

Teil III

5 Interneurone des windsensitiven prosternalen Systems von *Locusta migratoria*: Die Verschaltung von Rezeptorinformation

5.1 Einleitung

Die präzise Bestimmung der Richtung eines Reizes ist in vielen Verhaltenskontexten von entscheidender Bedeutung für einen Organismus, so beim Fluchtverhalten, der Partnerfindung und bei der Suche nach Nahrungsquellen. Die der Ortung zu Grunde liegenden Mechanismen sind an sehr verschiedenartigen Modellsystemen eingehend untersucht worden, z.B. an den auditorischen Bahnen von Schleiereule (Knudsen, 2002) und Heuschrecken (Hennig et al., 2004), an den cercalen Systemen von Grillen (Miller et al., 1991) und Schaben (Daley und Camhi, 1988), am Biegereflex des Blutegels (Lewis und Kristan, 1998) und am visuellen System der Fliege (Single und Borst, 1998).

Vergleichende Studien, insbesondere an Invertebraten mit kleinen Nervennetzen, eröffnen zahlreiche Möglichkeiten zum Studium genereller Reizverarbeitungsmechanismen, sowohl auf Verhaltens- als auch auf zellulärer Ebene. Ein wichtiger Ansatz, die Wirkungsweise eines neuronalen Schaltkreises zu verstehen, ist die Aufklärung der Signalverarbeitungseigenschaften seiner Einzelelemente. Ein besonderer Vorzug vieler Invertebratensysteme ist deshalb die Existenz von diskreten, jeweils physiologisch einmaligen Netzwerkelementen, welche leicht zu separieren sind. So ist, im Unterschied zu typischen Vertebratensystemen, ein spezifisches Verhaltensmuster durch Ausschalten einzelner identifizierbarer Neurone hier vergleichsweise einfach manipulierbar (Levi und Camhi, 2000a; Lewis und Kristan; 1998; Ronacher und Stumpner, 1988).

Sensorische Elemente windsensitiver Systeme: Die auch von einem extrem schwachen Windstrom auslenkbaren filiforme Haare finden sich bei vielen Insekten (Keil, 1997), u.a. bei Orthopteren (Watson und Pflüger, 1984; Kalogianni, 1995), am Rumpf von Raupen (Lepidoptera; Tautz, 1977) und an den Antennen von Käfern (Drasler, 1973). Das gleiche Bauprinzip ist bei den Trichobothrien von Spinnentieren verwirklicht (Barth, 2000).

Die hier vorliegende Arbeit befasst sich mit dem prothorakalen windsensitiven System der Wanderheuschrecke. Besonders dessen periphere sensorische Elemente, die filiformen Haare, ähneln denen anderer Arthropoden. Das Außenglied des kutikularen Apparates bildet immer ein feines Haar unterschiedlicher Gestalt und Größe. Die prosternalen filiformen Haare der Wanderheuschrecke sind 100 bis mehrere hundert Mikrometer lang und an der Basis etwa 2-3 μm breit (Watson und Pflüger, 1984). Filiforme Haare sind an der Basis oft von einer becherartigen, die Bewegungsrichtung einschränkenden Struktur umgeben und über eine elastische Membran mit der Kutikula verbunden. Bei prosternalen Rezeptorneuronen von *Locusta* ist jeweils nur ein Dendrit über seine Hülle indirekt mit dem Haaraußenglied verbunden.

Die am Haar wirkenden Kräfte sind nicht gleichmäßig über die Haarlänge verteilt, sondern folgen einem Gradienten. Die Verteilung der Kräfte lässt sich durch die Annahme einer Grenzfläche (boundary layer) verstehen: wenn Luft über eine Oberfläche strömt, so ergibt sich ein Geschwindigkeitsgradient, weil aufgrund von Reibung die Geschwindigkeit direkt an der Oberfläche gleich 0 ist (Barth, 2000). Dabei sind zum Beispiel die Triochothrien von Spinnen sehr genau auf die Geschwindigkeitsverteilung an der Grenzfläche abgestimmt (Barth et al., 1993). Aber auch eine Abstimmung auf den, für das jeweilige Verhalten relevanten, Stimulus ist von immenser Bedeutung. Erst kürzlich zeigten Magal et al. (2006), dass der Frequenz- und Geschwindigkeitsbereich, in welchem das windsensitive System der Grille optimal arbeitet, auf solche Werte angepasst ist, die mit denen sich nähernder Angreifer gut korrespondieren.

Neuronale Repräsentation von sensorischer Information und Verarbeitung von Richtungsinformation: Ein typisches Organisationsprinzip vieler sensorischer Systeme ist die Repräsentation der relevanten Reizparameter in neuronalen Karten. Rezeptorzellen oder Projektionsneurone, welche sich in ihrer Reizpräferenz unterscheiden, projizieren dabei in verschiedene Ganglien- oder Hirnbereiche. Ein bestimmter sensorischer Stimulus wird deshalb jeweils ein für ihn spezifisches zeitlich-räumliches Antwortmuster innerhalb einer solchen Karte hervorrufen. So sind frequenzspezifische Neurone des auditorischen Systems der Schleiereule tonotopisch organisiert, bis hinauf zur Ebene des primären auditorischen Feldes (Knudsen, 2002). Die Projektionen retinaler Ganglionzellen bilden im optischen Tectum (Frösche, Fische und Hühner) oder im superioren Culliculus (Säuger) räumliche Strukturen, die eine Karte der Retina und also auch des visuellen Raumes konstituieren (McLaughlin, 2003). Bei Ratten wird die Information der Tasthaare als somatotope Karte für

Bewegungsrichtung im primären somatosensorischen Cortex abgebildet (Andermann und Moore, 2006). In *Drosophila* und Honigbiene rufen Düfte jeweils spezifische räumliche Aktivitätsmuster in den Glomeruli des Antennallobus hervor (Galizia et al. 1999). Im visuellen System der Fliege bilden elementary motion detectors (EMDs) ein räumliches Muster in der Medulla, und lokale Signale der EMDs erregen bewegungsselektive visuelle Interneurone. Letztere Untersuchung demonstriert darüber hinaus, wie bedeutsam die Lage von Dendriten innerhalb einer Karte für die Integrationseigenschaften eines Neurons ist (Single und Borst, 1998).

Auf welche Weise die Information von topographisch organisierten Rezeptorzellpopulationen durch Interneurone ausgelesen wird, ist detailliert an den windsensitiven Systemen von Grille und Schabe untersucht worden. Da beide Systeme viel funktionelle und anatomische Ähnlichkeit aufweisen, werden sie hier gemeinsam besprochen. Die filiformen Sensillen sind in einem hoch stereotypen räumlichen Muster angeordnet, Sensillen mit verschiedener Auslenkungspräferenz bilden verschiedene Gruppen auf dem Cercus (Grille: Landolfi und Jacobs, 1995; Schabe: Thompson et al., 1992). Jede der vier Hauptklassen von Afferenzen der Grille projiziert in unterschiedliche Regionen des cercalen Glomerulus des Terminalganglions. Dort wird deren Information auf *giant interneurons* (Gis) verschaltet (Bacon und Murphey, 1984). Letztere sind beteiligt an der Berechnung der Drehbewegung, mit der das Tier die Flucht einleitet (Camhi und Tom, 1978; Comer, 1985, Tauber und Camhi, 1995).

Die Verteilung der verschiedenen Rezeptorneuronklassen ist ungleichmäßig, und die Windrichtung ist nicht in einer kontinuierlichen Weise auf dem Cercus der Grille repräsentiert (Bacon und Murphey, 1984). Deshalb können Rezeptoren in unmittelbarer Nachbarschaft völlig unterschiedliche Stimuluspräferenzen besitzen, anders als beispielsweise bei retinotopen Karten. Eine kontinuierliche und gleichmäßige Repräsentation der Windrichtungen im Terminalganglion kann also nicht durch eine direkte Punkt zu Punkt - Abbildung der Cercusoberfläche im ZNS erreicht werden (Paydar et al. 1999). Vielmehr wird eine kontinuierliche Karte der Windrichtung erst im ZNS durch die anatomische Anordnung der Rezeptorneuronaxone hergestellt. Afferenzen mit ähnlicher Richtungscharakteristik terminieren dabei in unmittelbarer Nachbarschaft und bilden im ZNS ein globales Organisationsmuster: Sie sind spiralförmig angeordnet, wobei die Stimulusrichtung kontinuierlich um diese Spirale abgebildet ist.

Eine grundlegende Anforderung an sensorische Systeme ist die Optimierung der Auflösung der relevanten Eigenschaften eines Stimulus. Die Tuningkurven verschiedener Interneurone

innerhalb einer Karte haben typischerweise verschiedene Aktivitätsoptima. Soll, wie im Falle der GIs, die Richtung eines Stimulus bestimmt werden, so ist die Auflösung des Stimuluswinkels begrenzt durch die Breite und den Abstand der Tuningkurven der verschiedenen Interneurone. Ein bekanntes Phänomen ist aber, dass die Auflösung eines Stimulusparameters auf Verhaltensebene höher ist als auf Ebene individueller Rezeptorneurone und Interneurone verschiedener Verarbeitungsstufen („hyperacuity“). Im Falle des cercalen Systems wurden deshalb verschiedene Mechanismen vorgeschlagen, die zur Schärfung der Tuningkurven auf verschiedenen neuronalen Ebenen beitragen. Jacobs et al. (1986) untersuchten ein GI mit drei separaten Dendritenbäumen, wobei erst kürzlich mittels Ca^{2+} Imaging gezeigt werden konnte, dass die verschiedenen Dendritenbereiche tatsächlich unterschiedliche Richtungscharakteristika aufweisen (Ogawa et al., 2004). Die präzise Spike-Antwort des Neurons war durch einfache Summation der exzitatorischen Information dieser drei Bereiche nicht zu erklären (Jacobs et al., 1986). Vielmehr bewirkten nicht identifizierte polysynaptische inhibitorische Bahnen eine Kontrastverschärfung. Da die Entfernung einer Synapse von der spikenitierenden Zone (SIZ) einen entscheidenden Einfluss auf die Wichtung eines synaptischen Eingangs haben kann, wurde mittels Ablationsexperimenten der Ort der SIZ bestimmt und die verschiedene Wichtung der Eingänge aufgrund der elektrotonischen Architektur des Dendritenbaums erklärt. Um zu klären, ob eine kooperative oder wechselseitige inhibitorische Verrechnung von Information der Verhaltensantwort der Grille letztlich zu Grunde liegt, prüften Levi und Camhi (2000a & 2000b) verschiedene theoretische Modelle. Die präzise Richtungsantwort war dabei durch ein auf Inhibition basierendes winner-take-all Modell nicht zu begründen (Levi und Camhi, 2000a). Eher deuten die Ergebnisse auf kooperative Mechanismen der Prozessierung der Information der GIs hin (*population vector coding*, Levi und Camhi 2000b. Vgl. auch Lewis und Kristan, 1998, zur Repräsentation eines „kartesischen“ Koordinatensystems in der Netzwerkaktivität von vier Neuronen.)

Einige wesentliche Hinweise zu Mechanismen der Verarbeitung von Richtungsinformation in kleinen Netzwerken wurden an auditorischen Systemen von Orthopteren gesammelt und sollen hier exemplarisch dargestellt werden. Ein stark limitierender Faktor für jede Richtungsverarbeitung, die auf dem Vergleich ipsi- und kontralateraler Eingänge beruht, ist die geringe Größe der Tiere. Weil die zwei zu vergleichenden „Sensoren“ (Tympana) nur wenige Millimeter voneinander entfernt sind, beträgt der Zeitunterschied der Oszillationen an beiden Tympana nur Mikro- oder Millisekunden und sind die Intensitätsunterschiede gering

(1,5 ms bzw. 1,6 dB; von Helversen und Rheinländer, 1988). Als möglicher zentralnervöser Mechanismus des Vergleichs von ipsi- und kontralateraler Information wurde eine reziproke Inhibition auf Ebene der Interneurone angenommen. In Grillen, die über das vergleichsweise einfachste auditorische Netzwerk verfügen, schalten sensorische Fasern auf nur 3 Paare bilateraler Interneurone (Hennig, 1988; Pollack, 1994). In diesem Schaltkreis wird eine richtungsabhängige Inhibition durch ein Paar lokaler Interneurone vermittelt (ON1). Dabei erfährt die zum Stimulus ipsilaterale Zelle stärkeren exzitatorischen Eingang als die kontralaterale. Beide ON1 sind rekurrent inhibitorisch verschaltet, weshalb das ipsilaterale Neuron sowohl die AP-Zahl im kontralateralen ON1 verringert, als auch dessen Latenz vergrößert. Das heißt der Kontrast zweier entscheidender Parameter wird durch diese Form wechselseitiger Hemmung erhöht (Selverston et al., 1985).

Vergleich zweier windsensitiver Systeme: Ähnliche sensomotorische Aufgaben werden bei verschiedenartigen Organismen oft durch unterschiedliche Strukturen gelöst, mitunter sogar unter Anwendung abweichender Mechanismen. So sind Rezeptorneurone und Tympana von Laubheuschrecken und Wanderheuschrecken vergleichsweise ähnlich, dennoch unterscheiden sich die zentralnervösen Elemente in Morphologie und Physiologie zum Teil erheblich (Hennig et al., 2004). Das mag daran liegen, dass in dem nicht homogen segmentierten Insektenthorax, einmal prothorakale und einmal vorwiegend metathorakale Interneurone das auditorische System bilden. Demgegenüber finden sich bemerkenswerte Ähnlichkeiten bei den cercalen Systemen vieler Insekten (für Grillen und Schaben s.o.; für *Locusta*: Boyan und Ball, 1990). Deren zentralnervöse Elemente liegen grundsätzlich im Terminalganglion. Sogar wenn sich beispielsweise, wie bei Hausgrillen (*Acheta domestica*) und Höhlengrillen (*Troglophilus neglectus*), die cercalen Strukturen unterscheiden, sind die Interneurone des Netzwerks dennoch sehr ähnlich (Schrader et al. 2002).

Wie vergleichbare Aufgaben trotz deutlich abweichender Baupläne gelöst werden, kann einerseits Einblicke in die zu Grunde liegenden generellen Prinzipien sensorischer Informationsverarbeitung eröffnen. Andererseits sind so wichtige Hinweise zu gewinnen, wie Limitierungen aufgrund des Bauplanes auch physiologische Konsequenzen bedingen. Eine solche Möglichkeit bietet sich durch den Vergleich cercaler sensorischer Systeme im Terminalganglion einerseits und dem prothorakalen windsensitiven System der Wanderheuschrecke andererseits. Beide Schaltkreise wurden bereits in Teil I (prothorakales System) bzw. in dieser Einleitung vorgestellt. Deshalb sollen an dieser Stelle ausschließlich die relevanten Unterschiede zwischen beiden erläutert werden.

Die filiformen Haare inserieren auf völlig unterschiedlichen Kutikula-Bereichen. Während die Cerci vergleichsweise freistehende Körperanhänge sind, bildet die prosternale Kutikula von *Locusta* eine Struktur, die selbst und im nahen Umfeld (Kopf, Vorderbeine) komplex strukturierte Barrieren für den Luftstrom aufweist. Daneben unterscheidet sich die Anzahl der Rezeptorzellen fast um den Faktor zehn: Trägt jeder Cercus bei einer adulten Grille etwa 1000-2000 filiforme Haare (Landolfa und Jacobs, 1995), so sind es je Hemisphäre auf dem Prosternum lediglich etwa 150. Die je Stadium angelegten Rezeptorzellen bei der Grille lassen sich auf jeder Seite in vier physiologisch unterscheidbare Gruppen einteilen, Gruppen, die auch jeweils in separate Gebiete des Terminalganglions einziehen. Bei *Locusta* findet sich keine solche Ordnung. Die Afferenzprojektionen einer Altersklasse lassen sich nur in zwei Gruppen unterteilen, die eine unterschiedliche Lateralisierung aufweisen – probasisternale Rezeptoren ziehen nach kontralateral im Prothorakalganglion, laterale proepisternale Rezeptorzellen ziehen nach ipsilateral.

Die zentralnervösen Elemente sind nur für das cercale System eingehend untersucht worden. Zwei wesentliche Mechanismen sind dabei entscheidend für die Richtungscharakteristik: Einerseits sind die Projektionen von Rezeptorzellklassen und GIs jeweils für eine Richtung spezifisch (*neuronal map*). Die GIs bilden dabei einen Satz leicht identifizierbarer und wieder auffindbarer Interneurone. Andererseits bewirken inhibitorische Bahnen eine bessere Auflösung des Stimuluswinkels. Die Quellen dieser kontrastverschärfenden Inhibitionen sind jedoch nicht bekannt. Für *Locusta* ist demgegenüber bislang nur ein einziges Interneuron (A4I1) des Schaltkreises bestimmt worden. Das A4I1 zeigt ebenfalls eine Richtcharakteristik, die sich während der postembryonalen Entwicklung verschärft (Bucher und Pflüger, 2001). Dieses Interneuron projiziert aber in sämtliche Gebiete, in denen auch alle Rezeptorzellen terminieren (Mentel, 1999). Darüber hinaus macht es monosynaptischen, exzitatorischen Kontakt mit den Afferenzen. Inhibitorische Eingänge sind nicht bekannt. Die vergleichsweise grob aufgelöste und nur graduell richtungsspezifische Antwort des Neurons basiert deshalb wahrscheinlich auf einem einfachen Auslesen exzitatorischer Information. Dabei differiert die Zahl erregter Afferenzen, die auf eines der beiden A4I1 verschalten, in Abhängigkeit von der Stimulusrichtung.

Ein bislang ungeklärtes Paradox für *Locusta* ist ein komplexer postembryonaler Umbauprozess, bei der der ipsilaterale Ast probasisternaler Rezeptorzellen vollkommen zurückgebildet wird und nur der kontralaterale Ast verbleibt (Pflüger et al., 1994). Das resultierende Verschaltungsmuster des A4I1 im adulten Tier erscheint deshalb für ein nur exzitatorische Information auszählendes Interneuron kontraintuitiv (vgl. Abb. 5.17, rechts):

Zwar wird es maximal von ipsilateral erregt, jedoch verschalten sowohl die ipsilateralen proepisternalen als auch die kontralateralen probasisternalen Rezeptorzellen auf das A4I1. Besser verständlich wäre dagegen für ein Interneuron mit solcher Richtungscharakteristik, wenn beide ipsilaterale Rezeptorpopulationen mit dem ipsilateral gelegenen A4I1 Kontakt machten und sämtliche kontralaterale Afferenzen mit dem kontralateralen A4I1 verschalteten. In der vorliegenden Arbeit werden einerseits weitere Elemente des prothorakalen windsensitiven Netzwerks beschrieben und somit ein Hinweis auf dessen bislang unbekannte Komplexität gegeben. Dabei eröffnet die Verschaltung eines Neurons (ProWIn2) die Möglichkeit, das kontraintuitiv erscheinende Projektionsmuster der Rezeptorzellklassen zu erklären.

Andererseits sollen in einem vom Cercalsystem deutlich verschiedenen, aber dennoch in einem ähnlichen Verhaltenskontext stehenden, Schaltkreis, die morphologischen und physiologischen Besonderheiten von Verschaltung und Prozessierung geklärt werden. Die Frage nach funktionellen Analogien, d.h. danach ob im prothorakalen windsensitiven System eventuell ähnliche Mechanismen wie in gänzlich anderen richtungsverarbeitenden Schaltkreisen genutzt werden, wird diskutiert.

