

Das motorische System der Bienenantenne

Untersuchungen zu den motorischen Mustern und zur Rolle der beteiligten Muskeln

vorgelegt von
Daniel Faensen

Vom Fachbereich 7 — Umwelt und Gesellschaft
der Technischen Universität Berlin
zur Erlangung des akademischen Grades

Doktor der Naturwissenschaften
— Dr. rer. nat. —

genehmigte Dissertation

Promotionsausschuß:

Vorsitzende: Prof. Dr. Renate Fuchs, TU Berlin
1. Gutachter: Prof. Dr. Joachim Erber, TU Berlin
2. Gutachter: Prof. Dr. Raül Rojas, FU Berlin

Tag der wissenschaftlichen Aussprache: 5. Februar 1999

Berlin 1998

D 83

“You never can tell with bees”
Winnie-the-Pooh

Inhaltsverzeichnis

1	Einleitung	1
1.1	Die Biene als Modellorganismus	1
1.2	Funktion der Bienenantenne	1
1.3	Antennenbewegungen	2
1.4	Bau des antenno-motorischen Systems	4
1.5	Saccharosereizung und Modulation durch biogene Amine	6
1.6	Operante Konditionierung	8
1.7	Aufgabenstellung und Zielsetzung	9
2	Material und Methoden	11
2.1	Versuchstiere	11
2.2	Aufzeichnung der Antennenbewegung	11
2.2.1	Präparation und Aufbau	11
2.2.2	Datenaufbereitung	12
2.3	Bestimmung der Hauptzugrichtung der Scapusmuskeln	14
2.4	Elektrophysiologische Ableitungen von den Antennenmuskeln	14
2.5	Wirkung einzelner Muskelpotentiale auf die Antennenbewegung	18
2.6	Zeitreihenanalyse	19
2.6.1	Bestimmung des Frequenzspektrums	19
2.6.2	Bestimmung der charakteristischen Parameter des Frequenzspektrums	20
2.6.3	Hochgeschwindigkeitsaufnahmen	21
2.7	Stimulation der Tiere mit Saccharoselösung	22
2.8	Pharmakainjektion	22
2.8.1	Apparatur und Injektionsvorgang	22
2.8.2	Präparation	22
2.8.3	Untersuchte Pharmaka	22
2.8.4	Überprüfung des Injektionsortes	23
2.8.5	Versuchsablauf	23
2.8.6	Datenauswertung	24
2.9	Konditionierungsexperimente	24
2.9.1	Durchführung	24
2.9.2	Auswertung	25
2.10	Simulationen	25
2.11	Statistische Absicherung der Ergebnisse	26

3	Ergebnisse	27
3.1	Zugrichtung der Scapusmuskeln	27
3.2	Analyse der Antennenbewegung	27
3.2.1	Spontane Scapusbewegungen	27
3.2.2	Hochgeschwindigkeitsaufnahmen der Scapusbewegungen	33
3.2.3	Effekt der Stimulation mit Saccharoselösung auf die Scapusbewegungen	33
3.2.4	Effekte präsumptiver Neuromodulatoren auf die Scapusbewegungen	38
3.3	Muskelaktivität und Scapusbewegungen	44
3.4	Muskelaktivität und Flagellumbewegungen	53
3.5	Flexoraktivität bei operanter Konditionierung	60
3.6	Modell und Simulationen	65
4	Diskussion	73
4.1	Spontane Antennenbewegungen	73
4.2	Modulation der Antennenbewegungen	77
4.3	Muskeln des antennalen Systems	78
4.4	Mögliche Rolle der Motoneurone	80
4.5	Operante Konditionierung und neuronale Aktivität	81
4.6	Modell	82
4.7	Mustergenerator	85
4.8	Simulationsstudien	87
4.9	Ausblick	87
	Zusammenfassung	91
	Literaturverzeichnis	93
	Veröffentlichungen	103
	Danksagung	105
	Lebenslauf	107

Abbildungsverzeichnis

1.1	Bau des antenno-motorischen Systems (Schema)	5
2.1	Illustration der Winkelbezeichnungen und der Antennenstellungen relativ zum Kopf der Biene	13
2.2	Aufbau zur simultanen Aufzeichnung der Flagellumbewegung und der Aktivität der Pedicellusmuskeln	15
2.3	Aufbau zur simultanen Aufzeichnung der Scapusbewegung und der Aktivität der Scapusmuskeln	15
2.4	Frequenzgang eines Tiefpaßfilters	21
2.5	Versuchsablauf: Pharmakainjektion und Antennenbewegungen	23
3.1	Hauptzugrichtung der vier Muskeln des Scapus	28
3.2	Spontane und durch Saccharosestimulation beeinflusste Bewegungen des Scapus	29
3.3	Frequenzspektrum von Inklinationsbewegungen des Scapus	30
3.4	Antennenposition und Parameter des Frequenzspektrums spontaner Scapusbewegungen	31
3.5	Entwicklung des Frequenzspektrums von Antennenbewegungen über die Zeit	32
3.6	Entwicklung der Energie im 0,1 Hz-Band des Frequenzspektrums von Azimutbewegungen	33
3.7	Frequenzspektrum der mit einer Hochgeschwindigkeitskamera aufgenommenen Antennenbewegungen	34
3.8	Einfluß der Saccharosereizung auf die mittlere Scapusstellung	35
3.9	Einfluß der Saccharosereizung auf die Parameter des Frequenzspektrums der Scapusbewegungen	37
3.10	Schematische Darstellung des Effekts von Saccharosestimulation auf das Frequenzspektrum der Scapusbewegungen	39
3.11	Einfluß von 5HT und OA auf die mittlere Scapusstellung und die Gesamtenergie der Scapusbewegungen	41
3.12	Einfluß von 5HT und OA auf Gesamtenergie und mittlere Energie im LF-Band der Scapusbewegungen	42
3.13	Einfluß von 5HT und OA auf die Steilheit des Abfalls im HF-Band und die Eckfrequenz der Scapusbewegungen	43
3.14	Richtung und Geschwindigkeit der muskelpotential-induzierten Scapusbewegung	46

3.15	Abhängigkeit der muskelpotential-induzierten Scapusgeschwindigkeit von der Scapusstellung	47
3.16	Abhängigkeit der muskelpotential-induzierten Scapusgeschwindigkeit von der Scapusstellung (Regression)	48
3.17	Parameter der Regressionsanalyse der Positionsabhängigkeit der muskelpotential-induzierten Scapusgeschwindigkeit	49
3.18	Abhängigkeit der Scapusstellung von der Aktivität der Muskeln des MSS	51
3.19	Zusammenhang zwischen Muskelaktivität (MSS) und Scapusstellung . . .	52
3.20	Extremstellungen des Pedicellusgelenks	54
3.21	Spontane Bewegungen des Flagellums	54
3.22	Durch Potentiale in den Muskeln des MSP induzierte Flagellumbewegung	55
3.23	Gelenkstellungsabhängigkeit der muskelpotential-induzierten Geschwindigkeit von Bewegungen im Pedicellusgelenk	56
3.24	Zusammenhang zwischen der Aktivität der Muskeln des MSP und der Stellung des Pedicellusgelenks	58
3.25	Flexor- und Extensoraktivität in Abhängigkeit von der Flagellumstellung (Originaldaten und Regression)	59
3.26	Einfluß der operanten Konditionierung auf das PSTH des schnellen Flexors.	61
3.27	Effekt der operanten Konditionierung auf die Impulsmuster des schnellen Flexors	62
3.28	Effekt der operanten Konditionierung auf die IETH des schnellen Flexors	64
3.29	Simulationsmodell des MSP: Einzelner Muskel	66
3.30	Simulationslauf des Modells eines Muskels des MSP	67
3.31	Simulationsmodell des MSP: Zusammenspiel der Muskeln	67
3.32	Simulationsläufe des Modells zum MSP	69
3.33	Simulationsmodell des MSS: Einzelner Muskel	70
3.34	Simulationsmodell des MSS: Zusammenspiel der Muskeln	71
3.35	Simulationslauf des Modells eines Muskels des MSS	72
4.1	Modell des antennomotrischen Systems (Übersicht)	84

Tabellenverzeichnis

3.1	Hauptzugrichtung der Muskeln des Scapus	27
3.2	Eigenschaften des Frequenzspektrums Tiere des Experiments zur Modulation vor der Behandlung	40
3.3	Parameter der Regressionsanalyse der muskelpotential-induzierten Scapugeschwindigkeit für die Muskeln des MSS (Mittelwerte)	45
3.4	Bestimmtheit der linearen Approximation der Stellungsabhängigkeit der Aktivität der Muskeln des MSS	53
3.5	Parameter der linearen Approximation der Abhängigkeit der Pedicellugeschwindigkeit von der Pedicellusstellung	57
3.6	Serieller Korrelationskoeffizient	63
3.7	Regressionsparameter der Näherungen für die IETH	65
4.1	Eigenschaften der Motoneurone des MSS	80

Abkürzungen

a	Mittlere Energie im Niederfrequenz-Band
α	Winkelstellung des Pedicellusgelenks
ϕ	Inklinationswinkel des Scapusgelenks
θ	Azimutwinkel des Scapusgelenks
ANOVA	Varianzanalyse (<i>analysis of variance</i>)
ASCII	American Standard Code for Information Interchange
DL	Dorsallobus
f_c	Eckfrequenz (<i>corner frequency</i>)
HF	Hochfrequenz (<i>high frequency</i>)
5-HT	Serotonin (5-Hydroxytryptamin)
IET	Zeitintervall zwischen Ereignissen (<i>Inter Event Time</i>)
IETH	Histogramm der IET
imp/s	Impulse pro Sekunde
LF	Niederfrequenz (<i>low frequency</i>)
MSP	Muskelsystem des Pedicellusgelenks
MSS	Muskelsystem des Scapusgelenks
n. s.	nicht signifikant
OA	Octopamin
PER	Rüsselreflex (<i>proboscis extension reflex</i>)
PSTH	<i>peri stimulus time histogram</i>
r_s	Serieller Korrelationskoeffizient
SD	Standardabweichung (<i>standard deviation</i>)
SPB	Sörensen-Phosphat-Puffer
US	Unkonditionierter Reiz (<i>unconditiond stimulus</i>)
VUM	Ventrales unpaares medianes Neuron
$\bar{x}$	Mittelwert (arithmetisches Mittel)

1 Einleitung

1.1 Die Biene als Modellorganismus

Zum Studium der neuronalen Mechanismen von Verhaltensreaktionen sind Insekten besonders geeignete Versuchsobjekte. Sie haben ein reiches Verhaltensrepertoire bei einem relativ kleinen, im Vergleich zu Wirbeltieren überschaubaren Nervensystem. Eine kleine, meist feste Anzahl oft identifizierbarer neuronaler Elemente steuert oft stereotype Verhaltensweisen, die z. T. gut charakterisiert sind. Neben einfachen Reflexen sind Insekten aber auch mit Verhaltensmustern ausgestattet, die zum Teil einer ausgeprägten Plastizität unterliegen. Die neuronalen Grundlagen von Verhalten und Plastizität sind bei Insekten einer Untersuchung gut zugänglich.

Bolker (1998) definiert „Modellsystem“ als *„the label we apply to the species we study in detail and use as a basis for constructing a general understanding of how biological processes work“*. Für die Neurobiologie ist die Honigbiene als besonders gut untersuchter Organismus hervorzuheben (Erber et al., 1993a; Hammer und Menzel, 1995; Menzel und Müller, 1996; Hammer, 1997). Viele der Verhaltensweisen, die die Honigbiene als Versuchstier so interessant machen, hängen mit ihrer Lebensweise als soziales Insekt zusammen. Prominent ist die komplexe Tanzsprache zur innerartlichen Kommunikation (von Frisch, 1965). Verschiedene Formen des Lernens sind bei der Biene auf physiologischer, zell- und molekularbiologischer Ebene sowie im Verhalten untersucht. Dazu gehören Habituation (Braun und Bicker, 1992), Sensitisierung (Mercer und Menzel, 1982; Hammer et al., 1994), motorisches Lernen (Erber et al., 1997), klassische (Übersicht bei Menzel und Müller, 1996) und operante Konditionierung (Kisch et al., 1998).

Als Schnittstelle zur Umwelt haben die Sinnesorgane für Tiere eine besondere Bedeutung. Für den Neurobiologen zeichnen sie sich dadurch aus, daß definierte Reize zu leicht meß- und quantifizierbaren Reaktionen der Rezeptoren und / oder nachgeschalteter Neuronen führen. Bei der Biene besonders gut untersucht sind das olfaktorische und das visuelle System. Die wohl wichtigsten Sinnesorgane der Honigbiene sind die Antennen.

1.2 Funktion der Bienenantenne

Die primäre Bedeutung der Antenne für die Biene liegt sicher in der Funktion als Sinnesorgan. Sie spielt auch eine wichtige Rolle bei der intraspezifischen Kommunikation (*antennation*), anders als bei Ameisen (Hölldobler und Wilson, 1990, S. 258f) ist hierüber bei der Biene jedoch bisher nur wenig bekannt. Dieses Sinnesorgan ist beweglich, die Sinnesleistungen multimodal. Dominant ist die Chemosensorik (Esslen und Kaissling,

1976). Sie wird u. a. bei der Nahrungsaufnahme (Lokalisation, Qualitätsbestimmung) und der intraspezifischen Kommunikation (Pheromone) eingesetzt. Martin und Lindauer (1966) konnten durch Ausschaltversuche nachweisen, daß die Antennen beim Wabenbau zum Abmessen der Waben dienen. Beim Flug dienen sie zum Messen der Fluggeschwindigkeit (Heran, 1959). Mit den Antennen nehmen Bienen Oberflächenstrukturen wahr (Kevan und Lane, 1986). Sie können z. B. verschiedene Blüten anhand ihrer Textur unterscheiden und nutzen bei der Nahorientierung auf der Blüte auch Oberflächenmerkmale (*nectar guides*), die mit den Antennen taktil perzipiert werden (Dafni und Kevan, 1996).

1.3 Antennenbewegungen

Es gibt bei Insekten charakteristische Bewegungen und Stellungen der Antennen bei verschiedenen Verhaltensweisen, beim Laufen und Fliegen, beim Balz- und Aggressionsverhalten sowie beim Untersuchen von Objekten. Grillen z. B. verfolgen mit ihren Antennen ein visuell wahrgenommenes bewegtes Objekt (Horseman et al., 1997).

Bei Ameisen sind die Antennen an fast jeder Verhaltensweise beteiligt, bei der Erkundung der Umwelt, der Identifikation von Nestgenossinnen, bei der Jagd, beim Verfolgen von Pheromonspuren und allen sozialen Interaktionen (Hölldobler und Wilson, 1990). Die Schnappmandibelameise *Odontomachus* setzt sie z. B. ein, um sich bei der Jagd so auszurichten, daß ein Beutetier sich symmetrisch zwischen beiden Mandibeln befindet, bevor die Mandibeln reflexartig zuschnappen. Wäre dies nicht der Fall, würde das Beutetier von der zuerst auftreffenden Mandibel weggeschleudert werden. Mit den Antennen wird hier also Position und Entfernung der Beute gemessen (Ehmer und Gronenberg, 1997b). Kurz (12 ms) vor dem Zuschnappen werden die Antennen zurückgezogen, die schnellste bisher gemessene Antennenbewegung (Ehmer und Gronenberg, 1997a).

Das mechanische Sondieren kleiner Oberflächen (*antennation*), in der Regel betrachtet als Mittel zur Wahrnehmung oberflächengebundener Duftstoffe, erfordert eine präzisere Steuerung der Antennenbewegung als das einfache „Durchkämmen“ der Luft nach luftgetragenen Duftstoffen (Ehmer und Gronenberg, 1997a).

Bei der Bienenantenne treten verschiedene Arten von motorischen Mustern auf. Mit den Antennen kann zum Beispiel weiträumig der gesamte Aktionsradius ausgeschöpft werden, es kommen aber auch schnelle, kurze Tastbewegungen (z. B. beim Blütenbesuch) vor (Ellerkmann, 1994).

Fliegende Bienen halten Antennen relativ unbeweglich in leicht nach oben angewinkelter Position gegen den Wind (Ellerkmann, 1994). Beim Landeanflug von oben auf eine Plattform in einer visuell strukturierten Umgebung werden die Antennen kurz vor der Landung nach unten bewegt (Erber et al., 1993b). Auf diese Weise kann sofort die Unterlage ertastet werden.

Im Labor reagieren die Bienen auf Reize verschiedener Modalität (visuelle, olfaktorische, gustatorische und mechanische Stimuli) reflexartig mit Änderungen ihrer Antennenbewegungen (Kloppenburg et al., 1989; Erber et al., 1993b). Der oben genannte Reflex beim Landeanflug kann z. B. im Labor ausgelöst werden, indem einem im Röhrchen festgelegten Tier seitlich der Komplexaugen Streifenmuster dorso-ventral bewegt werden (Erber et al., 1993b; Erber und Kloppenburg, 1995).

Die Dominanz olfaktorischer Sinneszellen in der Ausstattung der Antenne mit Re-

zeptoren ist ein Indikator für die Bedeutung dieser Reizmodalität für die Biene. Die Präsentation eines olfaktorischen Reizes (Duftstoff oder Wasserdampf) führt im Labor dazu, daß die ipsilaterale Antenne schnelle *scanning*-Bewegungen in Richtung der Reizquelle ausführt (Erber et al., 1993b). Bei der kontralateralen Antenne sind die Bewegungsamplituden geringer. Die biologische Bedeutung dieser Bewegungen liegt wohl vermutlich darin, einen schnellen Austausch des dufttragenden Mediums zu erreichen. Da olfaktorische Rezeptorzellen in der Regel phasisch antworten und schnell adaptieren, können vor allem *Änderungen* der Duftkonzentration wahrgenommen werden. Duftstoffe sind im Medium nicht homogen verteilt, sondern bilden vielmehr sog. *odour plumes*, „Fahnen“ höherer Duftkonzentration, die sich mit dem Wind ausbreiten (Murlis et al., 1992). Durch Bewegung des Mediums relativ zum Rezeptororgan kann die Duftwahrnehmung optimiert werden. Das sog. *flicking* der Antennulen ermöglicht es Crustaceen, schwelennahe Reizkonzentrationen wahrzunehmen. Vermutlich erklärt das die spontanen Antennulenbewegungen bei Tieren, die keinem Reiz ausgesetzt sind (Schmitt und Ache, 1979; Mellon, 1997). Vergleichbare Funktionen haben z.B. auch das Schnüffeln der Säugetiere oder das Züngeln der Schlangen. Zwar gelten Antennenbewegungen bei *fliegenden* Insekten als von sekundärer Bedeutung bei der Duftwahrnehmung, da der sich beim Flug bildende Luftstrom die Duftmoleküle zu den Sensillen trägt (Ehmer und Gronenberg, 1997b), Olfaktion ist aber auch sonst eine wichtige Wahrnehmung, zumal Bienenarbeiterinnen erst in den letzten Tagen ihres Lebens ausfliegen.

Gut untersucht ist das Antennenab tastverhalten. Bringt man (im Labor) ein kleines Objekt (z. B. einen Draht oder ein ca. 3×3 mm großes Plättchen) in Reichweite einer oder beider Antennen, so wird dieses von der Biene abgetastet (Pribbenow et al., 1992; Pribbenow, 1994; Pribbenow und Erber, 1996). Die Ab tasthäufigkeit variiert stark interindividuell von weniger als drei bis zu über 300 Berührungen pro Minute und ist auch stark vom Erregungszustand des Tieres abhängig. Nach Sensitisierung mit Saccharoselösung steigt die Ab tasthäufigkeit signifikant an (Pribbenow et al., 1992). Die enge Kopplung von antennaler Mechanosensorik und Motorik sowie sehr kurze Berührungszeiten (z. T. < 10 ms) beim Ab tasten haben zu der Hypothese geführt, es liege eine „initiale Meidereaktion“, ein Meidereflex vor (Kloppenburg, 1990). Untersuchungen von Pribbenow konnten jedoch zeigen, daß eine direkte mechanische Rückkopplung nicht notwendig ist, Berührungen von so kurzer Dauer zu erzeugen. Selbst das Ausschalten der gesamten Mechanosensorik der Antenne führte nicht zu einer Verlängerung der Berührungszeit (Pribbenow et al., 1992; Pribbenow, 1994). Auch die Berührungshäufigkeit bleibt unbeeinflußt. Das Antennenab tastverhalten ist wahrscheinlich durch ein motorisches Programm gesteuert, das die Antenne oszillatorisch bewegt. (Erber et al., 1993b). Der entscheidende Parameter, der auf das Ab tasten einen Einfluß hat, ist nach Pribbenow (1994) die Aktivität eines einzelnen Motoneurons. Es handelt sich also um ein relativ einfaches neuronales System. Das Ab tasten unterliegt einer interessanten Form der Plastizität (Erber et al., 1993b; Pribbenow, 1994; Erber et al., 1997). Spontan, d. h. in Abwesenheit eines Gegenstandes, werden die Antennen weiträumig über den gesamten von ihnen erreichbaren Bereich bewegt. Bevorzugt wird dabei der frontal-laterale Bereich. Präsentiert man dem Tier das o. g. Plättchen und läßt es 30 Minuten ab tasten, so wird nach dem Entfernen des Plättchens bevorzugt der Bereich abgesucht, in dem das Plättchen sich befand. Diese Bevorzugung läßt sich über einen Zeitraum von rund zwei Minuten beobachten.

Das Abtasten der näheren Umgebung kann der Wahrnehmung von oberflächengebundenen Duftstoffen, der taktilen Orientierung, der Formwahrnehmung (Sandeman, 1985) und der Erkundung von Oberflächenstrukturen dienen. Taktile Texturen sind komplexe dreidimensionale Strukturen. Zum Erkunden solcher Oberflächenstrukturen ist Bewegung nötig. Durch die Bewegung über die Oberfläche erhält der mechanische Reiz eine zeitliche Komponente (Goodwin, 1993). Es wurde versucht, die neuronale Kodierung der Oberflächenwahrnehmung beim Menschen und Affen aufzuklären (siehe Goodwin, 1993). Über den neuronalen Code der taktilen Texturwahrnehmung bei Insekten ist hingegen gar nichts bekannt, obgleich dieser einer experimentellen Untersuchung wesentlich leichter zugänglich ist.

Durch Lernexperimente konnte die Fähigkeit der Honigbiene, verschiedene Oberflächen taktil zu unterscheiden, nachgewiesen werden (Erber et al., 1998).

Die Bedeutung der Erschließung taktiler Informationen des nahen Raumes haben auch Ingenieurwissenschaften erkannt. Bei der Konstruktion autonomer Roboter, die sich durch unwegsames Gelände bewegen sollen, wird gern die Strategie von Insekten kopiert (Cruse et al., 1995). Da einige Hexapoden diese Aufgabe mit sehr einfachen neuronalen Schaltkreisen in unstrukturierter Umgebung bewältigen, ist dieser Ansatz vielversprechend. Dabei suchen die Tiere ihren Weg vornehmlich auf der Basis von Informationen, die sie über die Beine und die Antennen wahrnehmen (Hoyle, 1976). Während Gelenkstellung und auftretende Nettokräfte leicht mit hoher Genauigkeit gemessen werden können, bestehen erhebliche Schwierigkeiten bei der technischen Umsetzung taktiler Wahrnehmung. Das liegt sicher nicht nur an den der problematischen Messung z. B. der auftretenden Scherkräfte (Hollerbach, 1998), sondern auch in der Interpretation der Meßwerte.

1.4 Bau des antenno-motorischen Systems

Die Antenne der Honigbiene (Abb. 1.1) ist wie bei allen ectognaten Insekten dreigliedrig (Gewecke, 1995; Siewing, 1985, S. 919). Proximal der Kopfkapsel liegt der *Scapus*, daran schließt der *Pedicellus* an. Das distale Segment ist eine geringelte, nicht muskulöse und daher nur passiv biegsame Geißel (*Flagellum*). Die Zahl der Geißelsegmente bei *Apis mellifera* beträgt 10 (bei der Arbeiterin) bis 11 (bei der Drohne) (Snodgrass, 1956; Esslen und Kaissling, 1976).

Der Scapus ist durch ein Kugelgelenk in der Kopfkapsel inseriert. Es ermöglicht rotatorische Bewegungen der Antenne, die etwa den Bereich einer Viertelkugel erreichen. Die Bewegung wird durch vier in der Kopfkapsel gelegene Muskeln gesteuert (Morison, 1927; Imms, 1939; Snodgrass, 1956). Die vier Muskeln, die den Scapus bewegen, werden im folgenden als *Muskelsystem des Scapus (MSS)* bezeichnet. Die Nomenklatur von Morison (1927) wurde durch die von Ellerkmann (1994) abgelöst. Der *Adductor lateralis* bewegt den Scapus in Richtung des ipsilateralen Komplexauges. Der *Adductor dorsalis* bewegt den Scapus in Richtung der Ocellen nach dorsal. Der *Adductor ventralis* bewegt den Scapus in Richtung der Mundwerkzeuge nach ventral. Der *Levator antennae* hält den Scapus in Verlängerung der Körperachse nach anterior.¹ Torsionsbewegungen des Scapus sind nicht möglich.

¹Zur Quantifizierung der Zugrichtung der Scapuskeln siehe Abschnitt 3.1 auf Seite 27

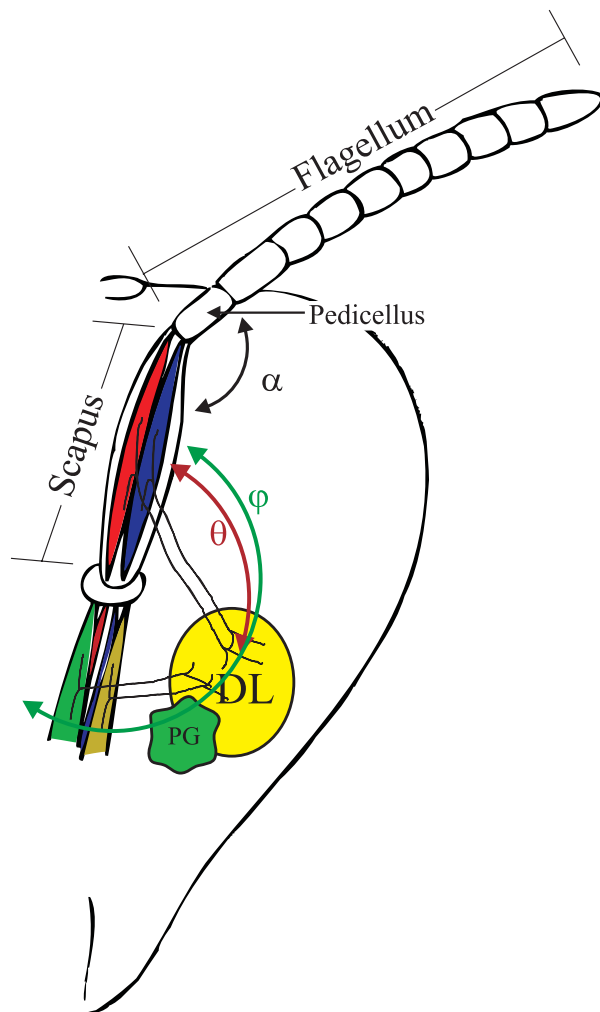


Abbildung 1.1: Bau des motorischen Systems der Bienenantenne (schematisch). Die Antenne ist dreigliedrig. Der proximale Scapus ist über ein Kugelgelenk in der Kopfkapsel inseriert. Das Flagellum ist mit dem Scapus am Pedicellusgelenk, einem Scharniergelenk, verbunden. Beugungen und Streckungen im Pedicellusgelenk erfolgen durch ein im Scapus gelegenes System zweier antagonistischer Muskeln (Flexor und Extensor), das MSP. Bewegungen des Scapus werden von vier in der Kopfkapsel liegenden Muskeln, dem MSS, gesteuert. Die Motoneurone beider Muskelsysteme projizieren in den Dorsallobus (**DL**). Das System hat drei Freiheitsgrade: den Winkel des Pedicellusgelenks (α) und die Stellung des Scapus relativ zur Kopfkapsel. (Azimutwinkel θ und Inklinationswinkel ϕ). Der angedeutete Mustergenerator (*pattern generator* **PG**), der die motorischen Kommandos erzeugt, ist hypothetisch. Für Details siehe Text.

Der Pedicellus ist mit dem Scapus über ein Scharniergelenk verbunden. Im Scapus liegen zwei antagonistische Muskeln (Morison, 1927; Snodgrass, 1956; Suzuki, 1975), ein *Flexor* und ein *Extensor*. Nach Pribbenow (1994) ist der Flexor zweigeteilt, was sich auch in der Funktionalität niederschlägt. Der ventrale Teil wird als schneller phasischer Muskel angesehen, der dorsale als langsamer, ebenfalls phasischer. Eine histochemische Bestätigung dieser Klassifikation steht noch aus. Flexor und Extensor werden im folgenden zusammenfassend als *Muskelsystem des Pedicellus (MSP)* bezeichnet. Der Pedicellus ist mit dem Flagellum gelenklos verbunden.

Die Innervation des MSP erfolgt durch mindestens sechs, die des MSS durch mindestens neun Motoneurone (Kloppenburg, 1990; Pribbenow, 1994; Ellerkmann, 1994; Kloppenburg, 1995). Die Motoneurone beider Systeme sind neuroanatomisch charakterisiert (Kloppenburg, 1990; Pribbenow, 1994). Ihre dendritischen Projektionsgebiete liegen im Dorsallobus des Deutocerebrums, die Somata sind in Clustern in der lateralen Perikaryenschicht lokalisiert. Im Dorsallobus kommt es zu enger Überlappung der Eingangsregion der Motoneurone mit der Ausgangsregion sekundärer visueller Interneurone (Maronde, 1991) und mechanosensorischer Afferenzen der Antenne (Kloppenburg, 1990).

Neben den vor allem im Bereich der Porenplatte der Flagellumspitze lokalisierten Mechanorezeptoren hat die Bienenantenne weitere, vornehmlich propriozeptive mechanische Sinnesorgane. Im Pedicellus befindet sich ein Chordotonalorgan, das sogenannte Johnstonsche Organ. Es dient der Messung von z. B. durch Wind ausgelösten Flagellumbewegungen (Howse, 1968) und spielt vermutlich bei der akustischen Wahrnehmung eine Rolle (Kirchner, 1994). An den Gelenken befinden sich mechanorezeptive Sensillen, die bei Bewegungen im Gelenk gebogen werden. Sie dienen als Propriozeptoren der Gelenkstellung (Maronde, 1990).

Die mechanosensorischen Sensillen auf dem Flagellum machen nur ca. 3 % der Gesamtzahl an Sensillen aus (Esslen und Kaissling, 1976). Die Bienenantenne ist vor allem mit olfaktorischen und gustatorischen Rezeptoren ausgestattet (Schneider, 1964; Esslen und Kaissling, 1976), aber auch Hygro- und Thermorezeptoren konnten nachgewiesen werden (Yokohari, 1983).

Im Bereich des antenno-motorischen Zentrums ist ein hypothetischer Mustergenerator (MG) angedeutet. Er generiert die motorischen Muster, die zu den Antennenbewegungen führen. Es gibt bisher keinen Nachweis für die Existenz eines spezialisierten neuronalen Schaltkreises, der als Mustergenerator dienen könnte. U. U. resultieren die Bewegungsmuster aus Eigenschaften der beteiligten Motoneurone. Auch bei anderen Insektenpezies ist zur Generierung motorischer Muster im antennalen System nichts bekannt.

1.5 Saccharosereizung und Modulation durch biogene Amine

Arthropoden stehen wie alle Tiere vor der Aufgabe, sich schnell an verschiedene Umweltsituationen anpassen zu müssen. Es konnte gezeigt werden, daß dieses Problem bei Arthropoden u. a. durch die Modulation von sensorischen Zellen, Nervenzellen und

Muskeln gelöst wird (Evans, 1980; Agricola et al., 1988).

Der Begriff *Neuromodulation* wird in der Literatur nicht einheitlich verwendet. Die Klassifikation der Wirkung neuroaktiver Substanzen erfolgt in der Regel nach Übertragungstrecke und der Zeitskala der Wirkung (Shephard, 1993). So wirken *Neurotransmitter* lokal, schnell und transient (im Millisekundenbereich), *Neurohormone* hingegen durch Verteilung über den Kreislauf z. T. im ganzen Organismus. Ihre Wirkung entfaltet sich später und hält länger an (Minutenbereich). Kaczmarek und Levitan (1987) fassen den Begriff umfassender. Hiernach ist Neuromodulation die Veränderung neuronaler Eigenschaften durch synaptische oder hormonale Beeinflussung.

Im Kontext dieser Arbeit wird mit Neuromodulator (oder kurz: Modulator) eine Substanz bezeichnet, die die Antworteigenschaften von Neuronen oder Muskeln auf Transmitter verändert, ohne selbst auf das Membranpotential eine Wirkung zu haben (Wolf, 1988, S. 249), und die (im Gegensatz zum Neurohormon) an ihrem Wirkort ausgeschüttet wird.² Ihre Wirkung setzt langsamer ein und hält auch wesentlich länger an (Sekunden bis Minuten), als die von Neurotransmittern (Millisekunden). Modulatoren können ihre Wirkung sowohl prä- als auch postsynaptisch entfalten. Die Modulation einzelner Elemente eines Netzwerkes kann sekundär die gesamten Netzwerkeigenschaften beeinflussen (Bicker und Menzel, 1989).

Die biogenen Amine Octopamin (OA) und Serotonin (5HT) wirken bei Wirbellosen als Neurotransmitter, Neuromodulator und Neurohormon. Ihre Effekte auf verschiedene Subsysteme des Arthropodennervensystems und auf das Verhalten sind ausführlich untersucht (zusammenfassende Überblicksartikel in Evans, 1980, 1985; David und Coulon, 1985; Agricola et al., 1988; Bicker und Menzel, 1989). Bekannt sind modulatorische Wirkungen auf sensorische Neurone, Interneurone, Motoneurone und Muskeln. Während sich bei einigen Systemen die Wirkung beider Amine nur in der Dosisabhängigkeit unterscheidet, ist bei einer Reihe von untersuchten Paradigmen eine gegensätzliche Wirkung („funktioneller Antagonismus“) nachgewiesen (Bicker und Menzel, 1989; Erber et al., 1993a; Erber und Kloppenburg, 1995; Kloppenburg und Erber, 1995). Besonders eindrucksvoll stellt sich dies in den Experimenten am Hummer dar (Livingstone et al., 1980; Kravitz et al., 1985), in denen Injektionen von 5HT und OA Stellungen des Tieres auslösen, die mit dominantem bzw. subordinatem Verhalten zusammenhängen. Hier werden prämotorische und motorische Neurone moduliert (Harris-Warrick und Kravitz, 1984).

Die Wirkung von OA ist nicht einheitlich, tendenziell ist es aber bei vielen verhaltenspharmakologischen Studien an Insekten ein Verstärker der Verhaltensantwort, aber auch Inhibition konnte nachgewiesen werden.

Bei bestimmten Verhaltensweisen kann ein Modulator wie OA verschiedene am Verhalten beteiligte Subsysteme simultan regulieren. Beim Heuschreckenflug z. B. werden der Energiemetabolismus, der Atemrhythmus, die an der Generierung der Flugmuster beteiligten Interneurone, die Propriozeptoren der Flügel und die Flugmuskulatur beeinflusst. In der Summe führt dies zu einer Modulation der Verhaltensantwort (Orchard et al., 1993).

²Neuromodulatoren sind aber keine Stoffklasse, sondern können an anderer Stelle ganz andere Wirkungen entfalten. Modulator ist also eine *Rolle*, die eine Substanz im Nervensystem einnehmen kann.

Bei einer Reihe von Insekten ist Streß mit einer Erhöhung des OA-Spiegels korreliert (Davenport und Evans, 1984b), z. B. bei der Heuschrecke *Schistocerca* (Davenport und Evans, 1984a), bei der Schabe *Periplaneta* (Hirashima und Eto, 1993) und bei der Honigbiene *Apis* (Harris und Woodring, 1992). Bei letzterer ist auch eine Erhöhung des 5HT-Spiegels bei Streß zu beobachten. Über die absoluten Konzentrationen und Konzentrationsänderungen im Gewebe ist jedoch nur wenig bekannt (Erber et al., 1993a).

Beide biogenen Amine konnten im Bienenhirn biochemisch (Mercer et al., 1983) und immunocytochemisch (Schürmann und Klemm, 1984; Kreissl et al., 1994; Seidel und Bicker, 1996) nachgewiesen werden, ebenso Bindungsstellen in verschiedenen Gehirnbereichen (Scheidler, 1991; Erber et al., 1993a; Blenau et al., 1995; Blenau, 1997). Auch im Dorsallobus, dem antenno-motorischen Zentrum der Honigbiene, finden sich Bindungsstellen für OA und 5HT, was in autoradiographischen Studien mit Tritium-markierten Liganden nachgewiesen werden konnte (Scheidler, 1991; Erber et al., 1993a).

Bei der Biene gibt es viele Ähnlichkeiten der Effekte nach einer OA-Applikation im Gehirn und nach der Stimulation der Antennen mit Saccharoselösung (Erber et al., 1993a; Hammer, 1993). Einiges spricht dafür, daß OA als Mediator eines erhöhten Erregungszustandes (Corbet, 1991) bei der Saccharoseperzeption involviert ist (Braun und Bicker, 1992).

Antennenbewegungen sind bei der Nahrungssuche und -aufnahme von großer Bedeutung (s. o.). Beim Blütenbesuch werden sie eingesetzt, Nahrungsquellen zu identifizieren (Dafni und Kevan, 1996). Ein sensorischer Reiz wie der Geschmack von Nektar kann die Biene sensibilisieren und einen Effekt auf die motorische Aktivität haben (Erber et al., 1993a). Diese Veränderungen lassen sich auch unter Laborbedingungen gut und reproduzierbar auslösen, indem man festgelegten Tieren einen Tropfen Saccharoselösung an beiden Antennen und der sich dann reflexartig herausstreckenden Proboscis (*proboscis extension reflex* PER) präsentiert.

Vibratorische Bewegungen der Antenne bei der Orientierung werden als „Schnüffeln“ interpretiert, d. h. sie dienen zum Erzeugen relativer Bewegung zwischen olfaktorischem Rezeptororgan und Medium (Luft) (s. o.). Bei *Bombyx* liegt die Frequenz der Bewegungen im Ruhezustand bei etwa 1 Hz und steigt, wenn das Tier erregt ist (zit. nach Schneider, 1964, S. 117). Auch bei Crustaceen kann es zu verstärkten Antennenbewegungen als Reaktion auf einen neuen oder wichtigen Stimulus kommen (Zeil et al., 1985).

Bei der Honigbiene führt die Reizung von Antennen und/oder Proboscis mit Saccharoselösung, das biologische Signal, das eine Fütterung ankündigt, zu einer Erhöhung des Erregungszustandes. Im Labor kann hierdurch der Erregungszustand eines Tieres erhöht werden.

1.6 Operante Konditionierung

Seit über vierzig Jahren ist bekannt, daß sich Bienen unter Laborbedingungen auf einen Duft klassisch konditionieren lassen (Kuwabara, 1957).

Im Labor beobachtete Antennenbewegungen zeigen verschiedene Formen assoziativer und nicht-assoziativer Verhaltensplastizität. Beispielsweise ändern sich die Bewegungsmuster nach der Reizung mit Saccharoselösung an Antennen und Proboscis.

Beim Antennenab tastverhalten (s. S. 3) erhöht sich nach der Saccharosereizung die Ab tasthäufigkeit des präsentierten Objektes (Pribbenow und Erber, 1996). Läßt man eine Biene ein Objekt in Reichweite der Antennen über mehrere Minuten ab tasten und entfernt anschließend dieses Objekt, so wird der Raum, in dem sich das Objekt befand, über mehrere Minuten mit den Antennen abgesucht. Offenbar erlangen die Bienen beim Ab tasten Informationen über die Position des Objektes (Erber et al., 1997).

Antennenbewegungen lassen sich auch klassisch konditionieren. Konditionierte Reize können visueller (bewegte Streifenmuster) oder olfaktorischer (verschiedene Düfte) Natur sein. Als Belohnung dient die Fütterung mit Saccharoselösung (Erber und Schildberger, 1980). Frei bewegliche Bienen können Oberflächenstrukturen mit ihren Antennen unterscheiden (Dafni und Kevan, 1996).

Kisch und Erber (1998) entwickelten ein operantes Konditionierungsparadigma, bei dem die Biene darauf dressiert wurde, ein in Reichweite der Antenne befindliches Objekt abzutasten. Nach Belohnung hoher Kontaktfrequenzen lernt das Tier, das Objekt gehäuft abzutasten. Das Antennenab tastverhalten erfolgt hauptsächlich durch schnelle Flagellumbewegungen. Diese Bewegungen sind dominiert von der Aktivität der schnellen Komponente des im Scapus gelegenen Flexors (s. 1.4) (Pribbenow und Erber, 1996). Es gibt Hinweise, daß diese Muskelkomponente von einem einzelnen identifizierten Motoneuron innerviert wird (Pribbenow, 1994). In einem zweiten Schritt wurde auf hohe Aktivität dieses Motoneurons konditioniert (Kisch et al., 1998). Es zeigt sich, daß Bienen in der Lage sind zu lernen, d. h. die Frequenz eines Motoneurons zu erhöhen, um eine Belohnung zu erlangen.

In dem erstmals von Horridge (1962) demonstrierten operanten Konditionierungsparadigma, in dem ein Insekt (Schabe *Periplaneta* oder Heuschrecke *Schistocerca*) lernt, sein Bein in einer vom Experimentator vorgegebenen Position zu halten, um einen Elektroschock zu vermeiden, konnte nachgewiesen werden, daß der Lerneffekt im Verschieben der intrinsischen Schrittmacherfrequenz eines Beinmotoneurons liegt (Hoyle, 1982). Auf physiologischer Ebene liegt eine Veränderung der intrinsischen Feuerrate und den Membraneigenschaften des Somas dieses Neurons vor (Byrne, 1998).

Im Kontext der Aufklärung motorischer Muster der Bienenantenne ist es interessant zu untersuchen, wie die Aktivitätsmuster der Motoneurone aussehen und wie sie sich durch die operante Konditionierung verändern. Unter Umständen ließen sich dadurch Rückschlüsse ziehen auf die zugrundeliegenden Mechanismen der Mustergenerierung und deren Plastizität.

1.7 Aufgabenstellung und Zielsetzung

Antennenbewegungen bei Insekten (insbesondere bei sozialen Insekten) haben eine herausragende Bedeutung für Sinneswahrnehmung und Kommunikation. Beides ist auf verschiedenen Ebenen gut untersucht. Wenig ist hingegen bekannt über die motorischen Muster der Bewegungen und wie diese erzeugt werden. Ein geeignetes Modell der Antennenmotorik ist bisher nicht formuliert worden.

Neuroanatomisch ist das antennale motorische System verschiedener Insekten gut charakterisiert worden. Über die Quelle der motorischen Kommandos oder einen Mustergenerator ist jedoch nichts bekannt. Struktur und Lokalisation eines solchen Ge-

nerators im antenno-motorischen System sind hypothetisch. Sollte es sich um einen Schaltkreis von Neuronen handeln, die auf die Motoneurone projizieren, so wäre dieser vermutlich im Zentralgehirn zu suchen, die beteiligten Einheiten aber nur schwer zu finden und zuzuordnen. Eine simultane elektrophysiologische Untersuchung ist nach dem derzeitigen Stand der Technik schwer möglich. Einer solchen Arbeit muß jedenfalls eine genaue Analyse der motorischen Muster vorgeschaltet sein, die u. U. Rückschlüsse auf die Mechanismen der Mustergenerierung erlaubt.

Für ein Modell des antenno-motorischen Systems ist es notwendig, die Rolle der beteiligten Muskeln und Motoneurone aufzuklären. Die bisherigen Messungen (Pribbenow, 1994; Ellerkmann, 1994) dazu beschränken sich auf halbquantitative Aussagen.

Hauptziel der vorliegenden Arbeit ist es, ein umfassendes Modell der motorischen Steuerung der Bienenantenne zu bilden. Um die bisherigen Erkenntnislücken zu schließen, wurden folgende Teilaspekte bearbeitet:

1. Quantitative Beschreibung der Rolle der Muskeln des antennalen Systems auf der Basis von Simultanmessungen der Muskelaktivität und der Antennenbewegung.
2. Analyse der Dynamik der Antennenbewegung durch Bestimmung der Frequenzspektren.
3. Untersuchung des Einflusses veränderter Systemzustände (erhöhte Erregung) auf die Dynamik der Antennenbewegung.
4. Untersuchung der Rolle der biogenen Amine Octopamin und Serotonin bei der Vermittlung des erhöhten Erregungszustandes.
5. Untersuchung eines Aspektes der Plastizität im antennalen motorischen System durch Analyse der Aktivitätsmuster eines Motoneurons im Kontext eines operanten Konditionierungsparadigmas.
6. Bildung eines Modells zur Antennenmotorik unter Berücksichtigung der in den o. g. Experimenten gewonnenen Daten.

2 Material und Methoden

2.1 Versuchstiere

Ausfliegende Arbeiterinnen der Honigbiene (*Apis mellifera*) wurden am Stockeingang gefangen, bis zur Bewegungsunfähigkeit gekühlt und in kleine Metallröhrchen eingespannt (Erber und Menzel, 1977). Eine Fütterung *ad libitum* erfolgte mit 30 %iger Saccharose-Lösung mindestens 30 min und maximal 2 h vor jedem Experiment.

2.2 Aufzeichnung der Antennenbewegung

2.2.1 Präparation und Aufbau

Durch die zweidimensionale Bewegung im Scapus- und die eindimensionale im Pedicellusgelenk ergeben sich drei Freiheitsgrade der Antennenbewegung. Um die Dimensionalität bei der Analyse zu reduzieren und die Aufzeichnung zu vereinfachen, wurden die Bewegungen in beiden Gelenken getrennt aufgezeichnet und ausgewertet.

