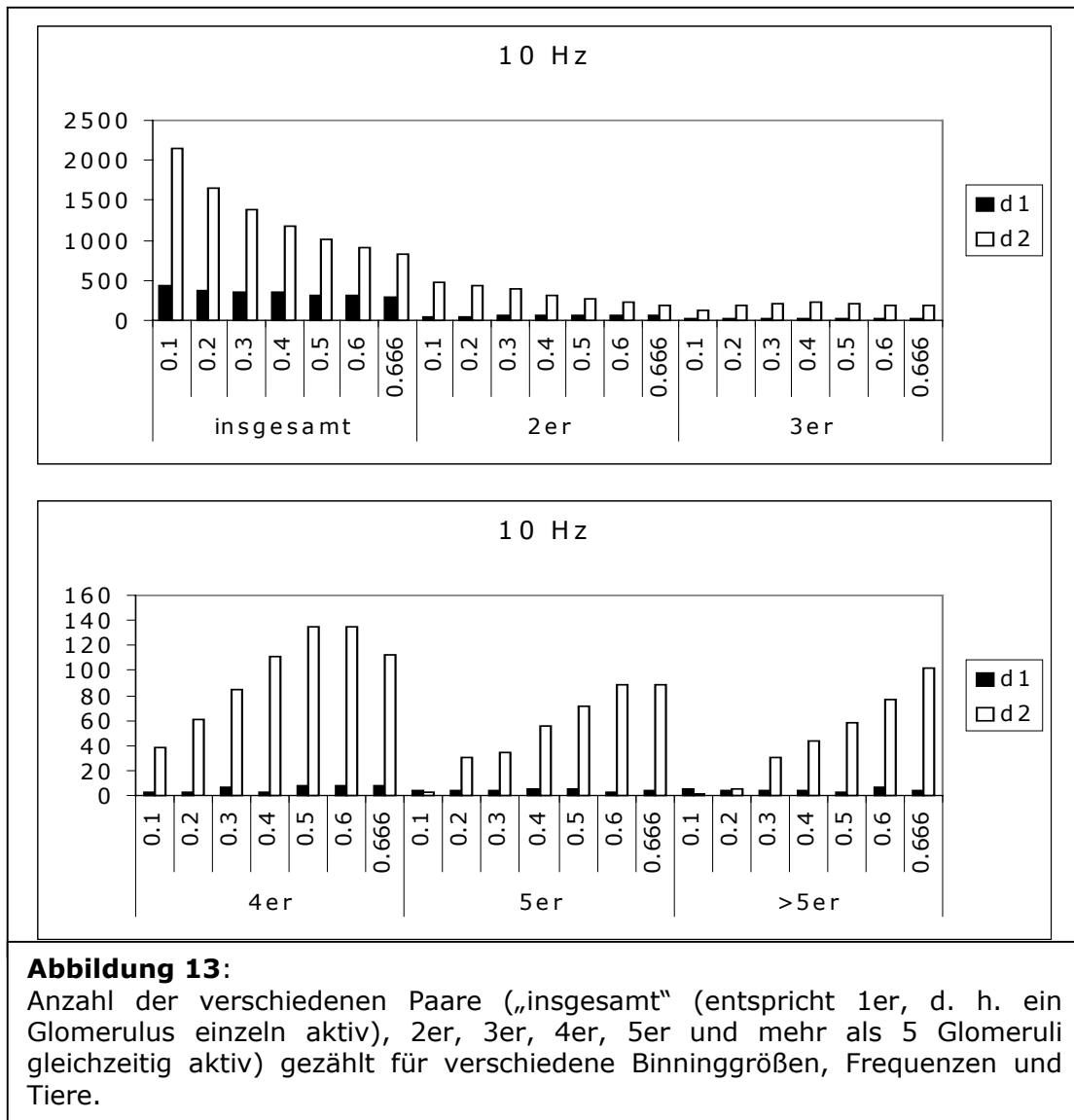
**Abbildung 12:**

a: Anzahl der Events für die einzelnen Glomeruli (x-Achse) über die Tiere (n = 12) gemittelt, welche mit Hexanol oder Octanol stimuliert wurden; x nach dem Glomeruliname bedeutet, dass dieser Wert von nur einem Tier stammt.
 b und c: Anzahl der Events für die einzelnen Glomeruli (x-Achse) über die Tiere gemittelt, welche entweder mit Octanol (b, n = 6) oder Hexanol (c, n = 6) stimuliert wurden; „x“ nach dem Glomeruliname bedeutet, dass dieser Wert von nur einem Tier stammt.

Octanol und Hexanol). In dieser Abbildung sind die Tiere der Octanol- und Hexanolstimulation zusammen dargestellt. Die folgenden beiden Abbildungen (12b und c) zeigen die beiden Düfte getrennt. Es fällt auf, dass sich zum einen die Glomeruli, welche die stärkste Veränderung zeigen, zwischen den Düften unterscheiden. Zum anderen finden sich nur bei Octanol unter den ersten vier Glomeruli, welche nach der Duftpräsentation eine höhere Aktivität im Verhältnis zur Gesamtaktivität zeigten, auch für Octanol duftspezifische Glomeruli (Glo17, Glo28 und Glo24). Tiere, die mit Hexanol stimuliert wurden, zeigten keine deutliche Veränderung, das heißt es wurde keine erhöhte Aktivität in den zuvor mit dem Duft aktivierten Glomeruli gefunden.

Die nächste Untersuchung sollte prüfen, ob Glomeruli nach der Stimulation häufiger einzeln oder in Paaren (2er, 3er, 4er Paar, das heißt zum Beispiel Glo17+Glo"x" bilden ein 2er Paar, Glo17+Glo"x"+Glo"y" bilden ein 3er Paar usw.) aktiv sind. So könnte möglicherweise gezeigt werden, dass Duftglomeruli häufiger einzeln aktiviert werden beziehungsweise häufiger bei der Aktivierung von Paaren beteiligt sind. Bei den Paaren spielte es keine Rolle mit welchem anderen Glomerulus er zusammen aktiviert wurde. Die Idee war es zu zeigen, dass wenn Glomeruli nach der Duftstimulation aktiviert werden überwiegend häufig auch ein Duftglomerulus beteiligt ist. Für diese Untersuchung war es zunächst nötig, gleichzeitige Events zu finden. Dafür wurde ein Binningfenster über die Eventspuren (in Abb. 10 die oberen Spuren) laufen gelassen (die Fenster liegen direkt nebeneinander, es kommt zu keiner Überlappung, die Größe des Fensters entspricht der Binninggröße) und dabei in jedem Fenster zu jedem Zeitpunkt die auftretenden Events extrahiert und sie jeweils den Glomeruli zugeordnet. Somit konnte festgestellt werden, welche Glomeruli gleichzeitig aktiv waren. Die Abbildung 13 zeigt für die unterschiedlichen Frequenzen wie viele Events bei den





Binnings für die verschiedenen Paare gezählt wurden. Für Tiere, die mit 1,5 Hz (entspricht alle 666ms ein Bild) gemessen wurden, wurde für das Gleichzeitigkeitskriterium ein Binning von 666ms (0,6) gewählt. Diese Frequenz ist in Abbildung 13 nicht vertreten, weil hier die Frage nach dem richtigen Binning nicht untersucht werden musste. Ein niedrigeres Binning hätte unter der Messfrequenz gelegen, ein höheres Binning hätte mit über 1 Sekunden gegen das Gleichzeitigkeitskriterium verstoßen. Für alle weiteren Tiere wurde das 400ms Binning als am angemessensten erachtet.

Die Abbildungen 14 und 15 zeigen die Ergebnisse der Auszählung für die mit 1,5 Hz gemessenen Tiere (0,6 Binning, zwei Hexanoltiere, ein Octanoltier) und für Tiere, die mit dem 0,4er Binning ausgewertet wurden (vier Hexanoltiere, fünf Octanoltiere). Die Daten sind jeweils nach „einzeln“ absteigend sortiert. Die drei Tiere in Abbildung 14 weisen unter den ersten vier Glomeruli drei duftspezifische Glomeruli (Glo52, Glo17, Glo33) auf, wobei einschränkenderweise gesagt werden muss, dass Glo33 nicht zum Hexanolmuster gehört und zwei der drei Tiere Hexanol als Duftstimulus erfuhren. Die drei genannten Glomeruli weisen (neben Glo60) als einzige in allen drei Kategorien (einzeln, 2er, 3er) ein positives Verhältnis auf. Das heißt ihr Anteil an der Gesamtaktivität stieg nach der Duftpräsentation stärker an als der der anderen Glomeruli.

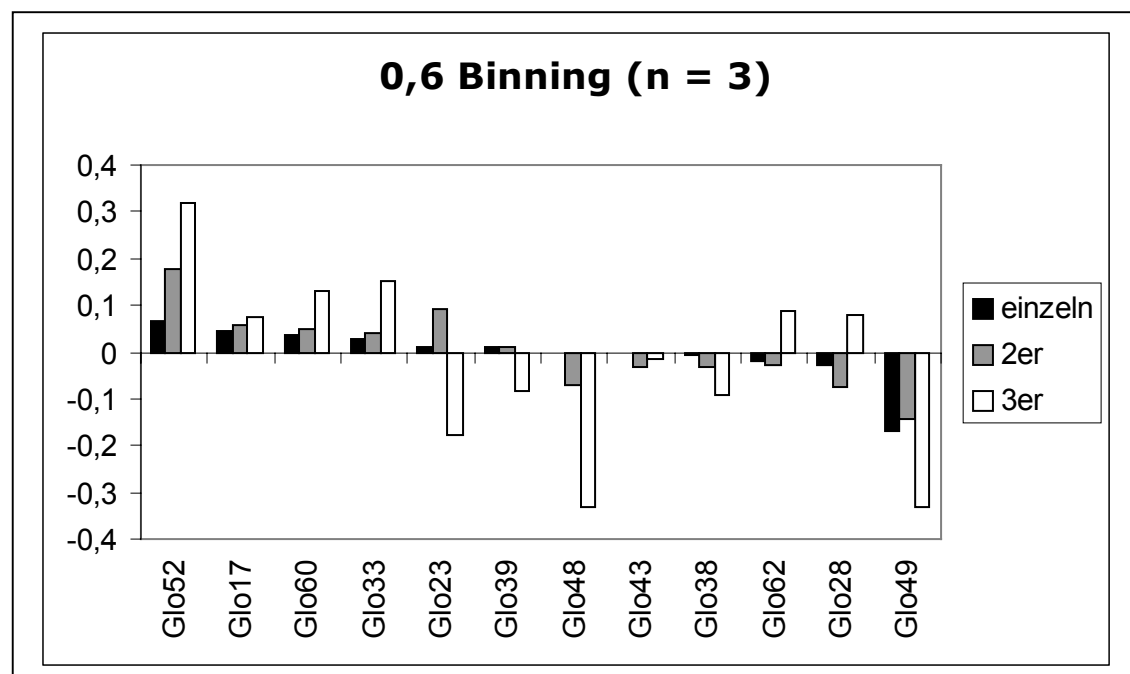
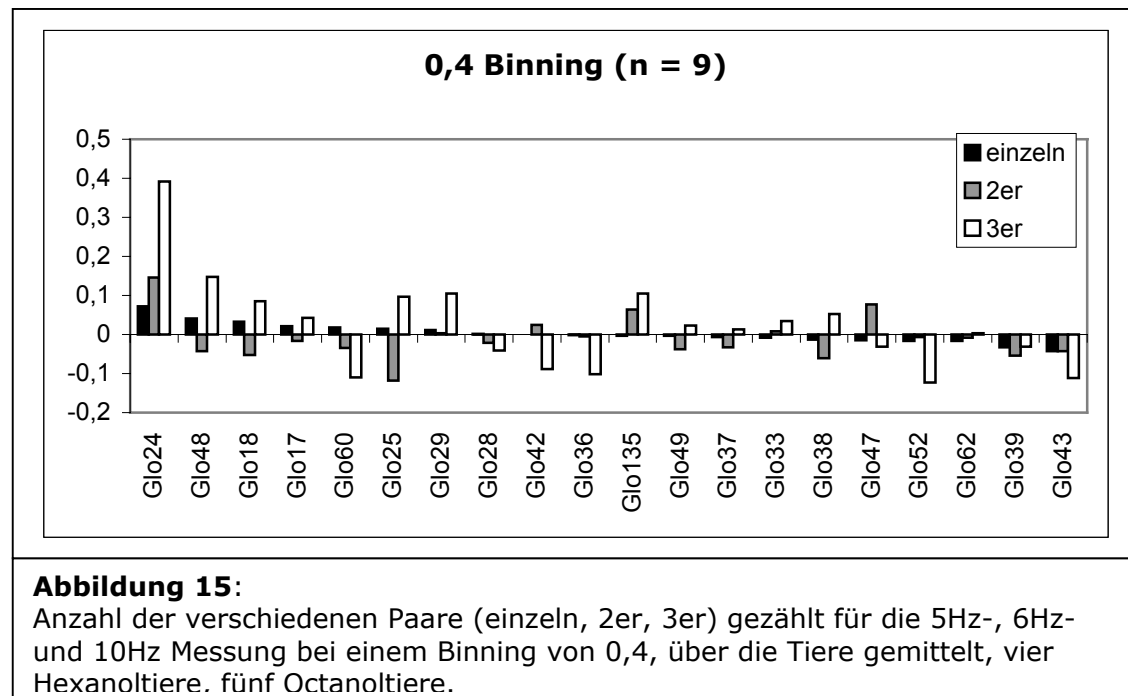


Abbildung 14:

Anzahl der verschiedenen Paare (einzeln, 2er, 3er) gezählt für die 1,5Hz-Messung bei einem Binning von 0,6, über die Tiere gemittelt, zwei Hexanoltiere, ein Octanoltier.