5.2.1 Anatomische Merkmale windsensitiver Interneurone des Prothorakalganglions (ProWIn2, Win3 & Win4)

Um bislang unbekannte Neurone des prothorakalen Netzwerks zur Verarbeitung von Windinformation aufzufinden, wurden Luftpulse auf ein isoliertes Ganglienpräparat (vgl. Teil I) gelenkt. Meist wurde im Konnektiv unmittelbar posterior des Prothorakalganglions intrazellulär abgeleitet. Während das A4I1 fast mittig im Konnektiv, nahe einer auffälligen Trachee liegt, fanden sich die meisten anderen Neurone mit Windantwort am inneren Rand des Konnektivs, d.h. im Konnektiv sehr median bezüglich der longitudinalen Mittellinie des Tieres (vgl. Abbildung 5.1, Pro und Meso). Um auch meso- oder metathorakale Bereiche zu markieren und die Diffusionsstrecken des Tracers zu minimieren, war der Ableitort in einigen Fällen näher am Mesothorakalganglion gelegen.

Alle abgeleiteten Neurone, die sich hinsichtlich ihres Antwortverhaltens oder ihrer Lage vom A4I1 unterschieden, wurden angefärbt.

ProWIn2: Das ProWIn2 (*Prothoracic Wind sensitive Interneurone 2*) ist das bislang einzige identifizierte Interneuron mit Windantwort, dessen Zellkörper im Prothorakalganglion liegt (Abbildung 5.1). Exemplare dieses Zelltyps konnten sechs Mal gefärbt werden.

Im Gegensatz zum A4I1 (vgl. Abb. 3.1) verzweigt das ProWIn2 bilateral im Prothorakalganglion. Sowohl die ipsi- als auch die kontralateralen Verzweigungsgebiete des ProWIn2 waren vornehmlich ventral bis median. Lediglich in der Mitte der anterior-posterioren Achse, als auch im posterioren Bereich fanden sich dorsale Verzweigungen. Auf beiden Seiten existierten sehr dünne Verzweigungen hoher Ordnung, vornehmlich in ventralen Neuropilgebieten, etwa im Bereich der VACs. Die minimalen Durchmesser betragen zirka 0,5-0,7 μm . Ein auffälliger erst nach anterior, dann nach median ziehender Ast existierte nur auf der ipsilateralen²⁴ Seite des ProWIn2 (Pfeil * in Abb. 5.1 unten rechts).

²⁴ Die Angaben ipsilateral und kontralateral beziehen sich jeweils auf die Lage gegenüber dem absteigenden Axon.

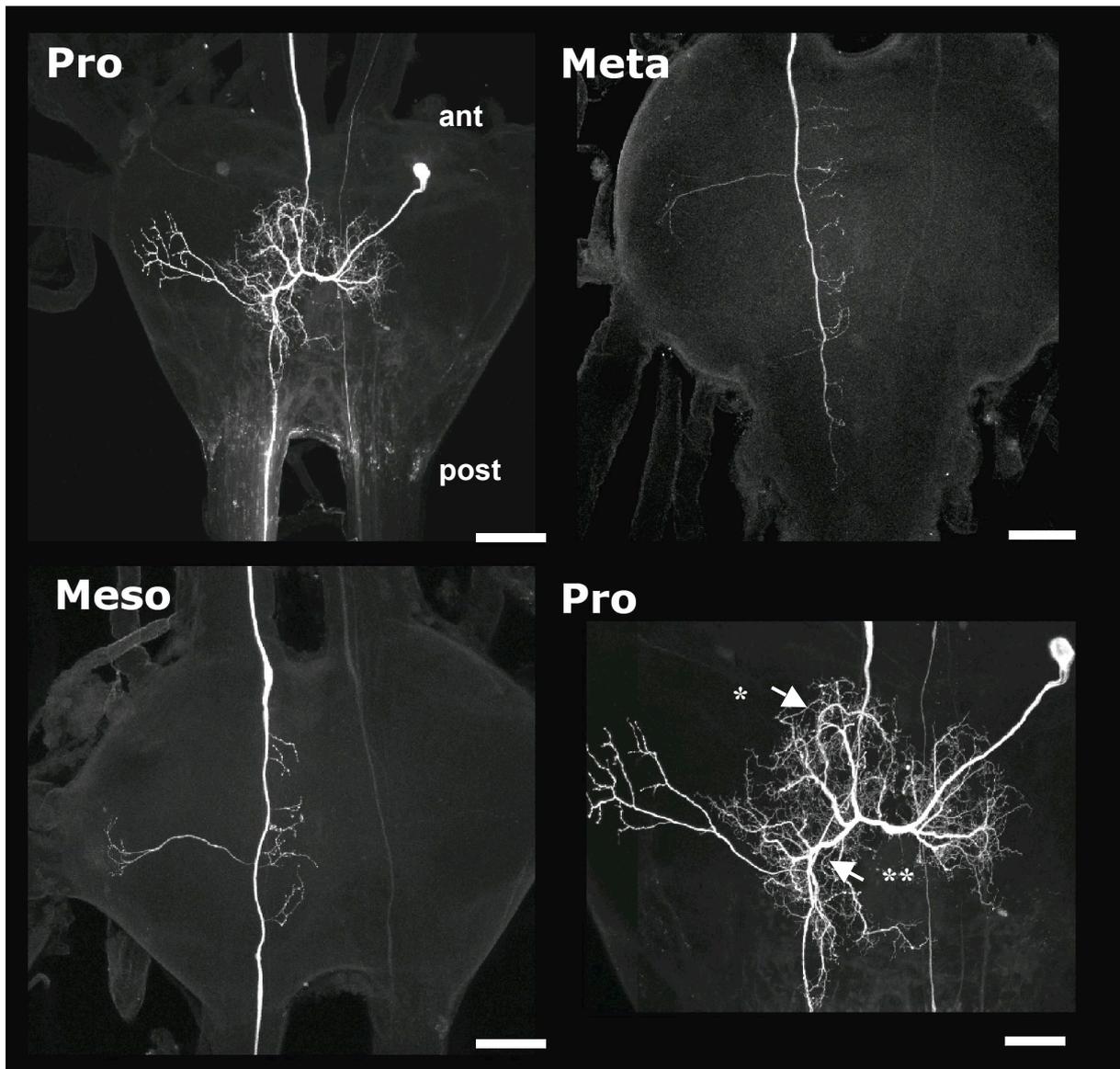


Abb. 5.1: Das windsensitive Interneuron ProWIn2 verzweigt blateral im Prothorakalganglion (**Pro**) und bleibt unilateral in meso- (**Meso**) und metathorakalen (**Meta**) Ganglien. Der Zellkörper befindet sich im Prothorakalganglion. Ein aufsteigender Neurit zieht nach anterior in Richtung SOG. Konfokale Aufnahmen als Projektionsansichten von ventral. Pro, Meso, Meta: 10x-Luft Objektiv; Pro unten rechts: 20x-Öl Objektiv; Markierung: Neurobiotin/Streptavidin-CY5. ant=anterior. post=posterior. Skalierungsbalken=100 μm ., mit Ausnahme Pro unten rechts=50 μm (für Pfeile vgl. Text)

Bemerkenswert war, dass auf- und absteigendes Axon nur an einer Stelle am prothorakalen Neuritenbaum inserierten (Pfeil ** in Abb. 5.1 unten rechts) – ein deutlicher Unterschied zur seriellen Organisation des A411 (vgl. Abb. 3.6). Während das die Mittellinie kreuzende Segment etwa 10 μm breit war, betrug der Durchmesser der auf- und absteigenden Axone nahe der Insertionsstelle (Pfeil ** in Abb. 5.1 unten rechts) lediglich etwa 4 μm . Nur das nach posterior ziehende Axon spaltete weitere Äste ab, darunter einen ausgedehnten lateral,

dorsalen Baum. Dieser unterschied sich in einigen Charakteristika deutlich vom ventralen Projektionsgebiet. So waren die dorsalen Neuritensegmente im Vergleich wenig verzweigt, die einzelnen Segmente waren länger und die Radien variierten deutlich weniger. Der Durchmesser betrug meist etwa 2-2,5 μm .

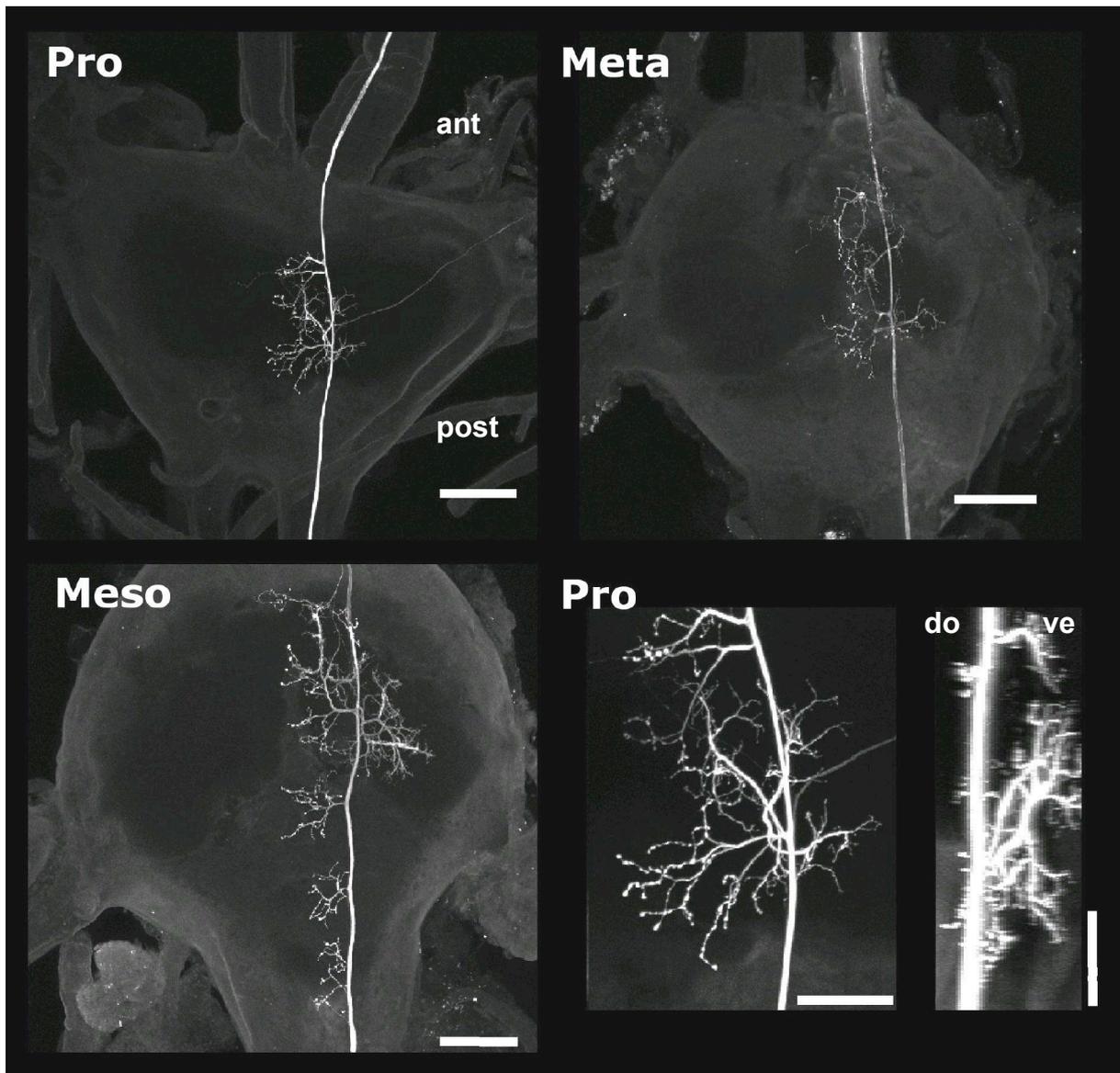


Abb. 5.2: Das wind-sensitive Interneuron *Win3* verzweigt unilateral im pro- (**Pro**), meso- (**Meso**) und metathorakalen (**Meta**) Ganglien. Ein aufsteigender Neurit zieht nach anterior in Richtung SOG. Konfokale Aufnahmen als Projektionsansichten von ventral, mit Ausnahme Pro unten rechts von lateral. alle: 10x-Luft Objektiv; Markierung: LY; intensiviert durch rabbit-_LY/ _rabbit-CY5. ant=anterior. post=posterior. (für Pro unten ganz rechts do=dorsal. ve=ventral) Skalierungsbalken=100 μm ; mit Ausnahme Pro unten rechts=50 μm .

Ein langer Neurit mit breitem Durchmesser spaltete auf der kontralateralen Seite vom Hauptverzweigungsgebiet ab, zog ohne weitere Abzweigungen nach anterior lateral und mündete in den Zellkörper.

Vom Prothorakalganglion aus zog je ein aufsteigendes Axon in Richtung Subösophagalganglion und ein absteigendes Axon zum Mesothorakalganglion. Zwar ist unklar, wie weit das intersegmentale Axon des ProWIn2 aufstieg, da Färbungen nur bis einschließlich des Prothorakalganglions hergestellt wurden; die am weitesten posterioren Verzweigungen des ProWIn1 endeten jedoch in den abdominalen Neuromeren des fusionierten Metathorakalganglions (Abb. 5.1 Meta).

Im Vergleich zum prothorakalen Neuropil, fanden sich sowohl im Meso- als auch Metathorakalganglion deutlich weniger Verzweigungen. Hier zeigt sich, dass die Zelle kein einheitliches Bauprinzip in den verschiedenen thorakalen Segmenten aufwies. Im Meso- und Metathorakalganglion blieben die Verzweigungen strikt unilateral und die Neuriten zweigten in serieller Folge vom fast geraden Hauptneuriten ab. Von hier projizierten sie nach median, und zogen vor allem in dorsale Bereiche. Eine Ähnlichkeit zum Verzweigungsmuster im Prothorakalganglion war die Existenz jeweils eines nach lateral - dorsal ziehenden Neuritenbaumes.

WIn3: Das ebenfalls in allen drei thorakalen Ganglien verzweigende Interneuron WIn3 wurde einmal gefärbt. Es sandte ein aufsteigendes Axon in Richtung SOG und ein absteigendes in Richtung A4 (Abb. 5.2). Im A4 (nicht gezeigt) konnte eine leichte Färbung festgestellt werden, jedoch war auf Grund der geringen Intensität nicht mehr feststellbar ob das Neuron noch weiter abstieg. Ebenfalls ist unbekannt, in welchem Ganglion der Zellkörper lag.

Ähnlich dem A4I1 spalteten vom relativ geraden Hauptneuriten in serieller Folge nach median gerichtete Verzweigungen ab. Die prothorakalen Verzweigungen des WIn3 (Abb. 5.2 Pro) erschienen im Vergleich zum ProWIn2 und A4I1 weit weniger komplex. Grob lassen sich zwei Projektionsgebiete unterscheiden. Zwei Neuriten bildeten das anteriore, ein Neurit, der nahe dem intersegmentalen Neuriten mehrfach aufspaltete, bildete das posteriore Verzweigungsgebiet.

Ein auffälliges dorsales Verzweigungsgebiet war nicht zu erkennen - dorsal vom Hauptneuriten waren lediglich einige Neuriten schwach gefärbt.

Das WIn3 hatte ausgedehnte Verzweigungen sowohl im Meso- als auch im Metathorakalganglion. Die Färbung ließ im Mesothorakalganglion zwei bis drei mediane

Projektionsgebiete erkennen, die leicht miteinander überlappten. Im Metathorakalganglion spaltete der Hauptneurit in serieller Folge nach median gerichtete Neuritenbüschel ab, die vor allem in den posterioren Bereichen deutlich separiert waren. Etwa in der Mitte des Ganglions (in anterior-posteriorer Achse) zweigten Neuriten auch nach lateral ab und bildeten hier ein weiteres Verzweigungsareal.

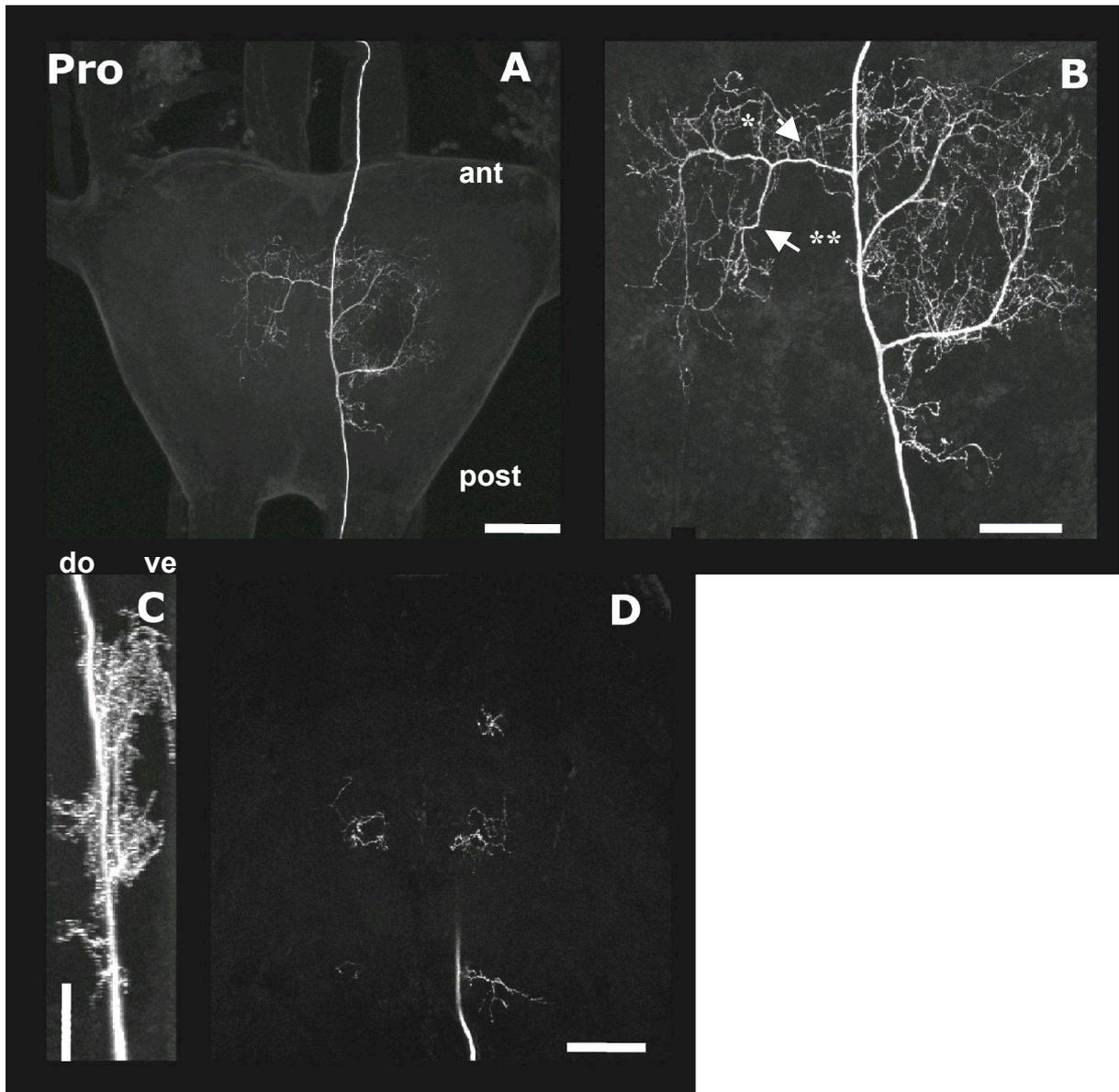


Abb. 5.3: Prothorakale Projektionen des bilateral verzweigenden windsensitiven Interneurons *Win4*. Das Neuron sendet jeweils ein auf- und ein absteigendes Axon in Richtung SOG bzw. Mesothorakalganglion. Aufnahmen als ventrale Projektionsansichten mit gesamtem Ganglion (A), als vergrößerte Darstellung (B), mit nur dorsalen Verzweigungen (D) und als Ansicht von lateral (C) A: 10x-Luft Objektiv; B, C, D: 20x-Öl. Markierung: Neurobiotin/Streptavidin-CY5. ant=anterior. post=posterior. do=dorsal. ve=ventral. Skalierungsbalken in A: 100 μm ; in B, C, D: 50 μm . Für Pfeile vgl. Text.

