

## Zusammenfassung

**Kapitel I** - Bis dato bleibt die Frage unbeantwortet, ob Muster neuronaler Aktivität, gemessen in Geruchsverarbeitungszentren des Gehirns, der in Verhaltensexperimenten gemessenen Wahrnehmung von Düften entspricht unbeantwortet. Um eine Antwort zu finden, untersuchte ich die Duftwahrnehmung der Honigbienen, *Apis mellifera*, in Konditionierungsexperimenten unter Zuhilfenahme der „Proboscis Extensions-Reaktion“ (PER). Ich konditionierte Bienen auf spezielle Düfte und testete ihre Generalisierungsantworten auf neue, nicht konditionierte Düfte. Sechzehn Düfte wurden verwendet, welche sich sowohl in ihrer funktionellen Gruppe und deren Bindungsstelle (primäre und sekundäre Alkohole, Aldehyde und Ketone) als auch in der Länge ihrer Kohlenstoffkette (6-9 Kohlenstoffatome) voneinander unterschieden. Nach der Präsentation von insgesamt 16x16 Duftpaaren zeigten die Testergebnisse von über 2000 Tieren, dass (i) alle präsentierten Düfte gelernt werden konnten, wobei die Akquisition für kurzkettige Ketone schlechter ausfiel als die der anderen Düfte; (ii) die Stärke der Generalisierung abhängig von der funktionellen Gruppe und der Länge der Kohlenstoffkette der konditionierten Düfte variierte – mehr Generalisierung wurde eher zwischen langkettigen Duftmolekühlen als zwischen kurzkettigen gefunden und zwischen Düften mit gleicher funktioneller Gruppe, wie z.B. zwischen primären und sekundären Alkoholen; (iii) für einige Duftpaare die gegenseitige Generalisierung zueinander asymmetrisch verlief; (iv) ein möglicher Duftraum für die Honigbiene mit funktionellen Gruppen und Kohlenstoffkettenlänge als innere Dimensionen erstellt werden konnte; (v) wahrnehmbare Duftunterschiede in solch einem Duftraum gut mit physiologischen Unterschieden, gemessen durch optophysiological Aktivitätsmessungen in den Antennalloben korrelierten. Aus diesen Ergebnissen schloss ich, dass funktionelle Gruppen und Kohlenstoffkettenlänge innere Dimensionen des Honigbieneduftraumes sind und dass die Nervenaktivitätsmuster im Antennallobus die wahrnehmbare Qualität von Düften widerspiegelt.

**Kapitel II** – Seit jeher erregte das aus der Lernphysiologie stammende Phänomen der „Überschattung“ („overshadowing“) die Aufmerksamkeit von Wissenschaftlern, welche sich mit Lernen und der Verarbeitung von simultan auftretenden Stimuli (Stimulismischungen) beschäftigten. Zur „Überschattung“ kommt es, wenn ein Proband mit einer Mischung aus zwei Stimuli konditioniert wurde und nach dieser Prozedur stärker auf den einen Stimulus antwortet als auf den anderen. Der Mechanismus der zur „Überschattung“ führt ist noch unklar. Hemmende Wechselwirkungen innerhalb der Mischung zwischen den Stimuli, sowie

die individuelle und unabhängige Verarbeitung der einzelnen Stimuli sind denkbar, als verantwortliche Mechanismen. In diesem Teil meiner Arbeit untersuchte ich den „Überschattungs“-Effekt an der Honigbiene. Die Tiere wurden darauf konditioniert Mischungen aus zwei Düften mit einer Belohnung aus Zuckerwasser zu assoziieren. Alle 15 möglichen Duftmischungen aus 6 unterschiedlichen Düften wurden dafür verwendet. Zusätzlich zu jeder Gruppe von Tieren, welche mit einer Mischung konditioniert wurde (OVS Gruppe), wurden zwei Kontrollgruppen, mit jeweils einem der beiden Stimuli aus der Mischung konditioniert (Ctrl A und Ctrl B). Die Testergebnisse von über 2700 Bienen ergab, dass „Überschattung“ nur in bestimmten Duftgemischen auftrat und dies in Abhängigkeit der Anzahl von Duftpräsentationen während der Konditionierung (1 oder 3 Präsentationen). Zwei Faktoren ergaben sich aus den Kontrollgruppen, welche einen „Überschattungs“-Effekt vorhersagen ließen: 1) „asymmetrische Kreuzgeneralisierung“ („asymmetric cross-generalization“) zwischen zwei Düften, d.h. durch Bienen welche mehr auf einen Duft B nach Konditionierung mit Duft A reagieren als in der umgekehrten Situation, und 2) unterschiedliche Lernniveaus für zwei Düfte nach der Konditionierung. Sowohl nach 1 als auch nach 3 Duftpräsentationen während der Konditionierung hat die asymmetrische Generalisierung zwischen zwei Düften eine stärkere Auswirkung auf den „Überschattungs“-Effekt als ein Unterschied im Lernniveau zwischen diesen zwei Düften. Die Gewichtung beider Faktoren glich sich allerdings nach drei Duftpräsentationen im Vergleich zu nur einer im Training aneinander an. Die Ergebnisse zeigen, dass Wechselwirkungen zwischen den Stimuli innerhalb einer Mischung nicht notwendig sind, um die Dominanz einer der beiden Düfte beim Lernen von Duftgemischen durch die Honigbiene zu erklären. Die asymmetrische Generalisierung zwischen zwei Düften zueinander, ein Parameter, welcher in bisherigen Arbeiten über das Lernen und die Verarbeitung von Mischungen nur selten benutzt wurde, ist ein kritischer Faktor bei der Vorhersage von „Überschattungs“-Effekten.

