

Vergleichende Untersuchungen zur Neuro- und Verhaltensbiologie infrarotsensitiver pyrophiler Käfer

Dissertation
zur
Erlangung des Doktorgrades (Dr. rer. nat)
der
Mathematisch-Naturwissenschaftlichen Fakultät
der
Rheinischen Friedrich-Wilhelms-Universität Bonn

vorgelegt von
Eva-Juliane Kreiß
aus Bonn

Bonn 2007

Angefertigt mit Genehmigung der Mathematisch-Naturwissenschaftlichen Fakultät
der Rheinischen Friedrich-Wilhelms-Universität Bonn

1. Gutachter: PD Dr. H. Schmitz
2. Gutachter: Prof. Dr. H. Bleckmann

Tag der mündlichen Prüfung: 11. September 2007

Diese Dissertation ist auf dem Hochschulschriftenserver der ULB Bonn
http://hss.ulb.uni-bonn.de/diss_online elektronisch publiziert

Erscheinungsjahr 2007

Teile dieser Arbeit wurden zur Publikation eingereicht bei:

Journal of Comparative Physiology A

Danksagung

Mein Dank geht in erster Linie an Herrn Dr. Helmut Schmitz für die Betreuung meiner Arbeit und dafür, dass er immer für Anregung gesorgt hat und jederzeit ein offenes Ohr für kleine und größere Probleme hatte. Ebenso danke ich ihm für das Organisieren der Finanzierung meiner Arbeit und für die Ausstattung meines Arbeitsplatzes. Frau Dr. Anke Schmitz danke ich für die ihre Unterstützung und ihre Diskussionsbereitschaft. Beiden danke ich für die Australien-Exkursionen („no worries“) und das Sammeln der Versuchstiere.

Herr Prof. Dr. Horst Bleckmann möchte ich dafür danken, dass er mich in die Arbeitsgruppe aufgenommen und meinen Arbeitsplatz ebenfalls ausgestattet hat. Auch für die Übernahme des Koreferates und das Interesse an meiner Arbeit bin ich ihm dankbar.

Dr. Michael „Wumbaba“ Gebhardt danke ich dafür, dass er mir zahlreiche Methoden nahegebracht hat und mich bei den elektrophysiologischen und anatomischen Versuchen unterstützt hat. Auch bin ich ihm für das große Interesse an meiner Arbeit dankbar und dafür, dass er jederzeit für Diskussionen offen war.

Prof. Dr. Peter Bräunig und Dr. Rudolf Loesel danke ich sehr herzlich für die Unterstützung bei der Konfokal-Mikroskopie.

Herrn Braun und Herrn Balduin aus der Werkstatt des Zoologischen Instituts danke ich für die Unterstützung beim Gestalten des Versuchsaufbaus.

Der ganzen Arbeitsgruppe gilt mein Dank für das nette Arbeitsklima. Dr. Joachim Mogdans danke ich für das Interesse an meiner Arbeit, Dr. Michael Hofmann danke ich für die technische Unterstützung. Martin Müller bin ich sehr dankbar für die Hilfe beim Programmieren und zahlreichen kleineren und größeren Rechnerproblemen und vor allem für die schöne Zeit in unserer Arbeits-WG, das Kaffeekochen und die moralische Unterstützung. Boris, Ines und Silke danke ich für die freundschaftliche Unterstützung und die schöne gemeinsame Zeit im „Schloß“. Thomas und Vera danke ich für das Interesse und die immer wieder aufmunternden Worte.

Meinen Eltern und Silke danke ich sehr herzlich für die Korrekturvorschläge, Marco für die Hilfe beim Layout.

Ein ganz besonderer Dank geht an meine Eltern, Anna, André und Marco, deren Unterstützung mir sehr viel bedeutet hat. Danke, dass Ihr immer für mich da wart!

Inhaltsverzeichnis

Zusammenfassung	11
Abstract	13
Abbildungsverzeichnis	15
1 Einleitung	17
2 Material und Methoden	25
2.1 Versuchstiere.....	25
2.2 Elektrophysiologie.....	26
2.2.1 Extrazelluläre Ableitungen an <i>A. nigricans</i> in der Peripherie.....	26
2.2.2 Extrazelluläre Ableitungen im Zentralen Nervensystem von <i>M. acuminata</i> bzw. <i>M. cuspidata</i>	26
2.2.3 Intrazelluläre Ableitungen im Zentralen Nervensystem von <i>M. acuminata</i> bzw. <i>M. cuspidata</i>	27
2.2.4 Reizgebung.....	29
2.2.5 Datenaufzeichnung.....	32
2.2.6 Datenanalyse	33
2.3 Neuroanatomie.....	34
2.3.1 Anterograde Färbungen der Projektionen von Sinneszellen der Infrarotorgane und Sinneszellen der Antennen.....	34
2.3.2 Färbungen der Somata mit Toluidinblau	34
2.3.3 Mikroskopie und Bildbearbeitung.....	35
2.4 Freilanduntersuchungen zu Ökologie und Verhalten von <i>A. nigricans</i>	35
2.4.1 Thermografie	35
2.4.2 Habitatbeschreibungen	36
2.4.3 Analyse des Verhaltens im Freiland	37
2.4.4 Datenanalyse	37
3 Ergebnisse	39
3.1 Untersuchungen an <i>A. nigricans</i>	39
3.1.1 Elektrophysiologische Charakterisierung der PTO-Sensillen.....	39

3.1.1.1	Allgemeine Charakteristika	39
3.1.1.2	Intensitätsfunktionen	41
3.1.1.3	Antworten auf langanhaltende Stimuli	45
3.1.1.4	Zeitliche Charakteristika: Effekte der Pausendauer	48
3.1.1.5	Zeitliche Charakteristika: Effekte der Stimulus Frequenz	52
3.1.1.6	Graduierte Potenziale.....	56
3.1.1.7	Antworten auf einen Breitband Infrarotemitter und einen Infrarotlaser im Vergleich zu Antworten auf Rotlicht-Stimuli	59
3.1.2	Neuroanatomische Untersuchungen am Zentralen Nervensystem	62
3.1.2.1	Projektionen von Neuronen der prothorakalen Organs und der Antennen von <i>A. nigricans</i>	62
3.1.3	Freilandbeobachtungen zur Biologie und Verhalten.....	68
3.1.3.1	Charakteristika der Habitate	68
3.1.3.2	Verhalten im natürlichen Habitat.....	71
3.1.3.3	Beobachtungen zu Reproduktion und Individualentwicklung.....	75
3.1.4	Zusammenfassung	76
3.2	Untersuchungen an <i>M. acuminata</i> und <i>M. cuspidata</i>	77
3.2.1	Elektrophysiologie im Zentralen Nervensystem.....	77
3.2.1.1	Hakenableitungen an den Konnektiven.....	77
3.2.1.2	Extrazelluläre Einzelzelleitungen infrarotsensitiver Zellen im Thorakalganglion	80
3.2.1.3	Ableitungen von Summenpotenzialen	82
3.2.1.4	Verteilung und Größe der Somata in den thorakalen Ganglien.....	83
3.2.2	Intrazelluläre Ableitungen im Meso-Metathorakal-ganglion	85
3.2.2.1	Mechanosensitive Einheiten.....	85
3.2.2.2	Visuell sensitive Einheiten	86
3.2.2.3	Gefärbte jedoch nicht charakterisierte Zellen	89
3.2.3	Neuroanatomie	93
3.2.3.1	Projektionen der photomechanischen Sensillen im Zentralen Nervensystem von <i>M. acuminata</i> bzw. <i>M. cuspidata</i>	93
3.3	Zusammenfassung.....	94

4	Diskussion.....	95
4.1	Beobachtungen zu Ökologie und Verhalten von <i>A. nigricans</i> auf Brandflächen	95
4.2	Das prothorakale Infrarotorgan von <i>A. nigricans</i>	100
4.2.1	Der adäquate Reiz für die Sensillen des prothorakalen Infrarotorgans.....	100
4.2.2	Die Sensillen des Infrarotorgans als Thermorezeptoren.....	105
4.2.3	Das Infrarotorgan im Verhaltenskontext	112
4.3	Ableitungen im Zentralen Nervensystem von <i>M. cuspidata</i>	119
4.3.1	Anpassung der Methode des intrazellulären Ableitens an die Verhältnisse bei <i>Melanophila</i> -Käfern	119
4.3.2	Infrarotsensitive Einheiten im Zentralen Nervensystem von <i>M. acuminata</i> bzw. <i>M. cuspidata</i>	122
4.4	Die Projektionen infrarotsensorischer Einheiten im Zentralen Nervensystem von <i>A. nigricans</i> im Vergleich zu <i>M. acuminata</i> bzw. <i>M. cuspidata</i>	125
	Anhang A: Literaturverzeichnis.....	133
	Anhang B: Rezepte.....	143
	Anhang C: Erklärung	147

Zusammenfassung

Im Rahmen dieser Arbeit wurden elektrophysiologische und neuroanatomische Untersuchungen an den pyrophilen Käferarten *Acanthocnemus nigricans* und *Melanophila acuminata* (bzw. *Melanophila cuspidata*) durchgeführt. Das Verhalten von *A. nigricans* wurde zusätzlich im Freiland untersucht. Die drei genannten Käferarten besitzen spezialisierte extraantennale Organe, deren Funktion mit dem ausgeprägten pyrophilen Verhalten in Zusammenhang gebracht wird.

A. nigricans besitzt am Prothorax ein paariges scheibenförmiges Organ, auf dem sich bis zu 90 kutikuläre Sensillen befinden. Diese Sensillen gehören einem, morphologisch charakterisierten, neuen Sensillentyp an. In dieser Arbeit wurde erstmals eine breite physiologische Charakterisierung dieser Sensillen vorgenommen. Extrazelluläre Ableitungen zeigen, dass die Sensillen auf thermische Reize reagieren. Der nachgewiesene Schwellenwert für Antworten der Sensillen auf Reizung mit einem Rotlichtlaser ($\lambda = 632,8 \text{ nm}$) liegt zwischen 11 und 25 mW/cm^2 . Die Antworten auf Erwärmung sind phasisch-tonisch. Nach Ende der Reizung folgt eine Phase der Spike-Unterdrückung. Sowohl die Anzahl der ausgelösten Spikes als auch die Dauer der Spike-Unterdrückung sind intensitätsabhängig. Die Sensillen adaptieren auf lange konstante Reize, jedoch nicht vollständig. Die Untersuchungen der zeitlichen Eigenschaften belegen, dass die Grenze des zeitlichen Auflösungsvermögens bei wenigstens 20 Hz liegt.