Dazu wurde den Tieren entweder das Pedicellusgelenk oder das Kugelgelenk an der Kopfkapsel mit schwarzer Farbe (Plaka, Pelikan) fixiert. Die Farbe ist frei von organischen Lösungsmitteln und sollte daher den Organismus nicht weiter beeinträchtigen. Durch die nach dem Trocknen matte Oberfläche werden Reflexionen vermieden. Um visuelle Einflüsse während der Experimente auszuschalten, wurden die Komplexaugen und die Ocellen mit der gleichen Farbe abgedeckt.

Das distale Segment des Flagellums wurde mit einem weißen Punkt (Magic Color MC 800, Royal Sovereign Graphics, London) markiert, so daß maximal 50 % des Segmentes von Farbe bedeckt waren. Die Position dieses Punktes wurde durch ein Videoanalysegerät (DotFinder, Firma Jander) bestimmt. Zur Aufnahme diente eine CCD-Schwarz-Weiß-Videokamera (Sanyo VC 1960, Macro-Zoom-Objektiv 18-108, 2:5), deren Infrarotsperfilter entfernt war. Der Kopf der Biene wurde von frontal so aufgenommen, daß die dorsale Seite links und die ventrale rechts im Bild lag, und der von der rechten Antenne erreichte Bereich das Videobild möglichst ausfüllte. Hieraus resultierte eine Aufnahmefläche von 12×9 mm (dorso-ventrale / medial-laterale Achse). Beleuchtet wurde mit einer Schott-Kaltlicht-Lampe mit zwei Lichtleitern. Das Licht wurde rot gefiltert. (s. Abb. 2.2)

Der DotFinder liefert die x- und y-Koordinaten der Flagellumspitze mit einer räumlichen Auflösung von 8 bit, d. h. $12 \text{ mm}/256 = 0,047 \text{ mm}$ in der x-Richtung (dorso-ventral) und $9 \text{ mm}/256 = 0,035 \text{ mm}$ in der y-Richtung (medial-lateral). Die zeitliche Auflösung beträgt bei Halbbildauswertung maximal 50 Hz. Die x-/y-Koordinaten wurden entwe-

der digital über die Parallelschnittstelle oder (bei simultaner Muskelableitung) über eine Analog/Digital-Wandlerkarte mit einem Personal Computer aufgezeichnet.

2.2.2 Datenaufbereitung

Die Videoanalyse der Antennenbewegung liefert nur die x-/y-Koordinaten der Flagellumspitze. Diese Daten wurden mit eigens dafür entwickelter Software in Gelenkstellungswinkel umgerechnet. Dazu wurden zunächst die vom DotFinder gelieferten Koordinaten¹ (x_{df}, y_{df}) in Streckenkoordinaten (x, y) umgerechnet. Bei digitaler Aufzeichnung über die Parallelschnittstelle (Koordinaten im Intervall 0 bis 255 kodiert) mit der Gleichung

$$(x, y) = \left(\frac{12x_{df}}{256}, \frac{9y_{df}}{256} \right),$$

bei Aufzeichnung von spannungskodierten Koordinaten (Intervall 0 bis 5000 mV) mit

$$(x, y) = \left(\frac{12x_{df}}{5000}, \frac{9y_{df}}{5000} \right).$$

Bei frei beweglichem Pedicellusgelenk wurde die Biene bei der Aufzeichnung so ausgerichtet, daß das Pedicellusgelenk genau an einem auf dem Monitor markierten festen Referenzpunkt (x_{ref}, y_{ref})[mm] plazierte war. Daraus ergibt sich ein Winkel α' zur Horizontalen des Bildschirms nach

$$\alpha' = \begin{cases} \sin^{-1} \frac{y_{ref} - y}{l} & : x \geq x_{ref} \\ 90 + \sin^{-1} \frac{y_{ref} - y}{l} & : x < x_{ref}. \end{cases}$$

l ist hierbei die Antennenlänge des Tieres in mm und ergibt sich aus

$$l = \sqrt{(x - x_{ref})^2 + (y - y_{ref})^2}.$$

Das Minimum aller α' tritt beim total gestreckten Pedicellusgelenk auf. Durch Subtraktion dieses Minimums erhält man den Winkel α zwischen gestreckter und aktueller Gelenkstellung:

$$\alpha = \alpha' - \min(\alpha').$$

Bewegungen im Pedicellusgelenk (α) liegen im Intervall 0° (gestreckt) bis ca. 130° (gebeugt) (siehe auch Abb. 3.20). Scapusbewegungen beschreiben etwa die Oberfläche einer Viertelskugel. Die Scapusgelenkstellung wird durch zwei Winkel auf dieser Viertelskugel bestimmt, den Inklinationswinkel ϕ und den Azimutwinkel θ . Dies ist in Abb. 2.1 illustriert. (Vergleiche dazu auch Abb. 1.1) Der Azimutwinkel liegt im Bereich -20° bis +200° wobei 0° als *dorsal*, 90° als *lateral* und 180° als *ventral* definiert ist. Ein Inklinationswinkel von 0° bedeutet, daß die Antenne auf der Kopfkapsel aufliegt, bei 90° ist sie nach anterior (*frontal*) gestreckt.

¹Der DotFinder hat einen Digital- und einen Analogausgang. Am Digitalausgang werden die x- und y-Koordinaten im Intervall von 0 bis 255 binär kodiert, d. h. ein Punkt nahe dem linken Bildschirmrand liefert für x einen Wert von 0, einer am rechten Bildschirmrand einen Wert von 255. Gleiches gilt für die y-Koordinate mit $y = 0$ für den unteren und $y = 255$ für den oberen Bildschirmrand. Am Analogausgang sind die Werte spannungskodiert im Intervall von 0 bis 5000 mV, d. h. Punkte am linken (unteren) Bildschirmrand liefern für x (y) 0 mV, Punkte am rechten (oberen) entsprechend 5000 mV.

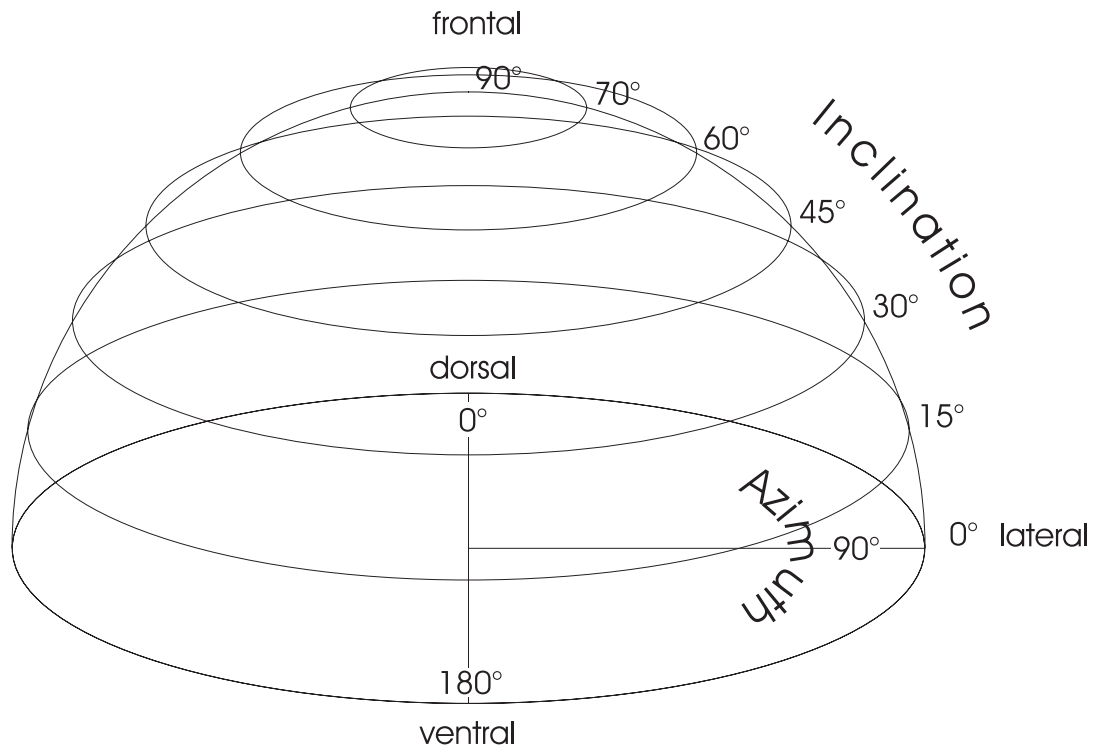


Abbildung 2.1: Illustration der Winkelbezeichnungen und der Antennenstellungen relativ zum Kopf der Biene. Als Ursprung des Koordinatensystems ist das ipsilaterale Scapugelenk definiert.

Bei Aufzeichnungen von Antennenbewegungen mit frei beweglichem Scapus wurde das Tier so ausgerichtet, daß das Scapugelenk an einem festen Referenzpunkt $(x_{\text{ref}}, y_{\text{ref}})$ [mm] plazierte war. Eine Transformation der DotFinder- in Längenkoordinaten erfolgte wie oben beschrieben. Zur Bestimmung von ϕ und θ wurde zunächst die Antennenlänge l bestimmt. Sie ist das Maximum aller Streckendifferenzen zwischen Referenzpunkt und Antennenspitze (genau dann maximal, wenn die Antenne parallel zur Aufnahmeebene liegt):

$$l = \max(\sqrt{(x - x_{\text{ref}})^2 + (y - y_{\text{ref}})^2}).$$

Anschließend wurde die Position der Flagellumspitze (x', y') in Bezug zum Referenzpunkt $(x_{\text{ref}}, y_{\text{ref}})$ bestimmt:

$$(x', y') = (x - x_{\text{ref}}, y - y_{\text{ref}}).$$

Aus diesen wurden nun Azimut- (ϕ) und Inklinationwinkel (θ) berechnet:

$$\phi = \begin{cases} \tan^{-1} \frac{x'}{y'} + 90 & : y' > 0 \\ 0 & : y' = 0, x < 0 \\ 180 & : y' = 0, x > 0 \\ \tan^{-1} \frac{x'}{y'} + 180 & : y' < 0. \end{cases}$$

2.3 Bestimmung der Hauptzugrichtung der Scapuskeln

Den im Röhrchen fixierten Tieren wurde die Kopfkapsel geöffnet. Drüsengewebe wurde soweit entfernt, daß die Muskeln des MSS sichtbar und zugänglich wurden. Mittels eines Drahtakens am Mikromanipulator wurde an jedem Muskel des MSS einzeln gezogen. Dazu wurde der Drahtaken, eine umgebogene Wolframelektrode, vorsichtig hinter den betreffenden Muskel geschoben. Durch Drehen am Mikromanipulator wurde der Muskel gedehnt, die resultierende Antennenbewegung konnte durch die Binokularlupe verfolgt werden. Gedehnt wurde, bis eine maximale Auslenkung erreicht war. Die Antennenbewegung wurde mit dem unter 2.2 beschriebenen Aufbau aufgezeichnet und die maximalen Auslenkungen der Antenne bestimmt.

2.4 Elektrophysiologische Ableitungen von den Antennenmuskeln

Zur Ableitung im Muskelsystem des Scapugelenkes (MSS) wurde das Pedicellusgelenk festgelegt, in die Kopfkapsel eine Öffnung geschnitten und soviel Drüsengewebe entfernt, daß die Muskeln sichtbar und zugänglich waren. Als Ableitelektroden dienten Wolframelektroden Tungsten TM33B20, $2\text{ M}\Omega$, der Firma WPI. Der Aufbau ist in den Abb. 2.2 und 2.3 dargestellt.

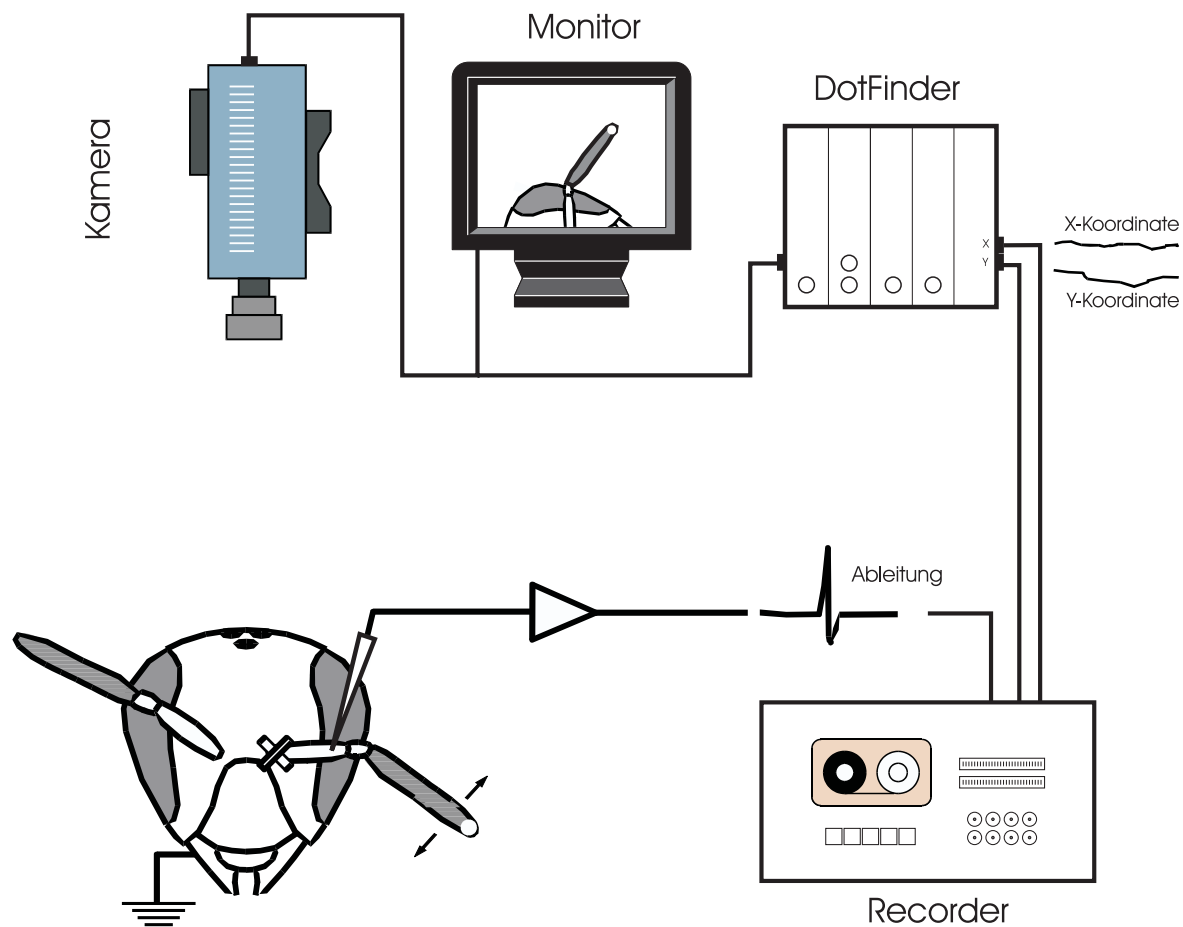


Abbildung 2.2: Aufbau zur simultanen Aufzeichnung der Flagellumbewegung und der Aktivität der Pedicellusmuskeln (MSP-Ableitungen). Das Scapusgelenk ist festgelegt (Kreuz), nur das Pedicellusgelenk ist beweglich. Die Flagellumbewegung wird mit einer Videokamera von frontal aufgenommen. Die mit einem weißen Punkt markierte Flagellumspitze wird durch das Videoanalysegerät DotFinder detektiert. Am Analogausgang des DotFinders liegen die x-/y-Koordinaten der Flagellumspitze spannungskodiert vor. Im Scapus des Tieres ist eine Elektrode platziert, mit der die Aktivität der Muskeln des MSP abgeleitet wird. Die verstärkten Signale und die Koordinaten der Flagellumspitze werden mit einem Bandgerät aufgezeichnet.

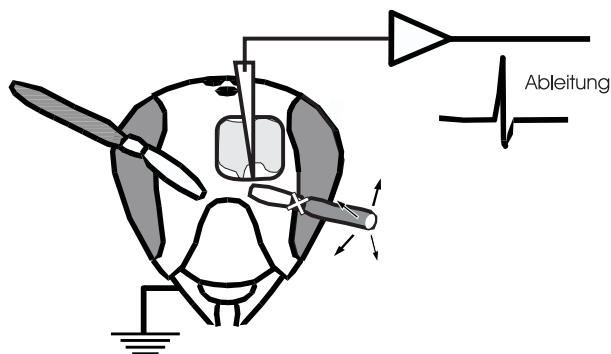


Abbildung 2.3: Aufbau zur simultanen Aufzeichnung der Scapusbewegung und der Aktivität der Scapusmuskeln. Das Pedicellusgelenk ist festgelegt (Kreuz), nur das Scapusgelenk ist beweglich. Die Flagellumbewegung wird mit einer Videokamera von frontal aufgenommen. Der weitere Aufbau entspricht Abb. 2.2.

Ableitungen am Muskelsystem des Pedicellusgelenkes (MSP) erfolgen mit einem Stahldraht ($\varnothing 20 \mu\text{m}$), der durch ein mit einer Minutie in die Scapuscuticula gestochnes Loch eingeführt wurde. In Vorversuchen diente eine Wolframglühwendel aus einer 60 W-Lampe als Elektrode.

Verstärkt wurde mit einem differentiellen Verstärker DMA-1 der Firma O₅, Verstärkungsfaktor $1000\times$. Die Signale wurden bandpaßgefiltert mit einer unteren Eckfrequenz von 1 bis 5 Hz und einer oberen Eckfrequenz von 5 bis 10 kHz.

Die Aufzeichnung der Antennenbewegung erfolgte wie in 2.2 beschrieben.

Datenaufzeichnung und -verarbeitung

Ableitung und x-/y-Koordinaten der Antennenspitze wurden mit einem Recorder Bio-Logic DTR-1800 auf DAT gespeichert und später mit dem Programm DataWave über einen A/D-Wandler (CTM-05) auf einen PC übertragen. Die DataWave-Software diente ferner der Spikediskrimination und dem Konvertieren der Daten in ein allgemein lesbares Format. Für die weitere Datenanalyse wurden selbst entwickelte Programme eingesetzt. Diese Programme wurden verwendet für die Berechnung des Zusammenhangs zwischen Muskelaktivität und Gelenkstellung und zur Berechnung der Effekte einzelner Muskelpotentiale² auf die Bewegung. Außerdem wurden mit ihnen Teile der Ergebnisse visualisiert.

Diskrimination der Muskelpotentiale

Die extrazellulären Muskelableitungen liefern zum Teil Signale einer Vielzahl von Muskeln. Die Potentiale der zu untersuchenden Muskeln mußten daher mittels geeigneter Verfahren extrahiert werden. Hierzu wurde das *Spike-Sorting*-Modul der DataWave-Software verwendet. Es ermöglicht, Signale unterschiedlicher Form anhand einer Reihe von Diskriminationsparametern verschiedenen Clustern zuzuordnen. Zu diesen Parametern gehören Amplituden zu bestimmten Zeitpunkten, maximale (*peak*-) und minimale (*valley*-) Amplitude, Zeitpunkt der maximalen bzw. minimalen Amplitude, Signalthöhe (Differenz der maximalen und minimalen Amplitude), Signalbreite (Abstand der Zeitpunkte der beiden Amplituden) und einige mehr. Mithilfe dieser Parameter ließen sich die Muskelpotentiale vom Rauschen separieren und die verschiedenen überlagerten Signale voneinander trennen.

Zur weiteren Analyse wurden die Zeitpunkte des Auftretens von Muskelpotentialen (Zeitpunkt maximaler Amplitude) in einem allgemein lesbaren Format (ASCII) gespeichert, so daß nachträglich eine Zuordnung der Daten zu den diskriminierten Spike-Clustern möglich war. Ferner wurden die Koordinatendaten der Flagellumspitze in das ASCII-Format übertragen.

Zuordnung der Ableitung zu den einzelnen Muskeln

Bei der extrazellulären Muskelableitung werden in der Regel Potentiale mehrerer Muskeln gleichzeitig aufgenommen. Man kann annehmen, daß Signale gleicher Form einem

²Unter Muskelpotential ist im Kontext dieser Arbeit die im Muskel meßbare Depolarisation gemeint, die durch Aktionspotential eines den Muskel innervierenden Motoneurons ausgelöst wird.

einigen Muskel zuzuordnen sind. Zu welchem der untersuchten Muskeln Signale einer bestimmten Form gehören, läßt sich anhand der Richtung der Antennenbewegung, die durch diese Muskelpotentiale induziert wird, bestimmen. Dazu wurde für alle Spikes eines Clusters jeder Ableitung ermittelt, wohin sich die Flagellumspitze in den ersten 100 ms nach dem Auftreten eines Muskelpotentials bewegt.

Für jedes Muskelpotential ergibt sich bei Scapusbewegungen ein Tupel

$$((\phi, \theta)_{t_0}, (\phi, \theta)_{t_1}).$$

Dabei ist $(\phi, \theta)_{t_0}$ die Scapusstellung direkt *vor* dem Auftreten des Muskelpotentials und $(\phi, \theta)_{t_1}$ die Stellung *nach* dem Auftreten des Potentials. Bei Pedicellusbewegungen lautet das entsprechende Tupel

$$(\alpha_{t_0}, \alpha_{t_1}).$$

Die Zeitdifferenz $t_1 - t_0$ betrug hier entsprechend 100 ms.

Der durch die Antennenbewegung erreichte Bereich wurde in Winkelklassen aufgeteilt. Bei Pedicellusbewegungen gab es 10 Klassen mit einer Intervallgröße von 10° , bei Scapusbewegungen entsprechend 10×10 Klassen mit Intervallbreiten von 10° (Azimut) bzw. 20° (Inklination). Jede Antennenstellung fällt in eine dieser Klassen. Es wurde nun für jede dieser Klassen ermittelt, wohin im Mittel die Antennenspitze durch ein Muskelpotential bewegt wird, wenn sie sich *vor* dem Auftreten des Muskelpotentials in dieser Klasse befunden hat. Dies geschah durch Bildung des arithmetischen Mittels der Komponenten der Tupel.³

Es lagen nun für jede erreichbare Antennenstellung gemittelte Bewegungsrichtungen vor, wohin sich in Folge eines Muskelpotentials die Antenne innerhalb der ersten 100 ms bewegt. Diese wurden auf dem Bildschirm visualisiert, und aus der Tendenz der Zugrichtung konnte für jede Ableitung festgestellt werden, um welchen Muskel es sich handelt. Nicht eindeutige Ableitungen wurden verworfen.

In den weiteren Auswertungen wurden alle Ableitungen eines Muskels zusammengefaßt.

Farbcodierung der Muskelaktivität

Zur Bestimmung der durchschnittlichen Aktivität der Muskeln des MSS in Abhängigkeit von der Scapusstellung wurden die Ableitungen in Zeitintervalle von 200 ms unterteilt. Innerhalb jeder dieser Epochen wurde die Position gemittelt und die Zahl der Potentiale des Muskels bestimmt. Aufgrund der mittleren Position konnte der Zeitausschnitt einer der Positionsklassen (s. S. 17) zugeordnet werden. Innerhalb der Klassen wurde die Zahl der Muskelpotentiale gemittelt und in Muskelpotentiale/s umgerechnet.

³Bei der Mittelung von Winkeln ist zu beachten, daß Fehler auftreten können. (Bsp.: Das arithmetische Mittel von 345° und 25° ist $(25 + 345)/2 = 370/2 = 185^\circ$. Korrekt wäre aber 5° .) (Batschelett 1965) Die Ursache liegt darin, daß deckungsgleiche Winkel ganz unterschiedlich wiedergegeben werden können (Bsp.: $345^\circ \equiv -15^\circ$). Hier führt das jedoch aufgrund der durch die geeignete Wahl des 0° -Winkels begrenzten Intervalle (Pedicellus: 0° bis 130° , Scapus: Azimut 0° bis 90° und Inklination -90° bis 270°) nicht zu Problemen. Zwar ist theoretisch denkbar, daß Werte wie -90 und 270 auftreten, die den im Beispiel beschriebenen Effekt hätten. Im Experiment kommen solche Fälle jedoch nicht vor.

Zur Visualisierung wurde die mittlere Aktivität farbkodiert. Die Farbbeschreibung erfolgte nach dem RGB-Schema, wonach jeder Farbe ein Tupel von Rot-, Grün- und Blauanteilen (R, G, B) , die im Intervall von 0 bis 1 skalieren, zugeordnet ist. Die RGB-Werte der Farbe, die eine bestimmte Muskelaktivität x codiert, werden wie folgt bestimmt:

$$R = \begin{cases} 0 & : & x' < 0,5 \\ 1 & : & x' > 0,75 \\ 4x' - 2 & : & \text{sonst} \end{cases} \quad \text{wobei } x' = \frac{x}{x_{max}}$$

$$G = \begin{cases} 4x' & : & x' \leq 0,25 \\ 4 - 4x' & : & x' \geq 0,75 \\ 1 & : & \text{sonst} \end{cases} \quad \text{wobei } x' = \frac{x}{x_{max}}$$

$$B = \begin{cases} 0 & : & x' > 0,5 \\ 1 & : & x' < 0,25 \\ 2 - 4x' & : & \text{sonst} \end{cases} \quad \text{wobei } x' = \frac{x}{x_{max}}$$

x_{max} ist die maximale gemessene Aktivität des Muskels. Diese wird demnach mit der warmen Farbe Rot $((R, G, B) = (1, 0, 0))$ wiedergegeben, Aktivitäten von $x = 0$ mit Blau $((R, G, B) = (0, 0, 1))$.

Die Biene beschreibt mit ihren Scapusbewegungen etwa eine Viertelkugel. Um den Zusammenhang zwischen Scapusstellung und Aktivität des einzelnen Muskels darzustellen, wurden Graphiken erzeugt, bei denen für jede Positionsklasse ein farbiges Dreieck so auf einer Viertelkugel plazierte war, daß der Dreiecksmittelpunkt mit dem Klassensmittelpunkt übereinstimmte. Die Farbe des Dreiecks entsprach der oben erläuterten Falschfarben-RGB-Kodierung der Muskelaktivität (Abb. 3.18, S. 51). Zur Erzeugung der Graphiken diente der Raytracer PovRay (POV, 1997).

2.5 Wirkung einzelner Muskelpotentiale auf die Antennenbewegung

Simultan zur Muskelableitung wurde die Bewegung der Flagellumspitze aufgezeichnet. Für jedes Muskelpotential, das sich eindeutig einem bestimmten Muskel zuordnen ließ (s. 2.4), wurde der Zeitverlauf der Scapusbewegung während der folgenden 250 ms mit einer Auflösung von 10 ms extrahiert. Trat innerhalb von 250 ms ein weiteres Muskelpotential auf, wurde der Teil des Signals nach dem neuen Potential nicht mehr in die Auswertung einbezogen. Die Signale wurden entsprechend der Scapusstellung zum Zeitpunkt t_0 , das ist der Zeitpunkt beim Auftreten des Muskelpotentials, klassifiziert (s. 2.4, S. 17). Innerhalb der Klassen wurde für jedes Tier der Zeitverlauf der Scapusbewegung gemittelt (*signal averaging*). Auf diese Weise kann für jede Antennenstellung der Verlauf der Antennenbewegung in Folge eines einzelnen Muskelpotentials vorausgesagt werden.

Zur Vereinfachung des Modells wurde nicht das gesamte kontinuierliche Signal betrachtet, sondern nur die durch das Muskelpotential nach 100 ms erreichte neue Position.

Mit der Differenz der Scapusposition zum Zeitpunkt des Eintretens des Muskelpotentials (t_0) und der Position 100 ms nach t_0 (t_{100}) wurde die Kontraktionsgeschwindigkeit angenähert, die durch das Muskelpotential ausgelöst wurde.

Regressionsanalyse

Die Geschwindigkeit der muskelpotentialinduzierten Antennenbewegung ist abhängig von der Gelenkstellung *vor* dem Muskelpotential. Je näher die Gelenkstellung der Stellung ist, die bei maximaler Kontraktion des Muskels erreicht wird, desto geringer ist die Geschwindigkeit und umgekehrt. Diese Positionsabhängigkeit der muskelpotentialinduzierten Scapusgeschwindigkeit läßt sich durch ein Paraboloid der Form

$$\dot{\tau}(\phi, \theta) = y_0 + a\phi + b\theta + c\phi^2 + d\theta^2$$

approximieren (s. Abb. 3.15 und 3.16). Dabei ist $\dot{\tau}$ die Scapusgeschwindigkeit, ϕ der Inklinations- und θ der Azimutwinkel der Scapusstellung.

Die Parameter y_0, a, b, c und d der obigen Gleichung wurden für jede Ableitung mit dem *curve-fit*-Modul des Programms SigmaPlot (1997) ermittelt. Die Parameter aller Ableitungen eines Muskels wurden gemittelt. Die gemittelten Parameter bildeten das Regressionsmodell für den betreffenden Muskel. Als Signifikanztest für die Güte der Anpassung diente die Varianzanalyse (ANOVA).

2.6 Zeitreihenanalyse

Eine der Fragestellungen dieser Arbeit war die Untersuchung der zeitlichen Muster der Antennenbewegung, insbesondere ob und welche Rhythmen der Bewegung zugrundeliegen und wodurch diese beeinflußt werden. Dazu wurden von den Bewegungsdaten der Bienenantennen Frequenzspektren bestimmt. Herausragende Rhythmen würden als Spitzen im Frequenzspektrum sichtbar werden.

2.6.1 Bestimmung des Frequenzspektrums

Zur Bestimmung der Energieverteilung auf die verschiedenen Frequenzen der Antennenbewegung wurden Fourierspektren bestimmt. Dazu diente das Programm `fourier`, das mir von Th. Kruel freundlicherweise zur Verfügung gestellt und von mir leicht verändert⁴ wurde. Es berechnet die reelle Fouriertransformation einer Zeitserie (Kruel, 1992). Die Energie ist dimensionslos.

Die Fouriertransformation setzt voraus, daß der Mittelwert aller Werte der Zeitreihe gleich 0 ist. Diese Normalisierung wird vom Programm vorgenommen. `fourier` setzt Äquidistanz der Zeitpunkte der Datensätze voraus, was bei den Videodaten gegeben ist. Die Anzahl der Daten ist beliebig (nicht nötigerweise eine Potenz von 2 wie bei der Fast Fourier Transformation). Die dadurch erhöhte Rechenzeit relativiert sich aber, da die sin- und cos-Terme nicht in jedem Schritt neu berechnet sondern einmalig tabelliert werden. Für näheres zur Fouriertransformation siehe z. B. Weitkumat (1991).

⁴Format der Eingabedaten, Anpassung an die Linux-Plattform

Berechnet wurde das Fourierspektrum im Intervall von 0 bis 10 Hz mit einer Schrittweite von 0,01 Hz. (Ausnahme: Bei den Hochgeschwindigkeitsaufnahmen (s. 2.6.3) wurde als obere Grenze die Nyquistfrequenz⁵ von 100 Hz gewählt, die Auflösung betrug 0,1 Hz.) Ausgewertet wurden Epochen von einer Minute.

Das zur Verfügung stehende Programm berechnet die Fouriertransformation einer eindimensionalen bzw. univariaten Zeitserie. Die Scapusbewegungen sind jedoch zweidimensional (Azimut- und Inklinationswinkel). Mangels geeigneter Werkzeuge zur bivariaten Zeitreihenanalyse wurden die Fourierspektren für Azimut- und Inklinationsbewegungen des Scapus jeweils getrennt berechnet.

Die Zeitreihen sind stark dominiert von schnellen großamplitudigen Antennenbewegungen mit fast rechteckiger Signalform. Durch diese können interessante Signalkomponenten so überlagert werden, daß sie im Fourierspektrum nicht mehr sichtbar sind. Abhilfe schafft eine logarithmische Transformation der Zeitreihe (Herzel, pers. Mitteilung). Daher wurden für einige exemplarisch betrachtete Zeitreihen die Antennenpositionsdaten logarithmiert:

$$\phi' = \log(\phi - \delta_\phi)$$

$$\theta' = \log(\theta - \delta_\theta)$$

$\log$ ist der Logarithmus zur Basis 10. Durch die Subtraktion eines Terms δ wird die Zeitreihe so verschoben, daß ihr Minimum gerade noch größer 0 ist (der Logarithmus negativer Zahlen ist nicht definiert). δ ist also so zu wählen, daß es gleich dem Minimum der untransformierten Zeitreihe abzüglich eines kleinen $\varepsilon \approx 2^\circ$ ist. Die resultierende logarithmisch transformierte Zeitreihe ist „stationärer“ als die Originalzeitreihe.

2.6.2 Bestimmung der charakteristischen Parameter des Frequenzspektrums

Das Fourierspektrum der Scapusbewegungen der Bienenantenne ähnelt dem Frequenzgang eines Tiefpaßfilters erster Ordnung (s. Abb. 2.4 und 3.3). Dessen Frequenzgang folgt der Funktion

$$p(f) = k\omega_0(1 - e^{-\frac{\omega_0}{f}}).$$

Dabei ist p die Amplitude, f die Frequenz, ω_0 die charakteristische Frequenz (Eckfrequenz) des Filters und k die Verstärkung.

Der Graph eines solchen Frequenzganges kann durch zwei Asymptoten approximiert werden (Cruse, 1996). Die erste ist zur Abszisse parallel und repräsentiert die Durchlässigkeit des Filters für niedrige Frequenzen (im Idealfall = 1), die zweite fällt mit negativer Steigung ab und ist bei logarithmischer Skalierung linear mit einer Steigung von ungefähr -1.⁶ Der Schnittpunkt dieser beiden Asymptoten markiert die Eckfrequenz ω_0 oder f_c (*corner frequency*).

Die Bestimmung der Asymptoten erfolgte mit dem Statistikprogramm SPSS V. 7.5 (1997) (Bühl und Zöfel, 1996). Als Regressionsmodell für die abfallende Asymptote

⁵Die Nyquistfrequenz ν_c ist die Frequenz, oberhalb der im Fourierspektrum keine sinnvolle Information enthalten ist (Abtasttheorem nach Shannon). Sie ergibt sich aus dem reziproken doppelten Meßwertabstand: $\nu_c = 1/2\delta t$.

⁶Bei einem Tiefpaßfilter erster Ordnung

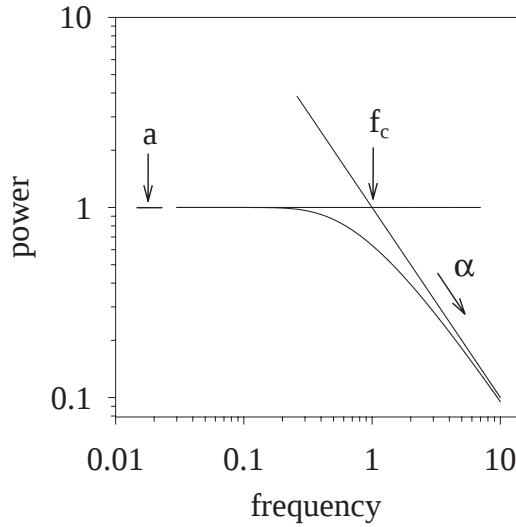


Abbildung 2.4: Frequenzgang eines idealen Tiefpaßfilters mit $k = 1$ und $\omega_0 = 1$ ($\omega_0 \equiv f_c$) in logarithmischer Skalierung mit den asymptotischen Approximationen. a entspricht der horizontalen Asymptote, α der Steilheit des Abfalls der Asymptote im dämpfenden Bereich.

wurde ein Exponentenmodell folgender Form angenommen:

$$p(f) = a \cdot f^\alpha,$$

Dabei ist p die Amplitude (power), a die vertikale Verschiebung der Asymptote in der logarithmischen Darstellung, f die Frequenz und α (< 0) die Steilheit des Abfalls. Die Regression wurde berechnet für das Fourierspektrum im Frequenzbereich 1 bis 10 Hz.

Der Einfachheit halber wurde für die horizontale Asymptote im niederfrequenten Bereich das gleiche Regressionsmodell angenommen, wobei hier $\alpha_{\text{fast}} = 0$ ist. Berechnet wurde die Regression für das Fourierspektrum im Frequenzbereich von 0,01 bis 0,1 Hz.

Die Bestimmung der Eckfrequenz f_c , also des Schnittpunktes der beiden Asymptoten, erfolgte nach folgender Formel:

$$f_c = 10^{\frac{\log(a_l) - \log(a_h)}{\alpha_h - \alpha_l}}.$$

Dabei ist f_c die Eckfrequenz, a_h und α_h Offset und Steilheit des Abfalls der Asymptote im Frequenzbereich > 1 Hz, a_l und α_l Offset und Steilheit des Abfalls der Asymptote im Frequenzbereich $< 0,1$ Hz.

Alle weiteren Auswertungen konzentrierten sich auf die Parameter a_l , α_h und f_c und die Gesamtenergie, die sich aus der Summe der Energien der Einzelfrequenzen ergibt.

2.6.3 Hochgeschwindigkeitsaufnahmen

Die Grenz- oder Nyquistfrequenz für Standardvideo beträgt bei Halbbildauswertung 25 Hz. Um zu überprüfen, ob höherfrequente Komponenten in den Bewegungsmustern der Bienenantenne auftreten, wurden mit einer Hochgeschwindigkeitsvideokamera (NAC HSV 400), die mir von der AG Tautz in Würzburg freundlicherweise zur Verfügung gestellt wurde, Aufnahmen der sich bewegenden Antenne mit einer Frequenz von 200 Bildern pro Sekunde gemacht. Daraus resultiert eine Nyquistfrequenz von 100 Hz.

In die Auswertung flossen Pedicellusbewegungen von sechs Tieren ein. Die Länge der Zeitreihen betrug 60 s.

2.7 Stimulation der Tiere mit Saccharoselösung

In verschiedenen Experimenten wurden die Tiere mit 30 %iger Saccharoselösung stimuliert. Dazu wurde ein Tropfen der Lösung nacheinander an beide Antennen und die sich dann herausstreckende Proboscis gebracht.

2.8 Pharmakainjektion

2.8.1 Apparatur und Injektionsvorgang

Die lokale Applikation der Pharmaka erfolgte mittels Druckinjektion. Die Injektionsapparatur besteht aus einem Kompressor, einem Reduzierventil und einem elektronischen Zeitschalter. Als Injektionskanülen dienten mit einem Horizontalpuller (Brown Flaming) gezogene Glaskapillaren mit einem Innendurchmesser von 0,7 mm. Durch Variation des Injektionsdrucks (ca. 1,3 bis 2 bar) bei konstanter Pulsdauer von 1 s ließ sich das injizierte Volumen einstellen. Eine Eichung erfolgte direkt vor der Applikation durch Injektion eines Tropfens in flüssiges Paraffin und Messen des Tropfendurchmessers mittels Okularmikrometer. So konnte ein Injektionsvolumen von ca. 500 pl eingestellt werden. Eine detaillierte Beschreibung der Methode findet sich bei Erber und Kloppenburg (1995); Kloppenburg und Erber (1995).

2.8.2 Präparation

Den Tieren wurde ein kleines, etwa 2×2 mm messendes Fenster dorsal vom Scapusgelenk in die Kopfkapsel geschnitten. Drüsengewebe und Tracheen über dem Gehirn wurden entfernt, so daß der Antennallobus sichtbar wurde. Die mit der Injektionslösung gefüllte und geeichte Kanüle wurde senkrecht von frontal auf die Mitte des Antennallobus aufgesetzt und mit einem motorgetriebenen Mikromanipulator $350 \mu\text{m}$ in das Gewebe eingeführt, wodurch die Kanülenöffnung im Dorsallobus plaziert wurde. Es wurde injiziert und die Kanüle aus dem Gehirn entfernt. Nach der Injektion fand eine erneute Überprüfung des Tropfendurchmessers statt. Nur die Tiere, bei denen das Tropfenvolumen vor und nach der Injektion gleich geblieben war, wurden in die Auswertung einbezogen.

2.8.3 Untersuchte Pharmaka

Drei Gruppen mit je zehn Tieren wurden getestet. Der einen wurde 10^{-5} M Octopamin in Ringer-Lösung⁷ injiziert, der zweiten 10^{-5} M Serotonin und dritten (Kontroll-)Gruppe Ringer-Lösung ohne Pharmakon. Serotonin und Octopamin wurde je 9, Ringer 10 Tieren injiziert. Die Reihenfolge der Tests war randomisiert.

⁷270 mM NaCl, 3,2 mM KCl, 1,2 mM CaCl₂, 10 mM MgCl₂, 10 mM Morpholinopropansulfonsäure, pH 7,4

2.8.4 Überprüfung des Injektionsortes

Um sicherzugehen, daß bei der Injektion reproduzierbar der Dorsallobus getroffen wird, wurden wiederholt fluoreszenzmarkierte Latex-Perlen (Molecular Probes, FluoSpheres[®] sulfate microspheres $\varnothing 0,1\text{ }\mu\text{m}$, gelb-grün fluoreszierend) injiziert. Das Gehirn wurde herauspräpariert und am Vibratom geschnitten. Unter dem Fluoreszenzmikrop ließen sich die Latex-Perlen in den Schnitten lokalisieren.

Die histologische Aufarbeitung der Gehirne nach der Injektion fand nach folgendem Protokoll statt:

1. Herauspräparieren des Gehirns
2. Entfernen von Tracheen und Drüsengewebe unter 0,1 M SPB⁸
3. Fixieren mit 4 % Paraform (60 min)
4. Waschen mit 0,1 M SPB ($4 \times 15\text{ min}$)
5. Einbetten in 10 % Gelatine
6. Schneiden ($100\text{ }\mu\text{m}$)
7. Entgelatinisieren im warmen Wasserbad ($2 \times 10\text{ min}$)
8. Waschen mit 0,1 M SPB ($2 \times 5\text{ min}$)
9. Aufziehen auf Objektträger mit Glycerin/SPB 1:1

2.8.5 Versuchsablauf

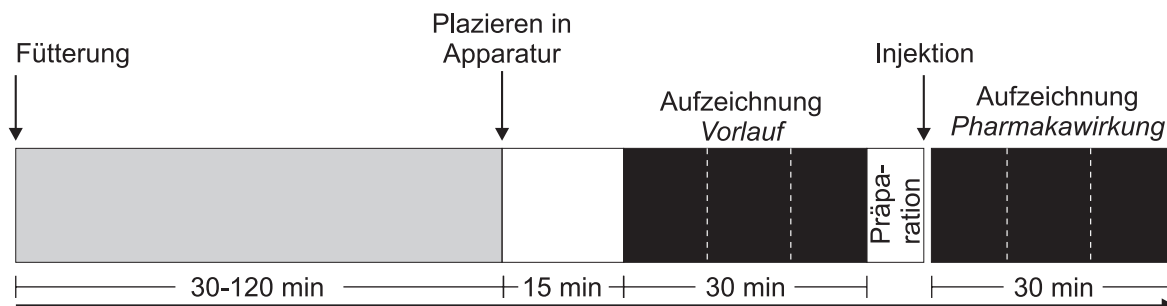


Abbildung 2.5: Ablauf des Versuchs zur Ermittlung der Wirkung präsumptiver Modulatoren auf die Dynamik der Antennenbewegung.

Damit sich die Tiere während des Experiments in einem ähnliche Erregungszustand befanden, wurden die Tiere 30 bis 120 min vor Versuchsbeginn gefüttert (Abb. 2.5). Den Tieren wurde wie in Abschnitt 2.2 beschrieben das ipsilaterale Pedicellusgelenk festgelegt

⁸Sörensen Phosphatpuffer (SPB) 0,2 M (Voratslösung): 6,8 g KH_2PO_4 und 21,3 g Na_2HPO_4 in 500 ml A. dest., pH 7,4 einstellen; (SPB) 0,1 M: Voratslösung 1:1 mit A. dest.

und das distale Flagellumsegment mit einem weißen Punkt markiert. Anschließend wurden sie in der Apparatur platziert. Nach 15 min Pause wurden die Antennenbewegungen 30 min aufgezeichnet (Vorlauf, *pretest*). Anschließend erfolgte die Präparation und die Injektion (s. 2.8.1 und 2.8.2). Direkt nach der Injektion wurden erneut über 30 min die Bewegungen aufgezeichnet. Die Abtastrate war 25 Hz.

2.8.6 Datenauswertung

Die Zeitreihen von Vor- und Nachtest (je 30 min Länge) wurden in drei Epochen à 10 min aufgeteilt. Von jeder dieser Epochen wurde das Fourier-Spektrum im Frequenzbereich 0 bis 10 Hz berechnet (s. 2.6.1). Aus diesen Spektren wurden wie in 2.6.2 beschrieben die charakteristischen Parameter (a , α und f_c) ermittelt. Die Werte der drei Epochen des Vorlaufs wurden gemittelt und dienten als Referenz für die im Nachtest gemessenen Pharmakaeffekte.

2.9 Konditionierungsexperimente

2.9.1 Durchführung

Die im Röhrchen fixierte Biene (s. o.) wurde in einem Faraday-Käfig platziert. Beide Antennen waren frei beweglich. Die Aktivität des Flexor-Muskels wurde mit einer flexiblen Wolframelektrode abgeleitet. Verstärkt wurde mit einem DC-Verstärker DMA-2 der Firma O₅. Die Aufzeichnung erfolgte mit einem DAT-Recorder. Die großamplitudigen Potentiale (10-15 mV) des schnellen Flexors wurden mit einem Window-Diskriminator (List) detektiert und ihre Frequenz in einem PC ausgewertet. Der Computer zählte die Zahl der Impulse innerhalb von 10 s-Intervallen. Während der Konditionierungsphase wurde vom PC jedesmal dann ein akustisches Signal ausgelöst, wenn die Flexoraktivität eine bestimmte Schwelle überschritt. Wenn das Signal ertönte, wurde die Biene manuell belohnt.