WIn4: Das WIn4 wurde einmal anatomisch identifiziert. Nur die Färbung im Prothorakalganglion war von guter Qualität. Von hier sandte das Neuron jeweils ein auf- und ein absteigendes Axon in die Konnektive. Neben dem Pro- konnten nur noch im Mesothorakalganglion einige Verzweigungen nachgewiesen werden.

Wie das ProWIn2 verzweigte auch das WIn4 bilateral im Prothorakalganglion. Das intersegmentale Axon mit Radien von 2,5-3 μm verlief sehr nah der longitudinalen Mittellinie. Von hier spalteten zwei auffällige, vielfach verzweigende Neuriten nach anterior lateral ab und bildeten dort ausgedehnte Projektionsgebiete. Deren Segmente hatten sehr unterschiedliche Radien. Mit Durchmessern unter 1 μm waren Segmente höherer Verzweigungsordnung oft sehr dünn.

Das auffälligste Merkmal des WIn4 ist der einzige, nach median ziehende Ast (Pfeil * in Abb. 5.3). Der Radius betrug maximal 2,5 μm . Betrachtet man nur diesen intensiv gefärbten Hauptneuriten, so erinnert dessen Verlauf deutlich an die Gestalt der Axone von probasisternalen Rezeptorzellen (vgl. Abb. 5.15 A). Wie diese kreuzte der erst nach median ziehende Neurit die Mittellinie ungefähr im Bereich anteriorer ventraler Kommissuren, wendete sich dann in einem Winkel von etwa 90° , um nun, etwa im Gebiet medianer, ventraler Trakte, nach posterior zu ziehen. Ein zweiter, kürzerer Ast spaltete schon vorher von dem anterioren, die Mittellinie kreuzenden Neuriten ab und verzweigte vielfach posterior (Pfeil ** in Abb. 5.3).

Bemerkenswert waren die vielen, in regelmäßiger Weise vom Hauptneuriten nach anterior abspaltenden dünnen Äste (Gebiet um den Pfeil * in Abb. 5.3), die so eine serielle Abfolge kleinerer Projektionsfelder ausbildeten.

Sowohl die kontralateralen als auch die ipsilateralen Neuriten sandten viele Verzweigungen nach dorsal (Abb. 5.3 C). Diese bildeten etwa in Mitte der anterior-posterioren Achse spiegelsymmetrisch gelegene Projektionsgebiete in beiden Hemisphären (Abb. 5.3 C & D).

5.2.2 Die bilateralen Projektionen des ProWin2 – Hinweise auf Verschaltung der Wind- und Rezeptorinformation beider Seiten

Die filiformen Haare auf der Kutikula des Prosternums sind in Reihen und Gruppen angeordnet, wobei diese auf beiden Seiten des Tieres etwa spiegelsymmetrisch sind. Eine solche Bilateralsymmetrie findet sich auch im zentralen Nervensystem, d.h. für die Axone bilateral homologer Rezeptorzellen (Abb. 5.15 B) und auch für das paarige A4I1.

Ein notwendiges Grundprinzip der Richtungsverarbeitung ist der Vergleich der Information beider Seiten, ein Prinzip, das in vielen Systemen mittels bilateral projizierender Neuronen verwirklicht ist. Ein solches Baumerkmal findet sich auch beim ProWIn2. Dieses Kapitel untersucht deshalb weiterführend die Fragen:

- (1) In welchen Gebieten überlappen die Rezeptorprojektionen und das ProWIn2?
- (2) Gibt es Unterschiede zwischen den beiden Hemisphären?

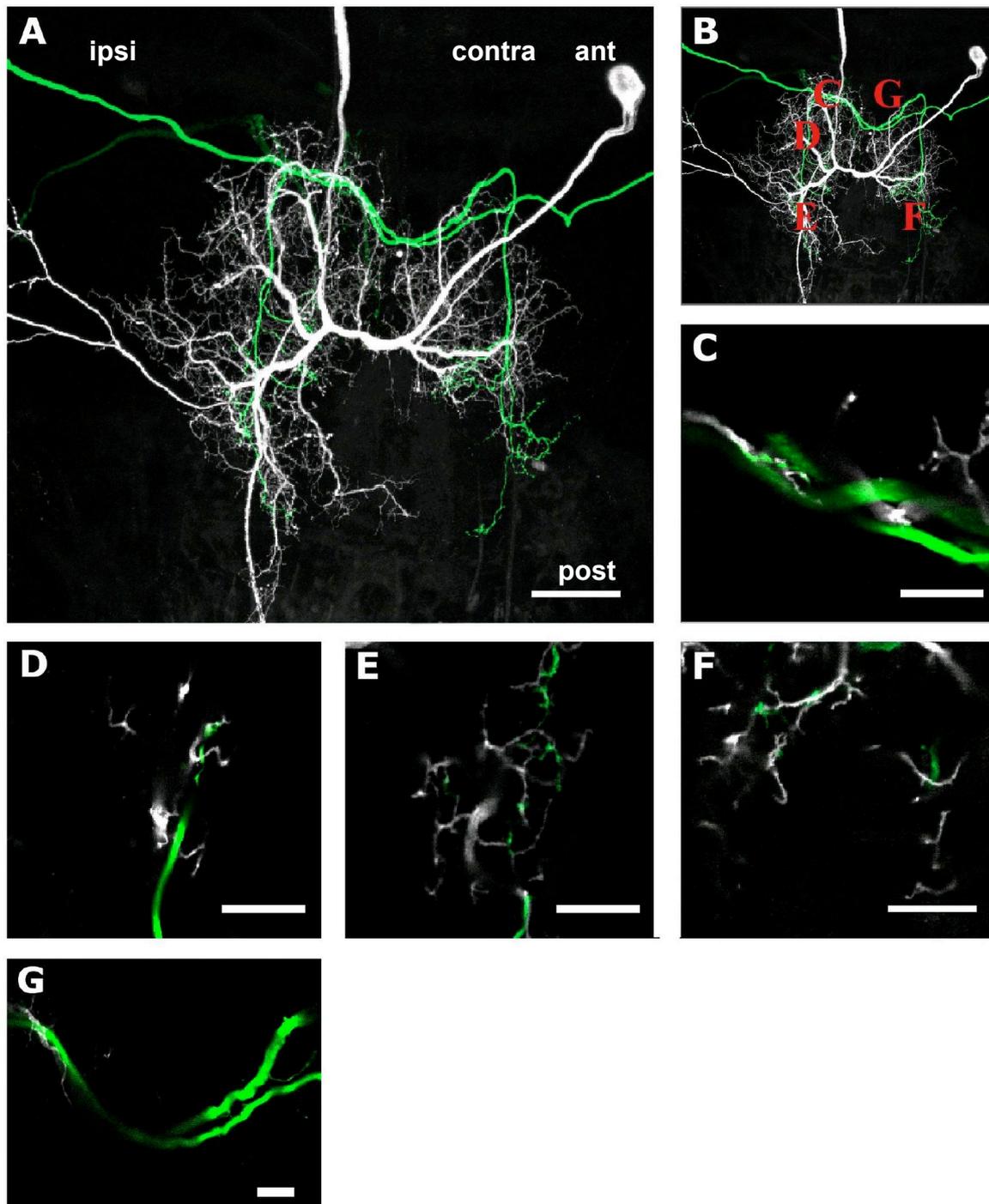


Abb. 5.4: Doppelmarkierungen von ProWIn2 (weiß) und probasisternalen Rezeptorzellen (grün) weisen auf unterschiedliche Verschaltung der Information in beiden Hemisphären hin. A: Kontralaterale probasisternale

Windrezeptorzellen verzweigen im ipsilateralen Projektionsgebiet des bilateralen ProWIn2. Ipsilaterale Afferenzen überlappen mit kontralateralen Neuriten desselben ProWIn2. Differentielle Markierung von ProWIn2 und Rezeptorzellen als ventrale Projektionsansichten. Markierung: ProWIn2 (weiß) LY; intensiviert durch rabbit_-LY/_-rabbit-CY5. Probasisternale Windrezeptorzellen (grün) Markierung mit Dextran-TRITC. 20x-Öl Objektiv. Skalierungsbalken: 100 μm). **C-G**: Überlappungen bei hochauflösenden konfokalen Aufnahmen deuten auf mögliche monosynaptische Verschaltung von ProWIn2 und probasisternalen Windrezeptorzellen hin. Optische Einzelschnitte in ventraler Ansicht (Farbkodierung wie in A. 50x-Öl Objektiv. Skalierungsbalken: 20 μm . Die Lage der Schnitte in der x-y Ebene zeigt **B**). ant=anterior. post=posterior. ipsi=ipsilateral. contra=kontralateral.

Bislang ist nicht klar, ob direkte Verschaltungen zwischen Rezeptorzellen und ProWIn2 existieren, bzw. welches die anderen synaptischen Partner des ProWIn2 wären. Bekannt ist aber, dass Windrezeptorzellen und das Interneuron A4I1 in weiten Bereichen überlappen. Die Projektionen der Windrezeptorzellen können daher wertvolle Hinweise darauf geben, welche der verschiedenen Äste des ProWin2 direkte oder, mittels eingeschalteter Interneurone (A4I1), auch indirekte Eingänge von den verschiedenen Rezeptorpopulationen erhalten. Deshalb wurde für dieses Kapitel das ProWIn2 mit repräsentativen prosternalen Rezeptorzellen doppelmarkiert.

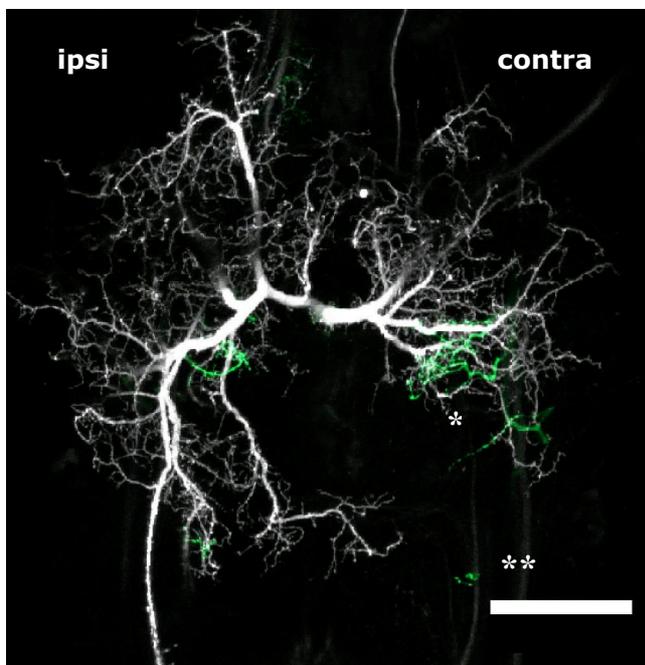


Abb. 5.5: *Asymmetrien der bilateralen Projektionsgebiete des ProWIn2*. Auf jeder Seite bilden probasisternale Rezeptorzellen zwei mehr dorsale Projektionsgebiete, je ein medianes (*) und ein posteriores (**). Projektionsansicht von dorsalen Verzweigungsgebieten. Gesamtschnittdicke=42 μm . Markierung: WIn2 (weiß)

LY, intensiviert durch rabbit_-LY/_-rabbit-CY5. Probasisternale Windrezeptorzellen (grün) Dextran-TRITC. 20x-Öl Objektiv. Skalierungsbalken: 100 μm .

Die Projektionsansicht einer solchen differentiellen Färbung in Abbildung 5.4 A zeigt, dass die Axonkolaterale probasisternaler Afferenzen (grün in Abb. 5.4, vgl. Abb. 5.15 A) in solche Gebiete projizieren, in denen auch das ProWIn2 (weiß in Abb. 5.4) verzweigt. Kontralaterale Afferenzen überlappen mit ipsilateralen Ästen des ProWIn2, von ipsilateral kommende Afferenzen überlappen mit kontralateralen Ästen desselben ProWIn2. Die meisten Äste afferenter Axone fanden sich nahe medianer und posteriorer Neuritenbäume des ProWIn2. Auffällig war, dass die von lateral anterior ins Neuropil einziehenden Rezeptorzellaxone den gleichen Trakt nutzten wie ein anteriorer Ast des ipsilateralen ProWIn2 (Abb. 5.4 C). Auf der kontralateralen Seite des Interneurons fand sich dagegen kein entsprechender Ast (Abb. 5.4 G).

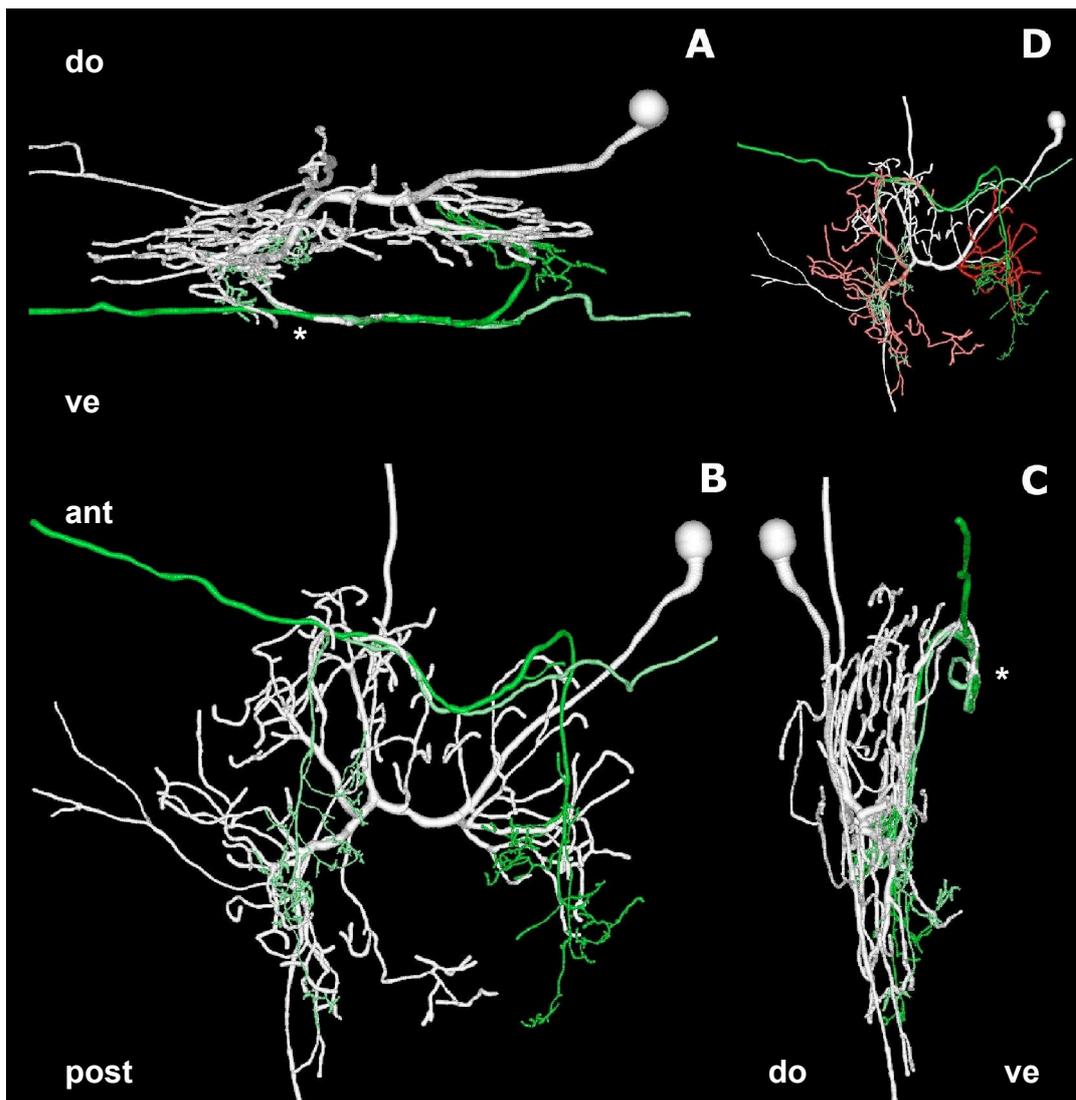


Abb. 5.6: Dreidimensionale Rekonstruktionen repräsentativer Neuriten des ProWIn2 (weiß) und probasisternaler Rezeptorzellen (grün) aus Abb. 5.4. **A:** Ansicht von anterior. **B:** von ventral. **C:** von lateral. **D:** Ventrale Ansicht. Mit rötlichen Farbtönen wurden jeweils solche WIn2-Äste eingefärbt, die im Hauptprojektionsgebiet probasisternaler Rezeptoraxone verzweigten. ant=anterior. post=posterior. do=dorsal. ve=ventral.

Hochauflösende optische Einzelschnitte zeigen Überlappungen von Afferenzkolateralen und Interneuron sogar im Submikrometerbereich (Abb.5.4 C-G; aufgenommen mit einem 50x-Öl-Objektiv). Das ist ein Hinweis auf mögliche direkte synaptische Verschaltung. Beispiele für solche räumliche Nähe fanden sich sowohl in anterioren (Abb. 5.4 C), medianen (Abb. 5.4 D) als auch in posterioren (Abb. 5.4 G) Bereichen.

Abweichungen von der bilateralen Symmetrie eines Neurons können Hinweise darauf geben, dass die Information von Eingängen beider Hemisphären unterschiedlich verschaltet wird. Neben dem schon erwähnten nur ipsilateral vorhandenen anterioren Ast des ProWIn2 (Abb. 5.4 G) fand sich eine weitere auffällige Asymmetrie bei Betrachtung der mehr dorsalen Verzweigungen. Abbildung 5.5 zeigt mediane und posteriore Äste von Rezeptorzellaxonen (grün). Einerseits fällt auf, dass nur das ipsilaterale ProWIn2 Gebiet solche Neuriten besaß, die theoretisch mit den posterioren Afferenzkolateralen Synapsen bilden könnten. Auf kontralateraler Seite fehlten solche ProWIn2 Äste (** in Abb. 5.5). Eine weitere Asymmetrie trat auf im Bereich der in der Längsachse medianen Rezeptorneuriten. Hier verzweigte das ipsilaterale ProWIn2 nur sehr wenig, während auf kontralateraler Seite auffällig mehr interneuronale Verzweigungen nahe den Afferenzkolateralen existieren (* in Abb. 5.4).

Um die neuronale Architektur des ProWIn2 und mögliche gemeinsame Projektionsareale von Interneuron und Afferenzen besser zu veranschaulichen, wurden für das Verzweigungsgebiet repräsentative Äste des ProWIn2 und von Rezeptorzellaxonen rekonstruiert (Abb. 5.6). Im Unterschied zu den ventralen Projektionsansichten in Abbildung 5.4 fallen in den Ansichten von lateral (Abb. 5.6 C) und von anterior (Abb. 5.6 A) deutliche Ähnlichkeiten zwischen Rezeptorzellen und ProWIn2 Projektionen bezüglich ihrer Verläufe in der z-Ebene (Tiefe) auf. Besonders die ipsilateralen ProWIn2-Neuriten und die von kontralateral einziehende probasisternalen Rezeptorzelle zeigten ähnliche Verläufe bei anterioren und posterioren Zweigen beider Neurone. Diese zogen dabei über weite Strecken in unmittelbarer Nachbarschaft, benutzen also scheinbar dieselben Trakte, beispielsweise im Bereich des medialen ventralen Trakts (MVT; vgl. Watson & Pflüger, 1984).

