

Steuerung der Beinmotorik von Grillen durch ein Paar
gravizeptiver Interneurone

Dissertation
zur Erlangung des Doktorgrades
der Mathematisch-Naturwissenschaftlichen Fakultäten
der Georg-August-Universität zu Göttingen

vorgelegt von
Frank Funke
aus Münster

Göttingen 2004

D7

Referent: Herr Prof. Dr. Reinhold Hustert

Korreferent: Herr Dr. Andreas Stumpner

Tag der mündlichen Prüfung: 4. November 2004

Inhaltsverzeichnis

	Seite
1. Einleitung.....	1
1.1 Allgemeine Einführung.....	1
1.2 Methoden der Schwerkraftrezeption.....	1
1.3 Das Equilibriumorgan der Grille.....	3
1.4 Gravitationskompensatorische Motorik.....	5
1.5 Fragestellungen der Arbeit.....	6
2. Material und Methoden.....	7
2.1 Versuchstiere.....	7
2.1.1 Art.....	7
2.1.2 Haltung und Zucht.....	7
2.1.3 Tierwahl und Ausschlußkriterien.....	7
2.2 Präparationen.....	8
2.2.1 Kippung des gesamten Tieres.....	8
2.2.2 Kippung nur der letzten Segmente.....	9
2.2.3 Präparation zur Untersuchung gravitationskompensatorischer motorischer Aktivität im Mesothorakalganglion.....	10
2.2.4 Präparation zum intrazellulären Ableiten.....	11
2.3 Histologische Methoden.....	12
2.3.1 Zentripetale Färbungen mit Tetramethylrhodamin gekoppeltem Dextran.....	12
2.3.2 Intrazelluläre Färbungen mit Lucifer Yellow.....	14
2.3.3 Lucifer Yellow Antikörperfärbung an Transversalschnitten.....	14
2.4 Auswertungstechniken.....	16
2.4.1 Auswertung der Färbungen.....	16
2.4.1.1 Neuronrekonstruktion anhand von Transversalschnitten.....	16
2.4.2 Auswertung der elektrophysiologischen Daten.....	16
2.4.2.1 Spikesorting.....	17
2.4.2.2 Das Kippungsdiagramm.....	17
2.5 Statistik.....	18

	Seite
3. Ergebnisse.....	19
3.1 Codierungseigenschaften des paarigen PSI.....	19
3.1.1 Morphologie.....	19
3.1.2 Elektrophysiologie.....	24
3.1.2.1 Läsionsexperimente.....	35
3.2 Gravitationskompensatorische Motoneuronenaktivität.....	39
3.2.1 Der mesothorakale Nerv 3D.....	40
3.2.1.1 Der mesothorakale Nerv 3D1.....	41
3.2.1.2 Der mesothorakale Nerv 3D3.....	45
3.3 Nachgeschaltete gravitationssensitive Interneurone.....	47
3.3.1 Lokale positionssensitive Interneurone (LPSI).....	48
3.3.1.1 LPSI 1 (Meso).....	48
3.3.1.1.1 Morphologie.....	48
3.3.1.1.2 Elektrophysiologie.....	49
3.3.1.2 LPSI 2 (Meso).....	50
3.3.1.2.1 Morphologie.....	50
3.3.1.2.2 Elektrophysiologie.....	50
3.3.2 Intersegmentale positionssensitive Interneurone (IPSI).....	53
3.3.2.1 IPSI 1 (Meta).....	53
3.3.2.1.1 Morphologie.....	53
3.3.2.1.2 Elektrophysiologie.....	54
3.3.2.2 IPSI 2.....	56
3.3.2.2.1 Morphologie.....	56
3.3.2.2.2 Elektrophysiologie.....	57
3.3.2.3 IPSI 3 (Meta).....	58
3.3.2.3.1 Morphologie.....	58
3.3.2.3.2 Elektrophysiologie.....	59
3.3.2.4 IPSI 4 (Meso).....	61
3.3.2.4.1 Morphologie.....	61
3.3.2.4.2 Elektrophysiologie.....	63
3.3.3 Weitere positionssensitive Neurone im Mesothorakal- und im ersten freien Abdominalganglion (AG 3).....	65

	Seite
4. Diskussion.....	67
4.1 Das paarige PSI.....	67
4.1.1 Morphologie.....	67
4.1.2 Elektrophysiologie.....	68
4.2 Gravitationskompensatorische Motoneuronenaktivität.....	71
4.2.1 Der mesothorakale Nerv 3D1.....	72
4.2.2 Der mesothorakale Nerv 3D3.....	72
4.3 Die nachgeschalteten gravitationssensitiven Interneurone.....	73
4.4 Perspektiven.....	80
5. Zusammenfassung.....	82
6. Abstract.....	83
7. Literatur.....	84
8. Anhang.....	92
8.1 Verwendete Lösungen.....	92
8.1.1 Glutaraldehyd (2,5 %-ig, pH 7,25).....	92
8.1.2 Grillen-Ringerlösung (pH 6,6).....	92
8.1.3 Natriumcacodylat-Stammlösung.....	92
8.1.4 Paraformaldehyd (PFA, 4%-ig).....	92
8.1.5 PBS (0,1 M, pH 7,4).....	93
8.2 Verwendete Geräte.....	93
8.3 Verwendete Computersoftware.....	93
9. Danksagung.....	95
10. Lebenslauf.....	96

1. Einleitung

1.1 Allgemeine Einführung

Als Isaac Newton (*1643 †1727) bedingt durch die Londoner Pestepidemie 1665-1666 in den Genuß von verlängerten Semesterferien kam, entdeckte er nicht nur den verallgemeinerten binomischen Satz, die Differential- und Integralrechnung und die Spektralzerlegung des weißen Lichtes, sondern auch das Gravitationsgesetz. Dieses besagt, daß die Kraft, die den Apfel vom Baum fallen läßt, die gleiche ist, die den Mond um die Erde und die Erde um die Sonne zwingt; eine Kraft, die permanent auf alles und jeden auf diesem Planeten wirkt. Sie ist dabei sowohl in ihrer Größe ($g_n=9,80665 \text{ m/s}^2$) als auch in ihrer Richtung (Masseschwerpunkt der Erde \approx Erdmittelpunkt) konstant. Es gibt nur wenige Reize, auf die sich ein Lebewesen auf dieser Erde so vollständig verlassen kann. So wundert es nicht, daß die meisten Tiere Methoden entwickelt haben, um die Richtung dieses Schwerevektors zu messen.

1.2 Methoden der Schwerkraftrezeption

Die ursprünglichsten Schweresinnesorgane finden sich bei Tierstämmen, die von ihrem Ursprung an Wasser als umgebendes Medium angepaßt sind. Mineralisierte Körperchen mit einem spezifischen Gewicht über dem von Wasser (meist Kalkkristalle CaCO_3), Statolithen oder Statokonien genannt, werden bei ihnen als Schwerelot genutzt. Man spricht von Statokonien, wenn eine Anzahl kleinerer Partikel in ihrer Gesamtheit als Statolith fungieren (de Jong & van Wilgenburg 1975; Gao et al. 1997). Bei Vertebraten werden diese Körperchen wegen ihrer engen Beziehung zur akustischen Wahrnehmung auch Otolithen bzw. Otokonien genannt. Die Auslenkung des Schwerelots wird rezipiert und gibt Auskunft über die Lage zum Schwerevektor. Schon *Loxades*, ein einzelliger Ciliat, nutzt dieses Prinzip (Machemer & Bräucker 1992).

Bei Nesseltieren bilden Statorezeptoren dieses Bauprinzips die wahrscheinlich ältesten Sinnesorgane (Dudel & Menzel & Schmidt 1996). Durch die Auslenkung eines ein- bis mehrzelligen Pendels, das den Statolithen umgibt, werden Cilien von Kragensinneszellen reizwirksam abgebogen und so Gravitation rezipiert. Die unterschiedlichen Medusen- und Quallenklassen besitzen in ihrem Schirmrand 4-300 Statorezeptoren und zeigen Gravitaxis (Spangenberg et al. 1994, 1996).

Bei höher entwickelten Tierstämmen findet man Statozysten. Das sind Körperhöhlräume mit Statolith bzw. Statokonien, die ganz oder teilweise mit mechanorezeptorischen Sinnesepithel ausgekleidet sind. Die Raumlage wird somit durch Reizung der tiefsten Zone des Sinnesepithels angezeigt. In den hochentwickelten Schweresinnesorganen der Krebse, Tintenfische und Wirbeltiere sind die Sinneszellen der einzelnen Statozyste scheiben- oder bogenförmig angeordnet. Die Sinneszellen einer solchen Macula haben eine Vorzugsrichtung in der sie maximal empfindlich sind. So wird die Richtung des Schwerevektors durch den Ort der Reizung und der Neigungsgrad durch die Reizstärke signalisiert. Zahlreiche Untersuchungen beschäftigen sich mit dem Statolithenorgan von höheren Crustaceen (Dijkgraaf 1956; Fraser & Sandeman 1975; Sandeman & Okajima 1972, 1973; Schöne & Schöne 1967; Schöne & Steinbrecht 1968; Stein 1975).

Statozysten sind auch die Basis der Otolithenorgane, mit deren Hilfe sich die Wirbeltiere im Schwerfeld orientieren. Zusammen mit den als Drehsinnesorgan fungierenden Bogengängen bilden sie das Vestibularorgan (siehe Kornhuber 1974; Horn 1982).

Insekten haben evolutiv einen anderen Weg beschritten. Sie besitzen bis auf sehr wenige Ausnahmen, z.B. einigen wasserlebenden Dipterenlarven (Riewe 2000), keine Statozysten. Trotzdem sind sie in der Lage, den Schwerevektor zu bestimmen (Jander et al. 1970; Horn 1975, 1985; Sandeman 1976). Sie benutzen zu diesem Zweck Propriozeptoren, insbesondere die Borstenfelder (Bässler 1961, 1965; Horn 1985; Markl 1962, 1974), um aus der gravitationsabhängigen Auslenkung von Körperteilen und/oder der Belastung einzelner Gelenke die Richtung der Schwerkraft zu bestimmen (Horn 1975; Markl 1971; Wendler 1965, 1975). Bekanntes Beispiel hierfür ist das Nacken- und Petiolusorgan der Honigbiene *Apis mellifera* (Lindauer & Nedel 1959; Markl 1962).

Auf den Gravitationsreiz spezialisierte Sinneszellen sind bei Insekten extrem selten. Von den Dipteren weiß man, daß während des Fluges die Halteren wie Kreisel rotieren und so die Kreiseleigenschaft, sich zum Schwerevektor parallel auszurichten, genutzt wird, um die Raumlage zu bestimmen (Nalbach & Hengstenberg 1994).

Alle bisher darauf untersuchten Grillen, einige Schaben und Stenopelmatiden verfügen über keulenförmige Haare auf ihren Cerci. Nicklaus vermutete bereits 1969, daß es sich bei diesen Haaren um Schwererezeptoren handelt. Bischof beschrieb 1975 eine

lageabhängige Stärke der Rezeptorpotentiale dieser Sinneszellen und im Jahr 1983 wiesen schließlich Horn und Bischof ihre Rolle bei der Gravizeption nach.

1.3 Das Equilibriumorgan der Grille

Grundbaustein des Schweresinnesorgans der Grille ist das Keulenhaar (in der englischen Literatur club-shaped hair oder clavate hair genannt). Diese flüssigkeitsgefüllten Keulen (Abb. 1) entwickelten sich vermutlich aus filiformen Sinneshaaren (Gnatzy & Hustert 1989) und wurden als erstes von v. Rath (1888) für die Feldgrille *Gryllus campestris* beschrieben. Sie sind durch eine einzige Sinneszelle innerviert, die phasisch-tonische Reizantworten zeigt (Gnatzy & Schmidt 1971) und verfügen über eine Vorzugsrichtung, in der sie maximal empfindlich auf Auslenkungen reagieren (Bischof 1975). Jedes Keulenhaar entspringt einer becherförmigen Basis in dessen unmittelbarer Nähe sich campaniforme Sensillen befinden. Diese reagieren jedoch nur auf Verformungen des Bechers, die durch Wind- oder Gravitationsreize normalerweise nicht hervorgerufen werden (Bischof 1975).

Bei *Gryllus bimaculatus* finden sich an der Basis jedes Cercus ca. 150 Keulenhaare, angeordnet in neun längsverlaufenden Reihen. Durch Unterschiede in der jeweiligen Vorzugsrichtung fungieren sie als Ganzes als Schweresinnesorgan. Ihre Axone verlaufen über den Cercalnerv in das Terminalganglion, wo sie somatotop im cercalen Glomerulus terminieren (Murphey et al. 1980; Murphey 1981; Murphey et al. 1984). Interganglionäre Axonausläufer der Keulenhaarneurone existieren nicht (Hustert 1978). Die Keulenhaarafferenzen werden durch ein bilaterales Paar positionssensitiver Interneurone (PSI) im Terminalganglion integriert. Dieses Paar projiziert nach cranial durch die Konnektive und sorgt so für den Transport der Informationen über den Schwerevektor. Für das Heimchen *Acheta domestica* bestimmten Sakaguchi und Murphey (1983) die raumlageabhängigen Erregungszustände der PSI und ermittelten ihre rezeptiven Felder.

Horn und Föller zeigten im Jahre 1985, daß bei der Grille neben dem cercalen Schweresinn noch mindestens zwei weitere existieren: ein in den Beinen lokalisiertes System, das den Schwerevektor über propriozeptive Belastungsmessungen ermittelt und ein antennales System, das die gravitationsabhängige Auslenkung des Flagellums am Scapus-Pedicellus-Gelenk nutzt. Amputationsexperimente zeigten, daß das Ausschalten der Keulenhaare zumindest auf die dabei als Monitor genutzte schwerkraftkompensatorische Kopfbewegung den größten Einfluß hat.

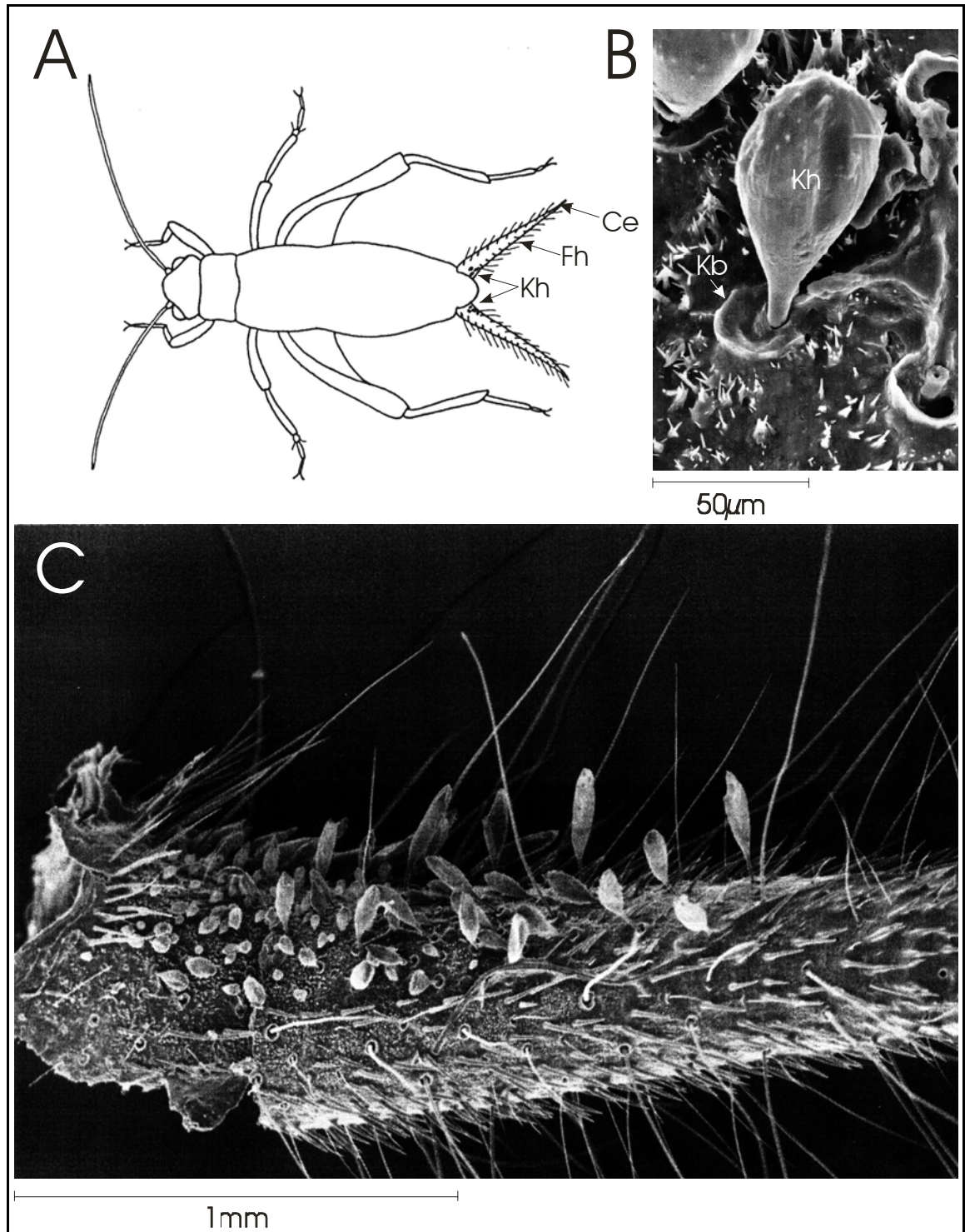


Abb. 1: Die Lage der Keulenhaare auf den Cerci der Grille. **A:** Schematische Darstellung einer adulten Grille (abgeändert nach Sakaguchi & Murphey 1983); **B:** Rasterelektronenmikroskopische Aufnahme eines einzelnen Keulenhaares von *Gryllus bimaculatus* mitsamt becherförmigem Insertionsapparat; **C:** Rasterelektronenmikroskopische Aufnahme der Cercusbasis von *Gryllus bimaculatus*, Aufsicht von median. **Ce:** Cercus; **Fh:** Filiformes Haar; **Kb:** Keulenhaarbecher; **Kh:** Keulenhaar

1.4 Gravitationskompensatorische Motorik

Bei vielen Tiergruppen ist bekannt wie Gravitation rezipiert wird. In welcher Weise diese Information jedoch genutzt wird, um zum Beispiel eine bestimmte Raumlage beizubehalten oder sich in eine solche zu begeben, ist weitgehend ungeklärt.

Der marine Mollusk *Clione limacina* ist in der Lage, verschiedene Orientierungen im Schwerfeld stabil beizubehalten (Deliagina et al. 1998, 1999; Panchin et al. 1995). Er macht dieses reflexartig, indem über die cerebro-pedalen Interneurone die von den Statozysten rezipierten Lageinformationen an die Effektororgane, hier Schwanz und ‚Flügel‘, weitergeleitet werden (Deliagina et al. 2000). Dieser Reflex ist jedoch nicht starr und kann flexibel verschiedenen Bedingungen (Temperatur) und Verhaltenskontexten angepaßt werden.

Die gravitationskompensatorische Motorik von Crustaceen ist vergleichsweise gut untersucht, da das Austauschen ihrer Statolithen durch Eisenspäne den Experimentator in die Lage versetzt, mittels Magnetfeldern unterschiedliche Schwerevektoren zu simulieren (Murayama & Takahata 1992). Veränderungen in der Raumlage lösen primär durch das Statozystenpaar kontrollierte Bewegungen der Augentiele, der Laufbeine und der Uropoden aus (Kühn 1914; Schöne 1954; Davis 1968; Yoshino et al. 1980). Auch diese gravitationsabhängigen Reaktionen werden sowohl durch propriozeptive und visuelle Reize (Kühn 1914; Alverdes 1926; Schöne et al. 1976) als auch durch den Verhaltenskontext beeinflusst (Takahata et al. 1984). In neueren Untersuchungen werden mehrere parallele Informationswege vermutet, die je nach Verhaltenssituation unterschiedlich beeinflusst werden (Hama & Takahata 2003).

Beim Neunauge *Lampetra fluviatilis*, einem primitiven Wirbeltier (Agnatha), führt die unilaterale Labyrinthektomie zu einer kontinuierlichen Rollbewegung, ergo zum Verlust der sonst vorhandenen gravitationskompensatorischen Motorik (Deliagina 1997; Ullén et al. 1995). Durch asymmetrischen visuellen Input kann diese Rollbewegung kompensiert werden, also das durch die unilaterale Labyrinthektomie hervorgerufene Ungleichgewicht zwischen dem rechten und dem linken reticulospinalen Informationsweg aufgehoben werden (Pavlova & Deliagina 2003; Zelenin et al. 2000).

Die Forschung über gravitationskompensatorische Motorik bei Insekten steckt noch in den Kinderschuhen. Zudem ist die Wahl der Versuchstiere auf Grillen, einige Schaben und Stenopelmatiden beschränkt, da nur diese Keulenhaare besitzen und ansonsten schon die dezentrale Schwerewahrnehmung der übrigen Insekten mittels Propriozeptoren den Forscher vor sehr große Probleme stellen würde. Horn und Bischof

beschrieben 1983 die gravitationskompensatorische Kopfbewegung bei *Gryllus bimaculatus*. Diese wird von mindestens zwei Schweresinnen gesteuert: dem cercalen Keulenhaarsystem und einem antennalen System, wobei der Einfluß der Keulenhaare größer ist. Zusätzlich ist diese Reaktion verhaltenskontextabhängig, da sie nur im gehenden bzw. laufenden Tier auftritt.

1.5 Fragestellungen der Arbeit

In der vorliegenden Arbeit sollen folgende Fragen geklärt werden:

- Wie wird die Raumlage in den beiden positionssensitiven Interneuronen codiert?
- Gibt es morphologische und/oder elektrophysiologische Unterschiede zum Heimchen *Acheta domestica*, das Sakaguchi und Murphey (1983) untersuchten?
- Wird die von den beiden positionssensitiven Interneuronen (PSI) transportierte Lageinformation genutzt, um gravitationskompensatorische Motorik auszulösen?
- Welche mesothorakalen Muskeln reagieren auf eine seitliche Kippung? Gibt es monosynaptische Verbindungen zwischen den PSI und den Motoneuronen, die diese Muskeln innervieren?
- Welche Interneurone werden durch die PSI angesteuert? Was müssen diese leisten, um die beobachtete Motorik hervorzubringen?

2. Material und Methoden

2.1 Versuchstiere

2.1.1 Art

Als Versuchstiere dienten Imagines der Mittelmeerfeldgrille *Gryllus bimaculatus* De Geer (Ensifera, Gryllidae), die der eigenen Zucht direkt vor den Versuchen entnommen wurden. Es wurden sowohl weibliche als auch männliche Tiere verwendet, deren Imaginalhäutung noch nicht länger als 3 Wochen zurücklag.

2.1.2 Haltung und Zucht

Die Versuchstiere wurden in Plastikgefäßen mit luftdurchlässigem Deckel (Fliegengitter) bei einem Tag-Nacht-Rhythmus von 12 Stunden gehalten. Vermiculite, ein Aluminium-Eisen-Magnesium-Silikat und sehr guter Wasserspeicher, diente dabei sowohl als Bodenbedeckung als auch in feuchtem Zustand in kleinen Plastikgefäßen als Ort für die Eiablage. Als Versteckmöglichkeiten dienten Eierkartons. Dreimal wöchentlich wurde Salat und Hundetrockenfutter, ad libitum auch Apfelstücke, Löwenzahnblätter und Brotreste verfüttert. Wassergesättigte Schaumstoffstücke dienten der Flüssigkeitsversorgung, da bei direkter Wassergabe viele frühe Larven von der Oberflächenspannung festgehalten wurden und ertranken.

2.1.3 Tierwahl und Ausschlußkriterien

Bei den intrazellulären Arbeiten am Terminalganglion wurden bevorzugt Weibchen genutzt, da bei ihnen die zur Körperlängsachse parallele Lage dieses Ganglions einen besseren experimentellen Zugang bietet. Beim Männchen liegt das Terminalganglion bedingt durch Position und Anatomie des Kopulationsapparates eher in der Transversalebene. Ein Geschlechtsdimorphismus bezüglich Detektion und Verarbeitung von bzw. Reaktion auf Gravitationsreize konnte in keinem Fall beobachtet werden.

Exemplare mit verstümmelten Cerci (hervorgerufen z. B. durch Häutungsfehler) oder mit verminderter Anzahl von Keulenhaaren (häufig zurückführbar auf Verletzungen der Cerci in sehr frühen Lavalstadien) wurden ebenso von den Versuchen ausgeschlossen, wie Tiere, deren positionssensitive Interneurone (PSI) im Konnektiv extrazellulär nicht ableitbar waren. Letzteres kam bei 5% der untersuchten Grillen vor. Ob der Grund

hierfür ein kleineres, ein inaktives, ein weiter entfernt von der Konnektivoberfläche verlaufendes oder ein fehlendes PSI war, konnte nicht geklärt werden.

2.2 Präparationen

Vor jeder Präparation wurden die Tiere in Kältenarkose versetzt. Zu diesem Zweck wurden sie in eine wasserdicht verschließbare Röhre gesteckt und für 30 bis 60 Minuten in ein Eiswasserbad (0°C) getaucht. Die Versuche selbst wurden bei Raumtemperatur (18-25°C) durchgeführt.

Alle Feinpräparationen wurden unter dem Binokular (Leica Wild M3C) unter Verwendung einer Kaltlichtlampe als Lichtquelle vorgenommen.

Die verwendeten Muskelbenennungen beziehen sich auf die Nomenklatur von Kutsch (1969), Bezeichnungen des peripheren Nervensystems auf die von Campbell (1961). Die Benennung der Trakte folgt der Nomenklatur von Tyrer und Gregory (1982). Die Zuordnung der Neuropile basiert auf den Arbeiten von H. J. Pflüger, P. Bräunig und R. Hustert (1988) und F. Funke (2000).

Die Tiere wurden dekapitiert und nach Entfernen der Flügel und Extremitäten mit der Dorsalseite nach oben in einer Präparierschale festgenadelt. Eine Vertiefung in dieser Schale sorgte dafür, daß das Tier weder mit dem Thorax noch mit dem Abdomen auf dem Substrat auflag. Vorversuche zeigten, daß ohne diese Vertiefung gravitationskompensatorische Muskelaktivität oft ausblieb oder stark vermindert war. Das Abdomen wurde von dorsal geöffnet, Ovarien, respektive Hoden und Darm entfernt. Zur Isolation der Cerci gegen Windreize dienten übergestülpte, an einem Ende geschlossene, dünne Kunststoffschläuche. Ihre Durchmesser waren groß genug, um eine Beeinträchtigung der Keulenhaarbeweglichkeit auszuschließen.

Vor allen Versuchen wurde das Tier in die horizontale Normalposition gebracht. Diese bezeichnet die Lage des Tieres (bzw. seiner Cerci) zum Schwerfeld der Erde, die es einnehmen würde, wenn es in Ruhe auf einem horizontalen Boden stünde. Die Kippungen aus der Normalposition in eine 45° Auslenkung erfolgte manuell mit einer Winkelgeschwindigkeit von 34°/s – 45°/s.

2.2.1 Kippung des gesamten Tieres

Die Präparierschale wurde auf einem in jede Richtung um 45° schwenkbaren Tischchen befestigt, das auch den Mikromanipulator für die Saugelektrodenableitung trug. Über die Widerstandsmessung eines am Tischchen befestigten Potentiometers (linear,

250 K Ω) konnte die Kippungsposition gemessen und synchron aufgezeichnet werden. Ein kleiner Metalllöffel, von posterior unter das Terminalganglion geschoben, diente sowohl zur Stabilisierung als auch als indifferente Elektrode (Abb.2). So waren permanente Saugelektrodenableitungen während einer Kippung in beliebiger Richtung möglich. Als günstig für das Ableiten des positionssensitiven Interneurones (PSI) erwies sich eine Stelle dorso-lateral auf dem Konnektiv, etwas anterior vom Terminalganglion.

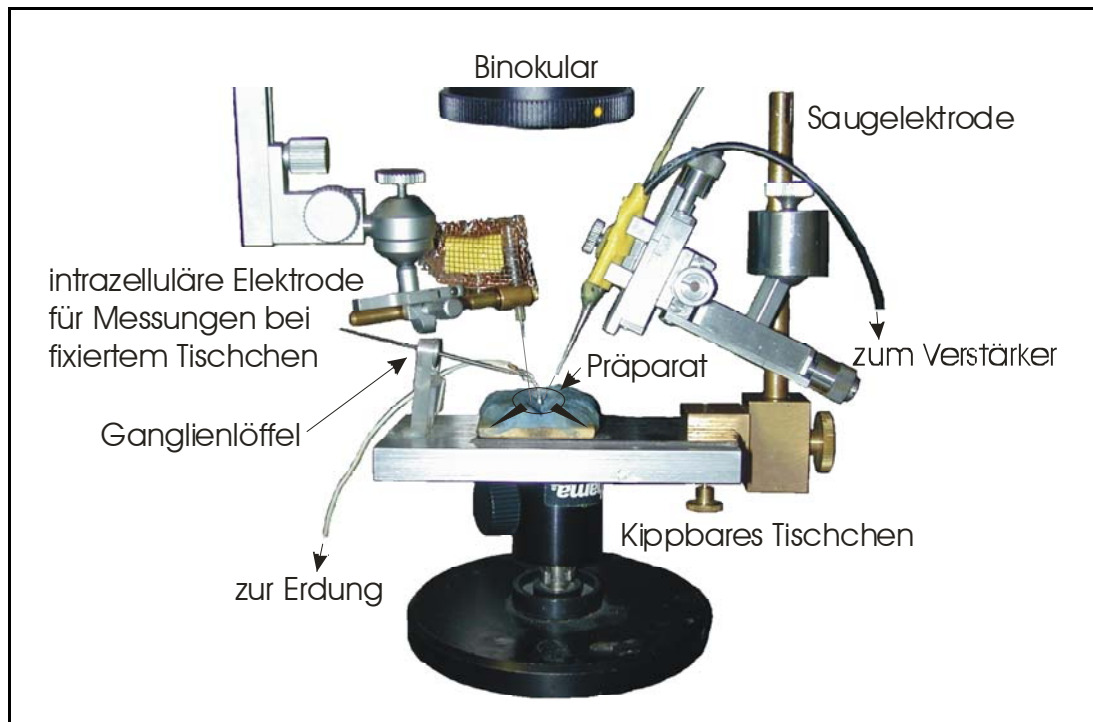


Abb. 2: Versuchsaufbau zum extrazellulären Ableiten während der Kippung des gesamten Tieres

2.2.2 Kippung nur der letzten Segmente

Diese Präparation lag Versuchen zugrunde in denen nur die Genitalsegmente mit den Cerci und dem Terminalganglion lateral gekippt wurden, während das restliche Präparat stabil blieb. Das führte dazu, daß ein selektiverer Reiz gegeben werden konnte, ohne die bei der Kippung des gesamten Tieres nicht auszuschließenden sensorischen Informationen (zum Beispiel über Spannung von Muskulatur und Cuticula), und es war so möglich, stabile intrazelluläre Ableitungen im positionskonstanten Abdomen- und Thoraxbereich vorzunehmen.

Die Fixierung der Grille erfolgte derart über der Vertiefung in der Präparierschale, daß die Genitalsegmente ab dem 7. Abdominalsegment über ihr Ende hinaus ragten. Nach

dem Abschluß aller weiteren versuchsrelevanten Präparationen (z.B. dem Freipräparieren des Mesothorakalganglions zum Zwecke der intrazellulären Ableitung) wurde eine kleine kippbare Plattform unter das überhängende Abdomen positioniert und dieses mit zwei Minutiennadeln lateral der Cercalnerven darauf fixiert. Diese Plattform war so konstruiert, daß die Kippachse genau zwischen den Konnektiven lag. Auch hier wurden die Cerci mit dünnen Kunststoffschläuchen vor Windreizen isoliert. Das Terminalganglion und die abgehenden Konnektive wurden freipräpariert und schließlich die Genitalsegmente nach Absenkung des Ringerspiegels komplett vom Rest des Tieres getrennt. Die Konnektive blieben intakt. Seitlich wurde dieser Schnitt noch etwas verbreitert, um ein Aneinanderstoßen der beiden Abdomenteile bei der Kippung zu vermeiden. Dabei hat es sich als vorteilhaft erwiesen, den fixierten Präpariertisch etwas auf der cranialen Seite abzusenken. Die Oberflächenspannung des Ringers war so in den allermeisten Fällen ausreichend, um sein Auslaufen zu verhindern (Abb. 3).

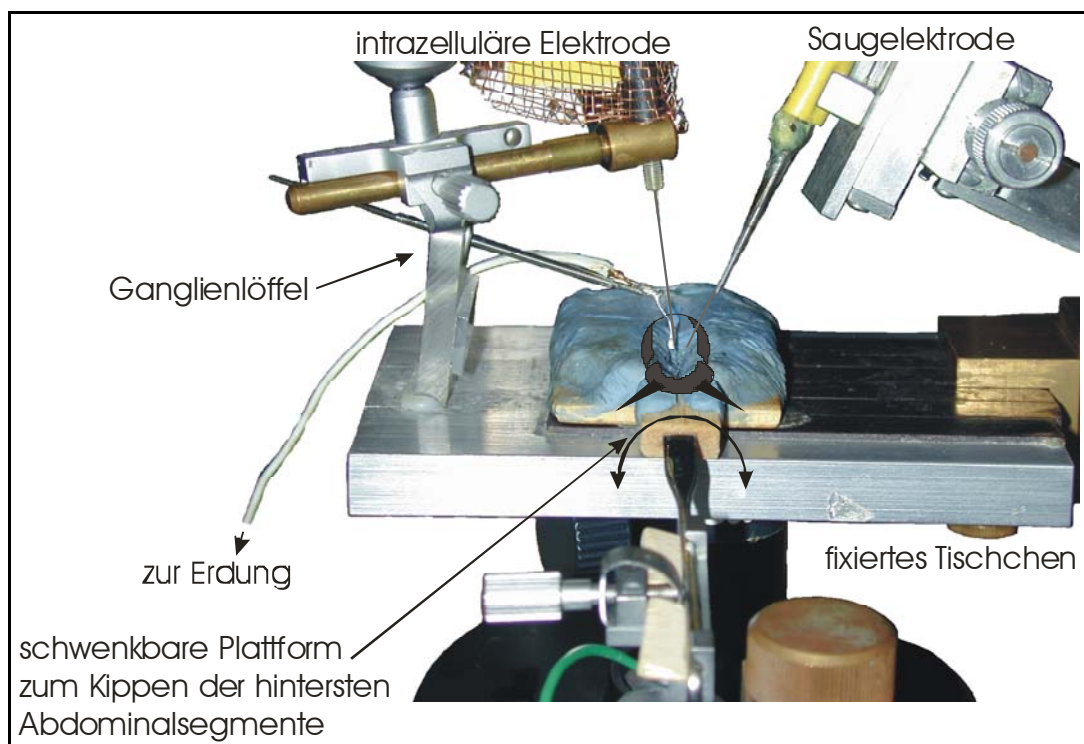


Abb. 3: Versuchsaufbau zum intrazellulären Ableiten während der Kippung nur der hintersten Segmente des Tieres

2.2.3 Präparation zur Untersuchung gravitationskompensatorischer motorischer Aktivität im Mesothorakalganglion

Diese Arbeit konzentriert sich auf die Rolle des mesothorakalen Ganglions bei der Steuerung gravitationskompensatorischer Motorik. Zum einen ist es experimentell gut

zugänglich (nicht wie das Metathorakalganglion eingeeignet zwischen großen Muskelpaketen oder wie das Prothorakalganglion durch die Dekapitierung in einer labilen Lage), zum anderen ist die Beteiligung an der Kompensation seitlicher Schief lagen durch die hierfür günstige Haltung der Mittelbeine wahrscheinlich. Diese werden beim stehenden Tier meist so platziert, daß Trochanter und Femur einen Winkel von ca. 90° mit der Körperlängsachse bilden.

Nach dem Entfernen der kompletten dorsalen Hälfte des Thorax erfolgte die Fixierung der Grille durch die Vorderbeincoxen über der Vertiefung in der Präparierschale. Hakenförmige Minutiennadeln wurden im Bedarfsfalle zur weiteren Stabilisierung auf Höhe des Mesothorakalganglions lateral durch den Tergiten gesteckt. Das mesothorakale Ganglion wurde freipräpariert und beidseitig sämtliche mesothorakalen Nerven (außer den Konnektiven) gekappt, um möglichen unerwünschten sensorischen Input über Gelenkstellung, Verformung der Cuticula, Verletzungen etc. auszuschließen. Die frisch abgeschnittenen Nervenstümpfe wurden mit einer Saugelektrode eingesaugt und abgeleitet. Zumeist erfolgte zeitgleich eine extrazelluläre Ableitung vom Axon des PSI direkt posterior vom Metathorakalganglion dorso-lateral am Konnektiv mit einer aufgesetzten Saugelektrode.

2.2.4 Präparation zum intrazellulären Ableiten

Intrazelluläre Ableitungen wurden im Terminal-, im ersten freien Abdominal- und im Mesothorakalganglion durchgeführt. Die Vorgehensweise unterschied sich dabei nur in der Positionierung des ganglionunterstützenden Löffels, der gleichzeitig auch als indifferente Elektrode diente. Im Falle des Terminalganglions wurde er von caudal zwischen den Cercalnerven hindurch unter das Ganglion geführt. In den anderen beiden Fällen geschah das von cranial, wobei der Löffelstiel bei Versuchen am ersten freien Abdominalganglion zwischen den Konnektiven, bei Ableitungen im Mesothorakalganglion zwischen dem linken Konnektiv und der ebenfalls linken Nervenwurzel 3 platziert wurde.

Um die Penetrierbarkeit des Neurolemms zu erhöhen, wurde es vor den intrazellulären Versuchen angedaut. Einige Collagenase-Kristalle (SIGMA, Typ IV) wurden auf einem kleinen, Ringer-getränkten Stück Zellstoff gelöst und dieses mit einer Pinzette auf den entsprechenden Teil der Ganglienoberfläche gelegt, nachdem der Ringerspiegel im Tier so gesenkt wurde, daß die Ganglien gerade noch bedeckt waren. Nach einer Einwirkzeit von 10 Minuten wurde der Zellstoff wieder entfernt und das Ganglion gründlich mit

Ringer gespült. Um die Vitalität des Präparates nicht herabzusetzen, wurde diese Prozedur durchgeführt, bevor Nervengewebe zum Beispiel durch Deafferentierung verletzt wurde.

Für intrazelluläre Ableitungen und Färbungen mit Lucifer Yellow kamen Glaselektroden (WPI, GLASS 1BBL W/FIL 1.0MM 3IN) zum Einsatz. Ihre Spitzen wurden unter Ausnutzung der Kapillarkräfte unmittelbar vor dem Versuch mit einer 5%-igen Lucifer Yellow Lösung gefüllt. Danach wurde der Rest der Glaselektrode mit 1M LiCl-Lösung aufgefüllt. Es wurden ausschließlich Elektroden mit einem Widerstand zwischen 80 M Ω und 200 M Ω verwendet.

2.3 Histologische Methoden

Ob die Form das Sein oder das Sein die Form bestimmt, ist in der Neurobiologie bisher nicht zur Gänze geklärt. Man ist sich jedoch einig, daß die Morphologie eines Neurons Schlußfolgerungen über dessen mögliche Funktion, Mutmaßungen über Input- und Outputregionen und potentielle vor- oder nachgeschaltete Nervenzellen (siehe hierzu auch Abschnitt 4.3 der Diskussion) zuläßt.