**Kapitel III** - Die neuronalen Korrelate der Phänomene „Überschattung“ und „asymmetrischer Kreuzgeneralisierung“ sind bis heute unbekannt. Diese Studie diente der Untersuchung beider Phänomene in Bezug auf die Duftwahrnehmung von Duftgemischen bestehend aus zwei unterschiedlichen Duftkomponenten. Ich versuchte hierbei herauszufinden, ob die genannten Phänomene im olfaktorischen Netzwerk der Antennalloben bei der Honigbiene verschlüsselt sind. Hierzu konzentrierten sich meine Experimente auf die neuronale Aktivität von Ausgangsneuronen („Projektionsneuronen“) des Antennallobus unter zu Hilfenahme von *in vivo* „Calcium-Imaging“-Techniken während der Duftstimulierung der Tiere. Auf Grund des hohen Verschaltungsgrades zwischen Neuronen des Antennallobus wird

angenommen, dass hier die Duftrepräsentation bei der Informationsverarbeitung durch inhibierende Verschaltungen geformt wird. Weiterhin wird angenommen, dass Lernprozeduren zu Veränderungen der Duftrepräsentation innerhalb des Antennallobus durch Verstärkung spezifischer inhibitorischer Verschaltungen führen könnten. Diese Netzwerkeigenschaften könnten das Fundament neuronaler Korrelate für „Überschattung“ und „asymmetrischer Kreuzgeneralisierung“ bilden. Bei meinen Messungen untersuchte ich Muster neuronaler Aktivität in Honigbienen, welche mit den Düften, 2-Hexanol, Hexanal und deren Mischung (2-Hexanol/Hexanal) stimuliert wurden. Dabei wurden verschiedene Gruppen von Tieren verglichen, welche jeweils entweder auf 2-Hexanol, Hexanal, deren Mischung oder auf keinen Duft konditioniert wurden. Bevor die Tiere für „Calcium-Imaging“-Experimente verwendet wurden, wurden sie in Verhaltensexperimenten unter Zuhilfenahme der „Proboscis Extensions-Reaktion“ (PER) konditioniert. Hierbei wurden Duftpräsentationen mit Zuckerwasserbelohnungen gepaart und PER-Antworten wurden als Maß der Assoziationsstärke zwischen Duft und Belohnung benutzt. In unbelohnten Testpräsentationen zeigten die Kontrollgruppen in Verhaltenstests eine klare „asymmetrischer Kreuzgeneralisierung“ zwischen den beiden Einzeldüften nach Einzelduftkonditionierung und einen „Überschattungs“-Effekt, mit Hexanal als dominanten und 2-Hexanol als dominierten Duft nachdem die Tiere auf die Mischung konditioniert wurden. Die „Calcium-Imaging“-Experimente ergaben weder für die „asymmetrische Kreuzgeneralisierung“ noch für einen „Überschattungs“-Effekt ein neuronales Korrelat. Die Konditionierung der Tiere auf einen bestimmten Duft änderte nicht die allgemeine Intensität der neuronalen Aktivitätsmuster im Antennallobus, sie änderte ebenso wenig die duftinduzierten Aktivitätsmuster der Glomeruli in ihrer Zusammensetzung und Änderungen in einzelnen Glomeruli verliefen nicht einheitlich, einige erhöhten andere senkten die Intensität ihrer Aktivierung unabhängig voneinander. Weiterhin war ich nicht in der Lage asymmetrische Veränderungen in den Aktivierungsmustern der Glomeruli für die Düfte 2-Hexanol und Hexanal nach Konditionierung dieser Düfte nachzuweisen und ebenso ergaben sich keine Hinweise, wieso Hexanal 2-Hexanol überschatten sollte nachdem die Mischung beider konditioniert wurde.