Der am meisten anteriore, ventrale ProWIn2-Ast (* in Abb. 5.6 C) bildete eine Schleifenstruktur, die sich auffällig an den einziehenden Axonen der Rezeptorzellen orientierte. Teile des ProWIn2 nutzten also ebenfalls die ventrale kommissurale Schleife

(ventral commissural loop, vVCLII) und verzweigten in den angrenzenden Gebieten (VAC und ventralstes VAC, vVAC).

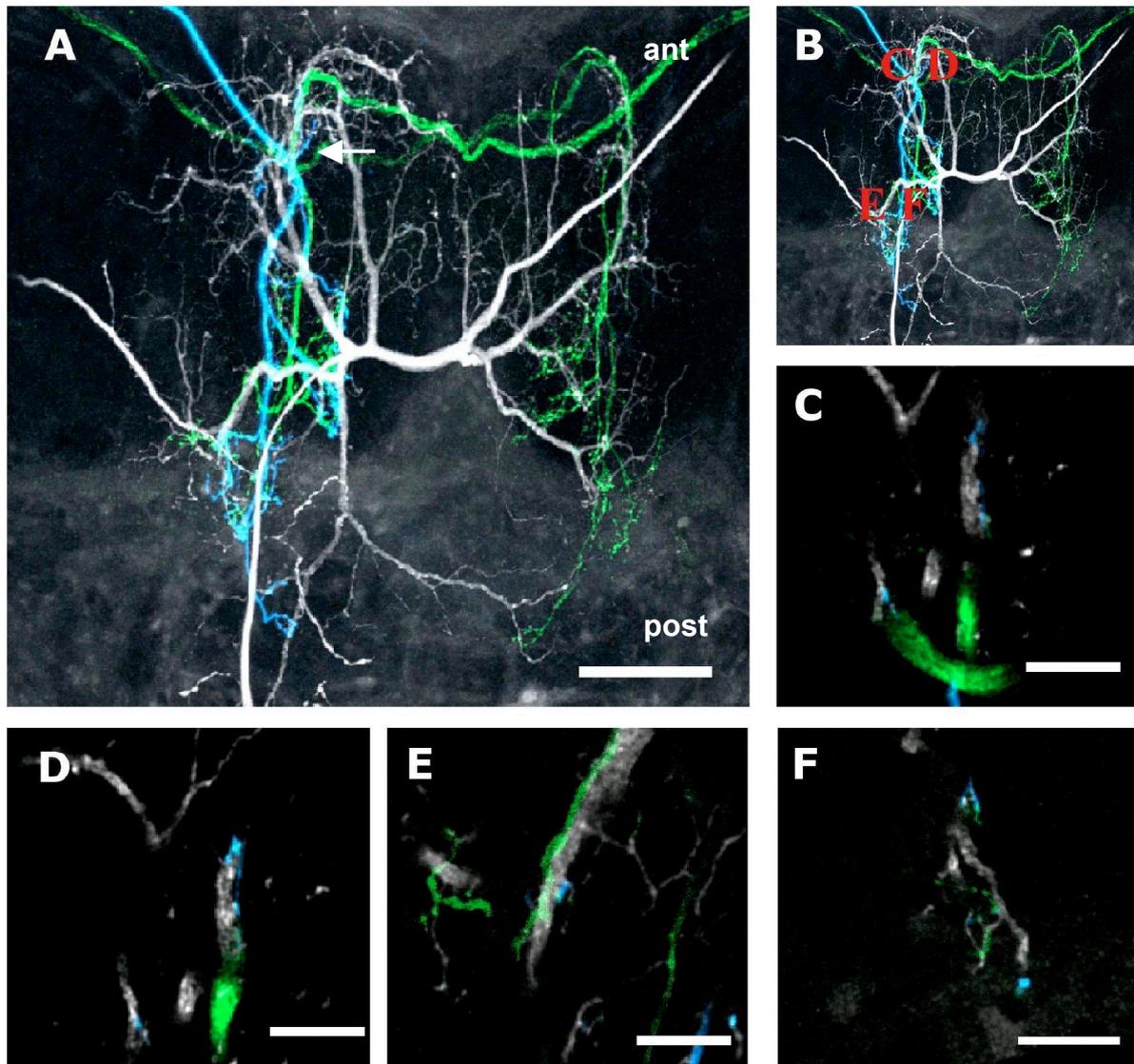


Abb. 5.7: **A:** Ipsilaterale proepisternale (blau) und kontralaterale probasisternale (grün) Windrezeptorzellen verzweigen im ipsilateralen Projektionsgebiet des ProWin2 (weiß). Im Gegensatz zu probasisternalen Rezeptorzellen verzweigen proepisternale typischerweise auch mehrfach im anterioren Bereich (Pfeil). **A:** Differentielle Markierung von ProWin2 und Rezeptorzellen als ventrale Projektionsansichten. Markierung: ProWin2 (weiß) LY; intensiviert durch rabbit_-LY/_-rabbit-CY5. Proepisternale Windrezeptorzellen (blau) Neurobiotin/Streptavidin-CY3. Probasisternale Windrezeptorzellen (grün) Dextran-TRITC. 20x-Öl Objektiv. Skalierungsbalken: 100 μm . **C-G:** Optische Überlappungen bei hochauflösenden konfokalen Aufnahmen deuten auf mögliche monosynaptische Verschaltung von WIN2 mit probasisternalen bzw. proepisternalen Windrezeptorzellen hin. Optische Einzelschnitte in ventraler Ansicht (Farbkodierung wie in A. 50x-Öl Objektiv. Skalierungsbalken: 20 μm . Die Lage der Schnitte in der x-y Ebene zeigt **B**). ant=anterior. post=posterior.

In Abbildung 5.6 D wurde markiert, welche Hauptäste des ProWIn2 in ihrer unmittelbaren Nähe Rezeptoraxone aufwiesen. Während sich auf ipsilateraler Seite mehrere solche Äste fanden, die zudem auch deutlich separiert und weitverzweigend waren (rosa), fand sich auf kontralateraler Seite nur ein Neuritenbaum (rot) geringerer Ausdehnung.

Die Abbildung 5.7 und die Rekonstruktionen in Abbildung 5.8 demonstrieren Unterschiede im Verzweigungsmuster von probasisternalen (grün) und von lateralen, proepisternalen Afferenzen (blau). Diese Unterschiede fanden sich vor allem bezüglich anteriorer Gebiete. Während probasisternale Afferenzen kurz nach dem Knick nach posterior gar nicht oder nur wenig verzweigen, fanden sich in diesem mehr anterioren Areal dünne Verzweigungen bei proepisternalen Afferenzen (Abb. 5.7 A, C, D, blau, vgl. dazu Abb. 5.15 A und B). Solche feinen Neuriten überlappten dann teilweise mit dem ProWIn2. Der breite Neurit der probasisternalen Afferenz verzweigte erst weiter posterior (E, F, grün und Abb. 5.8). Solche Verzweigungen überlappten hier mit dem ProWIn2, ebenso wie posteriore Äste der proepisternalen Afferenzen. Überlappungen eines komplexen Verzweigungsgebiets von Afferenzen und Interneuron fanden sich teilweise nahe Neuriten niedriger Ordnung des ProWIn2 (Einschaltbild in Abb. 5.8).

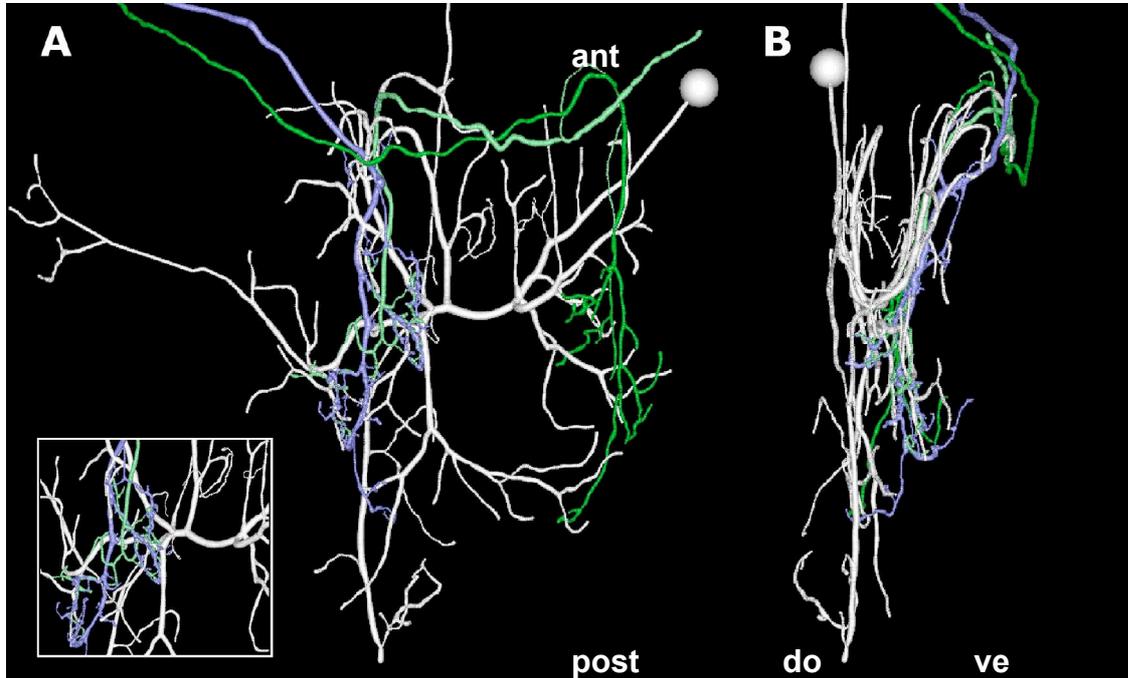


Abb. 5.8: Dreidimensionale Rekonstruktionen repräsentativer Neuriten des ProWIn2 (weiß) sowie von probasisternalen (blau) und von proepisternalen (grün) Rezeptorzellen aus Abb. 5.6. **A**: Ansicht von ventral. (Einschaltbild: Axone der Rezeptorzellen verzweigen im Bereich posteriorer ProWIn2-Ästen nahe dem

Hauptneuriten und dem Abzweig des intersegmentalen Axons) **B**: Ansicht von lateral. ant=anterior. post=posterior. do=dorsal. ve=ventral.

Die Resultate zu den Doppelmarkierungen von Afferenzen und ProWIn2 lassen sich folgendermaßen zusammenfassen.

- Überlappungen der Markierungen, auch bei hochauflösenden Aufnahmen, lassen eine zumindest teilweise monosynaptische Verschaltung sowohl von probasi-/proepisternalen Afferenzen mit dem ProWIn2 möglich erscheinen.
- Asymmetrien im bilateralen Verzweigungsgebiet des ProWIn2 und unterschiedliche Verzweigungsareale verschiedener Rezeptortypen deuten auf unterschiedliche Verschaltung der Information der verschiedenen Rezeptorpopulationen auf das ProWIn2 hin.
- Verschiedene ventrale Gebiete des ProWIn2 lagen außerhalb der Rezeptorprojektionen, verschalten also wahrscheinlich mit anderen Interneuronen oder Rezeptorzellen.

5.2.3 Antwortcharakteristika windsensitiver Interneurone des Prothorakalganglions

Das einzige bislang identifizierte windsensitive Interneuron A4I1 antwortet auf Windstimulation tonisch oder leicht phasisch-tonisch - das heißt nach einem anfänglichen Burst bleibt die Spikefrequenz relativ konstant (Abb. 5.8 A; vgl. Watson und Pflüger, 1984). Das ähnelt dem Antwortverhalten typischer tonischer Mechanorezeptoren und deutet auf eine noch einfache Verarbeitung exzitatorischer Rezeptorinformation hin. Im folgenden Kapitel werden davon abweichende Antwortcharakteristika bislang unbekannter windsensitiver Interneurone des Prothorakalganglions vorgestellt. Besondere Aufmerksamkeit gilt dabei solchen Merkmalen, die auf eine komplexere, höhere Verarbeitungsstufe oder Parameterextraktion hindeuten.

Intersegmentale Interneurone wurden im Konnektiv unmittelbar hinter dem Prothorakalganglion abgeleitet. Anhand ihrer Antwort auf 300 ms dauernde Luftpulse wurden die aufgefundenen Neurone als windsensitiv klassifiziert. Als Merkmale zur Unterscheidung vom A4I1 dienten die größere Nähe der Ableitstelle zur Mittellinie (vgl. letztes Kapitel) oder physiologische Charakteristika, die vom A4I1 abwichen.

Einen Überblick über die Verschiedenartigkeit von Antwortmustern windsensitiver Interneurone des Prothorakalganglions gibt Abbildung 5.9. Am häufigsten fanden sich Interneurone mit deutlich phasischem Verhalten, Neurone also, die nur den Reizbeginn markierten. Einige dieser Neurone konnten als ProWIn2 oder als WIn3 identifiziert werden (Abb. 5.9 B, vgl. auch Abb. 5.13). Die phasisch-tonischen Antwortmuster anderer Neurone

dagegen ähnelten denen des A4I1 (zum Vergleich in Abb. 5.9 A). Daneben gab es auch Neurone, welche die konstant ausgegebenen Stimuli sehr variabel beantworteten. Das WIn4 beispielsweise generierte sogar bei hohen Reizintensitäten oft erst in der Mitte des 300 ms dauernden Pulses Spikes (Abb. 5.9 C), obgleich schon etwa 10 ms nach Reizbeginn EPSPs auftraten. Einen bemerkenswerten Unterschied zu allen anderen Neuronen zeigte ein anatomisch nicht identifiziertes spontanaktives Neuron, dessen Spikeaktivität durch Windpulse vollständig inhibiert wurde (Abb. 5.9 D).

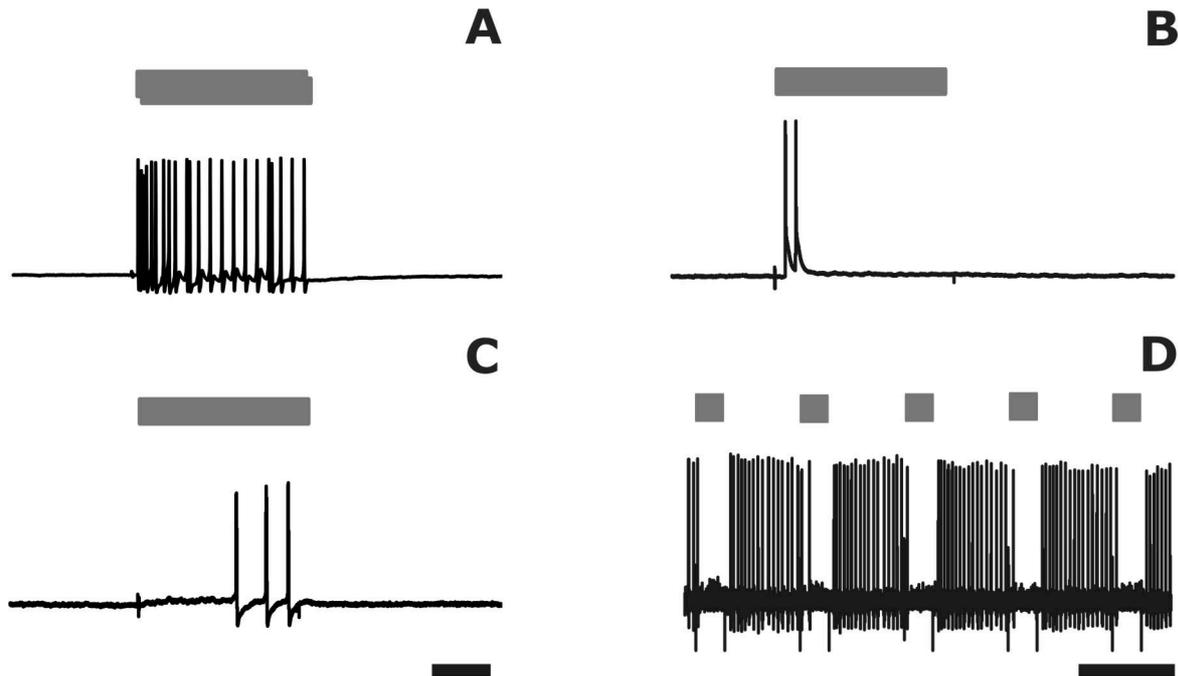


Abb. 5.9: *Unterschiedliches Antwortverhalten prothorakaler windsensitiver Neurone.* Ableitbeispiele. A: A4I1. B: WIn3. C: WIn4. D: spontanaktives Neuron, dessen Aktivität durch Wind inhibiert wird. Graue Balken: Luftpuls. Schwarze Skalierungsbalken in A-C: 100 ms, in D: 1000 ms.

Da das isolierte Prosternum-/Ganglienpräparat auch über ein anterior gelegenes Chordotonalorgan verfügt (Pflüger und Field, 1999), wurde getestet, ob windempfindliche Neurone auch für andere Reizmodalitäten sensitiv sind, also eventuell eher vibrations- als windsensitiv sind. Tatsächlich wurden akustische bzw. vibratorische Stimuli, wie Schlüsselklappern oder Stimme, durch einige wenige Neurone mit EPSPs beantwortet. Im Gegensatz zu Windreizen erregten diese die betreffenden Interneurone jedoch nie überschwellig (nicht gezeigt).

Intensitätskennlinien von tonischen Rezeptoren oder Interneuronen mit nur exzitatorischen Eingängen verlaufen typischerweise sigmoidal, das heißt eine Erhöhung der Reizintensität führt anfangs zu einer Aktivitätssteigerung, später, im Sättigungsbereich, bleibt die Aktivität auf einem hohen Niveau. Kennlinien mit einem lokalen Maximum, also solche, die bei hohen

Intensitäten eine Antwortverringering zeigen, deuten dagegen auf komplexe Verarbeitung mit gemischt exzitatorisch/inhibitorischen Mechanismen hin. Um derartige Phänomene aufzudecken, wurden die windsensitiven prothorakalen Interneurone mit Windpulsen verschiedener relativer Intensität stimuliert (6. Material und Methoden). Abbildung 5.10 zeigt die Kennlinien für 6 anatomisch nicht klassifizierte Neurone. Ein Neuron mit sigmoidalem Kennlinienverlauf steigerte seine Antwort innerhalb des getesteten Intensitätsbereiches von 0 auf $11,3 \pm 1,3$ Aktionspotentiale (Mittelwert \pm Standardabweichung) je 300 ms Puls. Ab einer relativen Intensität von 3 kam es zu keiner weiteren Antwortsteigerung. Ein anderes Neuron generierte auch auf starke Luftpulse nur $3 \pm 0,7$ Aktionspotentiale.

Drei der gezeigten Neurone (grün markiert in Abb. 5.10) zeigten dagegen einen anderen Verlauf, bei Erhöhung der Reizintensität kam es zwar ebenfalls zu einer vorübergehenden Aktivitätssteigerung, dann jedoch verringerte sich die Antwort – in einem Fall von etwa $8,6 \pm 1,1$ Aktionspotentialen bei einer relativen Intensität von 3 auf $4,4 \pm 1,5$ Aktionspotentiale bei der höchsten getesteten Intensität.