2.3.1 Zentripetale Färbungen mit Tetramethylrhodamin gekoppeltem Dextran

Diese Methode wurde angewendet, um von der Peripherie ins Zentralnervensystem zu färben. Da Dextran als ein Zucker zusätzlich zur Diffusion wahrscheinlich auch aktiv in der Zelle transportiert wird, wurde das Präparat möglichst lange (maximal jedoch 24 Stunden) vital gehalten, um so die bestmögliche Verteilung des Farbstoffes in der Zelle zu erreichen.

Nach dem Freipräparieren des zu färbenden Nervs erfolgte die Positionierung einer kleinen ca. 1,0 mm durchmessenden Plattform aus einer mit Tackiwachs überzogenen Minutiennadel (Abb. 4) im Tier derart, daß das Ende des abgeschnittenen Nervenstumpfes ohne Zug auszuüben darauf zum Liegen gebracht werden konnte.

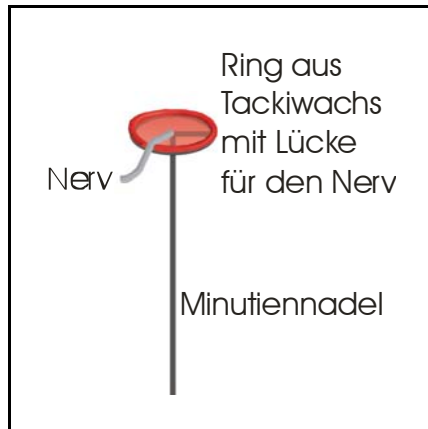


Abb. 4: Tackiwachsplattform für Dextranbackfills

Nach Absenken des Flüssigkeitsspiegels im Tier wurde der Rand dieser Plattform mit Vaseline erhöht, bis ihr Inhalt vom Rest des Tieres isoliert war. Es erfolgte der Austausch des Ringers im Vaselinepool gegen destilliertes Wasser. Die unterschiedlichen osmotischen Drücke führten zu einem Quellen des Nervenstumpfes und verbesserten so die nachfolgende Aufnahme des Farbstoffes. Nach 5 Minuten wurde das destillierte Wasser entfernt und durch eine gesättigte Dextranlösung mit dem gekoppelten Fluoreszenzfarbstoff Tetramethylrhodamin (TRITC) ersetzt. Das Tetramethylrhodamin-konjugierte Dextran mit einem Molekulargewicht von 3000 liegt dabei in einer Konzentration von ca. 30 mmol/l vor (Produktinformation Molecular Probes) und erreicht eine Diffusionsgeschwindigkeit von ca. 2 mm/h (Fritsch 1993). Die zusätzlich an das Dextran gekoppelten Lysinreste ermöglichten eine spätere Fixierung mit Aldehyden. Der Pool mit dem Farbstoff und dem Ende des zu färbenden Nervs wurde mit einem Deckel aus Vaseline versehen und das Präparat für die Diffusionszeit (12 bis 24 Stunden) bei 4°C in einer feuchten Kammer gelagert.

Nach dieser Zeit wurde die Tackiwachsplattform und der Vaselinepool zusammen mit dem sich noch darin befindlichen Dextran vorsichtig entfernt und schließlich die betreffenden Teile des Nervensystems herauspräpariert. Gereinigt von Fettgewebe- und Tracheenresten wurde es in 4%-iger Paraformaldehydlösung (PFA, leicht abgewandelt nach Steward, siehe Romeis 1989) 30 Minuten lang fixiert und über eine aufsteigende Alkoholreihe dehydriert. Das durch Überführung in Methylsalicylat aufgeklärte Nervensystem konnte nun unter dem Fluoreszenzmikroskop (Leitz Aristoplan) mit geeignetem Filter (TRITC: Erregungsmaximum bei 555 nm, Emissionsmaximum bei 580 nm) betrachtet und die Ergebnisse mit einer Digitalkamera (Nikon Coolpix 950) festgehalten werden.

2.3.2 Intrazelluläre Färbungen mit Lucifer Yellow

Lucifer Yellow, ein viel genutzter Fluoreszenzfarbstoff für intrazelluläre Färbungen im Zentralnervensystem, kann durch Anlegen eines hyperpolarisierenden Stromes an die Ableitelektrode iontophoretisch in die Zielzelle injiziert werden. Dieses geschah grundsätzlich, nachdem alle elektrophysiologischen Experimente abgeschlossen waren. Die Applikation wurde aufrecht erhalten, solange von der Zelle ohne Hyperpolarisation abgeleitet werden konnte. Die sich anschließende Diffusionszeit betrug, abhängig von der zu erwartenden Größe des Neurons, zwischen 30 Minuten (bei lokalen Interneuronen) und 4 Stunden (beim PSI). Die entsprechenden Teile des Nervensystems wurden herauspräpariert, von Fett- und Tracheenresten befreit, in 4%-iger PFA-Lösung 30 Minuten lang fixiert, über eine aufsteigende Alkoholreihe dehydriert und schließlich in Methylsalicylat aufgeklärt. Die Ergebnisse wurden unter dem Fluoreszenzmikroskop mit geeignetem Filter (Lucifer Yellow: Erregungsmaximum bei 425 nm, Emissionsmaximum bei 528 nm) betrachtet und gegebenenfalls mit einer Digitalkamera festgehalten.

2.3.3 Lucifer Yellow Antikörperfärbung an Transversalschnitten

Die Lucifer Yellow Antikörperfärbung an Transversalschnitten (leicht abgewandelt nach Loesel & Homberg 2001) wurde genutzt, um bereits vorhandene Lucifer Yellow-Färbungen zu intensivieren und um den Verlauf des gefärbten Neurons besser bestimmten Trakten und Neuropilregionen zuordnen zu können. Die abschließende Einbettung in Araldit führte zu Dauerpräparaten, was insbesondere bei der späteren Neuronrekonstruktion hilfreich war.

Das in Methylsalicylat vorliegende Whole mount wurde über eine absteigende Alkoholreihe rehydriert und über Nacht im Kühlschrank bei 4°C in einem Fixativ (4% PFA und 2,5% Glutaraldehyd in PBS) nachfixiert. Nach gründlicher Spülung mit PBS wurde es in 5%-iger Agarose eingebettet, am Vibratom (Leica, VT1000S) transversal auf 40 µm (50 µm, wenn die Schnitte sonst zu instabil wurden) Dicke geschnitten und die einzelnen Schnitte in ein Blockschälchen mit PBS überführt. Die Inkubation der Schnitte erfolgte in zwei Schritten: Zuerst wurden sie in eine Lösung aus 0,2% BSA (Rinderalbumin), 0,25% Triton X und 5% NGS (Ziegen Serum) in PBS gebracht. Triton X diente dabei der Permeabilisierung, Rinderalbumin und Ziegen Serum dem Blocken von Lucifer Yellow ähnlichen Stoffen. Über Nacht verblieben sie im Kühlschrank bei 4°C und wurden dann in einem zweiten Schritt, ebenfalls über Nacht,

bei 4°C in eine PBS-Lösung aus 0,2% BSA (Rinderalbumin), 0,25% Triton X, 1% NGS (Ziegenerum) und dem Biotinkonjugierten Lucifer Yellow Antikörper (Molekular Probes, Biotin-XX conjugate 3 mg/ml) im Verhältnis 1:500 überführt. Die PSI-Schnitte wurden abweichend hiervon über das Wochenende inkubiert, so daß der Lösung noch 0,03% Natriumazid zur Vermeidung von Pilzbildung hinzugefügt wurde. Nach der Inkubation wurden die Schnitte gründlich in PBS gespült. Das Ansetzen des ABC-Komplexes, bestehend aus einem Tropfen Lösung A (Vector, Vectastain ABC Kit) und einem Tropfen Lösung B (Vector, Vectastain ABC Kit) auf 5 ml PBS erfolgte 30 Minuten vor der Überführung der Schnitte. In dieser Lösung verblieben die Schnitte wieder über Nacht bei 4°C und wurden anschließend vor der DAB-Reaktion erst in PBS und schließlich in Tris-Puffer (6,05 g/l, pH 6,9) gespült. Nun erfolgte die Vorinkubierung der Schnitte in einer 3%-igen DAB-Lösung in Tris-Puffer (pH 8,4) für die Dauer von 5 Minuten. Durch Zugabe von 10 µl 3%-igem Wasserstoffperoxid (H₂O₂) wurde die Reaktion gestartet. Die Reaktionszeit betrug ca. 15 Minuten. Die Schnitte mußten dabei ständig visuell kontrolliert werden, um eine zu blasse Färbung bzw. ein Überfärben zu verhindern. Gestoppt wurde die Reaktion dadurch, daß die Schnitte in Blockschälchen mit PBS gebracht wurden. Nach mehrmaligem Spülen in PBS erfolgte erneut das Einbetten in Agarose, damit diese plan blieben. Zu diesem Zweck wurden die Schnitte auf einen Objektträger gelegt, gut mit einem Stückchen Filterpapier abgetrocknet, mit 1%-iger Agarose überschichtet und mit einem Plastikdeckgläschen plan aufgedrückt. Nach dem Erhärten der Agarose wurden die Schnitte mit dem Skalpell ausgeschnitten und in PBS überführt. Eine Nachfixierung in 4% PFA und 2,5% Glutaraldehyd in PBS über Nacht bei 4°C schloß sich an. Abschließend erfolgte das Einbetten der Schnitte in Araldit. Dazu wurden sie über eine ansteigende Alkoholreihe dehydriert und in Propylenoxid überführt. Über die Mischverhältnisse Propylenoxid zu Araldit von 3:1 für eine Stunde, anschließend 1:1 über Nacht und danach 1:3 für eine Stunde wurden die Schnitte schließlich in reines Araldit gebracht. Zur Anwendung kam dabei eine Mischung aus 14,5 g Araldit, 12 g DDSA (Araldit-Härter, Serva) und 0,25 g Araldit-Beschleuniger (Serva), um die Schnitte auf Objektträgern einzudeckeln. Das Aushärten erfolgte bei 60°C im Wärmeschrank über Nacht.

2.4 Auswertungstechniken

2.4.1 Auswertung der Färbungen

Die photographische Erfassung der Färbungen erfolgte schichtweise in 5 µm bis 10 µm Schritten (je nach zu erfassendem Detailreichtum), Fokusebene nach Fokusebene, bei einer Auflösung von 2 Mega-Pixeln und einer Farbtiefe von 24 Bit. Diese Bilder wurden anschließend in der gleichen Reihenfolge in das PC-Programm CorelDRAW 10 importiert und die scharf abgebildeten Strukturen im Freihandmodus nachgezeichnet. Eine Grautoncodierung von Schwarz nach Weiß wurde dabei genutzt, um die einzelnen Ebenen des Bilderstapels zu markieren. So wurden die scharf abgebildeten Strukturen im obersten Bild 100% Schwarz, im darunter liegenden 95% Schwarz und 5% Weiß, im darauf folgenden 90% Schwarz und 10% Weiß etc. dargestellt. Als Orientierungshilfe während des Zeichnens diente ACDSSee 6.0, ein Bilddarstellungsprogramm, das ein schnelles Durchfahren eines Bilderstapels ermöglichte und so dabei half, die dreidimensionale Struktur des gefärbten Neurons besser zu erfassen. Bei den Transversalschnitten wurden auch die Dauerpräparate zu diesem Zweck genutzt.

2.4.1.1 Neuronrekonstruktion anhand von Transversalschnitten

Nach der oben beschriebenen graphischen Erfassung der einzelnen Schnitte ergab sich bei den Transversalschnitten das Problem, sie in die richtige Reihenfolge zu bringen. Eine reine Orientierung an der Schnittgröße und den abgehenden Nerven führte hier oft zu keinem eindeutigen Ergebnis. Als weitaus praktikabler erwies sich das Nutzen der Ein- und Austrittspunkte des gefärbten Neurons als Landmarken. Diese wurden in den Zeichnungen markiert. Das Rekonstruieren der richtigen Reihenfolge, bei der jeweils die Eintrittspunkte des einen Schnittes auf die Austrittspunkte des anderen trafen, war auf diese Weise möglich. Im Zweifelsfall konnte die graphische Auswertung des Whole mounts der gleichen Zelle zur Klärung herangezogen werden.

2.4.2 Auswertung der elektrophysiologischen Daten

Die zuvor mit einem DAT-Recorder (Biologic DTR-1800) aufgenommenen Daten wurden über einen Analog-Digital-Wandler (BNC-16/PCI interface box mit angeschlossenen PCI-1200J A-D board, RUN Technologies) mit einer Samplingrate von 10 KHz in einen PC eingelesen. Datenanalyse und Darstellung erfolgte mit Datapac

2K2 (Version 3.09, RUN Technologies) und SigmaPlot (Version 8.02, SPSS Inc.), die abschließende Bearbeitung und Beschriftung mit CorelDRAW 10.

2.4.2.1 Spikesorting

Bei extrazellulären Ableitungen stellt sich oft das Problem, aus einer Masse von Aktivität eine bestimmte Einheit herauszufiltern. Extrazellulär erfaßte Spikes von verschiedenen Einheiten unterscheiden sich in ihrer Amplitude. Bei einer auf dem Nerv oder dem Konnektiv aufgesetzten Saugelektrode wird diese durch den Durchmesser des Neurons und dessen Abstand zur messenden Elektrode bestimmt. Wird ein Nerv vorher durchtrennt und der Stumpf eingesaugt, so hängt die Amplitude nur vom Durchmesser der Neurone ab. Allerdings kommt es hier beim Durchschneiden des Nervs oft zu Quetschungen und somit zu Veränderungen des tatsächlichen Querschnitts, so daß es eine unzutreffende Vermutung wäre, daß die größte Einheit auch immer die größten Spikes produziert.

In Datapac wurden die Spikes einer extrazellulären Ableitung durch geeignetes Setzen eines Thresholds als Events gekennzeichnet. Eventuell vorhandene größere Potentialschwankungen in der Ableitung wurden vorher durch Subtraktion der durch lineares Glätten (Zeitkonstante = 500 ms) auf das Grundpotential reduzierten Originalableitung von ihr selbst eliminiert. Um die Gesamtamplitude der Spikes zu erfassen, wurde die On-Markierung des Events auf das Spikemaximum verschoben und die Off-Markierung 1 ms dahinter gesetzt. Innerhalb dieses Events wurde nun das Spikeminimum bestimmt und vom Maximum abgezogen, um die Gesamtamplitude zu erhalten. Diese wurde in einem Diagramm gegen den Zeitpunkt des Spikemaximums aufgetragen. Die so entstandenen horizontalen Banden (hervorgerufen durch das gehäufte Auftreten bestimmter Amplituden) entsprachen den abgeleiteten Einheiten und die zugehörigen Events konnten mit dem Spikesortingmodul von Datapac markiert und von der Restaktivität getrennt werden.

2.4.2.2 Das Kippungsdiagramm

Zur Verdeutlichung und zur Verbesserung der Vergleichbarkeit wurden die Reaktionen auf eine veränderte Lage zum Schwerevektor standardisiert in einem Kippungsdiagramm dargestellt. Hierbei repräsentieren die breiten Säulen die tonischen Komponenten einer solchen Reaktion, die schmalen den phasischen Anteil. Die Pfeile zeigen an, welcher phasische Anteil bei welcher Kipprichtung gemessen wurde. Dicke

Pfeile stehen hier für die Auslenkung aus der Normalposition, dünne für die Rückführung in dieselbe.

2.5 Statistik

Eine parametrische Werteverteilung in Form einer Gauß'schen Normalverteilung konnte bei den zur statistischen Auswertung herangezogenen Daten nicht sichergestellt werden, so daß der nicht-parametrische U-Test nach Wilcoxon, Mann und Whitney (siehe Sachs 1984) herangezogen wurde. Die Daten wurden in Excel 2000 (Microsoft) importiert und mit dem Zusatzprogramm WinSTAT (Version 2003.1) analysiert. Irrtumswahrscheinlichkeiten von $p < 0,01$ wurden dabei als signifikant angesehen und in den grafischen Darstellungen mit einem Stern (*) gekennzeichnet. Zwei Sterne (**) bezeichnen Signifikanzen mit $p < 0,0001$, drei Sterne (***) solche mit einer Irrtumswahrscheinlichkeit von 0.

In den grafischen Darstellungen der Spikefrequenzen beim jeweiligen Kippungswinkel wurden der Mittelwert der Einzelwerte (\bar{x}) und die Standardabweichung (s) zur besseren Lesbarkeit einseitig aufgetragen. Angaben zu der Anzahl der Einzelwerte (n) und/oder zu der Anzahl der in die Auswertung eingegangenen Tiere (N) finden sich in den Diagrammen oder in den Bildunterschriften.

3. Ergebnisse

3.1 Codierungseigenschaften des paarigen PSI

Wie beim Heimchen *Acheta domesticus* L. (Ensifera, Saltatoria) integriert auch bei *Gryllus bimaculatus* ein bilaterales Paar positionssensitiver Interneurone (PSI) die Afferenzen der Keulenhaare. Sie übertragen Informationen über die Lage zur Schwerkraft unter anderem zu den motorischen Zentren der Thorakalganglien (siehe auch Sakaguchi & Murphey 1983). Nach weiteren PSI, wie zum Beispiel bei der Schabe *Arenivaga*, die über vier verfügt (Walthall & Hartmann 1980), wurde gesucht, diese konnten jedoch nicht gefunden werden.

3.1.1 Morphologie

Das im Durchmesser 35 μm große Soma des positionssensitiven Interneurons (PSI) liegt leicht lateral vom Konnektiv auf Höhe der Nervenwurzel 1, ventral im Terminalganglion (Abb. 5). Sein primärer Neurit beschreibt einen Bogen von 180° und entsendet noch auf der ipsilateralen Seite zwei kleine Äste, ehe er nach kontralateral und dorsal zieht, um sich dort in den ascendierenden Ast und das Hauptverzweigungsgebiet aufzuteilen. Dieses Hauptverzweigungsgebiet ist ein reich verzweigtes Areal aus mindestens zwei Hauptästen, das sich der Ganglionmittellinie annähert, diese jedoch nicht überschreitet und im cercalen Glomerulus terminiert. Das ascendierende Axon verläuft dorso-lateral im Konnektiv.

Das Verzweigungsmuster des PSI in den verschiedenen abdominalen Ganglien ist sehr ähnlich, so daß hier nur exemplarisch das des ersten freien Abdominalganglions (AG 3) beschrieben wird (Abb. 6). Das Axon läuft dorso-lateral durch das Ganglion hindurch und entsendet nur auf Höhe der Tergalnerven einen Neuriten nach medio-ventral. Dieser verzweigt sich in zwei Hauptäste und überschreitet die Ganglionmittellinie nicht.

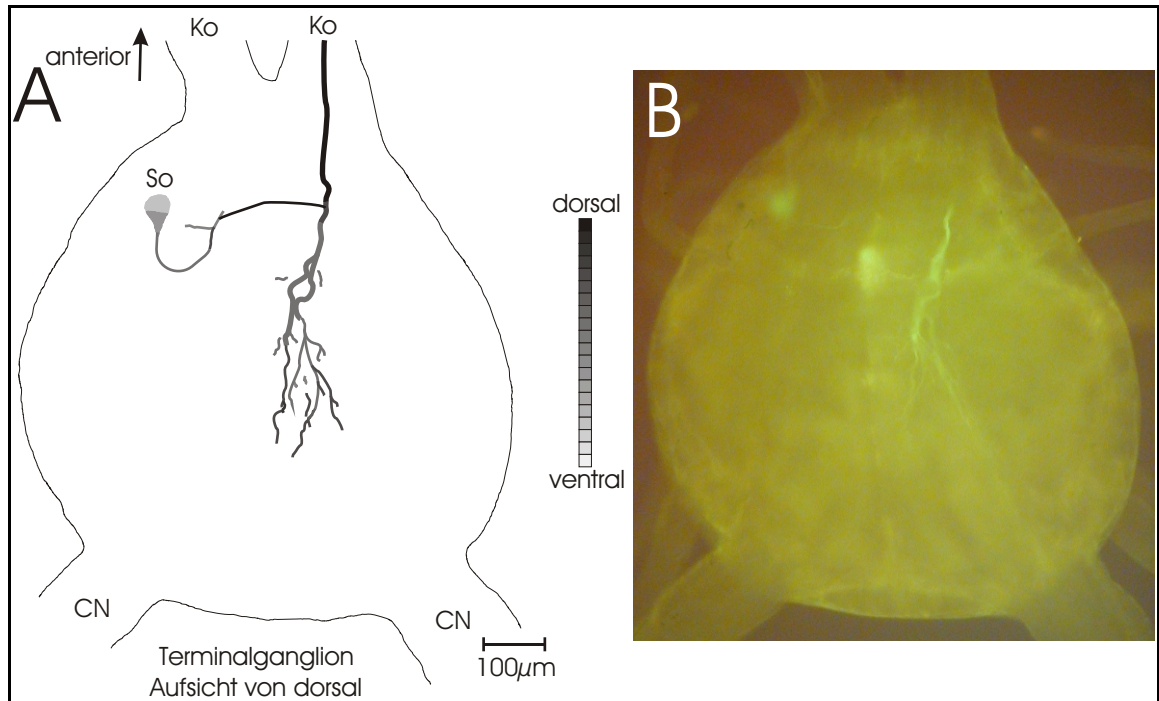


Abb. 5: Lucifer Yellow-Färbung des durch das rechte Konnektiv ascendierenden PSI im Terminalganglion in Aufsicht von dorsal. **A:** Rekonstruktion des Projektionsgebietes aus mehreren Photos verschiedener Fokusebenen, wobei dorsal gelegene Strukturen dunkel, ventral gelegene hell dargestellt sind; **B:** Photographie des in A dargestellten Bereiches im Whole mount; **CN:** Cercalnerv; **Ko:** Konnektiv; **So:** Soma

Das im dorsalen intermediären Trakt (DIT) ascendierende Axon entsendet zwei Verzweigungen in das eigentliche Metathorakalganglion (auf Höhe der Nervenwurzel 3) und weitere in die beiden Abdominalneuromere. Diese Arborisationen ziehen hauptsächlich nach median, wo sie ventro-medial bis dorso-medial mehrheitlich zwischen dem dorsalen intermediären Trakt (DIT) und dem ventralen intermediären Trakt (VIT) terminieren (Abb. 7).

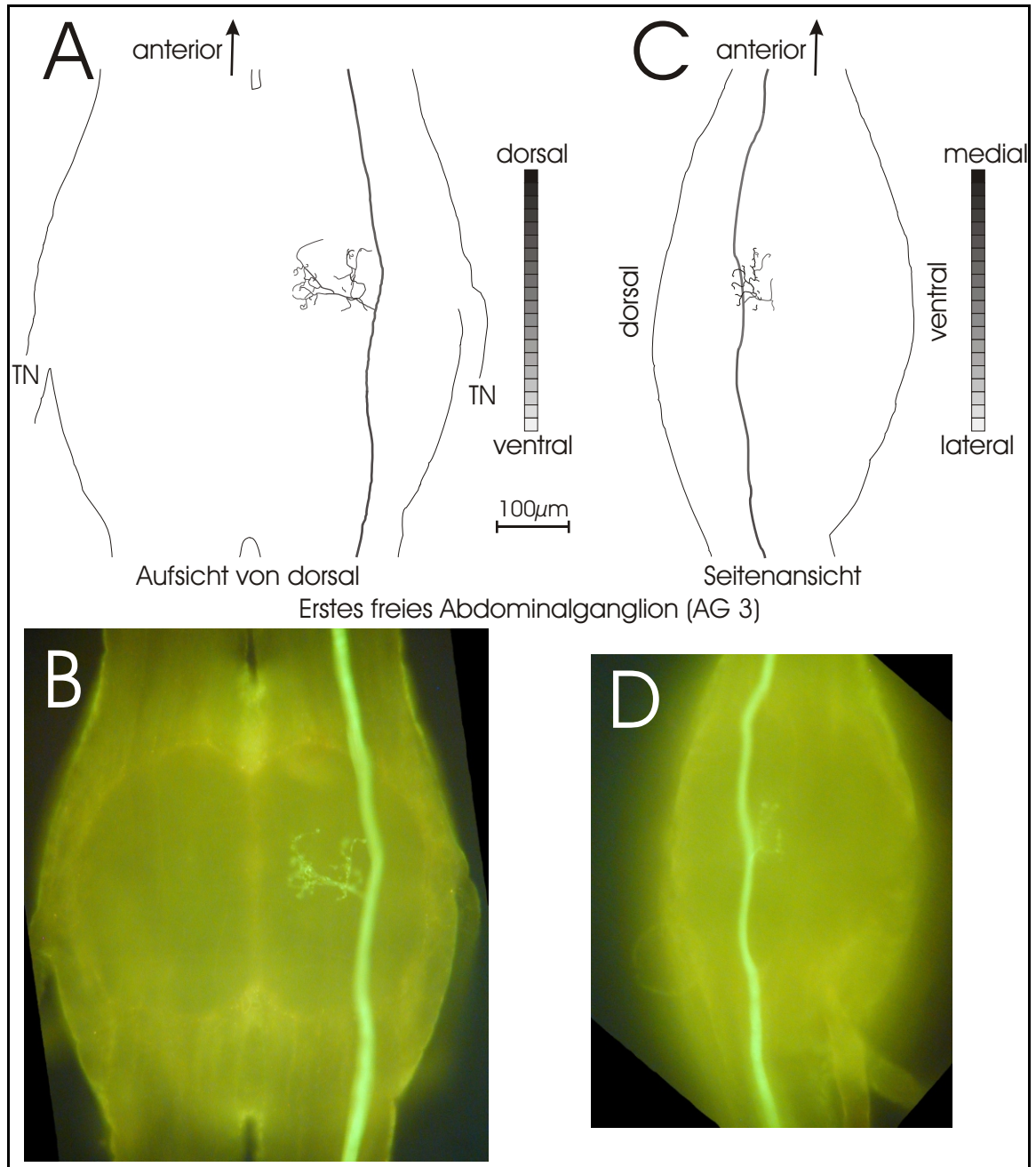


Abb. 6: Lucifer Yellow-Färbung des durch das rechte Konnektiv ascendierenden PSI im ersten freien Abdominalganglion (AG 3). **A:** Aufsicht von dorsal, Rekonstruktion des Projektionsgebietes aus mehreren Photos verschiedener Fokusebenen, wobei dorsal gelegene Strukturen dunkel, ventral gelegene hell dargestellt sind; **B:** Photographie des in A dargestellten Bereiches im Whole mount; **C:** Seitenansicht, Rekonstruktion des Projektionsgebietes aus mehreren Photos verschiedener Fokusebenen, wobei medial gelegene Strukturen dunkel, lateral gelegene hell dargestellt sind; **D:** Photographie des in C dargestellten Bereiches im Whole mount; **TN:** Tergalnerv

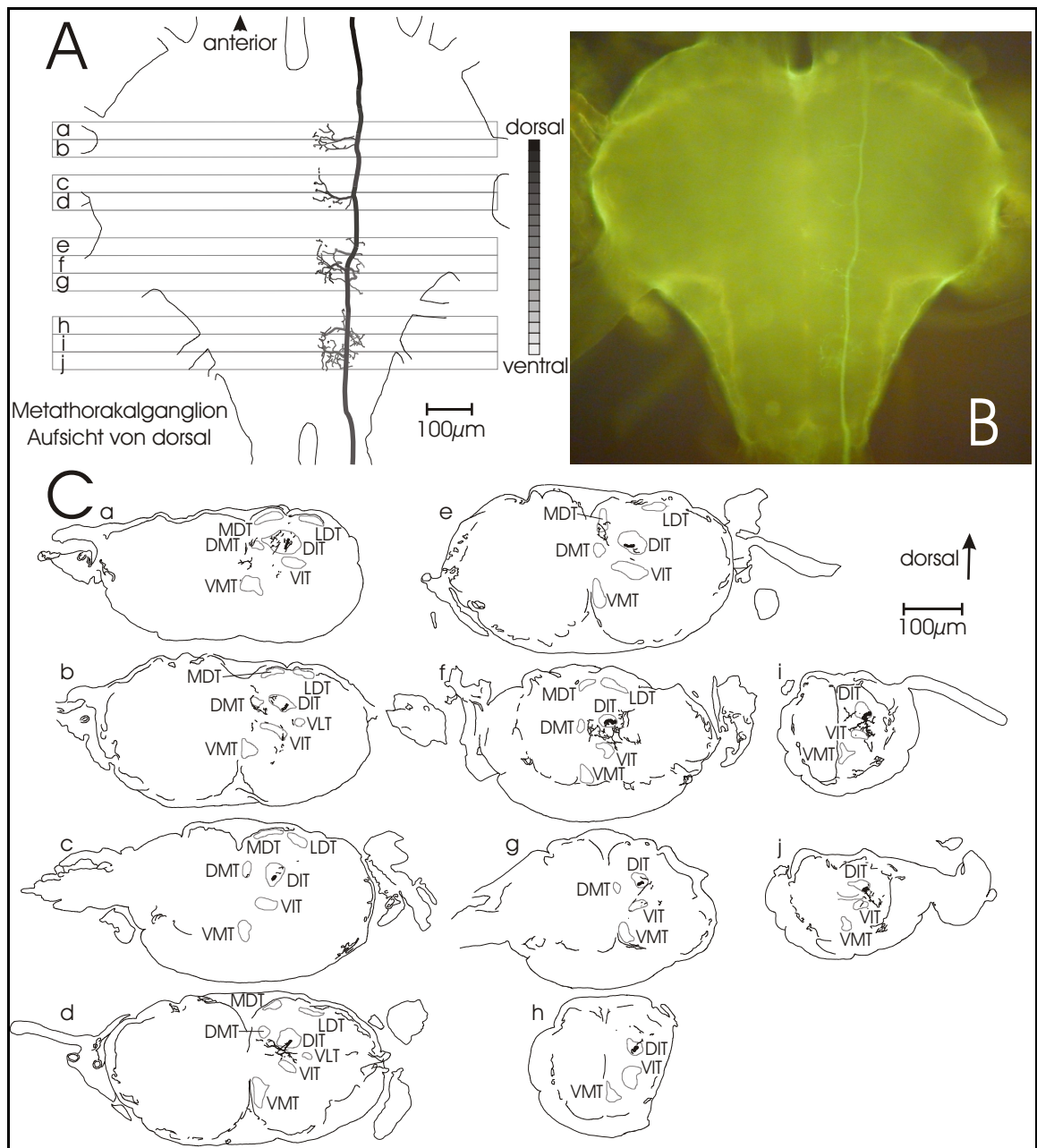


Abb. 7: Lucifer Yellow-Färbung des durch das rechte Konnektiv ascendierenden PSI im Metathorakalganglion. **A:** Aufsicht von dorsal, Rekonstruktion des Projektionsgebietes aus mehreren Photos verschiedener Fokusebenen, wobei dorsal gelegene Strukturen dunkel, ventral gelegene hell dargestellt sind; **B:** Photographie des in A dargestellten Bereiches im Whole mount; **C:** Lucifer Yellow Antikörperfärbung, 40 µm dicke Transversalschnitte durch das Metathorakalganglion an den in A eingezeichneten Positionen (a-j); **DIT:** dorsaler intermediärer Trakt; **DMT:** dorsaler medialer Trakt; **LDT:** lateraler dorsaler Trakt; **MDT:** medialer dorsaler Trakt; **VIT:** ventraler intermediärer Trakt; **VLT:** ventraler lateraler Trakt; **VMT:** ventraler medialer Trakt

Auch das Mesothorakalganglion wird komplett vom PSI im dorsalen intermediären Trakt (DIT) durchlaufen, so daß davon auszugehen ist, daß es sich bis mindestens ins prothorakale Ganglion erstreckt. Die weit posterior befindlichen Verzweigungen ziehen nach ventro-medial und erreichen die Ganglionmittellinie (Abb. 8).

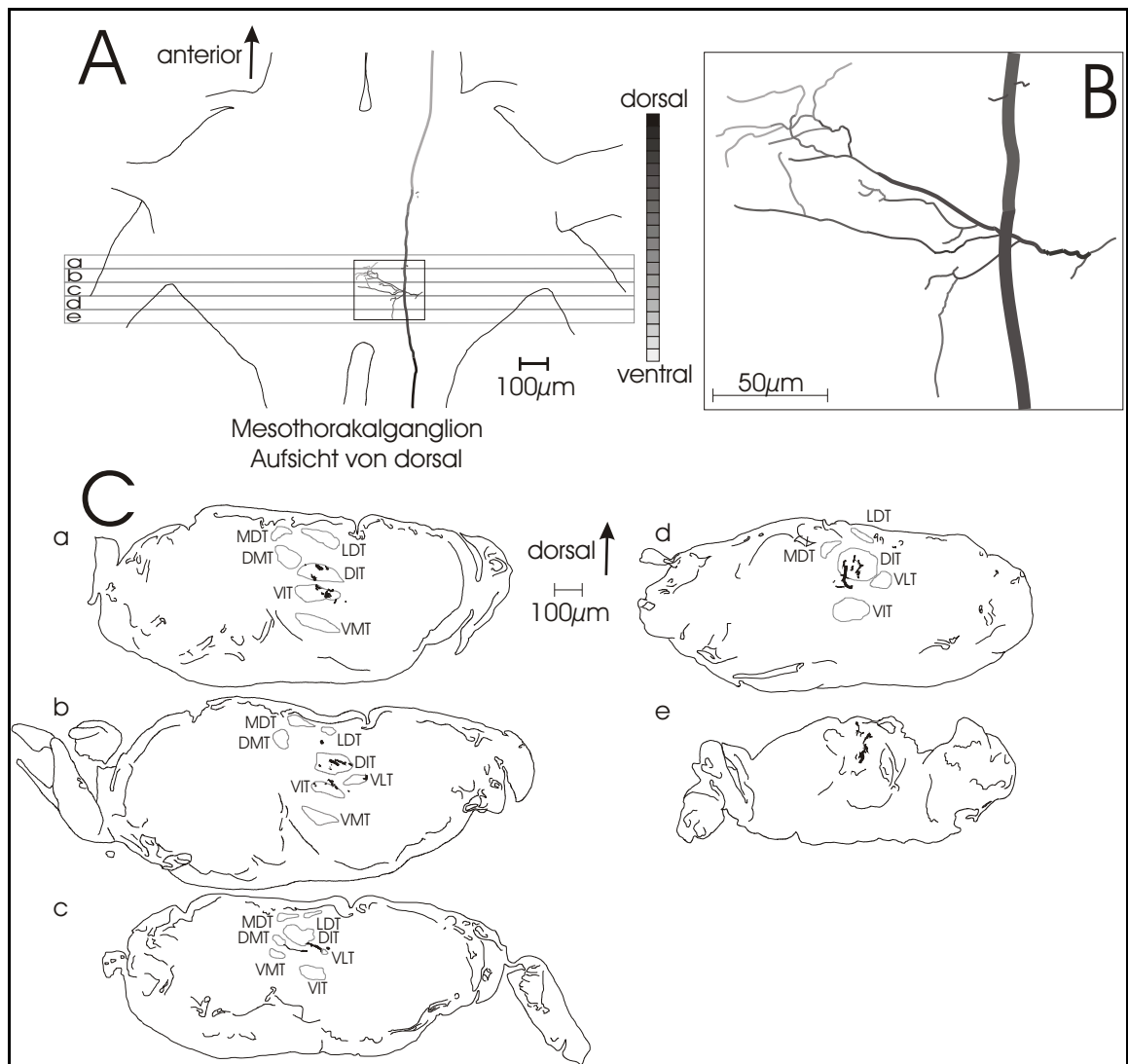


Abb. 8: Lucifer Yellow-Färbung des durch das rechte Konnektiv ascendierenden PSI im Mesothorakalganglion. **A:** Aufsicht von dorsal, Rekonstruktion des Projektionsgebietes aus mehreren Photos verschiedener Fokusebenen, wobei dorsal gelegene Strukturen dunkel, ventral gelegene hell dargestellt sind; **B:** Vergrößerte Darstellung des in A eingekästelten Bereiches; **C:** Lucifer Yellow Antikörperfärbung, 50 µm dicke Transversalschnitte durch das Mesothorakalganglion an den in A eingezeichneten Positionen (a-e); **DIT:** dorsaler intermediärer Trakt; **DMT:** dorsaler medialer Trakt; **LDT:** lateraler dorsaler Trakt; **MDT:** medialer dorsaler Trakt; **VIT:** ventraler intermediärer Trakt; **VLT:** ventraler lateraler Trakt; **VMT:** ventraler medialer Trakt

3.1.2 Elektrophysiologie

Pro Konnektiv gibt es bei *Gryllus bimaculatus* nur ein großes positionssensitives Interneuron. Es gehört zu den intersegmental projizierenden Riesenneuronen aus dem Terminalganglion, die aufgrund ihres Axondurchmessers leicht extrazellulär zwischen Terminalganglion und Metathorakalganglion abgeleitet werden können. Die größten so abgeleiteten Spikes gehören zu den windsensitiven Interneuronen LGI, MGI, IN 10-2 und IN 10-3 (Shepherd et al. 1988; Kohstall-Schnell & Gras 1994). Das PSI hat eine geringfügig kleinere Amplitude und läßt sich aufgrund seiner tonischen Erregungscharakteristik zuverlässig von den rein phasisch reagierenden anderen Riesenneuronen trennen. Simultane extra- und intrazelluläre Ableitungen haben diese Identifikationsmethode verifiziert.

Die ca. 150 Keulenhaare auf jedem Cercus von *Gryllus bimaculatus* fungieren als phasisch-tonische Schwererezeptoren (Bischof 1975). Sie verschalten im Terminalganglion auf das bilaterale Paar der PSI, die die Informationen integrieren und ebenfalls phasisch-tonisch reagieren. Intrazelluläre De- bzw. Hyperpolarisierung des PSI führt nur im Terminalganglion zu entsprechenden Frequenzveränderungen, so daß eine Beschränkung des Inputbereiches auf dieses Ganglion postuliert werden kann.

Die Ruhefrequenz, definiert als die mittlere PSI-Spikefrequenz, die sich nach mindestens 3,5-sekündigem Belassen des Tieres in der Normalposition (s.o.) einstellt, schwankte von Individuum zu Individuum zwischen 2,0 Hz und 23,6 Hz. Im Mittel betrug sie 12,5 Hz bei einer Standardabweichung von 8,5 Hz (N=21). Sie war bei ein und demselben Tier jedoch wesentlich konstanter.

Eine Auslenkung aus der Normalposition führt zu einer phasisch-tonischen PSI-Antwort. Bei den verwendeten Auslenkgeschwindigkeiten von 34°/s bis 45°/s adaptiert das PSI spätestens nach 3,5 Sekunden von phasischer zu tonischer Aktivität. Die Zeitabschnitte vor und nach der Adaptation ermöglichen den Vergleich der Einzelversuche, weil definierte Zeiträume bei allen Auswertungen der PSI-Aktivität genutzt wurden.

Die Raumlage der Grillen wird auf zweierlei Weise codiert: Die Rück-Vor-Kippung wird durch eine Spikefrequenzänderung synchron in beiden PSIs angezeigt, wobei eine Rückwärtskipfung zu starker Erhöhung (Abb. 9, Abb. 10), eine Vorwärtskipfung zu schwacher Erniedrigung der Frequenz führt (Abb. 11). Sowohl im Individuum als auch gemittelt über 6 Tiere ist der Unterschied der tonischen PSI-Frequenzen hoch signifikant (zum Teil mit einer Irrtumswahrscheinlichkeit von 0) (Abb. 16, Abb. 18).

Eine ausgeprägte, signifikant von der tonischen Aktivität unterschiedliche phasische Antwort gibt es nur beim Kippen nach Rückwärts.