Bei den neun Tieren in Abbildung 15 zeigt sich als erstes, dass die Glomeruli, deren Anteil an der Gesamtaktivität nach der

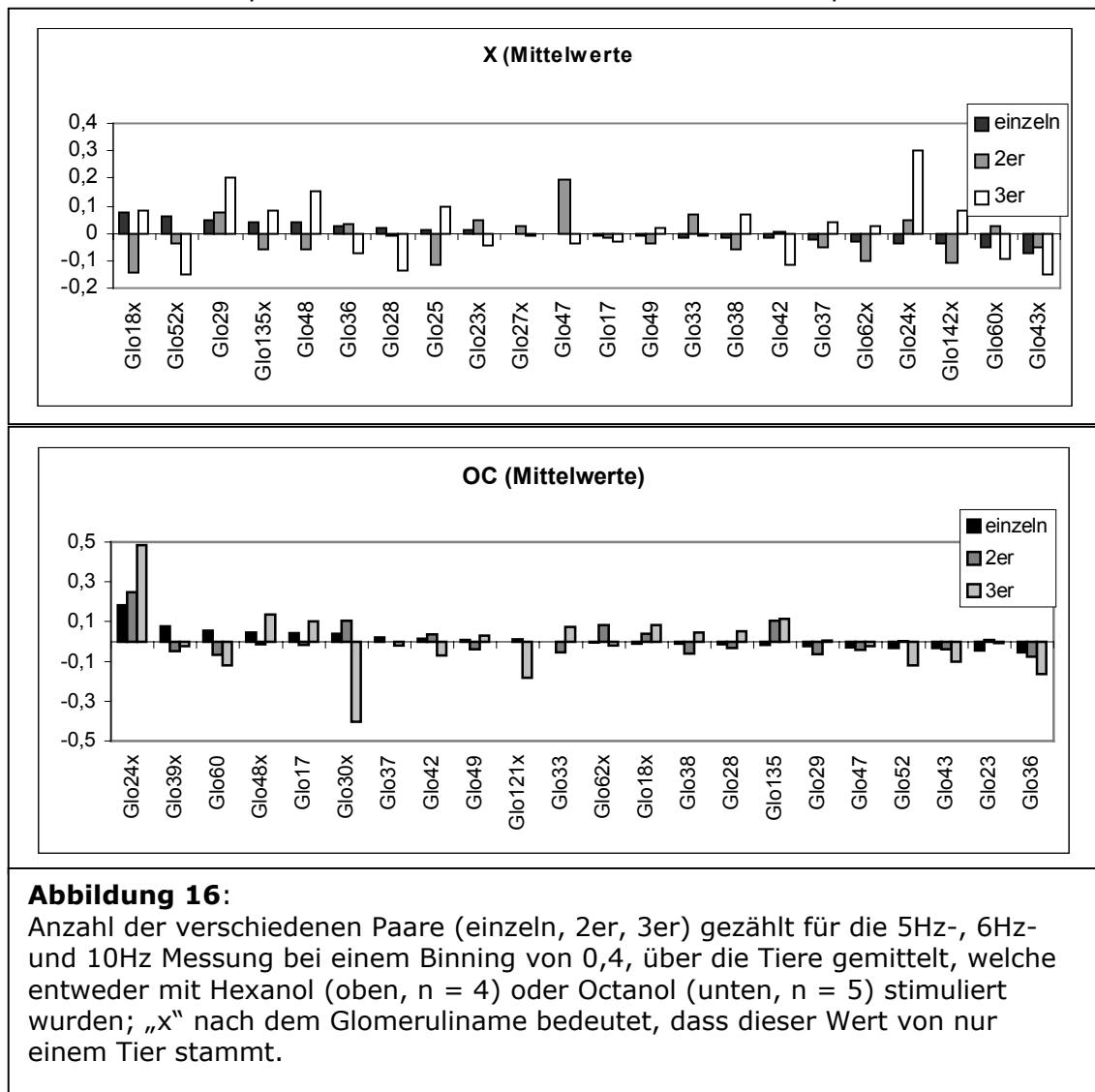


Duftstimulation ansteigt, andere sind als in Abbildung 14. Außerdem befinden sich unter den ersten vier Glomeruli nur zwei duftspezifische Glomeruli (Glo24, Glo17). Nur Glomeruli 24 weist in allen Kategorien ein positives Verhältnis auf.

Für die Tiere aus Abbildung 15 wurde eine Unterteilung in Hexanol- und Octanolstimulation durchgeführt, um mögliche duftspezifische Effekte zu finden. Die drei Tiere aus Abbildung 14 wurden nicht berücksichtigt und auch nicht noch einmal innerhalb der Gruppe unterteilt, da sonst zwei „Hexanol“-Tiere gegen ein „Octanol“-Tier geprüft worden wären.

Es standen vier „Hexanol“-Tiere und fünf „Octanol“-Tiere zur Verfügung. Abbildung 16 zeigt, dass auch bei der einzelnen beziehungsweise paarweisen Betrachtung der Glomeruli (ebenso wie in Abbildung 12b und c) Unterschiede zwischen Hexanol und Octanol zu erkennen sind. Für Hexanol gilt, dass nur der Glomerulus 29 in jeder Kategorie eine positive Bilanz aufweist. Dieser Glomerulus gehört allerdings nicht zum Duftmuster von Hexanol.

Bei den Tieren, die mit Octanol stimuliert wurden, weist nur der



dieser Glomerulus gehört zum Octanolmuster, allerdings, wie durch das Kreuz angedeutet, handelt es sich hierbei um nur ein Tier, das heißt, der angegebene Wert ist kein Mittelwert, sondern ein Einzelwert. Es befindet sich bei den „Octanol“-Tieren noch ein duftspezifischer Glomerulus unter den ersten fünf, namentlich Glo17, während dies bei den „Hexanol“-Tieren nur für einen Glomerulus der Fall ist (Glo52x, wobei dieser nur in einem Tier gefunden wurde). Somit verhält es sich ähnlich wie in Abbildung 12b und c, dass eher die Tiere, die mit Octanol stimuliert wurden, nach der Duftpräsentation eine gesteigerte Aktivität duftspezifischer Glomeruli zeigten, als Tiere, die mit Hexanol stimuliert wurden.

Die folgenden Abbildungen basieren auf der Analyse der Korrelation einzelner Glomeruli und nicht mehr von Mittelwerten der Matrizen. Es sollte dadurch überprüft werden, ob Veränderungen in der Korrelation speziell zwischen Duftglomeruli stattfinden. Abbildung 17 zeigt eine Differenzmatrix exemplarisch für ein Tier. Hier sind nun alle Korrelationen zwischen den Glomeruli einzeln dargestellt.

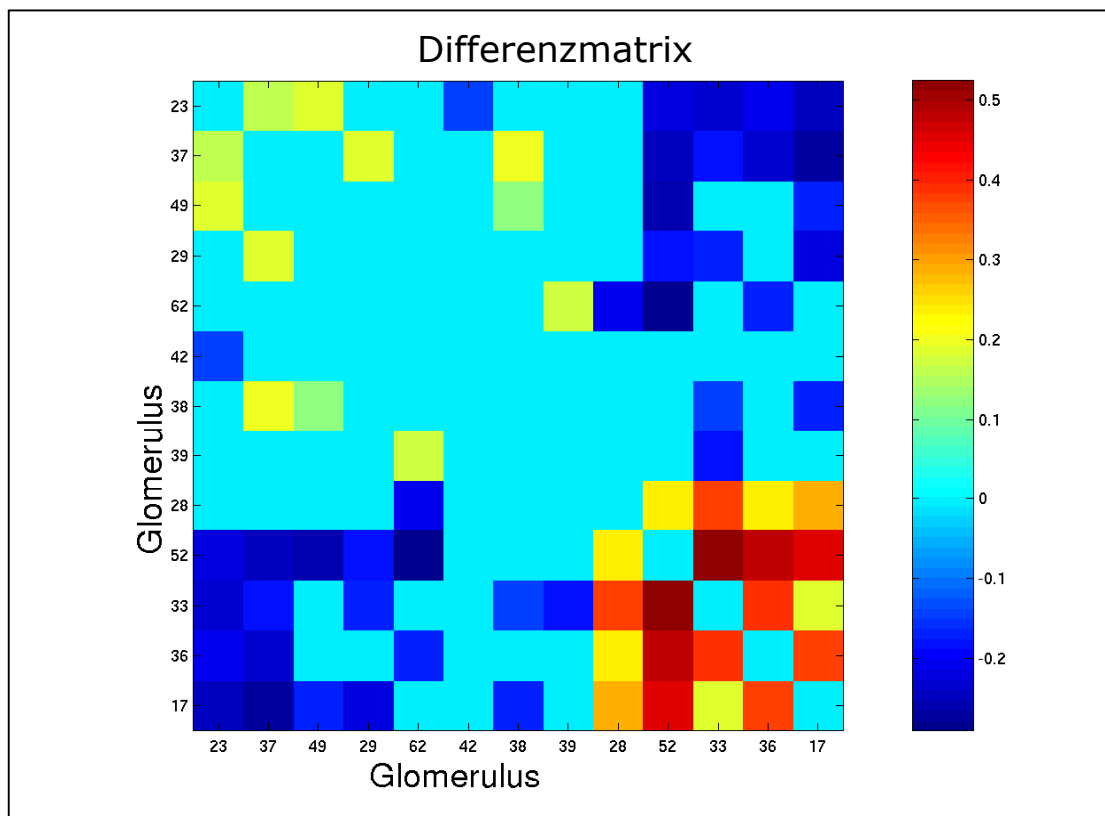
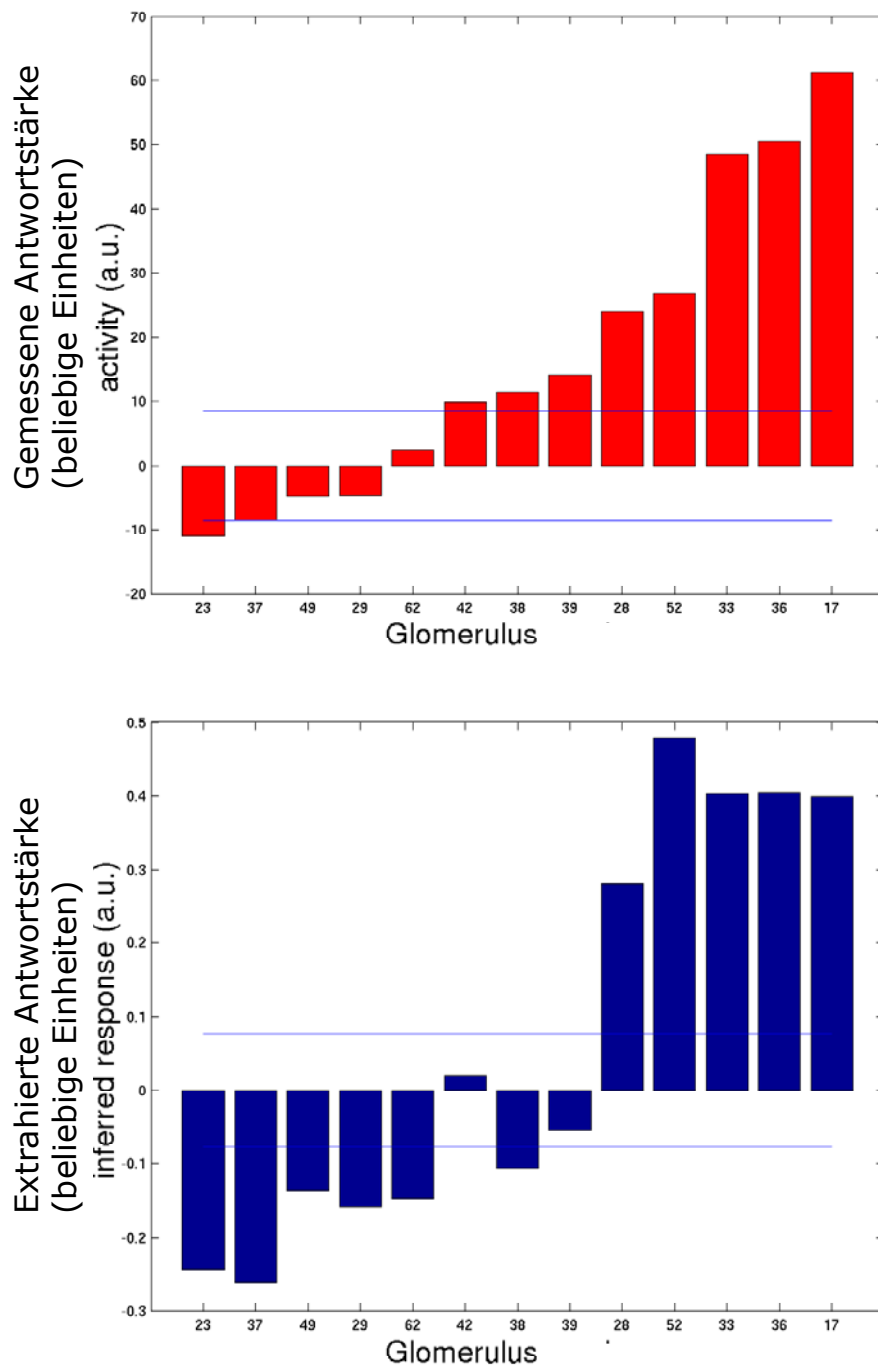


Abbildung 17:

Differenzmatrix; jeweils Korrelation eines Paares vor Duftstimulation abgezogen von der Korrelation desselben Paares nach der Duftstimulation; Werte über Null geben eine Zunahme in der Differenz der Korrelation an; die Veränderungen der Korrelationen liegen in einem Vertrauensbereich von 95%.

Abbildung 18 zeigt im oberen Teil die gemessene Antwortstärke verschiedener Glomeruli und im unteren Teil, die aus der Matrix in Abbildung 17 extrahierte Antwortstärke verschiedener Glomeruli (siehe dazu Material und Methoden). Bei einem Vergleich der beiden Abbildungen erkennt man, dass stark aktivierte Glomeruli nach der Duftpräsentation eine erhöhte Korrelation

**Abbildung 18:**

Gemessene/extrahierte Antwortstärke der verschiedenen Glomeruli in beliebigen Einheiten; positive Werte geben eine Aktivierung an, negative eine Inhibition; der Bereich zwischen den durchgezogenen Linien gibt den mittleren Hintergrundlevel an, geschätzt als Standardabweichung von der Spontanaktivität.

aufweisen (zum Beispiel Glo17 und Glo52 oder Glo52 und Glo33). Diesen Effekt zeigen auch Glomeruli, die schwach aktiviert wurden beziehungsweise inhibiert

wurden (zum Beispiel Glo23 und Glo37 oder Glo37 und Glo29). Bei Glomerulipaaren, bei denen ein Glomerulus stark und der andere schwach aktiviert beziehungsweise inhibiert wurde, kommt es zu einer Abschwächung der Korrelation.