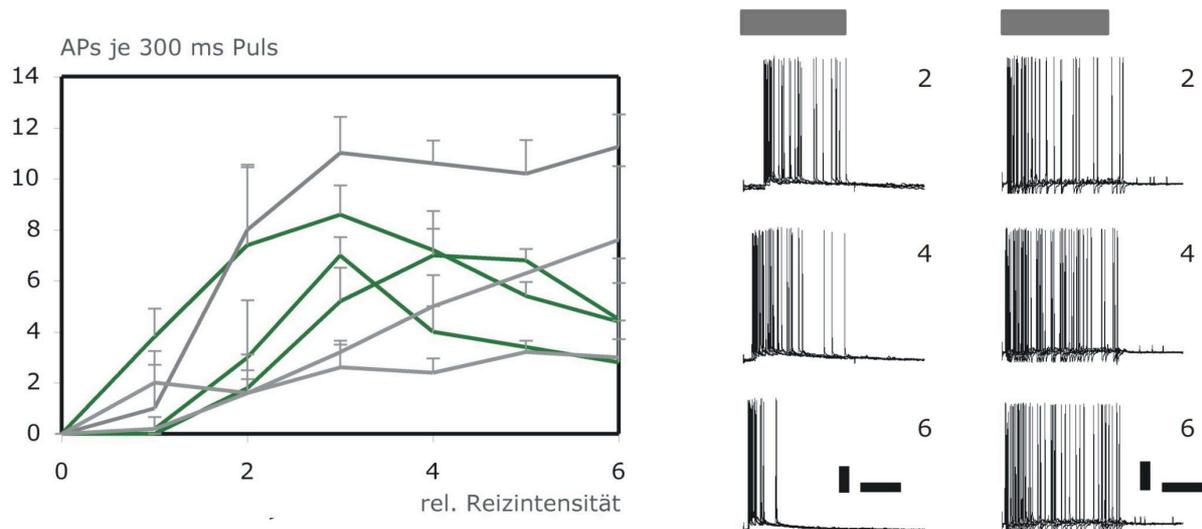


Abb. 5.10: Intensitätskennlinien für 6 prothorakale, windsensitive Interneurone: teils sigmoidaler Verlauf (grau), teils Antwortverminderung bei hohen Reizintensitäten (grün. $n=6$ Tiere, Mittlere Antwortstärken aus je 5 Stimulationen). Rechts: Ableitbeispiele der Antworten zweier Interneurone bei 3 verschiedenen Reizintensitäten (von oben nach unten). Je 5 Durchläufe in Superposition. Graue Balken: Luftpuls. Vertikale Skalierungsbalken: 10 mV. Horizontaler Skalierungsbalken: 100 ms.

Neben Veränderungen der Antwortstärke zeigen die Ableitbeispiele in Abbildung 5.10 (rechts) Veränderungen auch im Zeitverlauf der Antworten bei verschieden starker Reizung.

Im linken Beispiel führte die Intensitätserhöhung dazu, dass die Zelle zunehmend phasischer antwortete. Während sie bei einer relativen Reizintensität von 2 noch während der gesamten Pulsdauer Aktionspotentiale generierte, wurde ihre Antwort bei 6 nach einem anfänglichen Burst vollständig inhibiert. Die Erhöhung der Reizintensität führte dabei auch zu einer deutlichen Verringerung der Latenz. Im Gegensatz zu der in Abbildung 5.10 links dargestellten, zeigte die ganz rechts dargestellte Ableitung phasisch-tonisches Verhalten im gesamten getesteten Intensitätsbereich.

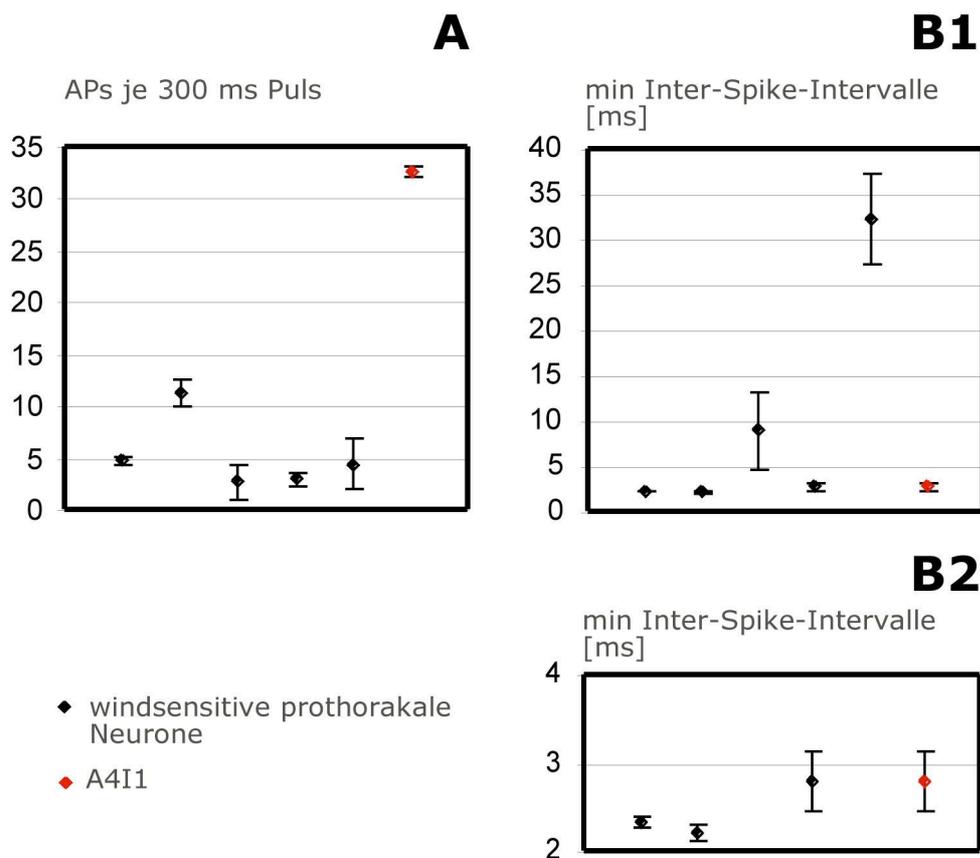


Abb. 5.11: Die gegenüber dem A4I1 geringere Zahl von Aktionspotentialen je Luftpuls ist in der Regel nicht durch Limitierungen - wie lange Inter-Spike-Intervalle (ISIs) - zu erklären. Antworten der Interneurone auf Luftpulse bei hoher Reizintensität. AP-Zahl (**A**) je 300 ms Puls (Mittelwerte und Standardabweichung für je 5 Pulse) und minimale Inter-Spike-Intervalle - ISIs (**B1**, **B2**. B2 zeigt den Bereich geringer ISIs in Vergrößerung. Mittelwert und Standardabweichungen für die 5 minimalen ISIs, die während der Antwort auf Pulse bei maximaler Intensität beobachtet wurden). Die Reihenfolge der in A und B abgebildeten Neurone ist in A und B gleich.

Einen deutlichen Unterschied in der je Puls generierten AP-Zahl zwischen A4I1 und anderen prothorakalen Interneuronen demonstriert Abbildung 5.11. Hier wurden nur die Antworten

auf Pulse bei höchster relativer Stimulusintensität aufgetragen. Während das A4I1 im Mittel $32,6 \pm 0,5$ Aktionspotentiale generierte, produzierten die meisten anderen Neurone während des 300 ms langen Stimulus weniger als 5 APs, nur ein weiteres Neuron generierte deutlich mehr Aktionspotentiale ($11,3 \pm 1,3$).

Besonders im Kontext der sehr präzisen Flugsteuerung erscheint ein hohes zeitliches Auflösungsvermögen von Stimulusmodulationen als ein wichtiges Erfordernis an die mechanosensorische Verarbeitung. Voraussetzungen für die Abbildung von sehr schnellen Stimulusmodulationen sind eine hohe Spikerate und ein exaktes *spike timing*. Auf Einzelzellebene könnten dabei physiologische Beschränkungen, wie eine hohe Refraktärzeit, das zeitliche Abbildungs- oder Auflösungsvermögen limitieren. Der Vergleich der Abbildungen 5.11 A und B zeigt jedoch, dass in keinem der abgebildeten Fälle die geringe Zahl generierter Spikes (Abb. 5.11 A) je Puls auf physiologische Limitierungen wie zu lange minimale Inter-Spike-Intervalle (ISIs) zurückzuführen ist (Abb. 5.11 B). Vielmehr zeigten drei Neurone minimale ISIs von nur $2,2 \pm 0,1$ ms bis $2,8 \pm 0,3$ ms (Mittelwert aus den jeweils fünf gemessenen minimalen ISIs. Einzelne minimale ISIs waren sogar kleiner als 2 ms.). Das entsprach in etwa den sehr geringen ISIs, wie sie auch das A4I1 zeigte ($2,8 \pm 0,3$).

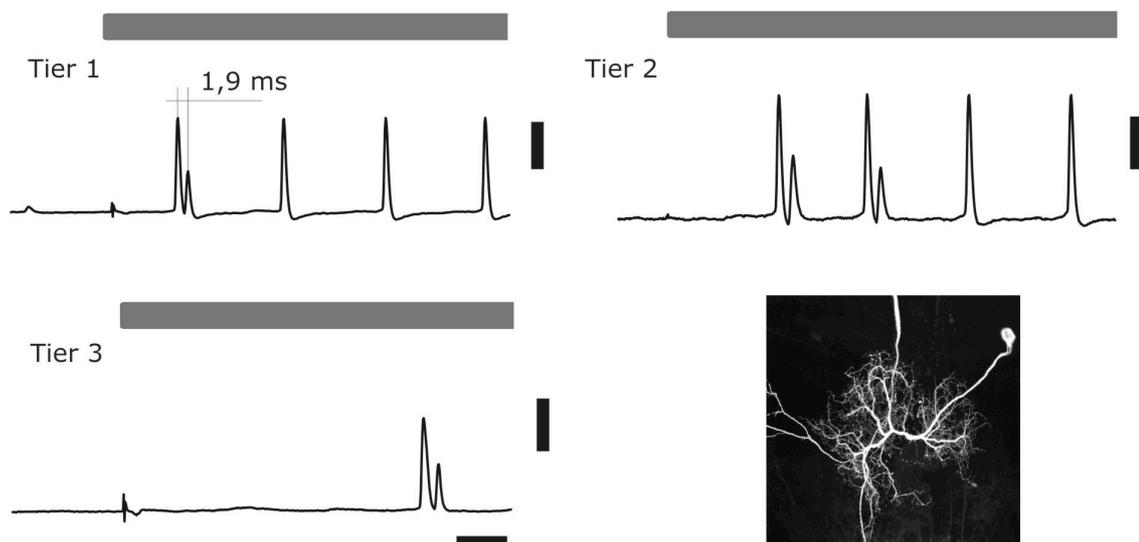


Abb. 5.12: Kurze Inter-Spike-Intervalle und verringerte Amplitude nachfolgender Spikes beim IN2 (Graue Balken: Luftpuls. Horizontale und vertikale Skalierungsbalken: 10 ms und 20 mV).

Ein möglichen Hinweis darauf, dass ein Neuron mehrere spikeinitiiierende Zonen besitzt, ist die Existenz von Aktionspotentialen unterschiedlicher Amplitudenklassen, die am selben

Lokus während derselben Ableitung aufgenommen werden. Ein deshalb bemerkenswertes physiologisches Merkmal war unter allen anatomisch identifizierten Zellen nur beim ProWIn2 zu beobachten, trat hier aber regelmäßig auf. Abbildung 5.12 zeigt für drei verschiedene Tiere, dass besonders am Beginn der Antwort große Spikes unmittelbar von kleineren Potentialänderungen gefolgt wurden. Der Abstand zwischen beiden war variabel, betrug aber oft weniger als 2 ms. Wie die vorlaufenden Spikes, waren die nachfolgenden Potentialspitzen untereinander meist etwa vergleichbar hoch und wurden sowohl ohne Stromapplikation als auch unter Hyperpolarisation beobachtet.

5.2.4 Unterschiedliche Verschaltung der Information verschiedener Rezeptorpopulationen auf das ProWIn2 – Konsequenzen für die Richtungsverarbeitung

Die A4I1 beider Ganglienhemisphären sind monosynaptisch mit den anatomisch gut abgrenzbaren proepi- und probasisternalen Rezeptorpopulationen verschaltet (Pflüger & Burrows, 1990). Inhibitorische Eingänge etwa durch Interneurone, welche zwischen Rezeptorzellen und A4I1 eingeschaltet wären, sind nicht bekannt.

In Vorversuchen erwies sich das bilaterale ProWIn2 als sehr empfindlich gegenüber Positionsveränderungen der Reizquelle, also der Ausströmöffnung des Luftschlauches. Dies war insbesondere dann auffällig, wenn, ähnlich den Versuchen zur Richtungsabhängigkeit der A4I1-Antwort, mehrere Rezeptorpopulationen gleichzeitig gereizt wurden (Bucher & Pflüger, 2000). Das ist der Fall, wenn von der Seite gereizt wird (Wird zum Beispiel genau von ipsilateral stimuliert, denn dann zieht der Luftstrom sowohl über das Proepi- als auch das Probasisternum hinweg, rechtes Schema Abb. 5.13).

Um die Beiträge der verschiedenen Rezeptorpopulationen zur Antwort des ProWIn2 separieren zu können, wurde das Prosternum-Ganglienpräparat sehr lokal von vorn gereizt. Dafür wurde die Ausströmöffnung des Luftschlauches nahe an den betreffenden Kutikulabereich (kleine Grafiken in Abb. 5.12) herangeführt und genau von anterior stimuliert.

Die ProWIn2-Antworten auf proepi- und probasisternale Reizung unterschieden sich signifikant voneinander (Abb. 5.12). Auf Reizung des Probasisternums antwortete das ProWIn2 phasisch-tonisch bis tonisch (obere Ableitspuren in Abb. 5.12 A und B). Hierin ähnelte es dem A4I1 (vgl. Abb. 5.9 A). Auf Windpulse, die lokal auf die lateralen Proepisterna gerichtet waren (Ableitspuren der zweiten Reihe von oben, sowie untere rechte Ableitspur in Abb. 5.12), reagierte das ProWIn2 rein phasisch, mit nur ein bis zwei

Aktionspotentialen am Reizbeginn. Trotz inhibierter Spikeantwort konnte mehrfach beobachtet werden, dass bei proepisternaler Reizung während der gesamten Pulsdauer PSPs generiert wurden (linke Ableitspur der zweiten Reihe von oben in Abb. 5.12).

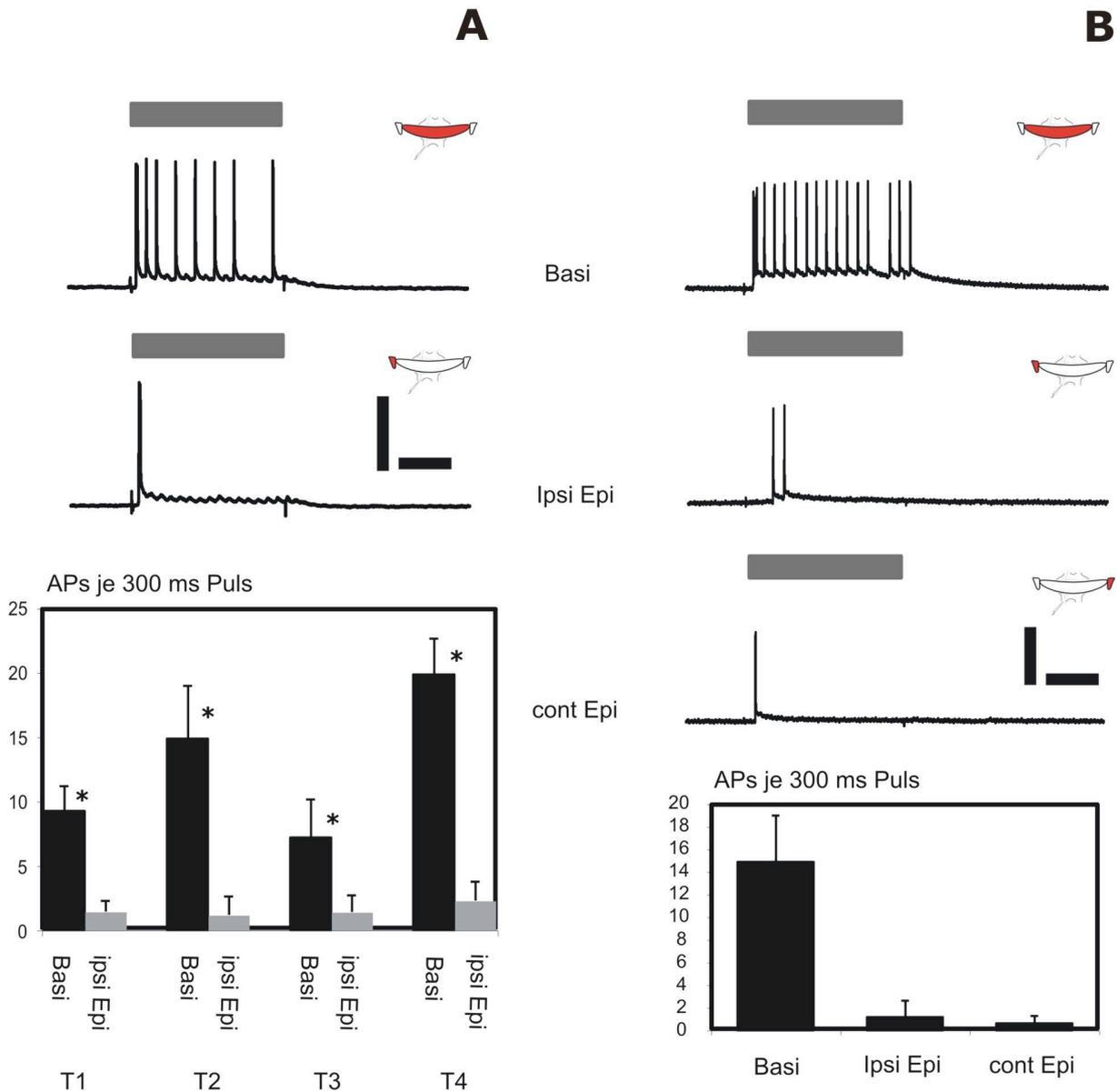


Abb. 5.13: Unterschiedliches Antwortverhalten bei separater Reizung der verschiedenen Rezeptorpopulationen weist auf unterschiedliche Verschaltung proepi- und probasisternaler Rezeptorzellen mit dem ProWin2 hin. Ableitbeispiele von zwei identifizierten IN2 (vertikaler Balken: 20 mV; horizontaler Balken: 100 ms). Unten links: Vergleich der mittleren Antworten auf ipsilaterale proepi- und probasisternale Reizung (Mittelwerte für je $n > 15$, * $P < 0,005$; t-Test nach Student). Unten rechts: Vergleich der mittleren Antworten auf ipsi- und kontralaterale proepi- sowie probasisternale Reizung

Das Diagramm in Abb. 5.12 unten links zeigt für alle vier getesteten Tiere, dass die Antworten bei probasisternaler und ipsilateral-proepisternaler Reizung signifikant

verschieden voneinander waren (t-Test nach Student: $P \leq 0,005$, $n=15-23$). Trotz unterschiedlicher Antwortstärke auf probasisternale Reizung, wurden die proepisternal-ipsilateralen Stimuli in allen Fällen ähnlich schwach beantwortet, das heißt mit nur ein bis zwei APs je Puls. Betrachtet man nur die relativen Verhältnisse der beiden Antworten, so betragen die mittleren AP-Zahlen bei proepisternaler Stimulierung lediglich zwischen 7,8 und 19,4 % der probasisternalen Antwort.

Bei einem Tier gelang es während der intrazellulären Ableitung sowohl das ipsi- als auch das kontralaterale Proepisternum alternierend zu reizen (Abb. 5.13 B). In beiden Gruppen war wiederum ein deutlicher Unterschied zu probasisternaler Reizung festzustellen ($P \leq 0,005$), untereinander fand sich jedoch kein signifikanter Unterschied zwischen den beiden proepisternalen Gruppen ($P \geq 0,5$).