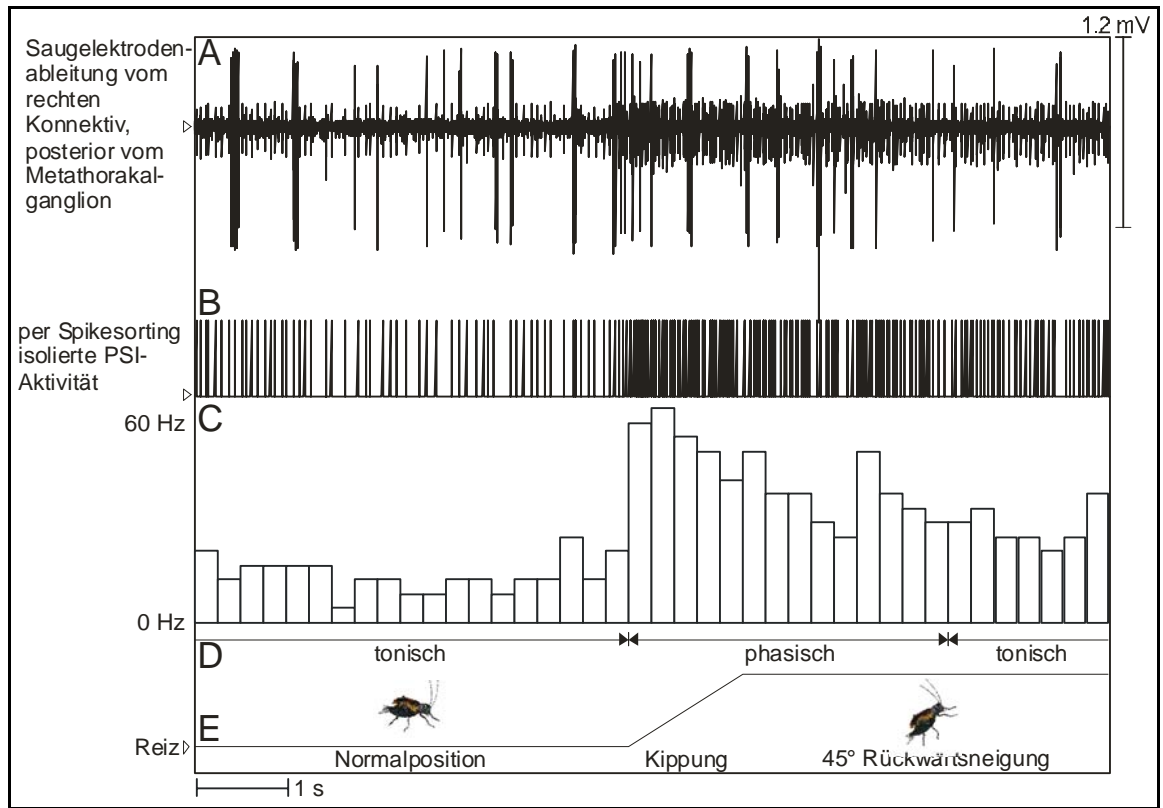


Abb. 9: Reaktion des durch das rechte Konnektiv ascendierenden PSI auf eine Rückwärtskipfung um 45° . **A:** Extrazelluläre Ableitung mit einer dorsal, posterior vom Metathorakalganglion auf das rechte Konnektiv aufgesetzten Saugelektrode; **B:** Mit dem Spikesorting Modul von Datapac 2K2 erstellte Eventspur der PSI-Aktivität; **C:** Frequenzhistogramm der PSI-Aktivität mit einer Klassengröße von 0,25 s; **D:** Einteilung der PSI-Antwort in phasische (3,5 s) und tonische Bereiche; **E:** Reizschreibung

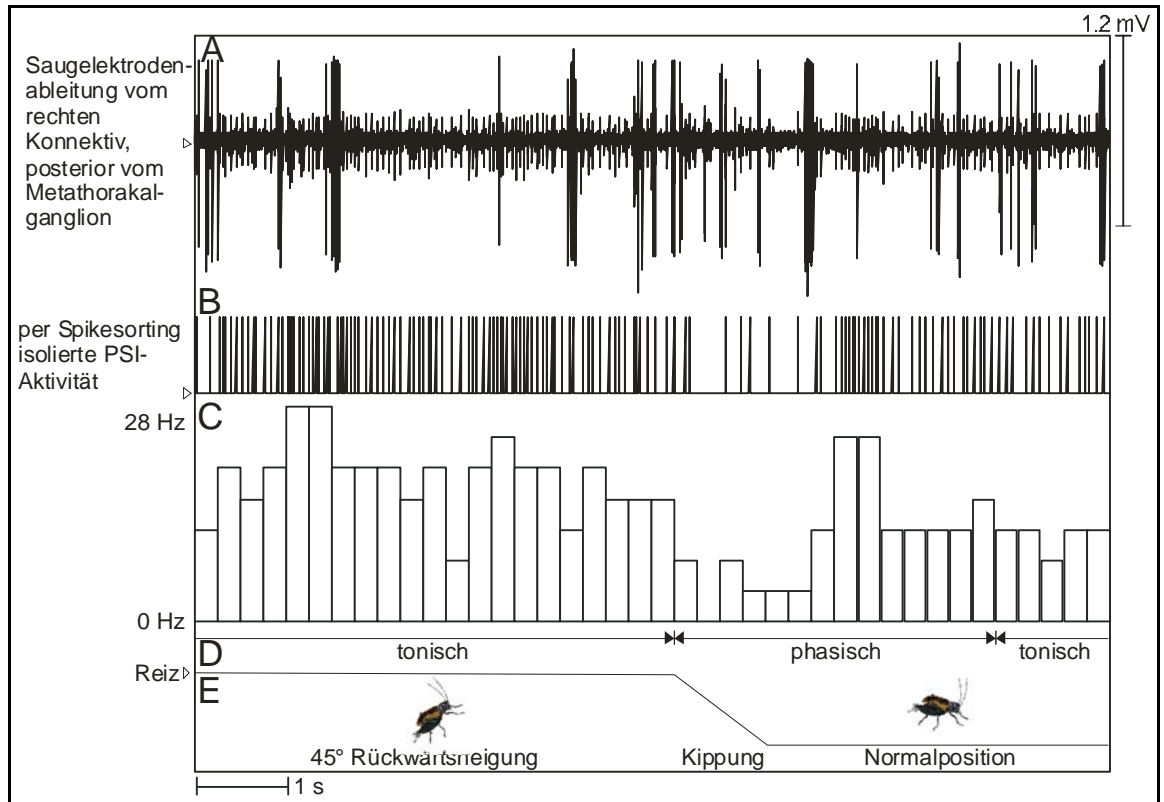


Abb. 10: Reaktion des durch das rechte Konnektiv ascendierenden PSI auf die Rückführung aus der 45°-Rücklage in die Normalposition. **A:** Extrazelluläre Ableitung mit einer dorsal, posterior vom Metathorakalganglion auf das rechte Konnektiv aufgesetzten Saugelektrode; **B:** Mit dem Spikesorting Modul von Datapac 2K2 erstellte Eventspur der PSI-Aktivität; **C:** Frequenzhistogramm der PSI-Aktivität mit einer Klassengröße von 0,25 s; **D:** Einteilung der PSI-Antwort in phasische (3,5 s) und tonische Bereiche; **E:** Reizschreibung

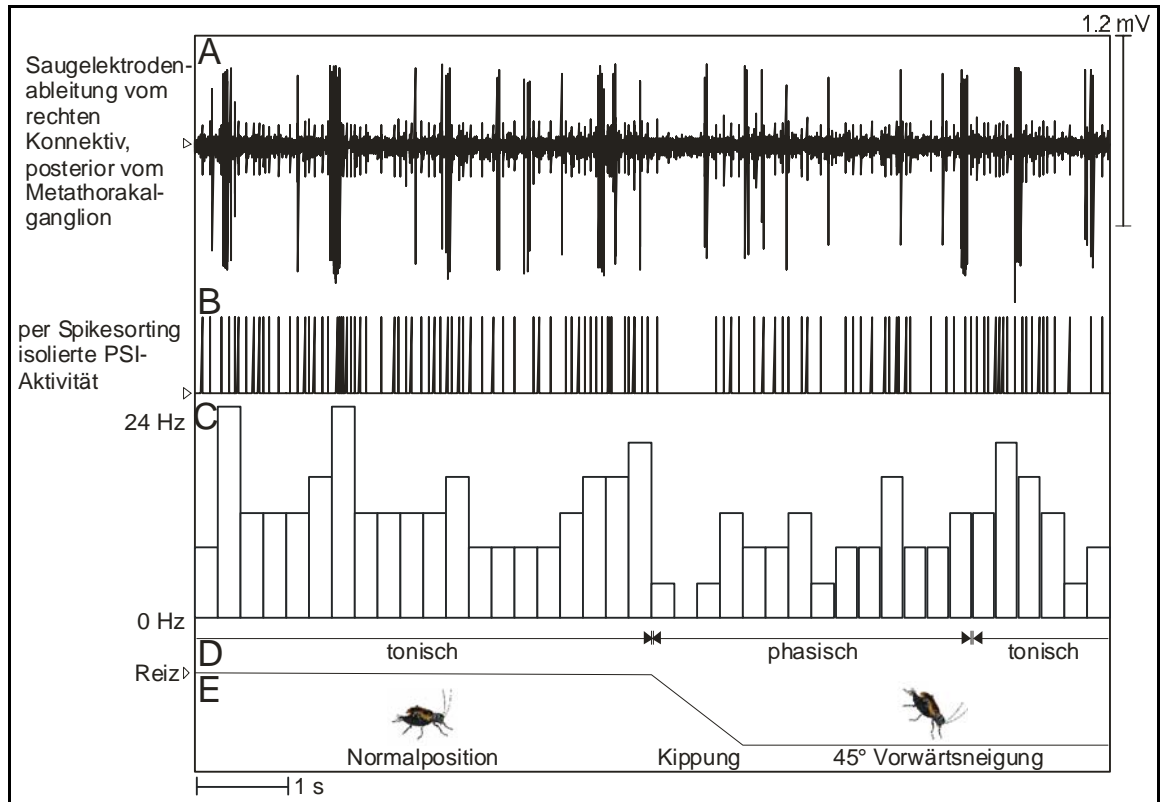


Abb. 11: Reaktion des durch das rechte Konnektiv ascendierenden PSI auf eine Vorwärtskipfung um 45°. **A:** Extrazelluläre Ableitung mit einer dorsal, posterior vom Metathorakalganglion auf das rechte Konnektiv aufgesetzten Saugelektrode; **B:** Mit dem Spikesorting Modul von Datapac 2K2 erstellte Eventspur der PSI-Aktivität; **C:** Frequenzhistogramm der PSI-Aktivität mit einer Klassengröße von 0,25 s; **D:** Einteilung der PSI-Antwort in phasische (3,5 s) und tonische Bereiche; **E:** Reizschreibung

Rechts-Links-Kippung führt zu asynchroner Spikesfrequenzveränderung der beiden PSI. Bei einer Kippung des Tieres nach rechts steigt die Frequenz des PSI, das durch das rechte Konnektiv projiziert, während die Frequenz im linken nahezu konstant bleibt. So steigt die PSI-Frequenz im rechten Konnektiv bei einer Rechtskipfung an (Abb. 12), sinkt bei Rückführung in die Normalposition wieder auf die Ruhefrequenz ab (Abb. 13) und bleibt fast unverändert bei der darauf folgenden Linkskippung (Abb. 14) und bei der anschließenden Rückkipfung in die Normalposition (Abb. 15). Ein typisches Kippungsdiagramm zeigt die Abbildung 17. Signifikante Unterschiede gibt es bei den tonischen Anteilen nur bei der Rechtsneigung. Wie die gemittelten Werte von 15 Tieren zeigen (Abb. 19), ist der phasische Anteil bei der Kippung nach rechts oft ausgeprägter als es die Abbildung 17 für ein einzelnes Individuum darstellt. Der als signifikant

gekennzeichnete Frequenzanstieg von der Ruhefrequenz 13,04 Hz auf einen tonischen Anteil von 15,04 Hz bei der Linksneigung ist nicht überzubewerten, da 8 Tiere hier einen geringen Frequenzanstieg zeigten, während bei 7 anderen Tieren die PSI-Frequenz leicht abfiel. Eine eindeutige gerichtete Reaktion auf diesen Reiz konnte somit nicht nachgewiesen werden.

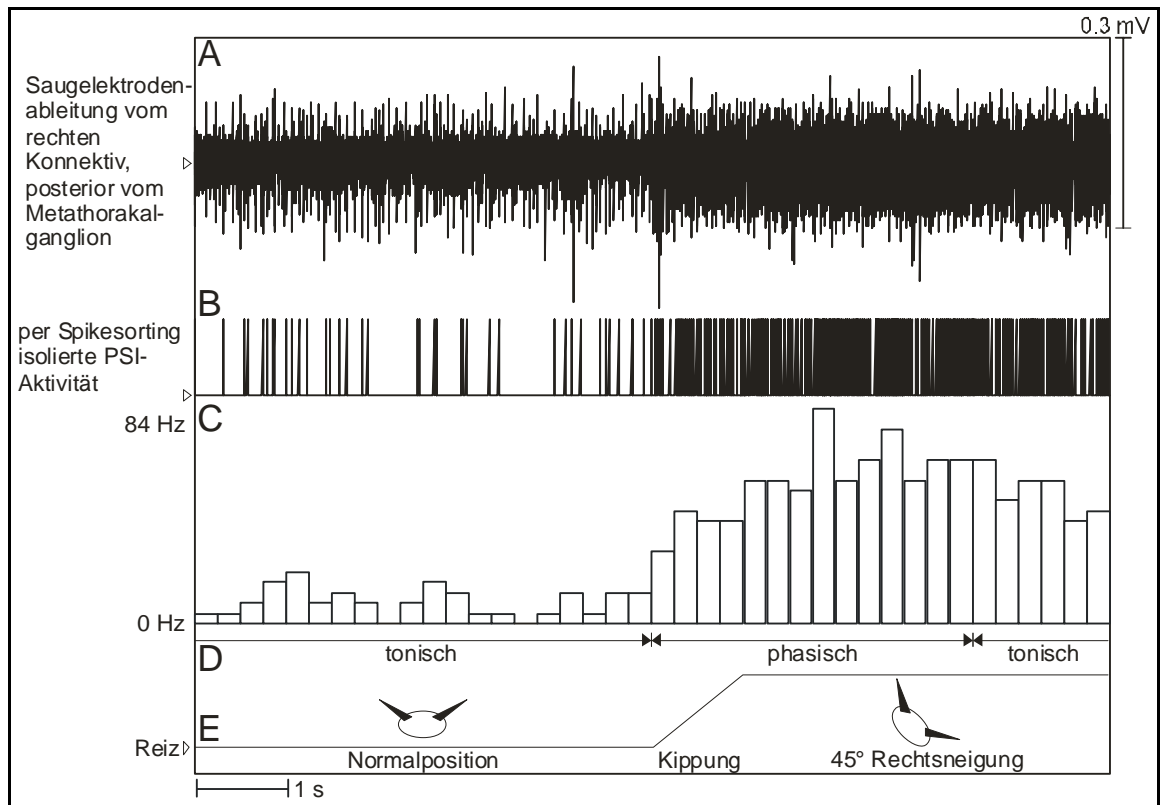


Abb. 12: Reaktion des durch das rechte Konnektiv ascendierenden PSI auf eine Rechtskipfung um 45°. **A:** Extrazelluläre Ableitung mit einer dorsal, posterior vom Metathorakalganglion auf das rechte Konnektiv aufgesetzten Saugelektrode; **B:** Mit dem Spikesorting Modul von Datapac 2K2 erstellte Eventspur der PSI-Aktivität; **C:** Frequenzhistogramm der PSI-Aktivität mit einer Klassengröße von 0,25 s; **D:** Einteilung der PSI-Antwort in phasische (3,5 s) und tonische Bereiche; **E:** Reizschreibung

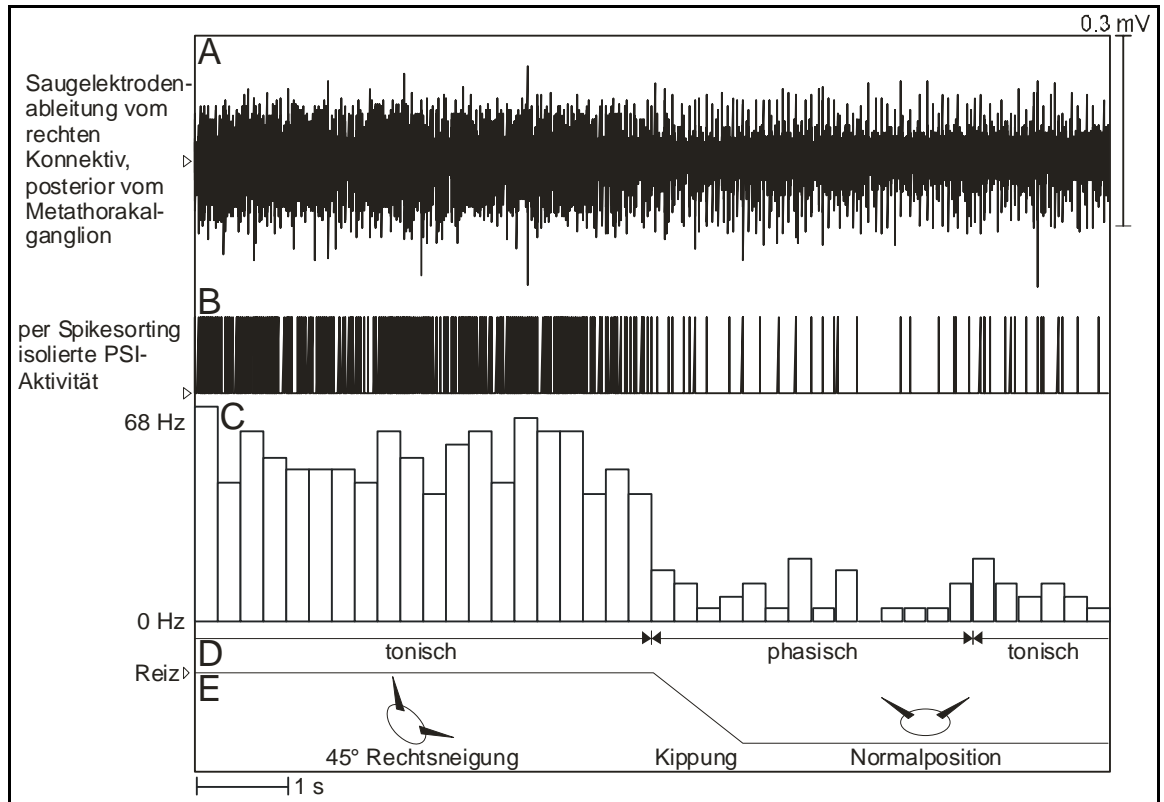


Abb. 13: Reaktion des durch das rechte Konnektiv ascendierenden PSI auf die Rückführung aus der 45°-Rechtslage in die Normalposition. **A:** Extrazelluläre Ableitung mit einer dorsal, posterior vom Metathorakalganglion auf das rechte Konnektiv aufgesetzten Saugelektrode; **B:** Mit dem Spikesorting Modul von Datapac 2K2 erstellte Eventspur der PSI-Aktivität; **C:** Frequenzhistogramm der PSI-Aktivität mit einer Klassengröße von 0,25 s; **D:** Einteilung der PSI-Antwort in phasische (3,5 s) und tonische Bereiche; **E:** Reizschreibung

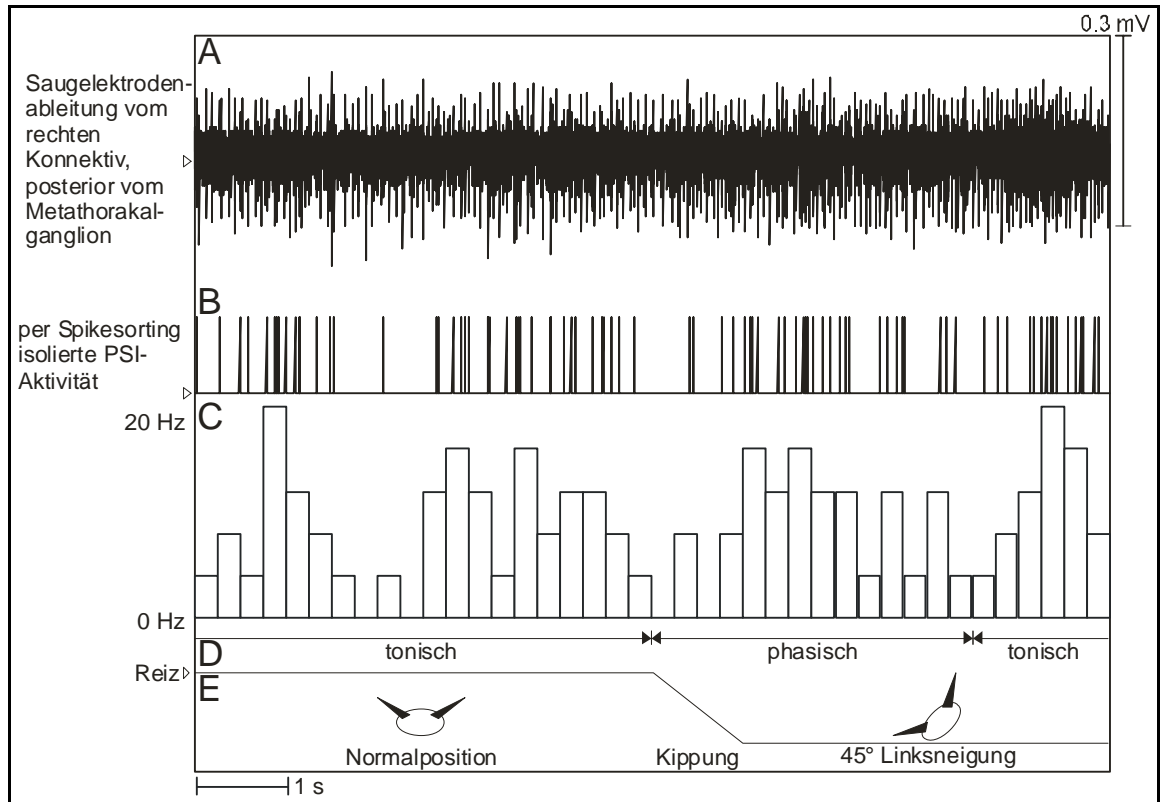


Abb. 14: Reaktion des durch das rechte Konnektiv ascendierenden PSI auf eine Linkskippung um 45° . **A:** Extrazelluläre Ableitung mit einer dorsal, posterior vom Metathorakalganglion auf das rechte Konnektiv aufgesetzten Saugelektrode; **B:** Mit dem Spikesorting Modul von Datapac 2K2 erstellte Eventspur der PSI-Aktivität; **C:** Frequenzhistogramm der PSI-Aktivität mit einer Klassengröße von 0,25 s; **D:** Einteilung der PSI-Antwort in phasische (3,5 s) und tonische Bereiche; **E:** Reizschreibung

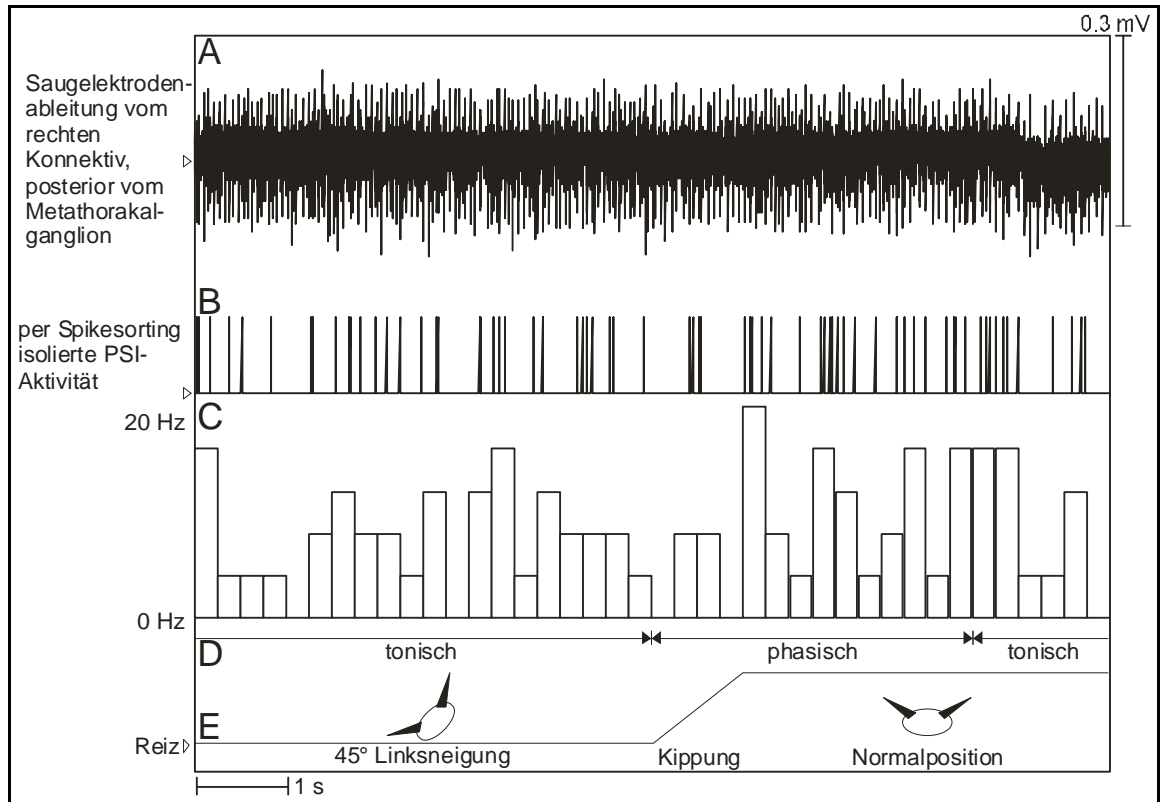


Abb. 15: Reaktion des durch das rechte Konnektiv ascendierenden PSI auf die Rückführung aus der 45°-Linkslage in die Normalposition. **A:** Extrazelluläre Ableitung mit einer dorsal, posterior vom Metathorakalganglion auf das rechte Konnektiv aufgesetzten Saugelektrode; **B:** Mit dem Spikesorting Modul von Datapac 2K2 erstellte Eventspur der PSI-Aktivität; **C:** Frequenzhistogramm der PSI-Aktivität mit einer Klassengröße von 0,25 s; **D:** Einteilung der PSI-Antwort in phasische (3,5 s) und tonische Bereiche; **E:** Reizschreibung

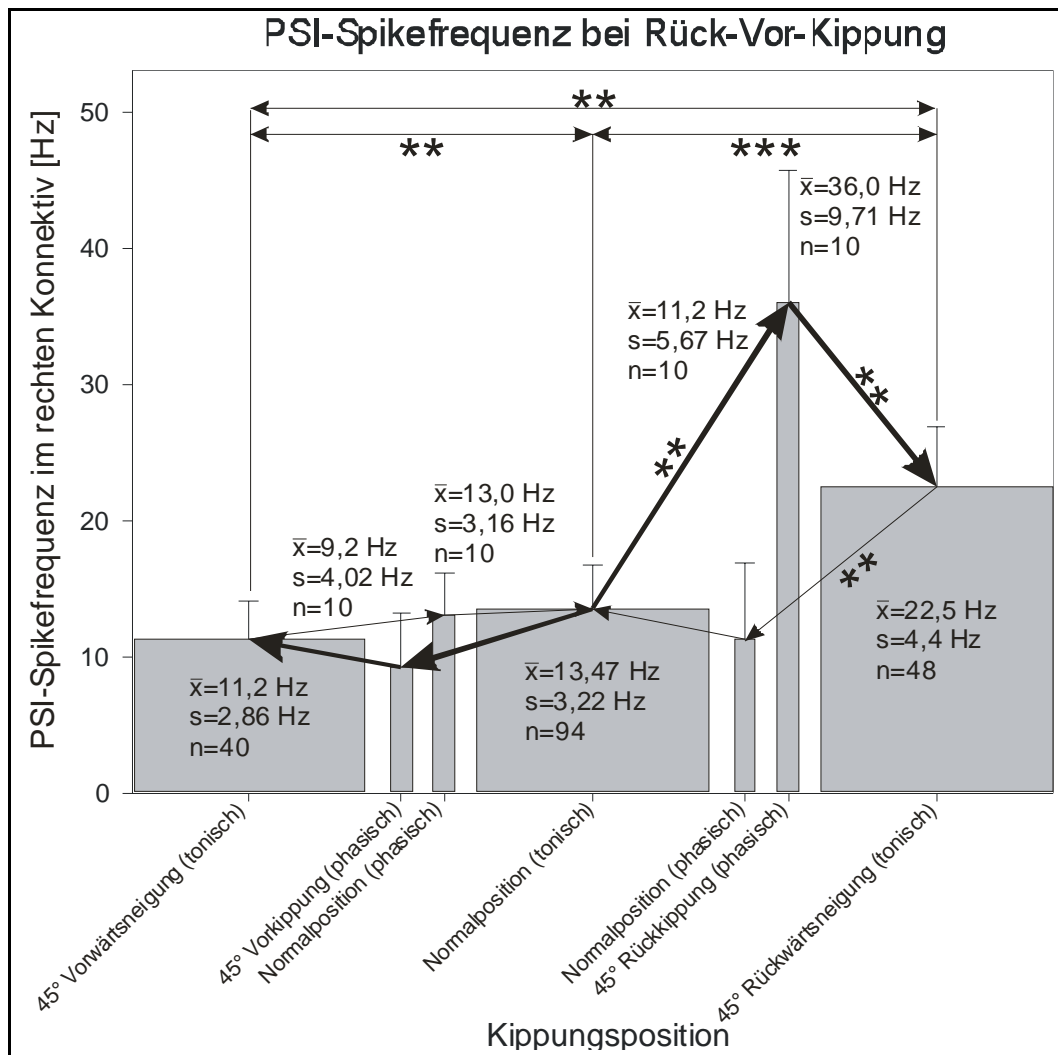


Abb. 16: Kippungsdiagramm der PSI-Spikeaktivität im rechten Konnektiv bei Rück-Vor-Kippung. Die breiten Balken stehen für den tonischen, die schmalen für den phasischen Anteil der jeweiligen Reaktion. Die Pfeile verdeutlichen die Zugehörigkeit der phasischen Anteile zur jeweiligen Kipprichtung. Die Sterne zeigen signifikante Unterschiede an. \bar{x} : Mittelwert; s : Standardabweichung; n : Anzahl der Meßwerte

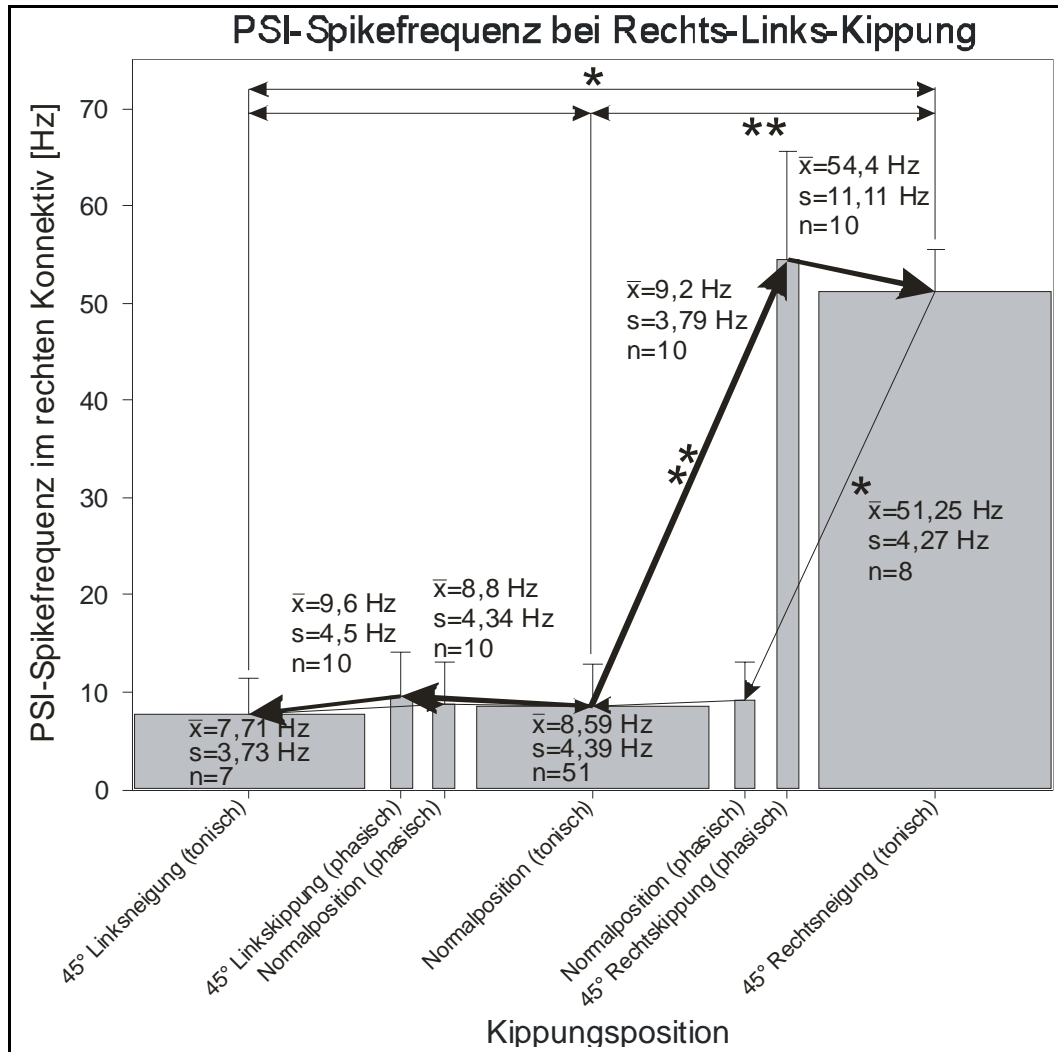


Abb. 17: Kippungsdiagramm der PSI-Spikeaktivität im rechten Konnektiv bei Rechts-Links-Kippung. Die breiten Balken stehen für den tonischen, die schmalen für den phasischen Anteil der jeweiligen Reaktion. Die Pfeile verdeutlichen die Zugehörigkeit der phasischen Anteile zur jeweiligen Kipprichtung. Die Sterne zeigen signifikante Unterschiede an. \bar{x} : Mittelwert; s: Standardabweichung; n: Anzahl der Meßwerte

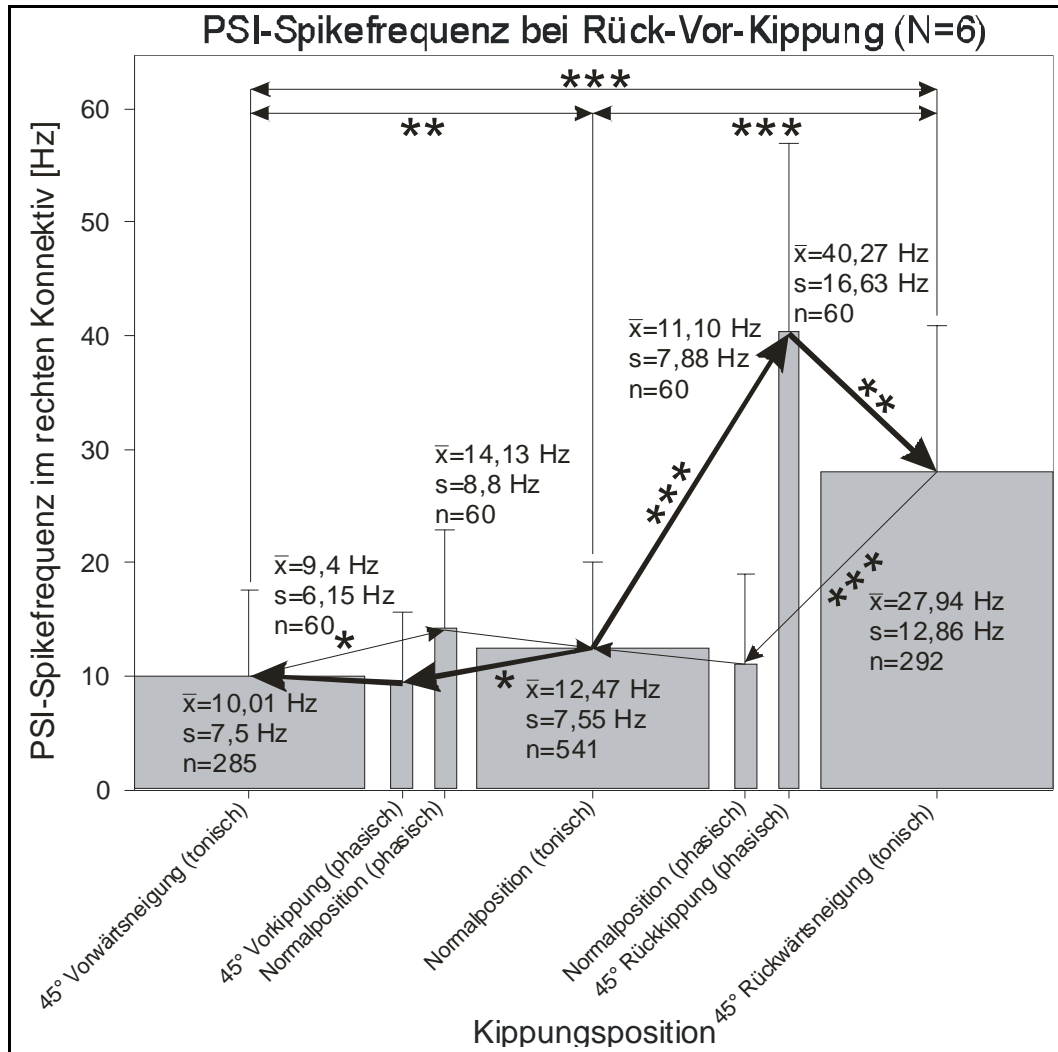


Abb. 18: Kippungsdiagramm der über 6 Tiere gemittelten PSI-Spikeaktivität im rechten Konnektiv bei Rück-Vor-Kippung. Die breiten Balken stehen für den tonischen, die schmalen für den phasischen Anteil der jeweiligen Reaktion. Die Pfeile verdeutlichen die Zugehörigkeit der phasischen Anteile zur jeweiligen Kipprichtung. Die Sterne zeigen signifikante Unterschiede an. \bar{x} : Mittelwert; s: Standardabweichung; n: Anzahl der Meßwerte

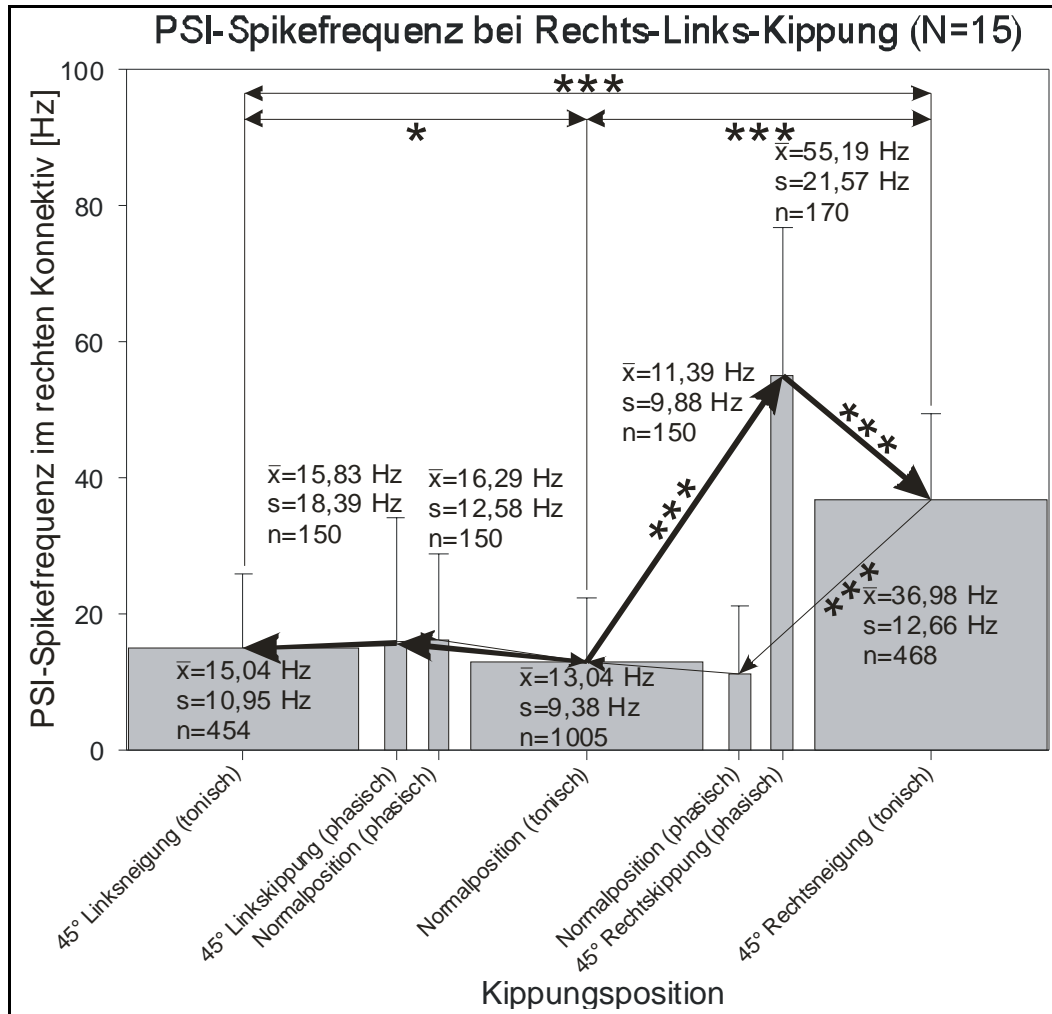


Abb. 19: Kippungsdiagramm der über 15 Tiere gemittelten PSI-Spikeaktivität im rechten Konnektiv bei Rechts-Links-Kippung. Die breiten Balken stehen für den tonischen, die schmalen für den phasischen Anteil der jeweiligen Reaktion. Die Pfeile verdeutlichen die Zugehörigkeit der phasischen Anteile zur jeweiligen Kipprichtung. Die Sterne zeigen signifikante Unterschiede an. \bar{x} : Mittelwert; s: Standardabweichung; n: Anzahl der Meßwerte

3.1.2.1 Läsionsexperimente

Versuche zur möglichen bilateralen Verschaltung der Keulenhaarafferenzen zeigen, daß sich mittels Durchtrennen des jeweiligen Cercalnervs die gravitationskorrelierte Antwort des auf dieser Seite projizierenden PSI vollständig unterdrücken läßt. Dieses trifft sowohl auf die Rück-Vor-Kippung (Abb. 20) als auch auf die Rechts-Links-Kippung (Abb. 22) zu. Die bei der seitlichen Kippung trotz durchtrennter Cercalnerven auftretenden schwach signifikanten Unterschiede in den tonischen Frequenzen

(Abb. 20) beruhen auf kurzen, nicht kippungskorrelierten Bursts, die als Läsionsartefakte angesehen wurden.