Ein Experimentdurchlauf teilte sich in drei Phasen, den Vortest, die Konditionierungsphase und den Nachtest. Die Häufigkeit von Flexorpotentialen in Intervallen von 10 s wurde im Vortest während einer Periode von 10 min gemessen. Mittelwert und Standardabweichung der spontanen Flexoraktivität ($\bar{x}_{\text{pre}} \pm s_{\text{pre}}$) wurden berechnet und dienten als Referenz für die folgenden Experimente. In der Konditionierungsphase wurden die Tiere zehn Mal vom Experimentator mit einem Tropfen 30 %iger Saccharoselösung belohnt, wenn die Flexoraktivität in einem 10 s-Intervall eine Schwelle $\theta = \bar{x}_{\text{pre}} + s_{\text{pre}}$ überschritt, was durch das akustische Signal angezeigt wurde.

Die Tiere der Kontrollgruppe wurden in der gleichen Weise wie die konditionierten behandelt, nur die Belohnung in der Konditionierungsphase erfolgte unabhängig von der Flexoraktivität. Stattdessen wurden die Kontrolltiere nach dem zeitlichen Muster eines zufällig ausgewählten Tieres der konditionierten Gruppe gefüttert (Jochkontrolle), also ebenfalls zehn mal.

Nach zehn Fütterungen wurde für 30 min wie im Vortest die Flexoraktivität aufgezeichnet.

Die Experimente wurden von Johannes Kisch durchgeführt. Für Details zur Methode siehe Kisch et al. (1998).

2.9.2 Auswertung

Ein *Spike Train* ist eine Sequenz von Inter-Spike-Intervallen. Übliche Parameter zur Informationsextraktion aus Spike Trains sind der Mittelwert der Intervalle (Inter Event Times IET), die Varianz, der serielle Korrelationskoeffizient und die Autocovarianz (Schild, 1983).

Ein Weg, die sequenzielle Abhängigkeit einer binären Serie zusammenzufassen, ist die Berechnung des *seriellen Korrelationskoeffizienten* r_s (Falk und Well, 1997). Der serielle Korrelationskoeffizient ist ein Maß für den Zusammenhang zwischen den Intervalllängen zweier aufeinanderfolgender Ereignisse. Ein positiver r_s ist ein Hinweis darauf, daß zwei aufeinanderfolgende Ereignisse eine gemeinsame Quelle oder Ursache haben.

Zur Analyse der Entladungsmuster wurden die IET jeder Meßreihe für jedes Tier graphisch dargestellt. Dazu wurde für jeden Impuls die zugehörige IET gegen die des nachfolgenden Pulses aufgetragen. Die entstehende Punktwolke gibt Aufschluß über zugrundeliegende Rhythmen und auftretende *Burst*-Muster.

Aus dem Zusammenhang zwischen der IET eines Impulses und der des folgenden ergibt sich der serielle Korrelationskoeffizient r_s . Dieser wurde ermittelt mit dem Statistikpaket SPSS V. 7.5 (1997) (Bühl und Zöfel, 1996).

Häufigkeitsverteilungen der IET wurden für jedes Tier erstellt und mit dem K-S-Test auf eine Poisson-Verteilung getestet (Sachs, 1997). Der Test wurde durchgeführt mit dem Statistikpaket SPSS V. 7.5 (1997).

Die Konditionierung nach dem dargestellten Verfahren hat bei Erfolg eine Erhöhung der mittleren Impulshäufigkeit zur Folge. Die Mittelwertbildung läßt jedoch nicht erkennen, ob eine allgemeine Frequenzerhöhung vorliegt, oder ob nach der Konditionierung Phasen mit sehr großer Aktivität hinzukommen. Um dies zu ermitteln, wurden die Muskelpotentiale über den gesamten untersuchten Zeitraum in *bins* mit einer Breite von 200 ms gezählt.⁹ Die Zahl der Impulse gibt genähert die momentane Frequenz wieder. Aus der *bin*-Breite von 200 ms ergibt sich eine Anzahl von 3000 *bins* im Intervall von 10 min.

Die Verteilung der Muskelpotentialfrequenzen wurde ermittelt durch die Berechnung der Häufigkeit des Auftretens von *bins* bestimmter Frequenzklassen.

2.10 Simulationen

Das Modell der motorischen Steuerung der Bienenantenne wurde mit Simulink (1996) unter Matlab (1996) erstellt (Pärt-Enander et al., 1996; Kheir, 1998). Die Simulationen¹⁰ erfolgten mit variabler Schrittweite und dem Differenzialgleichungslöser *ode45* (Dormand-Prince).

⁹Das entspricht einem *peri stimulus time histogram* (PSTH), nur daß hier kein Stimulus gegeben wurde

¹⁰Eine gute Einführung in die Arbeitsweise von Simulatoren, insbesondere von Simulink, gibt Wenzel (1998)

2.11 Statistische Absicherung der Ergebnisse

Alle im Ergebnisteil (Kapitel 3) hervorgehobenen Mittelwertunterschiede wurden mit statistischen Signifikanztests abgesichert. Als Test diente der t-Test für abhängige bzw. der t-Test für unabhängige Stichproben. Angegeben wurde jeweils das Signifikanzniveau für den zweiseitigen Test. Es wurde berechnet mit dem Statistikpaket SPSS V. 7.5 (1997).

3 Ergebnisse

3.1 Zugrichtung der Scapusmuskeln

Durch Ziehen mit einer zum Haken gebogenen Wolframelektrode an den vier Muskeln des MSS von zwei Tieren (s. 2.3) wurden deren Hauptzugrichtungen bestimmt. Diese sind in der Tabelle 3.1 aufgelistet und in Abb. 3.1 visualisiert.

Wie Ellerkmann (1994) beschreibt, zieht der *Adductor lateralis* den Scapus nach lateral in Richtung ipsilaterales Komplexauge, der *Adductor dorsalis* nach dorsal Richtung Ocellen und der *Adductor ventralis* in Richtung ventral. Der *Levator antennae* hält den Scapus nach anterior (Abb. 3.1). Die Extremstellungen bei voller Kontraktion der einzelnen Muskeln sind jedoch nicht orthogonal zueinander. Torsionsbewegungen sind nicht möglich. Zur dreidimensionalen Positionseinstellung wird das Pedicellusgelenk benötigt, der Scapus allein beschreibt etwa die Oberfläche einer Viertelkugel.

Muskel	Inklination	Azimut
<i>A. lateralis</i>	14°	53°
<i>A. dorsalis</i>	4°	17°
<i>L. antennae</i>	355°	63°
<i>A. ventralis</i>	185°	16°

Tabelle 3.1: Hauptzugrichtung der Muskeln des Scapus. Siehe auch Abb. 3.1

3.2 Analyse der Antennenbewegung

3.2.1 Spontane Scapusbewegungen

Honigbienen bewegen ihre Scapi nahezu ununterbrochen. Im ungereizten Tier erscheinen die Bewegungen wie rein zufällig oder chaotisch. Auffällige Rhythmen sind nicht zu beobachten. (Abb. 3.2 links). Im Mittel wird die Antenne an der Position Azimut $\theta = 94^\circ \pm 24^\circ$, Inklination $\phi = 40^\circ \pm 7^\circ$ gehalten ($n = 10$).

Betrachtet man das Frequenzspektrum der Inklinationsbewegungen (Abb. 3.3), so wird eine Charakteristik deutlich, die an den Frequenzgang eines Tiefpaßfilters erinnert. Im Frequenzbereich unterhalb einer bestimmten Eckfrequenz f_c (ca. 0,5 Hz) ist die Energie über ein breites Frequenzband konstant (a). Sie beträgt für Azimutbewegungen im Mittel $1,14 \pm 0,61$ und für Inklinationsbewegungen $0,59 \pm 0,25$ (die Energie ist dimensionslos) (siehe Abb. 3.4).

Jenseits der Eckfrequenz f_c fällt das Frequenzspektrum logarithmisch ab. Der Abfall läßt sich durch eine Kurve der Form $p = f^\alpha$ mit $\alpha < 0$ (wobei p die Energie und f die Frequenz sind) annähern. α spiegelt die Steilheit des Abfalls der Geraden in der doppelt-

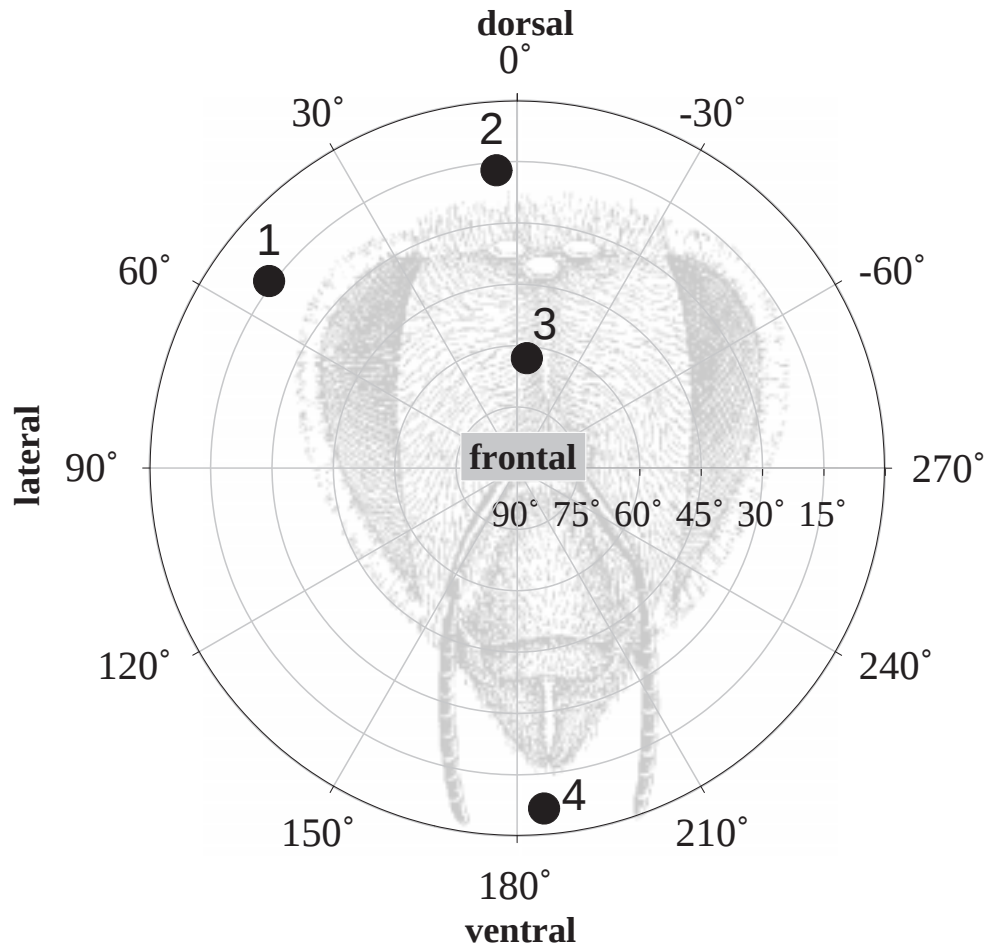


Abbildung 3.1: Hauptzugrichtung der vier Muskeln des Scapus, ermittelt durch Ziehen an den Muskeln denervierter Tiere. **1:** *Adductor lateralis*, **2:** *Adductor dorsalis*, **3:** *Levator antennae*, **4:** *Adductor ventralis*. (Nomenklatur nach Ellerkmann, 1994)

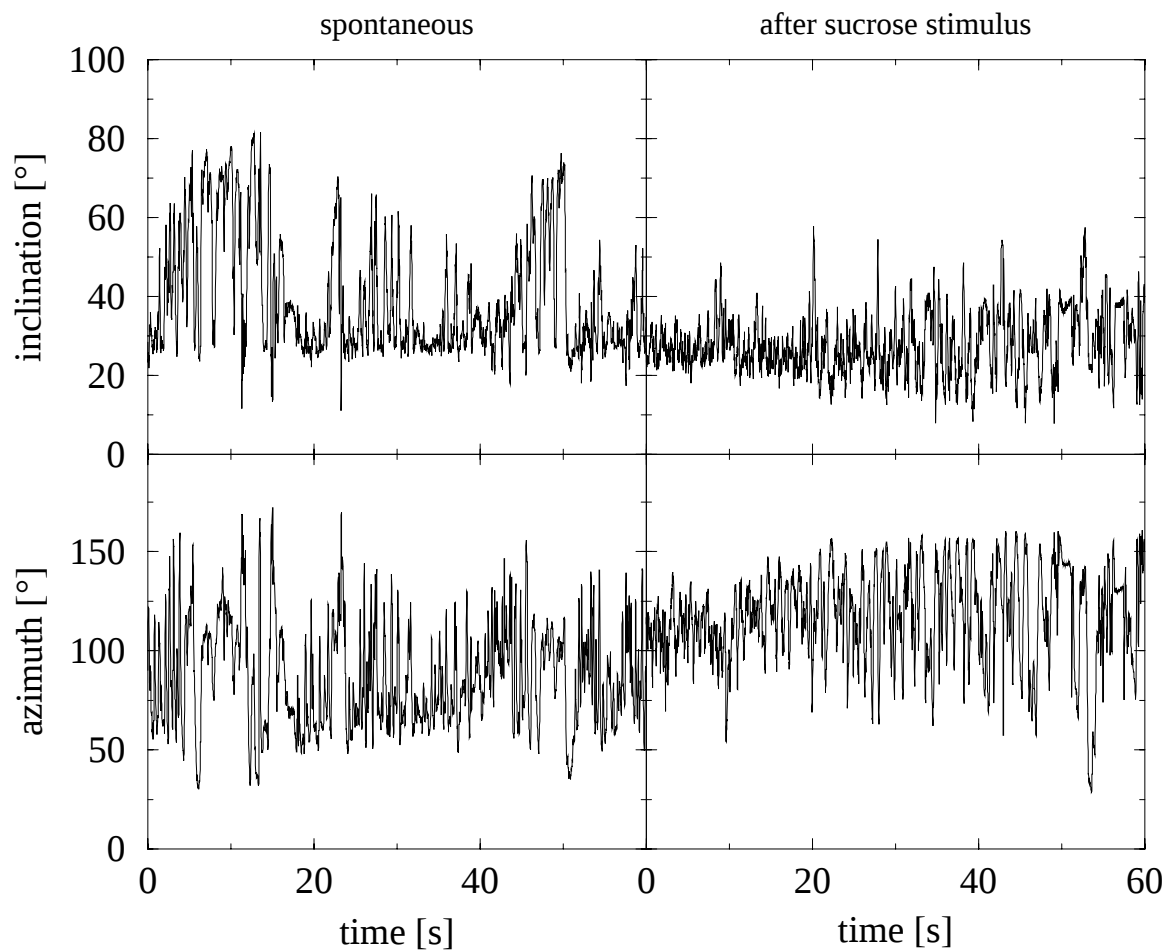


Abbildung 3.2: Spontane (links) und durch Stimulation mit Saccharoselösung beeinflusste (rechts) Bewegungen des Scapus. Obere Spur: Inklinationsbewegungen; untere Spur: Azimutbewegungen

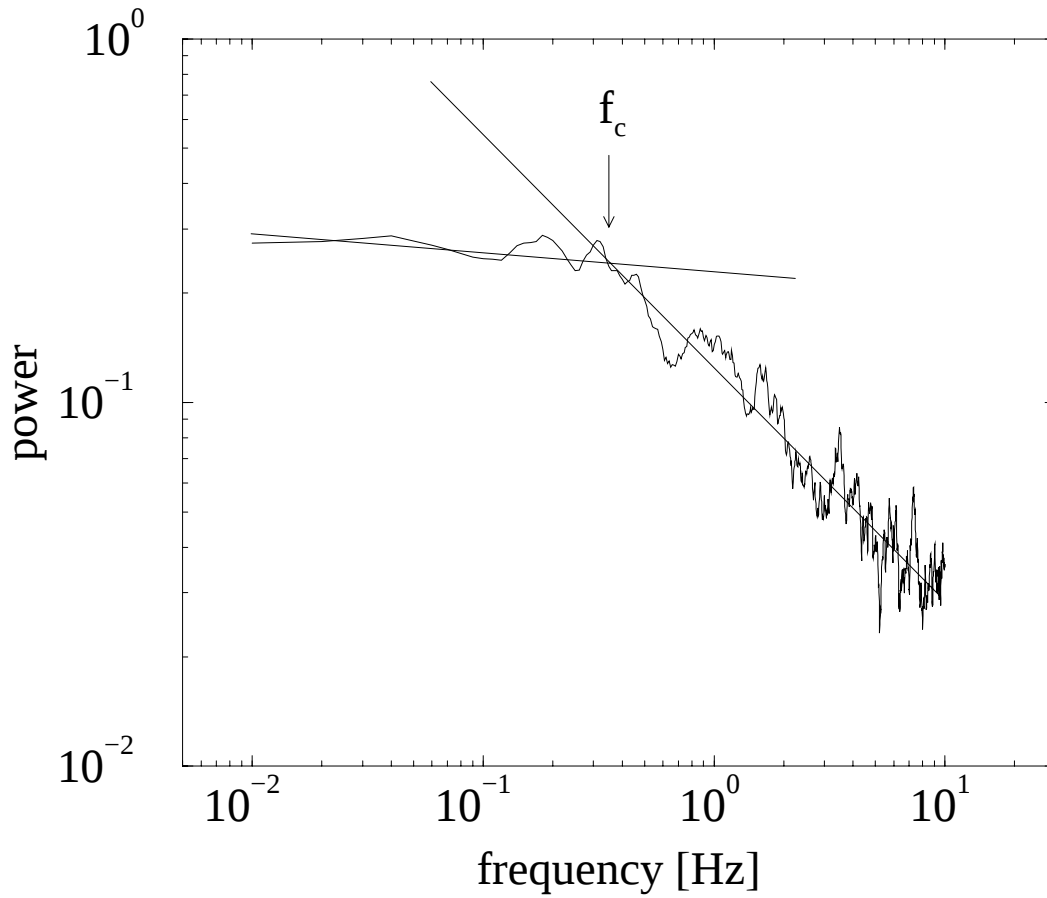


Abbildung 3.3: Frequenzspektrum von Inklinationsbewegungen des Scapus (exemplarisch ausgewähltes Tier). Die doppelt-logarithmische Darstellung zeigt eine nahezu flache Region im Frequenzbereich unterhalb einer Eckfrequenz f_c . Oberhalb dieser Eckfrequenz fällt die Energie logarithmisch ab. (Azimutbewegungen haben ein Spektrum gleicher Form. Sie sind nur aufgrund der höheren Energie vertikal verschoben.)

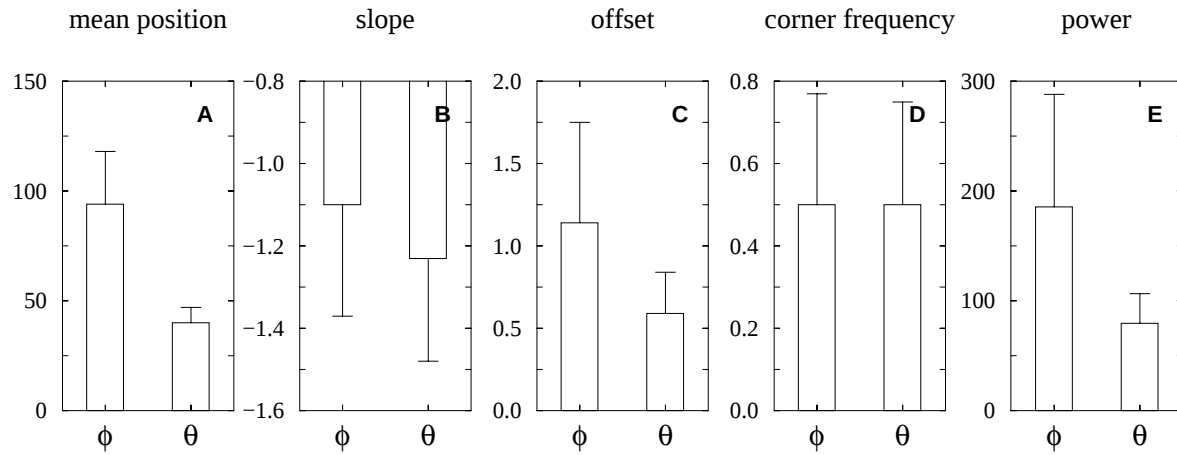


Abbildung 3.4: Antennenposition und Parameter des Frequenzspektrums spontaner Scapusbewegungen ($\bar{x} \pm \text{SD}$, $n = 10$). **A:** mittlere Scapusstellung in °; **B:** mittlere Steigung der approximierten Asymptote des Fourierpektrums; **C:** mittlere Energie im niederfrequenten Bereich ($< 0,1$ Hz); **D:** mittlere Eckfrequenzen in Hz; **E:** Gesamtenergie des Fourierpektrums. Gesamtenergie, Steigung und Offset sind dimensionslos.

logarithmischen Darstellung wider. Bei Azimutbewegungen ist α im Mittel $-1,11 \pm 0,27$ bei Inklinationsbewegungen $-1,23 \pm 0,25$.

Die Eckfrequenz f_c liegt bei beiden Dimensionen bei 0,5 Hz mit einer Standardabweichung von 0,27 für Azimut- und 0,25 für Inklinationsbewegungen.

Die Gesamtenergie der Spontanbewegungen beträgt $185,8 \pm 102,1$ bei Azimut- und $79,8 \pm 26,8$ bei Inklinationsbewegungen

Ein Problem, das sich bei den Analysen ergibt, liegt darin, daß die Zeitreihen der Antennenbewegung nicht stationär sind. Mittelwert und Streuung der Position variieren stark über die Zeit (Abb. 3.2). Die Fourier-Spektren sind stark dominiert durch die gelegentlichen schnellen großräumigen Bewegungen.

Eine Methode, die Dominanz dieser Bewegungen zu reduzieren, ist, die Meßwerte der Zeitreihe zu logarithmieren (s. S. 2.6.1). Dies wurde exemplarisch für einzelne Tiere durchgeführt. Die Form der Frequenzspektren unterscheidet sich jedoch nur marginal von der der untransformierten Zeitreihen, so daß dieser Ansatz nicht weiter verfolgt wurde.

Betrachtet man die Entwicklung der Antennenbewegungen über einen längeren Zeitraum (15 min), so ist zu beobachten, daß sich Phasen starker mit solchen geringerer Aktivität abwechseln. In Abb. 3.5 ist dargestellt, wie sich das Fourierpektrum über die Zeit ändert. Insbesondere im niederfrequenten Bereich $< f_c$ alternieren Epochen hoher Energie in einem etwa 2-minütigen Rhythmus mit Epochen geringer Energie.

Einen Schnitt durch die Abb. 3.5 links (Azimut) auf Höhe der 0,1 Hz-Frequenz stellt die Abb. 3.6 dar. In Abb. 3.6(a) ist die Entwicklung der Energie bei 0,1 Hz aufgetragen. Die periodischen Schwankungen verdeutlicht die Autokorrelation der Energie bei 0,1 Hz (Abb. 3.6(b)). Die Periode liegt bei diesem Tier etwa bei 160 s. Vergleicht man verschiedene Tiere, so sind die Unterschiede zwischen starker und schwacher Aktivität unterschiedlich stark ausgeprägt. Die Periodendauern liegen in der Regel zwischen ein

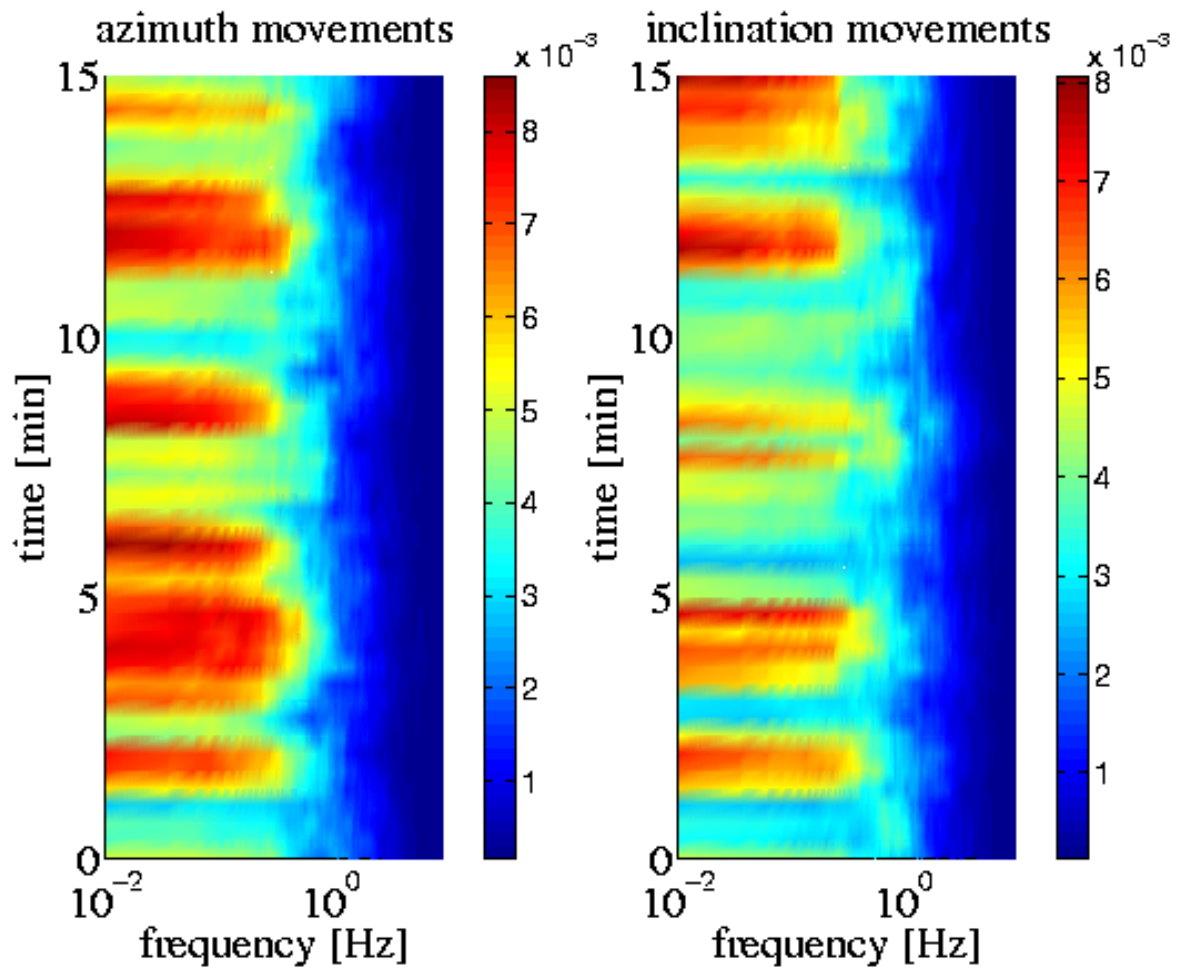


Abbildung 3.5: Entwicklung des Frequenzspektrums von Antennenbewegungen über die Zeit (links Azimut-, rechts Inklinationsbewegungen) bei einem ausgewählten Tier. Die (dimensionslose) Energie ist linear skaliert farbcodiert. Deutlich werden die regelmäßigen Schwankungen im Frequenzbereich < 1 Hz mit einer Periode von etwa 2 min.

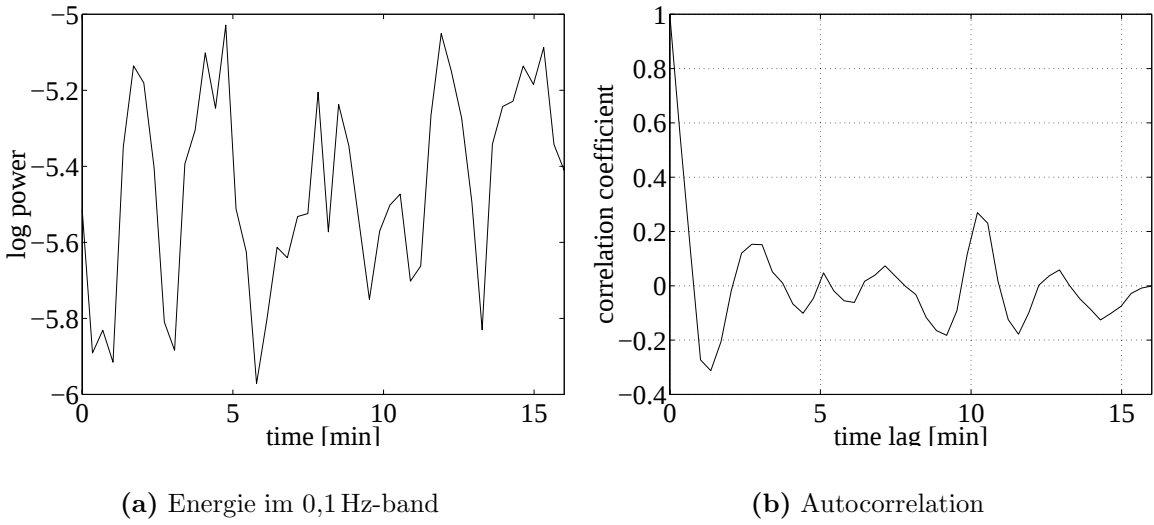


Abbildung 3.6: (a) Entwicklung der Energie im 0,1 Hz-Band des Frequenzspektrums von Azimutbewegungen (Schnitt durch die Abb. 3.5 links). (b) Autokorrelationsfunktion der in (a) dargestellten Zeitreihe.

und drei Minuten.

3.2.2 Hochgeschwindigkeitsaufnahmen der Scapusbewegungen

Standard-Videosysteme erlauben nur eine Bildfrequenzrate von 25 Bildern/s. Selbst bei Halbbildauswertung lassen sich daher nur Frequenzspektren bis 20 Hz ermitteln. Um zu untersuchen, inwieweit höhere Frequenzen in den Antennenbewegungen der Honigbiene auftreten, wurden diese mit einer Highspeed-Videokamera aufgezeichnet (s. Abschnitt 2.6.3).

Die Videoanalyse lieferte Zeitreihen der Antennenstellungen mit einer Auflösung von 200 Hz, mit anschließender Fouriertransformation wurden die Anteile der Frequenzen bis maximal 100 Hz bestimmt. Abb. 3.7 zeigt einen Ausschnitt (10 bis 100 Hz) der Frequenzspektren von sechs Tieren. Es wird deutlich, daß auch in diesem Frequenzbereich keine dominanten Frequenzen herausragen. Zur Analyse der Antennenbewegungen der Honigbiene sind also Videoaufnahmen mit der gewöhnlichen Frequenz von 25 Hz ausreichend.

3.2.3 Effekt der Stimulation mit Saccharoselösung auf die Scapusbewegungen

Mittlere Scapusstellung

Ungereizte Bienen bewegen ihren Scapus im Mittel lateral über dem ipsilateralen Komplexauge (Azimutwinkel $\phi = 92 \pm 22^\circ$) leicht von der Kopfkapsel abgewinkelt (Inklinationswinkel $\theta = 41 \pm 3^\circ$) ($n = 21$).

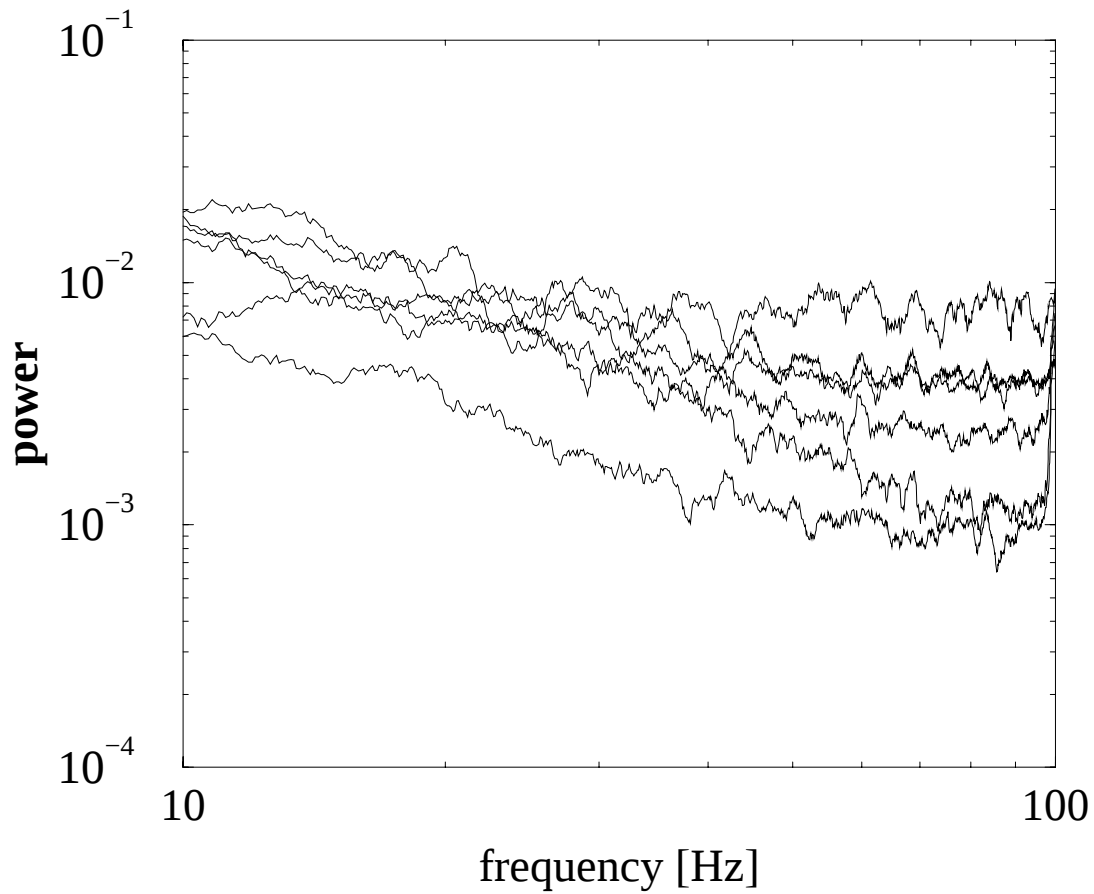


Abbildung 3.7: Ausschnitt der Frequenzspektren von mit einer Hochgeschwindigkeitskamera (200 Bilder/s) aufgenommenen Antennenbewegungen (Azimutbewegungen des Scapus) von sechs Tieren im Intervall von 10 bis 100 Hz.

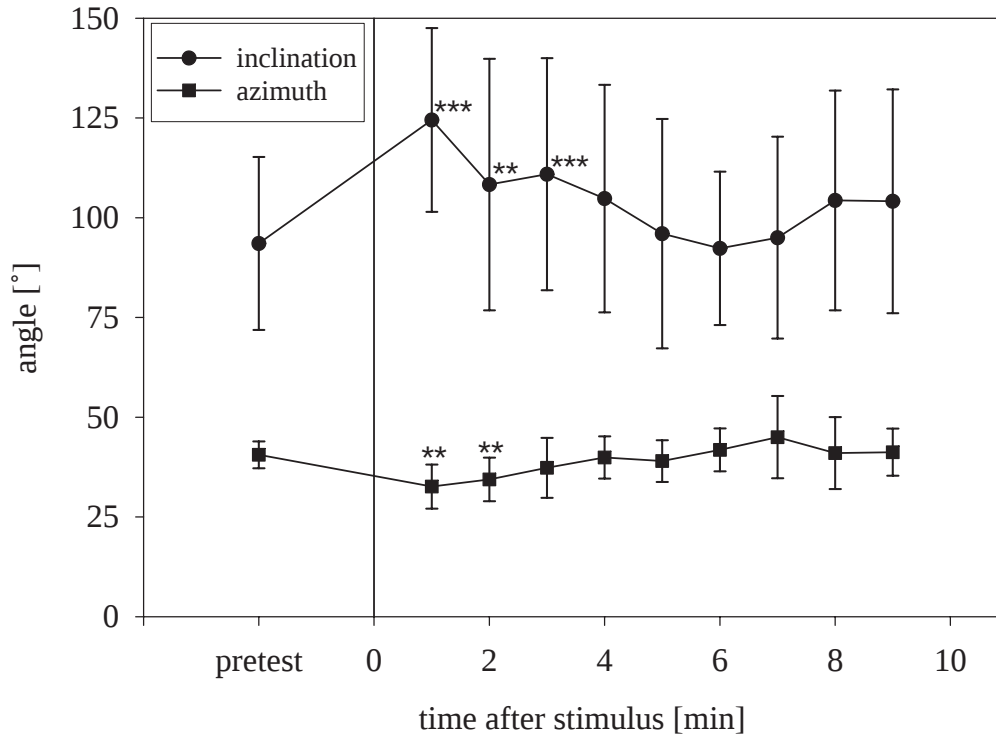


Abbildung 3.8: Einfluß der Saccharosereizung auf die mittlere Scapusstellung. Dargestellt ist die mittlere Scapusstellung im ungereizten Tier (*pretest*) sowie der Zeitverlauf der Scapusstellung (obere Spur Inklinations-, untere Azimutwinkel) in den ersten 10 Minuten nach Saccharosestimulation ($\bar{x} \pm \text{SD}$, $n = 10$, ***: $p < 0,001$, **: $p < 0,01$ (gepaarter zweiseitiger t-Test, Vergleich gegen den Vortest))

Direkt nach der Reizung mit Saccharoselösung an beiden Antennen und der Proboscis werden die Antennen für kurze Zeit nach ventral, der Richtung des Reizes, gehalten. Bereits nach wenigen Sekunden treten wieder großräumige Bewegungen auf, tendenziell wird jedoch der ventrale Bereich bevorzugt. Das ist in Abb. 3.8 dargestellt. Die mittlere Stellungsänderung ($\delta\phi = 40^\circ$) im Azimutwinkel unterscheidet sich in der ersten Minute nach Reizung hochsignifikant vom Vortest. ($p < 0,001$, t-Test, $n = 10$). Die reizinduzierte Änderung hält über drei Minuten an und geht dann langsam in der fünften Minute auf das Ausgangsniveau zurück.

Gleiches gilt für den mittleren Inklinationswinkel. In den ersten zwei Minuten nach der Saccharosestimulation wird die Antenne weniger nach frontal gestreckt, stattdessen liegt sie vermehrt auf der Kopfkapsel auf ($\delta\theta = 7^\circ$). Der Effekt ist hochsignifikant im Vergleich zum Vortest ($p < 0,01$, zweiseitiger t-Test, $n = 10$).

Gesamtenergie der Scapusbewegung

Die Gesamtenergie spontaner Scapusbewegungen schwankt zwischen den einzelnen Tieren erheblich. Bei Inklinationsbewegungen liegt sie im Mittel bei 80 mit einer Standardabweichung von 25 (dimensionslos), bei Azimutbewegungen 191 ± 92 ($n = 10$).

Die Stimulation mit Saccharoselösung führt sehr kurzzeitig zu Zitterbewegungen geringer Amplitude, bei denen die Antennen zur Reizquelle gehalten werden. Das spiegelt sich in der Gesamtenergie jedoch nicht wider (Abb. 3.9(a)). Zwar ist in der fünften Minute nach der Stimulation bei Inklinationsbewegungen eine leichte Verringerung der Gesamtenergie auf ca. 90 % zu messen, diese geht aber in den großen Streuungen unter.

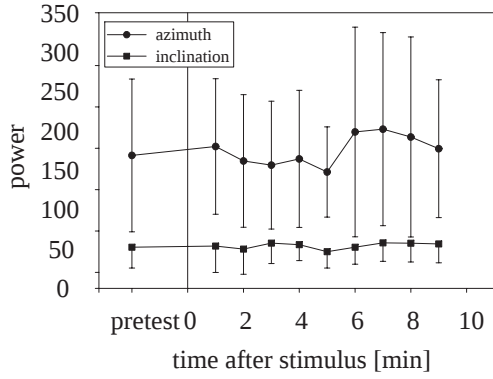
Form des Frequenzspektrums

Wie bereits in Abschnitt 3.2.1 dargelegt, zeigt das Frequenzspektrum spontaner Scapusbewegungen keine Resonanzfrequenzen, sondern erinnert in seiner Form an den Frequenzgang eines Tiefpaßfilters erster Ordnung, der sich durch drei Parameter charakterisieren läßt: die Eckfrequenz f_c , den Verstärkungsfaktor (hier die Energie oberhalb f_c) und die Steilheit, mit der Frequenzen jenseits dieser Eckfrequenz gedämpft werden (hier die Steilheit des Abfalls des Frequenzspektrums jenseits f_c).

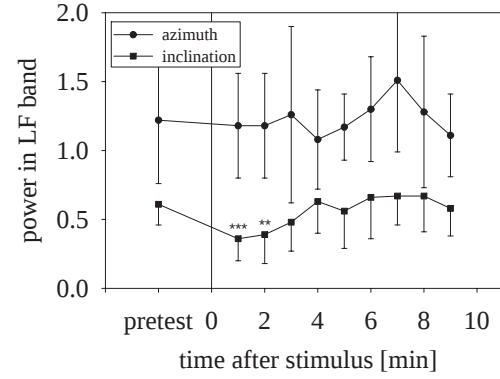
Der Einfluß der Reizung beider Antennen und der Proboscis mit Saccharoselösung auf die Dynamik wurde anhand dieser Parameter quantifiziert. Den zeitlichen Verlauf des Saccharoseeffekts zeigt Abb. 3.9.

Die mittlere Energie im niederfrequenten Band unterhalb der Eckfrequenz wird durch Saccharosereizung bei den Azimutbewegungen nicht signifikant beeinflusst. Bei Inklinationsbewegungen hingegen kommt es in der ersten Minute nach dem Reiz zu einer deutlichen Reduktion auf etwa 50 % des Ausgangsniveaus (Abb. 3.9(b)). Bereits in der zweiten Minute nach dem Reiz wird der Effekt schwächer, bis nach ca. vier Minuten das Niveau des Vortests erreicht wurde. Die genannten Effekte sind statistisch gut absicherbar (gepaarter zweiseitiger t-Test).

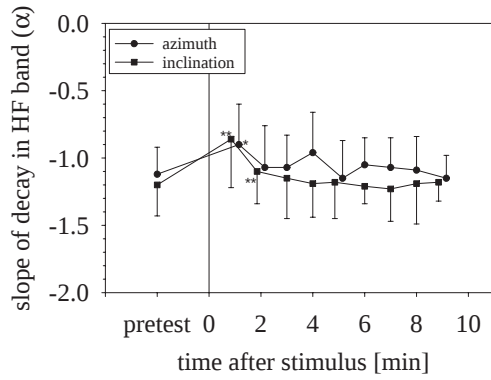
Die Eckfrequenzen f_c von Azimut- und Inklinationsbewegungen ungereizter Tiere liegen mit $0,51 \pm 0,13$ Hz resp. $0,48 \pm 0,18$ Hz nah beieinander (Abb. 3.9(d)). Die Stimulation mit Saccharoselösung hat bei Inklinationsbewegungen auf diesen Parameter keinen signifikanten Einfluß. Bei Azimutbewegungen wird die Eckfrequenz in der er-



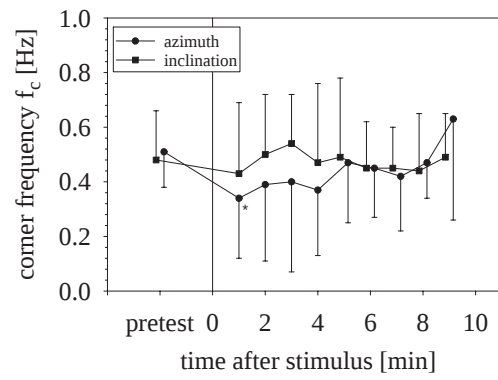
(a) Gesamtenergie



(b) Mittlere Energie im LF-Band



(c) Steilheit des Abfalls im HF-Band



(d) Eckfrequenz

Abbildung 3.9: Einfluß der Saccharosereizung auf die Parameter des Frequenzspektrums der Scapusbewegungen (●: Inklinationsbewegungen, ■: Azimutbewegungen). (a) Gesamtenergie; (b) Mittlere Energie im Frequenzbereich $< 0,1$ Hz; (c) Steilheit des Energieabfalls im Frequenzbereich > 1 Hz; (d) Eckfrequenz. Der Wert des Vortests (*pretest*) ist das Mittel von 10 min. ($\bar{x} \pm SD$, $n = 8$, ***: $p < 0,001$, **: $p < 0,01$, *: $p < 0,05$ (gepaarter zweiseitiger t-Test, Vergleich gegen den Vortest)) Für Erläuterungen siehe Text und Abb. 3.3

sten Minute nach dem Reiz auf 0,34 Hz reduziert. Der Effekt ist signifikant (gepaarter zweiseitiger t-Test). Die Verminderung der Eckfrequenz hält über etwa vier Minuten an.

Jenseits der Eckfrequenz f_c fällt das Frequenzspektrum proportional zu f^α ($\alpha < 0$) ab. In der doppelt-logarithmischen Darstellung (s. z. B. Abb. 3.3) ist α die Steigung der Approximationsgeraden. Ist α sehr negativ, fällt das Frequenzspektrum steil ab, hohe Frequenzen treten also mit geringerer Energie auf als bei nur schwach negativem α . Die Saccharose-induzierte Änderung von α ist in Abb. 3.9(c) dargestellt. Im Vortest unterscheidet sich α für Azimut- und Inklinationsbewegungen nur unwesentlich. In beiden Fällen führt der Saccharosestimulus zu einer Erhöhung von α , die Approximationsgerade fällt also flacher ab. Der Effekt hält bei den Inklinationsbewegungen ein bis zwei, bei Azimutbewegungen nur eine Minute an. Die Unterschiede zum Vortest sind statistisch signifikant (Azimutbewegungen) bis hochsignifikant (Inklinationsbewegungen) (gepaarter zweiseitiger t-Test).