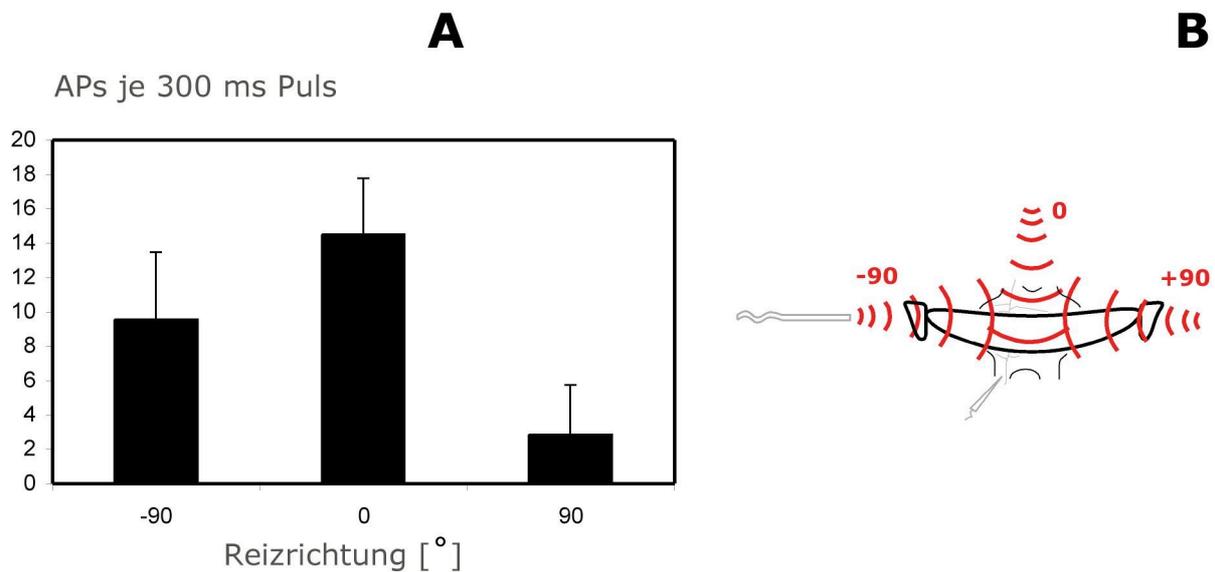


Abb. 5.14: Das ProWIn2 zeigt deutliche Richtungsempfindlichkeit. Stimuli von anterior wurden am stärksten beantwortet. Die AP-Zahlen je Puls wurden anhand intrazellulärer Ableitungen am isolierten Prosternum-Ganglienpräparat bestimmt ($n=1$ Tier. Angaben zur Reizrichtung: -90° =ipsilateral; 0° =von anterior; 90° =kontralateral). Die Grafik rechts veranschaulicht den theoretischen Verlauf der Luftströmung über dem Prosternum bei unterschiedlichen Reizrichtungen.

Mehrfach wurde ähnlich den Tests zur Richtungsabhängigkeit der A4I1-Antwort (s.o.) versucht, diese Abhängigkeit auch für das ProWIn2 zu überprüfen. Dabei traten verschiedene Schwierigkeiten auf, die teils dadurch bedingt waren, dass im Gegensatz zum A4I1 das ProWIn2 nur intrazellulär abgeleitet werden kann, was die Handhabungen im Ableitkäfig

erschwerte. Andererseits war die Antwort des ProWIn2 auch überraschend sensitiv für Änderungen der vertikalen Reizrichtung (Elevation).

Abbildung 5.13 zeigt für ein Tier, dass sich die Antwort bei verschiedener Reizrichtung in der horizontalen Ebene (Azimut) drastisch änderte. Mit den meisten APs wurden Stimuli aus anteriorer Richtung (0°) beantwortet ($14,5 \pm 3,3$ APs), Luftpulse von ipsilateral (-90°) führten zu $9,5 \pm 3,9$ APs. Pulse von kontralateral (90°) wurden mit den wenigsten Spikes beantwortet ($2,8 \pm 2,9$ APs; $n \geq 15$ für alle Gruppen).

5.3 Diskussion

Über zentralnervöse, reizverarbeitende Elemente des prosternalen windsensitiven Systems von *Locusta* war bislang wenig bekannt. Lediglich ein Interneuron war anatomisch und morphologisch charakterisiert. Zudem gab es keine Hypothese, die eine funktionelle Begründung für das Projektionsmuster liefert, das als Folge eines auffälligen postembryonalen Umbauprozesses prosternaler Afferenzen entsteht. In der hier vorliegenden Arbeit wurden neue Schaltkreisneurone identifiziert. Deren besondere morphologische Merkmale und der Vergleich mit Rezeptorzellprojektionen erlauben Rückschlüsse auf mögliche Verschaltungsmuster und damit der Verarbeitung von Rezeptor- und also auch von Richtungsinformation. Physiologische Experimente geben einen ersten Hinweis darauf, dass aufgrund komplexerer Verarbeitungsmechanismen als sie für das nahezu tonische A4I1 bekannt sind, verschiedene Parameter eines Stimulus gefiltert werden. Durch Kombination physiologischer und morphologischer Befunde soll hier zudem ein Modell vorgeschlagen werden, das die erwähnten postembryonalen Restrukturierungsprozesse als Grundlage eines Mechanismus zur Kontrastverschärfung erklärt.

Anatomische Merkmale der windsensitiven Interneurone

Neben physiologischen Charakteristika geben auch Übereinstimmungen in der Lage von Neuronen Auskunft über die Zugehörigkeit zu einem Funktionskreis. Während der Entwicklung werden Identität und Funktion eines Neurons auf verschiedenen Ebenen festgelegt, beispielsweise navigieren Rezeptorzellaxone unter Wirkung verschiedener Zelladhäsions- sowie intrazellulärer Signalmoleküle in die entsprechenden Neuropilkompartimente und machen schließlich Kontakt mit jeweils spezifischen Interneuronen des Schaltkreises (Marie et al., 2000; vgl. auch Blagburn und Bacon, 2004). Insofern ist es bemerkenswert, dass prothorakale Rezeptorzellen und Interneurone teilweise dieselben Trakte nutzen - auffällig insbesondere beim WIn4. Dessen, die Mittellinie kreuzender Ast, ähnelt sehr dem Verlauf älterer probasisternaler, ebenfalls nach kontralateral ziehender Rezeptorzellaxone.

Welche Funktion könnte dem Bauprinzip eines solchen Neurons zu Grunde liegen? Zunächst ist festzuhalten, dass unter den im ersten Larvenstadium angelegten Rezeptorzellen lediglich Unterschiede zwischen probasi- und proepisternalen Afferenzen deutlich werden. Eine Topologie zur Abbildung eines kartesischen Koordinatensystems mit jeweils vier verschiedenen Richtungs-Klassen, wie sie für das Cercalsystem gezeigt wurde (Paydar et al.

1999), erscheint hier also nicht wahrscheinlich. Dennoch finden sich mehrere Projektionstypen bei Betrachtung auch der später angelegten Afferenzen, darunter solche, die streng anterior ipsilateral verzweigen oder anterior bilateral oder kontralateral posterior oder ipsilateral anterior/posterior (Mentel, 1999). Filiforme Haare unterschiedlichen Alters haben unterschiedliche Schaftlängen. Letzteres sollte Unterschiede der mechanischen Empfindlichkeit und der Frequenzabstimmung bedingen (Kämper, 1992; Barth et al., 1993). Vergleicht man nun den die Mittellinie kreuzenden Ast des WIn4 mit den Rezeptorzellprojektionen, so wird deutlich, dass er Neuriten in alle Bereiche des VAC und des vVAC aussendet, in denen auch die verschiedenen Klassen jüngerer Afferenzen verzweigen (Gebiet um den Pfeil * in Abb. 5.4). Mehr noch, die serielle Struktur der WIn4 Äste könnte die verschiedenen Klassen separat auslesen, die posterioren Verzweigungen würden darüber hinaus Eingang von älteren Rezeptoren erhalten. Eine solche Verschaltung könnte das anatomische Korrelat bilden für die Bestimmung von Geschwindigkeit und Frequenz des Luftstromes, wichtige Parameter zur Anpassung des Fluges an wechselnde Umweltbedingungen. Ähnlich prägnante Übereinstimmungen der Projektionen von Interneuronen mit älteren Rezeptorzellen im mehr posteriores VAC und mit jüngeren Rezeptorzellen im Bereich der ventralen kommissuralen Schleife (ventral commissural loop, vVCLII) finden sich für das A4I1 und das ProWIn2.

Ob ein Neuron bilateral oder unilateral verzweigt gibt wichtige Hinweise auf die Art der möglichen Eingangsinformation. Hinsichtlich dieser Eigenschaft lassen sich die windsensitiven Interneurone des Prothorakalganglions unterscheiden in solche mit sowohl ipsi- als auch kontralateralen (ProWIn2 & WIn4) und solche mit ausschließlich ipsilateralen Verzweigungen (A4I1 & WIn3). Lediglich Neurone der ersten Gruppe könnten theoretisch mit sämtlichen prosternalen Rezeptorpopulationen bzw. Interneuronen beider Seiten verschaltet sein. Aus anderen Verhaltenskontexten bekannte Neurone mit einer ähnlichen Morphologie (ON1 bei Grillen, Selverston et al., 1985) sind so auch in der Lage die verschiedene Eingangsinformation beider Hemisphären zu vergleichen.

Bemerkenswert ist, dass zwei der windsensitiven Interneurone (ProWIn2, WIn4) im Prothorax noch bilateral projizieren. Hier finden sich vor allem in ventralen Gebieten Äste hoher Verzweigungsordnung mit sehr feinen Terminalen, teils mit Durchmessern von etwa s mehr als $0,5 \mu\text{m}$, was einen eher dendritischen Charakter der Neuriten andeutet (s.u.). Während die Axone der sensorischen Zellen bilateral homolog sind, das heißt etwa spiegelsymmetrisch verzweigen (Abb. 5.15), weisen die Verzweigungen der im Prothorakalganglion bilateralen Interneurone prägnante Asymmetrien zwischen beiden Seiten

auf - ein Hinweis darauf, dass unterschiedliche Informationen in beiden Hemisphären ausgelesen werden.

Für das ProWIn2 und das WIn4 wird darüber hinaus deutlich, dass in den thorakalen Ganglien sehr verschiedene Bauprinzipien realisiert sind. Wie bei den anderen Interneuronen bleiben die Verzweigungen im Meso- und Metathorakalganglion streng unilateral. Es ist deshalb möglich, dass das ProWIn2 zwar die prosternale Information beider Hemisphären verarbeitet, die Ausgangsinformation jedoch nur jeweils der Steuerung eines Flügels diene. Dies um so mehr, weil auch die für den Flug relevanten Motoneurone bis auf wenige Ausnahmen streng unilateral sind. Das heißt die Motoneurone erhalten Eingänge lediglich auf der Seite, auf welcher auch der angesteuerte Muskel liegt (Hedwig und Pearson, 1984; Pflüger et al., 1986).

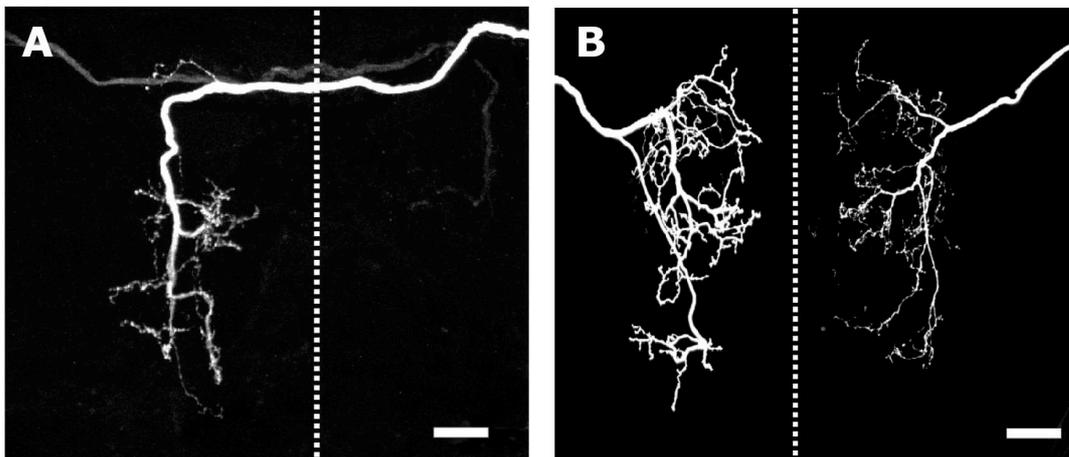


Abb. 5.15: Beispiele für die beiden verschiedenen Typen von prosternalen Windrezeptorzellen, die in Larve 1 angelegt werden. Backfill prothorakaler Axonkolaterale. A: Probasisternale Rezeptorzelle. B: Ein Paar bilateral homologer proepisternaler Rezeptorzellen (20x-Luft-Öl Objektiv, Markierung: Neurobiotin/Streptavidin-Cy2). Skalierungsbalken: 50 μm . Die gestrichelte Linie zeigt die Position der longitudinalen Mittellinie.

Sämtliche hier vorgestellten Interneurone haben ihren Zellkörper nicht im Prothorakalganglion. Lediglich die Somata zweier aufgrund unzulänglicher Färbung nicht gezeigter Neurone liegen in lateralen, posterioren Bereichen dieses Ganglions.

Da das Prothorakalganglion im isolierten Prosternum-Ganglionpräparat nur schwer zugänglich ist, wurde kurz hinter dem Ganglion im Konnektiv abgeleitet. So ist es verständlich, dass hier keine lokalen, sondern ausschließlich Neurone mit absteigenden Axonen beschrieben werden. Dieser Ansatz ist jedoch insofern hilfreich, als dass gerade die

durch die Schaltkreiselemente gefilterte und wahrscheinlich für den Organismus relevante Ausgangsinformation betrachtet werden kann.

Mögliche synaptische Ziele windsensitiver Interneurone

Die Flügel von *Locusta* inserieren am Meso- und Metathorax. Demgemäß findet sich in den entsprechenden Ganglien die Mehrzahl der für den Flug entscheidenden Neurone (vgl. auch Burrows, 1996). Das sind beispielsweise an der Generierung des Flugmusters beteiligte Interneurone (Robertson und Pearson, 1985; Rowell und Reichert, 1991) und verschiedene Motoneurone, welche Elevatoren und Depressoren ansteuern (Hedwig und Pearson, 1984). Konstanzleistungen, wie Korrekturen der Orientierung des Körpers durch Rollbewegungen oder die Einhaltung der Flugbahn trotz veränderter Strömungsverhältnisse übernehmen Flugsteuermuskeln. Das sind unter anderem die pleuro-axillaren Muskeln von Vorder- (M85) und Hinterflügel (M114; Elson und Pflüger, 1986). Diese Muskeln werden von Motoneuronen innerviert, die jeweils bilateral homolog in beiden Ganglien angelegt sind und in dorsalen Arealen des meso- und metathorakalen Ganglions vielfach verzweigen (Pflüger et al., 1986).

Dass auch das windsensitive prosternale System sehr wahrscheinlich im Kontext der Flugsteuerung steht, wurde von Burrows und Pflüger (1992) gezeigt. Jedes der paarweise angelegten A4I1 macht direkten Kontakt mit den beiden Motoneuronen der pleuroaxillaren Muskeln der Vorderflügel im Meso- und indirekten Kontakt mit denen der Hinterflügel im Metathorax.

Ähnliche Ausgangsverbindungen lassen auch die Morphologien der hier neu beschriebenen Interneurone vermuten. Alle verzweigen ebenfalls in den beiden hinteren thorakalen Ganglien und die Neuriten in diesen Bereichen sind, wie im Falle der Motoneurone, vorwiegend dorsal. Zwar ist mit den angewandten lichtmikroskopischen Methoden nicht abzusichern, ob Neuriten axonalen und/oder dendritischen Charakter haben, dennoch sind die geringe Verzweigungszahl, die große Segmentlänge und Radien von mehr als 2 μm auch bei den terminalen dorsalen Segmenten typische axonale Merkmale, die auf Ausgangsbereiche der Interneurone im Meso- und Metathorakalganglion hindeuten. Watson und Pflüger (1989) zeigen eine solche Regel durch Vergleich elektronenmikroskopischer und lichtmikroskopischer Aufnahmen am Beispiel des A4I1.

Im Hinblick auf möglicherweise gemeinsame postsynaptische Zielzellen ist es ebenfalls bemerkenswert, dass alle jetzt bekannten Interneurone des prosternalen Netzwerks morphologische Übereinstimmungen ihres meso- und metathorakalen Verzweigungsmusters

zeigen. So spalten sie in beiden Ganglien jeweils nur einen prominenten Ast nach lateral ab, dagegen in serieller Folge zahlreiche Neuriten nach median. Es ist deshalb möglich, dass auch die neu beschriebenen Interneuronen durch synaptischen Kontakt mit den Motoneuronen der peuroaxillaren Flugsteuerermuskeln mittelbar Steuerbewegungen induzieren, die kompensatorische oder Ausweichbewegungen im Flug hervorrufen würden (Pflüger et al., 1986).

Die Verschaltung des ProWIn2 – Ein postembryonaler Umbauprozess als Grundlage für die zentralnervöse Separierung von Rezeptoreingängen

Zum leicht wieder auffindbaren ProWIn2 wurden genauere anatomische Studien durchgeführt. Die Doppelmarkierungen mit Rezeptorzellaxonen erlauben dabei wesentliche Rückschlüsse auf dessen mögliche Verschaltung.

Abhängig von der Wellenlänge des verwendeten Lasers und des optischen Weges ist die höchstmögliche Auflösung konfokal-mikroskopischer Techniken etwa zehnmal niedriger als es für die Darstellung des synaptischen Spalts nötig wäre (vgl. Pawley, 1995). So können - im Gegensatz zur Elektronenmikroskopie - Synapsen nicht direkt validiert werden. Gegenüber der Elektronenmikroskopie besitzt das Laserscanverfahren jedoch den entscheidenden Vorzug, dass es bei vergleichsweise akzeptablem Aufwand wertvolle Hinweise auf synaptische Verbindungen in einem ausgedehnten Integrationsgebiet liefern kann. Demgemäß legen die gezeigten Überlappungen auch bei Aufnahmen mit hoch auflösendem Objektiv einen direkten Kontakt von Rezeptorzellaxonen und ProWIn2 nahe. Zahlreiche solcher putativen Synapsen fanden sich für die beiden in ihrer Projektion verschiedenen Rezeptorzellklassen, also sowohl für die in der Peripherie lateralen proepi- als auch für die medianen probasisternalen Afferenzen (vgl. Abb. 5.7).

Quantitative Untersuchungen der optischen Überlappung von Rezeptorzellklassen und A4I1 zeigen sehr ausgedehnte Appositionsbereiche zwischen Afferenzen und dem primären A4I1-Interneuron (Münch et al., 2001). In jener Studie wurden die Axone sensorischer Zellen und das A4I1 im gemeinsamen Verzweigungsgebiet rekonstruiert und die Überlappungen markiert. Wegen methodischer Beschränkungen der Software war die erreichte Auflösung noch deutlich geringer als die konfokalmikroskopisch mögliche. Es zeigte sich dennoch, dass mehr als ein Drittel der Oberfläche einer einzelnen Rezeptorzelle in einer 1 µm Umgebung mit der Oberfläche des A4I1 überlappt. Wegen der weiträumigen Apposition von Interneuron (A4I1) und Afferenzen wurden in der vorliegenden Arbeit Rezeptorzellprojektionen als Referenz für das in Neuronenzahl und Ausdehnung unbekanntes Integrationsgebiet des

prosternalen Schaltkreises angenommen. Unabhängig also davon, ob die Verschaltung zwischen Afferenzen und ProWIn2 mono- oder polysynaptisch ist und unabhängig von der beschränkten Auflösung der Lichtmikroskopie, legen die ausgedehnten Doppelmarkierungen deshalb nahe, dass ein einzelnes ProWIn2 die Information von Schaltkreiselementen beider Hemisphären auslesen könnte. Die Doppelfärbungen von Rezeptorzellen und ProWIn2 (vgl. 5.6 D) als auch die Indizien für die Existenz mehrerer spikegenerierender Zonen (Abb. 5.12) machen es darüber hinaus wahrscheinlich, dass die Information beider Neuropilhemisphären in jeweils getrennten Dendritenkompartimenten des ProWIn2 verarbeitet wird (vgl. dazu Ogawa et al., 2004).