Das Durchschneiden des zum Projektionsgebiet des PSI kontralateralen Cercalnervs hat weder bei der Rück-Vor-Kippung (Abb. 21) noch bei der seitlichen Kippung (Abb. 23) einen deutlichen Einfluß auf das PSI-Antwortverhalten. Sämtliche für die Kippungsart charakteristischen PSI-Spikefrequenzänderungen bleiben erhalten. Insgesamt ist die PSI-Frequenz nach Durchschneidung des linken Cercalnervs um ca. 5 Hz zurückgegangen. Diese Beobachtung ist jedoch nicht signifikant.

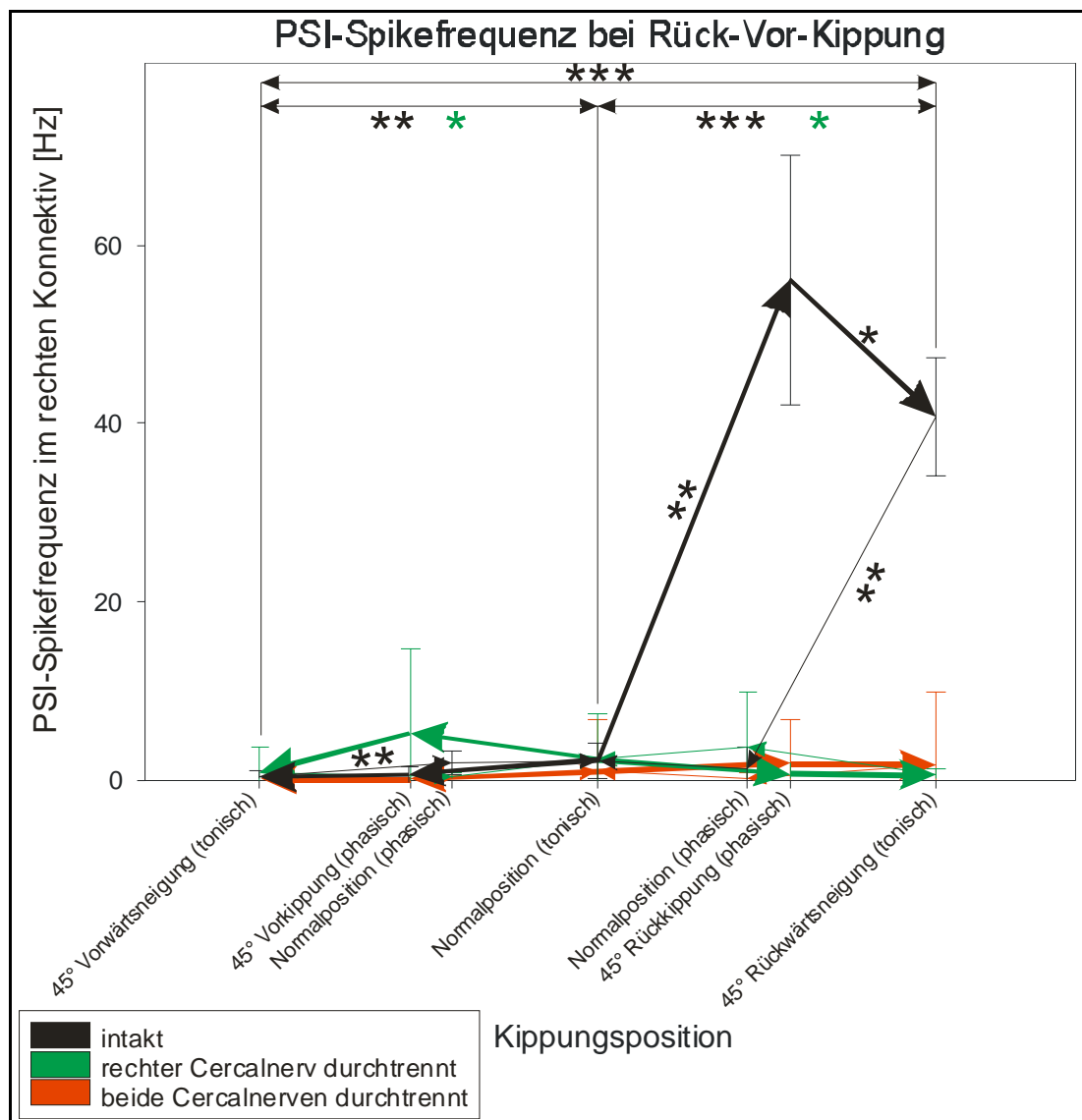


Abb. 20: Vergleich der PSI-Spikeaktivität im rechten Konnektiv bei Rück-Vor-Kippung im intakten (schwarz), im rechtsseitig cercal deafferentierten (grün) und im beidseitig cercal deafferentierten Tier (rot). Die Pfeile verdeutlichen die Zugehörigkeit der phasischen Anteile zur jeweiligen Kipprichtung. Die Sterne zeigen signifikante Unterschiede an.

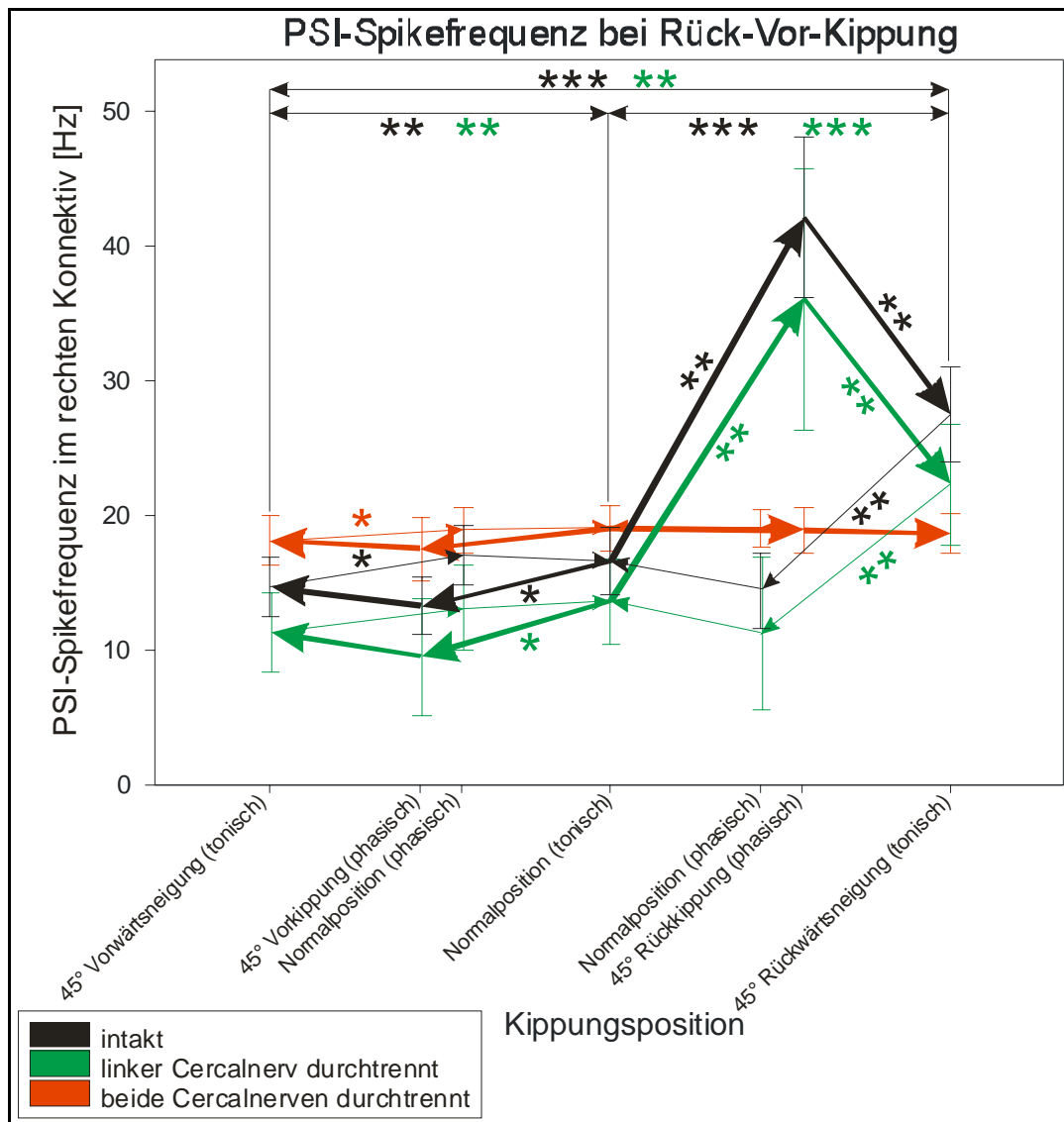


Abb. 21: Vergleich der PSI-Spikeaktivität im rechten Konnektiv bei Rück-Vor-Kippung im intakten (schwarz), im rechtsseitig cercal deafferentierten (grün) und im beidseitig cercal deafferentierten Tier (rot). Die Pfeile verdeutlichen die Zugehörigkeit der phasischen Anteile zur jeweiligen Kipprichtung. Die Sterne zeigen signifikante Unterschiede an.

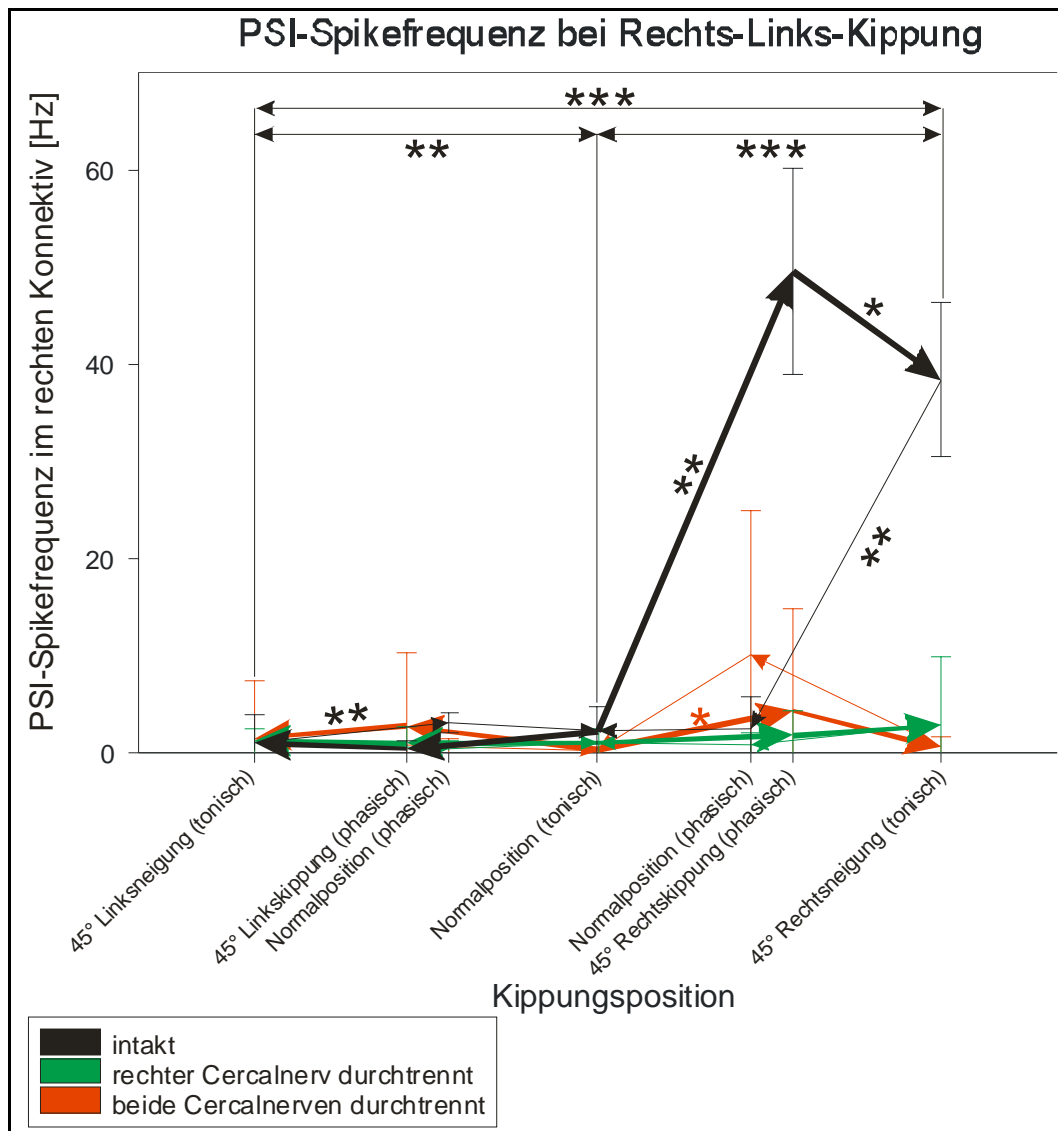


Abb. 22: Vergleich der PSI-Spikeaktivität im rechten Konnektiv bei Rechts-Links-Kippung im intakten (schwarz), im rechtsseitig cercal deafferentierten (grün) und im beidseitig cercal deafferentierten Tier (rot). Die Pfeile verdeutlichen die Zugehörigkeit der phasischen Anteile zur jeweiligen Kipprichtung. Die Sterne zeigen signifikante Unterschiede an.

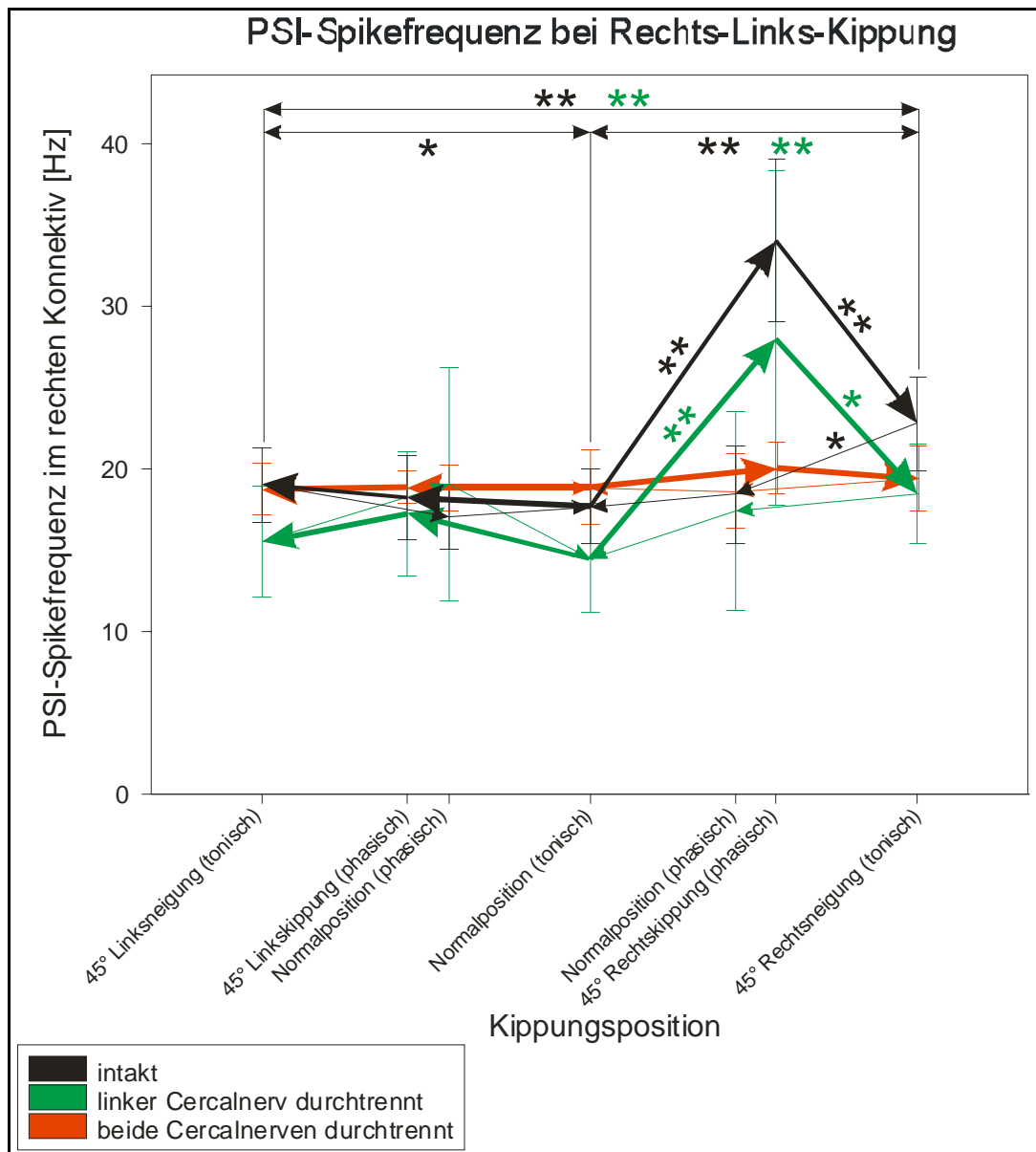


Abb. 23: Vergleich der PSI-Spikeaktivität im rechten Konnektiv bei Rechts-Links-Kippung im intakten (schwarz), im rechtsseitig cercal deafferentierten (grün) und im beidseitig cercal deafferentierten Tier (rot). Die Pfeile verdeutlichen die Zugehörigkeit der phasischen Anteile zur jeweiligen Kipprichtung. Die Sterne zeigen signifikante Unterschiede an.

3.2 Gravitationskompensatorische Motoneuronenaktivität

Eine schwerkraftinduzierte Veränderung der mesothorakalen Motoneuronenaktivität als Reaktion auf eine Auslenkung nach vorne oder hinten wurde nicht beobachtet. Dagegen ist gravitationskompensatorische Muskelaktivität bei Rechts-Links-Kippung aufgrund der fast rechtwinkligen Ruhestellung des Mittelbeines zum Körper gut ausgeprägt vorhanden. Saugelektrodenableitungen der mesothorakalen Nerven zeigen, daß nur

wenige ihrer Efferenzen korreliert auf diese Kippung reagieren. Insbesondere bleiben jegliche gravitationskompensatorische Reaktionen aus, wenn das Tier mit dem Sternalbereich von Thorax oder Abdomen aufliegt.

Im mesothorakalen Nerv 1A verlaufen die Motoneurone, die zum ventralen Längsmuskeln (M60), zur sternospinalen Muskulatur, zum Intersegmentalmuskel (M59) und zu den Stigmenmuskeln führen. Bei einem dieser Motoneurone konnte korrelierte Aktivität mit der seitlichen Kippung beobachtet werden. Eine genaue Zuordnung gelang jedoch nicht.

Da der Schwerpunkt dieser Arbeit auf der gravitationsinduzierten Beinmuskelaktivität liegt und sich der mesothorakale Nerv 3D als besonders geeignet erwies, die dazugehörigen Efferenzen zuverlässig abzuleiten, wird der Nerv 1A hier nicht weiter untersucht und nur deshalb aufgeführt, um dem Eindruck vorzubeugen, gravitationskompensatorische Muskelaktivität fände ausschließlich in den Beinen statt.

3.2.1 Der mesothorakale Nerv 3D

Eine zentripetale Färbung des rechten mesothorakalen Nervs 3D mit Tetramethylrhodamin gekoppeltem Dextran zeigt eine Gruppe von fünf Somata posterior der rechten Nervenwurzel 1 auf der ventralen Seite und zwei weitere Zellkörper, dorsal gelegen zwischen rechter Nervenwurzel 1 und dem rechtem Konnektiv (Abb. 24). Ein großes, relativ schwach gefärbtes Soma, bei dem es sich höchstwahrscheinlich um den Common Inhibitor (CI) handelt, befindet sich ventromedian auf Höhe der Beinnerven. Arborisationen finden sich im Bereich um das ventral association center (VAC) und im lateral association center (LAC), wobei insgesamt nur wenige Verzweigungen auf die ventrale Hälfte des Ganglions ziehen.

Bei intrazellulären Ableitungen dieser Motoneurone konnten nie mit der PSI Aktivität direkt korrelierte exzitatorische postsynaptische Potentiale (EPSP) oder inhibitorische postsynaptische Potentiale (IPSP) gefunden werden, so daß geschlußfolgert werden muß, daß der PSI-Einfluß indirekt auf das der Beinmotorik zugrundeliegende neuronale Netzwerk wirkt.

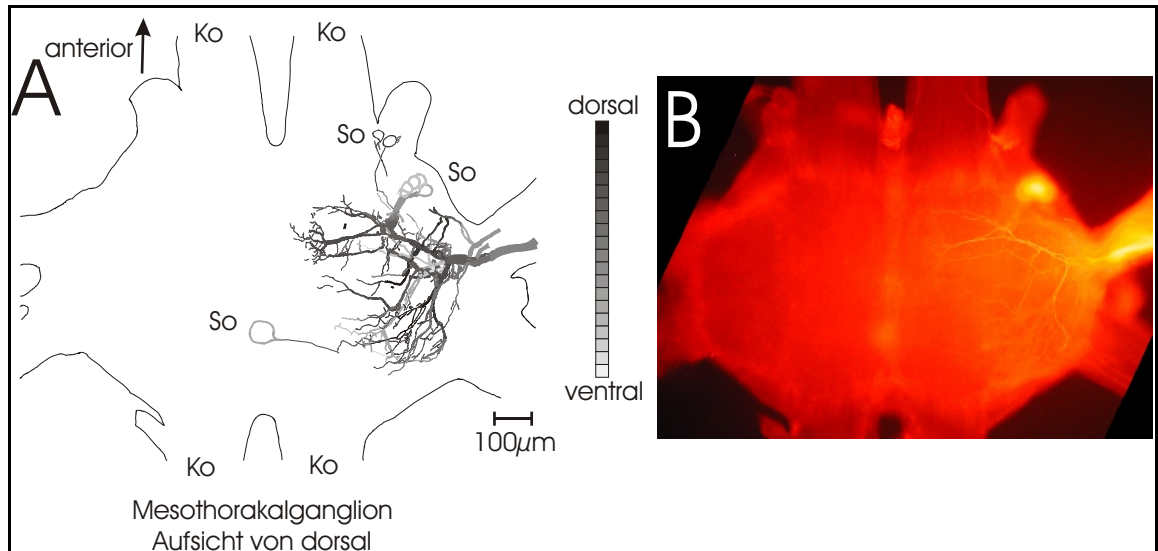


Abb. 24: Dextran-Färbung des rechten mesothorakalen Nervs 3D. Mesothorakalganglion in Aufsicht von dorsal. **A:** Rekonstruktion des Projektionsgebietes aus mehreren Photos verschiedener Fokusebenen, wobei dorsal gelegene Strukturen dunkel, ventral gelegene hell dargestellt sind; **B:** Photographie des in A dargestellten Bereiches im Whole mount; **Ko:** Konnektiv; **So:** Soma

3.2.1.1 Der mesothorakale Nerv 3D1

Der erste Ast des mesothorakalen Nervs 3D versorgt den vorderen Rotator der Mittelbeincoxa (M92). Dieses ist ein Muskel, der aktiviert beim sich in Ruhestellung befindlichen Mittelbein zu einer Protraktion und Adduktion der Coxa führt. Insbesondere die Adduktion unterstützt eine Stembewegung nach unten und ist folglich dazu geeignet, den Kräfteveränderungen, die bei einer seitlichen Kippung auftreten, entgegenzuwirken. Drei efferente motorische Einheiten, die alle kippungskorreliert aktiv sind, konnten zuverlässig in diesem Nerv abgeleitet werden:

- Eine phasisch reagierende, in ihrer Amplitude meist große Einheit, die bei kippungskonstanter Lage fast inaktiv ist (0,02 Hz, Standardabweichung 0,2 Hz). Sie reagiert auf eine Kippbewegung nach links bzw. Rückführung aus dieser Lage in die Normalposition besonders stark mit Bursts von im Mittel 11,4 Hz bei einer Standardabweichung von 10,88 Hz bzw. 6,2 Hz bei einer Standardabweichung von 14,5 Hz. Eine Kippbewegung nach rechts wird mit nur geringer Spikefrequenzerhöhung auf 1,12 Hz (Standardabweichung 2,39 Hz) beantwortet, während die Rückführung hier zu keiner signifikanten Spikefrequenzänderung führt (Abb. 25 und Tabelle 1).

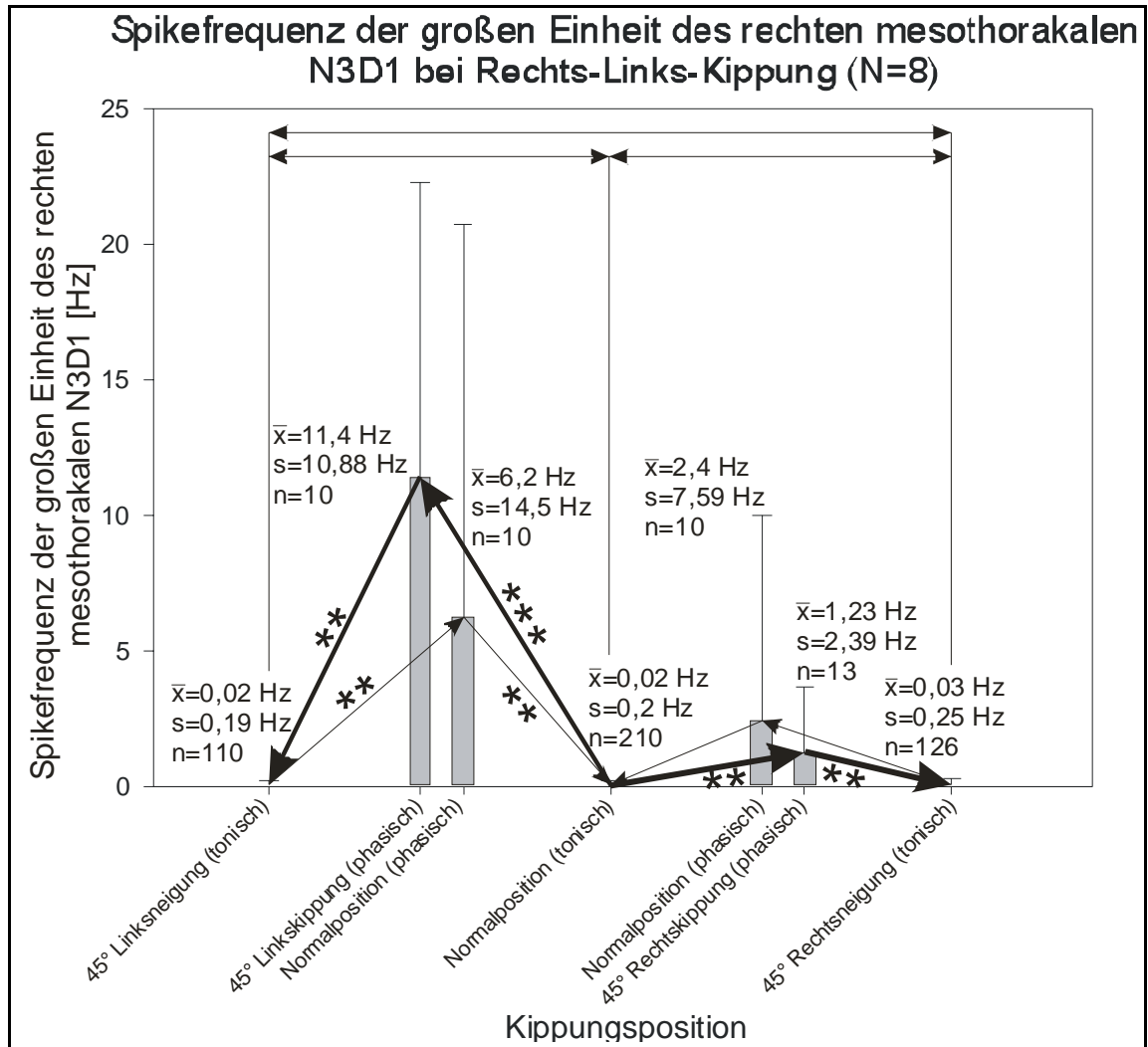


Abb. 25: Kippungsdiagramm der über 8 Tiere gemittelten Spikeaktivität der großen Einheit im rechten mesothorakalen N3D1 (innerviert den vordere Rotator der rechten Mittelbeincoxa (M92)) bei Rechts-Links-Kippung. Die breiten Balken stehen für den tonischen, die schmalen für den phasischen Anteil der jeweiligen Reaktion. Die Pfeile verdeutlichen die Zugehörigkeit der phasischen Anteile zur jeweiligen Kipprichtung. Die Sterne zeigen signifikante Unterschiede an. \bar{x} : Mittelwert; s: Standardabweichung; n: Anzahl der Meßwerte

- Die efferente motorische Einheit mit der meistens mittelgroßen Amplitude, reagiert phasisch-tonisch auf den Kippungsreiz (Abb. 26 und Tabelle 1). Die Spontanfrequenz in Normalposition beträgt 3,2 Hz bei einer Standardabweichung von 2,88 Hz. Die phasischen Anteile treten in signifikanter Höhe nur bei der Auslenkung aus der Normalposition auf, nicht jedoch bei der Rückführung in dieselbe. Im Falle der Linkskippung steigt hier die Frequenz auf durchschnittlich

18,78 Hz (Standardabweichung 21,88 Hz), bei der Rechtskippung auf 8,19 Hz bei einer Standardabweichung von 6,32 Hz. Signifikante Unterschiede in der tonischen Spikefrequenz treten nur bei der Linksneigung auf. Hier steigt die Spikefrequenz auf 6,31 Hz (Standardabweichung 5,53 Hz).

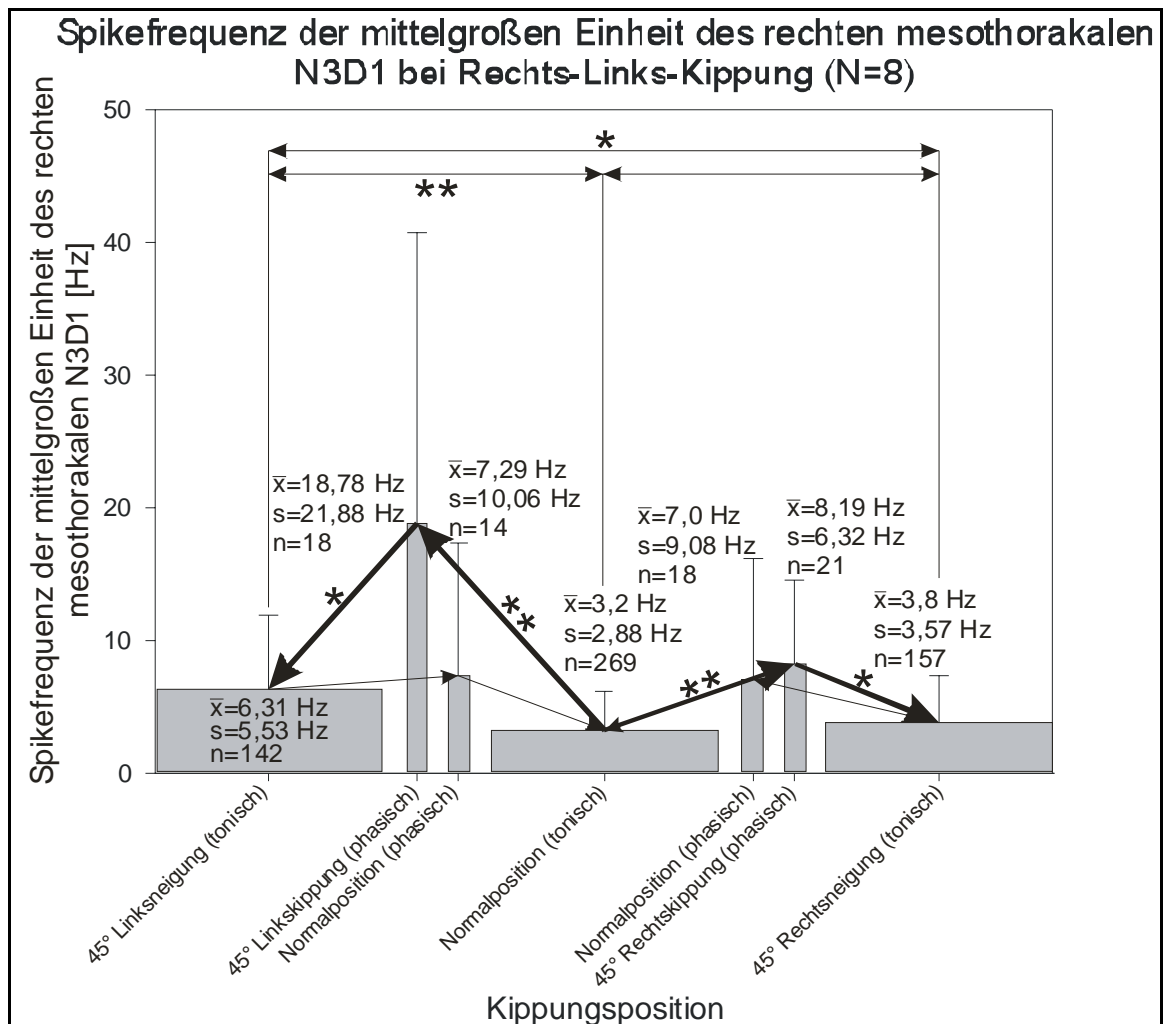


Abb. 26: Kippungsdiagramm der über 8 Tiere gemittelten Spikeaktivität der mittelgroßen Einheit im rechten mesothorakalen N3D1 (innerviert den vordere Rotator der rechten Mittelbeincoxa (M92)) bei Rechts-Links-Kippung. Die breiten Balken stehen für den tonischen, die schmalen für den phasischen Anteil der jeweiligen Reaktion. Die Pfeile verdeutlichen die Zugehörigkeit der phasischen Anteile zur jeweiligen Kipprichtung. Die Sterne zeigen signifikante Unterschiede an. \bar{x} : Mittelwert; s: Standardabweichung; n: Anzahl der Meßwerte

- Die efferente motorische Einheit mit der meist kleinsten Amplitude reagiert hauptsächlich phasisch auf seitliche Kippung, besitzt jedoch auch einen schwachen tonischen Anteil (Abb. 27 und Tabelle 1). Ihre Spontanfrequenz beträgt 0,37 Hz bei

einer Standardabweichung von 1,25 Hz. Auslenkungen aus der Normalposition werden phasisch mit Spikefrequenzen von durchschnittlich 7,0 Hz (Standardabweichung 7,5 Hz) im Falle der Linksneigung, 1,85 Hz (Standardabweichung 1,73 Hz) im Falle der Rechtsneigung abgebildet. Ein signifikanter Unterschied der tonischen Frequenzen besteht nur zwischen den Neigungsextremen, wobei die Efferenz auf eine Rechtsneigung mit einer höheren Spikefrequenz (0,46 Hz, Standardabweichung 1,19 Hz) reagiert. Die tonische Frequenz während der Linksneigung beträgt im Mittel 0,11 Hz bei einer Standardabweichung von 0,53 Hz).