Zusätzlich wurden die neuronalen Projektionen der Afferenzen der kutikulären Sensillen erstmals untersucht. Anterograde Färbungen zeigen ein im Vergleich zu Projektionen anderer sensorischer Systeme ungewöhnliches Verzweigungsmuster: Der Hauptteil der Afferenzen aszendiert bis in das Oberschlundganglion und terminiert dort mit weitreichenden Verzweigungen in der Region des Tritocerebrums posterior zum olfaktorischen Antennallobus.

Das Verhalten von *A. nigricans* wurde auf frischen Brandflächen in Westaustralien beobachtet. *A. nigricans* sammelt sich gezielt an noch über 100 °C heißen Stellen, den sogenannten „Hot Spots“. Die Käfer landen punktgenau im Randbereich der Hot Spots auf Bereichen mit einer Temperatur zwischen etwa 40 und 50°C. Das Verhalten der Käfer an den Hot Spots wurde mit Hilfe einer Infrarotkamera analysiert. Vermutlich steht es in Zusammenhang mit der Reproduktion von *A. nigricans*, da beide Geschlechter an den Hot Spots anzutreffen sind und Eiablagen beobachtet wurden. Die Larven entwickeln sich innerhalb weniger Tage und sind während der ersten drei Stadien fleischfressend. Sie ernähren sich vermutlich von Nahrungsressourcen, die durch den Brand entstehen und sind somit an die frische Brandfläche angepasst.

Ein Schwerpunkt dieser Arbeit lag darauf, von infrarotsensitiven Zellen im Zentralen Nervensystem von *M. acuminata* bzw. *M. cuspidata* abzuleiten. Bei Reizung mit dem Rotlichtlaser konnten reizkorrelierte Potentiale extrazellulär an den thorakalen Konnektiven und im fusionierten Meso-Metathorakalganglion abgeleitet werden.

Erstmals sollten zentrale Interneurone von *M. acuminata* bzw. *M. cuspidata* elektrophysiologisch abgeleitet, gefärbt und charakterisiert werden. Ziel war hier die Identifizierung von infrarotsensitiven Interneuronen. Erstmals gelangen intrazelluläre Ableitungen und Färbungen mehrerer Einzelzellen im fusionierten Meso-Metathorakalganglion. Die abgeleiteten Zellen wurden morphologisch beschrieben und physiologisch grob charakterisiert. Keine dieser Zellen reagierte jedoch auf thermische Reizung der Infrarotorgane. Durch diese Arbeit wurden wichtige Erkenntnisse zur Methode des intrazellulären Ableitens bei *M. acuminata* (bzw. *M. cuspidata*) gewonnen.

Die Physiologie der Infrarotorgane der beiden Käferarten wird anhand der Ergebnisse dieser Arbeit verglichen und ihre mögliche Funktion im Verhaltenskontext diskutiert. Somit trägt diese Arbeit dazu bei, das Wissen über die infrarotsensorische Sinnessystem pyrophiler Käfer zu erweitern.

Abstract

This study focusses on the infrared sense of the pyrophilous beetle species *Acanthocnemus nigricans* and *Melanophila acuminata* (and *M. cuspidata*, respectively). Both have extraantennal specialized infrared-organs, that probably play an important role in the pyrophilous behaviour.

In *A. nigricans*, one pair of prothoracic, disc-shaped organs has been described that bears up to 90 cuticular sensilla. These sensilla represent a new type of insect sensillum whose morphology and ultra-structure has recently been described. This study provides the first detailed physiological characterisation of the disc sensilla. Extracellular recordings show that the sensilla respond to thermal stimuli. The response threshold was between 11 and 25 mW/cm² for red laser ($\lambda = 632.8$ nm) irradiation. The sensilla showed phasic-tonic responses to irradiation; turning off the irradiation was followed by a spiking pause. The responses and the duration of the spiking pause clearly depended on the irradiation intensity. Sustained stimulation lead to an adaptation of the responses. However, this adaptation was not complete. The lower bound of the time-resolving power of the sensilla was found at a frequency of at least 20 Hz of repeated irradiation.

The central-nervous projections of the cuticular sensilla were investigated for the first time by anterograd dye labelling. Most of the fibres ascended into the ipsilateral, anterior connective to terminate in the tritocerebrum of the brain with extensive ramifications.

The behaviour of *A. nigricans* was studied on freshly burnt areas in Western Australia. *A. nigricans* is known to aggregate close to spots having a surface temperature of more than 100°C. The beetles landed in the periphery of these "Hot Spots" on areas that have a temperature between approx. 40 and 50°C. The behaviour of the beetles was analysed with an infrared camera. It is very likely that this behaviour is connected to the reproduction of *A. nigricans* as both sexes meet near the Hot Spots and egg depositions have been observed. The larvae developed within only a few days. Laboratory observations indicate that the larvae are most probably carnivorous up to the third stage. It is hypothesised that they feed on resources created by a fire, and are thus adapted to freshly burnt areas.

Infrared-sensitive neurons were recorded with extracellular hook electrodes attached to the thoracic connectives in the central nervous system of *M. acuminata* and *M. cuspidata*. Additionally, stimulus-correlated neuronal potentials were recorded from the fused meso-/metathoracic ganglion. One aim of this study was to identify interneurons that respond to thermal stimulation of the infrared organs. Thus, a preparation has been developed, which allows intracellular recordings from single interneurons in *Melanophila* beetles.

To foster the analysis of the thoracic neural networks processing infrared information, several single interneurons in the fused meso-/metathoracic ganglion were recorded and stained intracellularly for the first time. However, none of these cells responded to thermal stimulation.

The physiology of the two investigated beetle species is compared and the possible function of the infrared organs is discussed . This study, thus, contributes to the understanding of infrared sensory systems in pyrophilous beetles.

Abbildungsverzeichnis

Abbildung 2.1: Schematische Übersicht über untersuchte Bereiche des Zentralen Nervensystems von <i>A. nigricans</i> (A) und <i>M. acuminata</i> bzw. <i>M. cuspidata</i> (B).....	28
Abbildung 2.2: Vermessung des Strahlprofils des Infrarotlasers	30
Abbildung 2.3: Schematische Zeichnung des Versuchsaufbaus für die Elektrophysiologie am Beispiel einer extrazellulären Ableitung an <i>A. nigricans</i> mit Rotlicht-Stimulation	31
Abbildung 2.4: Veränderung des Originalsignals durch den Extrazellulärverstärker am Beispiel eines Rechteckpulses.....	32
Abbildung 2.5: Beispiel eines Thermogramms	36
Abbildung 3.1: Beispiele extrazellulärer Ableitungen am prothorakalen Organ von <i>A. nigricans</i> bei Raumtemperatur.....	40
Abbildung 3.2: Intensitätsabhängigkeit der Antwort der Sensillen von <i>A. nigricans</i> bei Bestrahlung des prothorakalen Organs mit einem Rotlichtlaser.....	43
Abbildung 3.3: Antworten der Sensillen von <i>A. nigricans</i> auf eine drei Sekunden anhaltende Stimulation mit Rotlicht.....	48
Abbildung 3.4: Antworten der PTO-Sensillen von <i>A. nigricans</i> auf Stimulation mit variierenden Pausendauern zwischen identischen Reizen	51
Abbildung 3.5: Antwort der PTO-Sensillen von <i>A. nigricans</i> auf eine repetetive Stimulation mit verschiedenen Frequenzen	56
Abbildung 3.6: Ableitung von graduierten Potenzialen von den PTO-Sensillen von <i>A. nigricans</i> bei Rotlichtstimulation	59
Abbildung 3.7: Vergleich der Antworten der Sensillen von <i>A. nigricans</i> bei Stimulation mit einem breitbandigen Infrarotemitter (A, C, E) und Stimulation mit einem Rotlichtlaser (B, D, F)	61
Abbildung 3.8: Antworten der PTO-Sensillen von <i>A. nigricans</i> auf Stimulation durch einen Infrarot-Laser	62
Abbildung 3.9: Konfokalmikroskopische Aufnahmen von anterograden Färbungen der Sensillen des prothorakalen Organs mit Neurobiotin.....	66
Abbildung 3.10: Montagen aus je zehn optischen Horizontalschnitten durch das Oberschlundganglion von <i>A. nigricans</i> mit Färbung der Afferenzen der Sensillen des prothorakalen Organs.....	67
Abbildung 3.11: Thermografie von Habitaten von <i>A. nigricans</i> , aufgenommen auf frischen Brandflächen in Westaustralien	71
Abbildung 3.12: Verhaltenssequenzen einzelner Käfer an Hot Spots am Beispiel von zwei Tieren	72
Abbildung 3.13: Das Verhalten von <i>A. nigricans</i> an Hot Spots	74
Abbildung 3.14: Einfluss eines artifiziellen Schattens auf das Verhalten der Käfer an einem Hot Spot.....	75
Abbildung 3.15: Hakenableitungen am thorakalen Konnektiv von <i>M. acuminata</i>	79
Abbildung 3.16: Extrazelluläre Antworten im Meso-Metathorakalganglion von <i>M. cuspidata</i> auf Bestrahlung der Infrarotorgane.....	81
Abbildung 3.17: Reizkorrelierte Feldpotenziale im Meso-Metathorakalganglion von <i>M. cuspidata</i> bei Bestrahlung mit Rotlicht (378 mW/cm ²)	82
Abbildung 3.18: Toluidin-Färbung des gesamten Meso-Metathorakalganglions von <i>M. cuspidata</i> zur Markierung der Somata der Ventralseite.....	85
Abbildung 3.19: Intrazelluläre Ableitung und Färbung einer Zelle bei <i>M. cuspidata</i> die auf mechanische Reizung am Abdomen reagierte	86
Abbildung 3.20: Intrazelluläre Ableitungen und Färbungen zweier Neurone bei <i>M. cuspidata</i> , die auf visuelle Reize reagierten	89
Abbildung 3.21: Zeichnungen abgeleiteter und angefärbter Neurone von <i>M. cuspidata</i> , die ihrer Funktion nach nicht charakterisiert werden konnten	92
Abbildung 3.22: Anterograde Färbung von Afferenzen photomechanischer Sensillen beider Körperseiten von <i>M. cuspidata</i> im fusionierten Meso-Metathorakalganglion	93

1 Einleitung

Einige Insekten aus vier verschiedenen Familien (Heteroptera, Lepidoptera, Diptera und Coleoptera) sind für ihr Verhalten bekannt, Waldbrände anzufliegen und sich unmittelbar nach dem Brand auf den frischen Brandflächen aufzuhalten. Ein Großteil dieser als „pyrophil“ bekannten Arten sucht aktiv nach Bränden und wird dabei offensichtlich von Feuer, Rauch oder heißer Asche angezogen (Wikars 1997). Das pyrophile Verhalten wird auf mehrere verschiedene Ursachen zurückgeführt.