Die Information eines einzelnen A4I1 zu einem bestimmten Zeitpunkt genügt nicht um die Windrichtung festzustellen. Eine hohe Spikezahl in dem unilateral verzweigenden Interneuron könnte gleichermaßen für einen sehr weit ipsilateralen Stimulus aber auch für eine erhöhte Reizstärke kodieren. Eine mögliche Lösung für dieses Problem läge in der Veränderung der Position gegenüber dem Stimulus. Dabei müsste der Schaltkreis die Antwortstärken vor und nach der Positionsänderung miteinander vergleichen. Ein ähnlicher Mechanismus ist beispielsweise für den Zickzack-Flug von Motten bekannt, die nach olfaktorischen Stimuli navigieren. Es wird vermutet, dass, verglichen mit der Distanz zwischen den Duftpaketen (*odor packets*), die Antennen von Motten zu nahe beieinander liegen, um eine bilaterale Asymmetrie der Antworten hervorzurufen (Webb et al., 2004). Lediglich die weitaus längeren Antennen von Schaben scheinen dagegen in der Lage zu sein, Pheromongradienten zwischen den beiden Detektionsorganen zur Orientierung nutzen zu können (Hösl, 1990). Ähnlich den Motten, bei denen die Antennen hinsichtlich der Detektion also eine Einheit bilden und die deshalb ständige Wendemanöver vollführen, könnte prinzipiell auch eine fliegende Heuschrecke navigieren. Jedoch würde die zeitliche Auflösung infolge der erforderlichen Positionsänderung stark eingeschränkt (Die olfaktorische Signalkette bei Motten bedingt dagegen schon wegen second-messenger-Kaskaden ein langsameres Antwortverhalten als bei mechanosensorischer Transduktion - Restrepo et al., 1995). Zudem würde ein zeitlicher Integrator benötigt der die Antwortwerte vor und nach den Wendemanövern vergliche (Vickers und Baker, 1994).

Vorteilhafter erscheint der Vergleich der Information beider Seiten zum selben Zeitpunkt. Denkbar ist, dass ein Paar von bilateral symmetrischen Neuronen Eingang von Rezeptoren jeweils einer Seite erhält und rekurrent inhibitorisch verschaltet ist (vgl. auch Einleitung,

Selverston et al., 1985). Die physiologischen Befunde für das ProWIn2 geben erste Anhaltspunkte für einen ähnlichen Mechanismus:

Nur auf die separate Stimulierung der probasisternalen Afferenzen antwortete das ProWIn2 nahezu tonisch - mit vielen Aktionspotentialen. Dagegen war bei Reizung der lateralen proepisternalen Rezeptorpopulationen die Antwort bis auf einen anfänglichen Spike vollständig inhibiert, egal ob das ipsi- oder das kontralaterale proepisternale Rezeptorfeld gereizt wurde (vgl. Abb. 5.12). Die unterschiedlichen Reaktionen bei proepi-beziehungsweise probasisternaler Reizung deuten deshalb eine reziproke Verrechnung der Information der beiden verschiedenen Rezeptorklassen an (Abb. 5.16). Welche sind die möglichen präsynaptischen Elemente des ProWIn2, die Erregung und Hemmung vermitteln?

Erregung: Prinzipiell ist eine monosynaptische Verschaltung von probasisternalen Rezeptorzellen mit dem ProWIn2, wie es die Doppelmarkierungen nahe legen, vorstellbar. Dagegen deuten physiologische Befunde auf einen dominierenden synaptischen Eingang anderen Ursprungs hin. Das A4I1 beispielsweise macht monosynaptischen Kontakt mit vielen verschiedenen Rezeptorzellen. Dabei differieren die Synapsenstärken beträchtlich und überdies bilden die Eingänge vieler verschiedener Afferenzen bei konstanter Reizung ein zeitlich inhomogenes Muster (Pflüger und Burrows, 1990). Das ProWIn2 generiert dagegen in tonischer Weise postsynaptische Potentiale mit vergleichbarer Amplitude (Abb. 5.12 A). Die in Zeitstruktur und Amplitude homogene EPSP-Folge des ProWIn2 ähnelt dabei der Ausgangsinformation des fast tonisch spikenden A4I1, weshalb letzteres eventuell präsynaptisch zum ProWIn2 ist. Daneben können jedoch tatsächlich weitere Verbindungen existieren, beispielsweise zu Rezeptorzellen. Wegen der recht großen Entfernung der Ableitstelle zum Neuropil wurden deren PSPs in den Aufnahmen aber möglicherweise nicht deutlich.

Hemmung: Die Information proepisternaler Rezeptorzellen sollte über ein inhibitorisches Interneuron vermittelt werden, denn wie typische Mechanorezeptoren von Insekten besitzen auch Haarrezeptorzellen keine GABA-ergen Ausgangssynapsen (Watson und Pflüger, 1984). Welche Neurone die Inhibition letztlich vermitteln, ist noch unklar. Vorstellbar sind zwischengeschaltete Interneurone, die direkt auf das ProWIn2 verschalten. Die Doppelmarkierungen von Afferenzen und ProWIn2 zeigen aber auch, dass auf jeder Seite des bilateralen ProWIn2 proepisternale und probasisisternale Afferenzen in unmittelbarer Nachbarschaft konvergieren. Eine indirekte Wechselwirkung zwischen beiden Populationen ist deshalb möglich, beispielsweise über präsynaptische Inhibition (vgl. Wolf und Burrows, 1995); dies umso mehr als elektronenmikroskopische Aufnahmen präsynaptischen

GABAergen Synapsen auf Haarrezeptorterminalen zeigen (Watson und Pflüger, 1994). Die über diesen Mechanismus vermittelten Inhibitionen wären darüber hinaus nicht im ProWIn2 als IPSPs erkennbar.

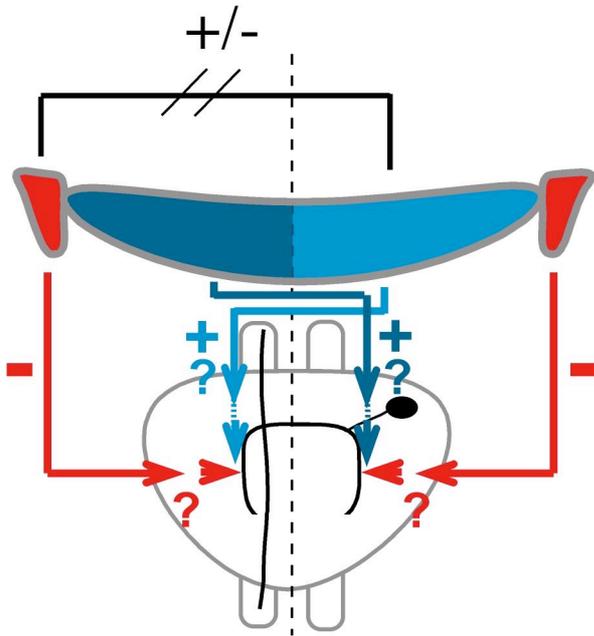


Abbildung 5.16: Die Verschaltung der Information verschiedener Rezeptorklassen auf das Pro WIn2 (hypothetisches Schema auf Basis der Resultate aus Abb. 5.13) Die Information proepisternaler Rezeptorzellen (rot) inhibiert mittelbar die Antwort des ProWIn2, die der probasisternalen (blau) wirkt dagegen exzitatorisch. Die sensorischen Felder der beiden gegensätzlich verschalteten Rezeptorklassen sind deutlich separiert (+/-). Die Hemmung muss durch ein bisher unbekanntes inhibitorisches Interneuron vermittelt sein (rote Doppelpfeile), die Erregung könnte sowohl in Folge direkten Eingangs von den Rezeptorzellen, als auch durch ein eingeschaltetes Interneuron erfolgen (gestrichelt verbundene Doppelpfeile).

Das Bemerkenswerte der Verschaltung des prosternalen Netzwerks wird deutlich durch einen Vergleich mit anderen richtungsempfindlichen Systemen. So sind Cerci paarig angelegte Körperanhänge und auch die Tympana von Orthopteren sind jeweils gleichartige aber diskrete Strukturen auf einander gegenüber liegenden Körperhälften. In beiden Systemen sind Intensitäts- und Laufzeitunterschiede, die durch die Separierung der Reizeempfänger entstehen, entscheidende Parameter (Auditorik: von Helversen und Rheinländer, 1988, Cercalsystem: Camhi und Levy, 1989). Im Cercalsystem werden so neben Antwortunterschieden aufgrund der Richtungsselektivität einzelner Rezeptorklassen auch die links/rechts-Unterschiede der Antwortlatenz und der Antwortstärke (AP-Zahl) prozessiert. Die Distanz- und Laufzeitdifferenzen sind aber gerade bei den verhältnismäßig kleinen

Insekten sehr gering. Eine Möglichkeit, die Auflösung von Richtungsinformation zu verbessern ist es deshalb, die sensorischen Strukturen möglichst weit entfernt voneinander zu positionieren.

Im Unterschied zu den genannten Systemen erscheint das sensorische Feld des prosternalen Systems bei *Locusta* jedoch eher als eine zusammenhängende Struktur, die sich in kontinuierlicher Abfolge von benachbarten Rezeptoren über die lateralen proepisternalen und die medianen probasisternalen Bereiche erstreckt. Insbesondere im medianen Bereich sind ipsi- und kontralaterale Seite der Kutikula anatomisch nicht voneinander abgetrennt.

Bei Larven findet auch zentralnervös noch keine Separierung der Eingänge statt. Probasi- und proepisternale Rezeptorzellen derselben Seite konvergieren in derselben Ganglienhemisphäre des Prothorakalganglions (Abb. 5.17, links)²⁵. Zudem erhält eine einzelne Neuropilhemisphäre gemischten ipsi- und kontralateralen Eingang von probasisternalen Rezeptorzellen (Abb. 5.17, links). Auch innerhalb einer Neuropilhemisphäre ist keine topologische Ordnung erkennbar. Erst der Verlust des ipsilateralen Astes während der Postembryonalentwicklung von probasisternalen Afferenzen führt im adulten Tier dazu, dass probasisternale Afferenzen ausschließlich nur nach kontralateral projizieren (Abb. 5.17, rechts). Dieser Umstand erschien aber bislang, im Fall des A4I1, als paradox - denn das Interneuron erhält exzitatorischen Eingang etwa gleicher Stärke von ipsi- als auch von kontralateralen Afferenzen (Abbildung 5.17, vgl. Einleitung und Pflüger et al., 1994). Anders beim ProWIn2. Dessen Verschaltung bietet nun erstmals die Möglichkeit, den Nutzen des dramatischen postembryonalen Strukturwandels probasisternaler Afferenzen zu begründen.

Im Gegensatz zum A4I1 unterscheidet sich die Eingangsinformation des Haarfeldes auf das ProWIn 2 im Vorzeichen - eine Population vermittelt Exzitation, die andere Hemmung (Abb. 5.16). Das könnte die Grundlage bilden für einen kompetitiven Verrechnungsmodus, welcher gewissermaßen einem Vergleich der Stimulusinformation von verschiedenen Rezeptorzellklassen entspricht, im adulten Tier also von lateral gelegenen ipsilateralen (proepisternalen) mit eher median gelegenen kontralateralen (probasisternalen) Afferenzen (vgl. Abb. 5.17, rechts). Der postembryonale Strukturwandel führt also zu einer Separierung

²⁵ Für einen links/rechts-Vergleich erscheint es sinnvoll, dass die Information von Rezeptoren mit ähnlicher Empfindlichkeit auf beiden Seiten gegeneinander verrechnet wird. Deshalb werden im Folgenden die Projektionen gleich alter Rezeptorzellen betrachtet (angelegt in Larve 1), deren filiforme Außenglieder etwa gleiche Schaftlängen aufweisen und somit wahrscheinlich ähnlich empfindlich sind (Kämper, 1992; Barth et al., 1993).

von Eingängen, und bildet die strukturelle Basis für den Vergleich weit entfernt liegender Rezeptorpopulationen (Abb. 5.16; Abb. 5.17 rechts).

Das heißt, während bei anderen Systemen die Sinnesorgane schon periphär voneinander separiert sind, so etwa bei den bilateral angelegten Cerci, entsteht eine funktionell ähnliche Separierung bei *Locusta* erst infolge eines zentralnervösen Umbauprozesses. Der axonale Umbau der Afferenzen könnte demgemäß zu einer Kontrastverschärfung der Richtungsinformation führen, weil er insbesondere die Intensitäts- und Laufzeitunterschiede zwischen den zu vergleichenden Rezeptorklassen vergrößern würde.

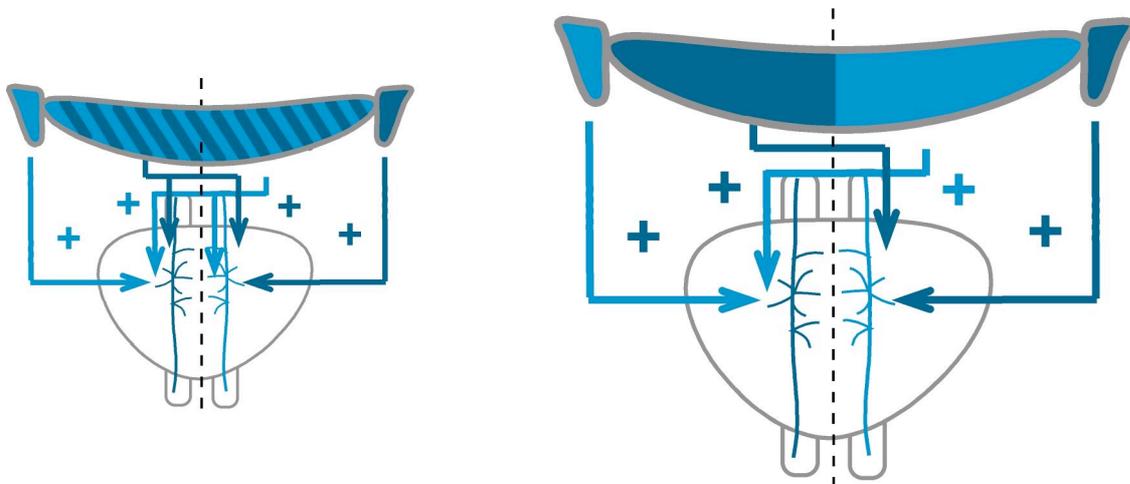


Abbildung 5.17: Darstellung des postembryonalen Strukturwandels prosternaler Rezeptorzellaxone und der Konsequenzen für die Verschaltung mit dem A4I1. Während probasisternale Afferenzen in Larven noch bilateral projizieren (links), machen die selben Afferenzen im adulten Tier nur noch Kontakt mit dem kontralateralen A4I1 (rechts). Als Folge erhält das A4I1 adulter Wanderheuschrecken exzitatorischen Eingang sowohl von ipsi- (Proepisternum) als auch von kontralateraler Seite (Probasisternum).

Vergleich der Richtungsverarbeitung bei A4I1 und ProWin2

Windsensitive Systeme stehen in verschiedenen Verhaltenskontexten. Beim Fluchtverhalten von Schabe und Grille ruft ein schwacher Windstoß, etwa von der Zungenbewegung des Angreifers, eine Orientierung der Bewegung in eine der Reizquelle gegenüberliegende Richtung hervor. Die Verbindung von A4I1 und Flugmotoneuronen als auch das Vorhandensein von Terminalen der hier neu beschriebenen Schaltkreiselemente im Integrationsgebiet thorakaler Flugmotoneurone legen eine Funktion bei der Flugsteuerung nahe. Dabei ist aber nicht bekannt, noch liegen Hypothesen darüber vor, welche Präferenzen das System hat, d.h. welche Reizrichtung wie beantwortet wird. Solche Präferenzen können jedoch nur aus, wenn auch hypothetischen, Funktionskreisen abgeleitet werden. Vorstellbar

ist wiederum eine Beteiligung am Fluchtverhalten oder - funktionell ähnlich – die Vermeidung von Kollisionen beim Schwarmflug, wobei jedes flügel Schlagende Tier eine Windquelle darstellte. Gerade aber im Fall des Insektenfluges, der eine sehr energieintensive Fortbewegungsart darstellt, sollten sensorische Systeme der Minimierung des Energieaufwandes dienen. Insbesondere Langstreckenflieger könnten sich so stark schwankenden Strömungsverhältnissen anpassen, eventuell sogar in Konkurrenz zu anderen Sinnessystemen, visuellen beispielsweise. In allen Fällen, egal ob Flucht oder Strömungsmessung, sollte sich das Tier weg von der maximalen Windstärke orientieren. Ellson und Pflüger (1986) zeigen, dass Motoneurone auf der Seite des Tiers mehr Aktionspotentiale generieren, die eine Kompensationsbewegung bei Auslenkung durch Rollen hervorruft. Bei der Feindvermeidung aufgrund auditorischer Reizung, zeigen die Depressoren des Vorderflügels ähnliche funktionelle Asymmetrien (Dawson et al., 1997). Das A4I1, das direkt und exzitatorisch auf Motoneurone verschaltet, generiert seine maximale Aktionspotentialzahl auf genau ipsilaterale Stimulation (Bucher & Pflüger, 2000), ist also maximal für Wind von der Seite empfindlich. Das zeigen einerseits die Kurven zur Richtungssensitivität (Bucher & Pflüger, 2000), andererseits belegen dies die Daten zur Verschaltung. So machen beim A4I1 die lateralen proepisternalen Rezeptorzellen den stärksten Kontakt mit dem Interneuron; die EPSPs eines identifizierten proepisternalen Haares werden beispielsweise 1:1 in Aktionspotentiale im A4I1 umgesetzt (Pflüger und Burrows, 1990). Das ProWIn2 ist dagegen maximal für Wind von vorn empfindlich und ausschließlich die Reizung probasisternaler Rezeptoren im ProWIn2 führt zu maximaler Erregung.

Im Gegensatz zum A4I1 sollte die Richtungspräferenz im ProWIn2 eine maximale Antwort in einem Satz von Steuermuskeln hervorrufen, wenn der Wind von vorn auf das Tier trifft. Dies ist in guter Übereinstimmung mit den Anforderungen an ein System, welches versucht die Energiekosten, d.h. den Gegenwind zu minimieren. Da die Versuche am isolierten Prosternum-Ganglionpräparat durchgeführt wurden und die Strömungsverhältnisse über der Kutikula im tatsächlichen Flug bislang nicht untersucht wurden, könnten derartige Experimente die Präferenzrichtungen des Systems besser zu verstehen helfen.