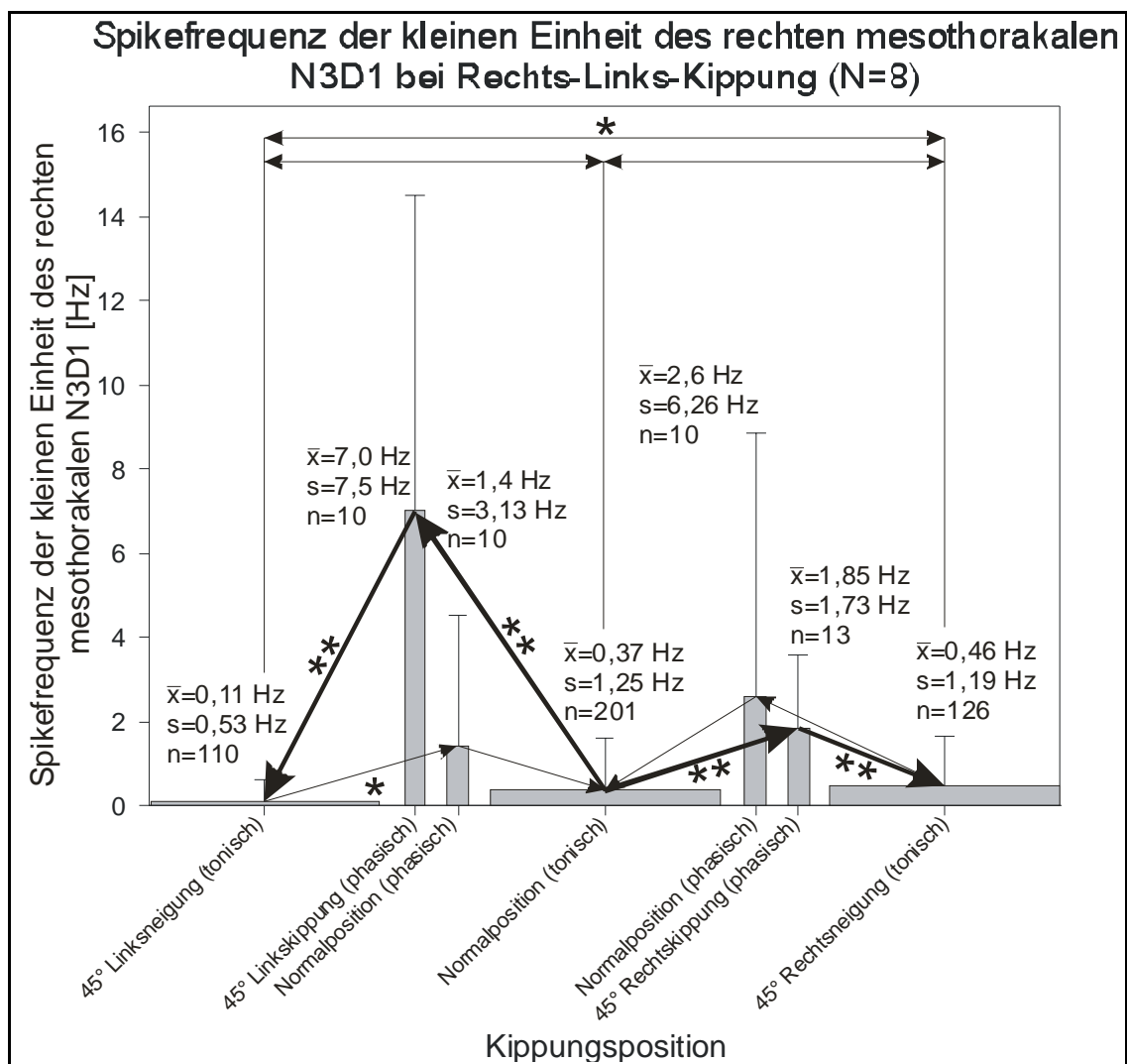


Abb. 27: Kippungsdiagramm der über 8 Tiere gemittelten Spikeaktivität der kleinen Einheit im rechten mesothorakalen N3D1 (innerviert den vordere Rotator der rechten Mittelbeincoxa (M92)) bei Rechts-Links-Kippung. Die breiten Balken stehen für den tonischen, die schmalen für den phasischen Anteil der jeweiligen Reaktion. Die Pfeile verdeutlichen die Zugehörigkeit der phasischen Anteile zur jeweiligen Kipprichtung. Die Sterne zeigen signifikante Unterschiede an. \bar{x} : Mittelwert; s: Standardabweichung; n: Anzahl der Meßwerte

Im Unterschied zur Heuschrecke, wo der vordere Rotator neben dem Common Inhibitor (CI) nur über eine FAST- und eine SLOW-Einheit verfügt (Müller et al. 1991) wird dieser Muskel bei *Gryllus bimaculatus* von drei Einheiten (plus CI) angesteuert. Zusätzlich konnte die Innervierung durch ein DUM-Neuron nachgewiesen werden (Abb. 28).

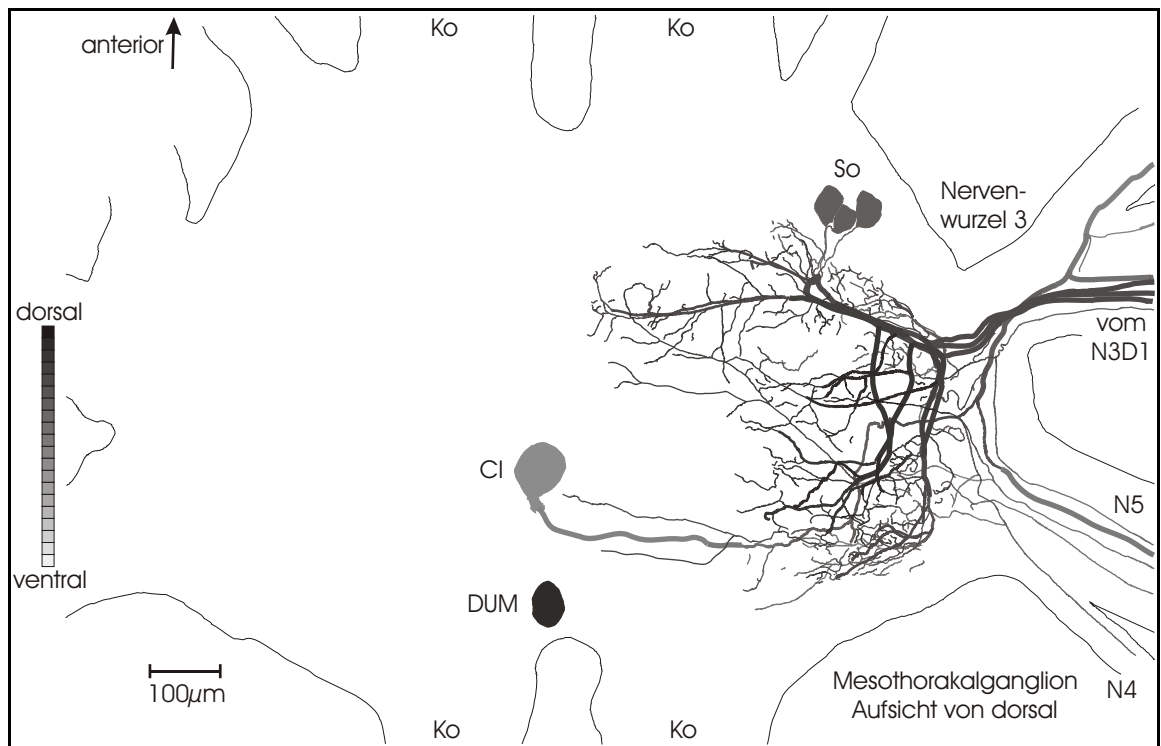


Abb. 28: Dextran-Färbung des rechten mesothorakalen Nervs 3D1. Mesothorakalganglion in Aufsicht von dorsal. Rekonstruktion des Projektionsgebietes aus mehreren Photos verschiedener Fokusebenen, wobei dorsal gelegene Strukturen dunkel, ventral gelegene hell dargestellt sind; **Ko**: Konnektiv; **So**: Soma; **CI**: Common Inhibitor; **DUM**: Dorsal unpaired median Neuron

3.2.1.2 Der mesothorakale Nerv 3D3

Der Nerv 3D3 enthält die Motoneurone, die zum kurzen thorakalen Anteil des mesothorakalen Depressor trochanteris (M103c) führen. Kontrahiert sich dieser Muskel, führt das zu einer Stemmbewegung des Mittelbeines nach unten: Eine Bewegung, die zur Gravitationskompensation geeignet ist. Obwohl im Nerv 3D3 mehr als eine motorische Einheit verläuft, konnte nur eine Efferenz zuverlässig abgeleitet werden. Eine weitere phasisch reagierende war nur sporadisch aktiv, so daß keine fundierten Aussagen über ihre gravitationskompensatorische Relevanz getroffen werden konnten.

Die abgeleitete Efferenz reagiert rein tonisch. Ihre Spontanfrequenz liegt bei 7,97 Hz bei einer Standardabweichung von 1,08 Hz. Sowohl auf Rechts- als auch auf Linksneigung reagiert sie mit einer Spikefrequenzerhöhung. Im Durchschnitt werden bei einer Linksneigung Spikefrequenzen von 10,34 Hz (Standardabweichung 1,4 Hz) und bei einer Rechtsneigung 10,7 Hz (Standardabweichung 1,36 Hz) erreicht. Die Reaktionen auf diese Auslenkungen unterscheiden sich nicht signifikant voneinander, aber sie unterscheiden sich signifikant von der Normalposition. Hier ist die Irrtumswahrscheinlichkeit $p=0$ (Abb. 29 und Tabelle 1).

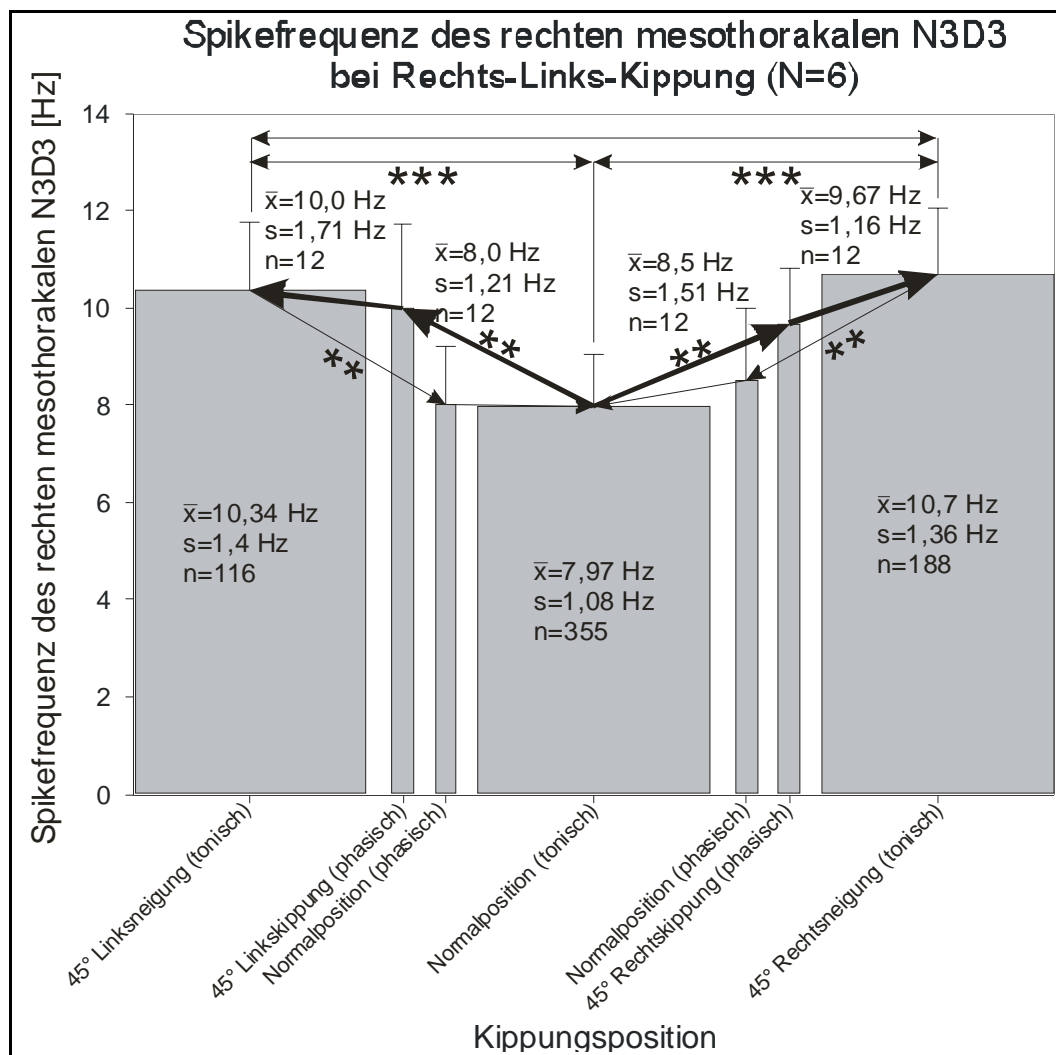


Abb. 29: Kippungsdiagramm der über 6 Tiere gemittelten Spikeaktivität der tonischen Einheit im rechten mesothorakalen N3D3 (innerviert den kurzen thorakalen Anteil des rechten Depressor trochanteris des Mittelbeines (M103c)) bei Rechts-Links-Kippung. Die breiten Balken stehen für den tonischen, die schmalen für den phasischen Anteil der jeweiligen Reaktion. Die Pfeile verdeutlichen die Zugehörigkeit der phasischen Anteile zur jeweiligen Kipprichtung. Die Sterne zeigen signifikante Unterschiede an. \bar{x} : Mittelwert; s: Standardabweichung; n: Anzahl der Meßwerte

		Phasischer Anteil	Tonischer Anteil
rechter mesothorakaler N3D1	große Einheit	11,4 Hz 6,2 Hz 0,0 Hz	0,0 Hz
	mittelgroße Einheit	18,8 Hz 3,2 Hz	6,3 Hz 3,2 Hz 3,8 Hz
	kleine Einheit	7,0 Hz 0,4 Hz	0,1 Hz 0,4 Hz 0,5 Hz
	rechter mesothorakaler N3D3	8,0 Hz	10,3 Hz 8,0 Hz 10,7 Hz

Tabelle 1: Zusammenfassung der Reaktionscharakteristika der Efferenzen der rechten mesothorakalen Nerven 3D1 und 3D3 bei Rechts-Links-Kippung. Die linke Seite der Tabelle stellt die phasische Reaktion bei einer Kippung nach (obere Pfeile) bzw. einer Rückführung aus der entsprechenden Neigung (untere Pfeile) dar. Die rechte Seite zeigt den tonischen Anteil der Motoneuronreaktion. Die schematische Darstellung des Grillenabdomens samt Cerci von caudal gibt die jeweilige Neigungsrichtung an. Sich verdickende Balken repräsentieren eine Spikefrequenzzunahme, sich verjüngende eine Abnahme. Die Frequenzangaben sind jeweils Mittelwerte. Die Sterne zeigen signifikante Unterschiede an. Zur besseren Lesbarkeit wurden nur stark signifikante Reaktionen aufgeführt.

3.3 Nachgeschaltete gravitationssensitive Interneurone

Die von den beiden PSI integrierte und transportierte Information zur Lage der Grille relativ zum Schwerevektor führt im Mesothorax zu motorischen Reaktionen auf diesen Reiz. Es muß also eine Verschaltung zwischen den PSI und dieser Motorik geben. Eine direkte Verbindung ist unwahrscheinlich, da bei intrazellulären Ableitungen der Motoneurone der mesothorakalen Nerven 3D1 und 3D3 nie mit der PSI-Aktivität direkt korrelierte exzitatorische postsynaptische Potentiale (EPSP) oder inhibitorische postsynaptische Potentiale (IPSP) gefunden werden konnten. Dieses legt eine Involvierung von anderen Interneuronen nahe, von denen zwei lokale und vier intersegmentale gefunden werden konnten.

Der Versuchsaufbau erlaubte nur das Erfassen von Interneuronreaktionen auf Rechts-Links-Kippung, nicht jedoch auf Rück-Vor-Kippung. Lage und Verlauf der Interneurone werden aus dorsaler Sicht beschrieben. Ihrem Namen wird jeweils in Klammern das Ganglion mit dem Soma nachgestellt. Eine Ausnahme stellen die nur elektrophysiologisch erfaßten Neurone (PSN1-6) dar, bei denen in Klammern der Ableitort angegeben ist. Die Kipprichtungen im Physiologieteil beziehen sich auf die dorsale Aufsicht.

3.3.1 Lokale positionssensitive Interneurone (LPSI)

3.3.1.1 LPSI 1 (Meso)

3.3.1.1.1 Morphologie

Das kleine lokale Interneuron LPSI 1 (Meso) besitzt ein nur ca. 7 μm großes, ventral im Mesothorakalganglion zwischen Nervenwurzel 1 und 3 gelegenes Soma und einen T-förmigen Verlauf (Abb. 30). Der primäre Neurit ist sehr kurz, zieht nach dorsal und teilt sich dort in drei Äste auf. Die beiden kürzeren Äste projizieren nach ventral und terminieren im Bereich des anterioren lateral association centers (aLAC), der längere zieht nach dorso-medial.

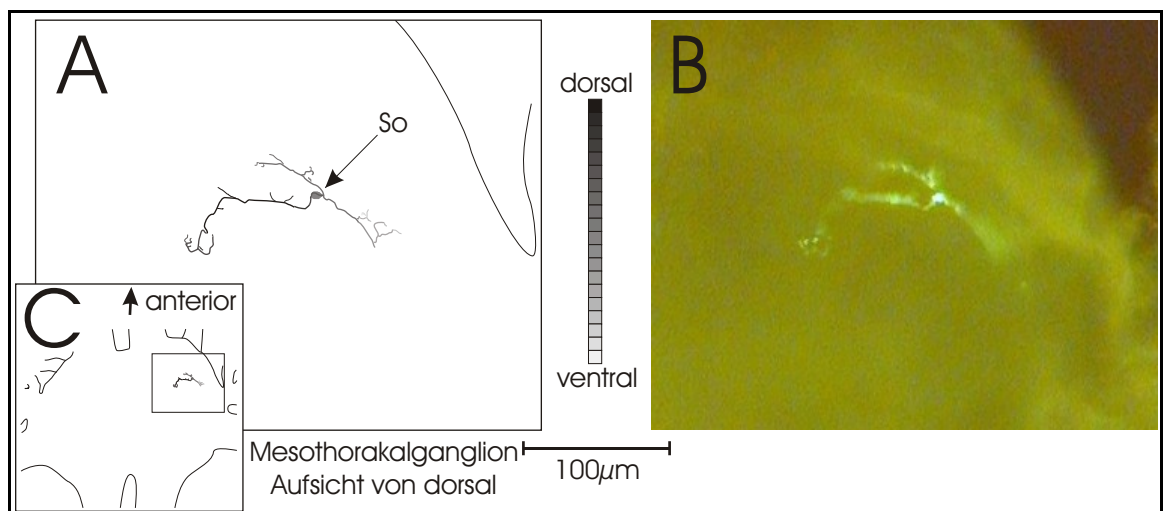


Abb. 30: Lucifer Yellow-Färbung des lokalen positionssensitiven Interneurons LPSI 1 (Meso) im Mesothorakalganglion in Aufsicht von dorsal. **A:** Rekonstruktion des Projektionsgebietes aus mehreren Photos verschiedener Fokusebenen, wobei dorsal gelegene Strukturen dunkel, ventral gelegene hell dargestellt sind; **B:** Photographie des in A dargestellten Bereiches im Whole mount; **C:** Einordnung des Ausschnittfensters A in die Gesamtübersicht; **So:** Soma

3.3.1.1.2 Elektrophysiologie

Die Spontanfrequenz des lokalen Interneurons LPSI 1 (Meso) beträgt 1,77 Hz bei einer Standardabweichung von 1,84 Hz. Es reagiert sowohl auf ipsi- als auch auf kontralaterale Kippung rein phasisch und fällt bei unveränderter Position schnell wieder auf eine Frequenz ab, die sich nicht signifikant von der Spontanfrequenz in der Normalposition unterscheidet. Es reagiert insbesondere auf eine Kippbewegung von links nach rechts, wobei es seine höchste Spikefrequenz, im Mittel 29,14 Hz, bei der Rückführung aus der nach Links gekippten Lage in die Normalposition erreicht. Die seitliche Auslenkung aus der Normalposition führt zu geringeren Anstiegen in der Spikefrequenz: 7,67 Hz im Falle der Linkskippung, 5,6 Hz bei der Rechtskippung (Abb. 31 und Tabelle 2).

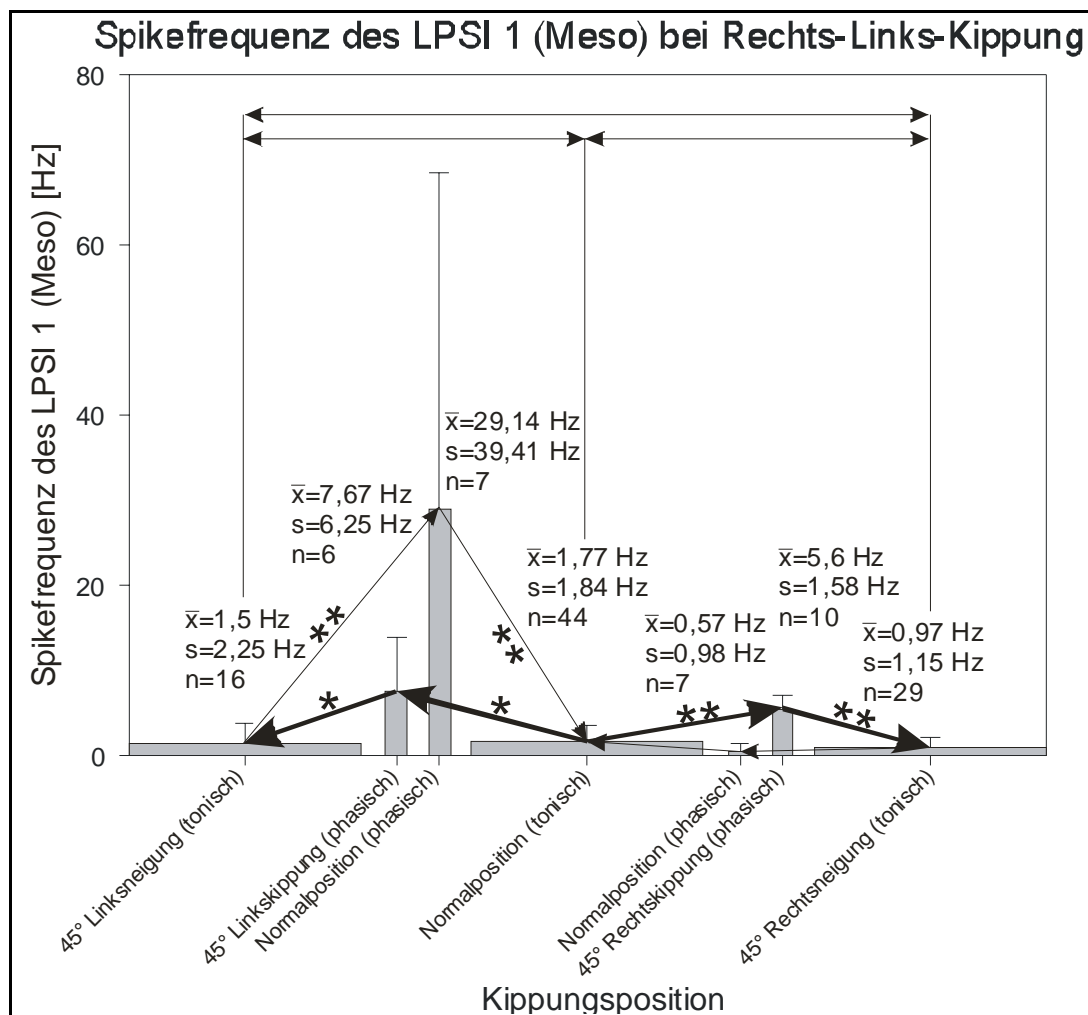


Abb. 31: Kippungsdiagramm der Spikefrequenz des lokalen positionssensitiven Interneurons LPSI 1 (Meso) bei Rechts-Links-Kippung. Die breiten Balken stehen für den tonischen, die schmalen für den phasischen Anteil der jeweiligen Reaktion. Die Pfeile verdeutlichen die Zugehörigkeit der phasischen Anteile zur jeweiligen Kipprichtung. Die Sterne zeigen signifikante Unterschiede an. \bar{x} : Mittelwert; s: Standardabweichung; n: Anzahl der Meßwerte

3.3.1.2 LPSI 2 (Meso)

3.3.1.2.1 Morphologie

Das lokale Interneuron LPSI 2 (Meso), dessen ca. 10 μm großes Soma ventral im Mesothorakalganglion knapp unterhalb der Nervenwurzel 1 liegt, besteht aus drei Hauptästen, die ipsilateral in der anterioren Hälfte liegen. Ihre Arborisationen liegen in der Nähe des dorsalen intermediären Traktes (DIT), im anterioren lateralen association center (aLAC) und im posterioren lateralen association center (pLAC) (Abb. 32, Abb. 33). Ein weiterer Ast war nur in den Transversalschnitten zu erkennen (in Abb. 32A, B rot dargestellt): Er zieht in einem weiten Bogen außen um das laterale ventral association center (IVAC) herum nach posterior und terminiert unter anderem im posterioren lateral association center (pLAC).

3.3.1.2.2 Elektrophysiologie

Das lokale Interneuron LPSI 2 (Meso) reagiert rein tonisch auf Kippungsreize (Abb. 34 und Tabelle 2). In der Normalposition beträgt seine Spikefrequenz 3,9 Hz bei einer Standardabweichung von 3,53 Hz. Die phasischen Anteile, die während und kurz nach der Rechts- bzw. Links-Kippung gemessen wurden, unterscheiden sich nicht signifikant von den tonischen. Sowohl eine Neigung nach rechts als auch eine nach links führt zu erhöhter tonischer Aktivität, wobei der Frequenzanstieg bei einer Linksneigung signifikant höher ausfällt (12,57 Hz bei einer Standardabweichung von 5,63 Hz) als bei einer Rechtsneigung (8,0 Hz bei einer Standardabweichung von 2,9 Hz). Die Unterschiede zwischen den Reaktionen auf diese Auslenkungen und der Spikefrequenz in Normalposition sind hochsignifikant.

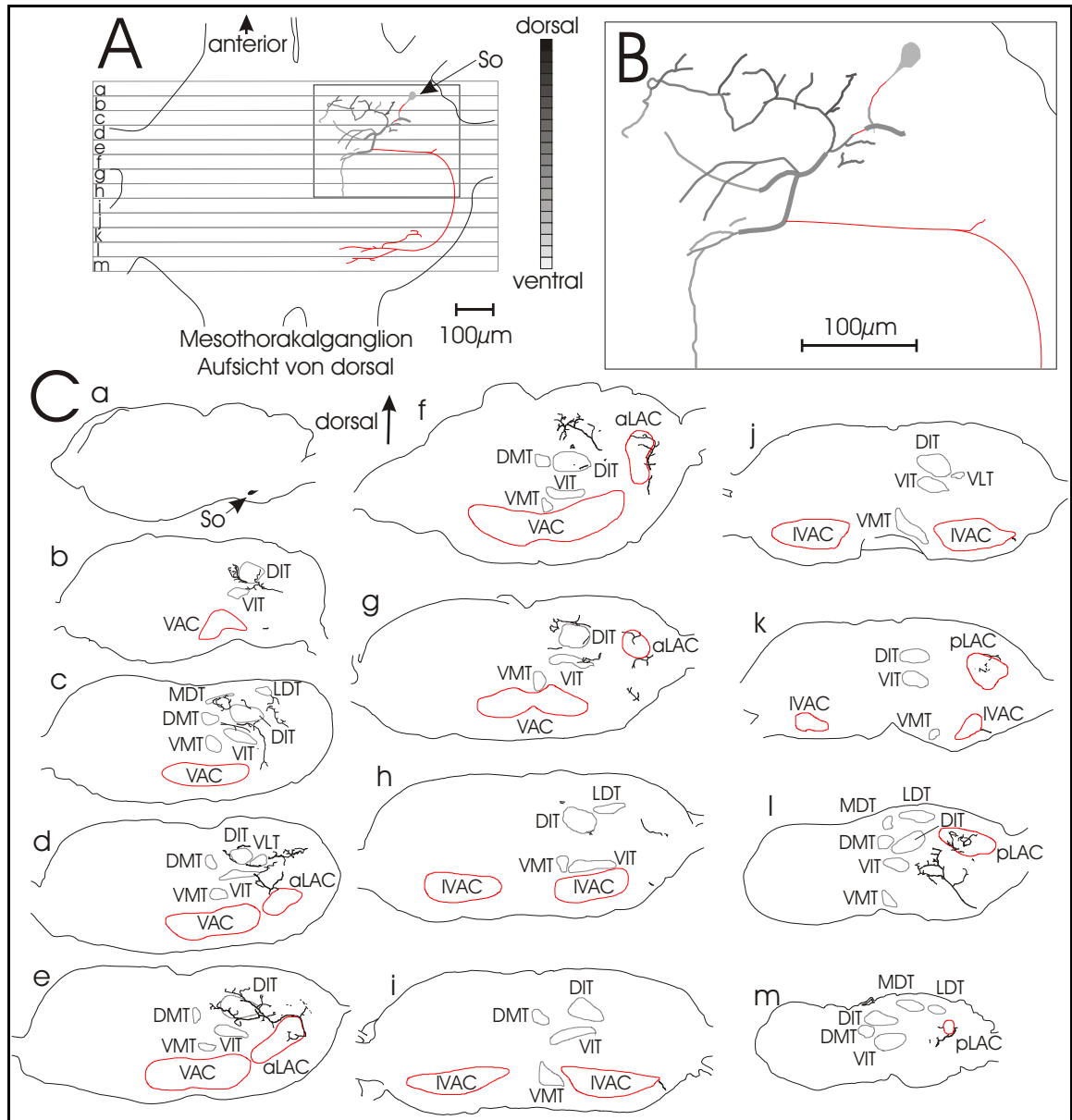


Abb. 32: Lucifer Yellow-Färbung des lokalen positionssensitiven Interneurons LPSI 2 (Meso). **A:** Mesothorakalganglion in Aufsicht von dorsal, Rekonstruktion des Projektionsgebietes aus mehreren Photos verschiedener Fokusebenen, wobei dorsal gelegene Strukturen dunkel, ventral gelegene hell dargestellt sind. Rot dargestellte Strukturen waren im Whole mount nicht sichtbar, wohl aber in den Transversalschnitten; **B:** Vergrößerte Darstellung des in A eingekästelten Bereichs; **C:** Lucifer Yellow Antikörperfärbung, 40 µm dicke Transversalschnitte durch das Mesothorakalganglion, an den in A eingezeichneten Positionen (a-m); **aLAC:** anteriores lateral association center; **DIT:** dorsaler intermediärer Trakt; **DMT:** dorsaler medialer Trakt; **LDT:** lateraler dorsaler Trakt; **IVAC:** laterales ventral association center; **MDT:** medialer dorsaler Trakt; **pLAC:** posteriores lateral association center; **So:** Soma; **VAC:** ventral association center; **VIT:** ventraler intermediärer Trakt; **VLT:** ventraler lateraler Trakt; **VMT:** ventraler medialer Trakt

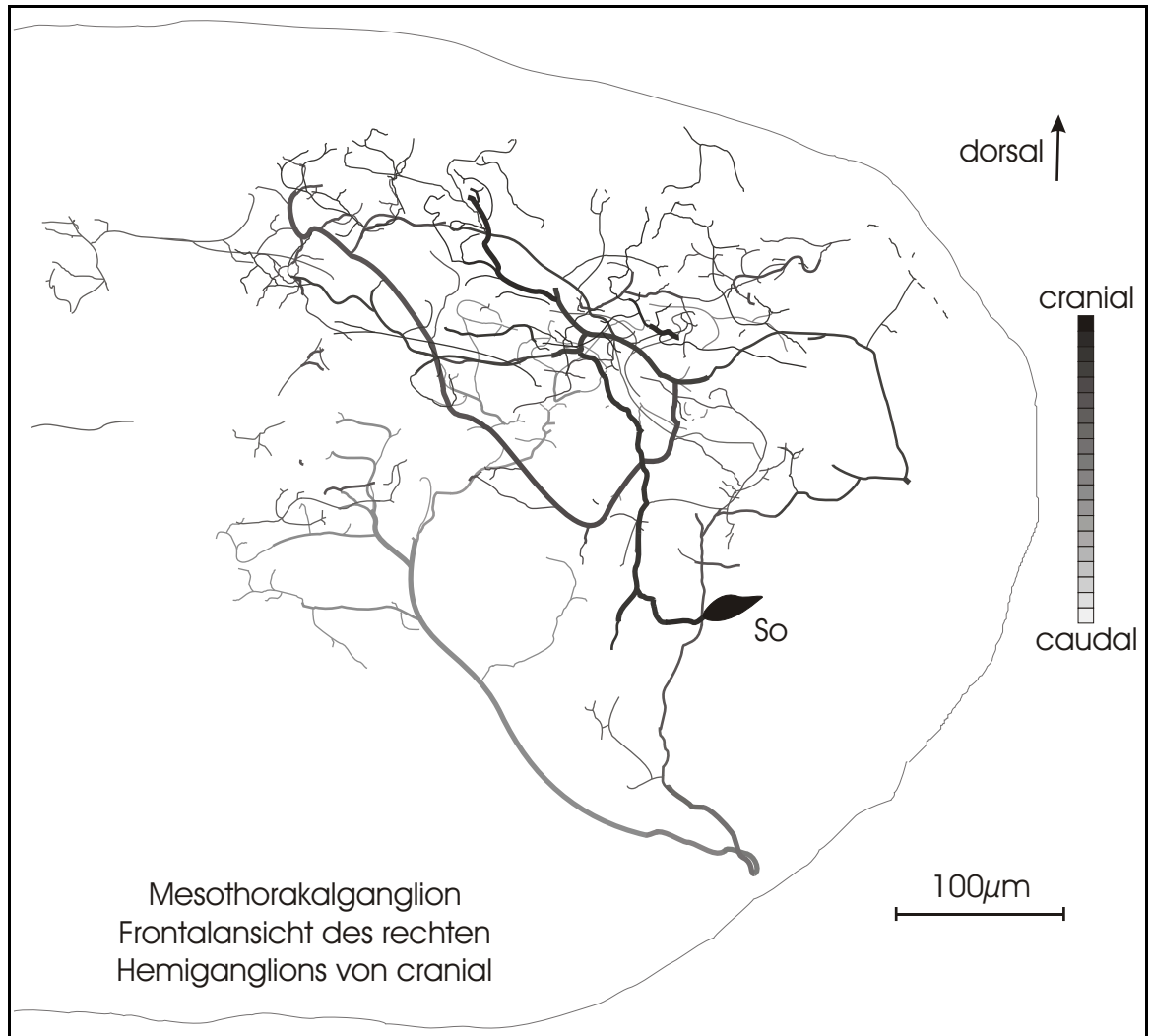


Abb. 33: Rekonstruktion des lokalen positionssensitiven Interneurons LPSI 2 (Meso) anhand der in Abb. 32C dargestellten Transversalschnitte, rechte Hälfte des Mesothorakalganglions in Frontalansicht von cranial. **So:** Soma

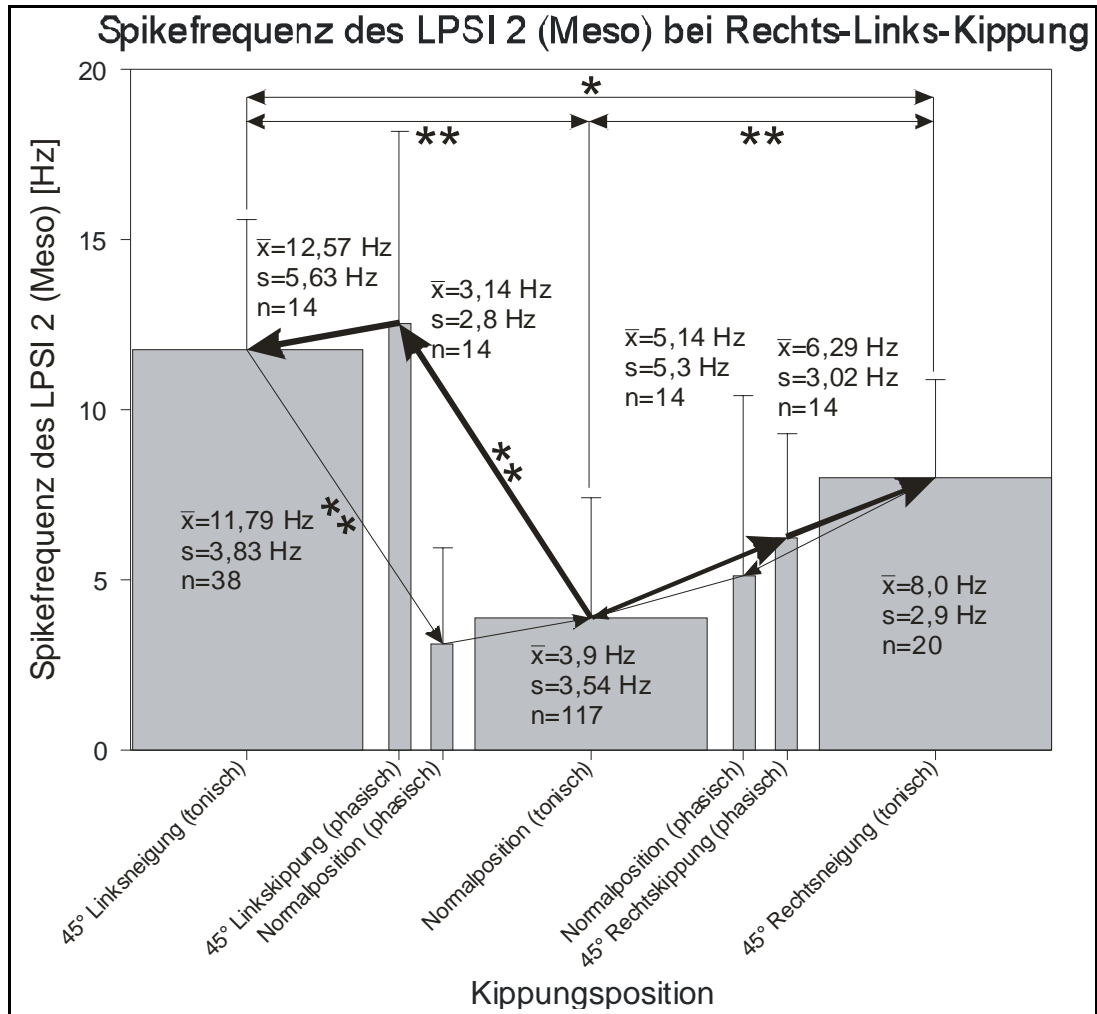


Abb. 34: Kippungsdiagramm der Spikefrequenz des lokalen positionssensitiven Interneurons LPSI 2 (Meso) bei Rechts-Links-Kippung. Die breiten Balken stehen für den tonischen, die schmalen für den phasischen Anteil der jeweiligen Reaktion. Die Pfeile verdeutlichen die Zugehörigkeit der phasischen Anteile zur jeweiligen Kipprichtung. Die Sterne zeigen signifikante Unterschiede an. \bar{x} : Mittelwert; s: Standardabweichung; n: Anzahl der Meßwerte

3.3.2 Intersegmentale positionssensitive Interneurone (IPSI)

3.3.2.1 IPSI 1 (Meta)

3.3.2.1.1 Morphologie

Im zweiten Abdominalneuromer des Metathorakalganglions liegt das mit 6 μm sehr kleine Soma des intersegmental verlaufenden Interneurons IPSI 1 (Meta) (Abb. 35E, F). Sehr weit lateral und ventral gelegen, zieht der primäre Neurit in einem Bogen nach

dorso-medial und entsendet zwei kleine Neuriten. Das Axon macht einen 90° Knick nach anterior und aszendiert durch das ipsilaterale Konnektiv.

Im Mesothorakalganglion gibt es zwei ipsilaterale Hauptprojektionsgebiete: Ein großes posteriores, das eher dorsal liegt und ein kleines anteriores, das sich ventral in den Bereich des ventral association center (VAC) erstreckt. Beide ziehen nach medial, überschreiten die Ganglionmittellinie jedoch nicht. Das Hauptaxon aszendiert weiter durch das ipsilaterale Konnektiv (Abb. 35C, D).

Im Prothorakalganglion war die Färbung zu schwach, um Aussagen über Arborisationen treffen zu können. Das Hauptaxon aszendiert durch das ipsilaterale Konnektiv weiter, so daß Verzweigungen im Subösophageal- und/oder im Supraösophagealganglion angenommen werden müssen (Abb. 35A, B).