Die Korrelationskoeffizienten (Berechnung siehe Material und Methoden), die Auskunft darüber geben wie ähnlich die „gemessene Antwort“ der „extrahierten Antwort“ ist, liegen alle über 50%. Für die vier Tiere, die mit Octanol stimuliert wurden ergab sich $r = 0,75$. Des Weiteren für Hexanol (2 Tiere) $r = 0,94$, für Limonen $r = 0,55$ (1 Biene), für das Limonen-Linalool-Gemisch $r = 0,81$ (1 Biene).

Abschließend soll an dieser Stelle von einem weiteren Phänomen berichtet werden. Zusammengefasst ist es in Abbildung 19.

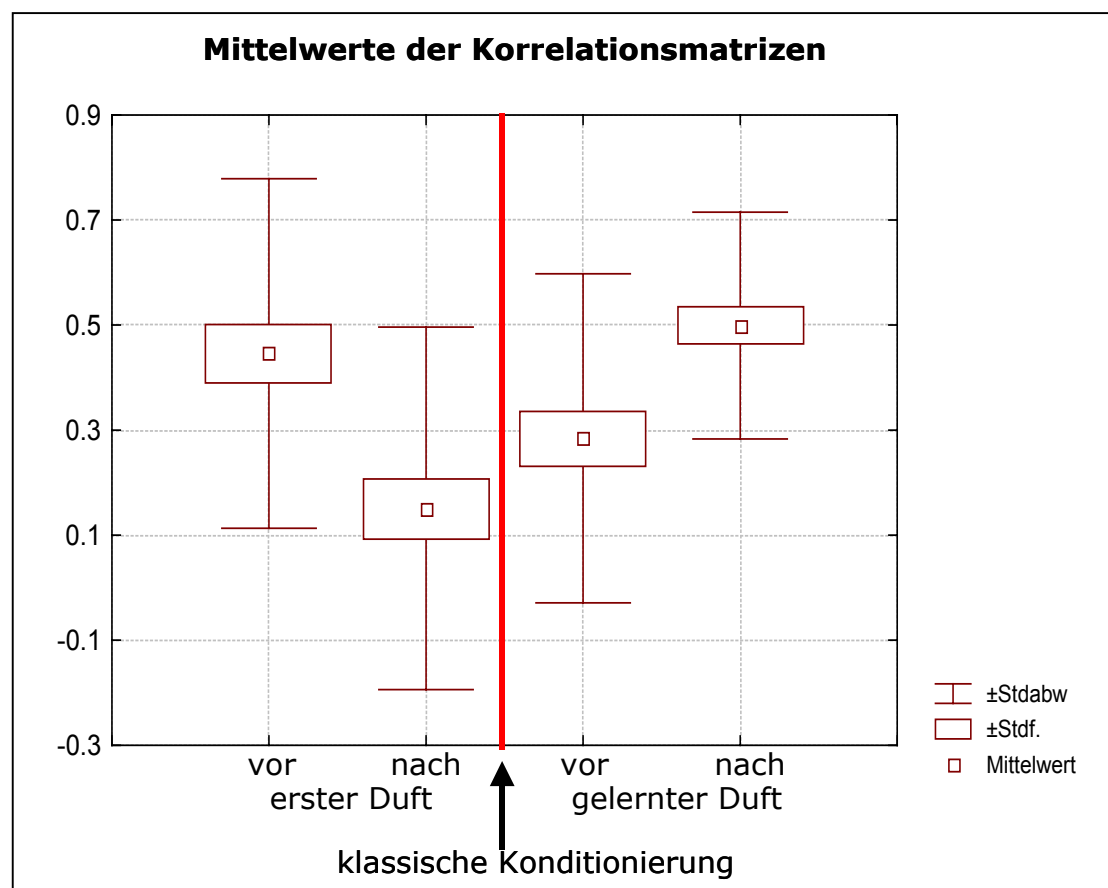


Abbildung 19:

Mittelwerte der Korrelationsmatrizen für zwei Tiere; Boxen stellen die Werte für vier verschiedene Zeitpunkte dar; von links: vor dem ersten Duft, nach dem ersten Duft, vor dem gelernten Duft, nach dem gelernten Duft; signifikante Unterschiede (Wilcoxon, $p < 0,05$) zwischen vor-nach erstem Duft, nach erstem Duft-vor gelerntem Duft, vor-nach gelerntem Duft; Konditionierung Tier1: Konditionierung 2 mal mit Hexanol, Intertrailintervall 4min; Tier 2: Konditionierung 3 mal mit Octanol, Intertrailintervall 4min.

Man erkennt die Mittelwerte der Korrelationsmatrizen, wie in Abbildung 7. In diesem Fall stammen die Matrizen von zwei Tieren. Wie auch bei den anderen Korrelationsmatrizen sieht man wie nach der Präsentation des ersten Duftes die Korrelation signifikant abnimmt. Mit diesen beiden Tieren wurde jedoch anschließend eine klassischen Konditionierung durchgeführt (Tier1: Konditionierung 2 mal mit Hexanol, Intertrailintervall 4min; Tier 2: Konditionierung 3 mal mit Octanol, Intertrailintervall 4min). Nach diesem Training wurde der belohnte Duft erneut präsentiert. Schon vor der Duftstimulation mit dem belohnten Duft, erkennt man, dass die Korrelation signifikant erhöht ist. Noch deutlicher wird dieser Anstieg allerdings nachdem der gelernte Duft präsentiert wurde.

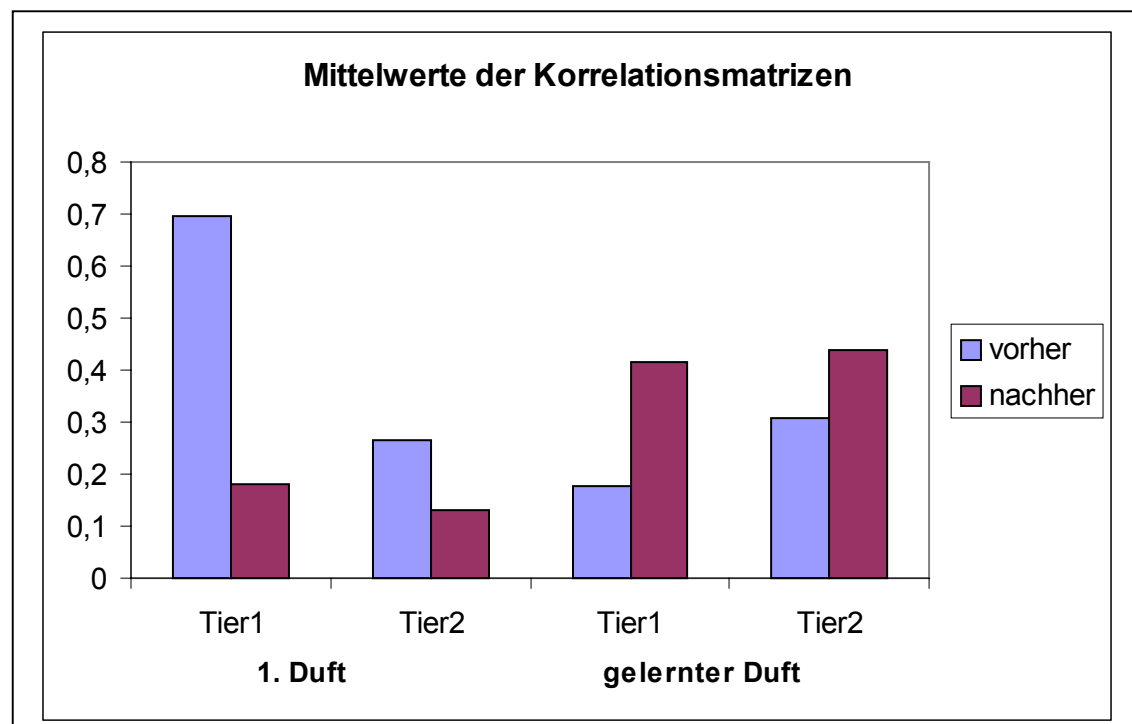


Abbildung 20:

Mittelwerte der Korrelationsmatrizen für zwei Tiere; signifikant unterschiedlich (Wilcoxon, $p < 0,05$) sind jeweils die vorher/nachher Balken; Konditionierung Tier1: Konditionierung 2 mal mit Hexanol, Intertrailinterval 4min; Tier 2: Konditionierung 3 mal mit Octanol, Intertrailinterval 4min.

Durch die Stimulation mit dem belohnten Duft steigt die Korrelation wieder auf das ursprüngliche Niveau. Die signifikanten Unterschiede zwischen vor und nach dem gelernten Duft ergeben sich auch für die einzelnen Tiere (Abbildung 20).

3.3. Ergebnisse der Verhaltensexperimente

Die Verhaltensexperimente bei gleichzeitiger optischer Registrierung sollten Aufschluss darüber geben, ob es für die erhöhte Wahrscheinlichkeit nach einer olfaktorischen Konditionierung den Rüsselreflex auf den belohnten Duft zu zeigen, auf der Ebene der Kalziumsignale in Projektionsneuronen des Antennallobus der Honigbiene ein neuronales Korrelat gibt. Dafür sollte geprüft werden, ob etwa der belohnte Duft nach dem Training eine verstärkte Aktivierung der Projektionsneurone hervorruft. Das Training bestand aus einer differentiellen Konditionierung mit zwei zusätzlichen Kontrolldüften (siehe Schema im Material und Methoden-Teil). Der Vorteil einer differentiellen Konditionierung besteht darin, dass man den Einfluss der Belohnung beurteilen kann. Ebenso oft wie der belohnte Duft wird auch der unbelohnte Duft der Biene präsentiert. Dadurch kann ausgeschlossen werden, dass ein möglicher Lerneffekt auf das wiederholte Wahrnehmen eines Duftes zurückzuführen ist. Da bekannt ist, dass bis zur endgültigen Konsolidierung eines Gedächtnisses mehrere Minuten vergehen, sollten zwei verschiedene Phasen nach dem Training betrachtet werden. Die Tests nach dem Training erfolgten für die eine Gruppe von Tieren nach 5 Minuten und für die andere Gruppe nach 15 Minuten. Dadurch wurden ein früher und ein späterer Zeitpunkt in der Konsolidierungsphase in die Auswertung genommen. Die möglichen Unterschiede im Kalziumniveau zu verschiedenen Zeitpunkten könnten Aufschluss darüber geben, welche Rolle das Kalzium während der verschiedenen Konsolidierungsphasen spielt.

Abbildung 21 zeigt exemplarisch an einem Tier die gemittelten Aktivitätsmuster der vier verschiedenen Düfte (CS+: Octanol; CS-: Linalool; Kontrolldüfte: Hexanol und Limonen) eines Verhaltensexperimentes dargestellt mit Falschfarbenbildern. Es