Die Effekte der Saccharosestimulation auf das Frequenzspektrum der Scapusbewegung in der ersten Minute nach dem Reiz sind in Abb. 3.10 schematisch zusammengefaßt. Die Ermittlung der Asymptoten (s. Abschnitt 2.6.2, S. 20) erfolgte auf der Basis der gemittelten Parameter a , α und f_c der acht getesteten Tiere. Die horizontale Asymptote (a) ist konstant bis zur Eckfrequenz f_c , die abfallende Asymptote jenseits f_c folgt der Funktion $p = a_h f^\alpha$, wobei a_h so gewählt wurde, daß sich beide Asymptoten bei f_c schneiden.

Statistisch signifikante Änderungen nach einem Saccharosereiz ($p < 0,05$ gepaarter zweiseitiger t-Test, Vergleich der Messung nach dem Reiz gegen den Vortest, $n = 8$) ergeben sich bei folgenden Regressionsparametern (s. Pfeile in Abb. 3.10):

- Die Energie niederfrequenter Inklinationsbewegungen a vermindert sich nach dem Saccharosereiz von $0,61 \pm 0,15$ auf $0,36 \pm 0,16$, also auf 59 % des Ausgangsniveaus.
- Die Eckfrequenz f_c der Azimutbewegungen vermindert sich von $0,51 \pm 0,13$ Hz auf $0,34 \pm 0,22$ Hz.
- Die Steilheit, mit der die Energie in Frequenzbereich $> f_c$ abfällt, ändert sich bei Inklinationsbewegungen von $-1,2 \pm 0,23$ auf $-0,86 \pm 0,36$ (72 %) und bei Azimutbewegungen von $-1,12 \pm 0,2$ auf $-0,9 \pm 0,3$ (80 %), das Spektrum fällt also nach dem Reiz *flacher* ab.

Tendenziell führt der Saccharosereiz also zu verminderten langsamen, großamplitudigen Streckungen des Scapus nach frontal ($a(\theta)$). Es treten vermehrt kleinamplitudige höherfrequente Bewegungen („Zittern“) auf. Letzteres wird besonders in der linear-logarithmischen Darstellung (Abb. 3.10 **B**) deutlich.

3.2.4 Effekte präsumptiver Neuromodulatoren auf die Scapusbewegungen

Stimulation der Bienen an Antennen und Proboscis mit Saccharoselösung hat einen deutliche meßbaren Effekt auf die Scapusbewegungen. Insbesondere die mittlere Scapusstellung und die Form des Frequenzspektrums werden beeinflusst. Der durch einen

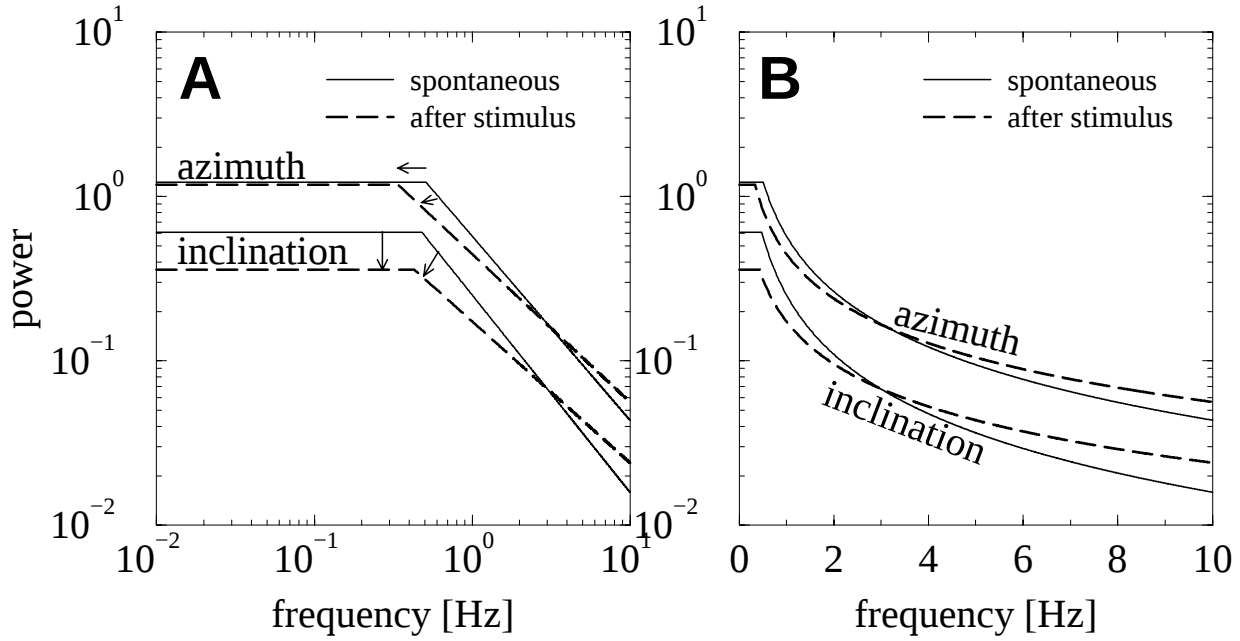


Abbildung 3.10: Schematische Darstellung des Effekts der Stimulation mit Saccharoselösung auf das Frequenzspektrum der Scapusbewegungen. Die Kurven sind das Ergebnis der Berechnung der Asymptoten auf der Basis der gemittelten Werte von a , α und f_c *vor* (durchgezogene Linie) und in der ersten Minute *nach* der Stimulation mit Saccharose (gestrichelte Linie). A: doppelt-logarithmische Skalierung, B: Frequenzachse linear skaliert (logarithmische Skalierung staucht den höherfrequenten Bereich). Pfeile in A indizieren signifikante Effekte ($p < 0,05$, gepaarter zweiseitiger t-Test). Für Erläuterungen siehe Text.

Dimension	Parameter			
	Gesamtenergie	a	f_c [Hz]	α
Azimutwinkel	$44,0 \pm 14,2$	$0,35 \pm 0,08$	$0,44 \pm 0,16$	$-1,21 \pm 0,22$
Inklinationswinkel	$22,3 \pm 6,9$	$0,19 \pm 0,07$	$0,38 \pm 0,15$	$-1,17 \pm 0,15$

Tabelle 3.2: Eigenschaften des Frequenzspektrums aller Tiere des Experiments zur Modulation vor der Injektion ($\bar{x} \pm \text{SD}$, $n = 27$)

Saccharosereiz ausgelöste erhöhte Erregungszustand des Tieres wird vermutlich durch Octopamin vermittelt (s. 1.5, S. 6). Octopamin ist bei einer Reihe bekannter Verhaltensweisen der Biene und anderer Insekten ein Neuromodulator, der bei erhöhten Erregungszuständen ausgeschüttet wird. In verschiedenen verhaltenspharmakologischen Untersuchungen wirkt Serotonin entgegengesetzt zum Effekt von Octopamin (funktioneller Antagonismus, Erber et al. 1993a). Durch lokale Injektion geringer Mengen Serotonin bzw. Octopamin in den Dorsallobus, das Neuropil, in dem die dendritischen Projektionen der Motoneurone des antennenmotorischen Systems liegen, wurde untersucht, inwieweit diese biogenen Amine die Scapusbewegungen der Biene beeinflussen.

Mittlere Scapusstellung

Im Vortest (Mittel über drei 10 min-Abschnitte und alle Gruppen) befindet sich der Scapus im Mittel in der Azimutstellung $\phi = 81,2 \pm 16,3^\circ$ und der Inklinationsstellung $\theta = 32,9 \pm 5,7^\circ$ ($n = 27$), d. h. der Scapus ist etwa lateral leicht von der Kopfkapsel abgehoben. Zur Erinnerung: Diese Angaben sind mittlere Stellungen. Die Antenne wird ständig in weiten Räumen bewegt. Signifikante Unterschiede zwischen den Gruppen gibt es nicht (Abb. 3.11, *pretest*).

Den Einfluß der untersuchten biogenen Amine auf die mittlere Scapusstellung zeigt Abb. 3.11. Es wird deutlich, daß während des gesamten untersuchten Zeitraums von 30 min bei allen Gruppen nach der Pharmakainjektion kein signifikanter Unterschied zum Vortest meßbar ist. Alle beobachtbaren Veränderungen der Scapusstellung sind gering im Vergleich zur Streuung. Auch ein Vergleich beider biogener Amine mit der Kontrolle zeigt keinen Unterschied.

Frequenzspektrum

Tabelle 3.2 faßt die Mittelwerte aller untersuchten Parameter des Frequenzspektrums über alle Tiere aller Gruppen vor der Behandlung zusammen.

Wie bei der mittleren Scapusstellung unterscheiden sich auch die untersuchten Parameter des Frequenzspektrums zwischen den Versuchsgruppen nicht signifikant (Abb. 3.12-3.13, *pretest*).

Die Abb. 3.12-3.13 zeigen den Zeitverlauf der Wirkung von Serotonin und Octopamin auf das Frequenzspektrum in den ersten dreißig Minuten nach der Injektion in den Dorsallobus. Die Gesamtenergie von Azimut- und Inklinationsbewegungen des Scapus (Abb. 3.12(a)) wird weder durch Serotonin noch durch Octopamin im untersuchten

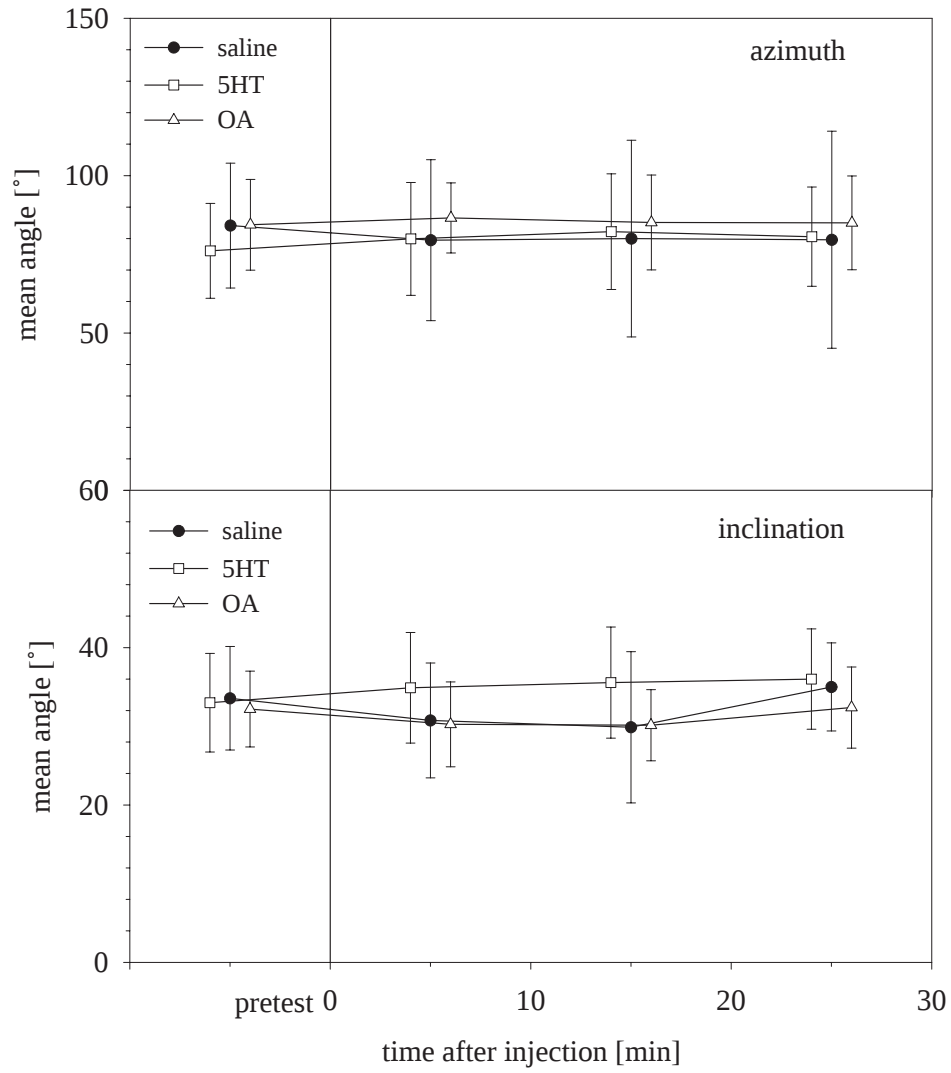
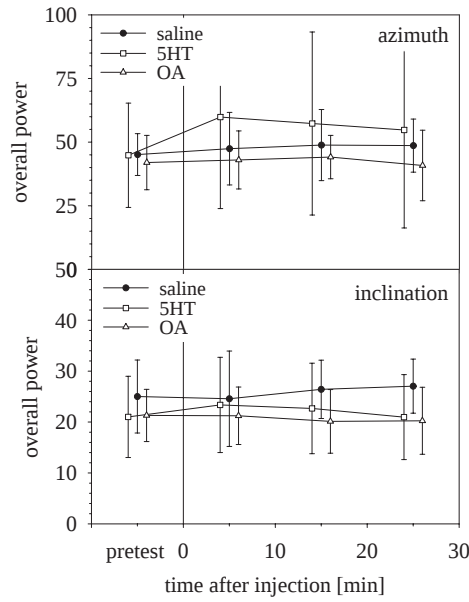
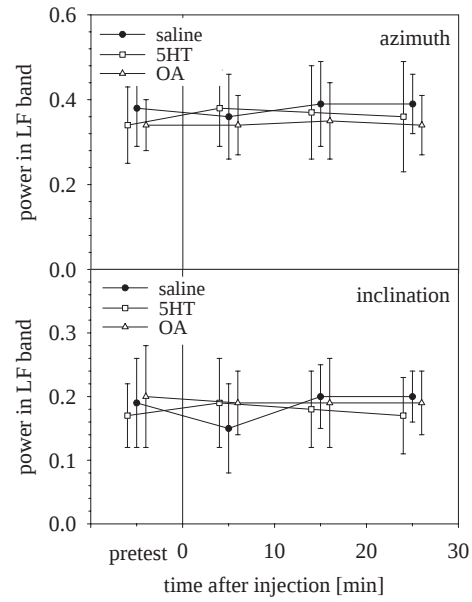


Abbildung 3.11: Einfluß von Serotonin (5HT) und Octopamin (OA) auf die mittlere Scapusstellung. Dargestellt sind die gemittelten Winkelstellungen (oben Azimut-, unten Inklinationswinkel) des 30minütigen Vorlaufs (*pretest*) und der drei 10minütigen Epochen nach der lokalen Injektion von 10^{-5} M Serotonin (5HT, $\square$), 10^{-5} M Octopamin (OA, $\triangle$) und Ringer-Kontrollen (saline, $\bullet$) ($\bar{x} \pm \text{SD}$).

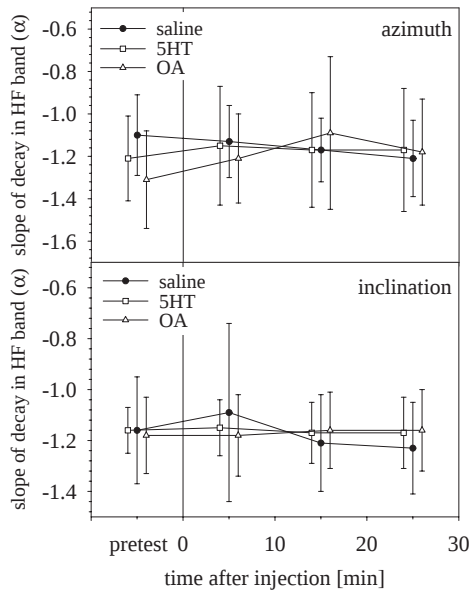


(a) Gesamtenergie

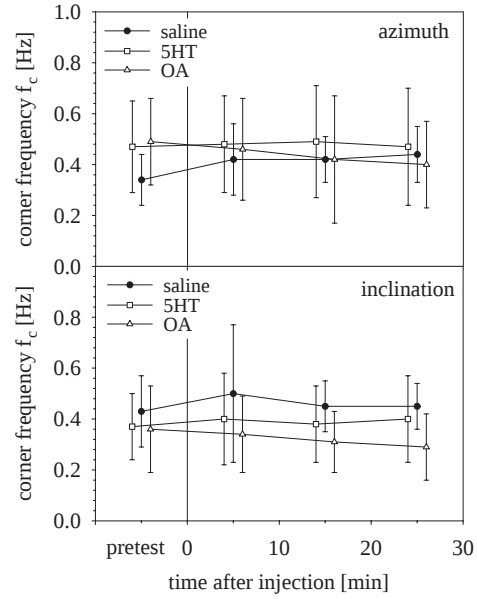


(b) Mittlere Energie im LF-Band (a)

Abbildung 3.12: Einfluß von Serotonin (5HT) und Octopamin (OA) auf die Gesamtenergie und die mittlere Energie im LF-Band des Frequenzspektrums der Scapusbewegungen (obere Teilgraphiken: Azimutbewegungen, untere Teilgraphiken: Inklinationsbewegungen). Dargestellt sind die gemittelten Meßwerte des 30minütigen Vorlaufs (*pretest*) und der drei 10minütigen Epochen nach der lokalen Injektion von 10^{-5} M Serotonin (5HT, $\square$ ($n = 9$)), 10^{-5} M Octopamin (OA, $\triangle$ ($n = 9$)) und Ringer-Kontrollen (saline, $\bullet$ ($n = 8$)).



(a) Steilheit des Abfalls im HF-Band (α)



(b) Eckfrequenz (f_c)

Abbildung 3.13: Einfluß von Serotonin (5HT) und Octopamin (OA) auf die Steilheit des Abfalls im HF-Band (α) und die Eckfrequenz f_c der Scapusbewegungen (obere Teilgraphiken: Azimutbewegungen, untere Teilgraphiken: Inklinationsbewegungen). Dargestellt sind die gemittelten Meßwerte des 30minütigen Vorlaufs (*pretest*) und der drei 10minütigen Epochen nach der lokalen Injektion von 10^{-5} M Serotonin (5HT, □ ($n = 9$)), 10^{-5} M Octopamin (OA, △ ($n = 9$)) und Ringer-Kontrollen (saline, ● ($n = 8$)).

Zeitraum beeinflusst. Die durch Serotonininjektion induzierte scheinbare Erhöhung der Gesamtenergie von Azimutbewegungen (Abb. 3.12(a) oben $\square$) wird durch einen Ausreißer verursacht und ist daher statistisch nicht signifikant, was sich auch in den sehr großen Streuungen ausdrückt.

Auch die mittlere Energie im Frequenzband $< 0,1$ Hz (LF band) (a) (Abb. 3.12(b)), die Eckfrequenz f_c (Abb. 3.13(b)) und die Steilheit, mit der das Frequenzspektrum jenseits der Eckfrequenz abfällt (α), (Abb. 3.13(a)) werden durch die biogenen Amine Serotonin und Octopamin im untersuchten Zeitraum nicht signifikant beeinflusst. Die beobachtbaren Mittelwertunterschiede sind gering im Vergleich zur Streuung.

3.3 Muskelaktivität und Scapusbewegungen

Für ein Modell der motorischen Steuerung ist es notwendig, den Zusammenhang zwischen Muskelaktivität und der daraus resultierenden Bewegung zu quantifizieren. Dazu wurden simultan extrazelluläre Ableitungen des MSS und Bewegungen der Antenne aufgezeichnet (s. Abschnitt 2.4, S. 14). Anhand ihrer Form konnten die einzelnen Muskelpotentiale verschiedenen Muskeln zugeordnet werden. Um welchen Muskel es sich jeweils handelte, ergab sich aus der mittleren Bewegungsrichtung der Antenne infolge der Muskelpotentiale.

Für jedes Muskelpotential wurde der Verlauf der Antennenbewegung während der nächsten 250 ms ermittelt. Die durch Muskelpotentiale im MSS ausgelösten Bewegungen im Scapusgelenk setzen mit deutlich geringerer Latenz ein (ca. 20–40 ms) als die Bewegungen im Pedicellusgelenk (s. S. 55). Wie bei diesen ist maximale Kontraktion nach ca. 150 ms erreicht, danach setzt, wenn nicht weitere Muskelpotentiale folgen, die Relaxation ein.

Als günstige Kriterien zur Diskrimination verschiedener Muskelpotentialklassen erwiesen sich die Peak-Amplitude (maximale Spannung), die Spike-Höhe (Amplitudendifferenz zwischen minimaler und maximaler Amplitude) und die Spike-Breite (Zeitdifferenz zwischen den Zeitpunkten maximaler und minimaler Amplitude). Mit diesen Parametern ließen sich die Signale in der Regel eindeutig bestimmten Clustern zuordnen. Muskelpotentiale, bei denen eine eindeutige Zuordnung nicht möglich war, wurden nicht in die Auswertung einbezogen.

Die mittlere Winkelgeschwindigkeit $\dot{\tau}$ der Scapusbewegung in den ersten 100 ms wurde nach folgender Gleichung ermittelt:

$$\dot{\tau} = 10 \cdot \sqrt{(\phi_{t_{100}} - \phi_{t_0})^2 + (\theta_{t_{100}} - \theta_{t_0})^2} \left[\frac{\text{mm}}{\text{s}} \right].$$

Dabei sind ϕ_{t_0} und θ_{t_0} Azimut- bzw. Inklinationswinkel zum Zeitpunkt des Eintretens des Muskelpotentials (t_0) und $\phi_{t_{100}}$ und $\theta_{t_{100}}$ die Winkel 100 ms *nach* dem Eintreten des Muskelpotentials (t_{100}). Muskelpotentiale, bei denen innerhalb eines Intervalls kleiner 100 ms ein neues Potential auftrat, wurden nicht in die Auswertung einbezogen.

Die einzelnen Signale wurden in Abhängigkeit von der Scapusstellung zum Zeitpunkt t_0 in Klassen eingeteilt. Der Bereich der Azimutwinkel ϕ wurde in 11 Klassen mit einer Breite von 20° unterteilt, der der Inklinationswinkel θ in 9 Klassen mit einer Breite von 10° . Die Geschwindigkeiten aller induzierten Bewegungen innerhalb jeder Klasse wurden gemittelt. Positionsklassen, in denen weniger als fünf Ereignisse auftraten, wurden

nicht in die weiteren Berechnungen (s.u.) einbezogen und tauchen auch nicht in den Abbildungen auf.

In der Abb. 3.14 ist für jeden Muskel die muskelpotential-induzierte Scapusbewegung innerhalb der ersten 100 ms in Abhängigkeit von der Antennenstellung dargestellt. Die Länge jedes Vektors repräsentiert die Geschwindigkeit der Bewegung, die Pfeilrichtung die Bewegungsrichtung des Scapus.

Trägt man die muskelpotential-induzierte Geschwindigkeit in Abhängigkeit von der Scapusstellung auf, wie dies für exemplarische Ableitungen des MSP in Abb. 3.15 dargestellt ist, so zeigt sich, daß sich die Positionsabhängigkeit durch eine Parabel der allgemeinen Form

$$\dot{\tau}(\phi, \theta) = y_0 + a\phi + b\theta + c\phi^2 + d\theta^2$$

annähern läßt. Dabei sind $\dot{\tau}$ die Scapusgeschwindigkeit, ϕ der Inklinations- und θ der Azimutwinkel der Scapusstellung (Abb. 3.16). Die mit dem *curve-fit*-Modul des Programms SigmaPlot ermittelten Parameter y_0, a, b, c und d sowie der Korrelationskoeffizient der Regression r^2 sind (über alle Ableitungen gemittelt) in Tabelle 3.3 zusammengefaßt und in Abb. 3.17 dargestellt.

Muskel	y_0	a	b	c	d	r^2	n
<i>A. dorsalis</i>	27,0	-0,63	-0,16	0,0047	0,0039	0,82	3
<i>A. ventralis</i>	54,2	-0,75	-0,31	0,0032	0,0061	0,55	5
<i>A. lateralis</i>	41,5	-0,51	-0,97	0,0034	0,0134	0,69	12
<i>Levator</i>	59,9	-0,78	-0,88	0,0038	0,0100	0,77	5

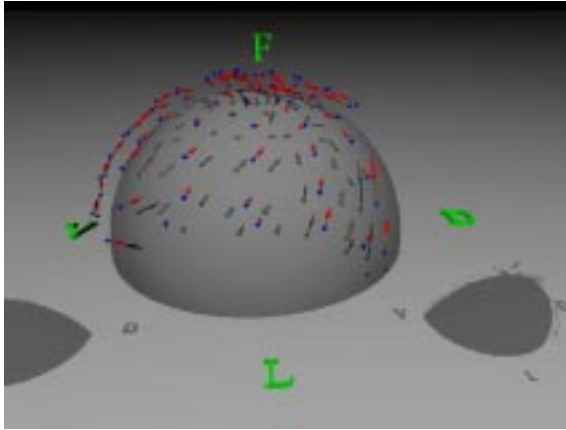
Tabelle 3.3: Parameter der Regressionsanalyse der muskelpotential-induzierten Scapusgeschwindigkeit für die Muskeln des MSS (Mittelwerte)

Zur Interpretation der Parameter des Paraboloids ist folgendes zu bemerken: y_0 verschiebt das Paraboloid in der Vertikalen, d.h. y_0 ist abhängig von den anderen Parametern in der Form, daß das Minimum der Funktion bei 0 mm/s liegt. y_0 korreliert daher auch mit a ($r^2 = -0,73, p < 0,001$), b ($r^2 = -0,45, p < 0,05$), c ($r^2 = -0,57, p < 0,01$) und d ($r^2 = -0,38, \text{n.s.}$).¹

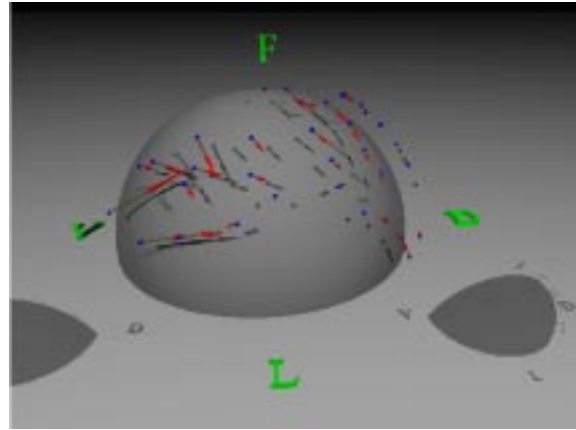
a bestimmt die lineare Abhängigkeit von ϕ , also der Inklination. Je kleiner a ($a < 0$), desto schneller sind Scapusbewegungen, wenn die Antenne ventral gerichtet ist. Gleichzeitig verschiebt a das Minimum des Paraboloids Richtung dorsal. a unterscheidet sich aber nicht signifikant bei den Muskeln des MSS.

b bestimmt die lineare Abhängigkeit vom Azimutwinkel θ . Je kleiner b ($b < 0$), desto schneller sind Scapusbewegungen wenn der Scapus auf der Kopfkapsel aufliegt. Umgekehrt sind Bewegungen mit nach frontal gerichteter Antenne langsam. Das Minimum des Paraboloids wird durch ein sehr kleines b nach frontal verschoben. Daher zeichnen sich der *A. dorsalis* und der *A. ventralis* durch ein b nahe Null aus, während beim *Levator* b signifikant kleiner ist als beim *A. dorsalis*. Beim *A. lateralis*, der ja auch auf die

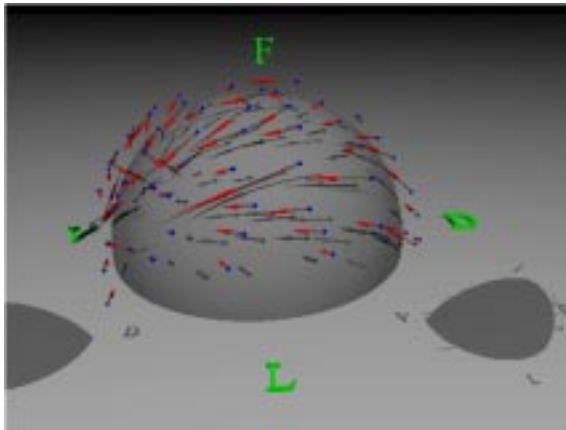
¹ r^2 ist der Korrelationskoeffizient der linearen Korrelation zwischen y_0 und dem jeweiligen Parameter der Regressionsfunktion.



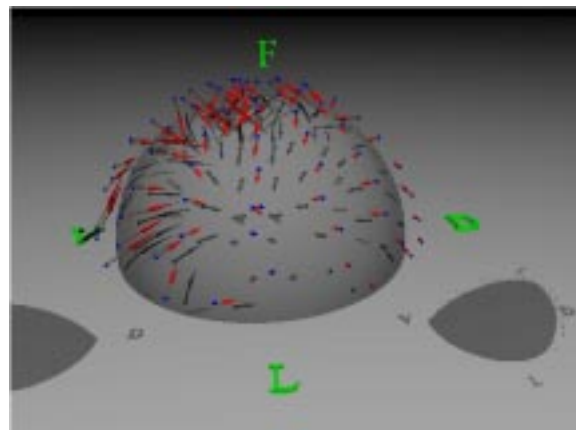
(a) Levator antennae



(b) Adductor dorsalis

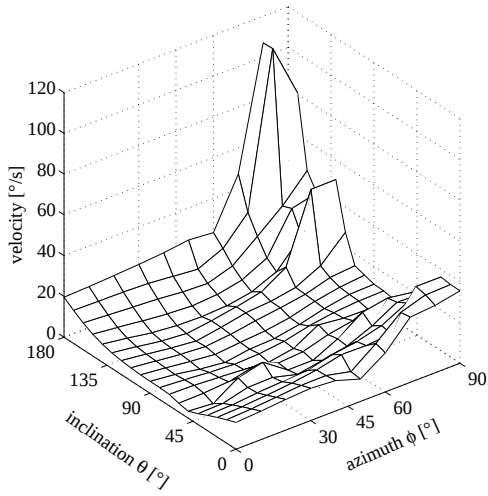


(c) Adductor ventralis

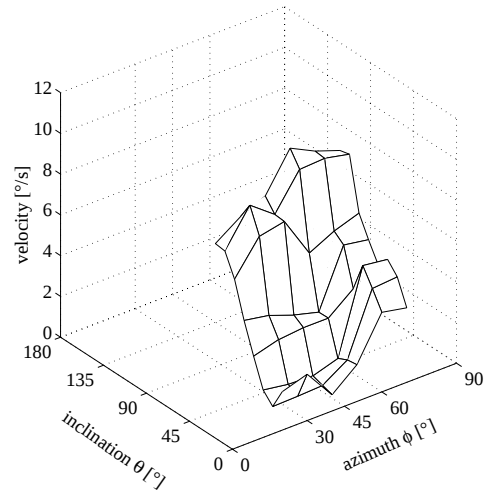


(d) Adductor lateralis

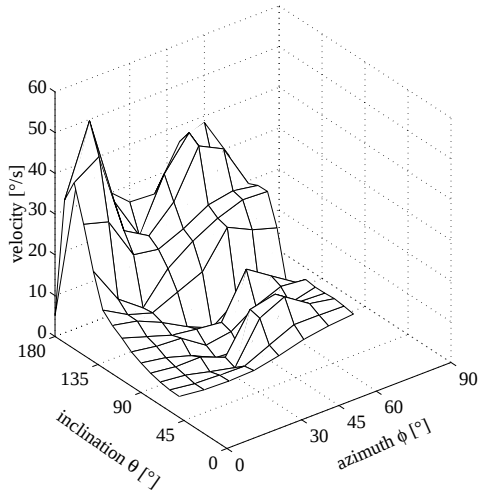
Abbildung 3.14: Richtung und Geschwindigkeit der muskelpotential-induzierten Scapusbewegung für die vier Muskeln des Scapussystems. Jeder Pfeil (Vektor) repräsentiert die Scapusbewegung innerhalb 100 ms nach Eintreten des Muskelpotentials. Ursprung des Vektors ist die Scapusstellung *vor* dem Muskelpotential, die Pfeilspitze zeigt die Stellung 100 ms *nach* dem Muskelpotential an. (**D**=dorsal, **V**=ventral, **L**=lateral, **F**=frontal)



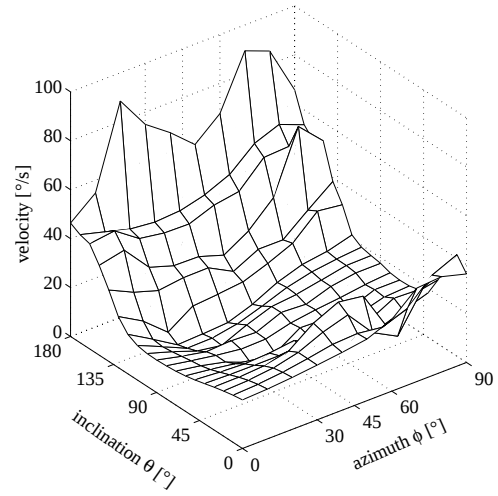
(a) Levator antennae



(b) Adductor dorsalis

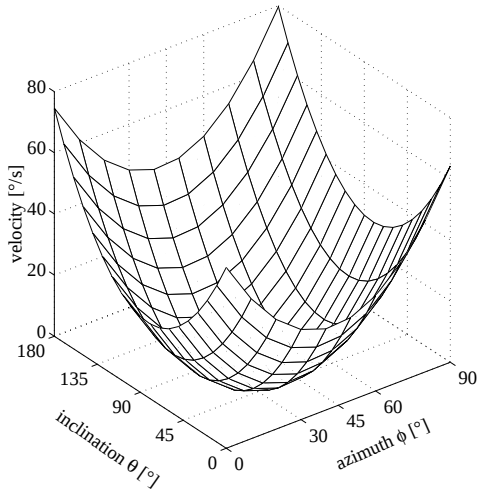


(c) Adductor ventralis

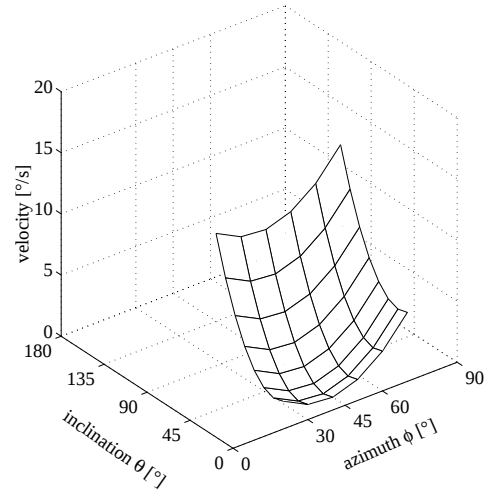


(d) Adductor lateralis

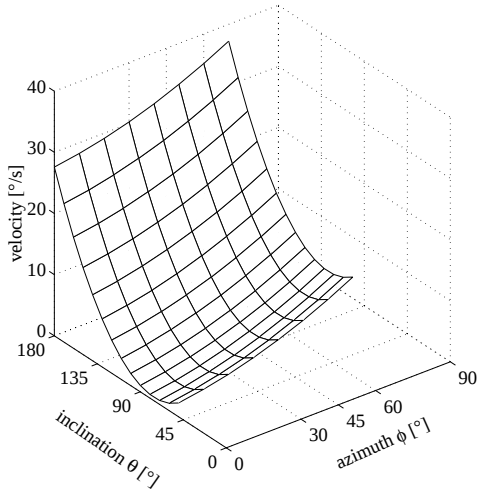
Abbildung 3.15: Abhängigkeit der muskelpotential-induzierten Scapusgeschwindigkeit von der Scapusstellung für die vier Muskeln des MSS. Exemplarisch ausgewählte Ableitungen.



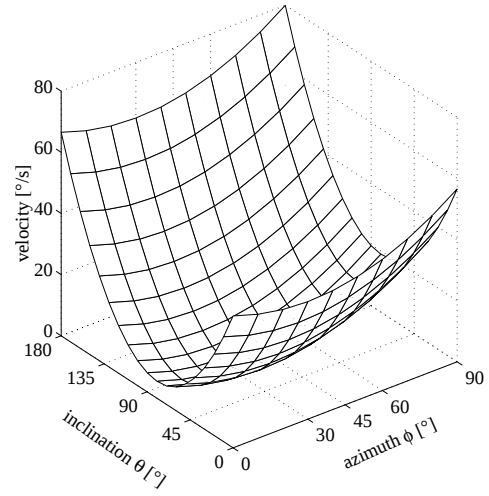
(a) Levator antennae



(b) Adductor dorsalis



(c) Adductor ventralis



(d) Adductor lateralis

Abbildung 3.16: Abhängigkeit der muskelpotential-induzierten Scapusgeschwindigkeit von der Scapusstellung. Regressionskurven (Paraboloide) zu Abb. 3.15.

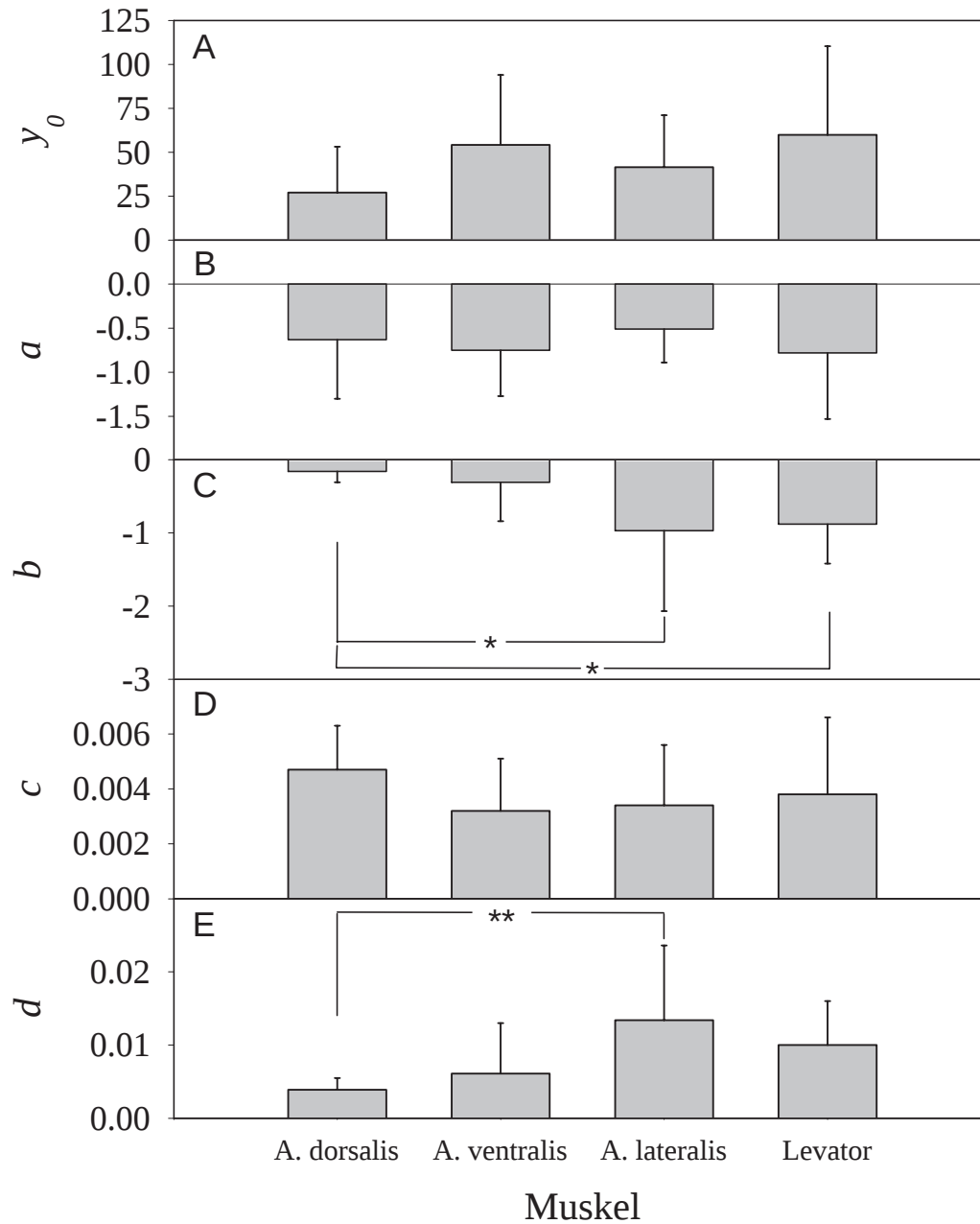


Abbildung 3.17: Graphische Darstellung der Parameter y_0 , a , b , c und d der Regressionsanalyse der Positionsabhängigkeit der muskelpotential-induzierten Scapusgeschwindigkeit (s.S. 45) für jeden der vier Muskeln des MSS ($\bar{x} \pm SD$). *: $p < 0,05$, **: $p < 0,01$ (zweiseitiger t-Test). Stichprobengröße s. Tab. 3.3.

Kopfkapsel zieht, wäre ein b in der Größenordnung der beiden Adductoren zu erwarten. Dies ist nicht der Fall. Hier wird aber der Einfluß des quadratischen Terms $d\theta^2$ durch ein großes d stark. Der lineare Anteil wird dadurch überdeckt.

c und d sind die Koeffizienten der quadratischen Terme des Paraboloids. Ihre Größe determiniert, wie sehr die Scapusgeschwindigkeit mit zunehmender Entfernung vom Minimum des Paraboloids, also der finalen Stellung bei maximaler Kontraktion des Muskels, steigt. Ist c groß und liegt die Stellung minimaler Geschwindigkeit im dorsalen Bereich, wie dies beim *A. dorsalis* der Fall ist, so treten bei Aktivität des Muskels bei ventraler Scapusstellung sehr schnelle Bewegungen auf. Entsprechend spiegelt das große d der Funktion für den *A. lateralis* schnelle Bewegungen bei nach frontal gestreckter Antenne wider. Hier unterscheidet sich der Muskel signifikant vom *A. dorsalis*.

c und d erscheinen auf den ersten Blick vernachlässigbar klein, so daß eine lineare Approximation nahe läge. Dies ist jedoch nicht der Fall, da erstens eine reine Ebenengleichung kein Minimum hat, was zur Modellierung der Positionsabhängigkeit der Scapusgeschwindigkeit nötig ist, und zweitens c und d als Koeffizienten quadratischer Terme durchaus den Kurvenverlauf deutlich beeinflussen.

Die Koeffizienten a und c sowie b und d korrelieren hochsignifikant miteinander ($p < 0,001$) ($r^2(ac) = -0,90$, $r^2(bd) = -0,96$).

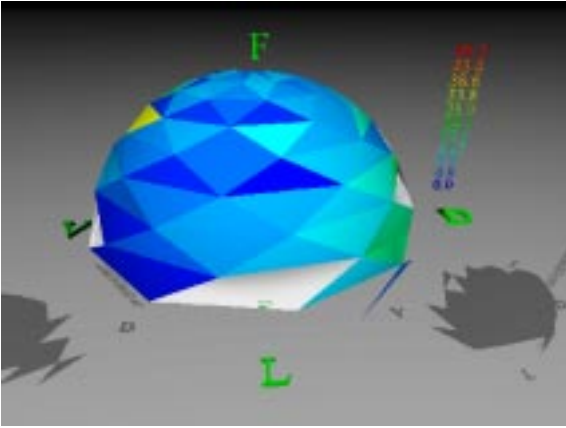
Neben dem Effekt einzelner Muskelpotentiale auf den Verlauf der Scapusbewegung wurde untersucht, wie groß die durchschnittliche Aktivität eines Muskels in Abhängigkeit von der Scapusstellung ist. Diese ist in Abb. 3.18 dargestellt.

In dieser Abbildung ist für jede der 99 Positionsklassen (11 Azimutklassen $\times$ 9 Inklinationsklassen) ein farbiges Dreieck auf der von den Scapusbewegungen beschriebenen Oberfläche einer Viertelkugel dargestellt. Der Mittelpunkt des Dreiecks entspricht der Mitte der Positionsklasse. Die Farbe repräsentiert die Muskelaktivität. An Positionen mit warmen Farben (gelb bis rot, siehe Skala rechts im Bild) hat der entsprechende Muskel eine hohe Aktivität, bei kalten Farben (blau) entsprechend geringer. Zur Farbcodierung siehe auch 2.4 auf Seite 17.

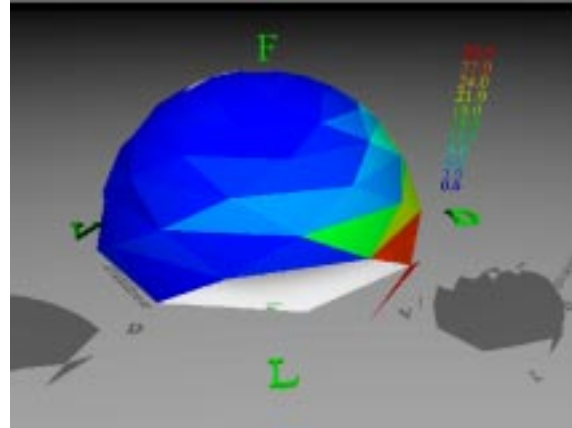
Beim *A. dorsalis* ist der Schwerpunkt der Aktivität bei dorsaler Stellung des Scapus zu beobachten. Erst bei Azimutwinkeln unter 50° zeigt sich nennenswerte Aktivität. Der *A. lateralis* hat einen wesentlich breiteren Aktivitätsbereich. Seine maximale Aktivität tritt etwa in der Scapusstellung auf, die der Stellung bei maximaler Kontraktion des Muskels entspricht (s. 3.1, Tabelle 3.1). Aber auch bei anderen Scapusstellungen treten z. T. sehr hohe Muskelaktivitäten auf. Wird im *A. ventralis* abgeleitet, ist der durch Scapusbewegungen erreichbare Bereich etwas eingeschränkt, vermutlich durch erhöhte Steifheit des MSS infolge des Plazierens der Elektrode. Dorsale und frontale Stellungen werden nicht mehr erreicht. Über den restlichen Bereich ist die Aktivität des *A. ventralis* mittelmäßig, die maximale Aktivität tritt bei Stellungen im ventral-frontalen Bereich auf. Der *Levator antennae* ist abseits des Bereiches maximaler Aktivität im frontal-ventralen Bereich nur gering aktiv. Seine maximale Aktivität von 48 Muskelpotentiale/s ist aber deutlich höher als die der anderen Muskeln des MSS (*A. dorsalis* 29, *A. ventralis* 27, *A. lateralis* 26 Muskelpotentiale/s).