3.3.2.1.2 Elektrophysiologie

IPSI 1 (Meta) ist ein rein phasisch auf seitliche Kippung reagierendes, intersegmental projizierendes Interneuron mit einer Richtungscharakteristik. Nur Kippbewegungen in ipsilateraler Richtung (von links nach rechts) lösen signifikante Antworten aus. Wird das Tier aus der 45° nach links geneigten Lage in die Normalposition gedreht, steigt die Spikefrequenz dieses Interneurons aus der Ruhefrequenz (2,87 Hz, Standardabweichung 2,96 Hz) auf 6,0 Hz bei einer Standardabweichung von 2,6 Hz. Deutlicher und hochsignifikant fällt die Reaktion bei einer Rechtskippung aus der Normalposition aus. Hier steigt die Spikefrequenz im Mittel auf 9,83 Hz bei einer Standardabweichung von 4,25 Hz (Abb. 36 und Tabelle 2).

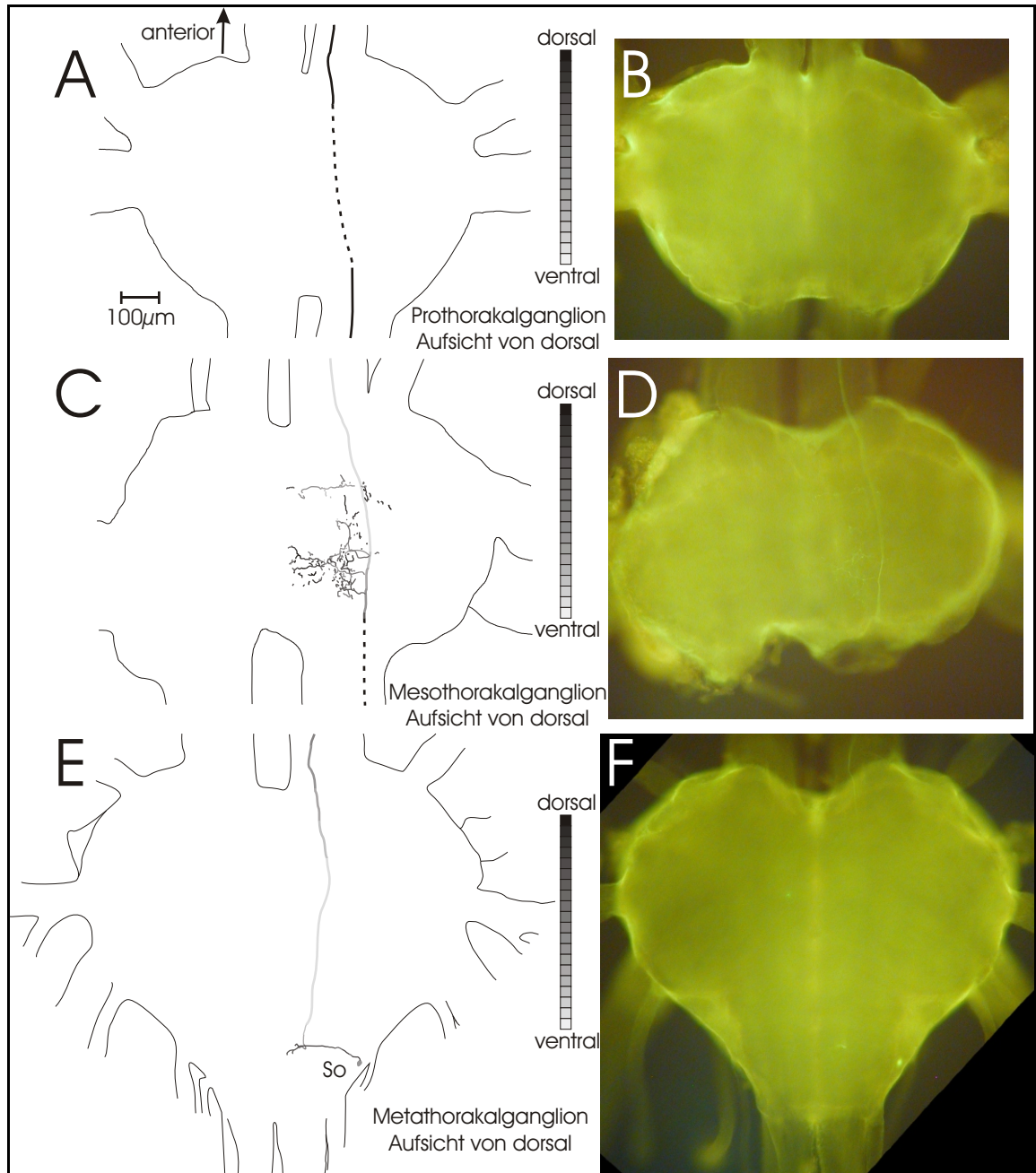


Abb. 35: Lucifer Yellow-Färbung des intersegmentalen positionssensitiven Interneurons IPSI 1 (Meta). **A:** Prothorakalganglion, **C:** Mesothorakalganglion und **E:** Metathorakalganglion, jeweils in Aufsicht von dorsal, Rekonstruktion des Projektionsgebietes aus mehreren Photos verschiedener Fokusebenen, wobei dorsal gelegene Strukturen dunkel, ventral gelegene hell dargestellt sind. Die gestrichelten Bereiche waren zu schwach gefärbt, um gesicherte Angaben über den Verlauf machen zu können: Hier wurde logisch ergänzt. **B, D, F:** Photographien der jeweils dargestellten Bereiche im Whole mount; **So:** Soma

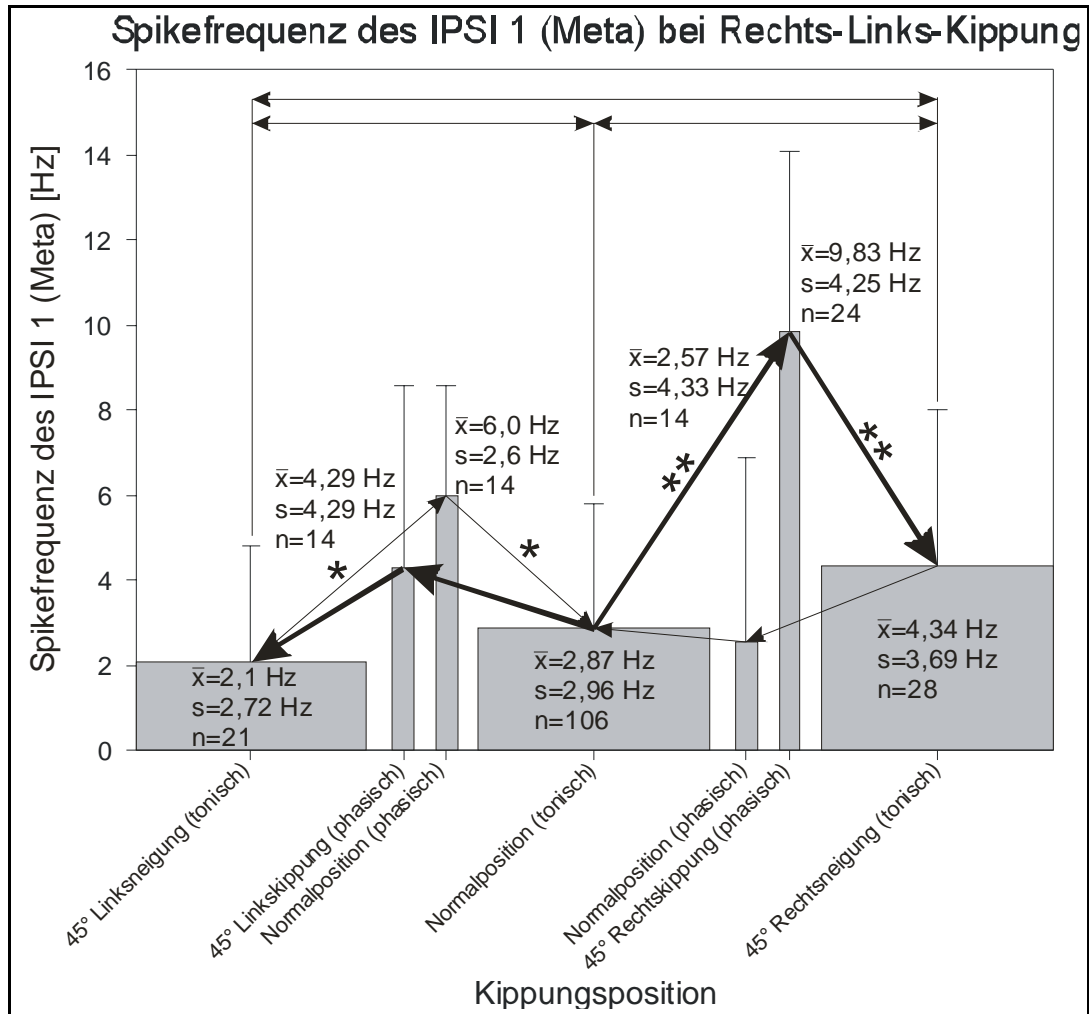


Abb. 36: Kippungsdiagramm der Spikefrequenz des intersegmentalen positionssensitiven Interneurons IPSI 1 (Meta) bei Rechts-Links-Kippung. Die breiten Balken stehen für den tonischen, die schmalen für den phasischen Anteil der jeweiligen Reaktion. Die Pfeile verdeutlichen die Zugehörigkeit der phasischen Anteile zur jeweiligen Kipprichtung. Die Sterne zeigen signifikante Unterschiede an. \bar{x} : Mittelwert; s: Standardabweichung; n: Anzahl der Meßwerte

3.3.2.2 IPSI 2

3.3.2.2.1 Morphologie

Das intersegmentale Interneuron IPSI 2 konnte nicht vollständig gefärbt werden. Das Soma befindet sich im Metathorakalganglion oder posterior davon. Das ascendierende Axon zieht in das mesothorakale Ganglion bis auf Höhe der Nervenwurzel 3. Hier projiziert es ventro-lateral und terminiert im Bereich des anterioren lateral association

center (aLAC). Ein weiterer Ast zieht vom Axon aus nach lateral auf den Nerv 5 zu und könnte dort Kontakt zum posterioren lateral association center (pLAC) haben (Abb. 37).

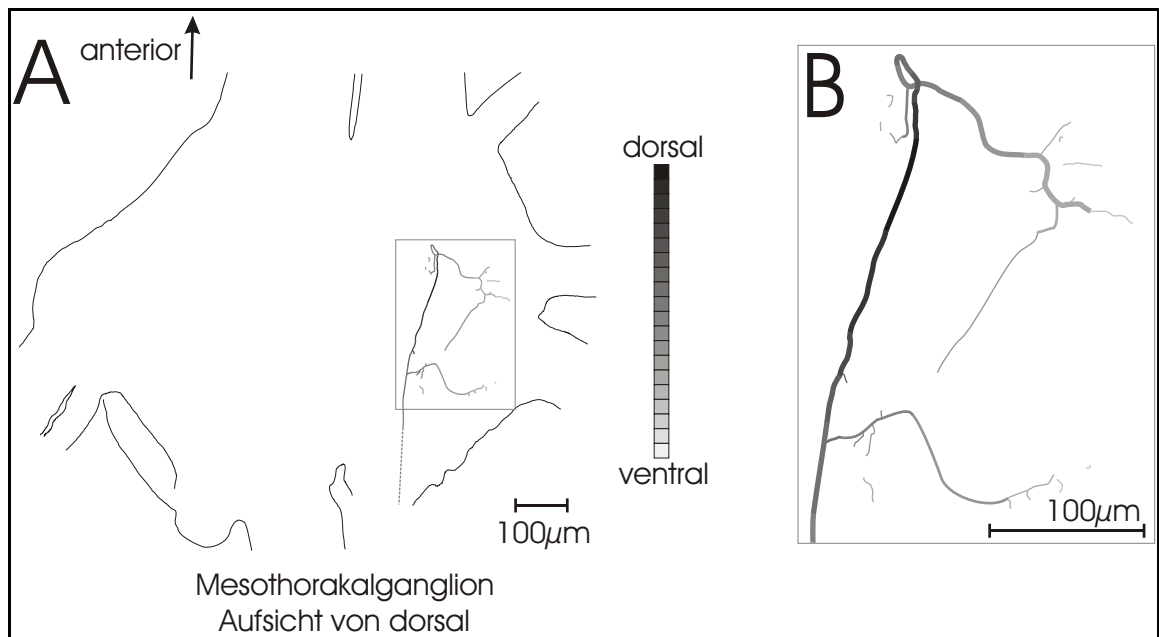


Abb. 37: Lucifer Yellow-Färbung des intersegmentalen positionssensitiven Interneurons IPSI 2 im Mesothorakalganglion in Aufsicht von dorsal. **A:** Rekonstruktion des Projektionsgebietes aus mehreren Photos verschiedener Fokusebenen, wobei dorsal gelegene Strukturen dunkel, ventral gelegene hell dargestellt sind. Die gestrichelten Bereiche waren zu schwach gefärbt, um gesicherte Angaben über den Verlauf machen zu können: hier wurde logisch ergänzt; **B:** Vergrößerte Darstellung des in A eingekästelten Bereichs

3.3.2.2 Elektrophysiologie

Phasisch-tonisch reagiert das Interneuron IPSI 2 auf Kippungen aus der Normalposition nach ipsilateral zum deszendierenden Axon (rechts). Linkskippungen werden nur schwach phasisch abgebildet (Abb. 38 und Tabelle 2). Seine Spontanfrequenz liegt bei 10,4 Hz (Standardabweichung 2,12 Hz). Kippungen nach rechts werden mit einem starken phasischen Frequenzanstieg, im Mittel bis 19,57 Hz bei einer Standardabweichung von 3,25 Hz, beantwortet. Signifikant unterschiedlich zur Spontanfrequenz ist auch der tonische Anteil beim Verbleib in der nach rechts gekippten Lage (12,13 Hz, Standardabweichung 2,13 Hz).

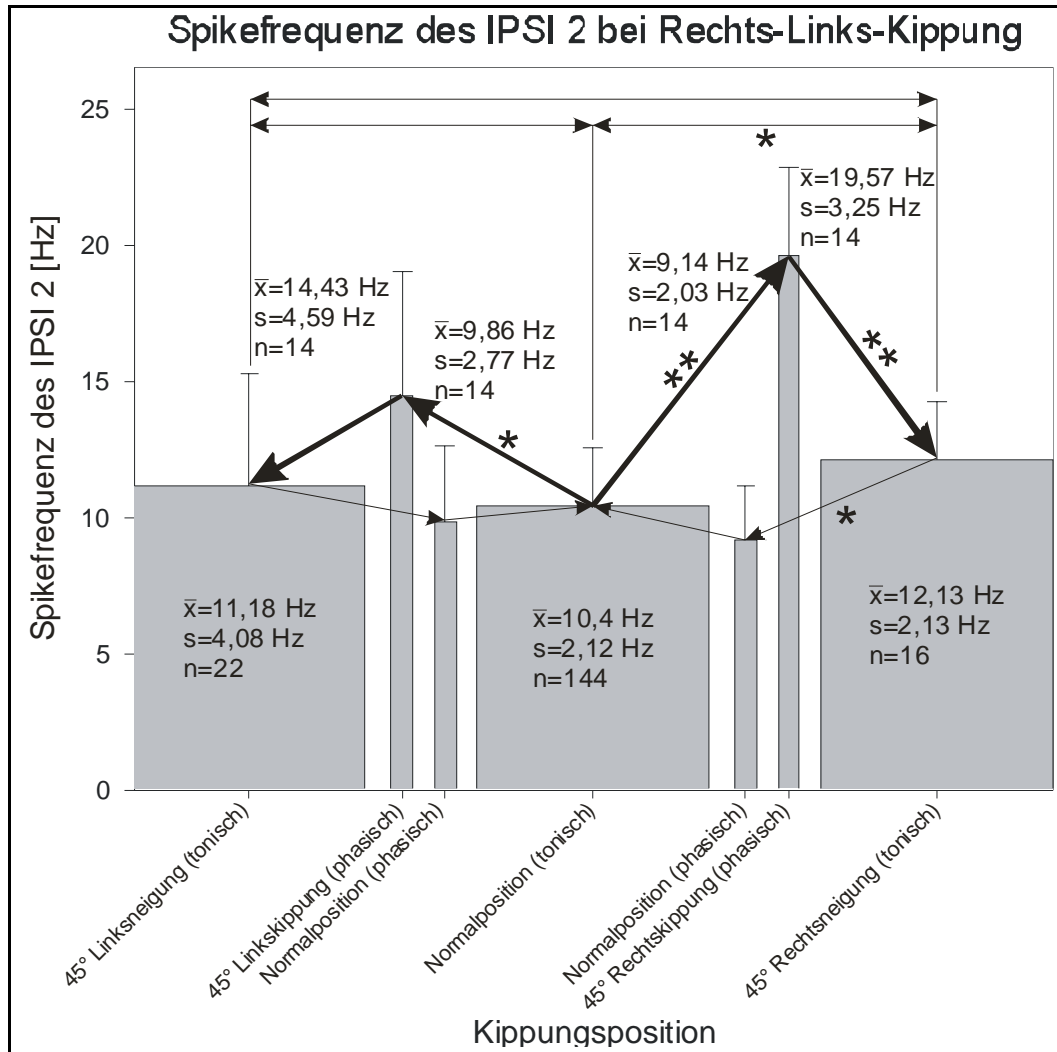


Abb. 38: Kippungsdiagramm der Spikefrequenz des intersegmentalen positionssensitiven Interneurons IPSI 2 bei Rechts-Links-Kippung. Die breiten Balken stehen für den tonischen, die schmalen für den phasischen Anteil der jeweiligen Reaktion. Die Pfeile verdeutlichen die Zugehörigkeit der phasischen Anteile zur jeweiligen Kipprichtung. Die Sterne zeigen signifikante Unterschiede an. \bar{x} : Mittelwert; s: Standardabweichung; n: Anzahl der Meßwerte

3.3.2.3 IPSI 3 (Meta)

3.3.2.3.1 Morphologie

Im Metathorakalganglion, posterior von Austrittspunkt des Nervs 1, liegt ventral das ca. 11 μm messende Soma des großen intersegmentalen Interneurons IPSI 3 (Meta) (Abb. 39E, F). Das Axon verläuft transversal, knickt dann um 90° nach anterior ab und aszendiert durch das kontralaterale Konnektiv. Dorsal arborisiert es in zwei Hauptästen, wobei einer die Ganglionmittellinie übertritt. Der andere Ast projiziert ins anteriore

lateral association center (aLAC). Auf der ventralen Seite liegen die Verzweigungen annähernd symmetrisch zur Ganglionmittellinie und terminieren im Bereich des lateralen ventral association center (IVAC). Die Abdominalneuomere sind nicht innerviert.

Im Mesothorakalganglion zweigen fünf Äste vom weiter durch das kontralaterale Konnektiv aufsteigenden Axon ab: zwei lateral, drei medial (Abb. 39C, D). Die lateralen ziehen auf den Nerv 5 zu und terminieren im Bereich des posterioren lateral association center (pLAC) bzw. des lateralen ventral association center (IVAC). Die medialen verzweigen in der Nähe der Ganglionmittellinie, ziehen jedoch nicht auf die gegenüberliegende Seite.

Im Prothorakalganglion ist nur ein abgehender Ast erkennbar, der wenig verzweigt nach lateral in Richtung des Nerven 5 zieht. Das Axon aufsteigt weiter durch das kontralaterale Konnektiv, so daß weitere Arborisationen zumindest im Subösophagealganglion postuliert werden müssen (Abb. 39A, B).

3.3.2.3.2 Elektrophysiologie

Das Interneuron IPSI 3 (Meta) hat, wenn sich das Tier in der Normalposition befindet, im Mittel eine Spikefrequenz von 1,89 Hz (Standardabweichung 2,63 Hz) und ist in seiner Reaktion zweigeteilt: Auslenkungen aus der Normalposition nach rechts (ipsilateral zum aufsteigenden Axon) und wieder zurück werden rein phasisch beantwortet (mit einer kompletten Inaktivierung bei Kippungen nach rechts, mit einem Frequenzanstieg bis durchschnittlich 6,0 Hz, Standardabweichung 4,9 Hz, bei der Rückkippung in die Normalposition). Kippungen aus der Normalposition nach links werden rein tonisch abgebildet. Bei beibehaltener Linksneigung steigt die Spikefrequenz auf durchschnittlich 6,17 Hz bei einer Standardabweichung von 3,53 Hz an. Sowohl die phasische als auch die tonische Reaktion sind signifikant (Abb. 40 und Tabelle 2).

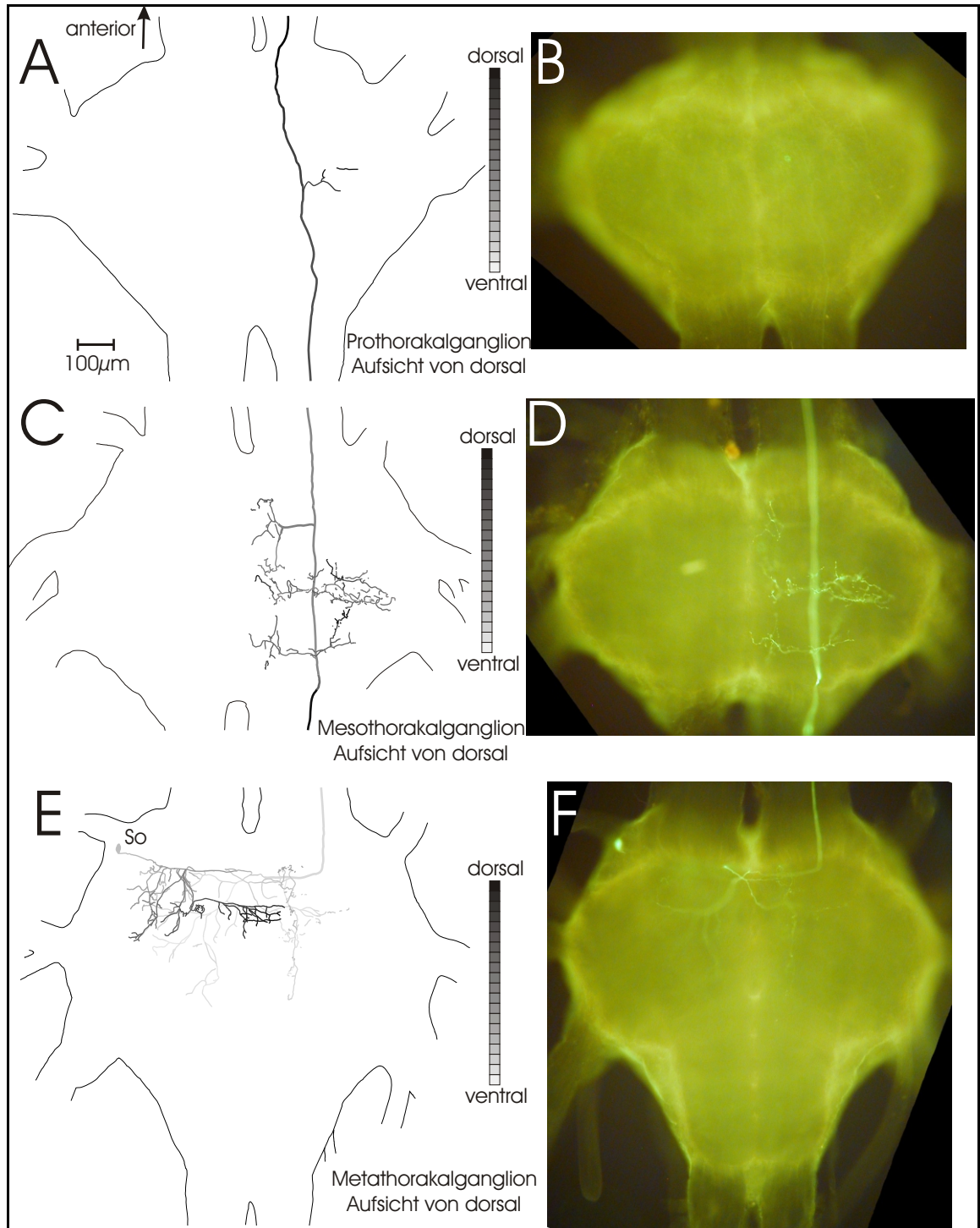


Abb. 39: Lucifer Yellow-Färbung des intersegmentalen positionssensitiven Interneurons IPSI 3 (Meta). **A:** Prothorakalganglion, **C:** Mesothorakalganglion und **E:** Metathorakalganglion, jeweils in Aufsicht von dorsal, Rekonstruktion des Projektionsgebietes aus mehreren Photos verschiedener Fokusebenen, wobei dorsal gelegene Strukturen dunkel, ventral gelegene hell dargestellt sind; **B, D, F:** Photographien der jeweils dargestellten Bereiche im Whole mount; **So:** Soma

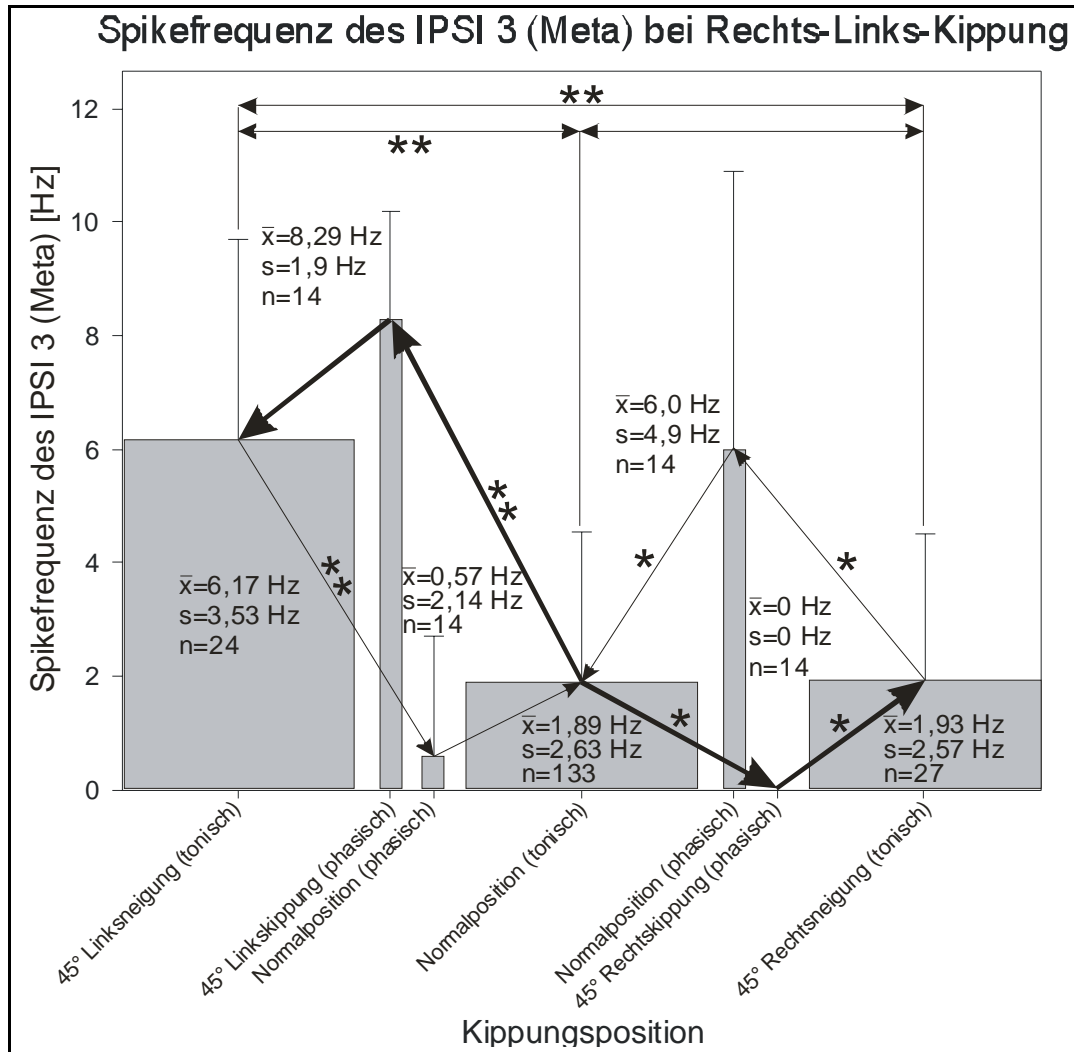


Abb. 40: Kippungsdiagramm der Spikefrequenz des intersegmentalen positionssensitiven Interneurons IPSI 3 (Meta) bei Rechts-Links-Kippung. Die breiten Balken stehen für den tonischen, die schmalen für den phasischen Anteil der jeweiligen Reaktion. Die Pfeile verdeutlichen die Zugehörigkeit der phasischen Anteile zur jeweiligen Kipprichtung. Die Sterne zeigen signifikante Unterschiede an. \bar{x} : Mittelwert; s: Standardabweichung; n: Anzahl der Meßwerte

3.3.2.4 IPSI 4 (Meso)

3.3.2.4.1 Morphologie

Vom 10 μm großen dorsal im Mesothorakalganglion, weit posterior und medial gelegenen Soma des intersegmental projizierenden positionssensitiven Interneurons IPSI 4 (Meso) aus, führt der primäre Neurit nach lateral und verzweigt sich dort im Bereich des posterioren lateral association center (pLAC) und des lateralen ventral association center (IVAC) (Abb. 41A, B). Das Axon verläuft im Bogen nach anterior

und medial, übertritt die Mittellinie und deszendiert durch das kontralaterale Konnektiv. Die Projektionsgebiete sind weitgehend symmetrisch bezüglich der Ganglionmittellinie, wobei die kontralateralen Verzweigungen eher ventral verlaufen.

Im Metathorakalganglion arborisiert das Axon nur wenig. Es verläuft ohne Verzweigungen bis zu den Abdominalneuromeren und terminiert dort (Abb. 41C, D).

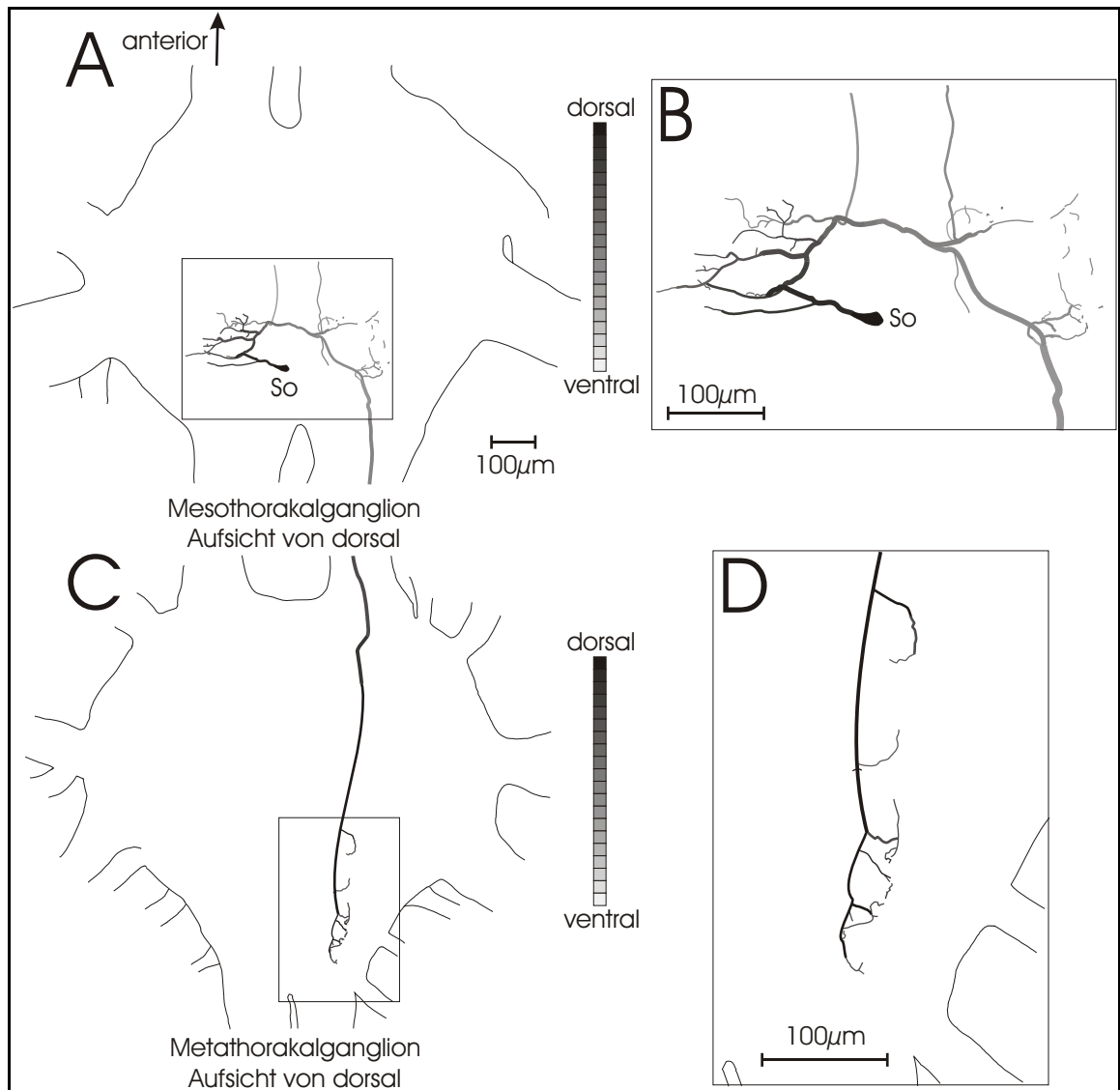


Abb. 41: Lucifer Yellow-Färbung des intersegmentalen positionssensitiven Interneurons IPSI 4 (Meso). **A:** Mesothorakalganglion in Aufsicht von dorsal, Rekonstruktion des Projektionsgebietes aus mehreren Photos verschiedener Fokusebenen, wobei dorsal gelegene Strukturen dunkel, ventral gelegene hell dargestellt sind; **B:** Vergrößerte Darstellung des in A eingekästelten Bereichs; **C:** Metathorakalganglion in Aufsicht von dorsal, Rekonstruktion des Projektionsgebietes aus mehreren Photos verschiedener Fokusebenen, wobei dorsal gelegene Strukturen dunkel, ventral gelegene hell dargestellt sind; **D:** Vergrößerte Darstellung des in C eingekästelten Bereichs; **So:** Soma

3.3.2.4.2 Elektrophysiologie

Auch beim IPSI 4 (Meso) ist, wie schon für das IPSI 3 (Meta) beschrieben, die Antwortcharakteristik zweigeteilt: Seitliche Kippung aus der Normalposition nach links (kontralateral zum deszendierenden Axon) führt zu einer schwach signifikanten phasischen Frequenzänderung. Die Spontanfrequenz (3,24 Hz, Standardabweichung 3,57 Hz) wird während einer Kippung nach links und kurz danach auf durchschnittlich 0,29 Hz (Standardabweichung 1,07 Hz) gesenkt und bei Rückführung in die Normalposition im Mittel auf 5,14 Hz bei einer Standardabweichung von 3,3 Hz gehoben. Eine Rechtsneigung wird von diesem Interneuron rein tonisch beantwortet: Die Spikefrequenz steigt bei beibehaltener Neigung auf durchschnittlich 12,35 Hz bei einer Standardabweichung von 4,16 Hz. Der Unterschied zur Spontanfrequenz ist hochsignifikant (Abb. 42 und Tabelle 2).

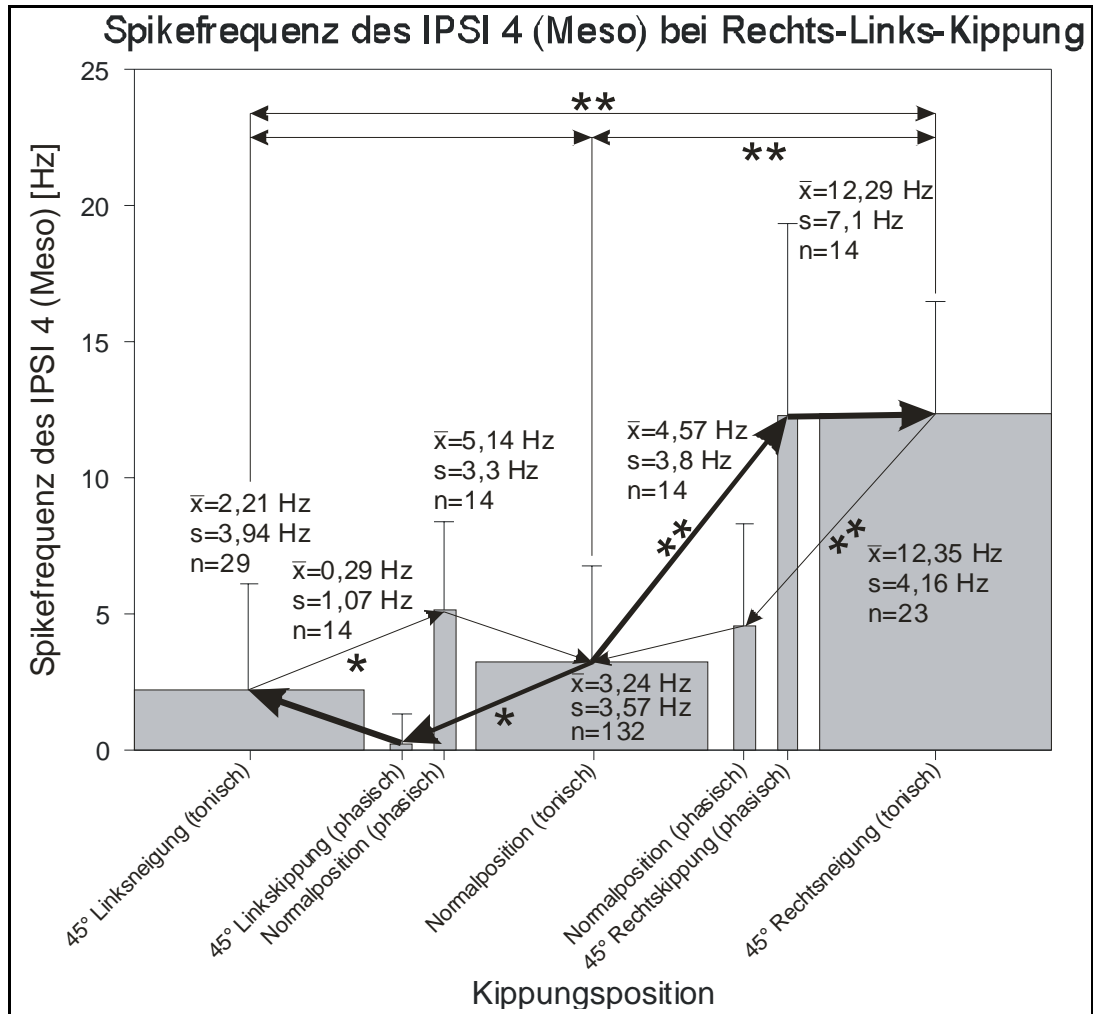


Abb. 42: Kippungsdiagramm der Spikefrequenz des intersegmentalen positionssensitiven Interneurons IPSI 4 (Meso) bei Rechts-Links-Kippung. Die breiten Balken stehen für den tonischen, die schmalen für den phasischen Anteil der jeweiligen Reaktion. Die Pfeile verdeutlichen die Zugehörigkeit der phasischen Anteile zur jeweiligen Kipprichtung. Die Sterne zeigen signifikante Unterschiede an. \bar{x} : Mittelwert; s: Standardabweichung; n: Anzahl der Meßwerte

	Phasischer Anteil	Tonischer Anteil
LPSI 1 (Meso)		
LPSI 2 (Meso)		
IPSI 1 (Meta)		
IPSI 2		
IPSI 3 (Meta)		
IPSI 4 (Meso)		

Tabelle 2: Zusammenfassung der Reaktionscharakteristika der lokalen Interneurone LPSI 1 und 2 und der intersegmentalen Interneurone IPSI 1 bis IPSI 4 bei Rechts-Links-Kippung. Die linke Seite der Tabelle stellt die phasische Reaktion bei einer Kippung nach (obere Pfeile) bzw. bei einer Rückführung aus der entsprechenden Neigung (untere Pfeile) dar. Die rechte Seite zeigt den tonischen Anteil der Interneuronreaktion. Die schematische Darstellung des Grillenabdomens samt Cerci von caudal gibt die jeweilige Neigungsrichtung an. Sich verdickende Balken repräsentieren eine Spikefrequenzzunahme, sich verjüngende eine Abnahme. Die Frequenzangaben sind jeweils Mittelwerte. Die Sterne zeigen signifikante Unterschiede an. Zur besseren Lesbarkeit wurden nur stark signifikante Reaktionen aufgeführt.