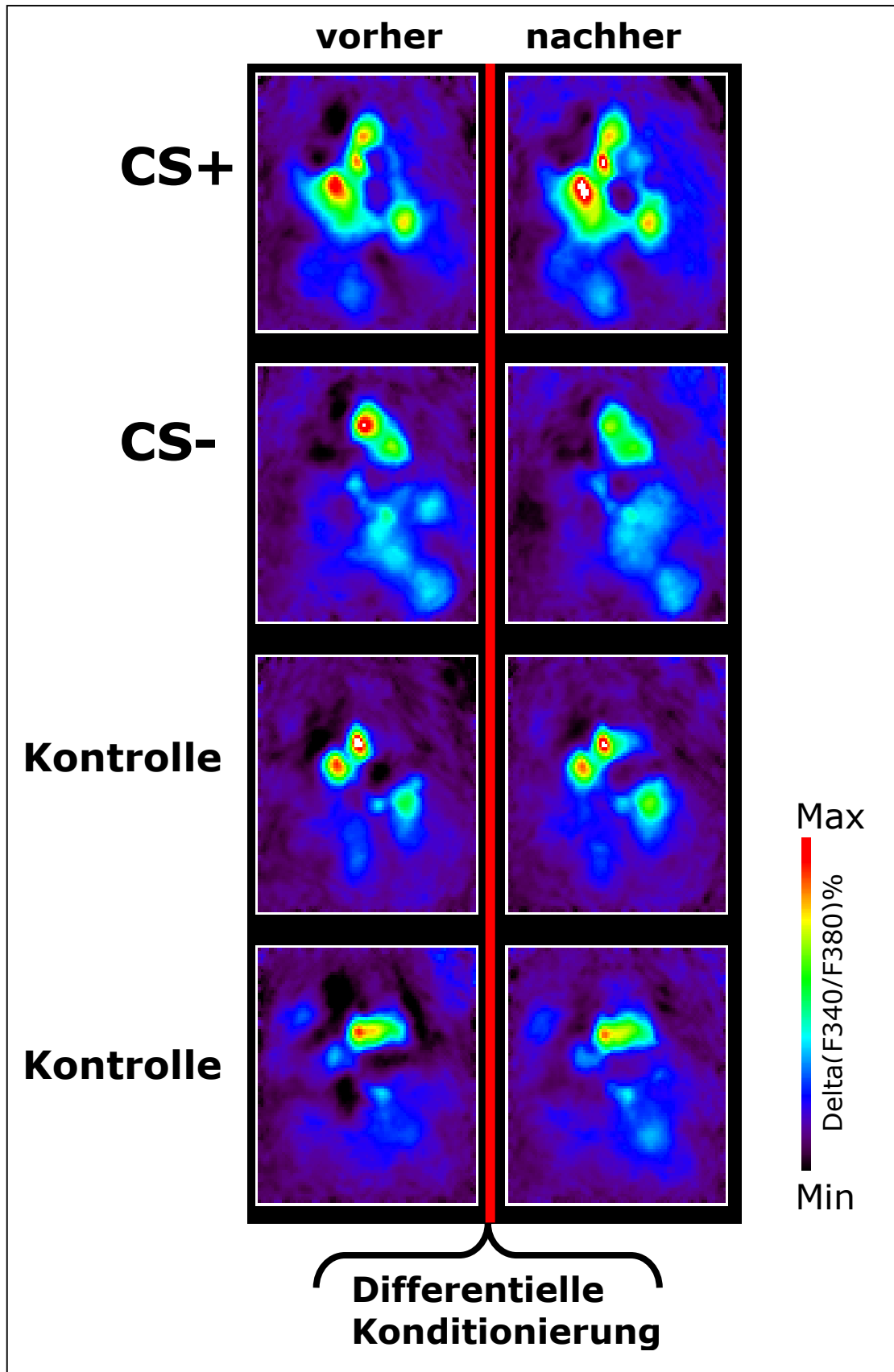
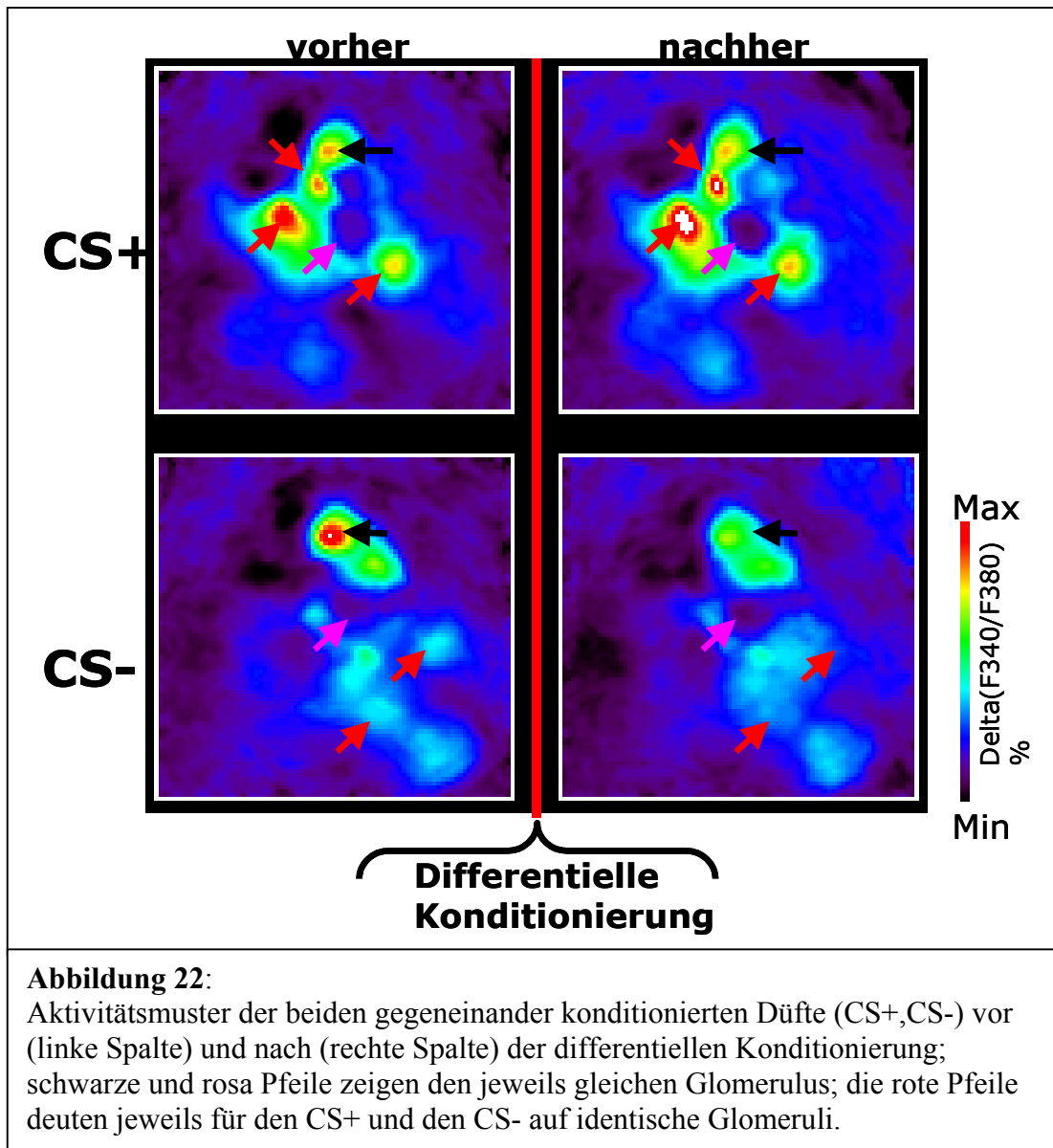


Abbildung 21:

Aktivitätsmuster der verschiedenen Düfte (CS+,CS- und zwei Kontrolldüfte) vor (linke Spalte) und nach (rechte Spalte) der differentiellen Konditionierung; Verstärkung des belohnten Musters deutlich erkennbar.

handelt sich hierbei um eine Biene, deren Testphase 5 Minuten nach der differentiellen Konditionierung begann. Die linke Spalte (vorher) stellt die aus je drei Bildern gemittelten Aktivitätsmuster für vier verschiedene Düfte vor dem Training dar. Nur die oberen beiden (CS+, CS-) wurden in das Training einbezogen. Die beiden Kontrolldüfte dienten zum einen zur Überprüfung der Stabilität der Messung und zum anderen zur Erfassung eventuell auftretender Generalisierungsphänomene. Die rechte Spalte (nachher) stellt die aus je drei Bildern gemittelten Aktivitätsmuster derselben Düfte nach der differentiellen Konditionierung dar. Während sich bei den Duftmustern der Kontrolldüfte nichts verändert, zeigen die Düfte, die in der differentiellen Konditionierung gegeneinander trainiert wurden, deutliche Veränderungen.

Abbildung 22 zeigt wie sich das Duftmuster für den belohnten (CS+) und den nicht belohnten (CS-) Duft verändert. Die roten Pfeile deuten für den CS+ auf Glomeruli, die nach der differentiellen Konditionierung auf den belohnten Duft stärker reagieren als vor dem Training. Für den CS- zeigen die roten Pfeile Glomeruli, die nach dem Training eine erniedrigte Aktivierung durch den Duft zeigen. Wiederum die schwarzen Pfeile, die für den CS+ und den CS- auf denselben Glomerulus deuten, zeigen, dass dieser Glomerulus vor dem Training am stärksten auf den CS- antwortet, diese Reaktion aber deutlich nach der differentiellen Konditionierung nachlässt. Auf der anderen Seite bleibt seine Antwortstärke bezüglich des CS+ nahezu konstant. Ein weiteres Phänomen, welches sich für den CS+ und den CS- beobachten lässt, zeigen die rosa Pfeile, welche ebenfalls, wie die schwarzen Pfeile, in allen Bildern denselben Glomerulus markieren (allerdings nicht denselben



wie die schwarzen Pfeile). Vor allem für den CS+ ist eine deutliche Abnahme in der Antwortstärke zu erkennen, jedoch zeigt sich auch für den CS- eine ähnliche Tendenz.

Während die Falschfarbenbilder nur einen Auszug der gesamten Aktivität darstellen, soll mit den folgenden Abbildungen gezeigt werden, wie sich die Kalziumkonzentration über die Zeit verändert. Dabei wurde jeweils ein CS+, CS- oder Kontrollduft-spezifischer Glomerulus ausgewählt. Abbildung 23 zeigt für die ausgewählte Region (Glomerulus) den zeitlichen Veränderung der Kalziumkonzentrationen. Man erkennt für den CS+ (Abb. 23 oben),

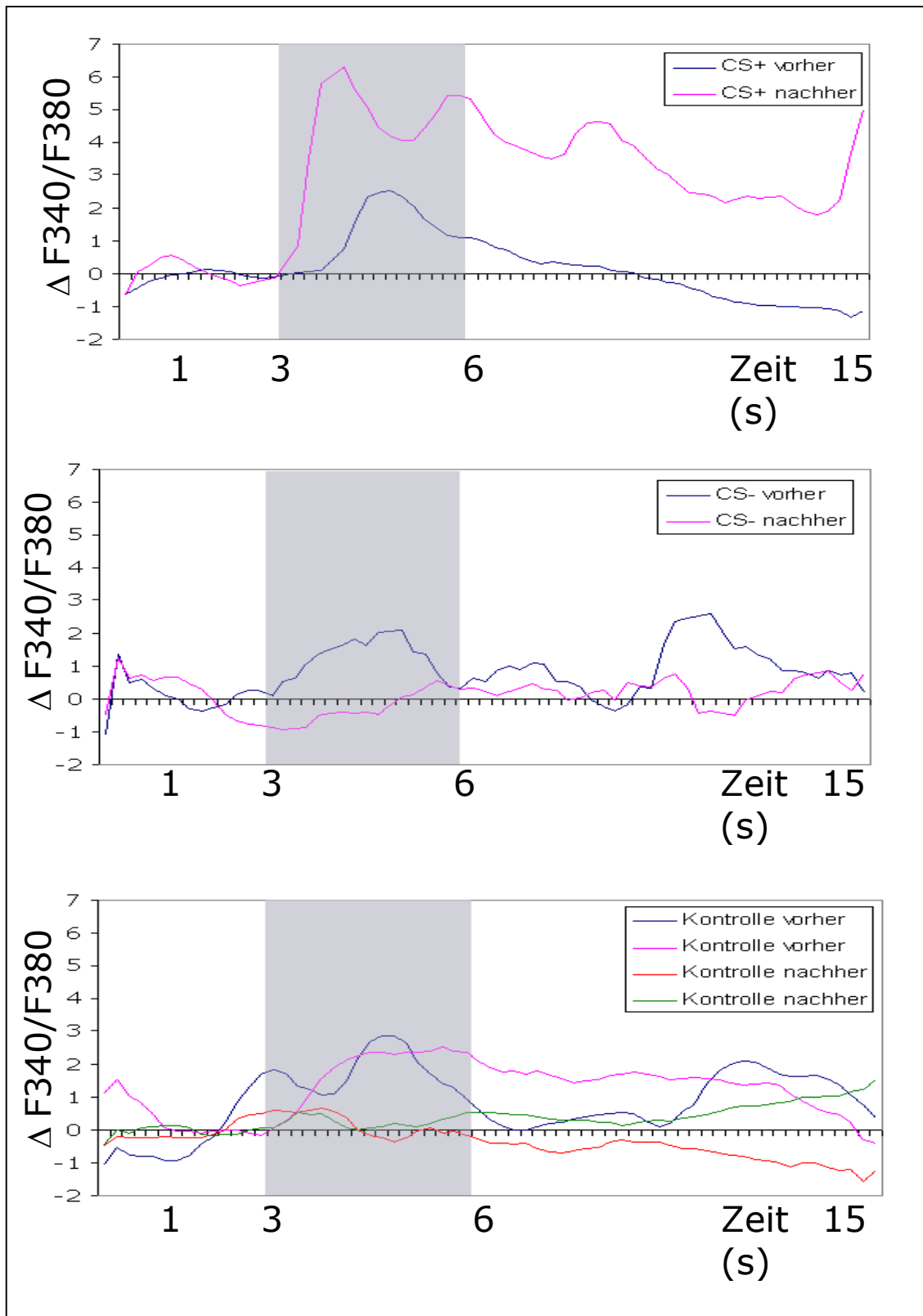


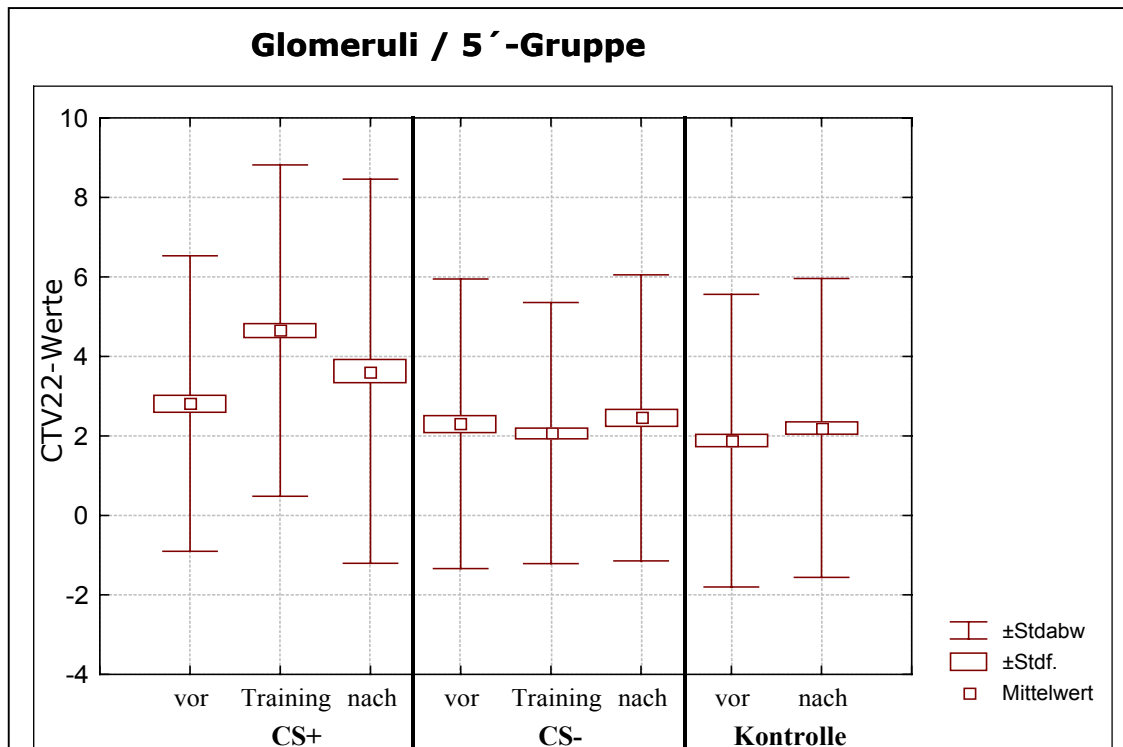
Abbildung 23:

Zeitliche Veränderung der Kalziumkonzentrationen bei den Messungen für die verschiedenen Düfte (CS+ oben, CS- Mitte, Kontrolldüfte unten) für verschiedene Glomeruli eines Tieres, jeweils vor und nach der differentiellen Konditionierung; Duftstimulus ist grau unterlegt.

wie schon in Abbildung 22, dass nach der differentiellen Konditionierung der gelernte Duft deutlich stärker beantwortet wird; die Kalziumkonzentration ist erkennbar erhöht. Anders verhält es sich beim CS- (Abb. 23 Mitte). Hier zeigt sich die Kalziumkonzentration beim Präsentieren des unbelohnten Duftes deutlich erniedrigt. Das gleiche gilt in diesem Fall für die Kontrolldüfte (Abb. 23 unten). Auch sie werden nach der differentiellen Konditionierung schwächer beantwortet als vorher. Für den CS+ ist, abgesehen von der erhöhten Kalziumkonzentration nach der differentiellen Konditionierung, ein weiterer Aspekt zu erwähnen. Die Aktivität, die durch den belohnten Duft hervorgerufen wird, fällt nach dem Training deutlich länger aus als davor. Die Kalziumkonzentration kehrt während der gesamten Messung nicht mehr auf das Ausgangsniveau zurück.