Einer der Gründe stellen durch den Brand neu entstehende Nahrungsressourcen dar: die Insekten bzw. deren Entwicklungsstadien können obligat auf bestimmte Pilzarten (Schlauchpilze = *Ascomyceten*) angewiesen sein, die nur auf verbrannter Erde oder auf verbranntem Holz wachsen (Wicklow 1988). Ein Beispiel ist der Schimmelkäfer *Henoticus serratus*, der sich vermutlich von dem Ascomycet *Trichoderma harzianum* ernährt (Wikars 1997). Neben diesen spezialisierten Ascomyceten kann das durch die Hitze abgetötete Kambium der verbrannten Bäume eine weitere Nahrungsquelle für Insektenlarven darstellen (Muona und Rutanen 1994). Auch ist beschrieben, dass einige pyrophile Insektenarten die frische Waldbrandfläche als Treffpunkt für Paarungspartner nutzen (Evans und Kuster 1980, Schmitz und Schmitz 2002, Wikars 1997). Einige pyrophile Insektenarten weisen spezialisierte extraantennale Infrarotorgane auf, die vermutlich zur Ortung der Waldbrände und zur Orientierung auf der frischen Brandfläche dienen.

Bislang waren drei pyrophile Käferarten Gegenstand näherer Untersuchungen im Hinblick auf die Morphologie, die Physiologie und die Funktionsweise ihrer Infrarotorgane: *Melanophila acuminata*, *Merimna atrata* und *Acanthocnemus nigricans*.

Zur Buprestiden-Gattung *Melanophila* gehören 12 Arten, die alle pyrophiles Verhalten zeigen. Zum Verbreitungsgebiet gehören alle Kontinente außer Australien. Bisherige Untersuchungen wurden an dem schwarzen

Kiefernprachtkäfer, *M. acuminata* durchgeführt. Dieser hat eine Körperlänge von etwa einem Zentimeter.

Die zweite pyrophile Käferart *M. atrata*, ist ebenfalls den Buprestiden zugehörig. Ihr Verbreitungsgebiet ist jedoch ausschließlich der australische Kontinent.

M. atrata hat einen ähnlichen Habitus wie *Melanophila*, ist jedoch mit etwa zwei Zentimetern Körperlänge deutlich größer.

Die Larven der beiden pyrophilen Prachtkäfer-Arten *M. acuminata* und *M. atrata* sind obligat auf das Holz verbrannter Bäume angewiesen (Vondran et al 1995, Apel 1988). Verschiedene Beobachtungen legen dar, dass beide Käferarten ein weitgehend identisches Verhalten zeigen. Sie fliegen Waldbrände gezielt an und paaren sich auf den frischen Brandflächen. Die Weibchen legen im Folgenden ihre Eier unter die Rinde der verbrannten Bäume (Evans 1964, Schmitz und Schmitz 2002). Die spezialisierten Larven fressen zunächst in der Bastschicht der geschädigten Bäume, später im Holz. Der Großteil der adulten Käfer schlüpft im Folgejahr des Brandes, jedoch kann sich die Individualentwicklung über mehrere Jahre erstrecken.

Der dritte pyrophile Vertreter aus der Ordnung der Coleoptera ist *A. nigricans*. Diese einzige rezente Art aus der Familie Acanthocnemidae kommt hauptsächlich in Australien vor, einzelne Fundorte in Europa, Asien und Afrika sind jedoch beschrieben (Lawrence and Britton 1994). Aufgrund der dunklen Färbung und einer Körperlänge von 3-6 mm ist das Erscheinungsbild von *A. nigricans* unauffällig. Obwohl seit den 20er Jahren bekannt ist, dass *A. nigricans* ein typisch pyrophiles Verhalten zeigt, sind Biologie, Ökologie und Verhalten dieses Käfers bislang kaum beschrieben (Champion 1922). Kreiss et al beobachteten, dass *A. nigricans* auf den frischen Brandflächen häufig in der Nähe von Stellen mit hoher Oberflächentemperatur landete (Kreiss et al 2005). Im Folgenden werden derartige Stellen als „Hot Spots“ bezeichnet. Es ist zu vermuten, dass das pyrophile Verhalten von *A. nigricans* wie bei den genannten pyrophilen Buprestiden-Arten ebenfalls in Zusammenhang mit der Reproduktion steht. Hierfür spricht, dass beide Geschlechter kurz nach einem Waldbrand auf der frischen Brandfläche anzutreffen sind (Schmitz et al 2002). Nähere Untersuchungen zum Verhalten von *A. nigricans* wurden bislang nicht durchgeführt.

Alle drei genannten Käferarten müssen aufgrund ihres Verhaltens in der Lage sein, Waldbrände zu detektieren sowie sich auf den frischen Brandflächen zu orientieren. Neben antennalen Rauchgassensoren, die bei *M. acuminata* beschrieben sind (Schütz et al 1999, Schmitz und Schütz 2000), besitzen die genannten zwei Buprestiden-Arten spezialisierte extraantennale Infrarotorgane, mit deren Hilfe sie vermutlich Waldbrände detektieren bzw. sich auf frischen Brandflächen orientieren können (Evans 1966a, Schmitz und Bleckmann 1998, Schmitz, Mürtz und Bleckmann 2000, Schmitz et al 2001).

Obwohl *M. atrata* und *M. acuminata* derselben Familie angehören und obwohl beide auf frischen Brandflächen ein sehr ähnliches Verhalten zeigen, sind die Infrarotorgane jedoch sowohl in ihrer Lage, als auch in Bau- und Funktionsweise deutlich verschieden und daher nicht homolog.

Der Kiefernprachtkäfer *M. acuminata* besitzt ein Paar Infrarotorgane an der Ventralseite des Metathorax (Schmitz und Bleckmann 1997). Jedes Infrarotorgan besteht aus einer Grube, in der etwa 70 kuppelförmige Erhebungen angeordnet sind (Evans 1966a, Evans 1966b, Vondran et al 1995). Jede davon stellt den äußeren Teil eines einzelnen kutikulären Sensillum dar. Ein einzelnes Sensillum besteht aus einer massiven Kutikulakugel, welche in einem Hohlraum unter der äußeren Kutikula an einem dünnen Stiel aufgehängt ist (Vondran et al 1995, Schmitz et al 1997, Schmitz et al 2007). Diese Kutikulakugel wird von einem Mechanorezeptor innerviert. Das Sensillum leitet sich phylogenetisch wahrscheinlich von Haarmechanorezeptoren ab (Schmitz et al 2007). Absorption von Infrarotstrahlung führt zu Deformationsereignissen innerhalb der Kutikulakugel, welche im Folgenden den Mechanorezeptor erregen (Schmitz und Bleckmann 1997, Schmitz und Schütz 2000, Schmitz et al 2007). Dieses Funktionsprinzip wurde von Schmitz et al als „photomechanisches Prinzip“ bezeichnet, das Infrarotsensillum wird im Folgenden daher „photomechanisches Sensillum“ genannt (Schmitz und Bleckmann 1997).

Der australische „Feuerkäfer“ *M. atrata* besitzt an den ventrolateralen Seiten des zweiten bis vierten abdominalen Sternites paarige Infrarotorgane (Schmitz, Schmitz und Bleckmann 2000, Schmitz et al 2001, Mainz et al 2004). Diese werden jeweils von einem multipolaren Neuron innerviert, dessen Dendriten, etwa

800 an der Zahl, sich fein verästeln, aber dennoch eng beieinander liegen. Diese komplexe dendritische Struktur, die zudem sehr reich an Mitochondrien ist, wird als „terminal dendritic mass“ (TDM) bezeichnet (Schmitz, Schmitz und Bleckmann 2000, Mainz et al 2004). Elektrophysiologische Experimente belegen, dass die multipolaren Neurone als Thermorezeptoren fungieren (Schmitz, Schmitz und Bleckmann 2000, Schmitz und Trenner 2003). Sie messen, ähnlich einem technischen Bolometer, die Erwärmung einer Infrarotstrahlung absorbierenden Fläche, der Kutikula (Schmitz, Schmitz und Bleckmann 2000, Schmitz und Trenner 2003). Die multipolaren thermosensitiven Neurone leiten sich von subepidermalen multipolaren Sinneszellen ab, die in der Regel eine mechanosensitive Funktion haben (Schmitz et al 2001).

Der dritte untersuchte pyrophile Käfer, *A. nigricans*, weist auf der Ventralseite anterior zu den prothorakalen Beinen eine paarige Struktur auf (Champion 1922, Crowson 1970). Studien aus den letzten Jahren legen die Hypothese nahe, dass es sich bei der scheibenförmigen Struktur ebenfalls um Infrarotorgane handeln könnte (Schmitz et al 2002, Kreiss et al 2005).

Jedes prothorakale Organ besteht aus einer kutikulären Scheibe von bis zu 185 µm im Durchmesser, die über einer Grube in der Körperwand aufgehängt ist. Im anterioren Teil weist das prothorakale Organ etwa 90 Sensillen eines neuen Sensillentyps auf (Kreiss et al 2005). Je ein einzelnes Neuron innerviert ein Sensillum. Das kurze, stabförmige Dendritenaußensegment dieses Neurons ist durch eine elektronendichte Masse mit dem etwa 2 µm im Durchmesser messenden porenlosen Kutikulaapparat verbunden. Ein weiteres Kennzeichen dieses Sensillentyps ist, dass Dendriteninnensegment und die Somaregion einen Komplex bilden, der von Gliazell-Einstülpungen durchzogen wird und eine sehr hohe Anzahl an Mitochondrien aufweist. Die Phylogenese dieses Sensillen-Typs ist bislang nicht bekannt. Im Folgenden werden die kutikulären Sensillen als PTO-Sensillen (Sensillen des prothorakalen Organs) bezeichnet.