3.3.3 Weitere positionssensitive Neurone im Mesothorakal- und im ersten freien Abdominalganglion (AG 3)

Fünf weitere positionssensitive Neurone (PSN) konnten im mesothorakalen Ganglion, eines im ersten freien Abdominalganglion (AG 3) elektrophysiologisch erfaßt werden. Da bei diesen Neuronen eine Färbung mißlang, können sie nicht morphologisch

identifiziert werden und sollen hier der Vollständigkeit halber mit ihren Reaktionscharakteristika auf seitliche Kippung aufgeführt werden (Tabelle 3). Die Einstichstellen lagen alle dorsal auf der rechten Seite des Ganglions: Bei PSN 1 und 5 im Mesothorakalganglion, zwischen Nervenwurzel 3 und rechtem Konnektiv, bei PSN 2, 3 und 4 im Mesothorakalganglion, lateral der posterioren Eintrittsstelle des rechten Konnektives und bei PSN 6 im ersten freien Abdominalganglion, lateral der anterioren Austrittsstelle des rechten Konnektives.

	Phasischer Anteil	Tonischer Anteil
PSN 1 (Meso)		
PSN 2 (Meso)		
PSN 3 (Meso)		
PSN 4 (Meso)		
PSN 5 (Meso)		
PSN 6 (1. freies Abd.)		

Tabelle 3: Zusammenfassung der Reaktionscharakteristika der positionssensitiven Neurone PSN 1 bis 6 bei Rechts-Links-Kippung. Die linke Seite der Tabelle stellt die phasische Reaktion bei einer Kippung nach (obere Pfeile) bzw. bei einer Rückführung aus der entsprechenden Neigung (untere Pfeile) dar. Die rechte Seite zeigt den tonischen Anteil der Neuronreaktion. Die schematische Darstellung des Grillenabdomens samt Cerci von caudal gibt die jeweilige Neigungsrichtung an. Sich verdickende Balken repräsentieren eine Spikefrequenzzunahme, sich verjüngende eine Abnahme. Die Frequenzangaben sind jeweils Mittelwerte. Die Sterne zeigen signifikante Unterschiede an. Zur besseren Lesbarkeit wurden nur stark signifikante Reaktionen aufgeführt.

4. Diskussion

4.1 Das paarige PSI

4.1.1 Morphologie

Es erwies sich als außerordentlich schwierig, eines der PSI intrazellulär komplett zu färben. Vom Terminalganglion aus erreichten die Färbungen in auswertbarer Intensität oft nur das erste freie Abdominalganglion (AG 3). Färbungen, die meso- und metathorakale Arborisationen zeigten, gelangen erst, als vom AG 3 aus abgeleitet und gefärbt wurde und so der Farbstoff vom Einstichort aus in beide Richtungen diffundieren konnte. Obwohl das Axon des PSI weiter ascendiert, glückten keine Färbungen cranial vom Mesothorakalganglion.

Die Mittelmeerfeldgrille *Gryllus bimaculatus* und das Heimchen *Acheta domestica* unterscheiden sich hinsichtlich ihrer PSI-Morphologie nur wenig (siehe Sakaguchi & Murphey 1983). Einzig in den Abdominalganglien ziehen die Arborisationen bei *Acheta* nach caudal in die posteriore Ganglionhälfte, während sie bei *Gryllus* nach cranial in die anteriore Hälfte ziehen.

Die Projektionen der PSI liegen im meso- und metathorakalen Ganglion zwischen dem dorsalen intermediären Trakt (DIT), dem ventralen intermediären Trakt (VIT) und dem dorsalen medialen Trakt (DMT). Arborisationen, die in das ventral association center (VAC) oder in das lateral association center (LAC) ziehen, konnten nicht gefunden werden. Daß es zwischen den PSI und den Motoneuronen des mesothorakalen Nervs 3D kaum Überlappungspunkte gibt, (Abb. 43) macht eine monosynaptische Verschaltung, zumindest auf diese Efferenzen, sehr unwahrscheinlich. Die elektrophysiologischen Versuche unterstützen diese These, da in den Motoneuronen nie mit der PSI-Aktivität direkt korrelierte exzitatorische postsynaptische Potentiale (EPSP) oder inhibitorische postsynaptische Potentiale (IPSP) gefunden wurden. Da aber zweifelsohne eine Reaktion der motorischen Efferenzen der mesothorakalen Nerven 3D1 und 3D3 auf die von den PSI übermittelten Raumlagen auftritt, muß es vermittelnde Interneurone geben.

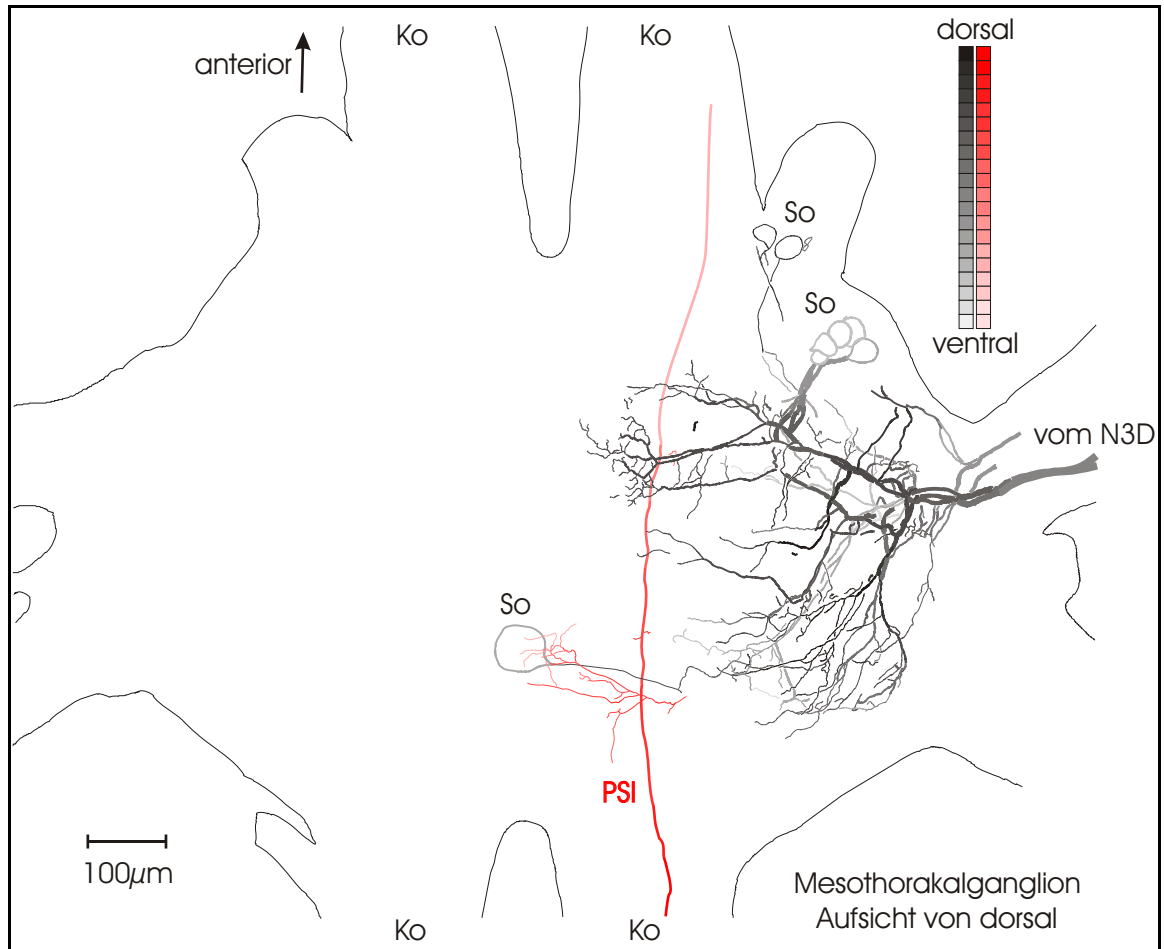


Abb. 43: Überlagerung der Lucifer Yellow-Färbung des durch das rechte Konnektiv ascendierenden PSI (in Rottönen, siehe auch Abb. 8) mit der Dextran-Färbung des rechten mesothorakalen Nervs 3D (in Grautönen, siehe auch Abb. 24), Mesothorakalganglion in Aufsicht von dorsal. Dorsal gelegene Strukturen sind dunkel, ventral gelegene hell dargestellt; **Ko**: Konnektiv; **So**: Soma

4.1.2 Elektrophysiologie

Die hier vorgestellten Codierungseigenschaften des paarigen PSI von *Gryllus bimaculatus* entsprechen in großen Teilen den von Sakaguchi und Murphey (1983) für das Heimchen *Acheta domestica* veröffentlichten. Auch wenn diese Riesenneurone ähnlich auf den von den Keulenhaaren rezipierten Gravitationsvektor reagieren, so gibt es doch Unterschiede im Detail. Die bei *Acheta* bei seitlicher Kippung beobachtete Abnahme der Spikefrequenz im Axon des auf der kippungsabgewandten Seite ascendierenden PSI, konnte bei *Gryllus* nur selten und wenn, dann nur sehr schwach ausgeprägt beobachtet werden (siehe Abb. 17, Abb. 19). Dieses beruht entweder auf geringerer Richtungsselektivität der Keulenhaare auf diesen Reiz oder auf schwächerer

Verschaltung auf das PSI. Im Regelfall blieb die Spikefrequenz in diesem PSI konstant, während sie im anderen PSI in Übereinstimmung mit den Beobachtungen beim Heimchen (kein signifikanter Unterschied) stark zunahm. Die rezeptiven Felder der PSI scheinen bei *Gryllus bimaculatus* auf einen möglichst geringen Überlappungsbereich hin optimiert zu sein, so daß die Lageinformation bei einem Auslenken nach rechts fast ausschließlich vom rechten, bei einer Auslenkung nach links fast exklusiv vom linken PSI transportiert wird.

Die grabende Schabe *Arenivaga sp.* verfügt ebenfalls über gravitationssensitive Interneurone (Walthall & Hartman 1981), die ihren Eingang von den Afferenzen zweier Keulenhaarreihen auf jedem Cercus erhalten (Hartman 1979). In jedem Konnektiv verlaufen bei ihr zwei PSI: Eine kleine Einheit, die vom kontralateral zum Konnektiv gelegenen Cercus Afferenzen integriert (PIC) und eine große Einheit mit ipsilateralem Input (PII). Wie bei *Gryllus* werden auch hier Vorwärts-Rückwärts-Neigungen symmetrisch in beiden Konnektiven abgebildet. Seitliche Auslenkungen führen zu asymmetrischen Antworten. Es handelt sich hierbei jedoch nicht um ein durch ein weiteres PSI-Paar ergänztes Grillensystem (oder bei der Grille um ein reduziertes Schabensystem), da die bei Vorwärts-Rückwärts-Kippung grillenartig reagierende Einheit (PII) bei seitlicher Auslenkung genau entgegengesetzt reagiert. Zusätzlich wird die Vorwärts-Rückwärts-Lage nicht mehr allein durch ein Interneuron transportiert, so daß von einer stark unterschiedlichen neuronalen Verarbeitung der Lageinformation in den thorakalen Ganglien ausgegangen werden muß.

Während der Versuche wurden Windreize durch das Überstülpen von kleinen Plastikröhrchen über die Cerci weitgehend eliminiert. Aussagen über eine mögliche Verschaltung von filiformen Haaren auf die PSI, entweder direkt oder über Interneurone, können somit nicht getroffen werden. Eine solche Verschaltung wäre sinnvoll, um die auch an den Keulenhaaren angreifenden (stärkeren) Windreize herauszurechnen und so den registrierten Gravitationsvektor um diesen Fehlreiz zu korrigieren.

Die hohen Standardabweichungen, insbesondere bei den phasischen Reaktionen auf eine Kippung, erklären sich dadurch, daß hier ein exponentieller Frequenzverlauf mit linearen Parametern beschrieben wird. Das Anliegen des Autors war es jedoch nicht, eine mathematisch genaue Charakterisierung des asymptotischen Frequenzverlaufs zu präsentieren, sondern vielmehr Werte anzugeben, mit denen auch der phasische Anteil der PSI-Reaktion beschrieben und verglichen werden kann. Folglich steht hier die

Standardabweichung eher für die Intensität der phasischen Reaktion, als für die Genauigkeit des Mittelwertes.

Die Läsionsexperimente belegen in Übereinstimmung mit den Befunden von Murphey (1981), daß es keine Verschaltungen von kontralateralen Keulenhaarafferenzen auf die PSI gibt. Des weiteren können Kontakte der PSI untereinander ausgeschlossen werden, da ansonsten nach Durchtrennung eines Cercalnervs im hierzu ipsilateral ascendierenden PSI eine kippungskorrelierte Aktivität, induziert durch das andere PSI nachweisbar sein müßte. Auch sollte es im Falle einer solchen bilateralen Verschaltung zu Veränderungen in der Antwortcharakteristika des kontralateral ascendierenden PSI kommen. Beides konnte nicht beobachtet werden (Abb. 20 bis Abb. 23).

Gryllus bimaculatus reagiert definiert auf laterale Kippungen. Um das jedoch leisten zu können, ist es notwendig, die Spikefrequenz der beiden PSI miteinander zu vergleichen, da durch ihre Differenz die seitliche Neigung codiert ist. Abbildung 44 zeigt ein hypothetisches Minimalnetzwerk, das hierzu imstande ist. Dieses Netzwerk basiert auf dem konzeptuellen Modell des „Roll control system“, wie es für das Neunauge *Lampetra fluviatilis* postuliert wurde (Deliagina et al. 1993; Deliagina 1997).

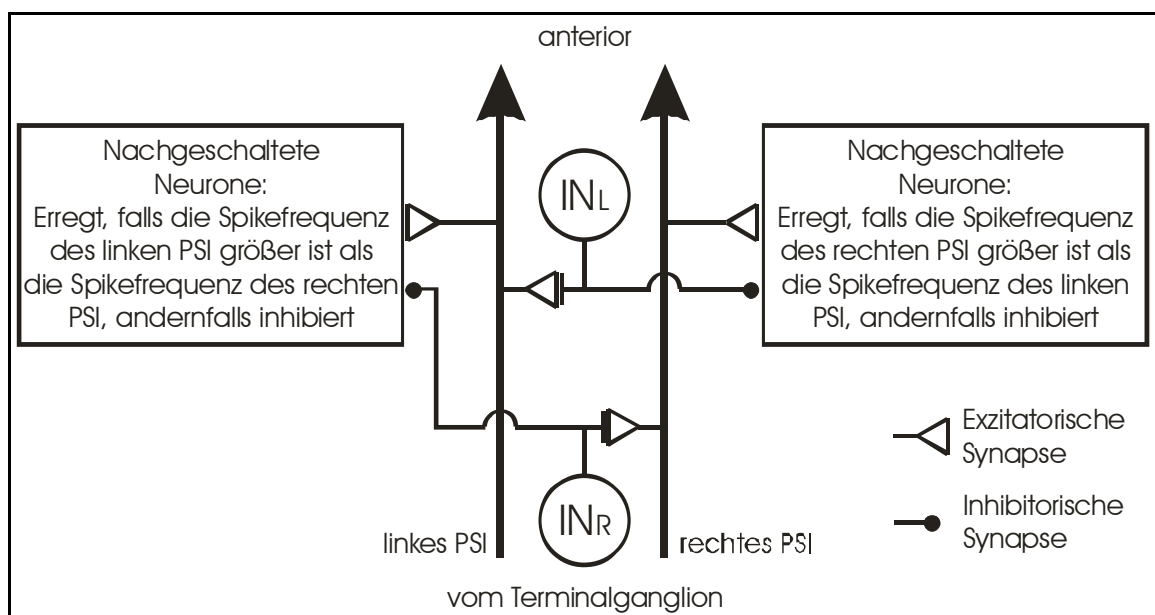


Abb. 44: Hypothetisches Minimalnetzwerk zum Vergleich von linker und rechter PSI-Spikefrequenz. IN_L : Inhibitorisches Interneuron, das vom linken PSI erregt wird; IN_R : Inhibitorisches Interneuron, das vom rechten PSI erregt wird

„Feuern“ beide PSI mit der gleichen Spikefrequenz so werden die nachgeschalteten Neurone bei diesen stark vereinfachten Modellbedingungen gleichermaßen erregt wie durch das zwischengeschaltete inhibitorische Interneuron IN_L bzw. IN_R gehemmt. Im

Endergebnis werden die so angesteuerten Neurone genau wie die mesothorakalen Motoneurone der Nerven 3D1 und 3D3 bei Vorwärts-Rückwärts-Kippung nicht beeinflusst.

Im Falle einer seitlichen Neigung besteht eine Differenz zwischen den beiden PSI-Spikefrequenzen, aus der sich Unterschiede in den exzitatorischen und inhibitorischen Einflüssen auf nachgeschaltete Neurone ergeben. Diese Unterschiede werden genutzt, um diese Neurone je nach Grad der seitlichen Kippung anzusteuern. So werden die nachgeschalteten Nervenzellen, die exzitatorischen Input vom rechten PSI und inhibitorischen Input vom Interneuron IN_L erhalten bei wachsender Rechtsneigung zunehmend erregt. Eine Linksneigung führt zu vollständiger Inhibition. Neurone, die exzitatorischen Input vom linken PSI und inhibitorischen Input vom Interneuron IN_R bekommen sind bei einer Linkskippung zunehmend erregt und bei einer Rechtskippung gehemmt. Verschaltungszeiten an Synapsen wurden bei diesem Modell nicht berücksichtigt.

4.2 Gravitationskompensatorische Motoneuronenaktivität

Insekten sind in der Lage ihre Beinmotorik hoch flexibel an ein breites Spektrum von Situationen anzupassen. Ein einzelnes Motoneuron wird folglich eine verhaltenskontextabhängige, von Situation zu Situation stark unterschiedliche Ansteuerung erfahren. Im intakten, agierenden Tier kann man das Verhalten beobachten. Im stark reduzierten Präparat hat man diese Möglichkeit nicht. Leider waren die im Rahmen dieser Arbeit vorgenommenen Versuche nur am Tierpräparat durchführbar, zumal ansonsten der Einfluß von weiteren vermuteten gravitationssensitiven Sinnessystemen, wie Propriozeptoren in den Beinen und Antennen (Horn & Föller 1985) nicht ausgeschlossen werden könnte. Ein notwendiger Verhaltenskontext, in diesem Fall das Gehen, wie von Horn und Bischof (1983) für die gravitationskompensatorische Kopfbewegung beschrieben, konnte für die schwerkraftinduzierte Beinmotorik nicht gefunden werden.

Während laterale Kippung im Mesothorax zu gravitationskompensatorischer Aktivität führt, erfolgt auf Vorwärts-Rückwärts-Kippung in diesem Bereich keine Reaktion. Das mesothorakale Beinpaar übernimmt hier nur die Rolle des Wippenmittelpunktes. Mögliche Zentren für motorische Reaktionen auf die Vorwärts-Rückwärts-Kippung sind aufgrund von Beinstellung und Schwerpunkt, sowohl im Meta-, als auch im Prothorax wahrscheinlich.

4.2.1 Der mesothorakale Nerv 3D1

Bei allen, im Rahmen dieser Arbeit durchgeführten Versuchen zeigten die Efferenzen des mesothorakalen Nervs 3D1 (vorderer Rotator der Coxa (M92)) korrelierte Aktivität auf seitliche Kippung. Die im Mittel beobachtete Aktivität der drei abgeleiteten motorischen Einheiten ist in den Abbildungen 25-27 dargestellt. Das rein phasische Verhalten der großen Einheit spricht dabei für ein FAST-Motoneuron, der ausgeprägt tonische Anteil der mittelgroßen Einheit für ein SLOW-Motoneuron. Die Einheit mit der kleinsten Spikeamplitude reagiert phasisch-tonisch und kann, da der vordere Rotator von drei Motoneuronen innerviert wird, ein weiteres Motoneuron oder der Common Inhibitor (CI) sein.

Handelt es sich hierbei um den Common Inhibitor, so muß seine gegenläufige Reaktion zur Efferenz mit der mittelgroßen Amplitude zu einer Erhöhung des Verlustes an Muskelspannung führen, die durch die Abnahme der Spikefrequenz des SLOW-Motoneurons hervorgerufen wird. Beide Einheiten unterstützen sich daher in ihrer Wirkung. Die Folge ist eine Retraktion und Adduktion des Mittelbeines, wobei insbesondere die Retraktion im intakten stehenden Tier keine Entsprechung findet. Ob diese Motorik in anderen Verhaltenskontexten auftritt konnte nicht geklärt werden.

Wenn es sich bei der Einheit mit der kleinsten Spikeamplitude jedoch um ein weiteres Motoneuron handelt, so hätten wir es hier mit einem Umschalten von zwei motorischen Systemen zu tun. Die größere SLOW-Einheit sorgt in diesem Fall für eine Aufrechterhaltung der Muskelspannung und für ein Gegenhalten auf der kippungsabgewandten Seite, während die kleine Einheit die Mehrbelastung durch die Schwerkraft kompensiert. Aufgrund der relativ geringen Spikefrequenz der kleinen Einheit muß diese dann sehr effektiv auf den Muskel verschalten, um die gravitationskompensatorische Arbeit zu verrichten.

4.2.2 Der mesothorakale Nerv 3D3

Die im Versuch als kippungskorreliert reagierend klassifizierte motorische Einheit des mesothorakalen Nervs 3D3 (kurzer thorakaler Anteil des Depressor trochanteris (M103c)) ist in ihrer Antwort auf eine seitliche Auslenkungen des Tieres wesentlich konstanter als die Motoneurone des Nervs 3D1 (vorderer Rotator der Coxa). Die rein tonische Antwortcharakteristik spricht für eine SLOW-Einheit (siehe auch Abbildung 29).

Da bei einer seitlichen Auslenkung die Depressormuskeln auf beiden Seiten verstärkt aktiviert werden, scheint es sich eher um ein Versteifen des Bein-Thorax-Komplexes zu handeln, als um ein graduiertes Dagegenhalten.

Im intakten stehenden Tier findet sich eine andere Antwortcharakteristik auf diesen Reiz. Vorversuche mit Myogramableitungen des rechten und linken Depressor trochanteris ergaben, daß bei einer Rechtsneigung der rechte, bei einer Linksneigung der linke M103c verstärkt aktiviert wird. Der jeweils kontralaterale Muskel ist dementsprechend weniger aktiv (Abb. 45, Baldus 2002, unveröffentlicht). Es liegt nahe, daß ein weiteres (Schwere-) Sinnessystem existiert, um diese gravitationskompensatorische Motorik zu erzeugen, welches aber durch die hier notwendige Präparation ausgeschaltet wurde. Es ist denkbar, daß hierfür Tarsalkontakt oder rezipierte Beinbelastung über Propriozeptoren nötig ist. Weiterhin können auch entfernt liegende Sinnessysteme, wie zum Beispiel optische Wahrnehmung oder das antennale Schweresystem, Einfluß nehmen. Möglicherweise gehört auch die im Versuch gemessene gravitationskompensatorische Motorik zu einem anderen Verhaltenskontext (Fliegen, Springen). Zudem kann es sein, daß die beobachtete Motorik nur dazu dient, das Mittelbein mit dem Substrat in Kontakt zu bringen, um dann der Gravitation entgegenwirken zu können.

4.3 Die nachgeschalteten gravitationssensitiven Interneurone

Die Suche nach einem neuronalen Netzwerk, das aus einem definierten Input (hier den Spikefrequenzen der beiden PSI, die die Raumlage übermitteln) einen definierten Output (die gravitationskompensatorische Motorik) erzeugt, ist außerordentlich schwer. Zum einen wurde im Dienste der Übersichtlichkeit der Input auf das Keulenhaar-PSI-System beschränkt, obwohl bekannt ist, daß weitere Systeme (das antennale und das propriozeptive in den Laufbeinen) existieren und Einfluß nehmen könnten. Zum anderen kann man sich auch nach noch so sorgfältiger Suche nie sicher sein, alle oder auch nur einen Großteil der involvierten Interneurone gefunden zu haben. Non-Spiker und Neuromodulatoren erhöhen die Komplexität zusätzlich. Letztendlich muß man bei dem Versuch, ein sinnvolles, nach den gegebenen (wahrscheinlich unvollständigen) Parametern funktionierendes neuronales Netzwerk aus den gefundenen Neuronen zu rekonstruieren, davon ausgehen, daß es eine (fast) unendliche Anzahl von Realisierungsmöglichkeiten gibt und daß ein Minimalnetzwerk, eines, das mit möglichst wenig „Bausteinen“ zum geforderten Ergebnis kommt, nicht unbedingt den realen

Gegebenheiten entspricht. Allerdings kann der Versuch einer solchen Netzwerkmodellierung die (mögliche) Funktionsweise eines Systems verdeutlichen.

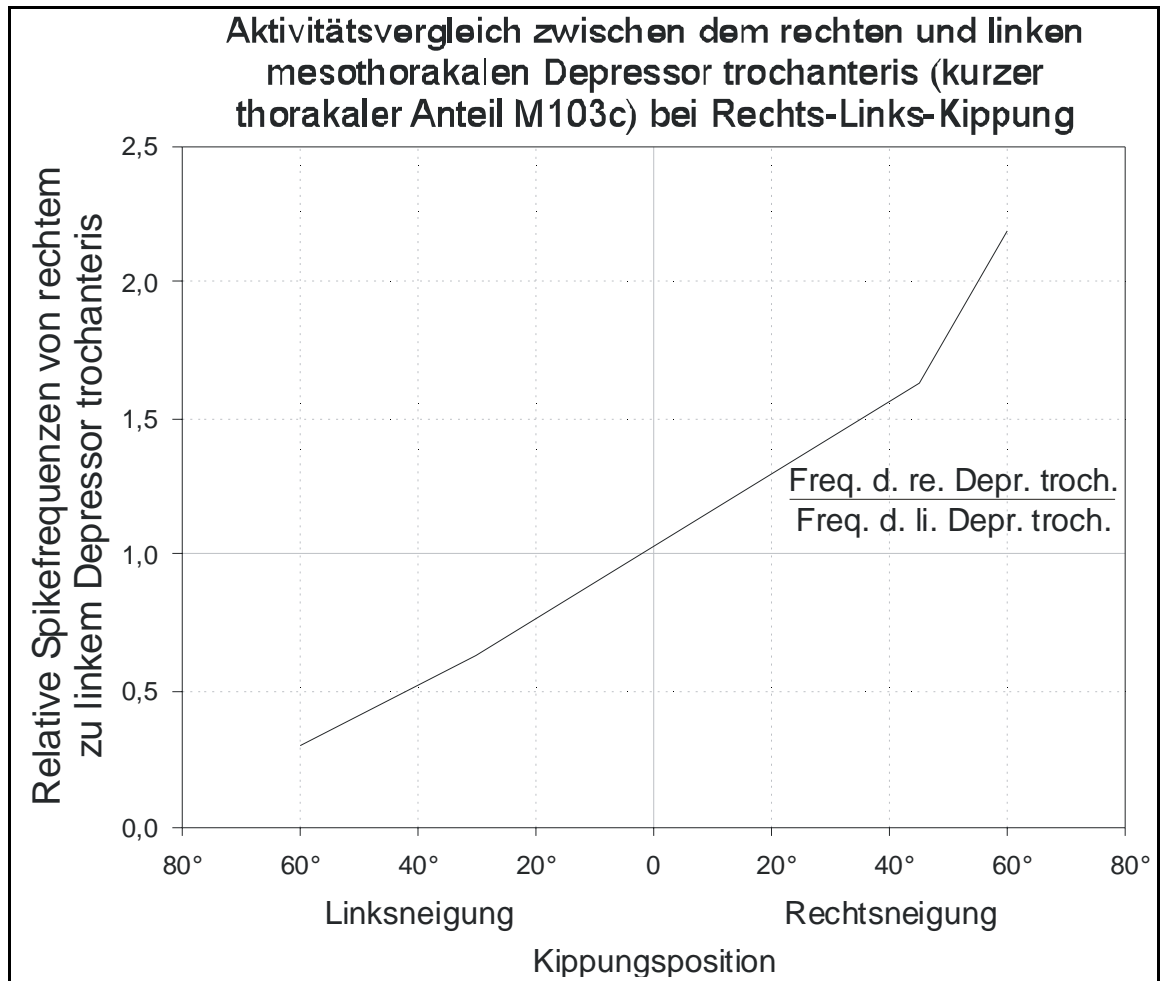


Abb. 45: Relative Spikefrequenzen von rechtem zu linkem mesothorakalen Depressor trochanteris (M103c) bei Rechts-Links-Kippung im intakten stehenden Tier.

Das in Abb. 44 (Seite 70) dargestellte Minimalnetzwerk zum Vergleich der Spikefrequenzen der beiden PSI untereinander ist sicher, wenn auch eventuell in anderer Form, ein elementarer Bestandteil des der gravitationskompensatorischen Motorik zugrundeliegenden neuronalen Netzwerks. Es reicht jedoch nicht aus den Output zu erzeugen, wie er im mesothorakalen Nerv 3D3 abgeleitet wurde. Die hier gefundene erhöhte Aktivität des kurzen thorakalen Anteils des Depressor trochanteris (M103c) trat sowohl bei Rechts- als auch bei Linkskippung auf. Um das zu bewerkstelligen muß das Minimalnetzwerk um zwei Neurone ergänzt werden (Abb. 46). Hierbei wurde schon berücksichtigt, daß es keine kontralateralen Verzweigungen der PSI gibt. Der Kontakt zur kontralateralen Seite wird mit den exzitatorischen Interneuronen EN_L und EN_R indirekt geschaffen.

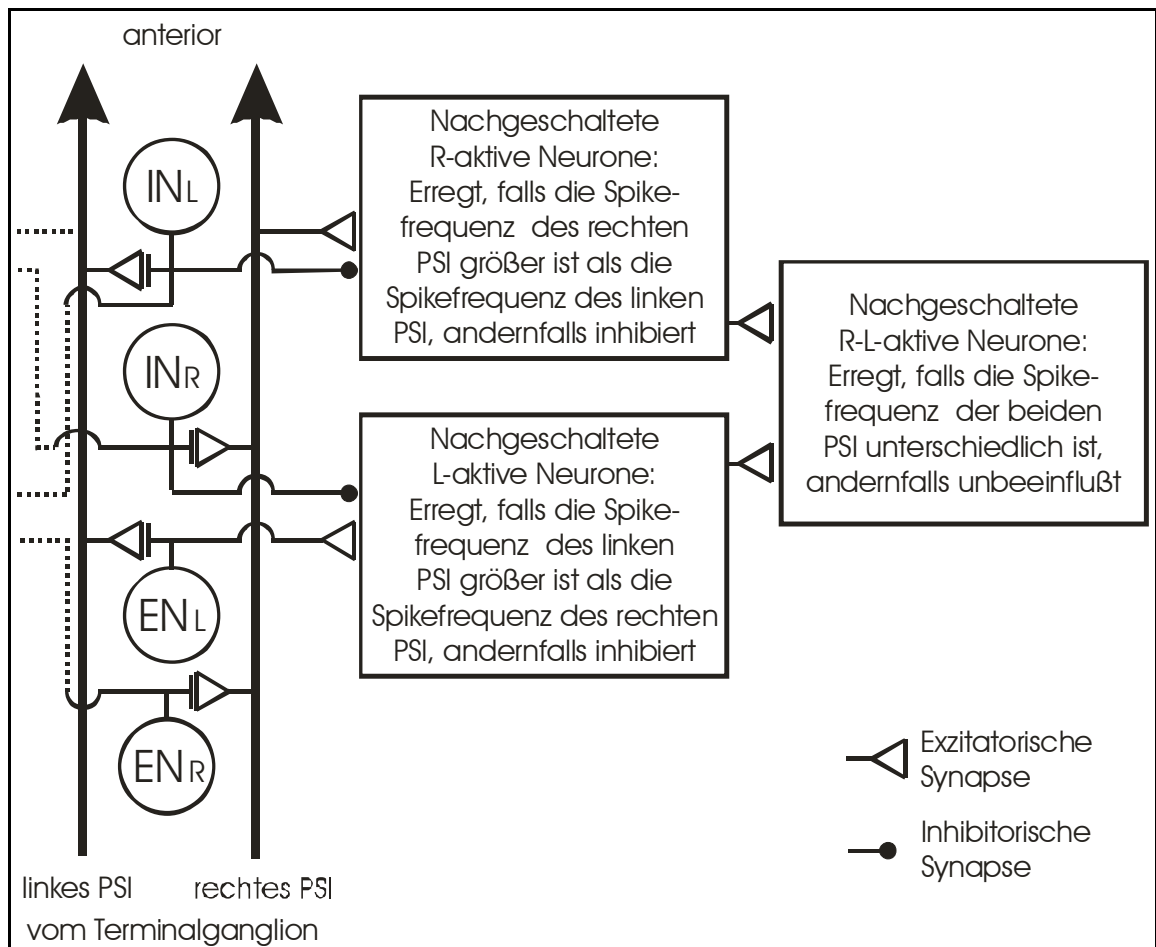


Abb. 46: Ergänztes Minimalnetzwerk zum Vergleich von linker und rechter PSI-Spikefrequenz und zur Erzeugung von kipprichtungsunabhängigem Output. IN_L, IN_R : Inhibitorisches Interneuron, das vom linken (rechten) PSI erregt wird; EN_L, EN_R : Exzitatorisches Interneuron, das vom linken (rechten) PSI erregt wird

Befindet sich eine Grille in Normalposition, so sind die Spikefrequenzen der PSI nahezu identisch. In diesem Fall erhalten die R-aktiven Neurone genauso viel exzitatorischen Input (direkt bzw. indirekt über das exzitatorisch Interneurone EN_R) wie sie über das inhibitorische Interneuron IN_L gehemmt werden. Für die L-aktiven Neurone gilt das gleiche, nur wird hier die indirekte Erregung über EN_L und die Hemmung über IN_R transferiert. Da weder L- noch R-aktive Neurone erregt werden, bleiben auch die nachgeschalteten R-L-aktiven Neurone unbeeinflusst. Das ändert sich, wenn die Grille lateral gekippt wird. Eine Kippung nach rechts führt zu einer Erhöhung der Spikefrequenz in den R-aktiven Neuronen, da sie jetzt mehr erregt als gehemmt werden. Die L-aktiven Neurone werden inhibiert. Eine Linkskippung wirkt exzitatorisch auf die L-aktiven Neurone und hemmend auf die R-aktiven. Da sowohl R- als auch L-aktive

Neurone exzitatorische Synapsen mit den nachgeschalteten R-L-Neuronen besitzen, werden diese bei jeder seitlichen Kipprichtung erregt und nur in Normalposition (oder bei einer beliebigen Vorwärts-Rückwärts-Kippung) nicht beeinflusst, eine Reaktionscharakteristik wie sie bei der SLOW-Einheit des mesothorakalen Nervs 3D3 zu beobachten ist.

Wie passen die gefundenen positionssensitiven Interneurone in dieses Netzwerkmodell? Die Morphologie der beteiligten Neurone bietet eine gute Möglichkeit, potentielle Kontaktstellen zu ermitteln. Sicherer und somit wichtiger ist es allerdings, direkten Kontakt zwischen einzelnen Neuronen ausschließen zu können. Tabelle 4 zeigt eine solche Konnektivitätstabelle für die beiden PSI und die gefundenen gravitationssensitiven Interneurone LPSI 1, LPSI 2 und IPSI 1-4.

	PSI links	PSI rechts	LPSI 1	LPSI 2	IPSI 1*	IPSI 2**	IPSI 3***	IPSI 4
LPSI 1	X	X		Meso	X	X	X	X
LPSI 2	X	X	Meso		Meso	Meso	Meso	Meso
IPSI 1*	X	(Meso) Meta	X	Meso		(Meso)	Meso	Meso
IPSI 2**	X	X	X	Meso	(Meso)		Meso	(Meso)
IPSI 3***	Meta	Meso Meta	X	Meso	Meso	Meso		Meso
IPSI 4	(Meso)	Meso Meta	X	Meso	Meso	(Meso)	Meso	

* ascendiert bis mindestens ins prothorakale Ganglion - mögliche Kontakte dort sind nicht berücksichtigt
 ** descendiert bis mindestens ins metathorakale Ganglion - mögliche Kontakte dort sind nicht berücksichtigt
 *** ascendiert bis mindestens ins prothorakale Ganglion - mögliche Kontakte dort sind nicht berücksichtigt, Verschaltungen auf den Partner dieses bilateralen Neuronenpaares sind möglich

Tabelle 4: Konnektivitätstabelle der beiden PSI und der morphologisch erfaßten gravitationssensitiven Interneurone. **X**: kein Kontakt möglich; **Meso**: potentielle Kontaktstelle im Mesothorakalganglion; **Meta**: potentielle Kontaktstelle im Metathorakalganglion; **(Meso)**: Kontakt möglich aber unwahrscheinlich, da die mögliche Kontaktzone sehr klein ist

In der Elektrophysiologie einer Nervenzelle kann man ebenfalls Hinweise auf eine mögliche Verschaltung mit anderen Neuronen finden. Bei intrazellulären Ableitungen in der Nähe der Input- oder Spikegenerierungszone einer Nervenzelle kann man die Eingänge der Zelle direkt an den EPSP und/oder IPSP sehen. In der Praxis gelingt das jedoch nicht immer, da entweder der Einstichbereich zu weit von den oben genannten

Zonen entfernt ist, so daß diese graduierten Signale nicht mehr registriert werden können oder diese gehen im unvermeidlichen Grundrauschen der Ableitung unter. So ist man auf indirekte und daher weit unzuverlässigere Methoden angewiesen. Im Falle exzitatorischer Synapsen sollte die Antwortcharakteristik eines Neurons auch in den direkt nachgeschalteten Zellen zumindest rudimentär zu beobachten sein. Anders verhält es sich bei inhibitorischen Kontakten. Hier muß eine permanente Erregung der Zielzelle vorhanden sein, um die inverse Antwortcharakteristik der Vorgängierzelle wiederzufinden.

Die Antwortcharakteristik von IPSI 3 (Meta) gleicht der des durch das linke Konnektiv aufsteigenden PSI, wenn auch mit verminderter Spikefrequenz. Zudem existiert zwischen diesen eine mögliche Kontaktzone im Metathorakalganglion, so daß eine exzitatorische Verschaltung dieses PSI auf das IPSI 3 (Meta) denkbar ist. Es entspricht somit dem hypothetischen exzitatorischen Interneuron EN_L aus der Modellvorstellung (Abb. 46).