Bisher wurde an einem Tier exemplarisch gezeigt wie jeweils ein spezieller Glomerulus (CS+,CS-, Kontrolle) seine Antwortstärke 5 Minuten nach einer differentiellen Konditionierung geändert hat. Nun soll in einem nächsten Schritt untersucht werden, wie sich das Kalziumniveau über alle Glomeruli (die jeweils in einem Tier gefunden werden konnten) in allen Tieren, die 5 Minuten nach dem Training getestet wurden, verändert. Damit sollte gezeigt werden, ob sich die Unterschiede zwischen CS+,CS- und Kontrolle auch auf glomerulärer Ebene finden lassen.

Abbildung 24 stellt die gesammelte und gemittelte Antwortstärke aller gefundenen Glomeruli für die Tiere dar, welche zur 5'-Gruppe gehören. Auffällige signifikante Unterschiede finden sich zum Beispiel zwischen „CS+_vorher“ und „CS+_nach“. Der belohnte

**Abbildung 24:**

Dargestellt sind die jeweils gemittelten CTV22-Werte (siehe Material und Methoden) aller gemessenen Glomeruli (304 Glo aus 10 Tieren) für die verschiedenen Düfte (CS+, CS- und Kontrolldüfte) fünf Minuten nach dem Training an; signifikante Unterschiede (Wilcoxon, $p < 0,05$): vorCS+ / nachCS+, vorCS+ / TrainingCS+, vorKontrolle / nachKontrolle, vorCS+ / vorCS-, nachCS+ / nachCS-.

Duft wird demnach nach dem Training signifikant stärker beantwortet als vorher. Dies gilt nicht für den CS-. Hier findet sich kein signifikanter Unterschied in den Antwortstärken vor und nach dem Training. Das gleiche wie für den CS+ gilt auch für die Kontrolle, obschon zumindest augenscheinlich der Unterschied nicht ganz so deutlich ausfällt. Außerdem wird der belohnte Duft nach dem Training signifikant stärker beantwortet als der CS-. Das gilt zwar auch schon für die Situation vor dem Training, jedoch ist der Unterschied nachher größer. Des Weiteren ist zu beobachten, dass während des Trainings nur für den CS+ eine signifikante Erhöhung in der Kalziumkonzentration zu erkennen ist.

Dies belegt auch Abbildung 25. Man erkennt (Abb. 25 oben) wie im Verlaufe der Konditionierung der CS+ eine immer stärker werdende Aktivierung des Antennallobus und speziell einzelner Glomeruli

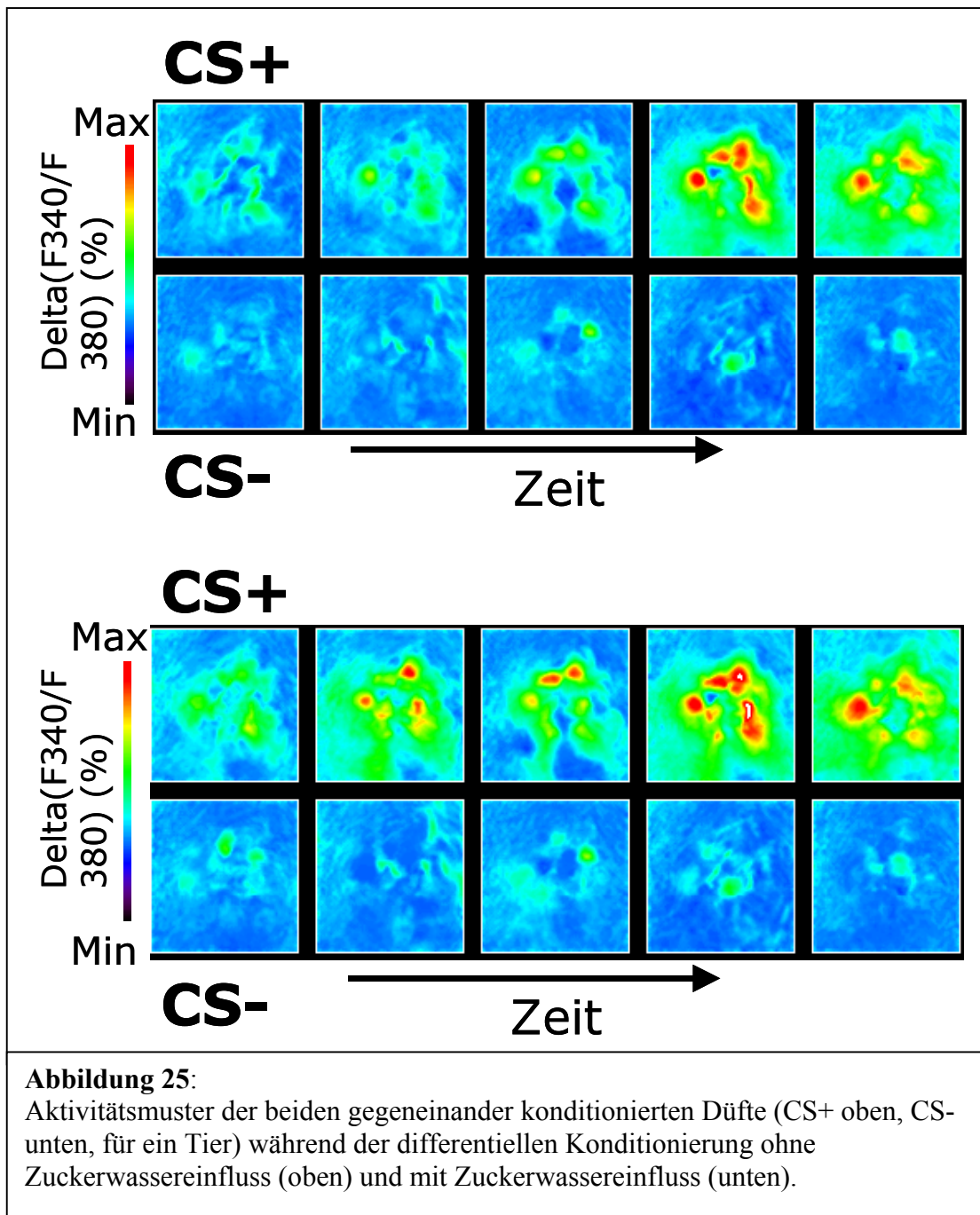


Abbildung 25:
Aktivitätsmuster der beiden gegeneinander konditionierten Düfte (CS+ oben, CS- unten, für ein Tier) während der differentiellen Konditionierung ohne Zuckerwassereinfluss (oben) und mit Zuckerwassereinfluss (unten).

hervorrufen. Im Gegensatz dazu verändert sich das Antwortmuster für den CS- nicht so deutlich.

Ein weiteres interessantes Phänomen ist in Abbildung 25 unten dargestellt. Es handelt sich hierbei um dieselbe Trainingsphase wie in Abbildung 25 oben, nur dass in diesem Fall für die Erstellung der Falschfarnebilder der Zuckerwasserstimulus mit einbezogen wurde. Das bedeutet, das Bild stellt den Zeitpunkt dar, in dem der Duftstimulus mit dem Zuckerwasserstimulus gleichzeitig präsent ist.

Man erkennt, dass offensichtlich (für den CS+) der Zuckerwasserstimulus eine zusätzliche Erhöhung der Kalziumkonzentration hervorruft. Die gleiche Berechnung für den CS- ergeben erwartungsgemäß keine Unterschiede, da hier ein Zuckerwasserstimulus nicht erfolgt.

Die bis hierher behandelten Tiere, wurden jeweils 5 Minuten nach der differentiellen Konditionierung auf Veränderungen in ihrem Kalziumniveau für die verschiedenen Düfte (CS+, CS- und Kontrolldüfte) untersucht. Um den Zustand des Kalziumniveaus in den Projektionsneuronen in späteren Phasen der Konsolidierung des Gedächtnisses zu überprüfen, wurde eine weitere Gruppe von Tieren zu einem späteren Zeitpunkt getestet, nämlich 15 Minuten nach dem Training. Messungen nach noch längerer Zeit gelangen nur bei sehr wenigen Tieren, sodass eine statistische Auswertung sinnlos war.

Abbildung 26 zeigt die über jeweils drei Bilder gemittelten Aktivitätsmuster für die vier verschiedenen Düfte (CS+, CS- und die beiden Kontrolldüfte) eines Tieres. Es handelt sich hierbei um eine Biene, deren Testphase 15 Minuten nach der differentiellen Konditionierung begann. Man erkennt, dass im Vergleich zu Abbildung 21 der CS+ nach der differentiellen Konditionierung nicht stärker beantwortet wird, sondern eher schwächer. Das gleiche gilt für die beiden Kontrolldüfte. Eine leicht verstärkte Aktivierung ist besser beim CS- zu sehen.

Abbildung 27 stellt die gesammelte und gemittelte Antwortstärke aller gefundenen Glomeruli für die Tiere dar, welche zur 15'-Gruppe gehören. Auffällige signifikante Unterschiede finden sich zum Beispiel zwischen „CS-_vorher“ und „CS-_nach“. Der unbelohnte Duft wird demnach nach dem Training signifikant stärker beantwortet als vorher. Dies gilt nicht für den CS+. Hier findet sich kein signifikanter Unterschied in den Antwortstärken vor