Um einen Zusammenhang zwischen dem Verhalten der Käfer auf der Brandfläche und der Morphologie, Physiologie und Funktion der Infrarotorgane herstellen zu können, wurden von Schmitz et al elektrophysiologische Untersuchungen sowohl an *M. acuminata* als auch an *M. atrata* durchgeführt. In beiden Fällen wurde

extrazellulär an den Infrarotorganen abgeleitet. Dabei wurden in beiden Fällen die Potenziale einzelner Zellen registriert. Die Organe beider Käfer reagierten auf Erwärmung mit einem Rotlichtlaser, wobei sich große Unterschiede bezüglich des Antwortverhaltens zeigten.

Das Aktionspotenzial wird im Folgenden als „Spike“ bezeichnet. Auch extrazellulär abgeleitete Potenziale, die sich auf Aktionspotenziale zurückführen lassen, werden der Übersichtlichkeit halber als Spikes bezeichnet.

Das photomechanische Sensillum von *M. acuminata* weist keine Spontanaktivität auf und reagiert mit einer kurzen phasischen Entladung auf Stimulation (Schmitz und Bleckmann 1997, Schmitz, Mürtz und Bleckmann 2000). Das multipolare Neuron von *M. atrata* zeigt bei 20°C Umgebungstemperatur eine Entladungsrate von 10 Hz. Antworten auf Rotlicht-Stimulation weisen ein typisch phasisch-tonisches Muster auf (Schmitz und Trenner 2003). Nach Reizende folgt eine Phase der Spike-Unterdrückung. Die Empfindlichkeit auf den Rotlichtlaser ist ebenfalls bei beiden Käferarten sehr verschieden. Bei *M. atrata* liegt der Schwellenwert für eine Erhöhung der Feuerrate bei einer Reizintensität von 40 mW/cm², der erste Spike mit erhöhter Frequenz hat hierbei eine Latenz von etwa 50 ms (Schmitz und Trenner 2003). Die niedrigste Schwelle bei *M. acuminata* liegt bei einer Reizintensität von 5 mW/cm² bei einer Latenz von 5-6 ms (Schmitz und Bleckmann 1998, Schmitz und Trenner 2003).

Am Zentralen Nervensystem beider Käfer wurden bislang keine elektrophysiologischen Untersuchungen durchgeführt. Um zentrale Schwellenwerte infrarotsensitiver Einheiten für eine Antwort auf thermische Reizung zu ermitteln sind intrazelluläre Ableitungen notwendig. Diese geben weiterhin die Möglichkeit, einzelne Zellen zu färben und somit Informationen über das der Infrarotsensorik zugrundeliegende neuronale Netzwerk zu liefern.

Elektrophysiologische Untersuchungen erbrachten den ersten Beleg, dass die PTO-Sensillen von *A. nigricans* ebenfalls auf Wärmestrahlung reagieren (Schmitz et al 2002). Eine Zunahme in der Temperatur bewirkte eine erhöhte Feuerrate der in Ruhe aktiven Sensillen, während das Einstellen der Stimulation eine Spike-Unterdrückung hervorrief (Schmitz et al 2002). Weitergehende Untersuchungen wurden jedoch bislang nicht durchgeführt.

Neben dem Verhalten der pyrophilen Käfer und der Morphologie und Physiologie ihrer Infrarotorgane ist die neuronale Verschaltung der infrarotsensitiven Sensillen aller genannten drei Arten von Interesse. Bei *M. atrata* und *A. nigricans* wurden bislang keine neuroanatomischen Untersuchungen durchgeführt. Gronenberg et al führten an *M. acuminata* erstmals anterograde Färbungen des Infrarotorgans mit diversen Tracern durch (Gronenberg und Schmitz 1999). Demnach projizieren die Afferenzen der photomechanischen Sensillen in die meta- und mesothorakalen Neuromere des fusionierten Meso-Metathorakalganglions. Dort terminieren etwa 50% der Projektionen und konvergieren vermutlich auf ascendierende und descendierende Interneurone. Etwa 50% der Afferenzen ascendieren bis in das Prothorakalganglion, wo sie teilweise kleine Verzweigungen ausbilden. Die Autoren gehen davon aus, dass 10% der Afferenzen bis ins Oberschlundganglion ascendieren (Gronenberg und Schmitz 1999). Dies ist jedoch bislang nicht eindeutig gezeigt. Die Autoren vermuten, dass die Verarbeitung der Infrarotinformation hauptsächlich anterior der thorakalen Ganglien stattfindet. Weiterhin gehen sie aufgrund anatomischer Ähnlichkeiten des Verzweigungsmusters davon aus, dass sich die infrarotsensitiven Neurone von Neuronen ableiten, die Mechanorezeptoren innervieren.

Zielsetzung dieser Arbeit:

Ein zentraler Teil dieser Arbeit besteht darin, die physiologischen Eigenschaften der PTO-Sensillen von *A. nigricans* erstmals detailliert zu charakterisieren und mit den bekannten infrarotrezeptiven Sensillen der pyrophilen Prachtkäfer und bekannten Sensillen anderer Modalitäten zu vergleichen. Die Hauptfragestellungen, die mittels elektrophysiologischer Untersuchungen beantwortet werden, sind: 1. Wie ist das generelle Antwortverhalten der Sensillen auf thermische Reizung? 2. Wie ist die Intensitätsabhängigkeit der Sensillen? 3. Wie ist das Antwortverhalten der Sensillen auf langanhaltende konstante Stimuli? 4. Wie ist das zeitliche Auflösungsvermögen der Sensillen? Mittels anterograder Färbungen der Afferenzen der PTO-Sensillen soll die neuronale Verschaltung aufgeklärt werden. Hierdurch sollen Hinweise auf die mögliche

Phylogenie der Sensillen des prothorakalen Organs gefunden werden. Des Weiteren sollen Verhaltensbeobachtungen im Freiland gemacht werden. Es soll untersucht werden, ob ein Zusammenhang von Verhaltensweisen, die auf frischen Brandflächen gezeigt werden, und sensorischen Leistungen besteht.

Da *M. acuminata* bezüglich der Infrarotperzeption von allen drei genannten Käferarten am Besten untersucht ist, soll hier der Versuch unternommen werden, erstmals zentrale Einheiten, die in die Wahrnehmung von Infrarotstrahlung involviert sind, zu untersuchen. Bislang wurden physiologische Untersuchungen hauptsächlich in der Peripherie am Rezeptor durchgeführt. Daher liegt ein Schwerpunkt dieser Arbeit auf der Identifikation von zentralen Einzelzellen, die an der Verarbeitung von Infrarotinformation beteiligt sind. Mittels intrazellulärer Ableitungen ist es möglich, Informationen über die Verarbeitung von Infrarotreizen, wie beispielsweise die Ermittlung von Schwellenwerten, zu erhalten, ohne den Rezeptor zu beeinträchtigen. Des Weiteren tragen die Färbungen der abgeleiteten Einzelzellen dazu bei, die neuronale Verschaltung der Infrarotinformation aufzuklären. Neben den elektrophysiologischen Experimenten soll durch anterograde Färbungen der Infrarotrezeptoren ein weiterer Schritt unternommen werden, das der Infrarotsensorik zugrundeliegende neuronale Netzwerk aufzuklären. Anhand der neuroanatomischen Merkmale der gefärbten Zellen sollen Hinweise über die phylogenetische Herkunft des Infrarotstimuli verarbeitenden Netzwerkes gewonnen werden.

Es wird erwartet, dass die durch diese Arbeit erlangten Kenntnisse das Wissen über Infrarotsensorik bei Käfern erweitern. Der Vergleich von Morphologie, Physiologie und Funktion der verschiedenen Organ-Typen ist besonders im Hinblick auf die Evolution infrarotsensorischer Sinnessysteme bei Insekten von besonderem Interesse.

2 Material und Methoden

2.1 Versuchstiere

Acanthocnemus nigricans

Adulte *A. nigricans* wurden auf frischen Waldbrandflächen im Raum Perth, Westaustralien mit der Hand gefangen und nach Deutschland transportiert. Die Sammlungen erfolgten jeweils im Februar 2004, 2005 und 2006. Zu den gefangenen Käfern kommen 123 weitere, die durch die Verhaltensbeobachtungen in Australien 2006 in die Arbeit eingehen. Die Käfer wurden in Gruppen von bis zu zehn Tieren in gut durchlüfteten Plastikboxen gehalten. Als Nahrung wurden ihnen verschiedene ungesalzene Nüsse und Salat angeboten, Wasser stand immer zur Verfügung. Unter diesen Bedingungen überlebten die Käfer bis zu drei Monate.

Melanophila acuminata und *Melanophila cuspidata*

Im Gegensatz zu *A. nigricans* wurden *Melanophila*-Käfer nicht als adulte Tiere gefangen, sondern es wurde mit *Melanophila*-Larven befallenes Holz beschafft. 2004 und 2005 wurde jeweils im Frühjahr mit *M. acuminata* befallenes Kiefernholz in Brandenburg geschlagen und den Sommer über im Tierhaus der Universität Bonn gelagert. In beiden Jahren stammte das Holz von einem Waldbrand aus dem Sommer 2003. Die etwas über einem Meter langen, ca. 10 cm im Durchmesser messenden Stämme wurden senkrecht gelagert und einmal wöchentlich bewässert. Aufgrund geringer Schlupfzahlen 2004 und 2005 wurde im Frühjahr 2006 Holz von einem großflächigen Waldbrand in Katalonien, Spanien beschafft. Die Lagerung erfolgte in der oben beschriebenen Weise. Aus diesem Holz schlüpften im Spätsommer 2006 unter anderem 126 *M. cuspidata*. Die Haltung der adulten Käfer erfolgte einzeln in Plastikbehältern. Als Futter dienten verschiedene Nüsse, Rosinen und Salat. Wasser stand immer zur Verfügung. Die Lebensdauer unter diesen Bedingungen betrug bis zu drei Monate.

2.2 Elektrophysiologie

Es wurden verschiedene Ableitmethoden an beiden Versuchstieren durchgeführt. Alle Experimente wurden bei einer Raumtemperatur von 21-23°C durchgeführt. Nach dem Entfernen aller Beine wurde der Käfer, Ventralseite nach oben weisend, mit einem Zweikomponenten-Kleber (Pattern Resin, LS, GC America Inc) auf einen Halter geklebt. Ein chlorierter Silberdraht im Abdomen des Käfers diente als Referenzelektrode. Je nach Methode wurden verschiedene Elektrodentypen und eine unterschiedliche Datenaufzeichnung verwendet.