Daneben ist ein weiterer Unterschied zwischen den beiden Interneuronen hervorzuheben, der auf eine präzisere Abstimmung durch Kontrastverschärfung hindeutet. Während die Antwort des A4I1 bei Stimulierung aus verschiedenen Winkeln höchstens auf 50% maximaler Reaktion absinkt, deuten die Daten zum ProWIn2 eine viel drastischere Verringerung an: die minimale Antwort beträgt lediglich etwa 20% der maximalen (Abb. 5.14). Mit einer noch zu

entwickelnden Apparatur sollte die Richtungsantwort des ProWIn2 unter intrazellulärer Ableitung jedoch genauer abgeklärt werden können. Wichtig wäre zu überprüfen ob, auch die Information ipsi- und kontralateraler probasisternaler Rezeptorzellen (blau in Abb. 5.16) unterschiedlich gewichtet wird. Die anatomischen Daten aus den Doppelmarkierungen legen eine unterschiedliche Verschaltung in beiden Hemisphären nahe. Auch die Richtungsabhängigkeit (Abb. 5.14) zeigt, dass neben der unterschiedlichen Verschaltung der lateralen und median gelegenen Rezeptorzellklassen auch die Verschaltung ipsi- und kontralateraler Afferenzen der jeweiligen Klasse (z.B. hellblau- vs. dunkelblau in Abb. 5.16).

Physiologische Merkmale der Schaltkreiselemente des windsensitiven prosternalen Systems – Hinweise auf Verarbeitung relevanter Parameter

Ein einzelnes sensorisches System verarbeitet in der Regel mehrere Merkmale der relevanten Reize, beispielsweise solche die Auskunft geben über Intensität und zeitliche Struktur eines Stimulus. Üblicherweise dienen einzelne Schaltkreiselemente als Filter, die spezifische Charakteristika extrahieren, dagegen keine oder nur noch ungenaue Information über andere Charakteristika übertragen.

Die hier vorgestellten Erkenntnisse über neue Elemente des prosternalen windsensitiven Systems bieten die Möglichkeit dessen Funktionsspektrum neu zu diskutieren. So könnten die gegenüber dem ProWIn2 ungenauere Winkelauflösung des A4I1 und dessen kontraintuitive Verschaltungseigenschaften (siehe oben) beispielsweise auf einen anderen Funktionskreis als die Richtungsverarbeitung hindeuten. Wegen der hohen Anzahl exzitatorischer Eingänge prosternaler Afferenzen stellt das A4I1 einen ausgezeichneten Monitor über die Aktivität des gesamten Rezeptorfeldes dar und bildet deren zeitliche Aktivitätsstruktur ab. Das könnte die sensorische Grundlage bilden, die letztlich zur Kopplung des Flügelschlags hintereinander fliegender Heuschrecken führt (Camhi et al., 1995). Hierfür wäre die Verarbeitung der zeitlichen Modulationen der Windstärke entscheidend. Daneben dürfte schon das primäre A4I1-Interneuron einen Filter darstellen für verschiedene Reizintensitäten, da die Afferenzen unterschiedlich langer Haare unterschiedlich stark mit dem Interneuron verschalten.

Schon die Antworten der abgeleiteten intersegmentalen Interneurone auf Windpulse zeigen, dass vom System verschiedene Parameter des Stimulus extrahiert und weitergeleitet werden. So beantwortete ein spontanaktives Neuron gerade die Pausen zwischen den Pulsen. Andere, sehr phasische Neurone, markierten nur den Anfang der Pulse. Letzteres stellt gewissermaßen einen Hochpassfilter dar, der den Organismus nicht über statische Phänomene sondern über schnelle Veränderungen informieren würde. Bemerkenswert ist das Vorhandensein

multimodaler Neurone schon auf thorakaler Ebene. Diese Neurone detektierten neben Wind auch akustische oder vibratorische Reize. Zwar ist nicht auszuschließen, dass die verwendeten einfachen vibratorischen/akustischen Stimuli statt über das prothorakale Chordotonalorgan (Pflüger und Field, 1999) nicht doch über das Haarfeld rezipiert wurden, doch spricht dagegen, dass nur die betreffenden Neurone auf Stimmengeräusche aus mehr als einem Meter Entfernung PSP-Antworten generierten, andere, für Wind ähnlich empfindliche Neurone aber nicht auf diese Reize antworteten. Solche konvergente Prozessierung verschiedener Reizmodalitäten findet sich oft auf höheren Verarbeitungsstufen und ist am Orientierungsverhalten (Griss und Rowell, 1986) oder der Auslösung von Erregung (arousal) und Feindvermeidung beteiligt. Beispielsweise erhalten Interneurone, die bedeutsam sind für das Auslösen des Heuschreckensprungs (Inhibitoren von Flexor-Tibia-Motoneuronen des Hinterbeins), visuellen, auditorischen, taktilen und propriozeptive sensorischen Eingang (Pearson et al., 1980).

Im Gegensatz zum A4I1 zeigen einige der hier untersuchten Interneurone Intensitätskennlinien mit lokalem Maximum, sind also auf eine optimale Reizstärke abgestimmt. Eine solche Filtercharakteristik bietet dem System die Möglichkeit, relevante Stimuli in spezifischen Kanälen zu verarbeiten. Darüber hinaus zeigen diese Kennlinienverläufe auf einfache Weise, dass Neurone dieses Schaltkreises komplexere sensorische Verarbeitungsmechanismen aufweisen, als es bisher bekannt war. Die Verringerung der Antwort ist wahrscheinlich auf die schrittweise Rekrutierung hemmender Bahnen bei hohen Intensitäten zurückzuführen, denn weder Rezeptoren noch A4I1 zeigen für die verwendeten kurzen Stimuli (300 ms) entsprechend drastische Formen von Adaptation bzw. synaptischer Plastizität.

Die Präzision der Abbildung und Auflösung von Amplitudenmodulationen hängt stark von zellulären Parametern wie von der maximalen Spikefrequenz und dem genauen Spike-Timing ab. Breite Aktionspotentiale, hohe Refraktärzeiten und unregelmäßige Antwortlatenzen sind dabei limitierend. Die maximal gemessenen instantanen Spikefrequenzen von etwa 350-450 Hz bei 4 Interneuronen (inklusive A4I1) deuten auf hoch dynamische Informationsübertragung, bzw. Membraneigenschaften hin. Ähnlich hohe Werte sind u.a. für die akustischen Systeme verschiedener Insekten bekannt und bilden dort die Grundlage einer sehr präzisen Zeitmustererkennung beziehungsweise der Auflösung sehr geringer links/rechts Unterschiede (*phase locking* von Neuronen bis ca. 10 kHz: Köppl, 1997). Ähnlichen Ansprüchen an die zeitliche Präzision der Aktivität müssen sensorische Neurone des Flugsystems gerecht werden. So erfolgt der Antwortbeginn des Flügelstreckrezeptors von

Manduca sexta immer in einem engen, circa 1,5 ms breiten Intervall nahe der maximalen Auslenkung des Flügels (Frye, 2001).

Zusammenfassung und Ausblick:

Die Rezeptorzellen des windsensitiven Systems im Prothorax der Wanderheuschrecke erfahren während der Postembryonalentwicklung einen drastischen Strukturwandel. In dessen Folge entsteht ein Projektionsmuster, das durch das Antwortverhalten des einzig bislang bekannten Interneurons (A4I1) des Netzwerks nicht zu erklären war. Das Hauptziel des letzten Teils der vorliegenden Arbeit bestand darin, neue Schaltkreiselemente zu identifizieren, deren Verschaltung die Funktion des bereits umfassend untersuchten Strukturwandels erklären könnte. Im Gegensatz zum A4I1, das ausschließlich exzitatorische Eingänge von verschiedenen Rezeptorzellklassen beider Hemisphären erhält, waren die Antworten des neu beschriebenen Projektionsinterneurons (ProWIn2) auf die Stimulation ipsi- und kontralateraler Rezeptorzellklassen gegensätzlich. Das Verschaltungsmuster des ProWIn2 und der postembryonale Strukturwandel könnten deshalb einen Vergleich weit entfernter Rezeptorpopulationen gewährleisten und zur Kontrastverschärfung der Richtungsantwort beitragen. Neben dem ProWIn2 wurden weitere Interneurone des prothorakalen Netzwerks identifiziert. Unterschiedliche morphologische und physiologische Charakteristika geben einen ersten Hinweis auf die bislang unbekannt Komplexität eines Neuronennetzwerks, das sich von einem bedeutenden Insektenmodell, dem Cercalssystem, klar unterscheidet. Trotz unterschiedlicher peripherer und zentralnervöser Elemente stehen beide in einem ähnlichen Funktionskontext. Der Vergleich beider Systeme würde eine grundlegende Problemstellung aufgreifen, nämlich: wie vergleichbare Aufgaben durch sehr verschiedenartige Strukturen gelöst werden können.

5.4 Literatur

- Andermann ML, Moore CI** (2006) A somatotopic map of vibrissa motion direction within a barrel column. *Nat Neurosci* 9:543-51.
- Bacon JP, Murphey RK** (1984) Receptive fields of cricket giant interneurons are related to their dendritic structure. *J Physiol* 352:601-23.
- Barth FG, Wastl U, Humphrey JAC, Devarakonda R** (1993) Dynamics of arthropod filiform hairs. II. Mechanical properties of spider trichobothria (*Cupiennius salei* Keys.). *Phil Trans R Soc Lond B* 340:445–461.
- Barth FG** (2000) How to catch the wind: spider hairs specialized for sensing the movement of air. *Naturwissenschaften* 87(2):51-8.
- Blagburn JM, Bacon JP** (2004) Control of central synaptic specificity in insect sensory neurons. *Annu Rev Neurosci.* 27:29-51.
- Boyan GS, Ball EE** (1990) Neuronal organization and information processing in the wind-sensitive cercal receptor/giant interneurone system of the locust and other orthopteroid insects. *Prog Neurobiol* 35(3):217-43
- Bucher D, Pflüger HJ** (2000) Directional sensitivity of an identified wind-sensitive interneuron during the postembryonic development of the locust. *J Insect Physiol* 46:1545-1556.
- Burrows M, Pflüger H-J** (1992) Output connections of a wind sensitive interneurone with motor neurones innervating flight steering muscles in the locust. *J Comp Physiol A* 171(4):437-46.
- Burrows, M** (1996) *The Neurobiology of an Insect Brain*, Oxford University Press, Oxford 1996

- Camhi JM, Tom W** (1978) The escape behavior of the cockroach *Periplaneta americana*.
I. Turning response to wind puffs. *J Comp Physiol A* 128:193-201.
- Camhi JM, Levy A** (1989) The code for stimulus direction in a cell assembly in the cockroach. *J Comp Physiol [A]* 165:83-97.
- Camhi J, Sumbre G, Wendler G** (1995) Wing-beat coupling between flying locust pairs: preferred phase and lift enhancement. *J Exp Biol.* 198:1051-63.
- Comer CM** (1985) Analyzing cockroach escape behavior with lesions of individual giant interneurons. *Brain Res* 335(2):342-6.
- Daley DL, Camhi JM** (1988) Connectivity pattern of the cercal-to-giant interneuron system of the American cockroach. *J Neurophysiol* 60(4):1350-68
- Dawson J, Dawson-Scully K, Robert D, Robertson & Yacute; R** (1997) Forewing asymmetries during auditory avoidance in flying locusts. *J Exp Biol* 200:2323-35.
- Drasler K** (1973) Functional properties of trichobothria in the bug *Pyrrhocoris apterus* (L.). *J Comp Physiol* 84:175-184.
- Elson R, Pflüger H-J** (1986) The activity of a steering muscle in locusts. *J Exp Biol* 120: 421-441.
- Frye MA** (2001) Encoding properties of the wing hinge stretch receptor in the hawkmoth *Manduca sexta*. *J Exp Biol* 204:3693-702.
- Galizia CG, Sachse S, Rappert A, Menzel R** The glomerular code for odor representation is species specific in the honeybee *Apis mellifera*. *Nat Neurosci* 2(5):473-8.
- Griss C, Rowell CH** (1986) Three descending interneurons reporting deviation from course in the locust. I. Anatomy. *J Comp Physiol A* 158(6):765-74.
- Hedwig B, Pearson KG** (1984) Patterns of synaptic input to identified flight motoneurons in the locust. *J Comp Physiol A* 154:745-760.

- von Helversen D, Rheinlaender J** (1988) Interaural intensity and time discrimination in an unrestrained grasshopper: a tentative approach. *J Comp Physiol A* 162:333–340.
- Hennig RM** (1988) Ascending auditory interneurons in the cricket *Teleogryllus commodus* (Walker): comparative physiology and direct connections with afferents. *J Comp Physiol A* 163:135–143.
- Hennig RM, Franz A, Stumpner A** (2004) Processing of auditory information in insects. *Microsc Res Tech.* 63(6):351-74.
- Hösl M** (1990) Pheromone-sensitive neurons in the deutocerebrum of *Periplaneta americana*: receptive fields on the antenna. *J Comp Physiol A* 167: 321–327.
- Jacobs GA, Miller JP, Murphey RK** (1986) Integrative mechanisms controlling directional sensitivity of an identified sensory interneuron. *J Neurosci* 8:2298-311.
- Kalogianni E** (1995) Physiological properties of wind-sensitive and tactile trichoid sensilla on the ovipositor and their role during oviposition in the locust. *J Exp Biol* 198(Pt 6):1359-69.
- Kämper, G** (1992) Development of cricket sensory hairs: changes of dynamic mechanical properties. *J Comp Physiol A* 170, 49-55.
- Keil TA** (1997) Functional morphology of insect mechanoreceptors. *Microsc Res Tech* 39(6): 506-31.
- Knudsen EI** (2002) Instructed learning in the auditory localization pathway of the barn owl. *Nature* 417(6886):322-8.
- Köppl C** (1997) Phase locking to high frequencies in the auditory nerve and cochlear nucleus magnocellularis of the barn owl, *Tyto alba*. *J Neurosci* 17:3312–3321.
- Landolf MA, Jacobs GA** (1995) Direction sensitivity of the filiform hair population of the cricket cercal system. *J Comp Physiol A* 177:759-766.

- Lewis JE, Kristan WB Jr** (1998) Representation of touch location by a population of leech sensory neurons. *J Neurophysiol.* 80(5):2584-92.
- Levi R, Camhi JM** (2000 a) Wind direction coding in the cockroach escape response: winner does not take all. *J Neurosci* 20(10):3822-9.
- Levi R, Camhi JM** (2000b) Population vector coding by the giant interneurons of the cockroach. *J Neurosci* 20(10):3822-9.
- Magal C, Dangles O, Caparroy P, Casas J** (2006) Hair canopy of cricket sensory system tuned to predator signals. *J Theor Biol.* 2006 Jan 19
- Marie B, Bacon JP, Blagburn JM** (2000) Double-stranded RNA interference shows that Engrailed controls the synaptic specificity of identified sensory neurons. *Curr Biol* 10(5):289-92
- McLaughlin T, Hindges R, O'Leary DD** (2003) Regulation of axial patterning of the retina and its topographic mapping in the brain. *Curr Opin Neurobiol* 13(1):57-69.
- Mentel T** (1999) Die unterschiedlichen Ürojektionsmuster sensorischer Afferenzen auf dem Prosternum der Wanderheuschrecke *Locusta migratoria*. Diplomarbeit. Freie Universität Berlin.
- Miller JP, Jacobs GA, Theunissen FE** (1991) Representation of sensory information in the cricket cercal sensory system. I. Response properties of the primary interneurons. *J Neurophysiol* 66(5):1680-9.
- Münch D, Schmitt S, Scholz M, Pflüger H-J** (2002) Analyzing neuronal connectivity and postembryonic structural plasticity in a sensory – motor circuit of *Locusta migratoria* by application of 3-D reconstruction methods. In *95. Jahresversammlung der DZG in Halle* 13-14.
- Ogawa H, Baba Y, Oka K** (2004) Directional sensitivity of dendritic calcium responses to wind stimuli in the cricket giant interneuron. *Neurosci Lett* 358(3):185-8.

- Pawley, JB** (1995) Handbook of biological confocal microscopy. Plenum Press, New York, London.
- Paydar S, Doan CA, Jacobs GA** (1999) Neural mapping of direction and frequency in the cricket cercal sensory system. *J Neurosci* 19(5):1771-81.
- Pearson KG, Heitler WJ, Steeves JD** (1980) Triggering of locust jump by multimodal inhibitory interneurons. *J Neurophysiol* 43(2):257-78.
- Pflüger HJ, Elson R, Binkle U, Schneider H** (1986) The central nervous organization of the motor neurones to a steering muscle in locusts. *J. Exp Biol* 120: 403-420.
- Pflüger HJ, Burrows M** (1990) Synaptic Connections of Different Strength Between Wind-sensitive Hairs and an Identified Projection Interneuron in the Locust. *Eur J Neurosci* 2:1040-1050.
- Pflüger HJ, Hurdelbrink S, Czjzek A, Burrows M** (1994) Activity-dependent structural dynamics of insect sensory fibers. *J Neurosci* 14:6946-55.
- Pflüger HJ and Field, LH** (1999) A locust chordotonal organ coding for proprioceptive and acoustic stimuli. *J. Comp Physiol A*, 184: 169-183.
- Pollack GS** (1994) Synaptic inputs to the omega neuron of the cricket *Teleogryllus oceanicus*: differences in EPSP waveforms evoked by low and high sound frequencies. *J Comp Physiol A* 174:83–89.
- Restrepo D, Teeter JH, Schild D** (1995) Second messenger signalling in olfactory transduction. *Journal of Neurobiology* 30: 37–48.
- Robertson RM, Pearson KG** (1985) Neural circuits in the flight system of the locust. *J Neurophysiol* 53(1):110-28.
- Ronacher B, Stumpner A** (1988) Filtering of behavioural relevant temporal parameters of a grasshopper's song by an auditory interneurone. *J Comp Physiol A* 163:517-523.

- Rowell, CHF, Reichert, H** (1991) Mesothoracic interneurons involved in flight steering in the locust. *Tissue Cell* 23: 75-139.
- Schrader S, Horseman G, Cokl A** (2002) Directional sensitivity of wind-sensitive giant interneurons in the cave cricket *Troglophilus neglectus*. *J Exp Zool* 292(1):73-81.
- Selverston A, Kleindienst H-U, Huber F** (1985) Synaptic connectivity between cricket auditory interneurons as studied by selective photoinactivation. *J Neurosci* 5:1283–1292.
- Single S, Borst A** (1998) Dendritic integration and its role in computing image velocity. *Science* 281(5384):1848-50.
- Tauber E, Camhi J** (1995) The wind-evoked escape behavior of the cricket *Gryllus bimaculatus*: integration of behavioral elements. *J Exp Biol* 198(Pt 9):1895-907.
- Tautz J** (1977) Reception of medium vibration by thoracal hairs of caterpillars of *Barathra brassicae* L. (Lepidoptera, Noctudae). I. Mechanical properties of the receptor hairs. *J Comp Physiol A* 118: 13–31.
- Thompson KS, Blagburn JM, Gibbon CR, Bacon JP** (1992) Correlation of filiform hair position with sensory afferent morphology and synaptic connections in the second instar cockroach. *J Comp Neurol* 320(2):213-27.
- Vickers NJ, Baker TC** (1994) Reiterative responses to single strands of odor promote sustained upwind flight and odor source location by moths *Proc Natl Acad Sci* 91(13):5756-60.
- Watson AHD, Pflüger HJ** (1984) The ultrastructure of prosternal sensory hair afferents within the locust central nervous system. *Neuroscience* 11:269-279.
- Watson AH, Pflüger HJ** (1989) Regional specialisation for synaptic input and output on a locust intersegmental interneurone with multiple spike-initiating zones. *J Comp Neurol* 279:515-27

Webb B, Harrison RR, Willis MA (2004) Sensorimotor control of navigation in arthropod and artificial systems. *Arthropod Structure and Development* 33 (301-329).

Wolf H, Burrows M (1995) Proprioceptive sensory neurons of a locust leg receive rhythmic presynaptic inhibition during walking. *J Neurosci* 15(8): 5623-36.