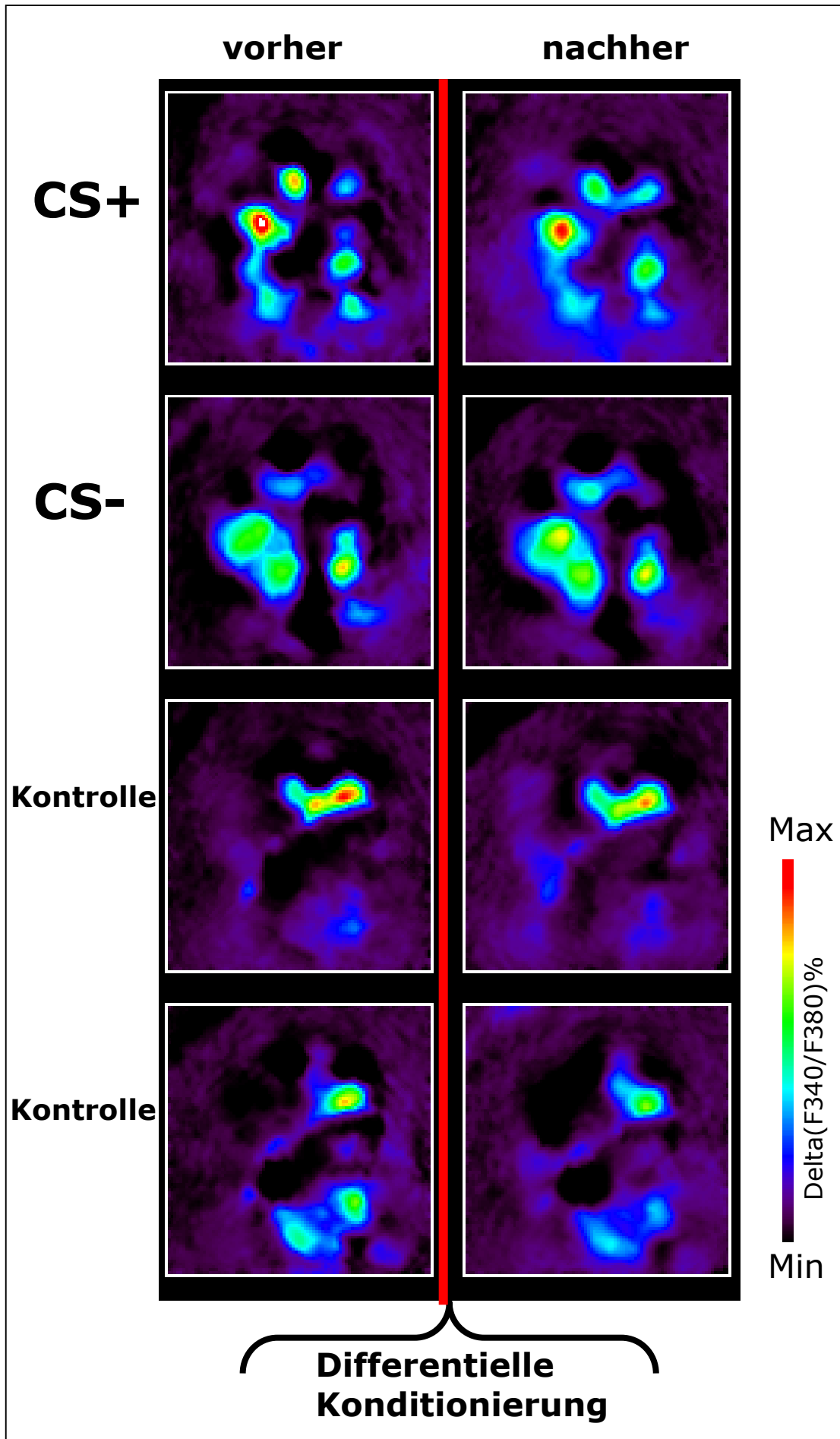
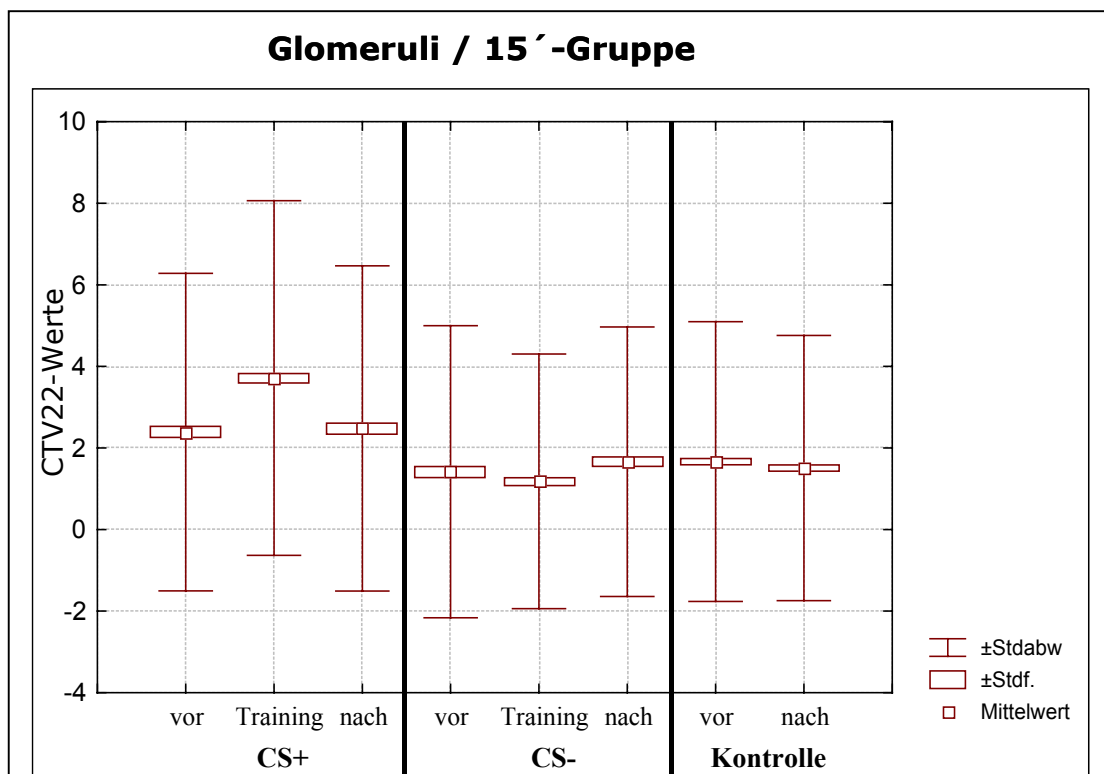


Abbildung 26:

Aktivitätsmuster der verschiedenen Düfte (CS+,CS- und zwei Kontrolldüfte) vor (linke Spalte) und nach (15 Minuten nach, rechte Spalte) der differentiellen Konditionierung, keine Verstärkung des belohnten Musters deutlich erkennbar.

und nach dem Training, obwohl eine deutlich und signifikante verstärkte Aktivierung während des Trainings zu erkennen ist. Bei den Kontrolldüften findet sich im Gegensatz zu Abbildung 24 kein signifikanter Unterschied.

**Abbildung 27:**

Boxen geben die jeweils gemittelten CTV22-Werte (siehe Material und Methoden) aller gemessenen Glomeruli (756 Glo aus 22 Tieren) für die verschiedenen Düfte (CS+, CS- und Kontrolldüfte) 15 Minuten nach dem Training an; signifikante Unterschiede (Wilcoxon, $p < 0,05$): vorCS+ / TrainingCS+, vorCS- / nachCS-.

Eine weitere Analyse der lernbedingten Änderungen der Repräsentationen von Düften im Antennallobus durch die differentielle Konditionierung, war die Untersuchung des gesamten Antennallobus'. Im Gegensatz zum obigen Abschnitt, in dem die Analyse auf verschiedenen Glomeruli als die Regionen, in denen die Kalziumkonzentration berechnet wurde, beruhte, wurde nun nur eine Region für diese Berechnung verwendet, nämlich der gesamte Antennallobus. In diesem Fall sollte geprüft werden, ob möglicherweise durch das Training der gesamte Antennallobus eine Verstärkung erfährt oder ob diese doch auf kleinerer Ebene (Glomeruli) stattfindet. Auch hier wurden zwei Gruppen gebildet, aus dem selben Grund wie bei der Analyse der Glomeruli. Zum einen Tiere, die 5 Minuten nach dem Training in die Testphase gingen und zum anderen Tiere, deren Test 15 Minuten nach der differentiellen Konditionierung begann.

Abbildung 28 stellt die gesammelte und gemittelte Antwortstärke der Antennalloben der Tiere dar, welche zur 5'-Gruppe gehören. In

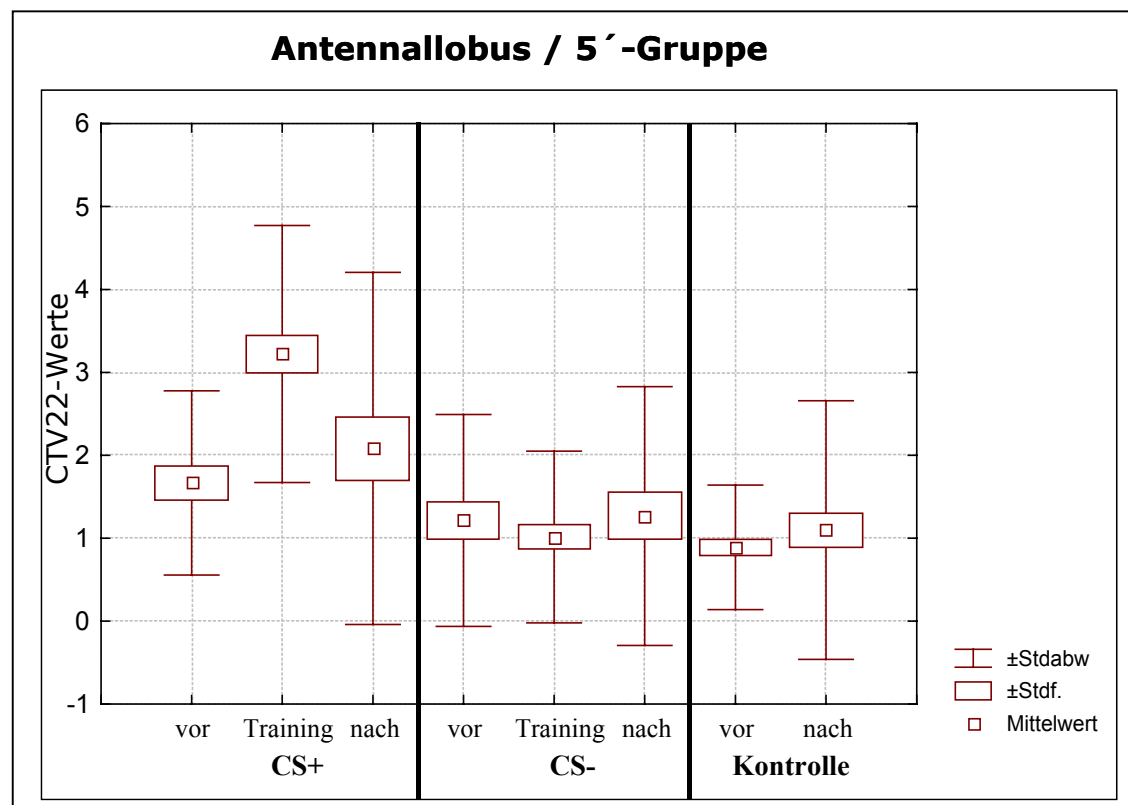
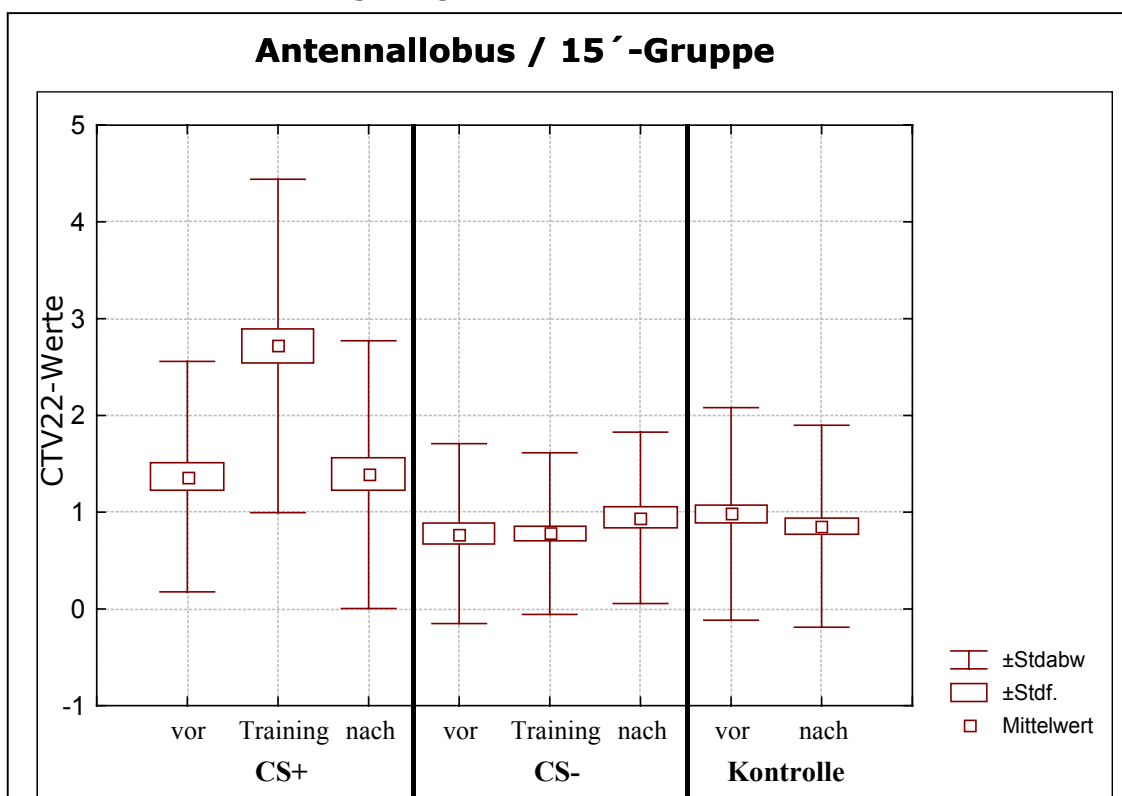


Abbildung 28:

Boxen geben die jeweils gemittelten CTV22-Werte (siehe Material und Methoden) für den gesamten Antennallobus (aus 10 Tieren je drei Messungen) für die verschiedenen Düfte (CS+, CS- und Kontrolldüfte) fünf Minuten nach dem Training an; signifikante Unterschiede (Wilcoxon, $p < 0,05$): vorCS+ / TrainingCS+, vorCS- / nachCS-.

keinem der „vorher-nachher-Vergleiche“ für die jeweiligen Düfte findet sich ein signifikanter Unterschied. Lediglich eine Tendenz einer verstärkten Aktivierung für den CS+ lässt sich erkennen. Diese Tendenz ist in Abbildung 29 nicht so deutlich. Genauso wie auch für die Abbildung 27 gilt hier, dass der unbelohnte Duft nach

**Abbildung 29:**

Boxen geben die jeweils gemittelten CTV22-Werte (siehe Material und Methoden) für den gesamten Antennallobus (aus 22 Tieren je drei Messungen) für die verschiedenen Düfte (CS+, CS- und Kontrolldüfte) 15 Minuten nach dem Training an; signifikante Unterschiede (Wilcoxon, $p < 0,05$): vorCS+ / TrainingCS+.

der differentiellen Konditionierung signifikant stärker beantwortet wird. Bis auf die Tatsache, dass in der 5'-Gruppe der CS+ nach dem Training nicht signifikant stärker beantwortet wird, ähneln sich die Ergebnisse der verschiedenen Gruppen (Glomeruli <-> Antennallobus). Die Tatsache, dass der wesentliche Unterschied

zwischen beiden Gruppen in einem der wichtigsten Merkmale für Lernen liegt (CS+ nach dem Training stärker beantwortet), deutet jedoch darauf hin, dass die Veränderung, die durch das Lernen hervorgerufen wird, spezifisch auf glomerulärer Ebene zu suchen ist beziehungsweise stattfindet.

Daher wurden für die folgende Analyse duftmusterspezifische Glomeruli verschiedener Kategorie ausgewählt, da bei diesen die deutlichste Veränderung vermutet wurde. Es sollte überprüft werden, wie sich die Kalziumkonzentration in diesen duftmusterspezifischen Glomeruli durch eine differentielle Konditionierung verändert. Es wurden drei Kategorien gebildet, die im Folgenden vorgestellt werden:

1. Für die erste Kategorie wurde jeweils für den CS+ in beiden Gruppen (5´ und 15´ Minuten) derjenige Glomerulus ausgewählt, der laut Atlas der wichtigste Glomerulus für den entsprechenden Duft ist. Dieser wurde dann auch für den CS- und die Kontrolldüfte verwendet und die Kategorie wurde „Gleicher Glomerulus“ genannt. Diese Auswahl fand statt, um zu überprüfen, ob der für den CS+ wichtigste Glomerulus sein Antwortverhalten bezüglich der anderen Düfte aufgrund der differentiellen Konditionierung ändert, etwa in dem Sinne, dass seine verstärkte Antwort auf den CS+ bei einem Duft mit überlappenden Muster, auch auf einen unbelohnten Duft oder einen Kontrollduft übertragen wird.