2.2.1 Extrazelluläre Ableitungen an *A. nigricans* in der Peripherie

Als Ableitelektroden für extrazelluläre Ableitungen am prothorakalen Organ von *A. nigricans* wurden elektrolytisch angespitzte Wolframelektroden (Drahtdurchmesser 100 µm, Spitzendurchmesser < 1 µm) verwendet. Diese wurden mit Hilfe eines Mikromanipulators (Bachhofer, Reutlingen, Deutschland) unter visueller und akustischer Kontrolle möglichst wenig tief in das prothorakale Organ von *A. nigricans* eingestochen.

2.2.2 Extrazelluläre Ableitungen im Zentralen Nervensystem von *M. acuminata* bzw. *M. cuspidata*

Zwei Methoden, um extrazellulär im Zentralen Nervensystem abzuleiten, wurden bei *M. acuminata* bzw. *M. cuspidata* angewendet. Zum einen wurden Ableitungen mit Hakenelektroden aus Wolframdraht an den Konnektiven zwischen Prothorakalganglion und fusioniertem Meso-Metathorakalganglion durchgeführt. Hierzu wurde der Thorax ventral geöffnet. Teile der Kutikula wurden so entfernt, dass eine rechteckige Öffnung entstand, welche durch die äußeren Ränder der Gruben der Coxen des vorderen und des mittleren Beinpaars begrenzt war. Hierzu wurde zunächst ein waagerechter Schnitt anterior der Coxen des prothorakalen Beinpaars gesetzt und beide Gruben der Coxen wurden entfernt. Der nun posteriore Teil des Prosternums wurde komplett entfernt. Im Folgenden

wurde ein waagerechter Schnitt an der Grenze zwischen Mesosternum und Metasternum gesetzt und die Gruben der Coxen des mittleren Beinpaars wurden entfernt, was zunächst die Durchtrennung der an den Gruben sitzenden Apodeme erforderte. Zwei laterale Schnitte nach anterior wurden gesetzt und das Mesosternum wurde entfernt. Nun lagen das fusionierte Meso-Metathorakalganglion und das Prothorakalganglion frei. Das entsprechende Konnektiv wurde mittels eines Mikromanipulators (siehe 2.2.1.) auf den Wolframhaken genommen. Ein sehr fein ausgezogener PVC-Schlauch wurde über die Ableitstelle gestülpt und diente, mit Vaseline gefüllt, als Isolierung der Ableitstelle.

Zum anderen wurden mit niederohmigen Glaselektroden (Widerstand $< 5 \text{ M}\Omega$) Feldpotentiale im Meso-Metathorakalganglion abgegriffen. Ebenfalls mit niederohmigen Glaselektroden (Widerstand $< 5 \text{ M}\Omega$) wurden extrazelluläre Potentiale einzelner Zellen im Meso-Metathorakalganglion abgegriffen. In beiden Fällen waren die Glaselektroden mit 1-molarer Lithiumchloridlösung gefüllt. Für beide Methoden wurde die Freilegung des Ganglions in derselben Weise durchgeführt wie zuvor beschrieben.

2.2.3 Intrazelluläre Ableitungen im Zentralen Nervensystem von *M. acuminata* bzw. *M. cuspidata*

Bei *M. acuminata* bzw. *M. cuspidata* wurden intrazelluläre Ableitungen im fusionierten Meso-Metathorakalganglion durchgeführt. Die Präparation erfolgte wie unter 2.2.2 beschrieben. Das Infrarotorgan wurde mittels einer kleinen Wand aus Silikonkleber (Marina) von der Präparationsöffnung isoliert und somit trockengehalten. Das Ganglion wurde durch Ringerlösung für Grillen (siehe Anhang) feucht gehalten. Ein kleiner harzbeschichteter Silberring, der mittels eines Mikromanipulators (siehe 2.2.1) von anterior unter dem Ganglion positioniert wurde, diente als Unterstützung des Ganglions. Das Ganglion wurde teilweise mit kleinen Kaktusstacheln (*Opuntia microdasys*) fixiert. In manchen Präparaten wurde ein zusätzlicher Silberring zu Stabilisierung des Präparates von ventral auf das Ganglion gesetzt. In etwa 25% der Versuche wurde das Ganglion für bis zu 40 Sekunden mit Enzymkristallen (Collagenase Typ IV, Sigma Aldrich)

behandelt, um die Ganglienhülle anzudauen. Zum Ableiten wurden hauptsächlich dünnwandige Glaselektroden (TW100F-4, WPI bzw. 100-TF10, Science Products) mit Widerständen zwischen 20 und 80 M Ω verwendet. Teilweise kamen auch dickwandige Glaselektroden (GB100-F10, Science Products) zum Einsatz, die Widerstände lagen hier über 100 M Ω . Die Elektrodenspitzen wurden mit einem Puller (P 97, Sutter Instruments) gezogen. Die Elektroden wurden mit 1-molarer Lithiumchloridlösung befüllt, in der Spitze befand sich eine gesättigte Lucifer Yellow Lösung (Sigma Aldrich), ebenfalls in Lithiumchlorid. Stichprobenartige Untersuchungen mit dem Rasterelektronenmikroskop ergaben, dass die Elektrodenspitzen Spitzendurchmesser unter 100 nm aufwiesen. Die Elektroden wurden mittels eines Mikromanipulators (Leitz) unter visueller Kontrolle mit dem Binokular (Leica MZ16) vorgetrieben.

Eine Übersicht über die betreffenden Teile des Zentralen Nervensystems beider Käfer inklusive Ableitorte und Ableitmethoden ist schematisch in Abbildung 2.1 dargestellt. Für *M. acuminata* bzw. *M. cuspidata* wird in dieser Abbildung eine Nomenklatur der Hauptnerven des fusionierten Meso-Metathorakalganglions eingeführt, die in dieser Arbeit im Folgenden verwendet wird.

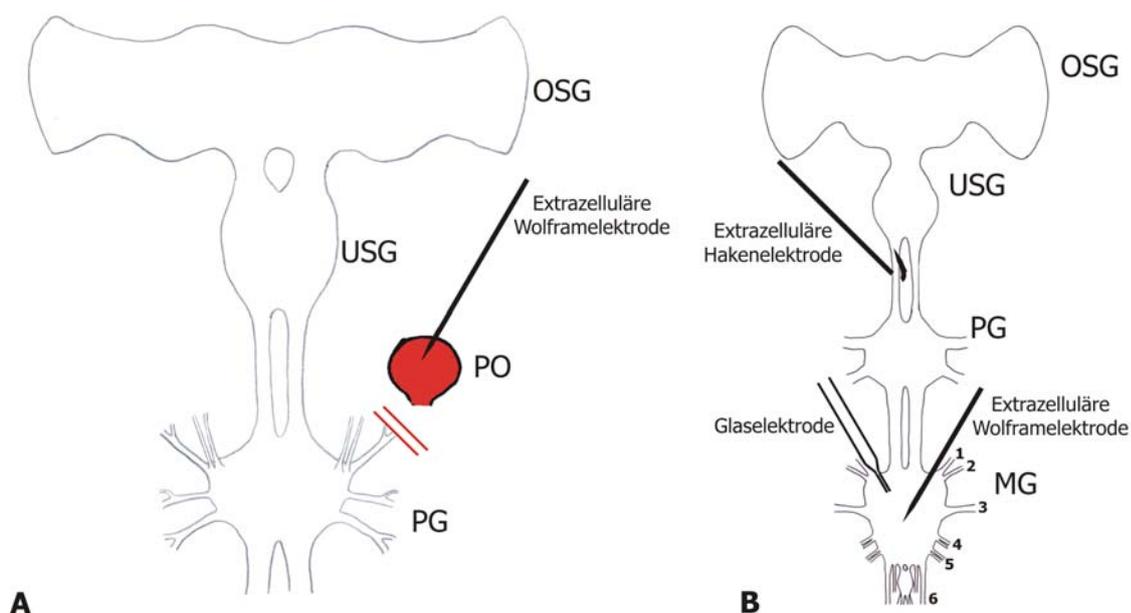


Abbildung 2.1: Schematische Übersicht über untersuchte Bereiche des Zentralen Nervensystems von *A. nigricans* (A) und *M. acuminata* bzw. *M. cuspidata* (B)
Eingezeichnet sind Ableitorte sowie Ableitmethoden.

Abkürzungen: OSG=Oberschlundganglion, MG=fusioniertes Meso-Metathorakalganglion, PG=Prothorakalganglion, PO=prothorakales Organ, USG=Unterschlundganglion

2.2.4 Reizgebung

Um eindeutig zu bestimmen, auf welche Reizmodalität die PTO-Sensillen von *A. nigricans* antworten, wurden mehrere Reizmodalitäten getestet. Dazu wurden akustische und mechanische Reize gegeben sowie die relative Luftfeuchte und die Kohlendioxidkonzentration verändert. Akustisch wurde durch Stimme, Händeklatschen und verschiedene computergenerierte Töne (100 Hz bis 40 kHz) gereizt. Als mechanische Stimuli dienten eine Wimper, ein Pinsel oder Druckluft. Als visuelle Stimuli diente das Licht einer Kaltlichtlampe und Handbewegungen. Als qualitative thermische Reize wurden Atemluft, Luft aus einem Haarföhn, ein breitbandiger Infrarotemitter (steady state emitter 2,7 W, Calsensors) und ein Infrarotlaser (1,15 μm (2,0 mW) sowie 3,39 μm (3,0 mW), Helium-Neon, Research Electro-Optics, Inc) verwendet.

Das Strahlprofil des Infrarotlasers wurde mit der sogenannten „knife edge“ Messung vermessen: eine glatte Metallkante (Rasierklinge) wurde mittels eines Mikromanipulators in Mikrometer-Schritten durch den Laserstrahl gefahren. Ein Powermeter (Ophir Nova, Head 3A) in definierter Entfernung wurde verwendet, um die auftreffende Laserleistung je Einzelschritt zu messen. Die Messung wurde sowohl in horizontaler als auch vertikaler Richtung durchgeführt (siehe Abb. 2.2).

Der Infrarotlaser wurde mittels einer Sensorkarte manuell möglichst genau auf die Infrarotorgane des Käfers ausgerichtet, indem die Sensorkarte möglichst nah vor die Organe gehalten wurde.

Da sich die Intensität des Infrarotemitters über die Entfernung abschwächt, wurde der Abstand zum Käfer hier manuell variiert um verschiedene Reizintensitäten zu erhalten. Die Leistung des Emitters für die jeweiligen Entfernungen wurde dem zugehörigen Datenblatt entnommen. Ein selbstgebauter Verschluss diente dazu, zeitlich definierte Reize geben zu können. Dieser Verschluss wurde manuell geöffnet und geschlossen. Das Öffnen und Schließen wurde mit einer Lichtschranke am Verschluss aufgezeichnet. Da die Dauer des Öffnungsvorgangs (und des Schließvorgangs) jedoch unterschiedlich lang dauerte, sind Reizbeginn und Reizende dennoch nicht exakt festgehalten.