In Abb. 3.19 ist der Zusammenhang zwischen der Scapusstellung und der Aktivität der Muskeln des MSS noch einmal verdeutlicht. Die Daten sind für alle Ableitungen eines jeden Muskels zusammengefaßt.

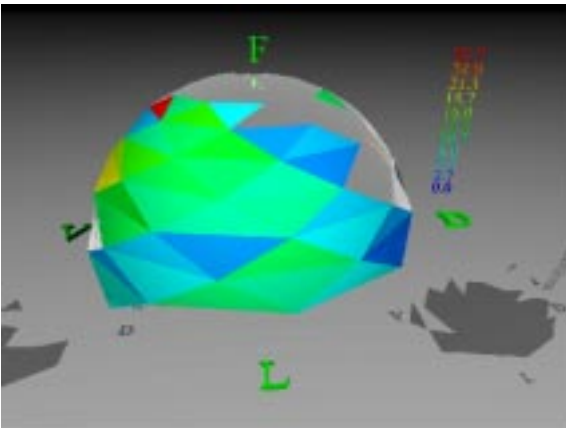
Anders als die Abhängigkeit der muskelpotential-induzierten Geschwindigkeit (s. S. 45)



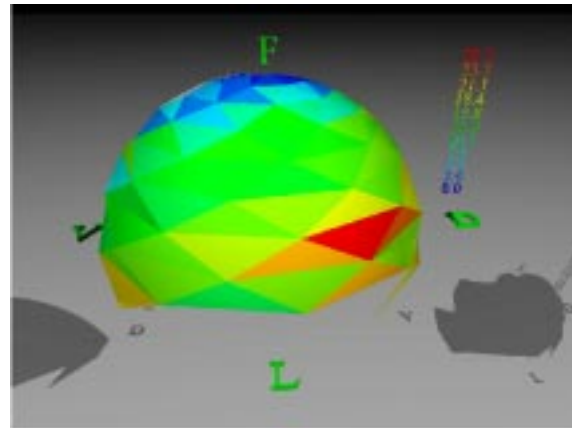
(a) Levator antennae



(b) Adductor dorsalis

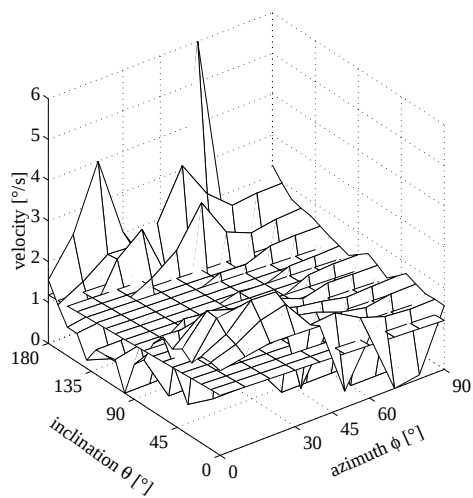


(c) Adductor ventralis

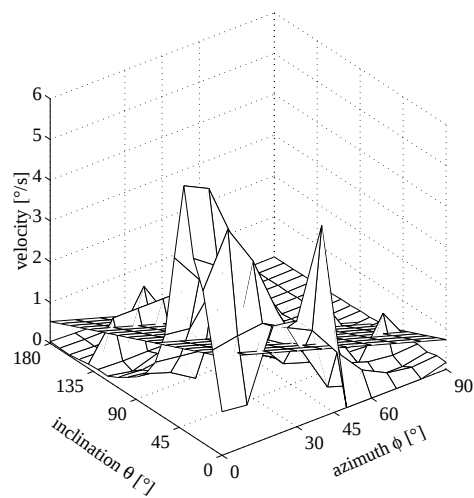


(d) Adductor lateralis

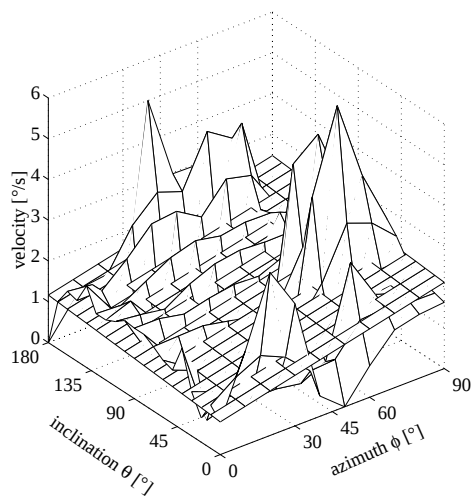
Abbildung 3.18: Abhängigkeit der Scapusstellung von der Aktivität der vier Muskeln des MSS. Jedes Dreieck auf der vom Scapus beschriebenen Viertelkugel repräsentiert die Muskelaktivität in dieser Positionsklasse. Die Aktivität ist farbcodiert entsprechend der Skala rechts im Bild. Die Werte sind Muskelpotentiale/s. Farblose Dreiecke befinden sich an Stellen, die während der Ableitung nicht erreicht wurden. (**D**=dorsal, **V**=ventral, **L**=lateral, **F**=frontal)



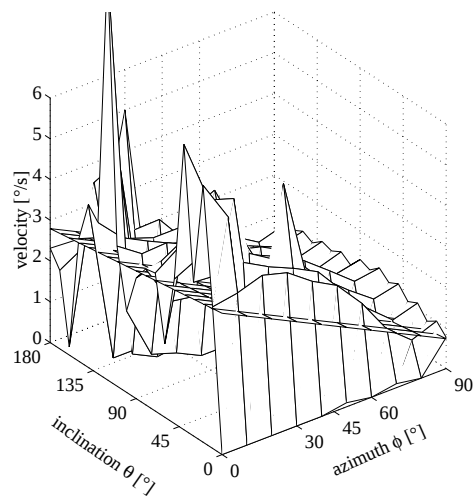
(a) Levator antennae



(b) Adductor dorsalis



(c) Adductor ventralis



(d) Adductor lateralis

Abbildung 3.19: Zusammenhang zwischen Scapusstellung und der Aktivität der Muskeln des MSS. Daten über alle Ableitungen interpoliert. Die überlagerten Ebenen sind das Ergebnis der Funktionsapproximation (siehe Text).

läßt sich keine einfache Funktion finden, die die durchschnittliche Muskelpotentialfrequenz in Abhängigkeit von der Scapusstellung annähert. Lineare Approximationen ($f(\phi, \theta) = f_0 + A\phi + B\theta$) zeigen nur geringe Korrelationen (s. Tab. 3.4). Die Approximation für den *Adductor lateralis* ($r^2 = 0,34$) ist

$$f(\phi, \theta) = 3,5 - 0,004\phi - 0,03\theta,$$

die für den *Adductor dorsalis* ($r^2 = 0,44$)

$$f(\phi, \theta) = 2,4 + 0,011\phi + 0,019\theta.$$

Nach diesen Näherungen hat der *Adductor dorsalis* bei dorsaler Scapusstellung ($\phi = 0^\circ$, $\theta = 0^\circ$) eine mittlere Aktivität von 2,4 Muskelpotentialen/s. Bei der Approximation für den *Adductor lateralis* ist der Koeffizient von ϕ mit $-0,004$ sehr klein, die Aktivität ist also von der Azimutstellung unabhängig. Sie ist am höchsten, wenn der Scapus auf der Kopfkapsel aufliegt. Beim *Levator* ist die Ebene fast waagerecht (Koeffizienten für ϕ und θ $-0,002$ und $-0,003$). Der Muskel ist also über den ganzen Bereich gleichmäßig aktiv. Das gilt auch für den *Adductor ventralis*, wenngleich bei diesem der Inklinationswinkel θ einen gewissen wenn auch geringen positiven (Koeffizient $+0,015$) Einfluß hat, d. h. bei nach frontal gerichteter Antenne ist der Muskel etwas aktiver als bei auf der Kopfkapsel aufliegender Antenne.

Die Abb. 3.19 zeigt, daß auch andere „einfache“ Approximationen die Daten nicht gut wiedergeben.

Muskel	r^2
<i>Adductor lateralis</i>	0,34
<i>Adductor dorsalis</i>	0,44
<i>Levator antennae</i>	0,02
<i>Adductor ventralis</i>	0,04

Tabelle 3.4: Bestimmtheit der linearen Approximation der Stellungsabhängigkeit der Aktivität der Muskeln des MSS (n. s. in allen Fällen)

3.4 Muskelaktivität und Flagellumbewegungen

Das Flagellum der Honigbiene wird über ein Scharniergelenk, das Pedicellusgelenk, bewegt. Der Pedicellus ist das proximale Segment des Flagellums. Die (bei der Arbeiterin) zehn weiteren Flagellumsegmente sind nicht muskulös und daher nur passiv gegeneinander beweglich (Esslen und Kaissling, 1976).

Durch Bewegungen im Pedicellusgelenk beschreibt die Flagellumspitze einen Teil einer Kreisbahn von etwa 100° , also etwas mehr als einen Viertelkreis. Flagellumstellungen werden durch den Winkel zwischen Scapus und Flagellum bzw. genauer durch den Winkel zwischen der gedachten Verlängerung des Scapus und dem Flagellum (α) beschrieben (s. Abb. 3.20). Bei gestrecktem Gelenk ist α als 0° definiert, bei maximaler Beugung wird ein Winkel von etwa 100° erreicht.

Die beiden Muskeln, durch die das Flagellum bewegt wird, sind im Scapus lokalisiert. Es handelt sich um einen Flexor, der das Pedicellusgelenk beugt, und einen Extensor, durch den die Antenne gestreckt wird.

Durch extrazelluläre Ableitungen wurden die Aktivitäten der Muskeln des MSP gemessen. Simultan dazu wurde mittels Videoanalyse die Position der markierten Flagellumspitze aufgezeichnet. Die vom Videoanalysesystem gelieferten Koordinaten wurden

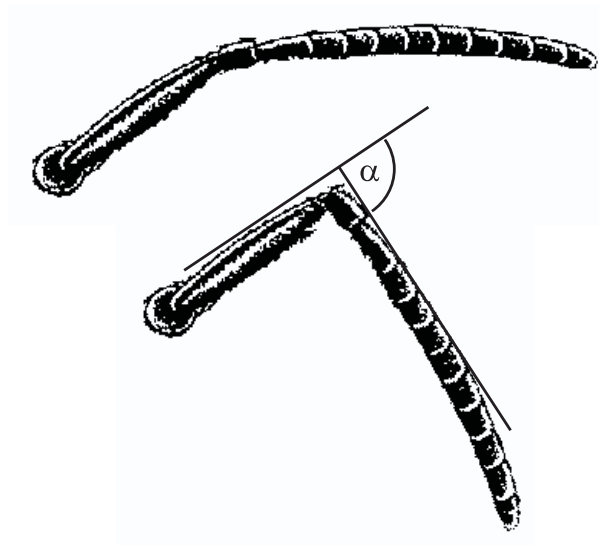


Abbildung 3.20: Extremstellungen des Pedicellusgelenks. Oben: gestreckt ($\alpha = 0^\circ$), unten: gebeugt ($\alpha \approx 100^\circ$)

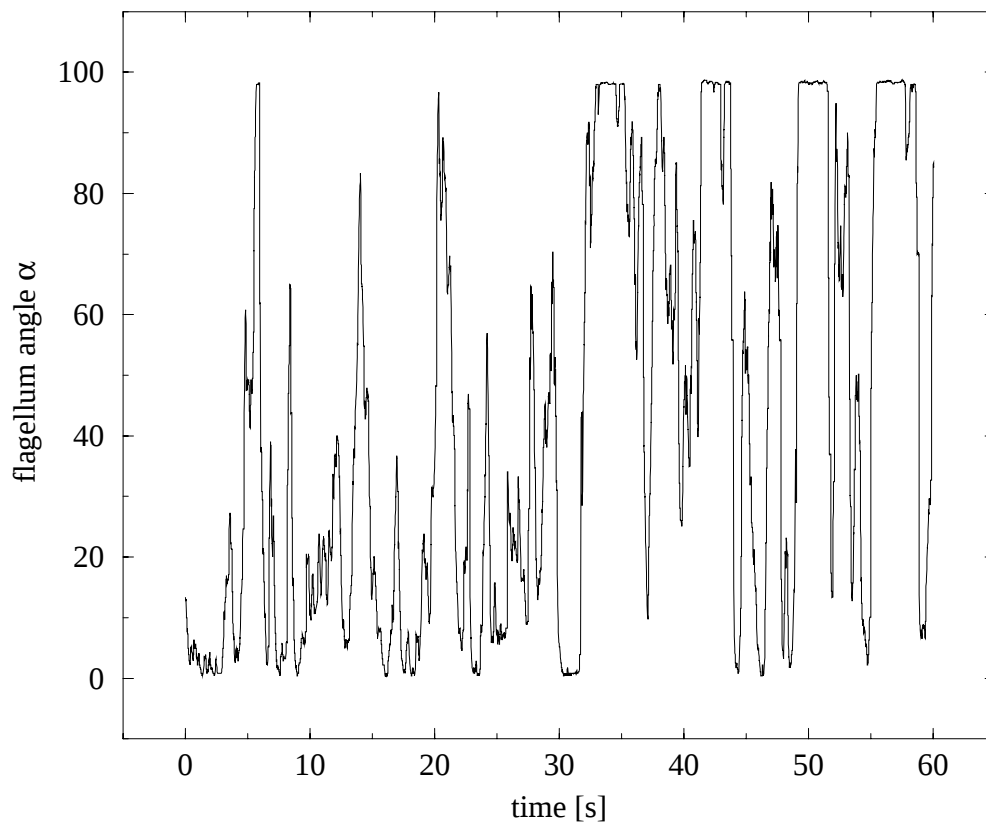


Abbildung 3.21: Spontane Bewegungen des Flagellums eines exemplarisch ausgewählten Tieres über 10 min

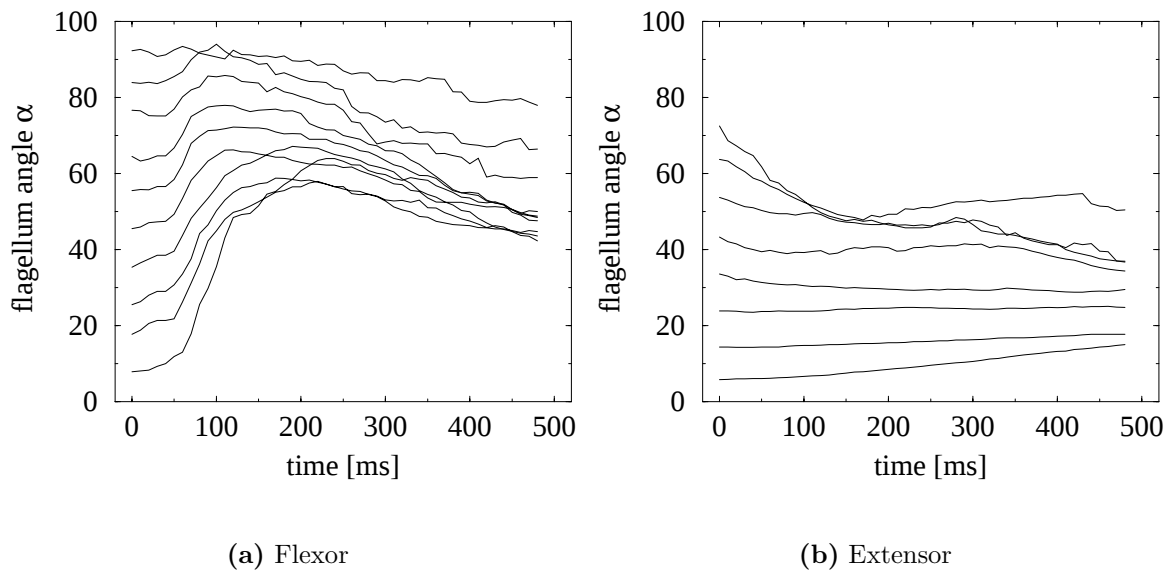


Abbildung 3.22: Zeitlicher Verlauf der durch einzelne Muskelpotentiale im MSP induzierten Flagellumbewegung. Exemplarisch ausgewählte Ableitungen von Flexor und Extensor. (0° : gestreckt, 100° : gebeugt)

in Antennenwinkelstellungen transformiert (s. 2.2.2, S. 12). Anhand der Form der Muskelpotentiale wurden diese den verschiedenen Muskeln zugeordnet (s. 2.4, S. 16). Bei dieser Zuordnung erwiesen sich die gleichen Kriterien als erfolgreich wie bei den Ableitungen am MSS. Insbesondere kleine Muskelpotentiale, die in der Regel dem Extensor zugeordnet werden, lassen sich häufig nicht vom Rauschen abgrenzen. Eine Trennung von Flexorpotentialen und Extensorpotentialen allein aufgrund der maximalen Amplitude (z. B. mit einem Window-Diskriminator) ist nicht immer möglich.

Zur Bildung eines Modells der Antennenbewegung ist es wichtig, quantitative Daten über den Einfluß einzelner Muskelpotentiale auf die Bewegung zu haben. Dazu wurde für jedes Muskelpotential die daran anschließende Bewegung über die nächsten 500 ms gemessen (Abb. 3.22). Anhand der Gelenkstellung zum Zeitpunkt des Eintretens des Muskelpotentials (t_0) wurden die entstandenen Signalausschnitte in eine von zehn Klassen (Klassenbreite 10°) eingeteilt (s.S. 17). Innerhalb jeder Klasse wurden die Signale gemittelt (*signal average*). Anhand der muskelpotential-induzierten Bewegungsrichtung konnten acht Ableitungen eindeutig dem Flexor und sechs dem Extensor zugeordnet werden.

Abbildung 3.22(a) zeigt, daß die Flexion des Pedicellusgelenks etwa 40 bis 60 ms nach dem Muskelpotential einsetzt. Die Latenzzeit zwischen Muskelpotential und Flexionsbeginn ist in geringem Maße abhängig von der Gelenkstellung. Ist das Pedicellusgelenk bereits stark gebeugt, so setzt auch die Flexion eher ein, bei gestrecktem Gelenk ist die Latenz etwas größer. Die Latenz bis zum Erreichen der maximalen Flexion liegt im Bereich 100 (bei bereits gebeugtem Gelenk) bis 200 ms (bei gestrecktem Gelenk).

Ebenfalls stark abhängig von der Gelenkstellung ist die Amplitude der muskelpotential-induzierten Flexion. Bei fast gestrecktem Pedicellusgelenk ($\alpha \approx 20^\circ$) kann ein einziges Muskelpotential zu einer vergleichsweise starken Flexion führen. 200 ms nach

dem Muskelpotential ist eine Beugung von 55° erreicht, die Winkeldifferenz beträgt also ca. 35° . Ist das Gelenk dagegen bereits stark gebeugt ($\alpha \approx 80^\circ$), kommt es nur noch zu einer geringen Flexion mit einer Winkeldifferenz von 5 bis 10° innerhalb von ca. 100 ms.

Muskelpotentiale im Extensor haben in der Regel nur einen geringen Effekt (siehe Abb. 3.22(b)). Nur wenn das Pedicellusgelenk stärker als 50 bis 60° gebeugt ist, kommt es zu langsamen Extensionen, die ihr Maximum nach etwa 150 ms erreicht haben. Bereits bei gestreckten Stellungen unter 50° sind muskelpotential-induzierte Bewegungen minimal.

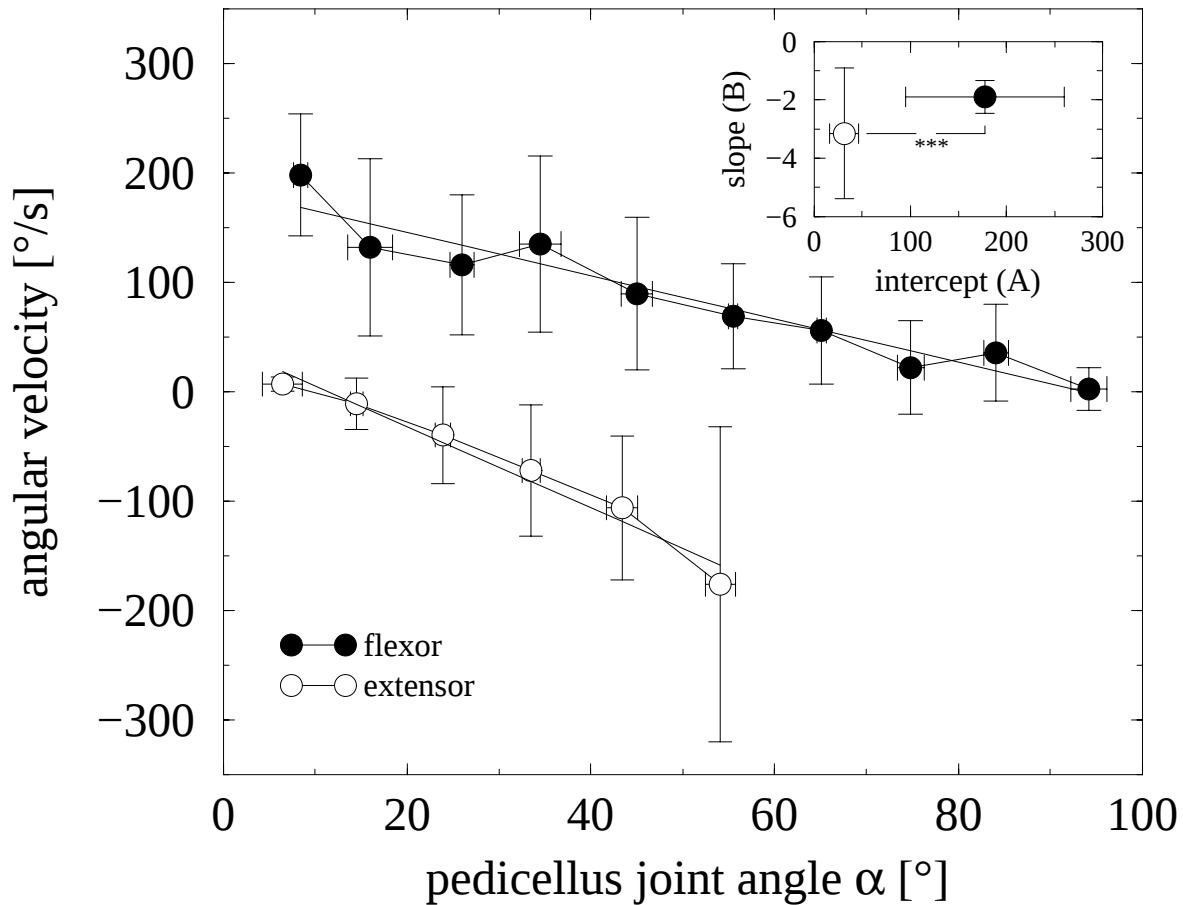


Abbildung 3.23: Gelenkstellungsabhängigkeit der muskelpotential-induzierten Geschwindigkeit von Bewegungen im Pedicellusgelenk. Abszisse: Gelenkstellung beim Auftreten eines Muskelpotentials (0° : gestreckt, 100° : gebeugt), Ordinate: Durch ein einzelnes Muskelpotential induzierte Winkelgeschwindigkeit des Pedicellusgelenks ($> 0^\circ/\text{s}$: Flexion, $< 0^\circ/\text{s}$: Extension). $\bar{x} \pm \text{SD}$, Flexor: $n = 8$, Extensor: $n = 6$. Approximationsgeraden für Flexor: $\dot{\alpha} = 185,5 - 1,97\alpha$, für Extensor: $\dot{\alpha} = 42,3 - 3,71\alpha$. **Inset:** Koeffizienten der linearen Regression gemittelt über alle Ableitungen des Flexors (ausgefüllter Kreis) und des Extensors (hohler Kreis) $\pm \text{SD}$. Der Unterschied des Offsets (**A**) ist hochsignifikant (***: $p < 0,001$)

Die Abhängigkeit der muskelpotential-induzierten Winkelgeschwindigkeit $\dot{\alpha}$ von der Stellung des Pedicellusgelenks α wird in Abb. 3.23 deutlich.

Ist das Gelenk stark gestreckt, führt ein Potential im Flexor zu einer Beugung von im

Mittel 130 bis 200°/s. Mit stärkerer Beugung wird die erreichte Geschwindigkeit geringer bis zur maximalen Flexion von ca. 90°. Der Zusammenhang ist linear (Approximation: $\dot{\alpha} = 185,5 - 1,97\alpha$).

Diese Linearität gilt für den Extensor nur bei Gelenkstellungswinkeln bis zu 60°. Bei stärkeren Beugungen ist die Aktivität gering, und nur noch vereinzelt sind Potentiale im Extensor zu messen. Meßwerte > 60° wurden daher in die Ermittlung der Regressionsgeraden nicht einbezogen. Die Abhängigkeit der Extensionsgeschwindigkeit $\dot{\alpha}$ von der Gelenkstellung α läßt sich mit der Funktion $\dot{\alpha}(\alpha) = 42,3 - 3,71\alpha$ approximieren.

Die linearen Approximationen wurden für jede Ableitung einzeln bestimmt, und zwar für den Flexor über den gesamten Bereich erreichbarer Pedicellusstellungen, für den Extensor nur bei Stellungen kleiner 60°. Gelenkstellung und muskelpotential-induzierte Winkelgeschwindigkeit korrelieren stark mit Korrelationskoeffizienten zwischen -0,66 und -0,98 (Flexor) bzw. -0,97 und -1,0 (Extensor). Die Parameter Offset (A) und Steigung (B) der Approximationsgeraden

Muskel	Offset A	Steigung B
Flexor	$177,7 \pm 82,5$	$-1,9 \pm 0,6$
Extensor	$31,3 \pm 15,3$	$-3,2 \pm 2,2$

Tabelle 3.5: Parameter der linearen Approximation der Abhängigkeit der Pedicellusgeschwindigkeit von der Pedicellusstellung (Offset und Steigung sind dimensionslos)

$$\dot{\alpha}(\alpha) = A + B\alpha$$

($\dot{\alpha}(\alpha)$: Winkelgeschwindigkeit in den ersten 100 ms nach dem Muskelpotential in Abhängigkeit von der Pedicellusgelenkstellung α) sind in Tabelle 3.5 wiedergegeben und im *inset* der Abb. 3.23 visualisiert. Das Offset der Approximationsfunktion des Flexors unterscheidet sich hochsignifikant von dem des Extensors ($p < 0,001$, t-Test). Der Unterschied in der Steigung ist nicht signifikant.

Aus den Regressionsgeraden ergibt sich für den Extensor eine muskelpotential-induzierte Pedicellusgeschwindigkeit von im Mittel $31 \pm 15^\circ/\text{s}$ bei gestreckter Stellung (0°), was aber selten erreicht wird. Bei 14° ist die Geschwindigkeit im Mittel 0°/s, es kommt also kaum zu weiteren Extensionen. Bei Gelenkstellung von ca. 50° führt ein Extensorpotential zu einer Streckung mit einer Geschwindigkeit von ca. 160°/s. Bei stärkerer Beugung treten nur noch selten Muskelpotentiale im Extensor auf. Streckungen des stark gebeugten Pedicellusgelenks erfolgen offenbar passiv durch elastische Eigenschaften des Extensormuskels („Gummibandeffekt“).

Ein Flexorpotential führt bei gestreckter Antenne (ca. 0°) zu Beugungen mit mittleren Geschwindigkeiten von 178°/s. Die Geschwindigkeit wird mit steigender Beugung geringer. Bei ca. 94° erreicht sie 0°/s.

Der Zusammenhang zwischen Muskelaktivität von Flexor und Extensor und der Gelenkstellung ist in Abb. 3.24 dargestellt. Die Frequenz von Potentialen im Flexor steigt mit zunehmender Beugung des Flagellums an. Ab etwa 70° sind mit ca. 7 Muskelpotentialen pro Sekunde ca. 90 % des Sättigungsniveaus erreicht. Die Variabilität ist bei den verschiedenen Ableitungen sehr hoch. Bei einigen Tieren konnten mittlere Frequenzen von über 20 Muskelpotentialen pro Sekunde gemessen werden. Im Vergleich zum nur schwach aktiven Flexor zeigt der Extensor z. T. vierfach höhere Frequenzen. Diese hoch aktiven Phasen sind aber beschränkt auf stark gestreckte Gelenkstellungen. Ab ca. 30° bis 40° liegt der Median der Muskelpotentialfrequenz unter 4 imp/s (nicht dargestellt).

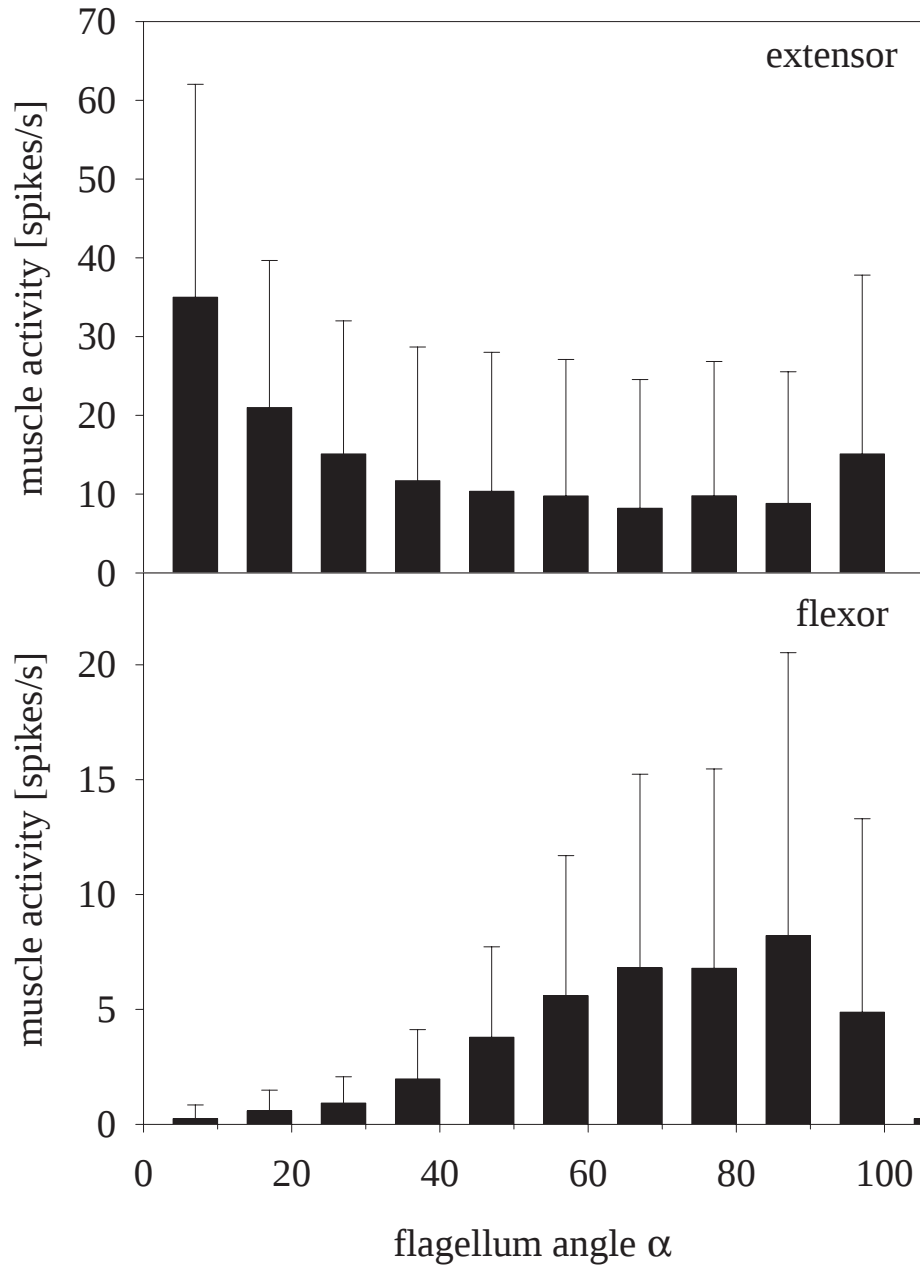


Abbildung 3.24: Zusammenhang zwischen der Aktivität der Muskeln des MSP (oben Extensor, unten Flexor) und der Stellung des Pedicellusgelenks. Dargestellt sind Mittelwert $\pm$ SD der Muskelpotentialfrequenz in jeder der zehn Stellungen von sechs (Extensor) bzw. acht (Flexor) Ableitungen.

Aktivität des Extensors bei gebeugter Gelenkstellung ist also relativ selten zu beobachten. Die hohe Basisaktivität, die sich in der Abb. 3.24 oben andeutet, basiert auf der Ableitung eines Tieres, bei dem der Extensor über den gesamten Bereich der Gelenkstellungen mit 40–50 imp/s aktiv ist. Im Regelfall scheinen Extensionen bei gebeugtem Pedicellusgelenk auf passiver Elastizität des Extensors zu beruhen.

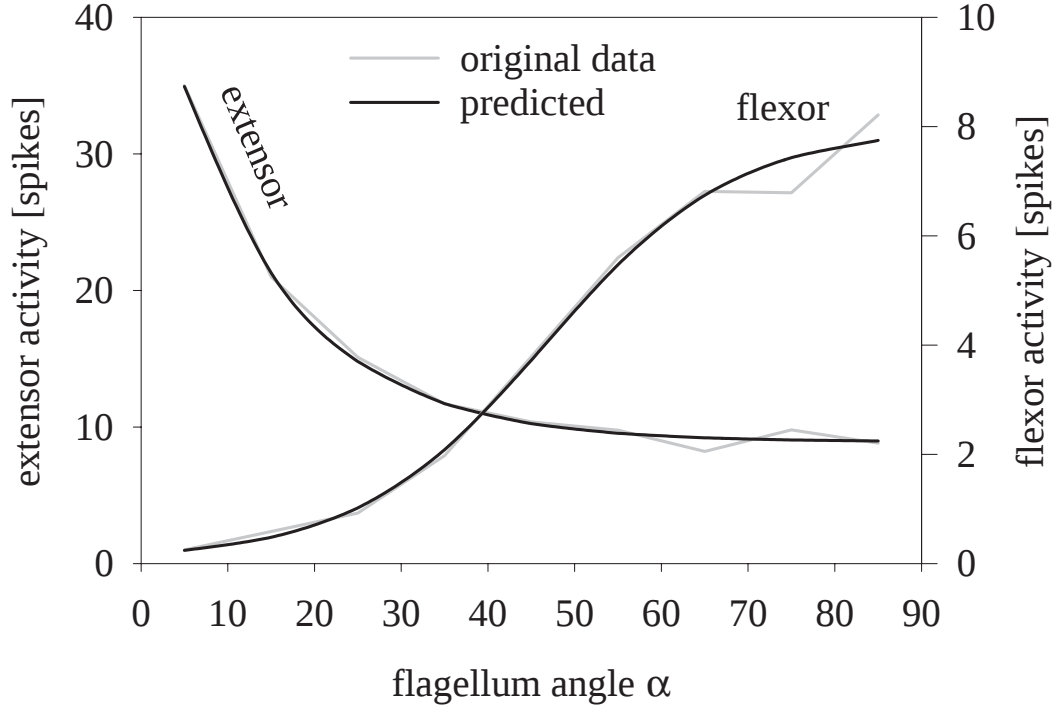


Abbildung 3.25: Mittlere Flexor- und Extensoraktivität in Abhängigkeit von der Flagellumstellung. Originaldaten und Vorhersageergebnisse der Regressionsgleichungen (s. Text Seite 59).

Die Abhängigkeit der Muskelaktivität von der Flagellumstellung folgt beim Flexor angenähert einer sigmoidalen Kurve (s. Abb. 3.25). Die Regressionsanalyse lieferte folgende Funktion:

$$\bar{a}_f = 0,1 + \frac{7,9}{1 + e^{-\left(\frac{\alpha - 46,7}{10,8}\right)}}$$

($\bar{a}_f$: Mittlere Flexoraktivität; α : Pedicellusgelenkstellung; $r^2 = 0,991$, $p < 0,001$ (ANOVA)). Hieraus ergibt sich eine maximale Flexoraktivität von etwa 8 Muskelpotentialen pro Sekunde bei maximaler Beugung. Bei gestrecktem Pedicellusgelenk ist die Aktivität mit etwa 0,2 Muskelpotentialen pro Sekunde minimal.

Die Extensoraktivität fällt mit zunehmender Beugung exponentiell ab nach der Formel:

$$\bar{a}_e = 8,9 + 37,7e^{-0,074\alpha}$$

($\bar{a}_e$: Mittlere Extensoraktivität; α : Pedicellusgelenkstellung; $r^2 = 0,997$, $p < 0,001$ (ANOVA)). Bei totaler Streckung ($\alpha = 0^\circ$) ist der Extensor mit ca. 49 Muskelpotentialen pro Sekunde hochaktiv. Ab ca. $60-70^\circ$ ist eine Basisaktivität von ca. 9 Muskelpotentialen pro Sekunde erreicht, die auch nicht mehr unterschritten wird.

3.5 Flexoraktivität bei operanter Konditionierung

Welche neuronalen Veränderungen der Dynamik der Spikeaktivität finden im motorischen System der Bienenantenne beim Lernen statt? Dazu wurden die Aktivität des schnellen Flexormuskels operant konditioniert. Jedesmal, wenn die Flexoraktivität eine bestimmte Schwelle überschritt, erhielt das Tier eine Belohnung (zur Methode s. Abschnitt 2.9 auf Seite 24). Die Experimente wurden von Johannes Kisch durchgeführt, der mir seine Bandaufzeichnungen dankenswerterweise zur Verfügung gestellt hat. Kischs Ergebnisse zeigten eine signifikante Erhöhung der mittleren Flexoraktivität nach der Konditionierung. Bei den Kontrollen ging die Aktivität zurück.

Um herauszufinden, wie die mittlere Flexoraktivität zustandekommt, ob sich z. B. Phasen starker Aktivität mit solchen schwächerer Aktivität abwechseln oder ob die Impulse mit gleichbleibender Wahrscheinlichkeit (Poisson-Prozeß) generiert werden, wurden *Peristimulus-Time-Histogramme* (PSTH) erzeugt. Dazu wurden über jeweils 10 min im Vor- und im Nachtest die Impulse in Intervallen (*bins*) von 200 ms Breite gezählt. Anschließend wurde die Häufigkeitsverteilung der Intervalle zwischen den Muskelpotentialen bestimmt (Abb. 3.26)

Die mittlere Anzahl an Muskelpotentialen pro *bin* im Vortest liegt bei beiden Gruppen dicht beieinander (konditionierte Tiere: $0,58 \pm 0,32$, $n = 7$, Kontrollen: $0,59 \pm 0,50$, $n = 8$). Nach der Konditionierung steigt sie auf $1,20 \pm 0,59$ Spikes/bin², an ($p < 0,01$, zweiseitiger t-Test). Bei den Kontrollen sinkt sie auf $0,36 \pm 0,34$ Spikes/bin ab (n. s.).

Die Abb. 3.26 macht deutlich, daß durch die Konditionierung vor allem *bins ohne* ein Muskelpotential seltener werden. Sind im Vortest noch 73 % der 200 ms-Intervalle ohne meßbare Muskelaktivität, sinkt dieser Anteil im Nachtest auf 56 % ab. Der Effekt ist hochsignifikant ($p < 0,01$, zweiseitiger t-Test). Bei den Kontrollen ist diese Klasse nahezu unbeeinflußt.

Würde es sich bei der Spike-Generierung um einen Poisson-Prozeß handeln, die Impulse also als seltene Ereignisse mit gleichbleibender Wahrscheinlichkeit auftreten (Sachs, 1997), so müßten die PSTH Poisson-verteilt sein. Dies ist jedoch nicht der Fall (Abb. 3.26). Die Poisson-Verteilung setzt voraus, daß Mittelwert (hier die durchschnittliche Anzahl von Impulsen pro bin) und Varianz gleich sind ($\bar{x} = s^2$). Dabei sind Abweichungen von ca. 10 % noch tolerabel. Hier liegt s^2 aber um den Faktor 2,4 bis 5,4 (im Mittel 3,6) höher als $\bar{x}$. Die Verteilungen der PSTH aller Tiere weichen extrem signifikant von einer angenommenen Poisson-Verteilung ab ($p < 0,001$, Kolmogoroff-

²Das entspricht $6 \pm 2,95$ Spike/s

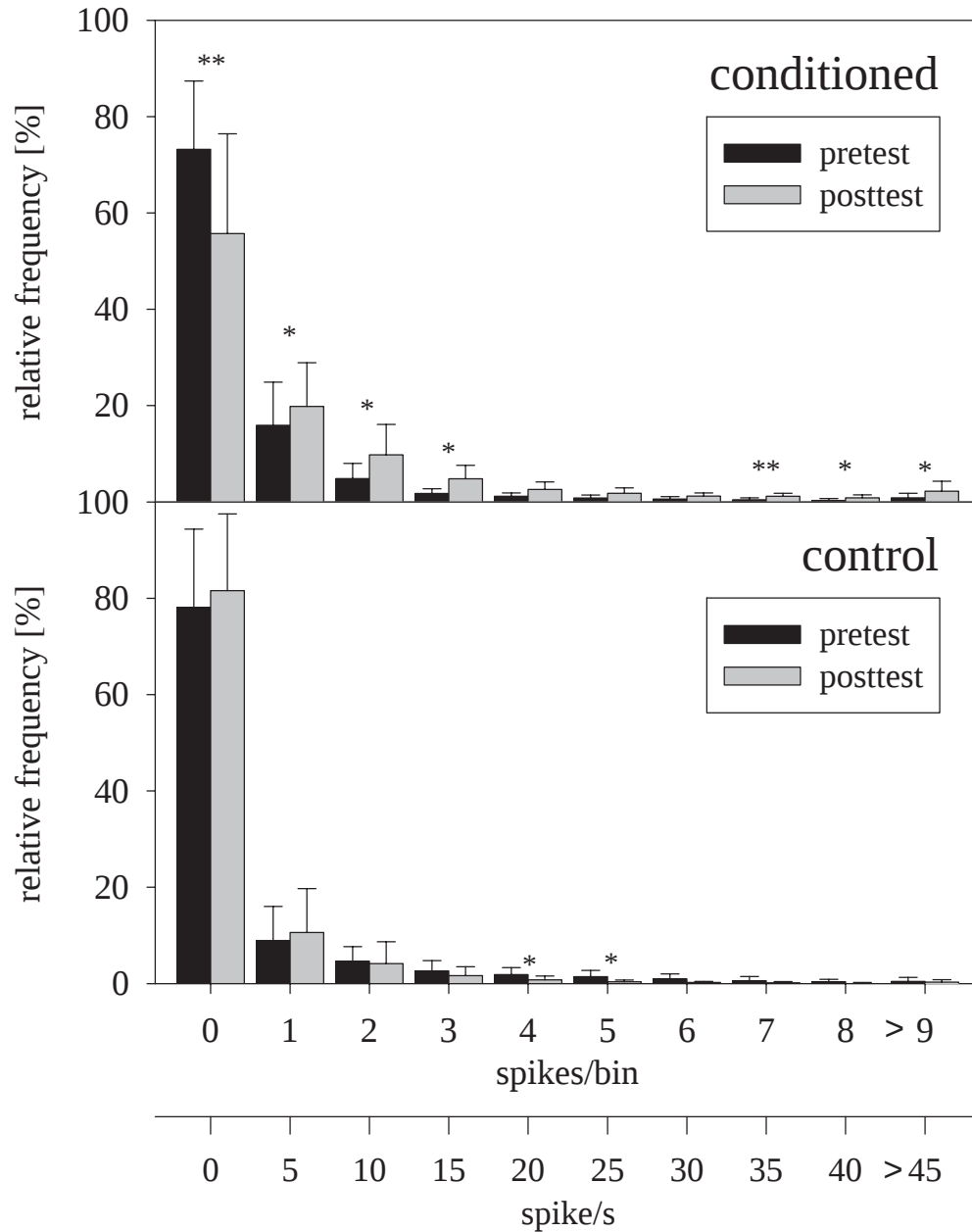


Abbildung 3.26: Einfluß der operanten Konditionierung auf das PSTH des schnellen Flexors. Dargestellt ist die relative Häufigkeit von 200 ms-*bins* mit unterschiedlicher Muskelaktivität **vor** (schwarze Balken) und **nach** (graue Balken) der Konditionierung. Oben: konditionierte Tiere ($n = 7$), unten: Kontrolle ($n = 8$). Signifikante Unterschiede der mittleren Häufigkeit einer Klasse sind markiert (*: $p < 0,05$, **: $p < 0,01$, zweiseitiger t-Test)

Smirnof-Test). Liegt s^2 wesentlich höher als $\bar{x}$, so kann es sich um eine *zusammengesetzte* Poisson-Verteilung handeln (Sachs, 1997), d.h. wenn überhaupt ein seltenes Ereignis (hier: Muskelpotential) auftritt, dann folgen oft mehrere. Für das vorliegende neuronale System bedeutet das, daß die Muskelpotentiale nicht unabhängig voneinander auftreten. Da die gemessene Aktivität des schnellen Flexors eins zu eins korreliert ist mit der Aktivität eines den Flexor innervierenden Motoneurons (Pribbenow, 1994), entspricht die IET-Verteilung der der Aktionspotentiale des Motoneurons.