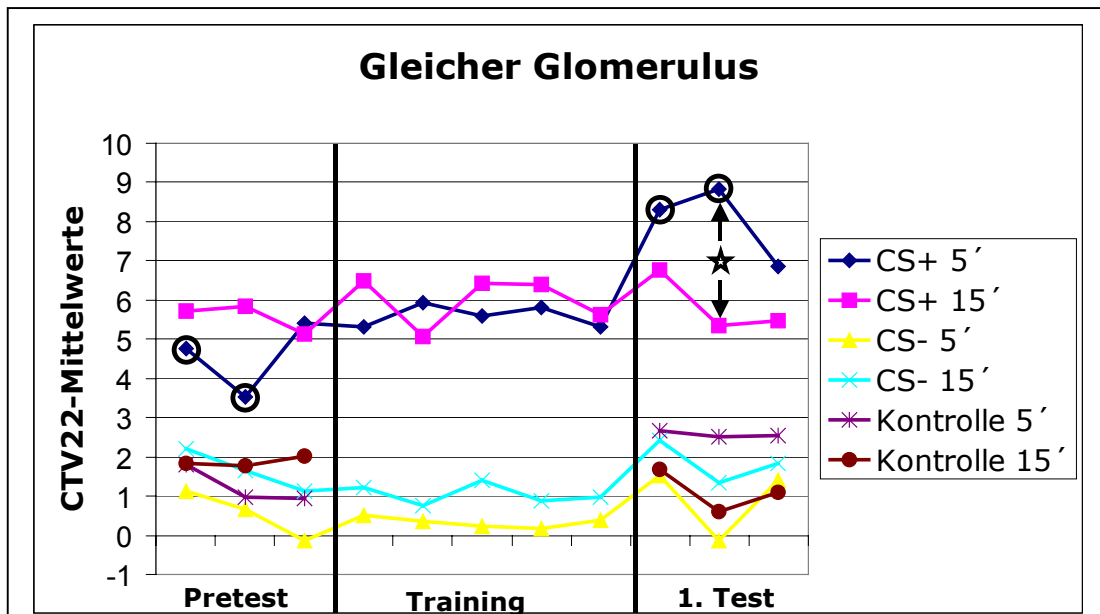
2. Eine weitere Kategorie wurde „Stärkster Glomerulus“ genannt. Hierbei wurde für die jeweils vier verschiedenen Düfte in beiden Gruppen (CS+, CS- und zwei Kontrolldüfte) derjenige Glomerulus ausgewählt, welcher bei der ersten Duftpräsentation des jeweiligen Duftes die stärkste Antwort zeigte. Diese Kategorie wurde eingeführt, um zu überprüfen, ob ein stark aktivierter Glomerulus, welcher nicht notwendigerweise zum Duftmuster gehört, durch einen möglichen Lernerfolg noch weiter verstärkt werden kann und somit dieser Effekt Glomeruli-unspezifisch ist.

3. Als letzte Kategorie wurde der „Duftglomerulus“ eingeführt. Hierbei handelte es sich jeweils um denjenigen Glomerulus, welcher laut Atlas der wichtigste Glomerulus für den jeweiligen Duft ist. Im Gegensatz zur Kategorie „Gleicher Glomerulus“ wurde nun für jeden der vier verschiedenen Düfte in beiden Gruppen (5´ und 15´ Minuten) der Hauptglomerulus ausgewählt. Hiermit sollte geprüft werden, ob die jeweiligen Glomeruli ihr Antwortverhalten dem Duft entsprechend beibehalten. Ein Duftglomerulus eines Kontrollduftes zum Beispiel sollte seine Antwortstärke nach dem Training nicht verändern, da die Kontrolldüfte unter anderem eingeführt wurden, um die Stabilität der Messung zu überprüfen. Eine starke Abnahme in der Kalziumkonzentration bei einem Duftglomerulus eines Kontrollduftes würde die Ergebnisse der anderen Duftglomeruli relativieren.

Zu 1. „Gleicher Glomerulus“

Abbildung 30 zeigt die Mittelwerte der CTV22-Werte für die verschiedenen Zeitpunkte des Experimentes. Die ersten drei Punkte (Pretest) stellen jeweils die drei Duftstimulationen vor der differentiellen Konditionierung dar. Darauf folgt die Trainingsphase mit fünf Duftpräsentationen, allerdings nur für die Düfte CS+ und CS- (Training). Abschließend werden alle Düfte erneut dreimal dargeboten (1.Test).

In Abbildung 30 ist der deutliche Unterschied zwischen CS+ und CS- zu erkennen. Sowohl die CS+ 5` als auch die CS+ 15` Werte liegen deutlich über den entsprechenden CS- Werten, aber ebenso über den Werten für die Kontrolldüfte. Das liegt daran, dass alle Werte von dem Glomerulus stammen, welcher für den CS+ kodiert. Er wird durch den CS+ am stärksten aktiviert, für die drei anderen Düfte zeigt er eine deutlich schwächere Erregung. Die Werte für CS- und die Kontrolldüfte zeigen vor und nach dem Training keine Besonderheiten, die Spuren weisen keine starken Schwankungen

**Abbildung 30:**

Punkte geben die jeweils gemittelten CTV22-Werte (siehe Material und Methoden, 5':n=10, 15':n=22) für den „gleichen Glomerulus“ (siehe Material und Methoden) für die verschiedenen Düfte (CS+, CS- und Kontrolldüfte) im Verlaufe des Experimentes an; Kreise geben signifikanten Unterschied zwischen den entsprechenden Wertepaaren zwischen vorher und nachher an; Sternchen bezeichnet den signifikanten Unterschied zwischen den angezeigten Werten.

auf. Dasselbe gilt auch für den CS+ 15'. Anders verhält es sich beim CS+ 5'. Hier erkennt man recht deutlich, dass der belohnte Duft in dieser Gruppe nach der differentiellen Konditionierung stärker beantwortet wird als vorher. Im Vergleich zwischen den jeweiligen Paaren (erste Präsentation während des Pretests gegen erste Präsentation während des 1. Tests, zweite gegen zweite, dritte gegen dritte) ergeben sich nur für die Wertepaare der 5' Gruppe signifikante Unterschiede (siehe Kreise; ANOVA, 5' Gruppe: $p = 0,039; 0,002; 0,401$ / 15' Gruppe: $p = 0,236; 0,587; 0,677$). Bei den entsprechenden Paaren der Tiere, die 15 Minuten nach dem Training getestet wurden, wird der CS+ nach differentiellen Konditionierung nicht stärker beantwortet.

Ein weiterer wichtiger Aspekt ist die Tatsache, dass der CS+ 5' nicht nur stärker beantwortet wird nach dem Training, sondern dass die Werte in dieser Gruppe auch über denen der 15' Gruppe liegen. Hier findet sich ebenfalls ein signifikanter Unterschied. Während vor dem

Training die Werte sich statistisch nicht unterscheiden, findet sich für das zweite Wertepaar beim 1. Test ein p-Wert von 0,017 (siehe Sternchen). Diese Ergebnisse decken sich gut mit denen aus den Abbildungen 24/27 beziehungsweise 28/29.

Als letztes Merkmal der Abbildung 30 sei auf den Unterschied zwischen den Kurven CS+/CS- 5' und CS+/CS- 15' hingewiesen. Während CS+/CS- 5' vor der differentiellen Konditionierung noch näher beieinander lagen als nach dem Training, wird dieser Unterschied für CS+/CS- 15' nicht so deutlich. Obwohl die Werte der CS- 5'-Kurve nach dem Training nicht kleiner werden, vergrößert sich der Abstand zwischen CS+ und CS- 5' nach dem Training, ein Effekt der für CS+/CS- 15' nicht zutrifft.

Somit ist zumindest auf der Ebene dieses Glomerulus (wichtigster laut Antennallobusatlas) eine Unterscheidung zwischen CS+ und CS- möglich. Diese Unterscheidung ist deutlicher für die Tiere aus der 5' Gruppe.

Zu 2. „Stärkster Glomerulus“

Abbildung 31 zeigt die entsprechenden Ergebnisse für den jeweils bei der ersten Duftpräsentation am stärksten antwortenden Glomerulus. Zum einen fällt auf, dass sowohl für die 5' als auch für die 15' Tiere während der differentiellen Konditionierung die Unterscheidung zwischen CS+ und CS- deutlicher ausgeprägt ist als vor dem Training. Allerdings zeigt sich nach dem Training ein anderes Bild. Während für die 15' Tiere diese Unterscheidung nicht mehr sichtbar ist, liegen die entsprechenden Wertepaare der 5' Tiere immernoch deutlich auseinander. Für das zweite Wertepaar ergibt sich ein p-Wert von 0,016. Für beide Tiergruppen findet sich kein signifikanter Unterschied zwischen CS+ vorher und nachher, das heißt in keinem Fall ist ein Lernerfolg in diesem Glomerulus festzustellen. Das wiederum bedeutet, dass ein von Beginn an stark

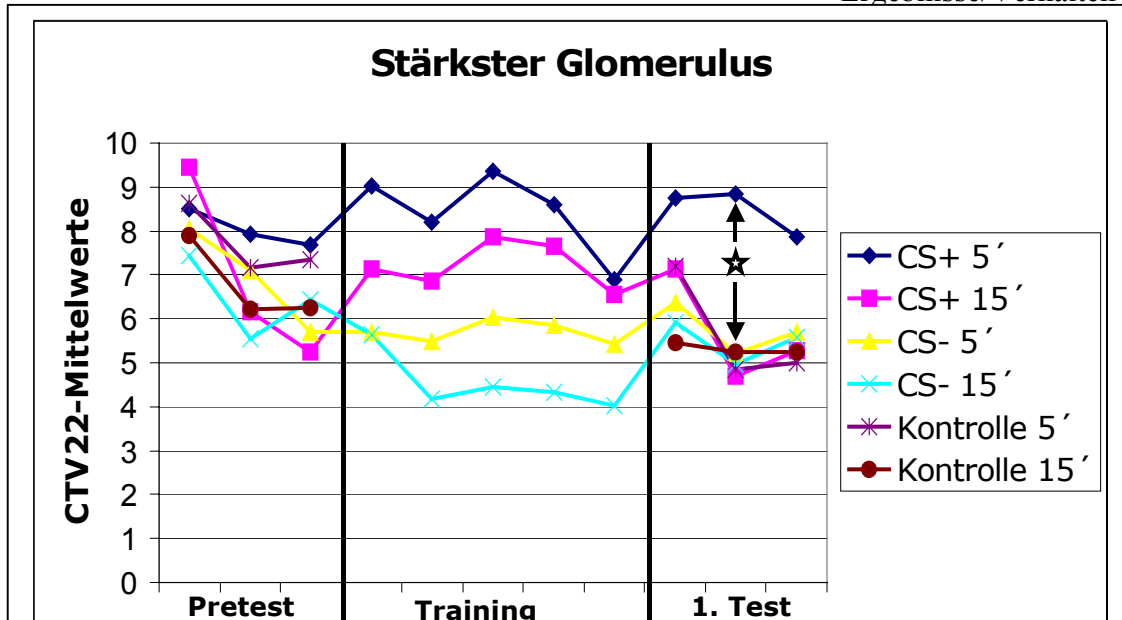


Abbildung 31:

Punkte geben die jeweils gemittelten CTV22-Werte (siehe Material und Methoden, 5':n=10, 15':n=22) für den „stärksten Glomerulus“ (siehe Material und Methoden) für die verschiedenen Düfte (CS+, CS- und Kontrolldüfte) im Verlaufe des Experimentes an; Sternchen bezeichnet den signifikanten Unterschied zwischen den angezeigten Werten.

antwortender Glomerulus seine Antwortstärke nicht erhöht beziehungsweise nicht erhöhen kann. Für das gesamte Duftmuster bedeutet dies, dass der am stärksten antwortende Glomerulus nicht notwendigerweise der wichtigste Glomerulus im Sinne eines sichtbaren Lernerfolges (verstärkte Antwort nach dem Training) ist. Als letztes sei in dieser Abbildung noch auf den Unterschied zwischen den CS+ 5' und 15'-Werten hingewiesen. Ähnlich wie auch schon in Abbildung 30 findet sich ein signifikanter Unterschied im zweiten Wertepaar ($p = 0,025$) nach dem Training. Dieses Ergebnis deckt wie auch schon die Ergebnisse aus Abbildung 30 gut mit denen aus den Abbildungen 24/27 beziehungsweise 28/29.