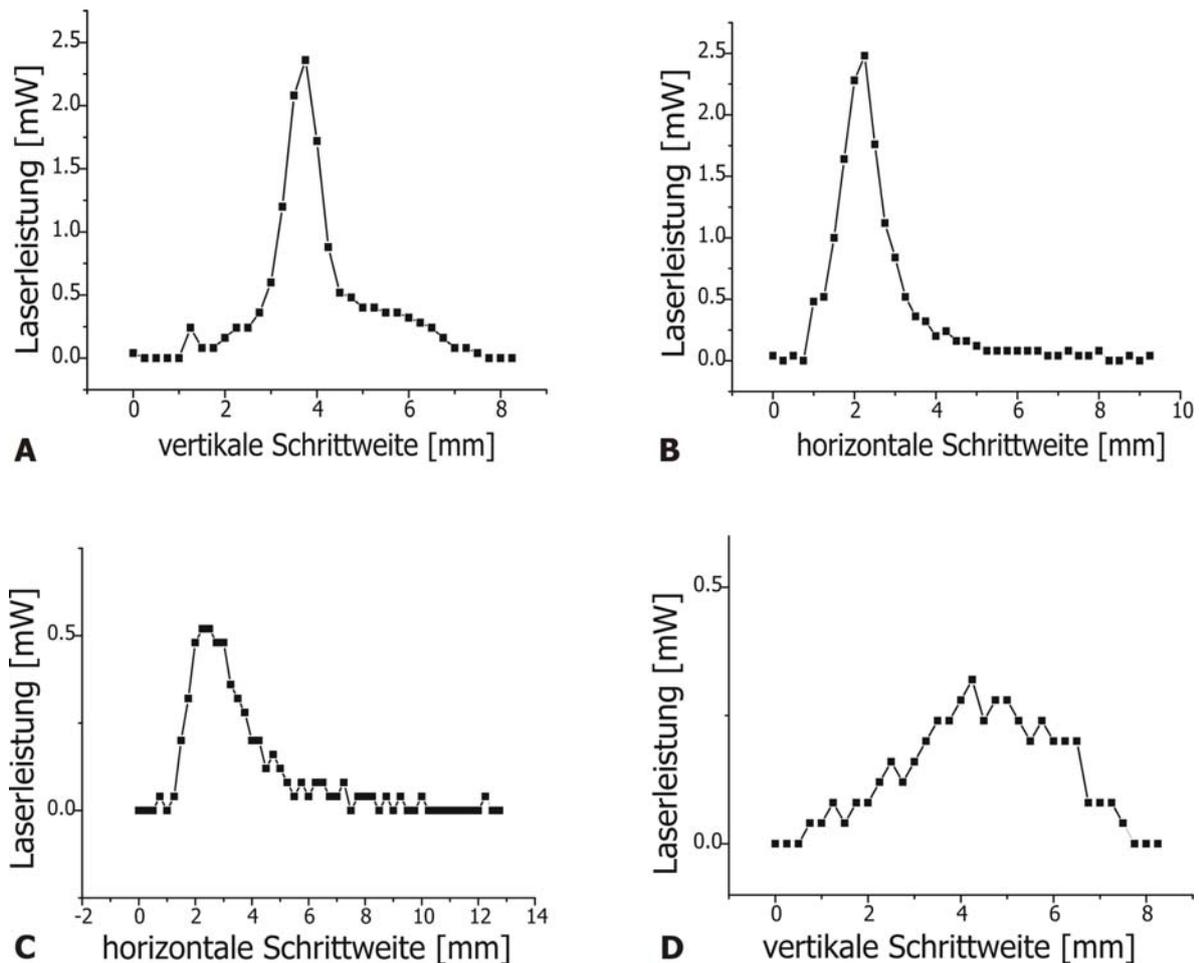


Abbildung 2.2: Vermessung des Strahlprofils des Infrarotlasers

A Für beide Wellenlängen (1,15 μm und 3,39 μm) vertikal, **B** für beide Wellenlängen horizontal, **C** für 3,4 μm vertikal und **D** für 3,4 μm horizontal. Es wurde je im Abstand von 60 cm zum Laser gemessen. Die Strahlprofile sind im Zentrum des Strahls bei einer Leistung von über 1 mW bei der Verwendung beider Wellenlängen (A und B) relativ symmetrisch.

Um die Infrarotorgane beider Käferarten quantitativ thermisch zu reizen wurde ein roter Helium-Neon Laser ($\lambda = 632,8 \text{ nm}$, 5,4 mW, Melles Griot) verwendet. Ähnliche Rotlichtlaser wurden in zahlreichen Versuchen erfolgreich als thermischer Stimulus bei infrarotsensitiven Schlangen und pyrophilen Käfern eingesetzt (De Cock Buning et al. 1981a, Schmitz und Trenner 2003). Neutrale Graufilter dienen zur Abschwächung der Laserintensität von 549,0 bis auf 1,2 mW/cm². Die Intensität des Lasers wurde mit einem Powermeter (Fieldmaster, Coherent, USA) gemessen. Der Laserstrahl wurde mittels zweier Spiegel positioniert (siehe Abb. 2.3). Da der Strahldurchmesser mit 1 mm deutlich größer ist, als der Durchmesser des prothorakalen Organs von *A. nigricans* und als der Durchmesser

des Infrarotorgans von *M. acuminata* und *M. cuspidata*, lagen die Organe stets im Zentrum des Strahlquerschnittes.

Ein computergesteuerter motorisierter Verschluss (Uniblit, VCM-D1, Vincent Association, USA) diente dazu, variable und zeitlich genau definierte Stimuli zu geben. Verschlusszeiten lagen unter 4 ms, gemessen mit einer high speed Kamera (1000 Bilder/Sekunde, Redlake MotionScope M1). Mittels der software Spike 2 (CED, Version 5.0.3) wurden Stimuli mit Puls- bzw. Pausendauern von bis zu mehreren Sekunden generiert werden. Der Verschluss begrenzte die kürzeste Puls- bzw. Pausendauer auf 25 ms.

Um zu testen, ob das Öffnen und Schließen des Verschlusses die Ableitungen mechanisch beeinflusst oder eine Antwort der abgeleiteten Einheit hervorruft, wurden Kontrollversuche durchgeführt, in denen der Laser ausgeschaltet war.

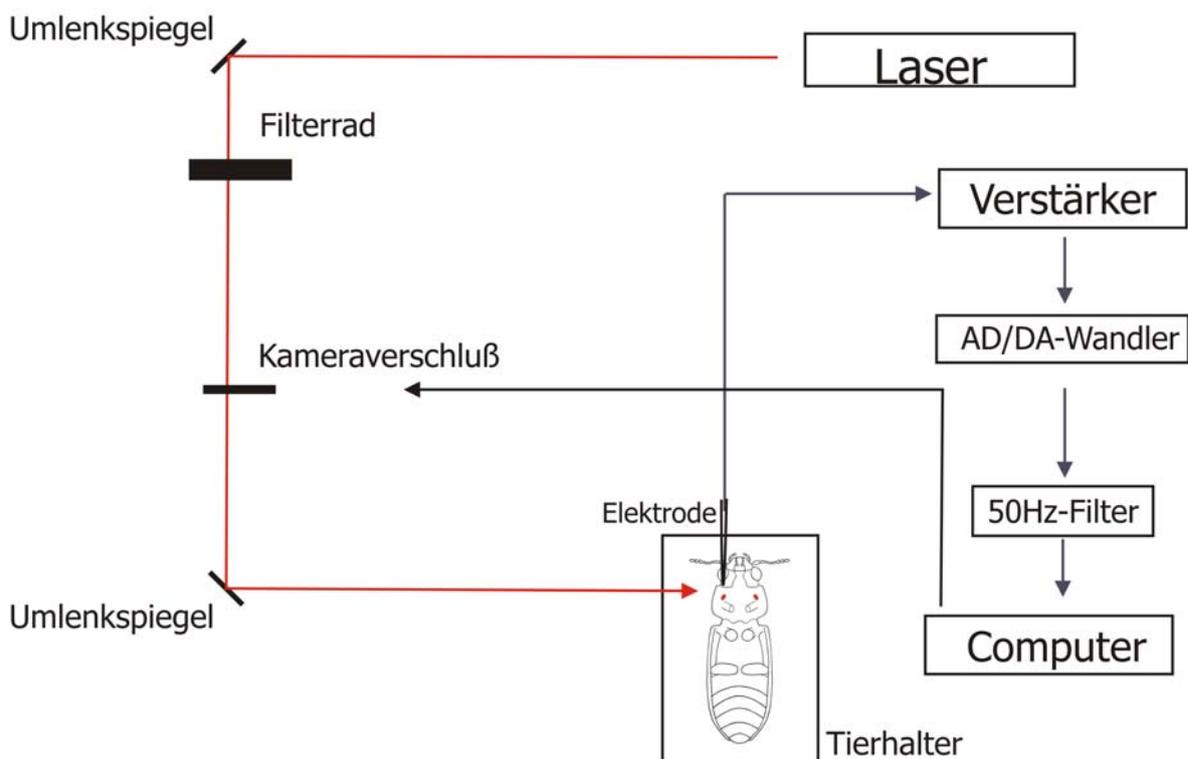


Abbildung 2.3: Schematische Zeichnung des Versuchsaufbaus für die Elektrophysiologie am Beispiel einer extrazellulären Ableitung an *A. nigricans* mit Rotlicht-Stimulation

Der Reiz (rot) wird mittels zweier Spiegel auf das prothorakale Organ ausgerichtet. Neutrale Graufilter wurden zur Abschwächung der Intensität verwendet. Ein Kameraverschluss ermöglicht eine zeitlich definierte Stimulation. Das abgeleitete Signal (blau) wird verstärkt, in einem Computer gespeichert und ausgewertet.