IPSI 4 (Meso) reagiert ähnlich, wie das durch das rechte Konnektiv aufsteigende PSI, auch hier mit reduzierter Spikefrequenz. Laut der Konnektivitätstabelle (Tabelle 4) sind Kontakte sowohl im Meso- als auch im Metathorakalganglion möglich. Da die Antwortcharakteristik des rechts aufsteigenden PSI noch zu erkennen ist, können exzitatorische Synapsen angenommen werden. IPSI 4 (Meso) entspricht also dem hypothetischen inhibitorischen Neuron IN_R aus dem Modellnetzwerk (Abb. 46).

Entsprechungen für die R- bzw. L-aktiven Neurone konnten bei den morphologisch erfaßten positionssensitiven Interneuronen nicht gefunden werden. Bei den rein elektrophysiologisch charakterisierten gibt es jedoch Nervenzellen, die diese Kriterien erfüllen. PSN 1 und PSN 2 entsprechen in ihrem Antwortverhalten den hypothetischen R-aktiven Neuronen, PSN 4 und PSN 5 den L-aktiven. Auch Vertreter der R-L-aktiven Neurone konnten gefunden werden: LPSI 2 (Meso) und PSN 3 reagieren sowohl auf Rechts- als auch auf Linkskippung mit einer Spikefrequenzerhöhung, wie sie durch exzitatorischen Input von R- und L-aktiven Neuronen zu erreichen wäre.

Am Ende dieser Verschaltungskette findet man auch einige Antwortcharakteristika, wie sie bei der Erfassung der gravitationskompensatorischen Motorik ermittelt wurden. Die SLOW-Einheit des vorderen Rotators der Mittelbeincoxa (M92, innerviert über den Nerv 3D1) scheint in Kontakt mit den L-aktiven Neuronen (PSN 4 und PSN 5) zu stehen. Sollte es sich bei der kleinen Einheit des abgeleiteten Nervs 3D1 um ein weiteres Motoneuron handeln, so ist ein Kontakt mit den R-aktiven Neuronen (PSN 1

und PSN 2) denkbar. Die L-R-aktiven Neurone (IPSI 2 (Meso) und PSN 3) könnten mehr oder weniger direkt an der Ansteuerung der SLOW-Einheit des kurzen thorakalen Anteils des Depressor trochanteris (M103c, innerviert über den Nerv 3D3) beteiligt sein. Das im Versuch beobachtete gravitationskompensatorische Verhalten dieses Muskels entspricht nicht dem im intakten Tier mittels Myogrammen gemessenen (siehe auch Diskussion 4.2.2). Es muß daher ein anderes Schweresinnessystem (zum Beispiel die Propriozeptoren im Mittelbein) in die Verschaltung so eingreifen können, daß die korrekte Muskelansteuerung erzeugt wird. Im Modellnetzwerk läßt sich das durch eine Inhibition der exzitatorischen Verbindung zwischen L-aktiven und R-L-aktiven Neuronen auf der rechten Seite und zwischen R-aktiven und R-L-aktiven Neuronen auf der linken Seite bewerkstelligen. Die Inhibition kann zum Beispiel von den Belastungsrezeptoren des kontralateralen Mittelbeines kommen oder auch von einem anderen Sinnessystem, das eine Auslenkung auf die kontralaterale Seite signalisiert (Abb. 47).

Die rein, oder zumindest größtenteils, phasisch reagierenden Interneurone LPSI 1 (Meso), IPSI 1 (Meta) und IPSI 2 wurden bisher bei der Betrachtung ausgespart. Das begründet sich durch die weit höhere Variabilität der phasischen Antworten. Sie erschwert es, Antwortcharakteristika zu vergleichen und so mögliche Kontaktpartner zu ermitteln. Im Falle des LPSI 1 (Meso) kann man eine Verbindung zur Ansteuerung der FAST-Einheit des Vorderen Rotators der Coxa (M92, innerviert über den Nerv 3D1) vermuten.

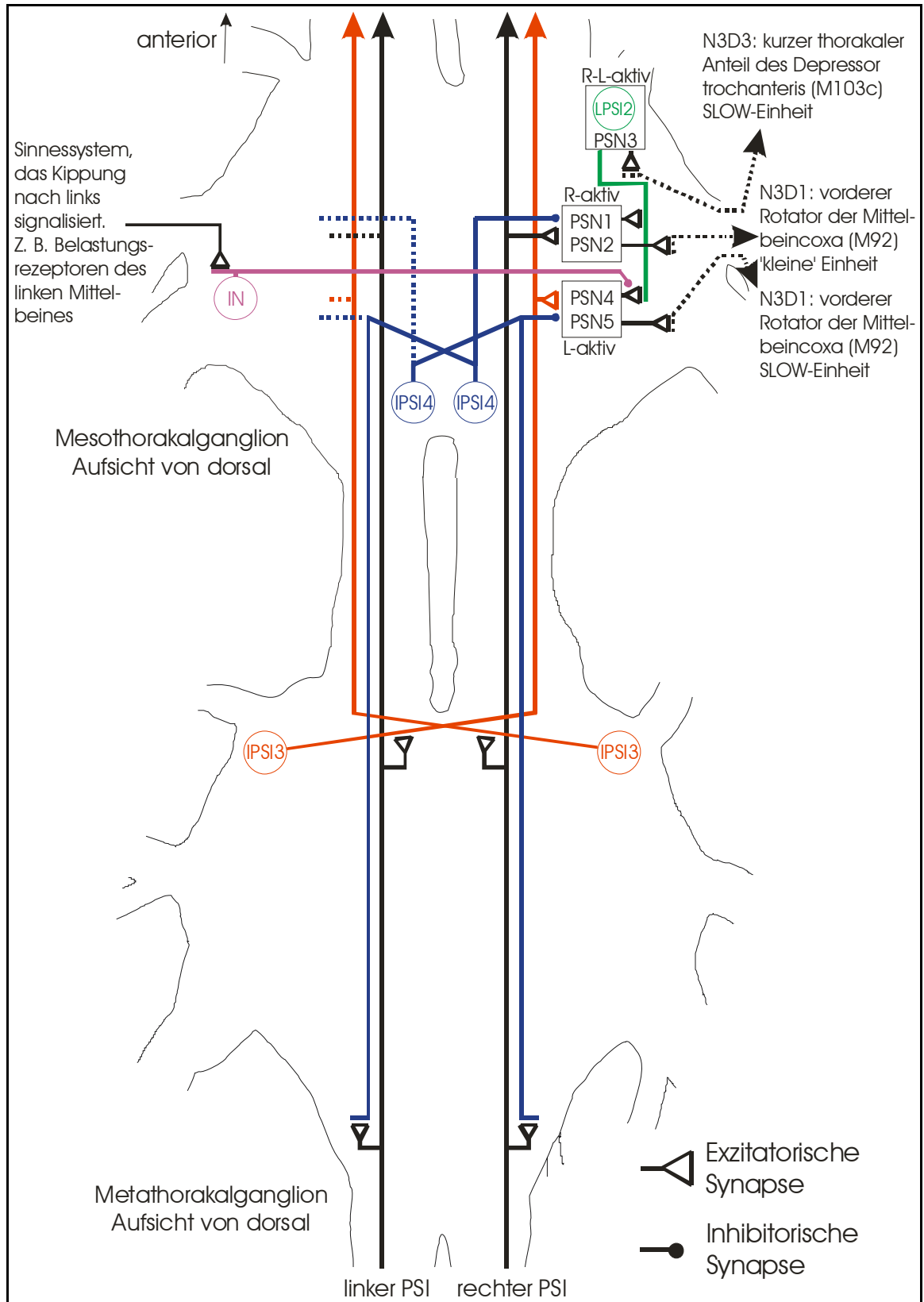


Abb. 47: Mögliches neuronales Netzwerk zur Steuerung der mesothorakalen gravitationskompensatorischen Motorik unter Verwendung der gefundenen gravitationssensitiven Interneurone LPSI 2 (Meso), IPSI 3 (Meta), IPSI 4 (Meso), PSN 1-5. IN: hypothetisches inhibitorisches Interneuron zur Miteinbeziehung anderer Sinnessysteme

4.4 Perspektiven

Nach wie vor ist man weit davon entfernt, zu verstehen, wie Verhalten ausgelöst, modifiziert und gesteuert wird. Alles, was über einen „einfachen“ monosynaptischen Reflexbogen hinausgeht, verliert sich sehr schnell in einem unüberschaubaren Nebel aus Synapsen und möglichen neuronalen Einflüssen. Trotzdem besteht die Hoffnung, Prinzipien und Regelmäßigkeiten zu entdecken, die ein tieferes Verständnis dieser Materie ermöglichen. Das gravitationskompensatorische System der Grille bietet einen guten Ansatz, diesen Nebel teilweise zu lichten.

Paradoxerweise ermöglicht gerade der Befund, daß die im Versuch beobachtete gravitationskompensatorische Aktivität des kurzen thorakalen Anteils des Depressor trochanteris nicht mit der im intakten, stehenden Tier identisch ist, einige interessante Perspektiven für Folgeversuche:

Zum einen könnte die Ursache für diese Diskrepanz im Verhaltenskontext liegen. Das Präparat könnte sich durch den fehlenden Tarsalkontakt und die nicht vorhandenen Beinbelastungsinformationen im Verhaltenskontext „Fliegen“ befinden und so völlig anders auf laterale Kippung reagieren als es ein stehendes Tier tun würde. Eine simultane Ableitung der Flugmotoneurone könnte hier Klarheit bringen. Auch im kopfüber hangelnden Tier sind andere Strategien der Gravitationskompensation zu erwarten.

Zum anderen kann man nun gezielt nach Reizen suchen, die die im Versuch gemessene Motoneuronenaktivität so beeinflusst, daß die Motorik eines intakten, stehenden Tieres resultiert. Kandidaten hierfür wären Mechanorezeptoren an den Tarsen des Mittelbeines (oder auch der anderen Beine), die Bodenkontakt signalisieren oder Propriozeptoren, die Gelenk- und Beinbelastung rezipieren. Schließlich könnten auch optische Reize und das antennale „Schweresinnesorgan“ mit einbezogen werden.

Versuche, das in dieser Arbeit entwickelte hypothetische neuronale Netzwerk zu verifizieren, modifizieren und zu ergänzen sind nötig, um weitere Einblicke in die Funktionsweise gravitationskompensatorischer Motorik zu erlangen. Anti-GABA-Färbungen, wie sie für die Heuschrecke *Schistocerca gregaria* vorliegen (Watson 1986; Watson & Burrows 1987) wären sinnvoll, um die Existenz der vermuteten inhibitorischen Interneurone IN_L bzw. IN_R (eventuell identisch mit IPSI 4) zu beweisen. Vergleiche mit solchen Färbungen (Frisch & Hustert 1993, unveröffentlicht) konnten bisher nur die Möglichkeit belegen, daß die Zelle IPSI 4 GABA-erg sein könnte, letztendlich nachgewiesen werden konnte es jedoch nicht.

Verhaltensexperimente mit oder ohne Myogramableitungen können Aufschluß über das motorische Repertoire der Grille geben und helfen, solche Fragen zu klären wie: Nutzt die Grille im Flug oder im Sprung die Mittelbeine zur Lagekontrolle? Welches (Fehl-) Verhalten tritt bei unilateral cercal/antennal/visuell deafferentierten Grillen in verschiedenen Verhaltenskontexten auf? Wie reagiert ein hangelndes Tier auf Lageänderungen in Bezug auf die Schwerkraft?

Darüber hinaus wäre es lohnend, ähnliche Experimente für das Vorder- und Hinterbein durchzuführen. Insbesondere die Reaktionen auf Vorwärts-Rückwärts-Kippungen unter dem Aspekt der neuronalen Verschaltung sind interessant, da hier im Gegensatz zur seitlichen Kippung nicht der Spikefrequenzunterschied zwischen den beiden PSI, sondern das PSI mit der niedrigsten Frequenz die Raumlage codiert.

5. Zusammenfassung

Gryllus bimaculatus verfügt über zwei positionssensitive Interneurone (PSI), die Afferenzen der kontralateralen Keulenhaare im Terminalganglion integrieren und durch das ebenfalls kontralateral gelegene Konnektiv nach anterior bis mindestens ins Suboesophagealganglion aszendieren. Es gibt weder kontralateral projizierende Keulenhaarafferenzen noch gegenseitige Beeinflussung der PSI untereinander.

Eine Rückwärts-Vorwärts-Kippung resultiert in synchroner Spikefrequenzveränderung beider PSI, wobei eine Rückwärtskipfung zu starker Frequenzerhöhung eine Vorwärtskipfung zu schwacher Erniedrigung führt. Bei seitlicher Kippung steigt die Frequenz in dem PSI stark an, das auf der Seite durch das Konnektiv projiziert, zu der gekippt wird. Im anderen PSI bleibt die Spikefrequenz hingegen fast unverändert. Dieses stellt den einzigen größeren Unterschied zum Heimchen *Acheta domesticus* dar, bei dem die PSI-Spikefrequenz auf der kippungsabgewandten Seite sank.

Gravitationskompensatorische, von den beiden PSI induzierte Motoneuronenaktivität konnte im Mesothorax nachgewiesen werden. Der maßgebliche Reiz für diese Reaktion ist die laterale Neigung. Eine Vorwärts-Rückwärts-Kippung führt zu keiner veränderten mesothorakalen motorischen Aktivität.

Drei Einheiten des mesothorakalen Nervs 3D1, der den vorderen Rotator der Mittelbeincoxa (M92) innerviert, reagieren korreliert auf seitliche Kippung. Die Einheit mit der größten Amplitude reagiert rein phasisch und nur während der Kippungsbewegung, die mittelgroße hat einen ausgeprägten tonischen Anteil und reagiert auf kontralaterale Kippung mit erhöhter Aktivität. Die kleinste Einheit reagiert phasisch-tonisch mit erhöhter Frequenz bei ipsilateraler Neigung.

Der mesothorakale Nerv 3D3 versorgt den kurzen thorakalen Anteil des Depressor trochanteris (M103c). Eine rein tonisch reagierende Einheit ist kippungskorreliert aktiv. Sowohl Rechts- als auch Linksneigung führt zu erhöhter Spikefrequenz.

Monosynaptische Verbindungen zwischen den PSI und den Motoneuronen sind extrem unwahrscheinlich. Der tatsächliche Kontakt wird über Interneurone hergestellt, die aus der Spikefrequenzdifferenz zwischen den beiden PSI den motorischen Output ermitteln. Zwei lokale und vier intersegmentale Interneurone, die hieran wahrscheinlich beteiligt sind, konnten gefunden, gefärbt und charakterisiert werden.

6. Abstract

Gryllus bimaculatus has two position sensitive interneurons (PSI) integrating the afferents of the contralateral club-shaped (clavate) hairs in the terminal ganglion and ascending through the contralateral connective to anterior CNS as far as to the suboesophageal ganglion. There are neither afferents of clavate hairs projecting to the contralateral side nor is there neuronal connection between the two PSIs.

Pitching the body results in synchronous changes of spike frequencies in both PSIs, increasing strongly during backward tilting and decreasing only weakly with forward tilting. During lateral tilting the spike frequency of the PSI ipsilateral to the downward side increases strongly. In the contralateral PSI the frequency remains nearly unchanged, in contrast to responses in *Acheta domesticus*, where the spike frequency of this PSI decreases (Sakaguchi & Murphey 1983).

Gravity compensation is mediated by the PSI pair and is shown in the mesothoracic motoneurons. Lateral rolling is the main stimulus for this reaction. Back-forth tilting leads to no changes in mesothoracic motor activity.

Three units of the mesothoracic nerve 3D1, innervating the anterior rotator of the middleleg coxa (M92) react to lateral tilting. The largest amplitude motor unit reacts phasic and during tilting. The median unit responds mainly tonically and increases activity on contralateral tilt. The smallest unit reacts phasic-tonically with frequency increase on ipsilateral roll.

The short thoracic part of the depressor trochanteris (M103c) is innervated by the mesothoracic nerve 3D3. One unit reacts strictly tonically in correlation to tilting. Both right and left tilting lead to increase in spike frequency.

Monosynaptic connections between the PSIs and the motoneurons seem unlikely. Functional connections are established by interneurons, which determine the motor output by comparing the spike frequencies of the two PSIs. Two local and four intersegmental gravity-responding interneurons, which could be involved in this motor control, were found, stained and characterized.

7. Literatur

- Alverdes, F.** (1926): Stato-, Photo- und Tangoreaktionen bei zwei Garnelenarten. *Z. Vergl. Physiol.* **4**: 699-765
- Bässler, U.** (1961): Zum Schweresinn von Mehlkäfern (*Tenebrio molitor*) und Stechmücken (*Aedes aegypti*). *Z. Naturforsch.* **16** (b): 264-267
- Bässler, U.** (1965): Proprioceptoren am Subcoxal- und Femur-Tibiagelenk der Stabheuschrecke *Carausius morosus* und ihre Funktion bei der Wahrnehmung der Schwerkraftrichtung. *Kybernetik* **2**: 168-193
- Bischof, H.-J.** (1975): Die keulenförmigen Sensillen auf den Cerci der Grille *Gryllus bimaculatus* als Schwererezeptoren. *J. Comp. Physiol.* **98**: 277-288
- Campbell, J. I.** (1961): The anatomy of the nervous system of the mesothorax of *Locusta migratoria migratorioides*. *R. & F. Proc. Roy. Zool. Soc. London* **137**: 403-432
- Davis, W. J.** (1968): Lobster righting responses and their neuronal control. *Proc. R. Soc. Lond. Ser. B* **170**: 435-456
- de Jong, H. A., van Wilgenburg, H.** (1975): Signal transmission of statocyst information in the central nervous system of the molluscs *Helix* and *Aplysia*. *Fortschr. Zool.* **23** (1): 51-63
- Deliagina, T. G.** (1997): Vestibular compensation in lampreys: Impairment and recovery of equilibrium control during locomotion. *J. Exp. Biol.* **200**: 1459-1471
- Deliagina, T. G., Arshavsky, Y. I., Orlovsky, G. N.** (1998): Control of spatial orientation in a mollusc. *Nature* **393**: 172-175

-
- Deliagina, T. G., Grillner, S., Orlovsky, G. N., Ullén, F.** (1993): Visual input affects the response to roll in reticulospinal neurons of the lamprey. *Exp. Brain Res.* **95**: 421-428
- Deliagina, T. G., Orlovsky, G. N., Selverston, A. I., Arshavsky, Y. I.** (1999): Neuronal mechanisms for the control of body orientation in *Clione*. I. Spatial zones of activity of different neuron groups. *J. Neurophysiol.* **82**: 687-699
- Deliagina, T. G., Orlovsky, G. N., Selverston, A. I., Arshavsky, Y. I.** (2000): Neuronal mechanisms for the control of body orientation in *Clione*. II. Modifications in the activity of postural control system. *J. Neurophysiol.* **83**: 367-373
- Dijkgraaf, S.** (1956): Structure and functions of the statocyst in crabs. *Experientia* **12**: 394
- Dudel, J., Menzel, R., Schmidt, R. F.** (1996): *Neurowissenschaften*, Springer, Berlin, Heidelberg, New York
- Fraser, P. J., Sandeman, D. C.** (1975): Effects of angular and linear accelerations on semicircular canal interneurons of the crab *Scylla serrata*. *J. Comp. Physiol.* **96**: 205-211
- Fritsch, B.** (1993): Fast axonal diffusion of 3000 molecular weight dextran amines. *J. Neurosci. Methods* **50**: 95-103
- Funke, F.** (2000): Topografische Repräsentation mechanosensitiver Afferenzen im thorakalen ZNS von Heuschrecken, Diplomarbeit, Universität Göttingen (Institut für Zoologie und Anthropologie)
- Gao, W., Wiederhold, M., Hejl, R.** (1997): Development of the statocyst in the freshwater snail *Biomphalaria glabrata* (Pulmonata, Basommatophora). *Hear Res.* **109** (1-2): 125-134

-
- Gnatzy, W., Hustert, R.** (1989): Mechanoreceptors in behaviour. In: F. Huber, W. Loher & T. E. Moore (eds), Cricket behaviour and neurobiology. Cornell University Press, 198-226
- Gnatzy, W., Schmidt, K.** (1971): Die Feinstruktur der Sinneshaare auf den Cerci von *Gryllus bimaculatus*. I. Faden- und Keulenhaare. *Z. Zellforsch.* **122**: 190-209
- Hama, N., Takahata, M.** (2003): Effects of leg movements on the synaptic activity of descending statocyst interneurons in crayfish, *Procambarus clarkii*. *J. Comp. Physiol. A* **189**: 877-888
- Hartman, H. B., Walthall, W. W., Bennett, L. P., Stewart, R. R.** (1979): Giant interneurons mediating equilibrium reception in an insect. *Science* **205**: 503-505
- Horn, E.** (1975): The contribution of different receptors to gravity orientation. *Fortsch. d. Zool.* **23** (1): 1-20
- Horn, E.** (1982): Vergleichende Sinnesphysiologie. Gustav Fischer Verlag, Stuttgart, New York
- Horn, E.** (1985): Gravity. In: G. A. Kerkut, L. I. Gilbert (eds), Comprehensive insect physiology, biochemistry and pharmacology. Pergamon Press, Oxford, New York, Toronto, Sydney, Paris, Frankfurt, 557-576
- Horn, E., Bischof, H.-J.** (1983): Gravity reception in crickets: The influence of cercal and antennal afferences on the head position. *J. Comp. Physiol.* **150**: 93-98
- Horn, E., Föller, W.** (1985): Tonic and modulatory subsystems of the complex gravity receptor system in crickets, *Gryllus bimaculatus*. *J. Insect Physiol.* **31** (12): 937-946
- Hustert, R.** (1978): Segmental and interganglionic projections from primary fibers of insect mechanoreceptors. *Cell Tissue Res.* **194** (2): 337-351

-
- Jander, R., Horn, E., Hoffmann, M.** (1970): Die Bedeutung von Gelenkrezeptoren in den Beinen für die Geotaxis der höheren Insekten (Pterygota). *Z. Vergl. Physiol.* **66**: 326-342
- Kohstall-Schnell, D., Gras, H.** (1994): Activity of giant interneurons and other wind-sensitive elements of the terminal ganglion in the walking cricket. *J. Exp. Biol.* **193**: 157-181
- Kornhuber, H. H.** (1974): Vestibular system. *Handbook of sensory physiology*, vol. VI/1, Springer, Berlin, Heidelberg, New York
- Kutsch, W.** (1969): Neuromuskuläre Aktivität bei verschiedenen Verhaltensweisen von drei Grillenarten. *Z. Vergl. Physiol.* **63**: 335-378
- Kühn, A.** (1914): Die reflektorische Erhaltung des Gleichgewichtes bei Krebsen. *Verh. Dtsch. Zool. Ges.* **24**: 262-277
- Lindauer, M., Nedel, J. O.** (1959): Ein Schweresinnesorgan der Honigbiene. *Z. Vergl. Physiol.* **42**: 334-346
- Loesel, R., Homberg, U.** (2001): Anatomy and physiology of neurons with processes in the accessory medulla of the cockroach *Leucophaea maderae*. *J. Comp. Neurol.* **439** : 193-207
- Machemer, H., Bräucker, R.** (1992): Graviception and graviresponses in ciliates. *Acta Protozool.* **31**:185-214
- Markl, H.** (1962): Borstenfelder an den Gelenken als Schweresinnesorgane bei Ameisen und anderen Hymenopteren. *Z. Vergl. Physiol.* **45**: 475-569
- Markl, H.** (1971): Proprioceptive gravity perception in Hymenoptera. In: S. A. Gordon, M. J. Cohen (eds), *Gravity and the organism*. Chicago Univ. Press, Chicago, 185-194

-
- Markl, H.** (1974): Handbook of sensory physiology. H. H. Kornhuber (ed), Springer, Berlin, Heidelberg, New York
- Müller, A., Wolf, H., Galler, S., Rathmayer, W.** (1991): Correlation of electrophysiological, histochemical and contractional properties in fibres of the coxa rotator muscle of the locust, *Locusta migratoria*. J. Comp. Physiol. B **162**: 5-15
- Murayama M., Takahata, M.** (1992): Multiple gate control of the descending statocyst-motor pathway in the crayfish *Procambarus clarkii* Girard. J. Comp. Physiol. A **170**: 463-477
- Murphey, R. K.** (1981): The structure and development of a somatotopic map in crickets: The cercal afferent projection. Dev. Boil **88**: 236-246
- Murphey, R. K., Jacklet, A., Schuster, L.** (1980): A topographic map of sensory cell terminal arborizations in the cricket CNS: Correlation with birthday and position in a sensory array. J. Comp. Neurol. **191**: 53-64
- Murphey, R. K., Walthall, W. W., Jacobs, G. A.** (1984): Neurospecificity in the cricket cercal system. J. Exp. Biol. **112**: 7-25
- Nalbach, G., Hengstenberg, R.** (1994): The halteres of the blowfly *Calliphora* II. Three-dimensional organization of compensatory reactions to real and simulated rotations. J. Comp. Physiol A **175**: 695-708
- Nicklaus, R.** (1969): Zur Funktion der keulenförmigen Sensillen auf den Cerci der Grillen. Verh. Dtsch. Zool. Ges. **32** (Suppl.): 393-398
- Panchin, Y. V., Arshavsky, Y. I., Deliagina, T. G., Popova, L. B., Orlovsky, G. N.** (1995): Control of locomotion in marine mollusk *Clione limacina*. IX. Neuronal mechanisms of spatial orientation. J. Neurophysiol. **73**: 1924-1937

-
- Pavlova, E. L., Deliagina, T. G.** (2003): Asymmetry in the pitch control system of the lamprey caused by a unilateral labyrinthectomy. *J. Neurophysiol.* **89**: 2370-2379
- Pflüger, H.-J., Bräunig, P., Hustert, R.** (1988): The organization of mechanosensory neuropiles in locust thoracic ganglia. *Phil. Trans. R. Soc. Lond. B* **321**: 1-26
- Rath, O. v.** (1888): Über die Hautsinnesorgane der Insekten. *Z. Wiss. Zool.* **46**: 413
- Riewe, P.** (2000): Gravitationsphysiologie der Grille: Neuronale Änderungen in der Entwicklung des cercalen Schweresinns unter veränderten Gravitationsbedingungen, Dissertation, Universität Ulm
- Romeis, B.** (1989): *Mikroskopische Technik*, 17. neubearbeitete Auflage, herausgegeben von P. Böck, Urban & Schwarzenberg
- Sachs, L.** (1984): *Angewandte Statistik*. Springer Verlag, Berlin
- Sakaguchi, D. S., Murphey, R. K.** (1983): The equilibrium detecting System of the cricket: Physiology and morphology of an identified interneuron. *J. Comp. Physiol.* **150**: 141-152
- Sandeman, D. C.** (1976): Spatial equilibrium in the arthropods. In: P. J. Mill (ed), *Structure and function of proprioceptors in the invertebrates*. Chapman and Hall Ltd., London, 485-527
- Sandeman, D. C., Okajima, A.** (1972): Statocyst-induced eye movements in the crab *Scylla serrata* I. The sensory input from the statocysts. *J. Exp. Biol.* **58**: 187-204
- Sandeman, D. C., Okajima, A.** (1973): Statocyst-induced eye movements in the crab *Scylla serrata* III. The anatomical projections of sensory and motoneurons and the responses of the motor neurons. *J. Exp. Biol.* **58**: 17-38
- Schöne, H.** (1954): Statocystenfunktion und statische Lageorientierung bei dekapoden Krebsen. *Z. Vergl. Physiol.* **36**: 241-260

-
- Schöne, H., Neil, D. M., Scapini, F., Dreismann, G.** (1976): Reactions of the spiny lobster, *Parinurus vulgaris*, to substrate tilt (I). *J. Comp. Physiol.* **107**: 113-128
- Schöne, H., Schöne, H.** (1967): Integrated function of statocyst and antennular proprioceptive organs in the spiny lobster. *Naturwissenschaften* **54**: 289
- Schöne, H., Steinbrecht, R. A.** (1968): Fine structure of statocyst receptor of *Astacus fluviatilis*. *Nature* **220**: 184-186
- Shepherd, D., Kämper, G., Murphey, R. K.** (1988): The synaptic origins of receptive field properties in the cricket cercal sensory system. *J. Comp. Physiol. A* **162**: 1-11
- Spangenberg, D. B., Coccaro, E., Schwarte, R., Lowe, B.** (1996): Touch-plate and statolith formation in graviceptors of ephyrae which developed while weightlessness in space. *Scanning Microscopy* **10** (3)
- Spangenberg, D. B., Jernigan, T., Philput, C., Lowe, B.** (1994): Graviceptor development in jellyfish ephyrae in space and on earth. *Adv. Space Res.* **14** (8): 317-325
- Stein, A.** (1975): Attainment of positional information in the crayfish statocyst. In: H. Schöne (ed), *Mechanisms of spatial perception and orientation as related to gravity*. Gustav Fischer Verlag, Stuttgart
- Takahata, M., Komatsu, H., Hisada, M.** (1984): Positional orientation determined by the behavioural context in *Procambarus clarkii* Girard (Decapoda: Macrura). *Behaviour* **88**: 240-265
- Tyrer, N. M., Gregory, G. E.** (1982): A guide to the neuroanatomy of the locust suboesophageal and thoracic ganglia. *Phil. Trans. R. Soc. Ser. B* **297**: 91-123
- Ullén, F., Deliagina, T. G., Orlovsky, G. N., Grillner, S.** (1995): Spatial orientation in the lamprey. 1. Control of pitch and roll. *J. Exp. Biol.* **198**: 665-673

-
- Watson, A. H. D.** (1986): The distribution of GABA-like immunoreactivity in the thoracic nervous system of the locust *Schistocerca gregaria*. *Cell Tissue Res.* **246**: 331-341
- Watson, A. H. D., Burrows, M.** (1987): Immunocytochemical and pharmacological Evidence for GABAergic spiking local interneurons in the locust. *J. Neurosci.* **7**(6): 1741-1751
- Walthall, W. W., Hartman, H. B.** (1981): Receptors and giant interneurons signaling gravity orientation information in the cockroach *Arenivaga*. *J. Comp. Physiol.* **142**: 359-369
- Wendler, G.** (1965): The coordination of walking movements in arthropods. *Symp. Soc. Exp. Biol.* **20**: 229-249
- Wendler, G.** (1975): Physiology and systems analysis of gravity orientation in two species (*Carausius morosus*, *Calandra granaria*). *Fortschr. Zool.* **23**: 33-46
- Yoshino, M., Takahata, M., Hisada, M.** (1980): Statocyst control of uropod movement in response to body rolling in crayfish. *J. Comp. Physiol. A* **139**: 243-250
- Zelenin, P. V., Deliagina, T. G., Grillner, S., Orlovsky, G. N.** (2000): Postural control in the lamprey: A study with a neuro-mechanical model. *J. Neurophysiol.* **89**: 2880-2887

8. Anhang

8.1 Verwendete Lösungen

8.1.1 Glutaraldehyd (2,5%-ig, pH 7,25)

2 ml 25 %-ige Glutaraldehydlösung
8 ml Aqua bidest.
10 ml Natriumcacodylat-Stammlösung
mit 0,1 N HCl auf pH 7,25 einstellen

8.1.2 Grillen-Ringerlösung (pH 6,6)

8,2 g/l NaCl
0,75 g/l KCl
0,4 g/l NaHCO₃
0,45 g/l NaH₂PO₄*H₂O
0,4 g/l MgCl₂*6H₂O
0,3 g/l CaCl₂*2H₂O
5,0 g/l Glucose (zum Schluß dazu geben)
in Aqua dest. lösen und kühl lagern

8.1.3 Natriumcacodylat-Stammlösung

42,8 g/l Natriumcacodylat
in Aqua bidest. lösen

8.1.4 Paraformaldehyd (PFA, 4%-ig)

- bei reinem PFA: 4g in 20 ml Aqua dest. lösen (im Wasserbad auf einem Magnetrührer auf 60°C erhitzen)
- bei 60°C tropfenweise Zugabe von 1N NaOH bis die Lösung fast klar wird
- nach dem Abkühlen mit PBS auf 100 ml auffüllen
- filtrieren

8.1.5 PBS (0,1 M, pH 7,4)14,19 g/l Na₂HPO₄ (60 mM)15,6 g/l NaH₂PO₄ (40 mM)**8.2 Verwendete Geräte**

A/D Wandler:	Run Technologies BNC-16/PCI mit PCI-1200J A-D board
Binokular:	Leica Wild M3C
Computer:	Datenerfassung: AMD 1000, 1024 MB RAM, 16 GB HD Datenbearbeitung/Auswertung/Grafik: AMD 2400+, 512 MB RAM, 20 GB HD
DAT Recorder:	Biologic DTR-1800
Digitalkamera:	Nikon Coolpix 950
Elektrodenpuller:	Zeitz-Instrumente GmbH DMZ-Universal Puller
Mikroglaselektroden:	WPI Glass 1BBL W/FIL 1.0MM 3IN
Mikromanipulator:	Bachofer, Leitz und Eigenbau der Universität Göttingen
Mikroskop/Fluoreszenzmikroskop:	Leitz Aristoplan
Oszilloskop:	Topward Sophisticated Oscilloscope 7021
Präparationsbeleuchtung:	Hund 85 W
Saugelektroden Schlauch:	Portex Nylon Tubing, ID 1.00mm, OD 1.34mm
Verstärker (für extraz. Abl.):	Eigenbau der Universität Göttingen
Verstärker (für intraz. Abl.):	Eigenbau der Universität Göttingen
Vibrator:	Leica VT1000S

8.3 Verwendete Computersoftware

Betriebssysteme:	Microsoft Windows 95 Microsoft Windows 98 SE Microsoft Windows 2000 SP 4
Datenaufnahme und Analyse:	Run Technologies Datapac2K2, Vers 3.09
Grafik:	CorelDraw 10 CorelPhoto-Paint 10 WinSTAT Vers. 2003.1

	SigmaPlot 8.02
Literaturverwaltung:	Eigene Datenbank, basierend auf Microsoft Access 2000
Statistik	Microsoft Excel 2000 WinSTAT Vers. 2003.1
Textverarbeitung:	Microsoft Word 2000

9. Danksagung

Mein besonderer Dank gilt meinem Doktorvater Herrn Prof. Dr. Reinhold Hustert für die hervorragende Betreuung und die Bereitschaft, jederzeit für Fragen und Diskussionen zur Verfügung zu stehen. Seine unkomplizierte und freundschaftliche Art haben mir sicherlich bei dieser Arbeit ebenso geholfen, wie sein phänomenales Gedächtnis mir Stunden der Recherche erspart hat.

Herrn Dr. Andreas Stumpner danke ich sehr herzlich für die Übernahme der Korreferenz.

Eine Doktorarbeit schreibt sich nicht im luftleeren Raum und so gilt mein Dank auch den Mitarbeitern der Abteilung für Sensomotorik, die mir stets mit Rat und Tat zur Seite standen und nie um eine Antwort (auf welche Frage auch immer) verlegen waren: Henning Lahmann u.a. für die Lösung diverser Computerprobleme, Marian Baldus für einige Vorversuche, Silvia Gubert für 1001 Liter Grillenringer und die rastermikroskopischen Aufnahmen, Kai Härtel, Mathias Pasche, Stefan Weigel, Jochen Leuck und Hans-Georg Post für Diskussionen und Anregungen.

Ein ganz großes Dankeschön geht auch an die Abteilung von Prof. Dr. Schürmann. Insbesondere Marion Knierim-Grenzebach und Margret Winkler danke ich für die großartige Hilfe bei den Anti-Lucifer-Färbungen, den Vibratomschnitten und für die Versorgung mit Grillen in Zeiten der Knappheit.

Es gibt auch ein Leben außerhalb der Labore und hier finden sich die Leute, denen ich am allermeisten danken möchte: Meinen Eltern für das Mitfiebern und –leiden, für die Vitamintabletten :), für das Korrekturlesen und überhaupt für alles, meiner Schwiegermutter in spe für die reichhaltige Essensversorgung, Klaus für seine ungemein sorgfältigen Verbesserungsvorschläge, Hubs für die aufmunternden Anrufe und ganz zum Schluß danke ich...

...der tollsten Frau der Welt, Sari Friehe, für ihr Korrekturlesen, für ihr geduldiges Zuhören, ihre aufheiternden Geschenke und dafür, daß sie genauso ist wie sie ist.

10. Curriculum vitae

Persönliche Daten

Name: Frank Funke
Geburtsdaten: 10.10.1969 in Münster (Westf.)
Familienstand: ledig
Staatsangehörigkeit: deutsch

Schulbildung

1976 – 1980 Grundschule Winsen/Luhe
1980 – 1982 Taipei American School (TAS) in Taipei, Taiwan
1982 Orientierungsstufe Winsen/Luhe
1982 – 1986 Allgemeines Gymnasium Winsen/Luhe
1986 – 1989 Technisches Gymnasium Winsen/Luhe
Leistungsfächer: Technologie/Elektrotechnik, Mathematik,
Englisch, Geschichte
Abschluss: Allgemeine Hochschulreife (Note: 2,5)

Zivildienst

1989 – 1990 Krankenpflegerische Tätigkeiten im LKH Göttingen:
geschlossene geriatrische Station, Bäderabteilung,
Krankengymnastik

Studium

1991 – 1992 Diplomstudiengang Familienpädagogik und Familienhilfe
an der Universität Göttingen
1992 – 2000 Diplomstudiengang Biologie an der Universität Göttingen
Studienschwerpunkte: Zoologie, Botanik, Informatik
Diplomarbeit: Topografische Repräsentation mechanosen-
sensitiver Afferenzen im thorakalen ZNS von Heuschrecken
Abschluss: Diplom-Biologe (Note: Gut)
2000 – 2004 Promotion in Biologie an der Universität Göttingen, Abteilung
Sensomotorik bei Prof. Dr. R. Hustert, Thema: Steuerung der
Beinmotorik von Grillen durch ein Paar gravizeptiver
Interneurone

Tätigkeiten während des Studiums

- 12/96 – 07/00 Studentische Hilfskraft bei der Gesellschaft für wissenschaftliche Datenverarbeitung Göttingen (GWDG)
- Erstellung und Pflege von Netzwerkdokumentationen
 - Bearbeitung von Bauplänen mittels Autocad
 - Entwicklung eines datenbankgestützten Dokumentationssystems mit Web-Anbindung
- 11/99 – 03/00 Studentische Hilfskraft an der Universität Göttingen
- Mitwirkung beim biologischen Praktikum für Mediziner
 - Selbständige Durchführung von Seminaren
- 04/00 – 07/00 Studentische Hilfskraft an der Universität Göttingen, Abteilung für Sensomotorik
- Extra- und Intrazelluläres Ableiten, sowie Tracing an Heuschrecken
- 08/00 – 10/00 Angestellter der zentralen EDV-Gruppe des Max-Planck-Institutes für biophysikalische Chemie
- Vervollständigung der Dokumentation des Institutsnetzwerkes
- 11/00 – 11/01 Wissenschaftliche Hilfskraft bei der Gesellschaft für wissenschaftliche Datenverarbeitung Göttingen (GWDG)
- Erstellung einer vollständigen Netzwerk-Dokumentation für LAN-Bereiche im GÖNET und in den Max-Planck-Instituten Göttingens unter Verwendung des selbstentwickelten datenbankbasierenden Dokumentationssystems
- 02/01 Wissenschaftliche Hilfskraft an der Universität Göttingen, Abteilung für Sensomotorik
- Extra- und Intrazelluläres Ableiten, sowie Tracing an Grillen
- 03/01 – 08/03 Wissenschaftlicher Mitarbeiter an der Universität Göttingen
- Mitarbeit am DFG-Projekt „Schwerkraft-Kompensation über Interneurone bei Insekten“ im Rahmen der vorliegenden Dissertation
- 01/99 – z.Z. Systemadministrator der Abteilung für Sensomotorik, Universität Göttingen
- Einrichtung und Pflege des abteilungsinternen LAN