Zu 3. „Duftglomerulus“

Abbildung 32 zeigt die entsprechenden Ergebnisse für den jeweiligen Duftglomerulus, das heißt das für alle vier Düfte (CS+, CS- und die beiden Kontrolldüfte) jeweils derjenige Glomerulus ausgewählt wurde, welcher laut Antennallobusatlas der wichtigste für den entsprechenden Duft ist. Die Spuren für den CS+, sowohl

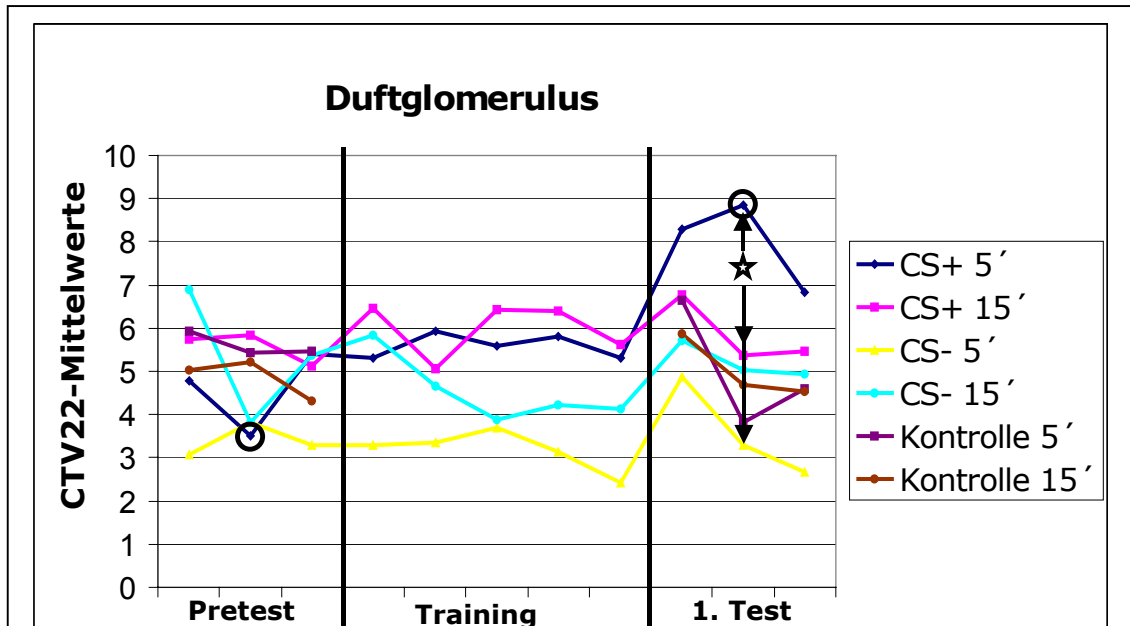


Abbildung 32:

Punkte geben die jeweils gemittelten CTV22-Werte (siehe Material und Methoden, 5':n=10, 15':n=22) für den „Duftglomerulus“ (siehe Material und Methoden) für die verschiedenen Düfte (CS+, CS- und Kontrolldüfte) im Verlaufe des Experimentes an; Kreise geben signifikanten Unterschied zwischen den entsprechenden Wertepaaren zwischen vorher und nachher an; Sternchen bezeichnet den signifikanten Unterschied zwischen den angezeigten Werten.

5' als auch 15', sind mit denen aus Abbildung 30 identisch, da es sich um dieselben Glomeruli handelt. Lediglich die Werte für den CS- und den Kontrolldüften stammen von anderen Glomeruli. Die Unterschiede zwischen den CS+ Werten sind demnach dieselben wie in Abbildung 30. Auch in dieser Abbildung wird der CS+ 5' nach dem Training stärker beantwortet als vorher, ein Effekt der nicht auf die 15' Gruppe zutrifft. Der Unterschied ist für das zweite Wertepaar der 5' Tiere signifikant ($p = 0,008$). Ebenso signifikant ($p = 0,016$) ist der Unterschied zwischen dem zweiten Wertepaar im CS+/CS- 5' Vergleich; dies gilt nicht für die 15' Gruppe.

Die Hauptmerkmale dieser Abbildungen (30, 31 und 32) sind zusammengefasst, dass der CS+ nach dem Training stärker beantwortet wird als vor dem Training. Dies ist zwar nur für das zweite Wertepaar signifikant, jedoch ist eine deutliche Tendenz insgesamt zu erkennen. Diese Verstärkung tritt nicht beim CS- auf

und ebenso wenig bei den Kontrolldüften. Außerdem wird der CS+ gegenüber dem CS- nach dem Training stärker beantwortet. Ein Effekt der vor der differentiellen Konditionierung noch nicht sichtbar ist. Diese Merkmale gelten allerdings nur für die 5´Gruppe. Ein weiterer wichtiger Aspekt ist, dass nach dem Training der CS+ durch die 5´Tiere gegenüber den 15´Tieren stärker beantwortet wird.

Zum Abschluss sei an dieser Stelle noch von zwei interessanten Beobachtungen berichtet. Das erste Phänomen ist in Abbildung 33 zu erkennen. Dargestellt sind in der linken Spalte die aus drei Bildern gemittelten Falschfarbenbilder der vier verschiedenen Düfte vor der differentiellen Konditionierung. Die rechte Spalte zeigt dieselben Düfte nach dem Training. Durch die roten Pfeile sind Glomeruli angezeigt, die nach dem Training verstärkt antworten. Gleichzeitig tun sie dies aber auch für die Kontrolldüfte. Besonders stark fällt diese gesteigerte Aktivierung für den unteren Kontrollduft auf. Dessen Muster zeigt eine recht große Überlappung mit dem CS+ (CS+ = OC; Kontrollduft = HX). Allerdings tritt eine Verstärkung auch auf, wenn die Überlappung nicht so groß ist (oberer Kontrollduft). Derartige Verstärkungen von Glomeruli bei nicht belohnten Düften finden sich teilweise auch, wenn das Muster des CS- mit dem des CS+ überlappend ist. Dabei führt die Aktivierung dieser Glomeruli durch den CS- ebenso zu einer verstärkten Antwort, vielleicht weil sie bereits in einem anderen Kontext (CS+) eine gesteigerte Aktivierung zeigten. Es handelt sich hierbei um ein Phänomen, das man bei Bienen (unter anderem) aus dem Verhalten kennt, nachdem sie einen Duft gelernt haben. Es kommt vor, dass das Tier nach dem Lernakt den Lerninhalt (belohnter Duft) auf einen anderen Duft (zum Beispiel unbelohnten Duft) überträgt. Man spricht dann von Generalisierung.

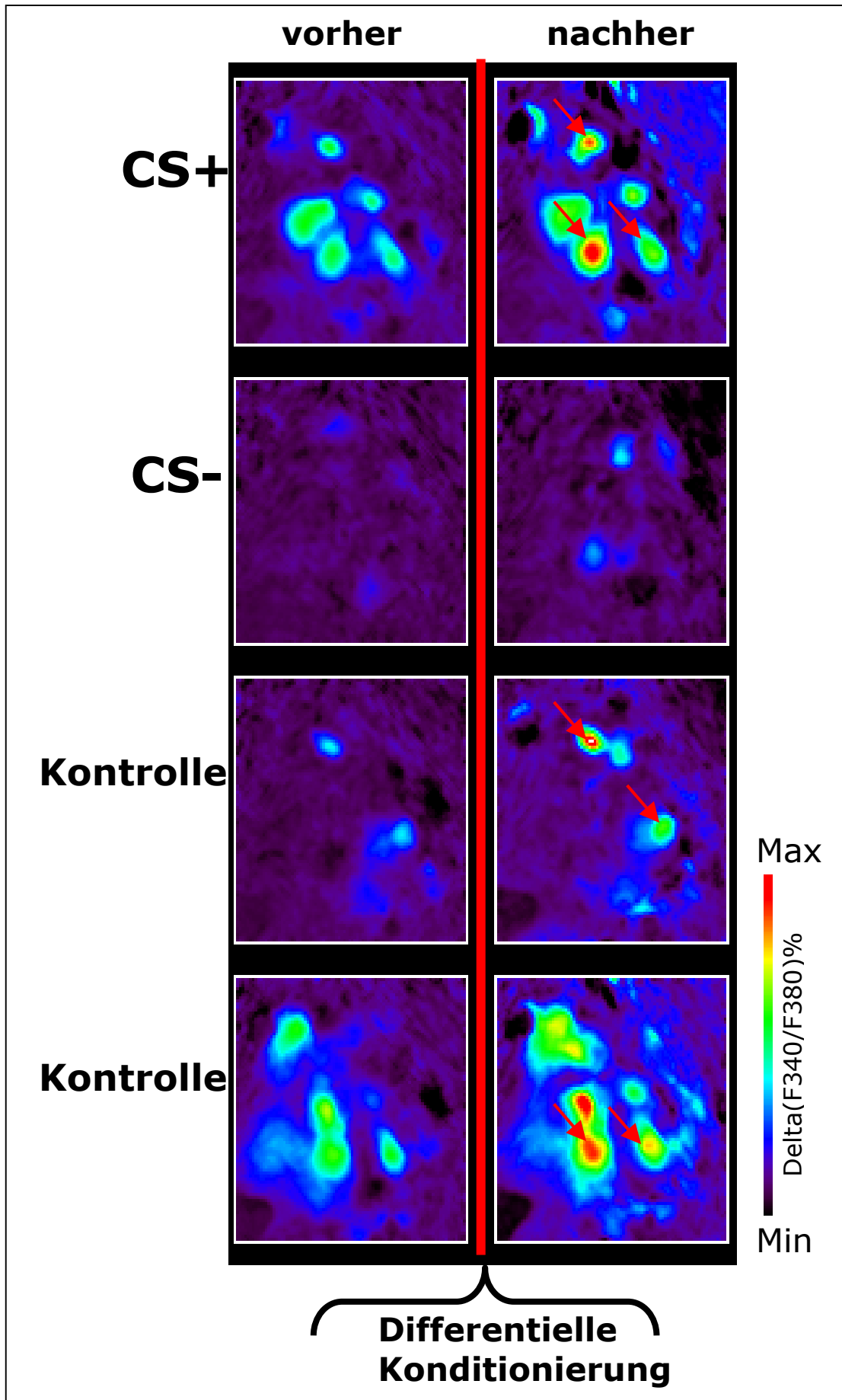
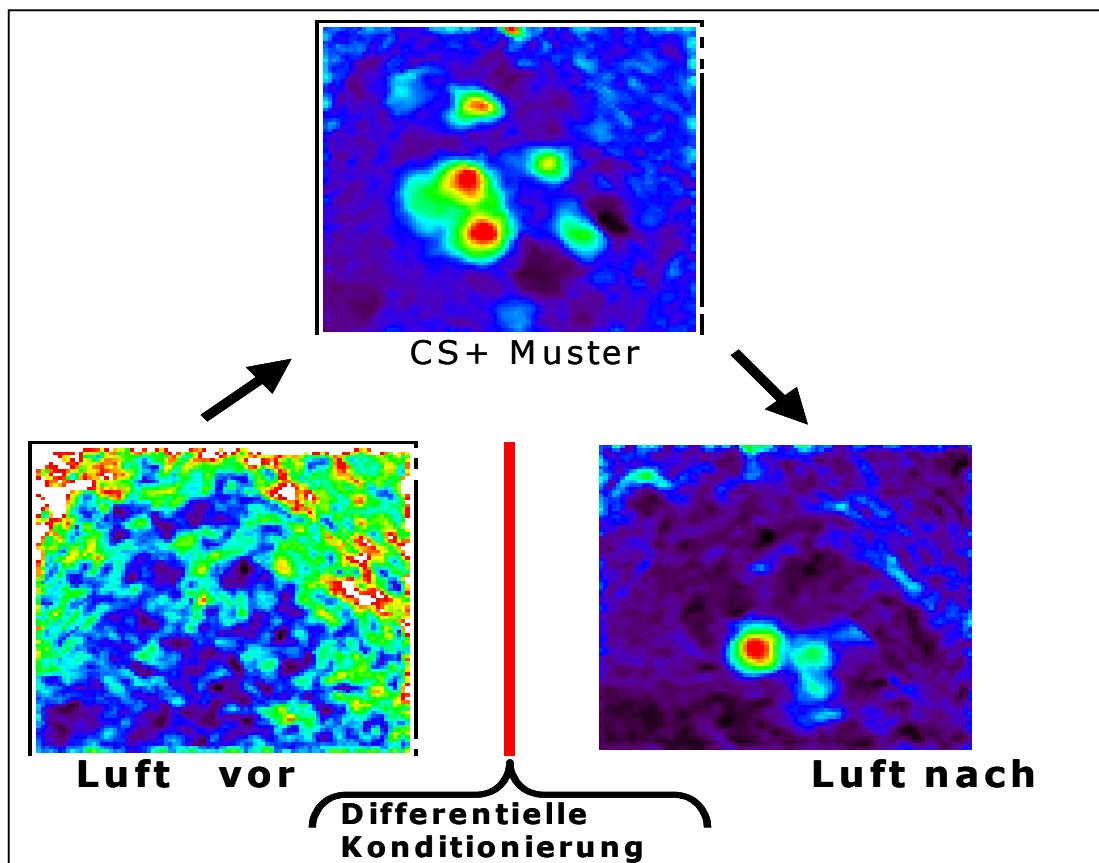


Abbildung 33:

Aktivitätsmuster der verschiedenen Düfte (CS+,CS- und zwei Kontrolldüfte) vor (linke Spalte) und nach (rechte Spalte) der differentiellen Konditionierung; Pfeile deuten auf dieselben Glomeruli; eine verstärkte Aktivierung findet auch für die Kontrolldüfte in den angezeigten Glomeruli statt.

Ein weiteres Phänomen, welches beobachtet werden konnte, ist die Aktivierung einzelner Glomeruli des Musters des belohnten Duftes während der „Luftmessung“. Hierbei erfolgt die Messung ohne einen Duft zu präsentieren. Abbildung 34 zeigt ein Beispiel dafür. Vor der differentiellen Konditionierung erkennt man, dass während der Luftmessung keine Aktivität im Antennallobus zu erkennen ist.

**Abbildung 34:**

Aktivitätsmuster während der Luftmessung (konstanter Luftstrom) vor (links unten) und nach (rechts unten) der Konditionierung; Muster des konditionierten Duftes oben.

Während des Trainings wurde in diesem Fall das Muster positiv konditioniert, welches in der Abbildung oben zu sehen ist. Hinterher erfolgte erneut eine Luftmessung und man erkennt nun einen Glomerulus des CS+ Musters sehr deutlich. Bei der Betrachtung der Zeitspur dieses Glomerulus fällt auf, dass er nicht nur einmal aktiviert wird, sondern während der gesamten Messung immer wieder spontan aktiv ist. Diese Aktivität ist zwar nie so stark wie bei einer Aktivierung durch den Duft selbst, aber dennoch hebt sie sich deutlich von der restlichen spontanen Aktivität ab. Es sind allerdings auch andere Glomeruli stärker als vor dem Training spontan aktiv. Dies ähnelt den Beobachtungen aus den Spontanaktivitätsexperimenten (siehe dort). Ob allerdings in diesem Fall auch eine erhöhte Korrelation zwischen den Duftglomeruli auftritt, ließ sich aufgrund der zu kurzen Messungen nicht feststellen.