Die operante Konditionierung ändert die Verteilung der IET nicht. Sie weicht daher auch nach der Konditionierung von einer Poisson-Verteilung ab.

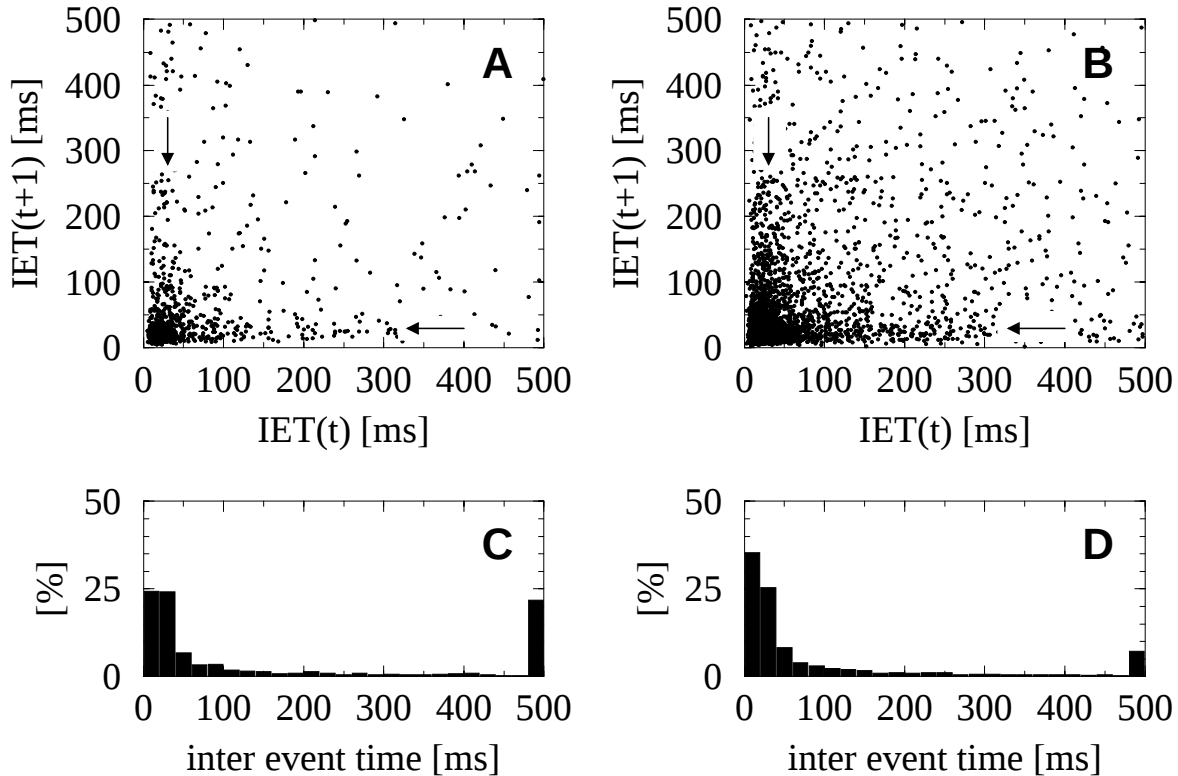


Abbildung 3.27: Effekt der operanten Konditionierung auf die Impulsmuster des schnellen Flexors bei einem exemplarisch ausgewählten Tier. A, C: Vortest, B, D: Test nach Konditionierung.

In den oberen Teilabbildungen ist jeder Impuls durch einen Punkt wiedergegeben. Die Koordinaten des Punktes ergeben sich aus der Zeitdifferenz zum vorhergehenden Impuls (Abszisse) und der zum folgenden Impuls (Ordinate).

In den unteren Teilabbildungen ist das auf 100 % normierte *inter event time histogram* (IETH) des gleichen Tieres dargestellt. Die Ereignisse mit einer IET > 475 ms sind im letzten Balken der Abbildung zusammengefaßt.

(Daten von Aufzeichnungen eines Experiments von J. Kisch, mit frdl. Genehmigung)

Zur Analyse der Impulsmuster eignen sich Diagramme, in denen für jeden Impuls die Intervalllänge zum vorherigen gegen die zum folgenden Impuls aufgetragen wird. Dies ist in Abb. 3.27 exemplarisch an einem Versuchstier dargestellt.

In den oberen Teilabbildungen sind die Punkte breit gestreut ohne deutliche Cluster-Bildung. Es tauchen also keine Salven äquidistanter Impulse auf. Allenfalls eine geringe Tendenz zur Bildung von dicht aufeinanderfolgenden Impulspaaren (in der Abb. durch Pfeile markiert) ist zu notieren. Deren Abstand liegt im Bereich von 15 bis 30 ms.

Der Vergleich des Vortests (Abb. 3.27 A) mit dem Test nach der Konditionierung (Abb. 3.27 B) zeigt vor allem eine deutlich dichtere Punktwolke im Bereich < 100 ms, bedingt durch die nach der Konditionierung erhöhte Muskelaktivität. Die Tendenz zu dicht folgenden Impulspaaren bleibt erhalten, wird aber nicht wesentlich deutlicher.

Die Abbildungen zeigen nur einen Ausschnitt aus dem Spektrum auftretender IET. Impulsintervalle > 500 ms sind nicht dargestellt. Es treten jedoch bei allen Tieren Pausen von über 3 s, z. T. sogar über 10 s auf.

Aus den Streudiagrammen, wie sie in Abb. 3.27 A und B dargestellt sind, läßt sich der serielle Korrelationskoeffizient r_s ermitteln. Bei der Flexoraktivität der untersuchten Tiere liegt r_s im Bereich von 0 bis 0,4 mit einem Mittelwert von $0,17 \pm 0,15$ bei der Kontrollgruppe und $0,27 \pm 0,07$ bei den konditionierten Tieren (Tab. 3.6). Durch die Konditionierung wird er nicht signifikant beeinflusst ($p > 0,05$, zweiseitiger t-Test), der Effekt der Konditionierung liegt also nicht in einer Änderung der Impulsmuster.

	Gruppe	
	Konditioniert	Kontrolle
Vortest	$0,27 \pm 0,07$	$0,17 \pm 0,15$
Nachtest	$0,22 \pm 0,03$	$0,13 \pm 0,15$

Tabelle 3.6: Serieller Korrelationskoeffizient vor und nach operanter Konditionierung auf hohe Flexoraktivität

Faßt man die Impulsintervalle aller Tiere in einer Gruppe zusammen, so ergeben sich für die konditionierte Gruppe $r_s = 0,28$ ($n = 12166$) vor und $r_s = 0,27$ ($n = 25102$) nach der Konditionierung, in der Kontrollgruppe entsprechend $r_s = 0,15$ ($n = 13676$) respektive $r_s = 0,18$ ($n = 8541$).³

Nach Falk und Well (1997) ist der serielle Korrelationskoeffizient ein Maß dafür, ob zwei aufeinanderfolgende Ereignisse die gleiche Quelle oder Ursache haben. Werte für $r_s > 0$, wie sie hier vorliegen, sind ein Indikator dafür.

Die IET wurden mit einer *bin*-Breite von 10 ms (IET aller Tiere) bzw. 20 ms (einzelne Tiere) histogrammisiert. Diese *inter event time histograms* (IETH), die in der Abb. 3.27 C, D für ein Tier exemplarisch und in der Abb. 3.28 zusammenfassend für alle Tiere dargestellt sind, zeigen eine Verteilungsfunktion die sich gut mit

$$f(c) = Ac^B$$

approximieren läßt. Dabei ist c die Klassenmitte und $f(c)$ die relative Häufigkeit für die Klasse. Voraussetzung ist das Ignorieren der ersten Klasse (0 bis 10 ms) bei der Regression, da in diese nur sehr wenige Ereignisse fallen. Dies liegt darin begründet, daß Muskelpotentiale nicht beliebig schnell aufeinander folgen können (Refraktärzeit). Die Parameter der o. g. Regressionsfunktion für die IETs aller Tiere zusammengekommen vor und nach der operanten Konditionierung können der Tabelle 3.7 entnommen werden.

Neuronale Impulse können als „seltene Ereignisse“ im statistischen Sinne gelten. Sofern sie nicht durch einen treibenden Prozeß generiert werden, ist ihre Folge in der Regel Poisson-verteilt (Sachs, 1997). Die IET aller Tiere (konditionierte und Kontrollen) wurden auf eine Poisson-Verteilung untersucht. Mittelwert und Standardabweichung

³Ein Streuungsmaß kann nicht angegeben werden, da hier die Daten aller Tiere gepoolt wurden.

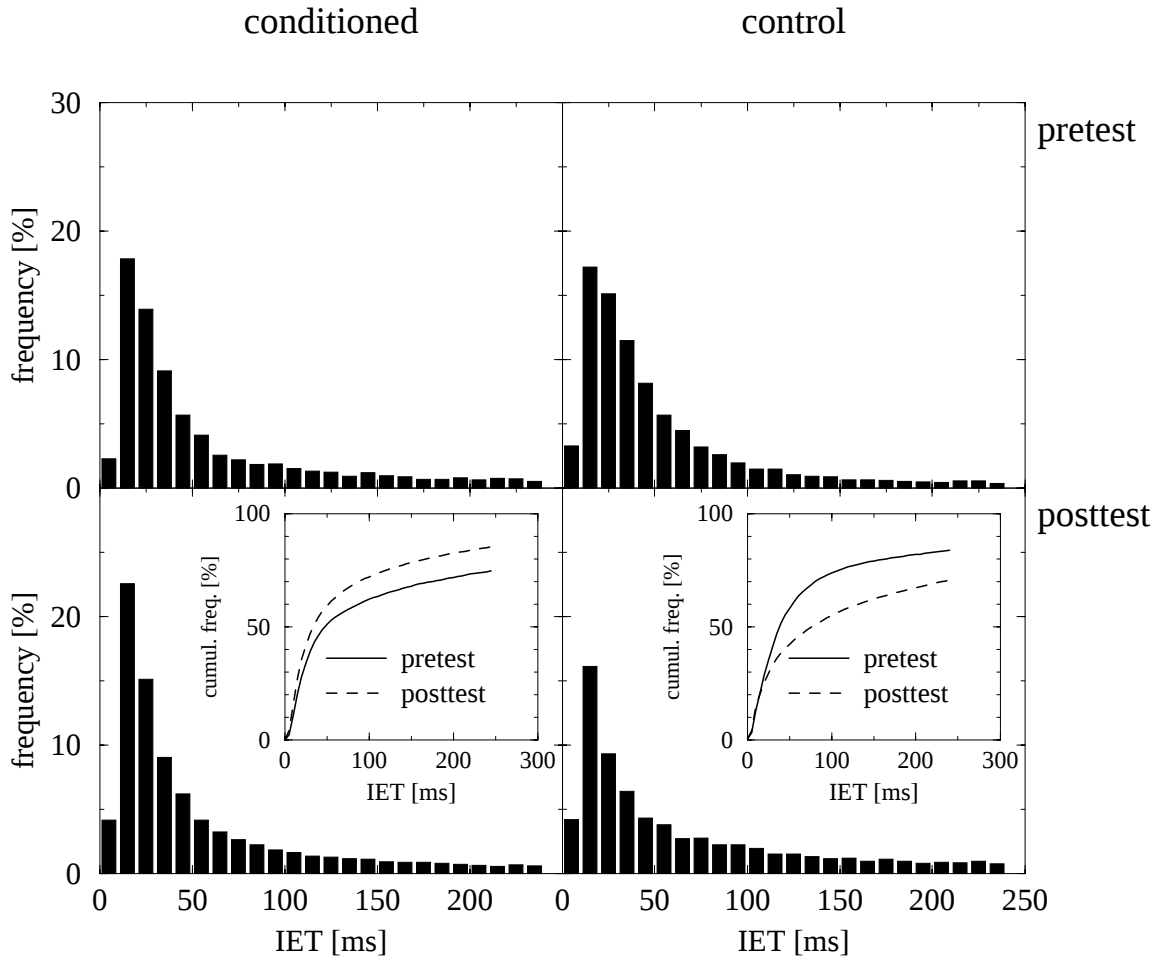


Abbildung 3.28: Effekt der operanten Konditionierung auf die IETH des schnellen Flexors. Dargestellt sind die relativen Häufigkeiten der Impulsabstände (IET) histogrammisiert mit einer bin-Breite von 10 ms links der konditionierten Tiere, rechts der Kontrollgruppe, oben während des Vortests, unten im Nachtest. Ereignisse mit einer IET > 250 ms sind nicht mehr dargestellt. Die *insets* der beiden unteren Teilabbildungen verdeutlichen den Einfluß der Konditionierung auf die Verteilung durch Darstellung der kumulativen Häufigkeit. Der Median der IET liegt bei den konditionierten Tieren bei 52 ms im Vortest und 38 ms im Nachtest, bei den Kontrollen bei 40 ms im Vor- und bei 75 ms im Nachtest.

stimmen bei Poisson-verteilten Daten überein. Abweichungen sollten im Bereich von $\pm 10\%$ liegen. Dies ist hier nicht der Fall. Die Standardabweichung der IET beträgt z.T. das zwei- bis dreifache des Mittelwertes. Dies ist ein erster Hinweis dafür, daß keine Poisson-Verteilung vorliegt. Auch der Kolmogoroff-Smirnoff-Test zeigt eine extrem signifikante ($p < 0,001$) Abweichung von einer angenommenen Poisson-Verteilung bei allen Tieren.

Der Effekt der Konditionierung auf die IETH ist eine deutliche Häufung sehr kurzer Intervalle (< 20 ms) (Abb. 3.28 links). Lange Intervalle treten nach der Konditionierung wesentlich seltener auf als im Vortest. Dies führt zu einer Verschiebung des Medians von 52 ms im Vor- auf 38 ms im Nach-

test. Der Mittelwert IET aller konditionierten Tiere liegt im Vortest bei $515,5 \pm 411,3$ ms und vermindert sich durch die Konditionierung auf $305,8 \pm 366,7$ ms ($p < 0,05$, zweiseitiger gepaarter t-Test, $n = 7$). Bei den Kontrollen (Abb. 3.28 rechts) treten im Nachtest Intervalle mit Längen < 90 ms seltener auf als im Vortest, lange Intervalle werden häufiger. Der Median verschiebt sich dadurch von 40 ms auf 75 ms. Die mittlere IET aller Kontrolltiere steigt von $714,1 \pm 942,9$ ms auf $1496,8 \pm 1729,7$ ms ($p < 0,05$, zweiseitiger gepaarter t-Test, $n = 8$). Faßt man die Impulse der Vor- und Nachtests aller Tiere in der jeweiligen Gruppe zusammen, so ergeben sich mittlere IET von 344,2 ms (Vortest) bzw. 166,7 ms (Nachtest) bei den konditionierten Tieren und 341,2 ms (Vortest) bzw. 548,3 ms (Nachtest) bei der Kontrollgruppe. Die im *inset* von Abb. 3.28 dargestellten kumulativen Häufigkeiten machen deutlich, wo (in welchen Histogrammklassen) die Veränderung stattfindet. Im Vortest sind etwa 20 % der Impuls-Intervalle länger als 250 ms. Dieses Verhältnis reduziert sich auf 15 % nach der Konditionierung. Bei den Kontrollen sind bereits im Vortest nur 17 % der Intervalle länger als 250 ms, der Anteil erhöht sich im Nachtest auf 19 %. Schnelle Impulsfolgen werden durch die Konditionierung kaum beeinflußt. Der Haupteffekt ist eine Reduzierung sehr langer Pausen. Bei den Kontrollen hingegen werden schnelle Impulsfolgen seltener.

	Gruppe					
	Konditioniert			Kontrolle		
	A	B	r^2	A	B	r^2
Vortest	6,7	-1,3	-0,99	7,9	-1,6	-0,98
Nachtest	7,0	-1,4	-1,00	5,7	-1,1	-1,00

Tabelle 3.7: Regressionsparameter der Näherungen für die IETH ($f = Ac^B$) vor und nach operanter Konditionierung

3.6 Modell und Simulationen

Die im Kontext dieser Arbeit gewonnenen Erkenntnisse erlauben die Konstruktion eines Modells der motorischen Steuerung. Ein solches Modell wurde für die Muskelsysteme des Pedicellus (MSP) und des Scapus (MSS) mit Hilfe von Simulink (1996) unter Matlab (1996) erstellt und in Simulationsläufen getestet.

Abb. 3.29 zeigt das Modell des MSPs bei Betrachtung nur eines einzelnen Muskels. Die Stellung des Pedicellusgelenks (α , α) ist der Ausgang. Als Eingang wird ein stochastischer Mustergenerator (im Modell **Band-Limited White Noise**) angenommen. Beim Tier könnte es sich hier um eine stochastische Freisetzung von Neurotransmittern an der Eingangsregion der Motoneurone handeln.

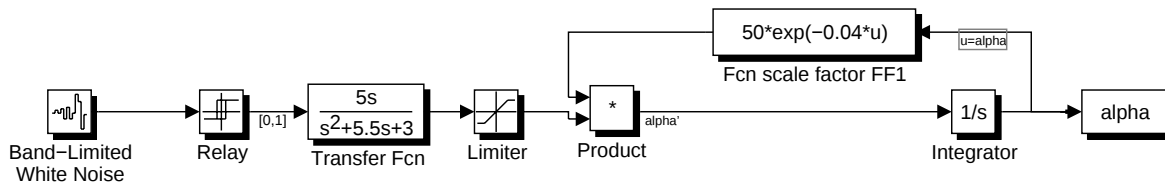


Abbildung 3.29: Simulationsmodell eines einzelnen Muskels (hier der schnelle Teil des Flexors) des Muskelsystems des Pedicellus (MSP). (Erläuterungen siehe Text)

Im Modell nimmt der Komplex Relais (Relay), Transferfunktion (Transfer Fcn) und Begrenzer (Limiter) die Aufgabe, beim Überschreiten eines Schwellwertes eine Bewegung zu generieren. Hierbei sorgt das Relais für das Generieren eines rechteckigen Pulses. Dieser Puls führt zu einer Muskelkontraktion und damit zu einer Bewegung, deren Form durch die Transferfunktion derart erzeugt wird, daß sie mit den Messungen bei der Biene (schnelle ansteigende Kontraktionsamplitude, die dann langsam abfällt, s. S. 56) übereinstimmt. Der Begrenzer (untere Grenze $x_{\min} = 0$) eliminiert das an der fallenden Flanke auftretende negative Signal, da im Tier nicht auf das Ende eines Impulses geantwortet wird, sondern nur auf die steigende Flanke. Die physiologische Entsprechung zum Komplex Relais/Transferfunktion/Begrenzer ist die Generierung eines Aktionspotentials im Motoneuron und dessen Wirkung auf den Muskel (Ca^{2+} -Einstrom und resultierende Kontraktion). Die durchschnittliche Aktionspotentialfrequenz wird durch die Rauschamplitude des Mustergenerators bestimmt.

Die Winkelgeschwindigkeit, die durch Einzelkontraktionen eines Muskels bewirkt wird, ($\dot{\alpha}_{\text{muskel}}$) ist nach Messungen bei der Biene abhängig vom der Winkelstellung α (alpha) des Pedicellusgelenks (s. S. 57). Die Winkelgeschwindigkeit wird daher mit einem von α abhängigen Faktor $f(\alpha)$ multipliziert. In Abschnitt 3.4 wurde gezeigt, daß diese Abhängigkeit linear approximiert werden kann. Für ein realistisches Modell reicht diese Annahme nicht aus, da dann theoretisch negative Winkelgeschwindigkeiten bei der Kontraktion des Flexors entstehen könnten. Der Faktor wurde daher mit einer Sättigungsfunktion berechnet. Bei den Simulationen wurde für den schnellen Teil des Flexors eine Funktion

$$f(u) = f(\alpha) = ae^{-b\alpha} \quad \text{mit} \quad a = 50 \quad \text{und} \quad b = 0,04 [\text{grad}^{-1}]$$

gewählt. b bestimmt, bei welcher Gelenkstellung die Kontraktionsamplitude 50 % der Maximalamplitude erreicht hat (im Beispiel bei 20°), und hat die Einheit $1/^\circ$, wodurch der Exponent $-b\alpha$ und damit auch $f(\alpha)$ einheitenlos werden. a skaliert die Funktion $f(\alpha)$ und bestimmt damit die maximale Kontraktionsgeschwindigkeit.

Die nun vorliegende Winkelgeschwindigkeit $\dot{\alpha}$ wird integriert, um die Gelenkstellung α zu ermitteln. Abb. 3.30 zeigt einen Simulationslauf des Modells. Der Mustergenerator wurde so eingestellt, daß eine Aktionspotentialfrequenz von etwa 30 Hz erzielt wurde. Die im 500 ms dauernden Simulationslauf erkennbare Bewegung resultiert also aus 15 Einzelkontraktionen. Es wird deutlich, daß die Kontraktionsamplitude mit zunehmender Beugung abnimmt, und daß im Bereich von etwa 100° , also bei voller Beugung, eine Sättigung erreicht wird.

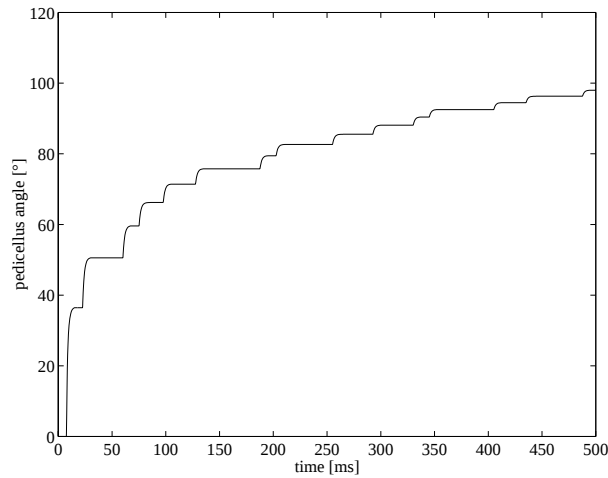


Abbildung 3.30: Simulationslauf des Modells in Abb. 3.29. Dargestellt ist die Entwicklung des Pedicelluswinkels α über die Zeit. Der Muskel wird mit stochastisch auftretenden Aktionspotentialen (im Mittel 30 pro Sekunde) innerviert.

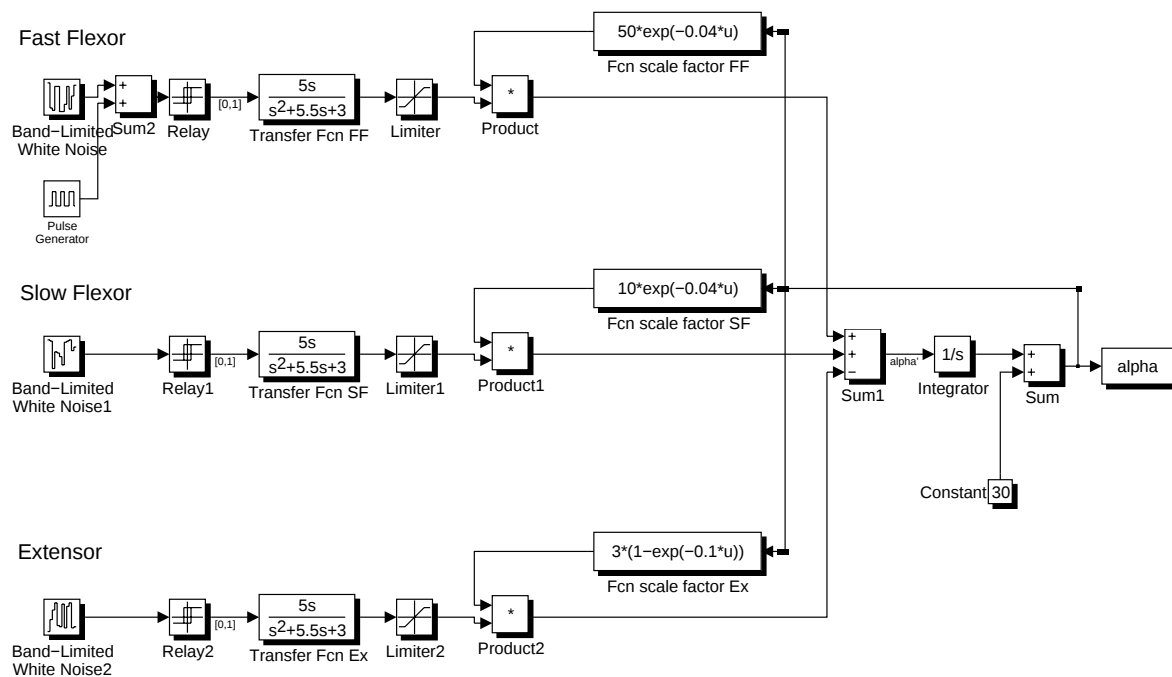


Abbildung 3.31: Simulationsmodell des Muskelsystems des Pedicellus (MSP) mit allen im Scapus gelegenen Muskeln. (Erläuterungen siehe Text)

Ein Modell, das alle drei Subsysteme des MSP, also schnellen und langsamen Teil des Flexors (FF, Fast Flexor resp. SF, Slow Flexor) und Extensor (Ex), mit einbezieht, ist in Abb. 3.31 dargestellt. Es wird angenommen, daß alle drei Muskeln unabhängig voneinander sind. Das gilt auch für den Mustergenerator. Erst die Summation der Einzelkontraktionen (Sum1) bringt die Teilsysteme zusammen. Zu dem von den Muskeln generierten Winkeln wird ein konstanter Ruhewinkel von 30° addiert. Dieser wird von der Antenne eingenommen, wenn keine motoneuronale Aktivität vorliegt.

Die Gelenkstellungsabhängigkeit der Kontraktionsamplituden ist bei den drei Muskeln unterschiedlich. Sie wird für den schnellen und den langsamen Flexor mit einer Exponentialfunktion mit negativem Exponenten angenähert:

$$f(\alpha)_{\text{FF}} = 50e^{-0,04\alpha}$$

für den schnellen bzw.

$$f(\alpha)_{\text{SF}} = 10e^{-0,04\alpha}$$

für den langsamen Flexor. Der Anstieg beider Funktionen ist gleich, jedoch ist die Kontraktionsamplitude des langsamen Flexors insgesamt geringer. Die Funktionen konvergieren gegen 0 für große α (starke Beugung). Der Faktor für die Kontraktionen des Extensors wird mit

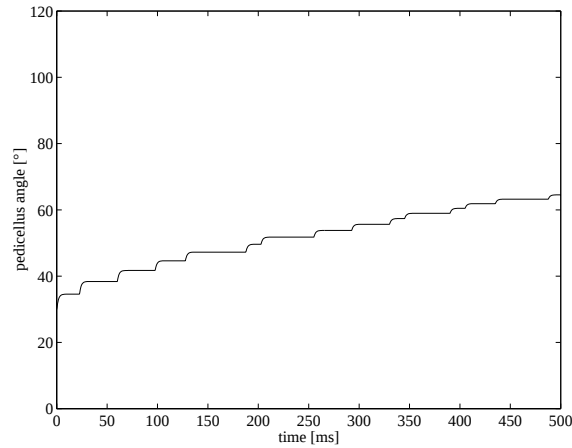
$$f(\alpha)_{\text{Ex}} = -3(1 - e^{-0,01\alpha})$$

berechnet. Die Funktion konvergiert gegen 0 für kleine α , also starke Streckungen. Das negative Vorzeichen bewirkt negative Extensorkontraktionen, also Streckungen ($\dot{\alpha}_{\text{Ex}} < 0$).

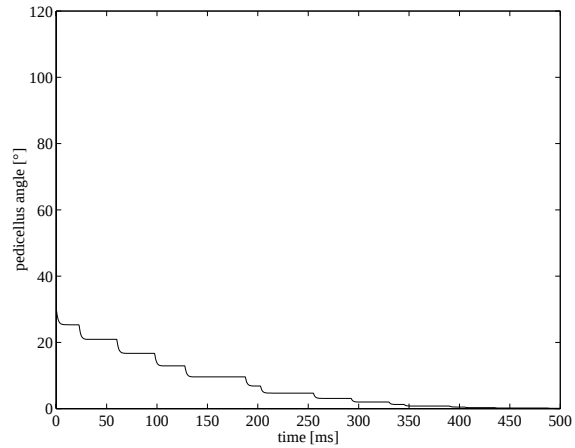
Die Abb. 3.32(a) bis 3.32(c) zeigen Simulationsläufe bei angenommener Spontanaktivität. In Abb. 3.32(a) ist nur der langsame Flexor aktiv mit einer mittleren Frequenz von 30 Aktionspotentialen in der Sekunde, in Abb. 3.32(b) nur der Extensor bei gleicher Aktivität. Die anderen Muskeln sind jeweils nicht innerviert. Eine Simulation, bei der ausschließlich der schnelle Teil des Flexors aktiv ist, wurde bereits in Abb. 3.30 dargestellt. In Abb. 3.32(c) sind alle Muskeln simultan aktiv mit etwa gleicher Frequenz.

Stochastische Mustergeneratoren genügen, um die Spontanbewegungen der Biene in der Simulation hervorzurufen. Die Antennen zeigen aber auch eine Reihe von Reaktionen auf unterschiedliche Reize (s. S. 1.3). Es gibt Hinweise, daß zumindest beim Antennenabtastverhalten der schnelle Flexor maßgeblichen Einfluß besitzt. Das Modell wurde daher um einen Pulsgenerator erweitert, der den schnellen Flexor treibt. Es handelt sich dabei z. B. um eine mechanosensorische Rückkopplung oder die Projektion visueller Interneurone auf die Antennenmotorik. Abb. 3.32(d) zeigt den Effekt von rhythmischen Impulsen auf die Pedicellusbewegung. Diese Impulse überlagern den stochastischen Mustergenerator. Die Impulsfolge wird 200 ms nach Simulationsbeginn mit einer Frequenz von 100 Hz gestartet. Es wird deutlich, daß sich das Pedicellusgelenk schnell beugt, um dann langsam in die Sättigung, die maximale Beugung, zu gehen.

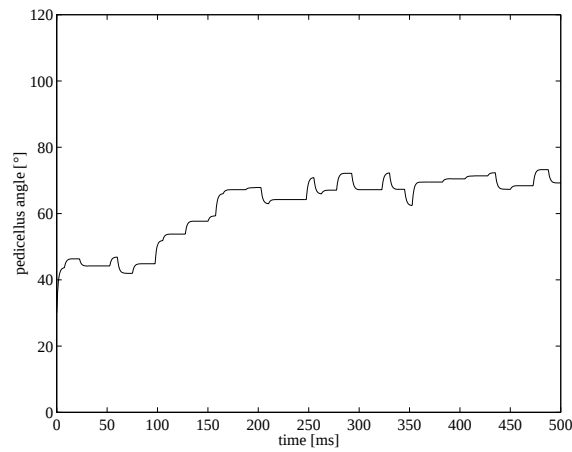
Das Modell abstrahiert von einer Reihe von Randbedingungen des antennenmotorischen Systems der Biene. Insbesondere die Tatsache, daß mehrere Motoneurone einen Muskel innervieren, wurde nicht explizit modelliert. Stattdessen wurde die gesamte neuronale Übertragungsstrecke vom Mustergenerator zur Muskelkontraktion in einem Subsystem (Relais, Transferfunktion, Begrenzer) zusammengefaßt. Ferner sind die elastischen Eigenschaften der Muskeln nicht berücksichtigt. So bewegt z. B. der Extensor



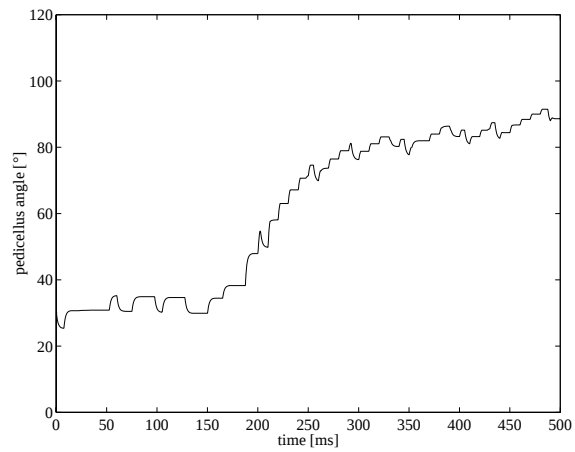
(a) Langsamer Teil des Flexors aktiv



(b) Extensor aktiv



(c) Alle Muskeln aktiv



(d) Stimulation des schnellen Flexors

Abbildung 3.32: Simulationsläufe des Modells in Abb. 3.31 bei verschiedenen Grundaktivitäten der einzelnen Muskeln. Die Innervation erfolgt stochastisch mit einer mittleren Frequenz von 30 Aktionspotentialen pro Sekunde.

(a) Innervation des *langsamen Flexors*

(b) Innervation des *Extensors*

(c) Gleichzeitige Innervation aller Muskeln des MSP

(d) wie (c), aber der *schnelle Flexor* wird 200 ms nach Simulationsbeginn mit einer Serie von 30 Impulsen im Abstand von 10 ms zur Kontraktion gebracht.

das stark gebeugte Pedicellusgelenk auch völlig ohne neuronale Aktivität in die Ruhestellung von etwa 30° zurück („Gummibandeffekt“).

Ein Modell des Muskelsystems des Scapus (MSS) kann in äquivalenter Weise erstellt werden. Hier handelt es sich um vier Muskeln, deren Kontraktionen *zweidimensionale* Bewegungen verursachen. Hierdurch steigt die Zahl der zu berücksichtigenden Parameter (Transferfunktionen, Stärke des Einflusses einzelner Muskeln auf die Bewegung) erheblich. Zudem müssen beim Feedback zwei Dimensionen berücksichtigt werden. Ein Modell eines einzelnen Muskels des MSS ist in Abb. 3.33 dargestellt.

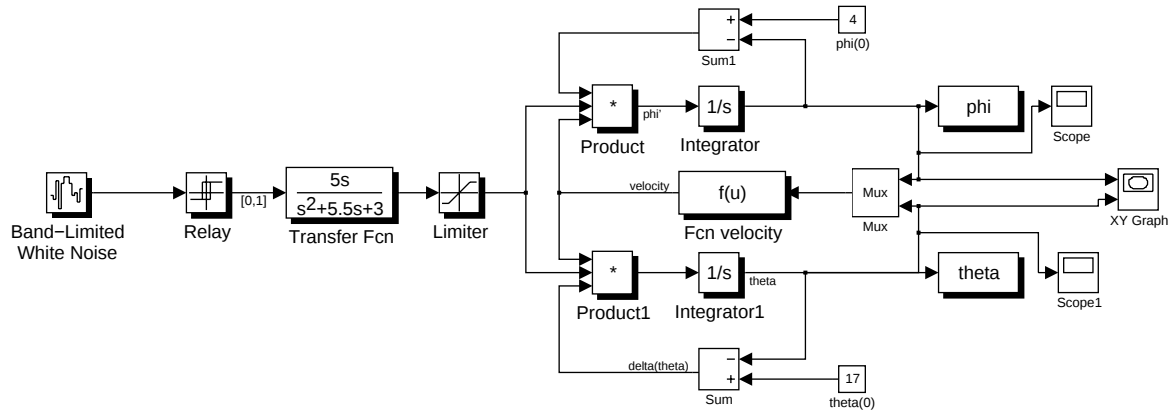


Abbildung 3.33: Simulationsmodell eines einzelnen Muskels (hier der *Adductor dorsalis*) des Muskelsystems des Scapus (MSS). (Erläuterungen siehe Text)

Die Generierung von Kontraktionen und damit Bewegungen entspricht der bei den Muskeln des MSP. Unterschiede finden sich in der Berechnung der Kontraktionsgeschwindigkeit und -richtung. Der Skalierungsfaktor für die Kontraktionsgeschwindigkeit wird durch die Funktion $f(u) = f(\phi, \theta)$ (**Fcn velocity**) berechnet. u ist hierbei ein Tupel der beiden Gelenkstellungswinkel ϕ und θ ($u = (\phi, \theta)$) und wird durch den Multiplexer (**Mux**) konstruiert. Die Skalierungsfunktion ist also stellungsabhängig und entspricht den in Abschnitt 3.3 (s. S. 45) durch Regression ermittelten Parabeln der Form

$$f(u) = f(\phi, \theta) = y_0 + a\phi + b\theta + c\phi^2 + d\theta^2$$

Die Stellung, die bei maximaler Kontraktion des Muskels erreicht wird (Extremposition), wird durch die konstanten Parameter ϕ_0 und θ_0 ausgedrückt. Diese Parameter wurden in Abschnitt 3.1 (S. 27) experimentell bestimmt. Zur Ermittlung der Bewegungsrichtung, die beim MSP in die Skalierungsfunktion integriert war, werden die beiden Dimensionen Inklinationswinkel ϕ und Azimutwinkel θ getrennt behandelt. Die Kontraktionsgeschwindigkeit wird mit der Abweichung der aktuellen Scapusstellung ϕ (bzw. θ) von der Extremposition ϕ_0 (bzw. θ_0), $\delta\phi$ (bzw. $\delta\theta$), multipliziert⁴. Das Produkt aus impulsgenerierter Kontraktion, der Skalierungsfunktion $f(u) = f(\phi, \theta)$ und der Abweichung von der Extremposition $\delta\phi$ ergibt also die durch den Muskel induzierte Bewegung⁵ $\dot{\phi}$ (entsprechend für θ). Durch Integration der Bewegung erhält man die Scapusstellung.

⁴Im Modell $\phi, \theta, \phi(0), \theta(0), \phi(0)$ und $\theta(0)$

⁵Im Modell phi'

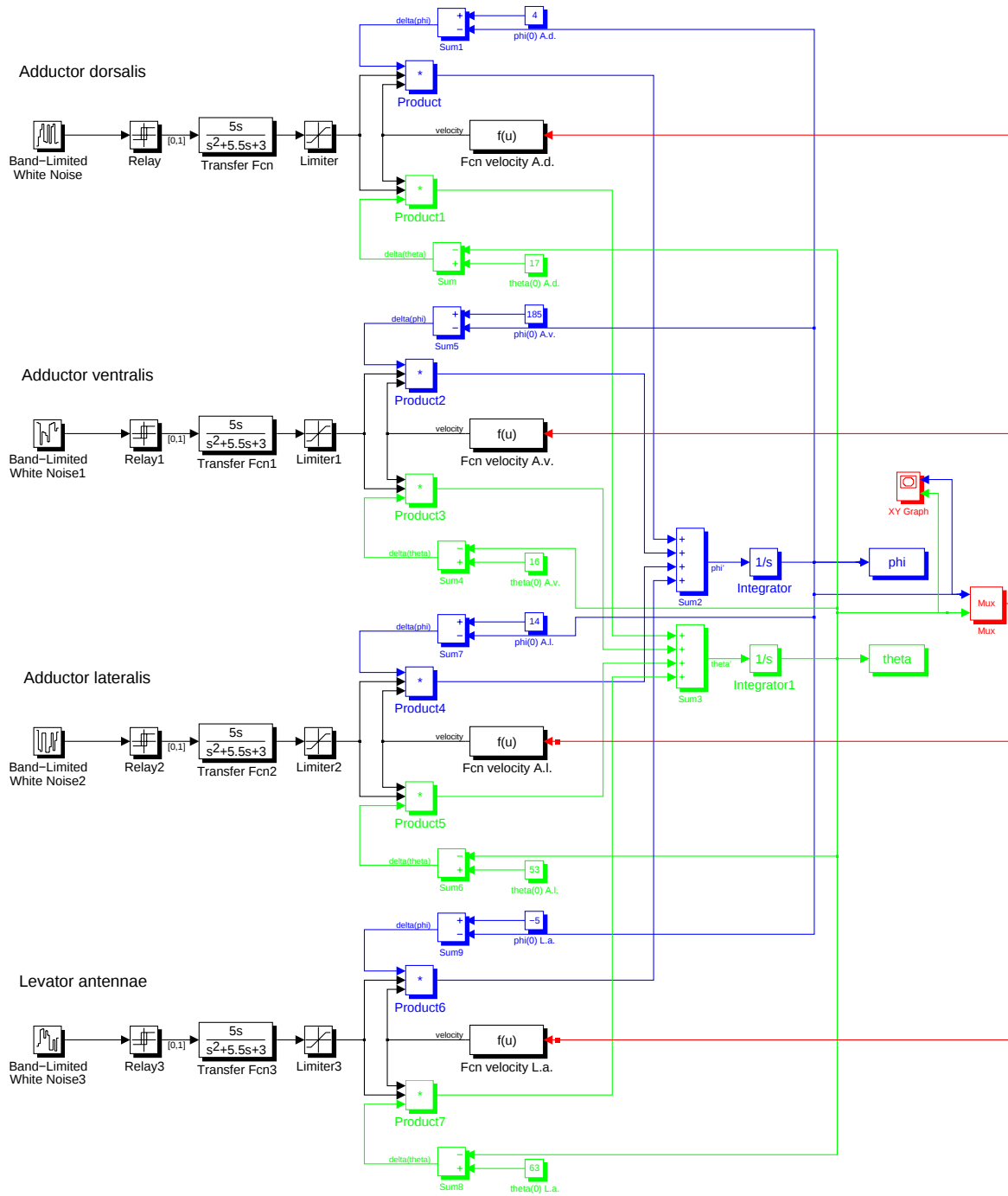


Abbildung 3.34: Simulationsmodell des Muskelsystems des Scapus (MSS) mit allen vier den Scapus bewegenden Muskeln. (Erläuterungen siehe Text)

Ein Modell des gesamten MSS mit allen vier Muskeln ist in Abb. 3.34 dargestellt. Die einzelnen Subsysteme (Muskeln) unterscheiden sich in der *Extremposition* (ϕ_0, θ_0) und der Skalierungsfunktion $f(u) = f(\phi, \theta)$. Die Extrempositionen entnehme man der Tabelle 3.1 (S. 27). Die Skalierungsfunktion entspricht der Parabel

$$f(u) = f(\phi, \theta) = y_0 + a\phi + b\theta + c\phi^2 + d\theta^2.$$

Die Parameter a, b, c und d wurden aus den experimentell gewonnenen Daten durch Regression ermittelt und sind in Tabelle 3.3 (S. 45) dargestellt. Die gesamte Kontraktionsbewegung in Inklinations- ($\dot{\phi}$) und Azimutrichtung ($\dot{\theta}$) ergibt sich durch Summation der Einzelkontraktionen der vier Muskeln. Die Integration dieser Gesamtbewegung liefert die Gelenkstellung. Ein Simulationslauf des Modells ist in Abb. 3.35 dargestellt.

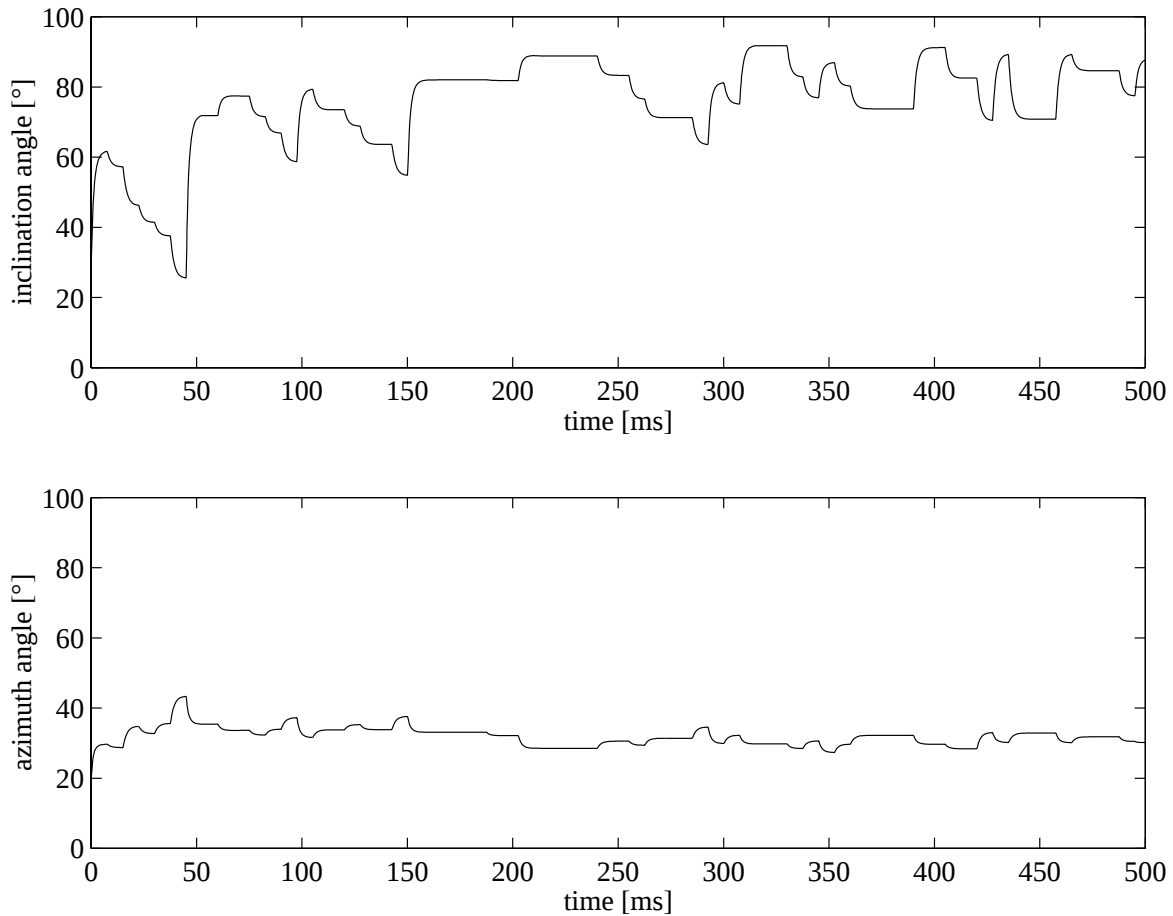


Abbildung 3.35: Simulationslauf des Modells in Abb. 3.34. Oben: Inklinationswinkel ϕ , unten: Azimutwinkel θ . Jeder der vier Muskeln wird mit stochastisch auftretenden Aktionspotentialen (im Mittel 30 pro Sekunde) innerviert.