2.2.5 Datenaufzeichnung

Die neuronale Aktivität wurde je nach Ableitmethode mit einem extrazellulären Verstärker (DAM 80, WPI) oder einem intrazellulären Verstärker (BA-1S, npi) verstärkt. Der differentielle extrazelluläre Verstärker verstärkte das Signal 1000-fach. Die Filtereinstellungen wurden für die Ableitung von Spikes auf 300 Hz (Hochpass) und 3000 Hz (Tiefpass) gesetzt, für die Ableitung von graduierten Potentialen auf 1 Hz (Hochpass) und 100 Hz (Tiefpass). Der intrazelluläre Verstärker verstärkte das Signal 10-fach. Die neuronale Aktivität wurde auf einem Oszilloskop (TDS224, Tektronix) dargestellt, mit einem AD/DA-Wandler digitalisiert (CED 1401 mikro, Cambridge Electronic Design, UK) und auf Festplatte für die spätere Analyse gespeichert. Zur Verminderung der Störungen durch die Netzspannung wurde ein 50 Hz-Filter (HumBug, QuestScientific) zwischen Verstärker und Oszilloskop geschaltet (siehe Abb. 2.3).

Aufgrund des verwendeten extrazellulären Verstärkers muss das mit den Filtereinstellungen 1-100 Hz abgeleitete Signal (graduiertes Potential) jedoch mit Vorsicht interpretiert werden. Die AC-Kopplung des Verstärkers bewirkt, dass die Rate der Potentialänderung abgebildet wird. Das ursprüngliche Signal ist folglich monophasisch, die zweite Halbwelle ist artifiziellen Ursprungs (siehe Abb. 2.4). In dieser Arbeit wurde daher nur die erste Halbwelle des biphasischen Potentials ausgewertet. Die Amplitude der ersten Halbwelle gibt die Steilheit der Flanke des ursprünglich monophasischen Signals wieder.

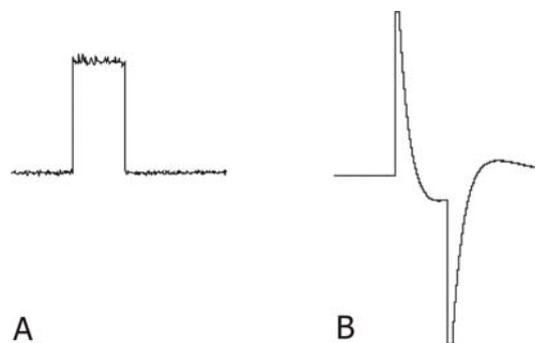


Abbildung 2.4: Veränderung des Originalsignals durch den Extrazellulärverstärker am Beispiel eines Rechteckpulses

Durch die Eigenschaften des Verstärkers wird bei Filtereinstellungen von 1-100 Hz (Bandpass) aus einem Rechteckpuls (A) ein biphasisches Signal (B).

2.2.6 Datenanalyse

Im Fall der extrazellulären Ableitungen in der Peripherie von *A. nigricans* wurde die neuronale Aktivität meist als Instantanfrequenz (ermittelt aus dem Abstand von zwei spikes, ohne zeitliches Mitteln) dargestellt. Im Folgenden wird die Aktivität der PTO-Sensillen ohne äußere Reizgebung als „Ruheaktivität“ bezeichnet. Um die Antworten von verschiedenen Sensillen vergleichen zu können, wurde die Ruheaktivität über mehrer Sekunden ermittelt, auf 100% gesetzt und als Basis für eine Normierung der Aktivität genutzt. Des Weiteren ging die Ruheaktivität in das Schwellenkriterium für eine stimulusbezogene Antwort mit ein. Eine Antwort lag bei einer Frequenz vor, die höher war als die Ruheaktivität plus die dreimalige Standardabweichung. Bei 500 ms langen Reizpulsen galt die maximale Spikefrequenz innerhalb der ersten 250 ms als phasische Antwort, die über die folgenden 250 ms gemittelte Frequenz als tonische Antwort. Bei Stimuli von über 500 ms Dauer galt die stabile Plateaufrequenz als tonische Antwort.

Korrelationskoeffizienten für unabhängige Variablen (beispielsweise Aktionspotential-Frequenz und Reizintensität) wurden mittels des Rangkorrelationstests nach Spearman bzw. dem Kruskal-Wallis-Test ermittelt, für abhängige Variablen (beispielsweise Latenzen der Antwort eines Sensillum auf zwei aufeinander folgende Reize) wurden der Wilcoxon-Test bzw. der Friedmann-Test verwendet.

Um die Präzision der Latenzen des ersten Spikes einer Antwort auf einen Reizpuls abzuschätzen wurde der Koeffizient der Varianz folgendermaßen ermittelt: die Standardabweichungen der Latenzen ($\sigma_{\Delta t}$) wurden nach den gemittelten Latenzen (Δt_m) gewichtet. Der Koeffizient der Variation lautet C_v : $C_v = \sigma_{\Delta t} / \Delta t_m$ (Holt et al 1996).

Zur Analyse der Daten wurden MS Excel (Version 2000), OpenOffice Calc (Version 2.0) und OriginPro (Version 7.5) verwendet, statistische Tests wurden mit SPSS (Version 11), Statist (<http://statist.wald.intevation.org>), dem „software package R“ (R Development Core Team, 2006) oder Winstat durchgeführt. Angegebene Signifikanzen sind immer zweiseitige Wahrscheinlichkeiten. Die Daten wurden mit

MS Excel (Version 2000), OriginPro (Version 7.5) oder Grace (<http://plasma-gate.weizmann.ac.il/Grace/>, Version 5.99.0) graphisch dargestellt.

2.3 Neuroanatomie

2.3.1 Anterograde Färbungen der Projektionen von Sinneszellen der Infrarotorgane und Sinneszellen der Antennen

Anterograde Färbungen der PTO-Sensillen bzw. der photomechanischen Sensillen wurden bei *A. nigricans* als und bei *M. acuminata* bzw. *M. cuspidata* am lebenden Käfer durchgeführt. Der Käfer wurde mit der Ventralseite nach oben aufgeklebt. Bei *A. nigricans* wurde die Kutikula des prothorakalen Organs mit einer Wolframnadel leicht verletzt. Bei *M. acuminata* bzw. *M. cuspidata* wurden die Kutikulaapparate einzelner Infrarotsensillen mit einer abgebrochenen Glaskapillare verletzt, teilweise brachen sie dabei heraus. Der in destilliertem Wasser gelöste Tracer (Neurobiotin, SP-1120, Vector; Lucifer Yellow, Sigma Aldrich) wurde im Folgenden auf das Infrarotorgan aufgebracht und die Präparationsstelle wurde mit Vaseline versiegelt. Um den Antennennerv von *A. nigricans* zu füllen wurde die Antennenbasis festgeklebt und die Antenne proximal durchtrennt. Mit Vaseline wurde ein Trog um die Präparationsstelle gespritzt. Dieser wurde mit in destilliertem Wasser gelöstem Tracer gefüllt und mit Vaseline abgedichtet.

Nach einer Laufzeit von bis zu 72 Stunden zwischen 4 und 8°C wurde das Nervensystem des Käfers herauspräpariert und dem verwendeten Tracer entsprechend prozessiert (siehe Anhang).

2.3.2 Färbungen der Somata mit Toluidinblau

Soma-Färbungen am thorakalen Ganzpräparat wurden bei *M. cuspidata* durchgeführt. Hierzu wurde das fusionierte Meso-Metathorakalganglion aus dem lebenden Käfer freipräpariert, direkt in frische Toluidinlösung überführt und entsprechend prozessiert (siehe Anhang).

2.3.3 Mikroskopie und Bildbearbeitung

Die prozessierten Präparate wurden durch eine Alkoholreihe entwässert und in Methylsalicylat mit einem Fluoreszenzmikroskop (Leitz DM RBE) analysiert. Die Präparate wurden mit Hilfe der integrierten Camera Lucida gezeichnet und mit einer Digitalkamera (Nikon Coolpix 5000) fotografiert. Einige Präparate von *A. nigricans* wurden an der RWTH Aachen mit einem konfokalen Fluoreszenzmikroskop (Leica TCS SP2) untersucht.

Die Bildbearbeitung erfolgte mit Adobe Photoshop (Version 7.0), ImageJ (Version 1.36) und Corel Draw (Version 12).

2.4 Freilanduntersuchungen zu Ökologie und Verhalten von *A. nigricans*

Beobachtungen an *A. nigricans* im Freiland fanden im Februar 2004, 2005 und 2006 im Raum Perth, Westaustralien statt. Das Flugverhalten, Paarungsverhalten und Eiablageverhalten wurden auf den frischen Brandflächen beobachtet. Die Fundorte der Käfer wurden unter anderem mittels einer Infrarotkamera charakterisiert (siehe 2.4.1). Im Hinblick auf eine mögliche Zucht wurden während der Gefangenschaft weiterhin Eiablage und Larvalentwicklung beobachtet.

2.4.1 Thermografie

Mit einer Infrarotkamera (IR FlexCam, Goratec) wurden Daten über die Temperaturverteilungen auf den frischen Brandflächen erhoben. Die Emissivität der Umgebung wurde manuell auf 0,92 gesetzt. Dieser Wert ist ein Mittelwert aus Emissivitätswerten von sandigem Boden und Eukalyptusrinde und wurde aus Daten der MODIS UCSE emissivity library (Institute for Computational Earth System Science) ermittelt. Als Kontrolle der Daten, die die Infrarotkamera lieferte, wurde die Temperatur zusätzlich mit einem Thermometer gemessen. Ein Zeigergerät aus Aluminium mit einer Pfeilspitze diente auf den Thermogrammen (siehe Abb. 2.5) einerseits zur Positionsmarkierung einzelner Käfer, andererseits auch als Maßstab (Kantenlänge der Pfeilspitze: 5 cm).

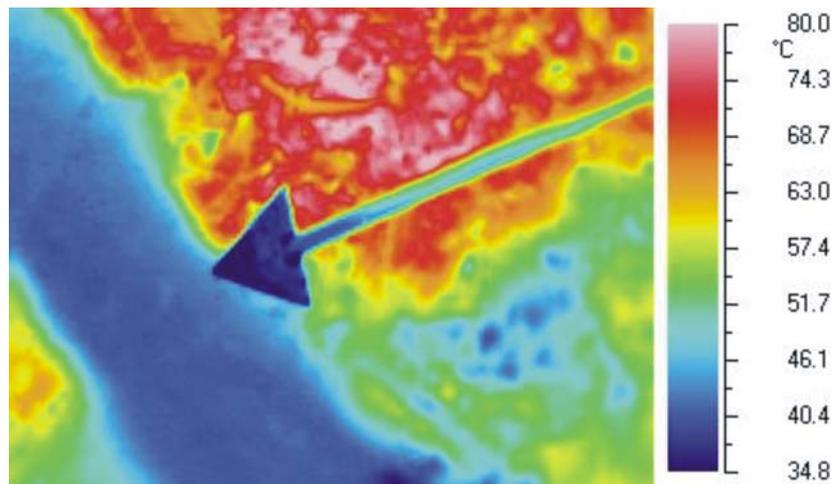


Abbildung 2.5: Beispiel eines Thermogramms

Die von der Infrarotkamera gemessenen Temperaturen werden farbig codiert (siehe Skala rechts). Das gekühlte pfeilförmige Zeigewerkzeug dient sowohl zur Markierung von Käferpositionen als auch als Maßstab (Kantenlänge 5 cm). Hier zeigt der Pfeil auf einen Baumstamm über heißem Untergrund.