4 Diskussion

Wie anderen Insekten dienen die Antennen der Biene zur intraspezifischen Kommunikation sowie als Sinnesorgane. Es werden Reize unterschiedlicher Modalitäten wahrgenommen. Die Sinneswahrnehmung kann bei einigen Modalitäten durch Bewegung des Sinnesorgans optimiert oder gar erst ermöglicht werden. So wird z. B. die Duftwahrnehmung deutlich verbessert, wenn ein rascher Austausch des Mediums am Rezeptororgan stattfindet. Die taktile Erkundung von Oberflächentexturen erfordert das zeitliche Aufnehmen von Information, die durch Bewegen eines Sensors über das Objekt erzeugt wird. Die Analyse der auftretenden Bewegungen und der Rolle der beteiligten Muskeln ist Gegenstand dieser Arbeit.

Bienen antworten mit spezifischen Antennenbewegungen auf Reize verschiedener Modalität (Erber et al., 1993b). Die Reaktionen können bilateral oder unilateral sein (Erber und Schildberger, 1980; Kloppenburg und Erber, 1989). Die motorischen Programme der Antennen sind abhängig von Reiz und Reizintensität (Ellerkmann et al., 1989). Das antennale motorische System ist überschaubar. Nur sechs Muskeln und 15 Motoneurone sind involviert (Kloppenburg, 1990; Pribbenow, 1994; Kloppenburg, 1995).

4.1 Spontane Antennenbewegungen

Antennenbewegungen dienen verschiedenen Zwecken. Sie können die Wahrnehmung flüchtiger Duftstoffe verbessern, indem das Volumen der Luft, die mit den Rezeptoren Kontakt haben kann, vergrößert wird. Durch schnelle Abtastbewegungen werden Informationen über Eigenschaften wie Größe, Form oder Textur abgetasteter Objekte und über oberflächengebundene Duftstoffe gewonnen. Taktile Kontakte mit Nestgenossinnen (*antennation*) spielen eine Rolle bei der sozialen Interaktion.

Honigbienen bewegen ihre Antennen nahezu ununterbrochen. Um die Muster, die bei diesen Spontanbewegungen auftreten, zu untersuchen, wurden Antennenbewegungen mit einer Videokamera aufgezeichnet. Dazu wurden die Tiere in Röhrchen fixiert, eines der Antennengelenke festgelegt und das distale Flagellumsegment mit einem weißen Punkt markiert. Die Position der Flagellumspitze konnte nun mittels eines Videoanalysesystems automatisch detektiert werden. Die Methode hat offensichtliche Vorteile: Die Messung ist berührungslos (Ellerkmann (1994) verwendete eine kapazitive Messung, bei der ein Draht an der Antenne befestigt werden mußte, wodurch diese zwar beweglich blieb, aber u. U. in ihrer Bewegung behindert wurde) und unanfällig gegen elektromagnetische Störungen. Durch die Reduktion der Bewegungsfreiheit auf ein Gelenk konnten nur Bewegungen im ein- (Pedicellusgelenk beweglich) bzw. zweidimensionalen (Scapusgelenk beweglich) Raum auftreten. Die Datenerfassung und vor allem die Aus-

wertung wird dadurch erheblich erleichtert. Die Festlegung eines Gelenkes ist jedoch auch ein schwerwiegender Nachteil. Es ist nicht bekannt, inwieweit die Spontanbewegungen dadurch beeinflusst werden. Dies ließe sich durch in Abschnitt 4.9 vorgeschlagene Experimente untersuchen. Die Methode erlaubt eine zeitliche Auflösung bei Halbbildauswertung von 50 Hz. Die räumliche Auflösung des Videoanalysesystems liegt bei 8 bit und damit beim gewählten Bildausschnitt unter 0,05 mm.

Für die Antennenpositionen wurde ein Koordinatensystem eingeführt, das quantitative Aussagen über Stellungen und Geschwindigkeiten erlaubt. Die Gelenkstellungen wurden mittels Winkeln beschrieben. α gibt die Stellung des Pedicellusgelenks wieder im Intervall von 0° (gestreckt) bis 90° (gebeugt). Scapusbewegungen beschreiben eine Viertelskugel. Die dorso-ventrale Position des Scapus ist der Azimutwinkel θ . Bei dorsaler Scapusstellung ist θ gleich 0° , bei ventraler 180° . Die Hebung des Scapus von der Kopfkapsel nach frontal wird durch den Inklinationswinkel ϕ wiedergegeben. Bei 0° liegt der Scapus auf der Kopfkapsel auf, bei 90° wird die Antenne nach frontal gestreckt. Die Winkel entsprechen in etwa antagonistischen Muskelpaaren. α wird durch Flexor und Extensor des Pedicellusgelenks bestimmt, ϕ durch *Levator antennae* und *Adductor lateralis* und θ durch die *Adductores dorsalis* und *ventralis*.

Die Spontanbewegungen der Bienenantenne unter den geschilderten Laborbedingungen weisen komplexe Muster auf, die ohne geeignete Werkzeuge nur schwer zu beschreiben sind. Während bei anderen Arthropoden deutlich rhythmische Muster auftreten (z. B. Schmitt und Ache, 1979), scheint bei der Biene kein eindeutiges Muster zugrundezuliegen. Weiträumige „Suchbewegungen“ wechseln sich mit kleinen „Zitterbewegungen“ ab (Abb. 3.2 auf S. 29). Um das Frequenzspektrum der Scapusbewegungen quantitativ zu beschreiben, wurden diese fouriertransformiert.

Das Fourierspektrum der Scapusbewegungen zeigt keine prominenten Spitzen, es gibt also keine dominanten Frequenzen in den Bewegungsmustern (Abb. 3.3 auf S. 30). Stattdessen handelt es sich um ein breitbandiges Rauschen konstanter Amplitude in einem Frequenzbereich bis ca. 1 Hz. Jenseits dieser Frequenz fällt die Amplitude proportional zu $1/f$ ab. Die Videoanalyse erlaubt bei Halbbildauswertung Bildraten von 50 Hz, die Grenzfrequenz liegt also bei 25 Hz. Hochgeschwindigkeitsaufnahmen (Bildrate 200 Hz) der Antennenbewegungen zeigten, daß auch im Frequenzband von 25 bis 100 Hz keine Komponenten mit einem signifikanten Beitrag zum Bewegungsmuster liegen.

Fourierspektren, die in einem weiten Frequenzbereich proportional zu f^α verlaufen, findet man in vielen Systemen (Kruel, 1992, Kap. 4.1.5). α liegt dabei zwischen $-0,8$ und $-1,4$, bei den Scapusbewegungen der Biene bei $-1,1$ (Azimut-) bzw. $-1,2$ (Inklinationsbewegungen). Gut untersucht ist dieses $1/f$ -Rauschen vor allem in physikalischen Systemen, wobei die Ursachen dafür weitgehend unklar sind. Biologische Systeme, in denen $1/f$ -Rauschen beobachtet wird, sind z. B. der arterielle Blutdruck und der renale Blutfluß (Wagner und Persson, 1994), die Herzratenvariabilität und die neuronale Aktivität bei Tintenfischen. Breitbandiges Rauschen kann auf rein stochastischen Prozessen basieren, es kann aber auch ein Indikator für niedrigdimensionale nichtlineare Dynamik sein (Kruel, 1992; Wagner und Persson, 1995). Im letzteren Fall könnte der Generator motorischer Muster aus einer Menge gekoppelter Oszillatoren bestehen. Dies könnte Gegenstand weiterer Untersuchungen sein (s. Abschnitt 4.9). Die $1/f$ -Charakteristik z. B. des Blutdrucks kann durch chirurgische und pharmakologische Denervation beeinflusst werden (Wagner und Persson, 1994).

Um den Einfluß von Reizen, Erregung und präsumptiven Modulatoren auf die Antennenbewegungsmuster vergleichen zu können, war es nötig, einige Parameter, die das Frequenzspektrum beschreiben, zu extrahieren. Die Form des Fourierspektrums ähnelt dem Frequenzgang eines Tiefpaßfilters erster Ordnung (Abb. 2.4, S. 21). In Analogie dazu wurden Parameter des Frequenzspektrums der Antennenbewegung verwendet, die üblicherweise zur Beschreibung solcher Filter Verwendung finden. Der Frequenzgang eines Tiefpaßfilters läßt sich durch zwei Asymptoten approximieren, die sich bei einer bestimmten Frequenz, der Eckfrequenz f_c , schneiden (Cruse, 1996). Die horizontale (konstante) Asymptote a gibt beim Filter die Durchlässigkeit für niederfrequente Signale an, bei den Antennenbewegungen spiegelt sie die Energie im Frequenzband $< f_c$ wider. Jenseits f_c fällt die Energie proportional zur Frequenz ab. Die Asymptote folgt der Funktion f^α mit $\alpha < 0$. Beim Filter gibt α an, wie stark höhere Frequenzen gedämpft werden, bei den Antennenbewegungen, wie hoch der Anteil höherer Frequenzen am Signal ist. Vergleiche dazu auch Abschnitt 2.6.2 auf S. 20.

Der appetitive Reiz der Präsentation von $\sim 30\%$ iger Saccharoselösung an den Antennen hat verschiedene Eigenschaften. Als unkonditionierter Stimulus löst er reflexartig das Herausstrecken der Proboscis aus (*proboscis extension reflex*, PER). Er dient als Verstärker bei der Konditionierung (Erber et al., 1993a) und führt zu einer Sensibilisierung des PER auf Saccharose, Wasserdampf und Duftreize (Hammer et al., 1994). Auf die Antennenbewegung hat er eine zunächst deutliche aber transiente Wirkung: Die Antennen werden in Reizrichtung gehalten und reagieren mit kleinamplitudigem Zittern. Bereits nach einigen Sekunden ist jedoch wieder die weiträumige Spontanbewegung zu beobachten. Eine genaue Untersuchung der Bewegung auf der Basis des Frequenzspektrums zeigt jedoch, daß der erhöhte Erregungszustand längeranhaltende Effekte hat. Während die Gesamtenergie auch nach der Stimulation unverändert bleibt, verschieben sich einige der o.g. Parameter des Frequenzspektrums: Die mittlere Energie im niederfrequenten Band (horizontale Asymptote) nimmt bei Inklinationsbewegungen stark ab, die Eckfrequenz vermindert sich bei Azimutbewegungen und bei beiden Dimensionen fällt die Approximationsgerade im höherfrequenten Bereich flacher ab. Über das gesamte Frequenzspektrum der Scapusbewegungen kommt es also zu einer Betonung höherfrequenter Anteile auf Kosten der niederfrequenten. Insbesondere bei Inklinationsbewegungen, also jenen, bei denen die Antenne nach frontal gerichtet wird, finden nach der Stimulation langsame großamplitudige Bewegungen seltener statt, sind aber noch deutlich zu beobachten.

Die Interpretation der biologischen Bedeutung des Effektes ist hypothetisch. Es kann aber als sicher gelten, daß das veränderte Bewegungsmuster etwas mit der Sinneswahrnehmung zu tun hat. Das Tier befindet sich nach der Stimulation in einem erhöhten Erregungszustand. In diesem sind viele physiologische Prozesse verändert, das Tier reagiert auf geringere Reizschwellen (Sensibilisierung) (Hammer et al., 1994) und das Umfeld wird verstärkt taktil erkundet (Pribbenow et al., 1992; Pribbenow, 1994). Vermutlich wird beim erregten Tier durch aktive Bewegungen die Duftwahrnehmung verbessert. Düfte sind im Medium in der Regel nicht homogen verteilt. Sie bilden stattdessen „Duftfahnen“ höherer Konzentration innerhalb des Mediums, in dem zum Teil keine oder nur wenige Duftstoffmoleküle auftreten (Murlis et al., 1992). Ein fliegendes Insekt bewegt sich und damit seine Duftrezeptoren relativ zum Medium, eine ständige Änderung der Duftstoffkonzentration wird so sichergestellt. Dies ist zum einen wichtig,

um überhaupt Duftstoffmoleküle zu binden. Zum anderen adaptieren die meisten olfaktorischen Rezeptorzellen schnell. Selbst bei hoher Duftstoffkonzentration wird der Duft schnell nicht mehr wahrgenommen. Ein ständiger Gradient muß erzeugt werden. Bei ruhenden oder laufenden Insekten wird dies durch aktive Bewegungen des Rezeptororgans erreicht (Ehmer und Gronenberg, 1997b).

Inwieweit die Veränderung des Bewegungsmusters nach Saccharosestimulation die olfaktorische Wahrnehmung beeinflusst, kann experimentell überprüft werden. Durch Messen der Reizschwelle für luftgetragene Duftstoffe bekäme man zumindest einen indirekten Hinweis auf eine optimierte Duftwahrnehmung. Die Messung könnte durch die Bestimmung der PER-Häufigkeit, oder durch Ableitungen am Muskel M17, der das Herausstrecken der Proboscis vermittelt, erfolgen (Rehder, 1987; Hammer et al., 1994). Hierbei ließen sich Effekte einer allgemeinen Sensitisierung nicht ausschließen. Deshalb wären Ableitungen an den olfaktorischen Afferenzen zu bevorzugen. Die Beweglichkeit der Antenne darf dabei aber nicht eingeschränkt werden.

Bei der taktilen Naherkundung ist die Bedeutung des vermehrten Abtastens (Pribbenow et al., 1992; Pribbenow, 1994) offensichtlich. Der Saccharosereiz steht in engem Zusammenhang mit der Nahrungsaufnahme, entweder beim Blütenbesuch oder bei der Trophallaxis, dem gegenseitigen Füttern von Stockgenossinnen. In beiden Fällen ist eine vermehrte Erkundung des Umfelds sinnvoll. Auf der Blüte kann die Biene Informationen über die Feinstruktur der Oberfläche gewinnen (Lopatina et al., 1982). Dafni und Kevan (1996) konnten nachweisen, daß sich Bienen auf der Blüte nach Oberflächenmerkmalen, sog. *nectar guides* orientieren. Verschiedene Arten lassen sich anhand der taktil wahrnehmbaren Textur unterscheiden (Kevan und Lane, 1986). Daß die Textur erlernbar ist, konnte durch Konditionierungsexperimente nachgewiesen werden (Erber et al., 1998). Sowohl im Freiland als auch im Labor lassen sich Bienen auf taktile Muster konditionieren. Im Labor konnte gezeigt werden, daß das Abtasten von Kanten eines Objektes eine andere Form der Plastizität bewirkt als das Abtasten der Oberfläche (Erber et al., 1997). Bewegungen des Rezeptororgans auf der Oberfläche unterstützen die taktile Wahrnehmung (Goodwin, 1993). Bei der Trophallaxis spielen Antennenbewegungen vermutlich eine Rolle für die interindividuelle Kommunikation. Zum einen werden Kontaktduftstoffe beim Abtasten wahrgenommen, zum anderen stimuliert die sog. *antennation* die Futterabgabe bei der fütternden Biene. Weiträumige Bewegungen der Antennen sind dabei in beiden Fällen nicht nötig.

Die Fouriertransformation hat sich als brauchbares Mittel herausgestellt, die Dynamik der Antennenbewegung zu charakterisieren. Insbesondere die aus dem Fourierpektrum extrahierbaren Parameter Eckfrequenz (f_c), mittlere Energie im Niederfrequenzbereich (a) und Steilheit des Energieabfalls im Hochfrequenzbereich (α) bieten ein Werkzeug, Bewegungsmuster unter verschiedenen Bedingungen, z. B. unter verschiedenen Reizkonditionen, die zu antennalen Reaktionen führen, quantitativ zu vergleichen. Ferner bietet die Zeitreihenanalyse einen ersten Ansatz, die Rolle präsumptiver Modulatoren bei der Generierung der motorischen Muster aufzuklären.

4.2 Modulation der Antennenbewegungen

Die Reizung der Honigbiene mit Saccharoselösung hat einen deutlichen Effekt auf die Bewegungsmuster der Antennen. Dieser Reiz führt zu einem erhöhten Erregungszustand des Tieres. Bei verschiedenen Insekten ist der Octopaminspiegel mit Streß korreliert (Davenport und Evans, 1984b; Corbet, 1991), u. a. auch bei der Honigbiene (Harris und Woodring, 1992). Bei verschiedenen Verhaltensparadigmen der Biene ähnelt der Effekt einer Octopaminapplikation in das Zentralnervensystem dem der Stimulation der Antennen mit Saccharoselösung (Erber et al., 1993a; Hammer, 1993). Durch Injektion von 10^{-5} M OA in den Dorsallobus, das antennenmotorische Zentrum im Bienenhirn, konnte Pribbenow (1994) eine Erhöhung der Aktionspotentialfrequenz in einem den Flexor innervierenden Motoneuron bewirken. Die Injektion von Serotonin (5HT) in gleicher Konzentration hatte den gegenteiligen Effekt. Dieser „physiologische Antagonismus“ der beiden Neuropharmaka ist bei Wirbellosen nicht unbekannt. Schon Kravitz et al. (1985) konnten durch Injektion des einen oder des anderen Pharmakons in die Hämolymphe des Hummers dominante bzw. subordinate Stellungen des Tieres auslösen. Viele verschiedenen Verhaltensantworten der Biene werden durch OA und 5HT gegensätzlich beeinflusst, einen Überblick geben Erber et al. (1993a).

Die beiden biogenen Amine OA und 5HT waren mögliche Kandidaten für Modulatoren der antennalen Bewegungsmuster. Ihre Wirkung wurde daher durch Injektion geringer Mengen (< 1 nl) in den Dorsallobus getestet. Insbesondere die OA-Wirkung sollte der des Saccharosereizes entsprechen. Bei dem gewählten experimentellen Ansatz konnten keine Effekte von OA bzw. 5HT gemessen werden. Die Ursachen können vielfältig sein:

1. Die getesteten Neuropharmaka sind nicht die, die den Stimuluseffekt vermitteln.
2. Bei der Injektion wurde das Zielneuropil, der Dorsallobus, verfehlt. Diese Fehlerquelle konnte durch die reproduzierbare Injektion von fluoreszierenden Latexkügelchen und anschließende Überprüfung des Injektionsortes ausgeschlossen werden.
3. Der Effekt der Saccharosestimulation muß nicht zwingend im Dorsallobus lokalisiert sein. Sollte es sich um eine Veränderung der Eigenschaften eines spezialisierten Mustergenerators handeln, kann dieser auch in anderen Regionen des Zentralnervensystems liegen. Ein Kandidat für die Vermittlung des Saccharosestimulus (US) der klassischen olfaktorischen Konditionierung ist das VUM_{mx1} . Dieses wahrscheinlich octopaminerge Neuron der Biene projiziert in mehrere Neuropile, die mit dem Geruchslernen in Zusammenhang gebracht werden (Hammer, 1993). Es hat aber keine Verzweigungen im Dorsallobus. Möglicherweise ist ein Mustergenerator in einem der Projektionsgebiete von VUM_{mx1} lokalisiert.
4. Die getesteten Konzentrationen sind nicht adäquat. Über die im Gewebe vorliegende (physiologische) Konzentration der biogenen Amine ist nichts bekannt (Erber et al., 1993a). Zwar ist mit der gewählten Konzentration ein Erfahrungswert berücksichtigt worden, der im Labor bereits interpretierbare Ergebnisse geliefert hat (Pribbenow, 1994), für das untersuchte Verhalten können jedoch ganz andere Konzentrationsabhängigkeiten gelten. Gerade OA ist bekannt für seine

oft komplexe Dosis-Wirkungs-Beziehung. Für die Modulation eines visuell induzierten antennalen Reflexes ist die Dosis-Wirkungs-Kurve U-förmig mit einem Maximum bei 10^{-6} M (Applikation über das ganze Gehirn) (Erber et al., 1993a, Fig. 1). Bei der Druckinjektion, die auch in der vorliegenden Arbeit verwendet wurde, kommt (beim gleichen Verhaltensparadigma) noch eine stark von der Konzentration abhängige Zeitabhängigkeit der Wirkung hinzu (Erber et al., 1993a, Fig. 2).

5. Über die Geschwindigkeit der Inaktivierung von 5HT und OA im Gewebe sowie über die Mechanismen, die das Tier zur Gegenregulation bei einer hochdosierten Applikation hat, ist bisher nichts bekannt.

Zur Klärung der Ursachen werden folgende Experimente vorgeschlagen:

- zu 1 Weitere Pharmaka können getestet werden (Screening). Vielversprechend sind z. B. Tyramin, der metabolische Vorläufer von OA, oder Dopamin.
- zu 3 Der Alternative, durch Injektion von OA in verschiedene Gehirnregionen nach dem Wirkort zu suchen, ist die elektrische Stimulation des VUM_{mx1} vorzuziehen. Sollte es sich wirklich um einen allgemeinen Mediator des Saccharosereizes handeln, könnten so die zellulären Mechanismen der Modulation der Mustergenerierung aufgeklärt werden.
- zu 4 Gerade für OA mit seiner oft komplexen Dosis-Wirkungs-Beziehung bieten sich Dosis-Wirkungs-Studien an. Dabei sollte sowohl ein breiter Konzentrationsbereich als auch eine feine Abstufung der untersuchten Konzentrationen getestet werden.
- zu 5 Anstatt die Modulatorkandidaten zu applizieren, böte es sich an, auf Agonisten oder Antagonisten auszuweichen. Durch Reserpin-Applikation ließen sich weiter Rückschlüsse auf die Rolle biogener Amine ziehen. Reserpin führt zur Entleerung aminhaltiger sekretorischer Vesikel im Zentralnervensystem (Braun und Bicker, 1992).

4.3 Muskeln des antennalen Systems

Um den Anteil der verschiedenen Muskeln des antennalen Systems der Honigbiene an der Antennenbewegung zu quantifizieren, wurden simultan Muskelaktivität und Bewegungen aufgezeichnet. Die Technik der Bewegungsaufzeichnung ist vergleichbar mit der zur Analyse der Spontanbewegungen und des Einflusses von Saccharosereiz und Modulatoren und wird an anderer Stelle diskutiert (4.1).

Die Muskelableitungen erfolgten extrazellulär mit Wolframelektroden (im Muskelsystem des Scapus, MSS) oder Stahldraht (im Muskelsystem des Pedicellus, MSP). Die plazierten Elektroden beeinflussen die Beweglichkeit der Antenne nicht signifikant. Durch die extrazelluläre Ableitung kann die Aktivität mehrerer Muskeln gleichzeitig gemessen werden. Dieser offensichtliche Vorteil hat aber auch einen schwerwiegenden Nachteil: Die Aktivität großer Muskeln wie beispielsweise der Flugmuskulatur oder der

Mandibelmuskeln kann die Messung stören. Bei Ableitungen im MSP ergab sich dieses Problem nicht. Der Scapus ist offensichtlich vom Rest des Tieres elektrisch gut isoliert, so daß hier nur die Aktivität von Extensor und Flexor gemessen wurde. In MSS-Ableitung traten gelegentlich bei starker Mandibelbewegung Impulse der Mandibelmuskulatur auf. Diese ließen sich aber aufgrund der stark abweichenden Amplitude und Form gut herausfiltern.

Bei Ableitungen am im Scapus gelegenen Muskelsystem von *Schistocerca* lassen sich zwei bis drei, gelegentlich sogar drei bis vier verschiedene Klassen von Aktionspotentialen¹ anhand der Größe und Form unterscheiden. Jeder Muskel ist von fünf Motoneuronen eines langsamen, intermediären, schnellen und inhibitorischen Typs innerviert (Saager und Gewecke, 1989). In der vorliegenden Arbeit erfolgte die Zuordnung der Muskelpotentiale zu bestimmten *Clustern* anhand verschiedener Eigenschaften der Wellenform, wobei die Gesamtamplitude (Spannungsdifferenz zwischen Minimum und Maximum) und die Breite (Zeitspanne zwischen Minimum und Maximum) die besten Ergebnisse brachte. Die maximale Anzahl so aufzulösender *Cluster* betrug drei Muskeln des MSS. Eine Analyse der Koaktivität fand nicht statt. Anhand der Richtung der durch die Muskelpotentiale induzierten Bewegung erfolgte die Zuordnung der *Cluster* zu den Muskeln.

Eine Zuordnung der Muskelpotentiale zu verschiedenen Motoneuronen ist schwierig.² Zwar konnte Pribbenow (1994) Flexorpotentiale mit unterschiedlichen Maximalamplituden verschiedenen Motoneuronen zuordnen, doch hängt nach Saager und Gewecke (1989) die Größe der Muskelpotentiale primär von den Ableitbedingungen ab und nicht von den Größenverhältnissen verschiedener motorischer Einheiten. Um Muskelpotentiale anhand der Maximalamplitude zu diskriminieren, müßte die Verteilung dieser Amplituden nicht nur zweigipflig sein, wie das bei extrazellulären Ableitungen im MSP der Fall ist, sie dürften auch nicht überlappen, da sonst eine eindeutige Zuordnung nicht möglich ist. Letzteres ist bei der gewählten Technik nicht der Fall.

Für jedes Muskelpotential wurde die daraus resultierende Bewegung ermittelt. Diese wurden in Abhängigkeit von der Antennenstellung über alle gemessenen Impulse gemittelt. Da der Bewegungsverlauf recht einheitlich ist, und die Behandlung der gesamten Trajektorien ein Modell nur unnötig verkompliziert, wurde die aus einem Muskelpotential resultierende Bewegungsgeschwindigkeit durch die Berechnung der durchschnittlichen Geschwindigkeit in den ersten 100 ms angenähert. Durch Regression ließen sich einfache Funktionen approximieren, die die Muskelpotential-induzierte Bewegung quantitativ beschreiben und in ein Modell einfließen können (s. Abschnitt 4.6).

Eine Typisierung der Muskeln ist mit den gewonnenen Daten leider nur sehr eingeschränkt möglich. Die Antennenmuskeln verschiedener Ameisenspezies sind gut charakterisiert (Ehmer und Gronenberg, 1997a). Eine solche Untersuchung liegt für die Honigbiene nicht vor. Die Daten zu den Ameisen weisen eine starke, durch die Lebensweise bedingte interspezifische Heterogenität auf, so daß ein Schluß auf die Biene hier

¹Der Begriff Aktionspotential ist hier etwas unglücklich, denn es konnten an Arthropodenmuskeln bisher keine spannungsabhängigen Kanäle nachgewiesen werden. Er wurde aber von den Autoren so gewählt. Vermutlich handelt es sich um gradierte Potentiale.

²Die Zusammenhänge zwischen Scapusbewegungen und Aktivität der Motoneurone des MSS wurde von Ellerkmann (1994) untersucht. Ihre Aussagen sind qualitativ bis halb-quantitativ und werden in Abschnitt 4.6 in den Kontext der vorliegenden Arbeit gebracht.

nicht möglich ist. Auch der Nachweis, daß der Flexor der Biene aus einem schnellen, phasischen und einem langsamen, ebenfalls phasischen Teil besteht (Pribbenow, 1994), steht auf physiologischer (z. B. pH-Abhängigkeit der Myosin-ATPase-Färbung) wie morphologischer Ebene (Sarcomerlängenmessung) noch aus. In der vorliegenden Arbeit ließen sich keine Geschwindigkeitsunterschiede bei verschiedenen Muskelpotentialformen des Flexors feststellen.

Pribbenow (1994, S. 122–129) nimmt in ihrem Modell eine tonische Aktivität des Extensors an. In den hier vorliegenden Experimenten wurde im Extensor nur dann eine Aktivität gemessen, wenn die Streckung über ein gewisses Maß hinaus ging. Die durch Extensorpotentiale induzierte Bewegung ist aber minimal. Die Streckung des Pedicelgelenks wird vermutlich weniger durch neuronale Aktivität bestimmt als vielmehr durch die elastischen Eigenschaften des Extensors („Gummibandeffekt“).

Die aus den Regressionen ermittelten maximalen Geschwindigkeiten deuten an, daß der *Adductor lateralis* etwa um den Faktor 3 schneller ist als der langsamste Muskel des MSS, der *Adductor ventralis*.

4.4 Mögliche Rolle der Motoneurone

Ellerkmann (1994) hat den Zusammenhang zwischen der Aktivität der Motoneurone des MSS und den Scapusbewegungen qualitativ bis halb-quantitativ analysiert. Sie konnte ihre Ableitungen neun Motoneurontypen zuordnen. Die Unterschiede lagen in der Muskelinnervation, der Lage der Somata und dem Aktivitätstypus. Die Ergebnisse sind in Tabelle 4.1 zusammengefaßt. Jedes Motoneuron des MSS projiziert auf

	Cluster ^a	innervierter Muskel	Aktivitätstyp	max. Aktivität	Scapusstellung ^b
1	V	<i>A. lateralis</i>	phasisch	100 Hz	L, F
2	V		tonisch	80 Hz	L, F, D
3	V		phasisch-tonisch	280 Hz	L, F, D
4	D	<i>A. dorsalis</i>	phasisch	90 Hz	F ^c
5	D		phasisch-tonisch	160 Hz	n. a.
6	V	<i>A. ventralis</i>	phasisch	80 Hz	n. a.
7	D		phasisch-tonisch	110 Hz	—
8	PD	<i>Levator</i>	phasisch	66 Hz	—
9	V		phasisch	44 Hz	?

Tabelle 4.1: Eigenschaften der Motoneurone des MSS (nach Ellerkmann, 1994). L = lateral, F = frontal, D = dorsal, PD = posterior-dorsal, V = ventral, — = keine Korrelation

^aLage des Somas im DL, Bezeichnung nach Kloppenburg (1990)

^bScapusstellungen, bei der hohe Motoneuronaktivität gemessen werden konnte

^cdorsale Stellung trat in der Messung nicht auf

genau einen Muskel. Ein *Common inhibitor*, der bei anderen motorischen Systemen der Körperanhänge von Arthropoden verbreitet ist, ließ sich bei der Biene nicht nachweisen (Ellerkmann, 1994). Bei keinem der abgeleiteten Motoneurone ließ sich eine eindeutige

Korrelation zwischen Aktionspotentialfrequenz und Scapusstellung finden. Ein Problem bei dem Ansatz ist die statische Betrachtung. Die Aktionspotentiale (und damit auch die Potentiale der innervierten Muskeln) führen innerhalb von wenigen ms zu meßbaren Bewegungen, die maximale Geschwindigkeit ist bereits nach weniger als 100 ms erreicht. Ellerkmann (1994) betrachtet jedoch nicht die *Bewegung* sondern die *Stellung* des Scapus. Die von ihr gewählte *bin*-Breite von 500 ms ist so lang, daß die Dynamik der Bewegung bei der Mittelung untergeht. In der vorliegenden Arbeit wurde deshalb die Bewegung auf der Ebene einzelner Muskelpotentiale betrachtet. Die damit in Kauf genommenen Nachteile, Muskelpotentialsalven nicht geeignet auswerten und Koaktivität von Muskeln nicht betrachten zu können, sind für die Fragestellung nicht schwerwiegend.

Mit der verwendeten Technik ließen sich die Muskelpotentiale nicht nach den verschiedenen Motoneuronen diskriminieren, so daß keine direkten Rückschlüsse auf die Rolle der verschiedenen Motoneurone gezogen werden konnten. Da aber in allen Ableitungen ein deutlicher Zusammenhang zwischen einzelnen Muskelpotentialen und einer anschließenden Bewegung bestand, sind jene phasischen Komponenten zuzuordnen.

4.5 Operante Konditionierung und neuronale Aktivität

Die erste operante Konditionierung bei Insekten wurde bereits von Horridge (1962) durchgeführt. Ein Insekt (Schabe oder Heuschrecke) wird darauf dressiert, eine bestimmte Stellung des Beines einzustellen. Es vermeidet so einen bestrafenden Reiz. Der Lerneffekt ist am Verhalten, der veränderten Beinstellung, zu beobachten. Alternativ kann die elektrische Aktivität eines Motoneurons durch Elektromyogramme gemessen und konditioniert werden. Der Strafstimulus wird in diesem Fall gegeben, wenn die mittlere Aktivität über eine festgelegte Schwelle steigt bzw. unter eine solche fällt. So läßt sich die Aktionspotentialfrequenz eines Motoneurons erfolgreich nach oben resp. nach unten konditionieren. Dies funktioniert auch mit einem isolierten Ganglion. (zit. nach Hoyle, 1982).

Kisch und Erber (1998) übertrugen diese sog. Horridge-Prozedur auf das antennale System der Honigbiene. Hier diente das Abtasten eines Objektes als Aktion, die durch Fütterung belohnt wurde. Auch die mittlere Aktivität eines antennalen Motoneurons kann durch Belohnung erhöht werden (Kisch et al., 1998). Im Kontext dieser Arbeit wurde untersucht, welche Aktivitätsmuster im den Flexormuskel innervierenden Motoneuron auftreten und welche Veränderung dieser Muster im Zusammenhang mit der erhöhten Aktivität nach der Konditionierung steht. Zwei alternative Hypothesen wurden angenommen:

1. Die Generierung von Aktionspotentialen im unkonditionierten Tier ist rein stochastisch, die Ereignisse unterliegen einem Poisson-Prozeß. Durch Konditionierung kommt es zu Salven regelmäßiger hochfrequenter Aktionspotentiale mit dazwischenliegenden Ruhepausen.
2. Die Konditionierung beeinflusst den Aktionspotentialgenerierungsprozeß nicht, nur die Häufigkeit der Aktionspotentiale ändert sich.

Durch Berechnung von *Inter-Event-Time*-Histogrammen konnte nachgewiesen werden, daß die Hypothese 1 nicht zutrifft. Die zeitlichen Abstände zwischen den Ereignissen sind nicht Poisson-verteilt, ein echter Poisson-Prozeß liegt nicht vor. Hierzu müßten mehr Ereignisse sehr dicht aufeinander folgen. Dies ist aber aufgrund der Refraktärszeiten des Motoneurons nicht möglich. Auch sind die Ereignisse nicht unabhängig voneinander. Impulspaare mit relativ konstantem zeitlichem Abstand treten häufig auf. Vermutlich handelt es sich hier um einen Super-Poisson-Prozeß, bei dem die einzelnen Ereignisse zwar im statistischen Sinn „selten“ sind, wenn sie aber eintreten, dann in der Regel gehäuft. Dies ist nicht ungewöhnlich für neuronale Codes.

Vergleicht man die *Inter-Event-Time*-Histogramme vor und nach der Konditionierung, so zeigt sich, daß die Form der Verteilung konstant bleibt. Es findet nur eine Verschiebung zu kürzeren Zeitintervallen statt. Die Konditionierung erhöht also nur die Wahrscheinlichkeit für das Eintreten eines Aktionspotentials, die Generierung eines festen Rhythmus findet nicht statt.

Für das von Woollacott und Hoyle (1977) verwendete Präparat konnte gezeigt werden, daß das trainierte Motoneuron einen intrinsischen Rhythmus hat, der stark von synaptischen Eingängen überlagert ist. Die Konditionierung führt zu einer Verschiebung der Frequenz dieses Schrittmachers (Hoyle, 1982). Für die Biene steht eine Untersuchung der Eigenschaften des Flexormotoneurons aus. Ein erster Schritt zur Untersuchung, ob die Verschiebung der mittleren Frequenz auf intrinsischen Eigenschaften des Motoneurons oder auf einer Veränderung in einem präsynaptischen Schaltkreis beruht, wäre eine Blockade der synaptischen Eingänge (z. B. durch Ca^{2+} -freien Ringer).

4.6 Modell

Erste Modelle zur Bewegungssteuerung der Bienenantenne lieferten Ellerkmann (1994) und Pribbenow (1994). Letztere konzentriert sich dabei auf die Mechanismen des Ab tastens durch Bewegungen im Pedicellusgelenk, die Rolle eines den Flexor innervierenden Motoneurons und die Modulation von neuronaler Aktivität, Berührungsdauer und -häufigkeit. Das Modell erklärt sowohl, wie ein dorsal der Antenne plaziertes Objekt ohne sensorische Rückkopplung vom Flagellum abgetastet wird, als auch wie die gemessenen Berührungszeiten und -häufigkeiten zustande kommen, und auf welchem Weg die Modulation ihre Wirkung auf die beiden letztgenannten Parameter entfaltet. Ellerkmann (1994) versucht, in ihrem Modell der Scapusbewegungen die natürlichen Verhaltensmuster einzubeziehen. Die Aktivität ist demnach statt mit der *Scapusbewegung*³ mit verschiedenen Bewegungs*modi* korreliert. Die Modi werden durch Flächen („Mengen“) eines zweidimensionalen Koordinatensystems beschrieben. Die eine Koordinate ist die *Distanz*, die bei der Bewegung zurückgelegt wird, die andere die *Geschwindigkeit*. Schnelle Bewegungen zwischen nah zusammenliegenden Raumpunkten sind z. B. bei der Kommunikation mit den Antennen im Stock zu beobachten, langsame Bewegungen mit wechselnd kurzer und weiter Distanz beim Erkunden der Umgebung⁴. Das Antennensystem kann sich entweder in einem dieser Modi befinden oder stetig zwischen verschiedenen Modi wechseln. Ellerkmann (1994) vermutet die Lokalisation der Kon-

³besser vielleicht: *Scapusstellung*

⁴Hier spielt vermutlich die Olfaktion eine größere Rolle, s. o.

trollinstanz über die Scapusbewegungen im Dorsallobus. Interneurone zwischen den Motoneuronen könnten eine Rolle spielen, möglicherweise aber auch direkte synaptische Kontakte, wie sie z. B. zwischen Motoneuronen von Flexor und Extensor der Tibia von *Schistocerca* nachweisbar sind (Burrows et al., 1989).

Im Kontext dieser Arbeit sollte ein Modell des antennomotorischen Systems der Biene erstellt werden, das anatomische und physiologische Eigenschaften des Systems berücksichtigt und quantifizierbare Zusammenhänge zwischen den Teilen des Systems einbezieht.

Die an der Bewegung der Honigbienenantenne beteiligten Einheiten sind mehr oder weniger gut untersucht und zum Teil gar nicht bekannt. In der vorliegenden Arbeit wurde versucht, einige der Lücken zu schließen.

Die Organisation des motorischen Systems der Insektenantenne wurde bei verschiedenen Taxa neurophysiologisch und neuroanatomisch untersucht, bei *Gryllus* (Honegger et al., 1990; Allgäuer und Honegger, 1993; Bartos et al., 1994; Horseman et al., 1997), *Locusta* (Bauer und Gewecke, 1991; Bauer, 1991) und der Honigbiene *Apis* (Kloppenburg, 1995). Der neuronale Schaltkreis, der die Bewegungen steuert, ist bei diesen Insekten im Deuto-Tritocerebrum lokalisiert (Homberg et al., 1989; Honegger et al., 1990), eine Region, die von Rospars (1988) als *antennal mechanosensory motor centre* (AMMC) bezeichnet wurde. Hierhin projizieren die antennalen Motoneurone (Honegger et al., 1990; Kloppenburg, 1995), antennale propriozeptive Afferenzen (Honegger et al., 1990) und weitere mechanosensorische Sensillen der Antenne (Kloppenburg, 1990; Horseman et al., 1997). Die Quelle der motorischen Kommandos ist unbekannt. Bei *Schistocerca* gibt es Hinweise auf einen lokalen Schaltkreis, der in einen Widerstands- oder Assistenzreflex involviert ist (Saager und Gewecke, 1989). Im Modell wird die Mechanosensorik nur am Rande berücksichtigt werden, da zunächst nur Bewegungen ohne Rückkopplung (Spontanbewegungen) modelliert werden sollen. Außerdem konnte nachgewiesen werden, daß zumindest für die Bewegungen bei der taktilen Naherkundung die mechanosensorische Rückkopplung nicht von Bedeutung ist (Pribbenow et al., 1992; Pribbenow, 1994).

Einen Überblick über die Elemente des antennalen Systems der Biene und deren Zusammenspiel gibt Abb. 4.1

Nach dem in Abschnitt 1.4 (S. 4) dargestellten Bau des Systems sind die Stellungen der Antenne die am Ausgang des Systems meßbaren Variablen. Diese werden nach der in dieser Arbeit eingeführten Terminologie als Winkel des Pedicellusgelenkes α und als Inklinations- und Azimutwinkel ϕ und θ des Scapusgelenkes wiedergegeben. Die Stellung des Pedicellusgelenkes wird von zwei Muskeln, die des Scapusgelenkes von vier Muskeln bestimmt. Das Muskelsystem des Pedicellus (MSP) wird von mind. sechs, das des Scapus (MSS) von mind. neun Motoneuronen innerviert. Ein Generator motorischer Muster ist hypothetisch und wird im Abschnitt 4.7 diskutiert. Hier sei nur angenommen, er generiere die Aktionspotentialsequenzen der Motoneurone.

Aus den Ergebnissen der Zeitreihenuntersuchungen können vorsichtige Rückschlüsse auf die motorischen Muster gezogen werden. Als ein einfaches Modell soll angenommen werden, die Generierung der Aktionspotentialsequenzen basiere auf stochastischer exzitatorischer Transmitterfreisetzung an den Eingangsregionen der Motoneurone. Die durch Muskelableitungen am Flexor indirekt gemessene Aktivität eines Motoneurons und die Zeitreihenanalyse der Bewegung legen einen solchen stochastischen Prozeß nahe (3.5). Die Überschreitung eines Schwellenwertes im Motoneuron führt zur Aktionspoten-

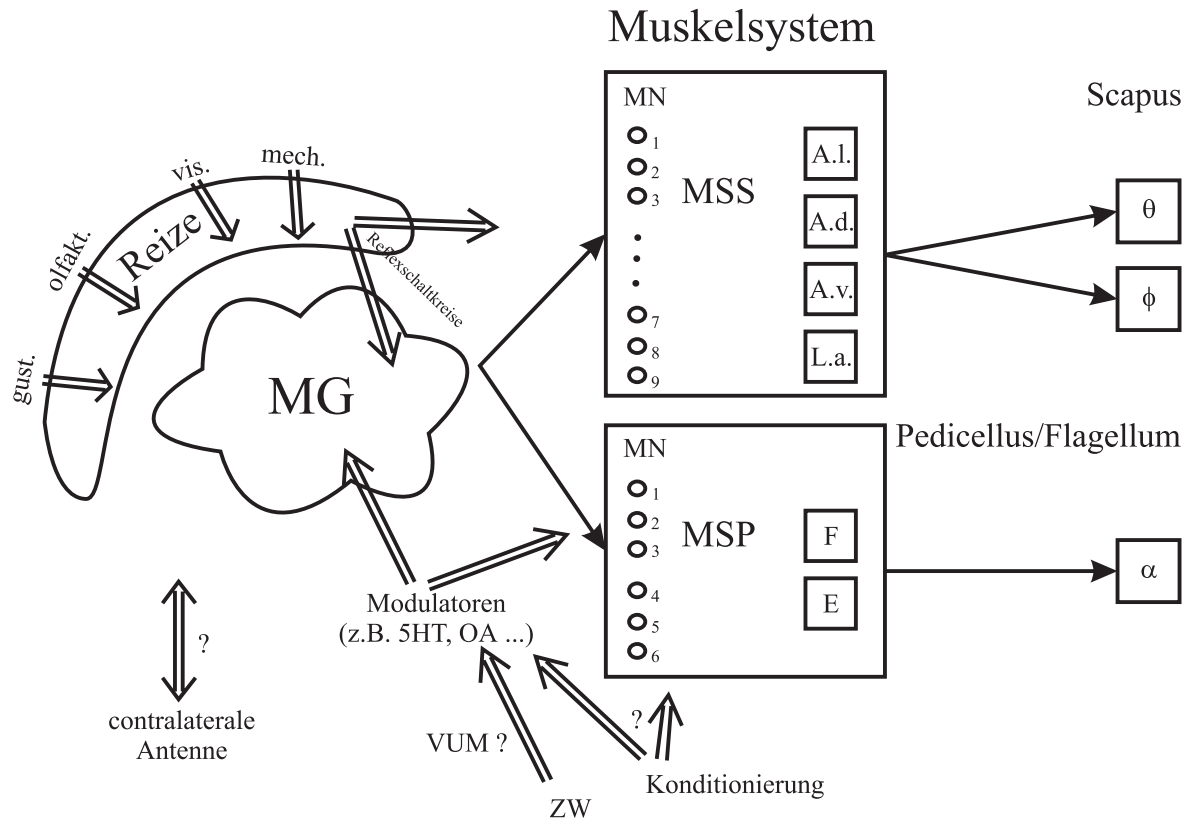


Abbildung 4.1: Modell des antennomotorischen Systems der Honigbiene (Übersicht). MG = Mustergenerator, ZW = Zuckerwasserreiz, VUM = ventrales unpaares medianes Neuron (oft octopaminerg), F = Flexor, E = Extensor, A.l. = Adductor lateralis, A.d. = Adductor dorsalis, A.v. = Adductor ventralis, L.a. = Levator antennae, ϕ = Azimutwinkel des Scapugelenks, θ = Inklinationswinkel des Scapugelenks, α = Winkel des Pedicellusgelenks

tialbildung, die mit geringer Latenz im Muskel meßbar ist. Dieses Muskelpotential führt zur Kontraktion, deren resultierende Bewegung experimentell bestimmt worden ist. Anhand von Simulationsexperimenten auf Basis der in Abschnitt 3.6 erstellten Modelle, die die Ergebnisse der Messungen berücksichtigten, lassen sich verschiedene Hypothesen der Mustergenerierung testen.

Der Saccharosereiz führt zu einem veränderten Systemzustand. Dieser könnte – auch wenn sich das für das antennale System bisher nicht nachweisen ließ (4.2) – z. B. über VUM-Neurone durch Octopaminausschüttung vermittelt werden. Wie die Modulation, die auf zellulärer Ebene gut untersucht ist, die Generierung motorischer Muster beeinflussen kann, ist derzeit unklar. Eine Möglichkeit ist die vermehrte Transmitterausschüttung an den Eingangssynapsen der Motoneurone, die zu erhöhter Aktionspotentialfrequenz führt, wie sie für ein Motoneuron des Flexors nachgewiesen werden konnte (Pribbenow, 1994). Gehäufte einzelne Muskelpotentiale führen bei phasischen Muskeln zu häufigerem kurzen Zucken der Antenne. Dies könnte zu den beobachteten Veränderungen des Frequenzspektrums der Bewegung führen. Durch Fortführung der Simulationsstudien könnten diese Hypothese geprüft werden.

4.7 Mustergenerator

Ein rein stochastisches Modell der Erzeugung der motorischen Muster der Bienenantenne bietet sich für spontane, reizunbeeinflusste Bewegungen an. Verschiedene externe Stimuli, z. B. visuelle, olfaktorische, gustatorische und taktile Reize führen jedoch zu z. T. stereotypen antennalen Reaktionen (s. Abschnitt 1.3, S. 2). Die Nachfolgerinnen beim Schwänzeltanz berühren die Tänzerin mehr oder weniger regelmäßig mit den Antennen. Dabei besteht eine Korrelation zwischen der Häufigkeit sog. Koinzidenzen, d. h. Berührung der Tänzerin mit beiden Antennen gleichzeitig, und der Position der Nachfolgerin relativ zu Tänzerin (Rohrseitz, 1998). Das Tier kann also die Kopplung beider Antennen beeinflussen. Das stochastische Modell ist also nicht hinreichend. Zumindest muß die zufällige, durch „Rauschen“ erzeugte Bewegung von einem reflexverarbeitenden System überlagert werden können. Horseman et al. (1997) konnten durch Läsionsexperimente nachweisen, daß die Antennenbewegungen von Grillen z. T. von Suboesophageal- und Thoracalganglien abhängig sind. Nur einfache Antennenreflexe blieben unbeeinflusst.

Die motorische Muster generierenden Netzwerke verschiedener Invertebratenspezies sind als Modellsysteme des Studiums, wie rhythmisches motorisches Verhalten generiert, koordiniert und moduliert wird, wohl etabliert. Die motorischen Muster dieser Systeme sind aber ausschließlich oszillierender Natur. Zu diesen Modellsystemen gehören die mustergenerierenden Netze des Schwimmverhaltens und der Herzschlags beim Blutegel (*Hirudo medicinalis*), des Schwimmverhaltens einer Ruderschnecke (*Clione limacina*), die Radulabewegung einer Süßwasserschnecke *Lymnaea stagnalis*) und das stomatogastrische Ganglion bei Crustaceen (nach Calabrese und De Schutter, 1992). Im pylorischen Netz des stomatogastrischen Ganglions ist ein einzelnes Interneuron, das aufgrund seiner Membraneigenschaften rhythmisch aktiv ist, der Antrieb für die Oszillation des Netzes (Harris-Warrick et al., 1992). In den anderen genannten Systemen sind keine Neurone mit intrinsischen Rhythmen bekannt. Hier wird der Rhythmus in der Regel

durch antagonistische Neuronen oder Neuronenpopulationen erzeugt, die reziprok inhibitorische Synapsen bilden (Calabrese und De Schutter, 1992). Netzwerktopologie und Membraneigenschaften der beteiligten neuronalen Elemente bilden zusammen ein oszillierendes System. Über die Zusammenhänge zwischen Verschaltung und Membraneigenschaften ist bisher wenig bekannt (Calabrese und De Schutter, 1992). Für eine kommentierte Literaturübersicht siehe Selverston (1992).

Die Netzwerke können ihre Eigenschaften und die dadurch generierten Rhythmen durch Peptide, biogene Amine oder andere Neuromodulatoren stark ändern. Verschiedene Muster erfordern daher nicht unbedingt separate Schaltkreise (Selverston, 1992). Octopamin kann beispielsweise intrinsische rhythmische Aktivität in Interneuronen des flugsteuernden Systems bei Heuschrecken auslösen (Ramirez und Pearson, 1991). Häufig werden qualitativ ganz unterschiedliche Muster erzeugt (Dickinson, 1989). Beim stomatogastrischen System des Hummers schaltet das modulatorische Peptid Proctolin zwischen zwei Modi der Zahnbewegungen, „Schneiden“ und „Mahlen“, um (nach Dickinson, 1989).

Zentrale Mustergeneratoren sind zum Teil auf Netzwerkebene aufgeklärt, mathematisch formal beschrieben und die Validität der Modelle in Computersimulationen getestet (z. B. Sigvardt und Williams, 1992).

Alle hier zitierten Systeme haben eine rhythmische Charakteristik. Bei den Spontanbewegungen der Bienenantenne konnten keine prominenten Rhythmen beobachtet werden. Die Generierung der motorischen Muster erfolgt vermutlich auf andere Weise. Eine Möglichkeit ist die Existenz mehrerer gekoppelter Oszillatoren, die für die Bewegungsmuster verantwortlich sind. Dies erklärt zwar die gemessenen Frequenzspektren⁵, ist aber insofern nicht plausibel, als die beobachteten Bewegungen auch auf einfachere Weise generiert werden könnten.

Die folgende Hypothese ist als Ergebnis dieser Arbeit zu werten: Hiernach werden Spontanbewegungen durch stochastische Ereignisse in den Motoneuronen oder in vorgeschalteten Interneuronen erzeugt. Diese nach einem (Super-)Poisson-Prozeß auftretenden Aktionspotentiale könnten z. B. durch spontane Transmitterausschüttung an den Eingangssynapsen entstehen. Das Zusammenwirken der Vielzahl von Motoneuronen sowie die Tiefpaßfiltereigenschaften des Effektororgans, die in der Mechanik der Muskeln und Gelenke begründet liegen, führt dann zu den typischen Spontanbewegungen. Taktile, visuelle, olfaktorische und gustatorische Reize haben reflexartige Wirkungen auf das motorische System, die die stochastischen Ereignisse überlagern. Die typischen Antennenreaktionen auf diese Reize treten dann auf.

Alternativ könnten die Motoneurone intrinsische rhythmische Eigenschaften haben. Eine Kopplung der Neurone (direkt oder über Interneurone) könnte zu nichtlinearen Effekten führen. Die resultierenden Bewegungen hätte im Frequenzspektrum eine mit den Messungen vergleichbare Charakteristik.

⁵Das System wäre dann nichtlinear-deterministischer Natur, was sich durch Berechnung der Korrelationsdimension untersuchen ließe.

4.8 Simulationsstudien

Teile des Modells zur Antennenmotorik der Honigbiene wurden in Simulationsstudien untersucht. Als Basis für die Konstruktion des Simulationsmodells dienten die Ergebnisse der qualitativen und quantitativen Analysen der Bewegungsmuster und der Zusammenhänge zwischen motorischer Aktivität und Bewegung. Für die Simulationen wurde ein hoher Abstraktionsgrad angestrebt.

Die Simulationen für das Muskelsystem des Pedicellus (MSP), also des Systems, das die eindimensionale Bewegung des Pedicellus-/Flagellumgelenks verursacht bzw. steuert, zeigte die Validität des Modells.

Das Modell wurde in drei Subsysteme unterteilt: Extensor, schneller und langsamer Teil des Flexors. Von der Existenz mehrerer Motoneurone pro Subsystem wurde abstrahiert, alle Motoneurone, die einen Muskel innervieren, wurden in einem impuls-generierenden Komplex integriert. Zwar steht eine physiologische Charakterisierung der Muskeln noch aus, doch anatomische Studien zu Bau und Innervation der Muskeln (Pribbenow, 1994) legen die Teilung des Flexors nahe. Die Bewegungsmuster werden stochastisch generiert, eine Annahme, die durch die Zeitreihenuntersuchungen der Bewegung und die Untersuchungen zu den Impulsmustern gestützt wird. Reize können die Charakteristik der Mustergeneratoren ändern, was im Modell außer Acht gelassen wird. Alternativ ist eine direkte Innervation der Motoneurone durch sensorische Afferenzen oder Interneurone möglich. In dem Fall würde ein Stimulus das Rauschen der stochastischen Mustergeneratoren überlagern. In der Simulation wurde dies exemplarisch für das MSP untersucht.

Die Kontraktionen werden für alle Muskeln auf gleiche Weise generiert. Die Unterschiede liegen in der Skalierung der Kontraktionsgeschwindigkeit und der Bewegungsrichtung. Der Skalierungsfaktor bestimmt den Beitrag eines Muskels zur Gesamtbewegung. Er ist von der Gelenkstellung abhängig. Durch geeignete Wahl der Skalierungsfunktion lassen sich z. B. unterschiedliche physiologische Charakteristika der verschiedenen Muskeln simulieren.

Die Subsysteme sind voneinander unabhängig. Das schließt auch ihre Mustergeneratoren ein. Der Beitrag der Muskeln zur Gesamtbewegung wird durch eine einfache Summation der Einzelbewegungen ermittelt. Durch Integration der Bewegungen erhält man die Gelenkstellung, den *Output* des Systems. Der Gelenkstellungswinkel wird wiederum zur Skalierung der Geschwindigkeiten rückgekoppelt.

Nicht berücksichtigt im Simulationsmodell wurden die in Abschnitt 4.3 erwähnten elastischen Eigenschaften der Muskeln („Gummibandeffekt“), die bei fehlender neuraler Aktivität das Gelenk zum Ruhewinkel bewegen.

Die Simulationsmodelle können als Werkzeug zu weiteren Studien zur Antennenmotorik der Biene dienen.

4.9 Ausblick

Die vorliegende Arbeit hat einige Fragen zur motorischen Steuerung der Bienenantenne gelöst, viele offengelassen und einige neue aufgeworfen. Weitere Forschungen sollen offene Fragen klären:

Die Kopplung bzw. Autonomie beider Antennen. In dieser Arbeit wurde nur die Bewegung einer einzelnen Antenne untersucht. Bisher ist wenig bekannt über die Kopplung der Bewegung beider Antennen. Spontane Antennenbewegungen scheinen autonom zu laufen. Rohrseitz (1998) konnte durch Auswertung von Hochgeschwindigkeitsaufnahmen zeigen, daß bei der Kommunikation beim Schwänzeltanz unter bestimmten Umständen gehäuft Koinzidenzen, also simultane Berührungen der Tänzerin mit *beiden* Antennen auftreten. Hierfür ist eine Kopplung beider Motoriken notwendig.

Zusammenhang beider Gelenke (3D-Bewegungen). Bei der Untersuchung der Antennenbewegung wurde jeweils eines der beiden Gelenke festgelegt. Die mögliche Beeinträchtigung des Tieres wurde wegen der vereinfachten Auswertung in Kauf genommen. Offen bleibt dabei, wie groß diese Beeinträchtigung ist und wie die Bewegung in beiden Gelenken gekoppelt ist. Untersuchungen an frei beweglichen Antennen und damit der dreidimensionalen Bewegung sind möglich.

Antennenbewegungen beim frei beweglichen Tier. Die vorliegenden Untersuchungen erfolgten unter Laborbedingungen an nur eingeschränkt beweglichen Tieren. Diese Arbeit hat geeignete Werkzeuge geliefert, Bewegungen auch unter verschiedenen natürlichen Bedingungen (Flug, soziale Interaktion, Orientierung auf der Blüte) zu untersuchen und zu quantifizieren. Durch die Videoaufnahmetechnik werden die Tiere nicht beeinträchtigt. Allerdings ist die automatische Ermittlung von Antennenstellungen am mobilen Tier nur sehr eingeschränkt möglich, so daß hier ein nicht unerheblicher manueller Aufwand (Einzelbildauswertung) erforderlich ist. Die weitere quantitative Auswertung könnte wie beschrieben erfolgen.

Motorische Muster beim motorischen Lernen. Die Biene zeigt ein interessantes Phänomen motorischen Lernens. Sie kann beim Abtasten eines Objektes dessen Form und Position lernen, was sich in geänderten Bewegungsmustern widerspiegelt, wenn man das Objekt aus der Reichweite der Antennen entfernt. Daß diese Veränderung im Vergleich zur Spontanbewegung auf der Fortsetzung eines während des Ab tastens ausgeführten Bewegungsmusters basiert, wurde diskutiert und verworfen (Erber et al., 1997). Welcher Art diese Veränderung ist, ist derzeit unklar und kann mit den hier eingeführten Methoden untersucht werden.

Mustergenerierung und Motoneurone. In Kombination mit Experimenten von Kisch et al. (1998) können Rückschlüsse auf den Mustergenerator gezogen werden. Durch Blockade der synaptischen Transmission mit Ringer mit hoher Mg^{2+} - und geringer Ca^{2+} -Konzentration ließen sich die Motoneurone vom Zentralnervensystem isolieren. Ihre intrinsischen Eigenschaften wären dann einer Analyse zugänglich.

Modulation. In den Experimenten zur Modulation konnten keine Effekte der vermuteten Neuromodulatoren Serotonin und Octopamin festgestellt werden. Mögliche Ursachen sind im Abschnitt 4.2 diskutiert. Neben den dort vorgeschlagenen Experimenten böte sich eine Untersuchung der Modulation der Bewegungen auf Muskelebene

an, wie dies für verschiedene Parameter der Kontraktion und eine Reihe präsumptiver Modulatoren von Ellerkmann (1994) bereits durchgeführt wurde.

Nichtlineare deterministische Anteile an der Bewegung. Die Frequenzspektren der Antennenbewegungen mit ihrem breitbandigen Rauschen können Indikatoren für ein stochastisches System sein. Viele Systeme mit zugrundeliegender nichtlinearer deterministischer Charakteristik weisen aber ähnliche Frequenzspektren auf. Es ist derzeit offen, ob das für die Antennenbewegungen der Honigbiene ebenfalls gilt. Überprüfen läßt sich das anhand der Berechnung der Korrelationsdimension (Grassberger und Procaccia, 1983; Albano et al., 1987) oder des Lyapunov-Exponenten der Zeitreihen (Schuster, 1988; Kruel, 1992). Eine statistisch absicherbare Methode beschreiben Stone et al. (1996).

Zusammenfassung

Die Antennen dienen der Honigbiene der Wahrnehmung multimodaler Sinneseindrücke und zur Kommunikation mit Nestgenossinnen. *Bewegungen* der Antennen sind für Kommunikation wie Sinneswahrnehmung unabdingbar. Ziel der vorliegenden Arbeit war es, Lücken der Erkenntnis über den Bewegungsapparat zu schließen.

Die Antennen werden bei der Biene nahezu ununterbrochen in einem scheinbar „chaotischen“ Rhythmus bewegt. Durch den Einsatz von Frequenzanalysen wurde erstmalig die Dynamik der Antennenbewegung quantitativ untersucht. Dabei konnte gezeigt werden, daß keine prominenten Spitzen in den Spektren auftreten. Stattdessen liegt ein breitbandiges Rauschen vor mit einem Frequenzgang, der dem eines Tiefpaßfilters erster Ordnung ähnelt (Rauschen gleichbleibender Amplitude bis zu einer Eckfrequenz f_c , dann Abfall mit deutlicher $1/f$ -Charakteristik). Hochgeschwindigkeitsaufnahmen der Antennenbewegung zeigten, daß auch im Bereich zwischen 10 und 100 Hz keine dominanten Frequenzen auftreten.

Die Reizung eines Tieres mit Saccharoselösung führt zu antennalen Reaktionen. Diese äußern sich im Frequenzspektrum durch Reduktion der Amplitude im niederfrequenten Bereich und relative Betonung von Frequenzen zwischen etwa 5 und 10 Hz. Dies könnte einer Optimierung der Duftwahrnehmung dienen.

Die Vermutung, der Saccharoseeffekt würde durch biogene Amine, die mit dem Erregungszustand der Biene in Zusammenhang gebracht werden (Serotonin und Octopamin), vermittelt, wurde durch lokale Injektion dieser Substanzen in das antennomotorische Zentrum (Dorsallobus) untersucht. Es konnten jedoch keine Effekte auf das Frequenzspektrum nachgewiesen werden. Mögliche Ursachen werden diskutiert.

Durch simultane Elektromyogramme der Antennenmuskulatur und Aufzeichnung der Antennenbewegung konnten die Zusammenhänge zwischen der Aktivität der sechs Muskeln des Bewegungsapparats und der Bewegung quantifiziert werden. Es wurden Näherungsfunktionen zur Berechnung der resultierenden Bewegungsgeschwindigkeit durch einzelne Muskelpotentiale ermittelt.

Die Antennen lassen sich operant konditionieren. Durch Belohnung einer hohen Aktivität des Motoneurons, das den schnellen Teil des Flexors innerviert, steigt die mittlere Aktionspotentialfrequenz dieses Neurons signifikant an. Im Rahmen dieser Arbeit wurden die Muster der Aktionspotentialfolgen und der Einfluß der Konditionierung auf diese untersucht. Die Ergebnisse weisen darauf hin, daß die motoneuronale Aktivität stochastisch generiert wird. Auch nach der Konditionierung sind keine Regelmäßigkeiten zu beobachten. Der Effekt der Konditionierung liegt demnach in einer generellen Erhöhung der Häufigkeit von Aktionspotentialen, ohne daß das motorische Muster beeinflußt wird.

Aus den experimentellen Ergebnissen wurde ein Modell des Bewegungsapparats der Honigbiene gebildet und in Simulationsstudien auf seine Validität geprüft.

Literaturverzeichnis

- Adelman, G.; Smith, B., Hrsg. *Encyclopedia of Neuroscience*. Elsevier, Amsterdam, 1998. CD-ROM.
- Agricola, H.; Hertel, W.; Penzlin, H. Octopamin — Neurotransmitter, Neuromodulator, Neurohormon. *Zool.Jb.Physiol.*, 92:1–45, 1988.
- Albano, A. M.; Mees, A. I.; de Guzman, G. C.; Rapp, P. E. Data requirements for reliable estimation of correlation dimension. In Degn, H.; Holden, A. V.; Olsen, L. F., Hrsg, *Chaos in Biological Systems*, S. 207–220. Plenum Press, New York, London, 1987.
- Allgäuer, C.; Honegger, H. W. The antennal motor system of crickets: Modulation of muscle contractions by a common inhibitor, DUM neurons, and proctolin. *J.Comp.Physiol.A*, 173:485–494, 1993.
- Bartos, M.; Allgäuer, C.; Eckert, M.; Honegger, H. W. The antennal motor system of crickets: Proctolin in slow and fast motoneurons as revealed by double labelling. *Eur.J.Neurosci.*, 6:825–836, 1994.
- Bauer, C. K. Modulatory action of proctolin in the locust (*Locusta migratoria*) antennal motor system. *J.Insect Physiol.*, 37:663–673, 1991.
- Bauer, C. K.; Gewecke, M. Motoneuronal control of antennal muscles in *Locusta migratoria*. *J.Insect Physiol.*, 37:551–562, 1991.
- Bicker, G.; Menzel, R. Chemical codes for the control of behaviour in arthropods. *Nature*, 337:33–39, 1989.
- Blenau, W. *Charakterisierung von Dopamin und Serotonin-Rezeptoren der Honigbiene Apis mellifera — Von der Verhaltenspharmakologie zur molekularen Klonierung*. Diss., TU Berlin, FB Umwelt und Gesellschaft, 1997.
- Blenau, W.; May, T.; Erber, J. Characterization of [³H]LSD binding to a serotonin-sensitive site in honeybee (*Apis mellifera*) brain. *Comp.Biochem.Physiol.B*, 112B: 377–384, 1995.
- Bolker, J. From axolotls to zebrafish, and beyond: A synopsis of the model systems dialogue. *HMS Beagle: The BioMedNet Magazine*, 1998. <http://biomednet.com/hmsbeagle/26/cutedge/synopsis.htm>.

- Braun, G.; Bicker, G. Habituation of an appetitive reflex in the honeybee. *J.Neurophysiol.*, 67(3):588–597, 1992.
- Bühl, A.; Zöfel, P. *Professionelle Datenanalyse mit SPSS für Windows*. Addison-Wesley, Bonn, Paris usw., 1996.
- Burrows, M.; Watson, A. H. D.; Brunn, D. E. Physiological and ultrastructural characterization of a central synaptic connection between identified motor neurons in the locust. *Eur.J.Neurosci.*, 1(2):111–126, 1989.
- Byrne, J. H. Invertebrate models of learning. In Adelman und Smith (1998). CD-ROM.
- Calabrese, R. L.; De Schutter, E. Motor-pattern-generating networks in invertebrates: modeling our way toward understanding. *TINS*, 15(11):439–445, 1992.
- Corbet, S. A. A fresh look at the arousal syndrom of insects. *Adv.Insect Physiol.*, 23: 81–116, 1991.
- Cruse, H. *Neural Networks as Cybernetic Systems*. Georg Thieme Verlag, Stuttgart, New York, 1996.
- Cruse, H.; Bartling, C.; Cymbalyuk, G.; Dean, J.; Dreifert, M. A modular artificial neural net for controlling a six-legged walking system. *Biol.Cybern.*, 72:421–430, 1995.
- Dafni, A.; Kevan, P. G. Floral symmetry and nectar guides: ontogenetic constraints from floral development, colour pattern rules and functional significance. *Botanical Journal of the Linnean Society*, 120:371–377, 1996.
- Datawave Experimenter's Workbench and Common Processing Package, Ver. 4.0, DataWave Technologies. [Software], 1994.
- Davenport, A. P.; Evans, P. D. Changes in haemolymph octopamine levels associated with food deprivation in the locust *Schistocerca gregaria*. *Physiol.Ent.*, 9:269–274, 1984a.
- Davenport, A. P.; Evans, P. D. Stress-induced changes in the octopamine levels of insect haemolymph. *Insect Biochem.*, 14:135–143, 1984b.
- David, J.-C.; Coulon, J. F. Octopamine in invertebrates and vertebrates. *A Review.Prog.Neurobiol.*, 24:141–185, 1985.
- Dickinson, P. Modulation of simple motor patterns. *Seminars in the Neurosciences*, 1: 15–24, 1989.
- Ehmer, B.; Gronenberg, W. Antennal muscles and fast antennal movements in ants. *J.Comp.Physiol.B*, 167:287–296, 1997a.
- Ehmer, B.; Gronenberg, W. Proprioceptors and fast antennal reflexes in the ant *Odonotomachus* (Formicidae, Ponerinae). *Cell Tissue Res.*, 290:153–165, 1997b.

- Ellerkmann, E. *Neuronale Kontrolle und Modulation der Antennenbewegung bei der Honigbiene*. Diss., Technische Univ. Berlin, 1994.
- Ellerkmann, E.; Kloppenburg, P.; Grandy, K.; Erber, J. Motor control of antennal movements in the honeybee (*Apis mellifera* L.). In Erber, J.; Menzel, R.; Pflüger, H. J.; Todt, D., Hrsg, *Neural Mechanisms of Behaviour. Proceedings of the 2nd International Congress of Neuroethology*, S. 28. Thieme, Stuttgart, New York, 1989.
- Erber, J.; Kierzek, S.; Sander, E.; Grandy, K. Tactile learning in the honeybee. eingereicht, 1998.
- Erber, J.; Kloppenburg, P. The modulatory effects of serotonin and octopamine in the visual system of the honey bee (*Apis mellifera* L.) I. Behavioral analysis of the motion-sensitive antennal reflex. *J.Comp.Physiol.A*, 176:111–118, 1995.
- Erber, J.; Kloppenburg, P.; Scheidler, A. Neuromodulation by serotonin and octopamine in the honeybee: Behaviour, neuroanatomy and electrophysiology. *Experientia*, 49: 1073–1083, 1993a.
- Erber, J.; Menzel, R. Visual interneurons in the median protocerebrum of the bee. *J.Comp.Physiol.*, 121:65–77, 1977.
- Erber, J.; Pribbenow, B.; Bauer, A.; Kloppenburg, P. Antennal reflexes in the honeybee: tools for studying the nervous system. *Apidologie*, 24:283–296, 1993b.
- Erber, J.; Pribbenow, B.; Grandy, K.; Kierzek, S. Tactile motor learning in the antennal system of the honeybee (*Apis mellifera* L.). *J.Comp.Physiol.A*, 181:355–365, 1997.
- Erber, J.; Schildberger, K. Conditioning of an antennal reflex to visual stimuli in bees (*Apis mellifera* L.). *J.Comp.Physiol.*, 135:217–225, 1980.
- Esslen, J.; Kaissling, K. E. Zahl und Verteilung antennaler Sensillen bei der Honigbiene (*Apis mellifera* L.). *Zoomorphologie*, 83:227–251, 1976.
- Evans, P. D. Biogenic amines in the insect nervous system. *Adv.Insect Physiol.*, 15: 317–473, 1980.
- Evans, P. D. Octopamine. In Kerkut, G. A.; Gilbert, L. I., Hrsg, *Comprehensive Insect Physiology, Biochemistry and Pharmacology*, Kap. 12, S. 499–530. Pergamon Press, Oxford ..., 1985.
- Faensen, D. Modulation of antennal movement patterns in the honeybee. In Elsner, N.; Wässle, H., Hrsg, *Proceedings of the 25th Göttingen Neurobiology Conference 1997*, Vol. II, S. 275, Stuttgart, New York, 1997. Georg Thieme Vlg.
- Faensen, D.; Pribbenow, B.; Erber, J. Analysis of spontaneous antennal movement of the honey bee. In Elsner, N.; Richter, D. W., Hrsg, *Rhythmogenesis in Neurons and Networks. Proceedings of the 20th Göttingen Neurobiology Conference*. Stuttgart, Thieme Vlg., 1994.

- Falk, R.; Well, A. D. Many faces of the correlation coefficient. *Journal of Statistics and Education*, 5(3), 1997.
- Gewecke, M. Motorik. In Gewecke, M., Hrsg, *Physiologie der Insekten*, S. 155–216. Gustav Fischer Vlg., Stuttgart, Jena, New York, 1995.
- Goodwin, A. W. The code for roughness. *Curr.Biol.*, 3(6):378–379, 1993.
- Grassberger, G.; Procaccia, P. Measuring the strangeness of strange attractors. *Physica D*, 9:189–208, 1983.
- Hammer, M. An identified neuron mediates the unconditioned stimulus in associative olfactory learning in honeybees. *Nature*, 366(4 November):59–63, 1993.
- Hammer, M. The neural basis of associative reward learning in honeybees. *TINS*, 20(6):245–252, 1997.
- Hammer, M.; Braun, G.; Maelshagen, J. Food-induced arousal and nonassociative learning in honeybees: dependence of sensitization on the application site and duration of food stimulation. *Behav.Neural Biol.*, 62(3):210–223, 1994.
- Hammer, M.; Menzel, R. Learning and memory in the honeybee. *J.Neurosci.*, 15(3):1617–1630, 1995.
- Harris, J. W.; Woodring, J. Effects of stress, age, season, and source colony on levels of octopamine, dopamine and serotonin in the honey bee (*Apis mellifera* L.) brain. *J.Insect Physiol.*, 38:29–35, 1992.
- Harris-Warrick, R. M.; Kravitz, E. A. Cellular mechanisms for modulation of posture by octopamine and serotonin in the lobster. *J.Neurosci.*, 4(8):1976–1993, 1984.
- Harris-Warrick, R.; Marder, E.; Aleverson, A. I.; Moulin, M. *Dynamic Biological Networks: the Stomatogastric Nervous System*. MIT Press, Cambridge, Massachusetts, 1992.
- Heran, H. Wahrnehmung und Regelung der Fluggeschwindigkeit bei *Apis mellifica* L. *Z.vergl.Physiol.*, 42:103–163, 1959.
- Hirashima, A.; Eto, M. Biogenic amines in *Periplaneta americana* L.: Accumulation of octopamine, synephrine, and tyramine by stress. *Biosci.Biotech.Biochem.*, 57:172–173, 1993.
- Hölldobler, B.; Wilson, E. O. *The Ants*. Springer, Berlin ..., 1990.
- Hollerbach, J. M. Robotics. In Adelman und Smith (1998). CD-ROM.
- Homborg, U.; Christensen, T. A.; Hildebrand, J. G. Structure and function of the deutocerebrum in insects. *Ann.Rev.Entomol.*, 34:477–501, 1989.
- Honegger, H. W.; Allgäuer, C.; Klepsch, U.; Welker, J. Morphology of antennal monotoneurons in the brains of two crickets, *Gryllus bimaculatus* and *Gryllus campestris*. *J.Comp.Neurol.*, 291:256–268, 1990.

- Horridge, G. A. Learning of leg position by the ventral nerve cord in headless insects. *Proc.R.Soc.Lond.B*, 157:33–52, 1962.
- Horseman, G.; Gebhardt, M. J.; Honegger, H. W. Involvement of the suboesophageal and thoracic ganglia in the control of antennal movements in crickets. *J.Comp.Physiol.A*, 181:195–204, 1997.
- Howse, P. E. The fine structure and functional organisation of chordotonal organs. *Symp.zool.Soc.*, 23:167–198, 1968.
- Hoyle, G. Learning of leg position by the ghost crab *Ocypode ceratophthalma*. *Behav.Biol.*, 18(2):147–163, 1976.
- Hoyle, G. Pacemaker change in a learning paradigm. In Carpenter, D., Hrsg, *Cellular Pacemakers*, Vol. 2, Kap. 1, S. 3–25. John Wiley & Sons, 1982.
- Imms, A. D. On the antennal musculature in insects and other arthropods. *Q.J.Microsc.Sci.NS*, 81:273–320, 1939.
- Kaczmarek, L. K.; Levitan, I. B. What is neuromodulation? In Kaczmarek, L. K.; Levitan, I. B., Hrsg, *Neuromodulation*, S. 3–17. Oxford University Press, Oxford, 1987.
- Kevan, P. G.; Lane, M. L. Bees can distinguish flowers of different plant species by microscopic textural features on petals. *Honeybee Science*, S. 145–150, 1986.
- Kheir, N. A., Hrsg. *Systems Modeling and Computer Simulation*. Marcel Dekker, New York, Basel, Hong Kong, 1998.
- Kirchner, W. H. Hearing in honeybees: The mechanical response of the bee's antenna to near field sound. *J.Comp.Physiol.A*, 175:261–265, 1994.
- Kisch, J.; Erber, J. Operant conditioning of antennal movements in the honey bee. eingereicht, 1998.
- Kisch, J.; Erber, J.; Faensen, D.; Pribbenow, B. Operant learning behavior of honeybees (*Apis mellifera*) can be reduced to an antennal muscle and its activity. in Vorb., 1998.
- Kloppenburg, P. *Neuroanatomische Charakterisierung der antennalen Motoneuronen und elektrophysiologische Untersuchungen zur aminergen Modulation des visuellen Antennenreflexes der Honigbiene*. Diss., Technische Univ. Berlin, 1990.
- Kloppenburg, P. Anatomy of the antennal motoneurons in the brain of the honeybee (*Apis mellifera*). *J.Comp.Neurol.*, 363:333–343, 1995.
- Kloppenburg, P.; Ellerkmann, E.; Erber, J. Antennal reflexes for different modalities in the honey bee. In Erber, J.; Menzel, R.; Pflüger, H. J.; Todt, D., Hrsg, *Proceedings of the 2nd International Congress of Neuroethology*, S. 27. Thieme Vlg., Stuttgart, New York, 1989.

- Kloppenburger, P.; Erber, J. A mechanical antennal reflex in the honeybee (*Apis mellifera* L.): neuroanatomy and behavior. *Verhndl.Dtsch.Zool.Ges.*, 82:277–278, 1989.
- Kloppenburger, P.; Erber, J. The modulatory effects of serotonin and octopamine in the visual system of the honey bee (*Apis mellifera* L.) II. Electropysiological analysis of motion-sensitive neurons in the lobula. *J.Comp.Physiol.A*, 176:119–129, 1995.
- Kravitz, E. A.; Beltz, B.; Glusman, S.; Goy, M.; Harris-Warrick, R. M.; Johnston, M.; Livingstone, M. S.; Schwarz, T. The well-modulated lobster. the roles of serotonin, octopamine, and proctoli in the lobster nervous system. In Selverston, A. I., Hrsg, *Model Neural Networks and Behavior*, S. 339–360. Plenum, 1985.
- Kreissl, S.; Eichmüller, S.; Bicker, G.; Rapus, J.; Eckert, M. Octopamine-like immunoreactivity in the brain and suboesophageal ganglion of the honeybee. *J.Comp.Neurol.*, 348:583–595, 1994.
- Kruel, T. M. *Zeitreihenanalyse nichtlinearer Systeme - Chaos und Rauschen*. Diss., Univ. Würzburg, 1992.
- Kuwabara, M. Bildung des bedingten Reflexes von Pavlovs Typus bei der Honigbiene *Apis mellifera*. *J.Fac.Sci.Hokkaido Univ.*, Series 6, Zoology 13:458–464, 1957.
- Livingstone, M. S.; Harris-Warrick, R. M.; Kravitz, E. A. Serotonin and octopamine produce opposite postures in lobsters. *Science*, 208(4):76–79, 1980.
- Lopatina, N. G.; Chesnokova, E. G.; Dolotovskaia, L. Z.; Felqcher, A. V. [Effect of serotonin on nervous system function and behavior in the honeybee]. *Fiziol.Zh.SSSR.*, 68(3):362–366, 1982.
- Maronde, U. Projections of antennal sensilla and common projection of visual interneurons in the brain of the bee. In Elsner, N.; Roth, G., Hrsg, *Brain - Perception - Cognition*. Thieme, Stuttgart, 1990.
- Maronde, U. Common projection areas of antennal and visual pathways in the honeybee brain, *Apis mellifera*. *J.Comp.Neurol.*, 309:328–340, 1991.
- Martin, H.; Lindauer, M. Sinnesphysiologische leistungen beim wabenbau der honigbiene. *Z.vergl.Physiol.*, 53:372–404, 1966.
- Matlab, Ver. 5,0,0,4064, MathWorks Inc. [Software], 1996.
- Mellon, D. Physiological characterization of antennular flicking reflexes in the crayfish. *J.Comp.Physiol.A*, 180:553–565, 1997.
- Menzel, R.; Müller, U. Learning and memory in honeybees: From behavior to neural substrates. *Annu.Rev.Neurosci.*, 19:379–404, 1996.
- Mercer, A. R.; Menzel, R. The effects of biogenic amines on conditioned and unconditioned responses to olfactory stimuli in the honeybee *Apis mellifera*. *J.Comp.Physiol.*, 145:363–368, 1982.

- Mercer, A. R.; Mobbs, P. G.; Davenport, A. P.; Evans, P. D. Biogenic amines in the brain of the honeybee, *Apis mellifera*. *Cell Tissue Res.*, 234:655–677, 1983.
- Morison, G. D. The muscles of the adult honey-bee (*Apis mellifera* L.). Part I. The healthy muscles of the adult honey-bee. Somatic musculature. *Quart. Journ. Micr. Sci.*, 71, Part III, Dec.:395–463, 1927.
- Murlis, J.; Elkinton, J. S.; Cardé, R. T. Odor plumes and how insects use them. *Annu. Rev. Entomol.*, 37:505–532, 1992.
- Orchard, I.; Ramirez, J.-M.; Lange, A. A multifunctional role for octopamine in locust flight. *Annu. Rev. Entomol.*, 38:227–249, 1993.
- Pärt-Enander, E.; Sjöberg, A.; Melin, B.; Isaksson, P. *The Matlab Handbook*. Addison Wesley, Harlow, Reading usw., 1996.
- Persistence of Vision Ray-Tracer (POV-Ray), Ver. 3.01, POV-Ray Team. [Software], 1997. <http://www.povray.org>.
- Pribbenow, B. *Das Antennenabtastverhalten der Honigbiene: verhaltensphysiologische, elektrophysiologische, morphologische und pharmakologische Untersuchungen*. Diss., Technische Univ. Berlin, 1994.
- Pribbenow, B.; Erber, J. Modulation of antennal scanning in the honeybee by sucrose stimuli, serotonin, and octopamine: behavior and electrophysiology. *Neurobiology of Learning and Memory*, 66:109–120, 1996.
- Pribbenow, B.; Faensen, D.; Erber, J. Antennal scanning of mechanical objects in the honeybee *Apis mellifera*. In Elsner, N.; Richter, D. W., Hrsg, *Rhythmogenesis in Neurons and Networks. Proceedings of the 20th Göttingen Neurobiology Conference*, S. 150. Thieme Vlg., Stuttgart, 1992.
- Ramirez, J.-M.; Pearson, K. G. Octopaminergic modulation of interneurons in the flight system of the locust. *J. Neurophysiol.*, 66:1522–1537, 1991.
- Rehder, V. Quantification of the honeybee's proboscis reflex by electromyographic recordings. *J. Insect Physiol.*, 33:303–311, 1987.
- Rohrseitz, K. *Biophysikalische und ethologische Aspekte der Tanzkommunikation der Honigbienen (Apis mellifera carnica Pollm.)*. Diss., Univ. Würzburg, 1998.
- Rospars, J. P. Structure and development of the insect antennodeutocerebral system. *Int. J. Insect Morphol. Embryol.*, 17:243–294, 1988.
- Saager, F.; Gewecke, M. Antennal reflexes in the desert locust *Schistocerca gregaria*. *J. exp. Biol.*, 85:43–60, 1989.
- Sachs, L. *Angewandte Statistik*. Springer, Berlin, Heidelberg, 8. Aufl., 1997.
- Sandeman, D. C. Crayfish antennae as tactile organs: their mobility and the responses of their proprioceptors to displacement. *J. Comp. Physiol. A*, 157:363–373, 1985.

- Scheidler, A. *Autoradiographische Darstellung von Bindungsstellen für verschiedene Neurotransmitter-Kandidaten im Gehirn der Honigbiene (Apis mellifera L.)*. Diss., Technische Univ. Berlin, 1991.
- Schild, D. A note on the use of serial measures in spike train analysis and their relation to the corresponding moments. *Int.J.Neurosci.*, 18(3-4):247–252, 1983.
- Schmitt, B. C.; Ache, B. W. Olfaction: Responses of a decapod crustacean are enhanced by flicking. *Science*, 205:204–206, 1979.
- Schneider, D. Insect antennae. *Ann.Rev.Entomol.*, 9:103–122, 1964.
- Schürmann, F. W.; Klemm, N. Serotonin-immunoreactive neurons in the brain of the honeybee. *J.Comp.Neurol.*, 225:570–580, 1984.
- Schuster, H. G. *Deterministic Chaos: An Introduction*, Vol. 2. VCH Verlagsgesellschaft, Weinheim, 1988.
- Seidel, C.; Bicker, G. The developmental expression of serotonin-immunoreactivity in the brain of the pupal honeybee. *Tissue & Cell*, 28(6):663–672, 1996.
- Selverston, A. I. Pattern generation. *Curr.Opin.Neurobiol.*, 2:776–780, 1992.
- Shepherd, G. M. *Neurobiologie*. Springer, Berlin, 1993.
- Siewing, R., Hrsg. *Lehrbuch der Zoologie. Band 2. Systematik*. Gustav Fischer Vlg., Stuttgart, New York, 3. Aufl., 1985.
- SigmaPlot, Ver. 4.0. [Software], 1997.
- Sigvardt, K. A.; Williams, T. L. Models of central pattern generators as oscillators: the lamprey locomotor CPG. *Seminars in the Neurosciences*, 4:37–46, 1992.
- Simulink, Ver. 2, MathWorks Inc. [Software], 1996.
- Snodgrass, R. E. *Anatomy of the Honey Bee*. Comstock Publishing Associates, Ithaka, New York, 1956.
- SPSS für Windows, Ver. 7.5.2, SPSS Inc. [Software], 1997.
- Stone, L.; Landan, G.; May, R. M. Detecting time's arrow: A method for identifying nonlinearity and deterministic chaos in time-series data. *Proc.R.Soc.Lond.[Biol.]*, 263: 1509–1513, 1996.
- The Student Edition of Simulink*. Prentice Hall, Englewood Cliffs, 1996.
- Suzuki, H. Antennal movements induced by odour and central projections of the antennal neurons in the honey bee. *J.Insect Physiol.*, 21:831–847, 1975.
- von Frisch, K. *Tanzsprache und Orientierung der Bienen*. Springer, Berlin, Heidelberg, New York, 1965.

- Wagner, C. D.; Persson, P. B. Two ranges in blood pressure spectrum with different 1/f characteristics. *Am.J.Physiol.*, 267:H621–H627, 1994.
- Wagner, C. D.; Persson, P. B. Nonlinear chaotic dynamics of arterial blood pressure and renal blood flow. *Am.J.Physiol.*, 268(2 Pt 2):H621–H627, 1995.
- Weitkunat, R., Hrsg. *Digital Biosignal Processing*. Elsevier, Amsterdam, New York, Oxford, 1991.
- Wenzel, L. Nah am Original — Wie arbeiten Simulatoren? *c't*, (4), 1998.
- Wolf, G., Hrsg. *BI-Lexikon Neurobiologie*. Bibliographisches Institut, Leipzig, 1988.
- Woollacott, M.; Hoyle, G. Neural events underlying learning in insects: changes in pacemaker. *Proc.R.Soc.Lond.B.Biol.Sci.*, 195(1120):395–415, 1977.
- Yokohari, F. The coelocapitular sensillum, an antennal hygro- and thermoreceptive sensillum of the honey bee, *Apis mellifera* L. *Cell Tissue Res.*, 233:355–365, 1983.
- Zeil, J.; Sandeman, R.; Sandeman, D. Tactile localisation: The function of active antennal movements in the crayfish *Cherax destructor*. *J.Comp.Physiol.A*, 157:607–617, 1985.

Veröffentlichungen

Teile dieser Arbeit wurden veröffentlicht unter:

Faensen, D. Modulation of antennal movement patterns in the honeybee. In Elsner, N.; Wässle, H., Hrsg, *Proceedings of the 25th Göttingen Neurobiology Conference 1997*, Vol. II, S. 275, Stuttgart, New York, 1997. Georg Thieme Vlg.

Faensen, D.; Pribbenow, B.; Erber, J. Analysis of spontaneous antennal movement of the honey bee. In Elsner, N.; Richter, D. W., Hrsg, *Rhythmogenesis in Neurons and Networks. Proceedings of the 20th Göttingen Neurobiology Conference*. Stuttgart, Thieme Vlg., 1994.

Kisch, J.; Erber, J.; Faensen, D.; Pribbenow, B. Operant learning behavior of honeybees (*Apis mellifera*) can be reduced to an antennal muscle and its activity. in Vorb., 1998.

Pribbenow, B.; Faensen, D.; Erber, J. Antennal scanning of mechanical objects in the honeybee *Apis mellifera*. In Elsner, N.; Richter, D. W., Hrsg, *Rhythmogenesis in Neurons and Networks. Proceedings of the 20th Göttingen Neurobiology Conference*, S. 150. Thieme Vlg., Stuttgart, 1992.

Danksagung

Ich danke

- Prof. J. Erber für das Thema, die Betreuung und dafür daß er mir alle nur erdenkliche Unterstützung hat zuteil werden lassen,
- Prof. Raül Rojas dafür, daß er seine Rolle als Co-Betreuer sehr ernst genommen hat und jederzeit für Diskussionen zur Verfügung stand,
- Johannes Kisch für die Überlassung der Daten aus seinen Konditionierungsexperimenten,
- Prof. Hans-Peter Herzel vom Innovationskolleg Theoretische Biologie für fruchtbare Diskussionen,
- Dr. Wilfried Wolf für Einführung in die Thematik der Zeitreihenanalyse,
- Dr. Wolfgang Blenau für seine Korrekturvorschläge zur Arbeit,
- Annika Hinze und Karsten Heinrich für hilfreiche Kommentare zur Modellbildung und Simulation,
- Prof. Tautz und Dr. Wulfilä Gromberg aus Würzburg dafür, daß sie mir die Benutzung Hochgeschwindigkeitskamera ermöglicht haben, Birgit Ehmer für die Einführung in die Benutzung des Geräts,
- Celia Möbius dafür, daß sie die Arbeiten fortführt,
- Heinz Schweppe dafür, daß er mir die Freiheit für die Fertigstellung der Arbeit gegeben hat,
- der Arbeitsgruppe Erber und dem Rest des Instituts für Ökologie und Biologie,
- der DFG und dem Graduiertenkolleg „Signalketten in lebenden Systemen“ für materielle und wissenschaftliche Förderung,
- Hannah für die Geduld mit der zweiten Doktorarbeit, die sie nicht gemacht hat.

Die Arbeit wurde unterstützt vom Graduiertenkolleg „Signalketten in lebenden Systemen“.

Lebenslauf

Daniel Faensen
Begasstr. 8
12157 Berlin-Friedenau

10. Februar 1968	Geburt in Berlin
August 1973 – Juli 1980	Besuch der Fläming-Grundschule in Berlin
August 1980 – Juni 1987	Besuch der Paul-Natorp-Oberschule (Gymnasium) in Berlin
10.6.1987	Abitur an der Paul-Natorp-Schule
5.10.1987 – 31.3.1995	Studium der Biologie an der TU Berlin und der Informatik an der FU Berlin
1.2.1990 – 31.1.1995	Studentische Hilfskraft im DFG-Projekt „Lernen, Neuromodulation und Gedächtnis bei Arthropoden“ bei Prof. Erber
14. Oktober 1994	Erste Staatsprüfung in Erziehungswissenschaften und Psychologie, Note: Sehr gut
31.3.95	Erste Staatsprüfung in Biologie und Informatik, Gesamtnote: Gut
Juni 1993 – Januar 1995	Freier Mitarbeiter bei der Fa. EFEU Elektronik (Softwareentwicklung)
1.5.1995 – 30.6.1997	Stipendiat im Graduiertenkolleg „Signalketten in lebenden Systemen“ bei Prof. Dr. Erber, TU Berlin
seit 1.7.1997	Wissenschaftlicher Mitarbeiter mit Lehraufgaben in der Arbeitsgruppe Datenbanken und Informationssysteme am Inst. f. Informatik der FU Berlin