2.4.2 Habitatbeschreibungen

Neun von *A. nigricans* angeflogene „Hot Spots“ (siehe 1.) wurden bezüglich ihrer Größe, Form und maximaler Temperatur anhand von Thermogrammen analysiert. Da die Hot Spots in der Regel keine gleichmäßige Form aufwiesen, wurden ihre Grenzen folgendermaßen definiert: Jedes Pixel in den Thermogrammen, das eine Temperatur über 80°C aufwies, wurde als dem Hot Spot zugehörig gewertet. 80°C wurde willkürlich als Grenzwert gewählt, da davon auszugehen ist, dass diese Temperatur lebensbedrohlich für die Käfer ist. Um die Größe der Hot Spots abschätzen zu können, wurde ein Raster über die Thermogramme gelegt und die Fläche mittels Auszählen der im Hot Spot liegenden Rechtecke ermittelt. Die Rechtecklänge des Rasters wurde so angepasst, dass sie immer 2 cm auf der Brandfläche entsprach. Für eine weitere Abschätzung der Größe wurde, anhand des Thermogramms, dem Hot Spot eine Ellipse angepasst und deren Durchmesser ermittelt. Die ermittelten Flächengrößen erlauben eine vergleichende Abschätzung der Größen der Hot Spots. Es wurden alle Käfer gezählt, die an den verschiedenen Hot Spots landeten („Landing“). Um einen Vergleich der Hot Spots zu ermöglichen, wurde die Anzahl der landenden Käfer durch die jeweilige Beobachtungszeit geteilt.

2.4.3 Analyse des Verhaltens im Freiland

Das Verhalten von 113 Käfern an den neun analysierten Hot Spots wurde beobachtet. Zu diesem Zweck wurde es in fünf Kategorien eingeteilt: „Landing“, „Appearance“, „Hiding“, „Search Run“ und „Take Off“. Hierbei meint „Landing“, dass ein Käfer beim Anflug beobachtet wird und in der Umgebung eines Hot Spot landet; „Appearance“, dass sich ein Käfer bereits in der Nähe eines Hot Spots aufhält und aus dem lockeren Aschematerial auftaucht; „Search Run“ bedeutet, dass ein Käfer nah dem Hot Spot umherkrabbelt; „Hiding“ bedeutet, dass ein Käfer für mehr als 30 Sekunden unter Asche oder unter Holzstücken in der Nähe des Hot Spots verschwindet und „Take Off“ meint den Abflug eines Käfers von der Beobachtungsstelle. Für jeden beobachteten Käfer wurden ein bis mehrere Thermogramme aufgenommen. Das Zeigergerät wurde verwendet, um die Positionen der Käfer auf den Thermogrammen zu markieren.

Um zu testen, ob visuelle Einflüsse eine Rolle bei der Auswahl von Hot Spot spielen, wurde ein Hot Spot künstlich verändert. Während der Datenaufnahme war der betreffende Hot Spot voll besonnt. Nach der Datenaufnahme wurde der Hot Spot teilweise künstlich beschattet. Danach erfolgte eine erneute Datenaufnahme.

2.4.4 Datenanalyse

Für die Analyse der Thermogramme wurden das Programm Thermography studio (Goratec, Version 4.7) und MS Excel (Version 2000) verwendet. Die Daten wurden mit OriginPro (Version 7.5) graphisch dargestellt und mit SPSS (Version 11) statistisch analysiert.

3 Ergebnisse

3.1 Untersuchungen an *A. nigricans*

3.1.1 Elektrophysiologische Charakterisierung der PTO-Sensillen

3.1.1.1 Allgemeine Charakteristika

Insgesamt wurden elektrophysiologische Versuche an 96 Tieren durchgeführt. Je nach Tier wurden ein bis vier Ableitungen an verschiedenen Ableitorten erreicht. In den meisten Fällen wurden unmittelbar nach der leichten Penetration der Kutikula des prothorakalen Organs Spikes eines einzelnen Sensillums registriert. Anhand gleichmäßiger Spike-Form und gleichbleibender Spike-Amplitude ließ sich dies in der Regel feststellen. Die Amplitude der abgeleiteten Spikes lag meist zwischen 0,3 und 1 mV. In einigen Fällen wurde die Aktivität eines weiteren Sensillums registriert. In der Regel war die Amplitude dieser Spikes jedoch deutlich geringer ($<200 \mu\text{V}$) und somit waren beide Sensillen anhand der Spikeformen gut zu unterscheiden. Einige Ableitungen waren unstabil und nur wenige Minuten haltbar, in den meisten Fällen waren die Ableitungen jedoch über Stunden hinweg stabil.

Abbildung 3.1 zeigt exemplarisch vier Originalspuren aus vier verschiedenen Ableitungen. Abbildung 3.1 A zeigt ein typisches Beispiel eines Sensillums, das eine relativ regelmäßige Ruheaktivität zeigte (siehe 2.2.6). Abbildung 3.1 B zeigt ein Beispiel eines Sensillums, dessen Ruheaktivität unregelmäßig war. Neben dem regelmäßigen und dem unregelmäßigen Entladungsmuster wurde auch von 14 Sensillen abgeleitet, die ein zwar regelmäßiges, jedoch „burst-artiges“ Entladungsmuster zeigten, d.h. eine Entladung von mehreren Spikes in schneller Folge mit anschließender Pause der Spike-Aktivität. Abb. 3.1 C und D zeigen Beispiele von Zellen, die in Ruhe burst-artig feuerten. Einige Zellen wie in Abbildung 3.1 C gezeigt, feuerten regelmäßige bursts von je drei bis sieben Spikes. Die in Abbildung 3.1 D gezeigte Zelle ist ein Beispiel für eine Ableitung von zwei verschiedenen Sensillen, die anhand der Spike-Amplitude zu unterscheiden

sind: die kleinere Einheit feuert burstartig mit bis zu vier Spikes je burst, die Größere Einheit mit relativ regelmäßigen Einzelspikes.

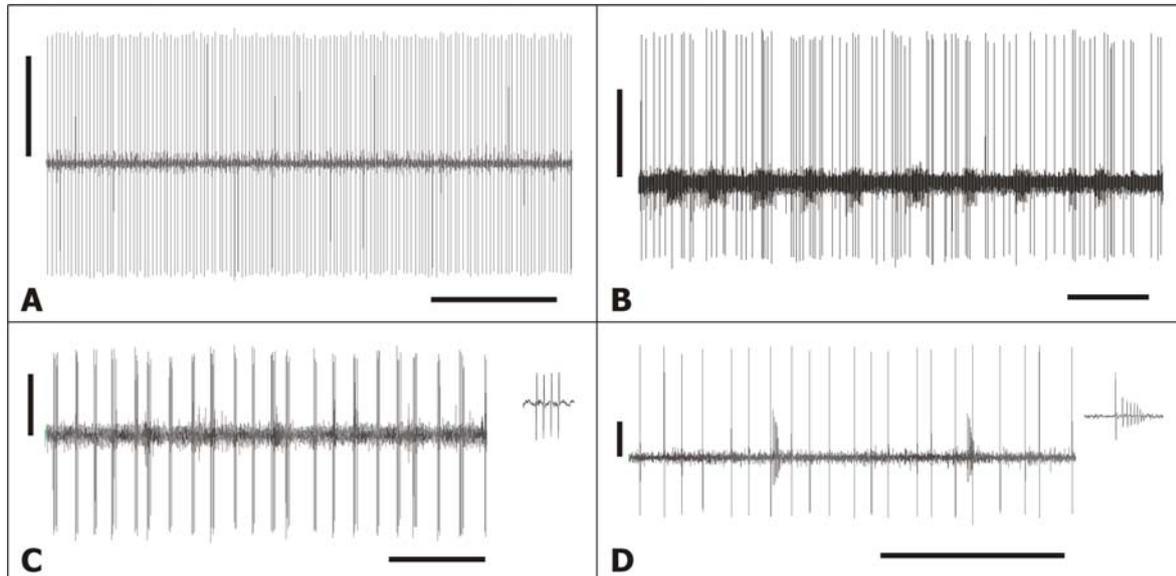


Abbildung 3.1: Beispiele extrazellulärer Ableitungen am prothorakalen Organ von *A. nigricans* bei Raumtemperatur

A Die Originalableitung eines Sensillums zeigt eine gleichmäßige Ruheaktivität (vertikaler Balken 1 mV, horizontaler Balken 2 s).

B Im Gegensatz dazu feuert dieses Sensillum in Ruhe unregelmäßig (vertikaler Balken 0,2 mV, horizontaler Balken 4 s).

C Beispiel eines Sensillums, das ein burst-artiges Entladungsmuster zeigt. Mit Abständen von 150 bis 200 ms feuerte diese Zelle bursts von bis zu sieben Spikes mit bis zu 15 ms Inter-Spike-Intervall. Das Inset zeigt Details eines bursts (Balken 200 μ V und 1 s).

D Beispiel einer Ableitung von zwei Sensillen, die anhand ihrer Spike-Amplituden unterscheidbar sind. Das Sensillum mit der größeren Amplitude zeigt eine regelmäßige Ruheaktivität, jenes mit kleinerer Amplitude feuert im Abstand von etwa 1000 ms bursts von bis zu vier Spikes mit bis zu 10 ms Inter-Spike-Intervall. Das Inset zeigt Details eines bursts (vertikaler Balken 200 μ V, horizontaler Balken 1 s).

Es zeigte sich, dass Zellen, die eine unregelmäßige Ruheaktivität aufwiesen, kaum auf Reize reagierten. In den meisten dieser Fälle waren die Ableitungen unstabil und konnten nicht ausreichend lange gehalten werden. Dies gilt auch für die Zellen, die ein burst-artiges Entladungsmuster zeigten. Bei Bewegungen der Elektrode traten teilweise Übergänge von regelmäßigen Einzelspikes zu burst-artigem Entladungsmuster auf und umgekehrt.

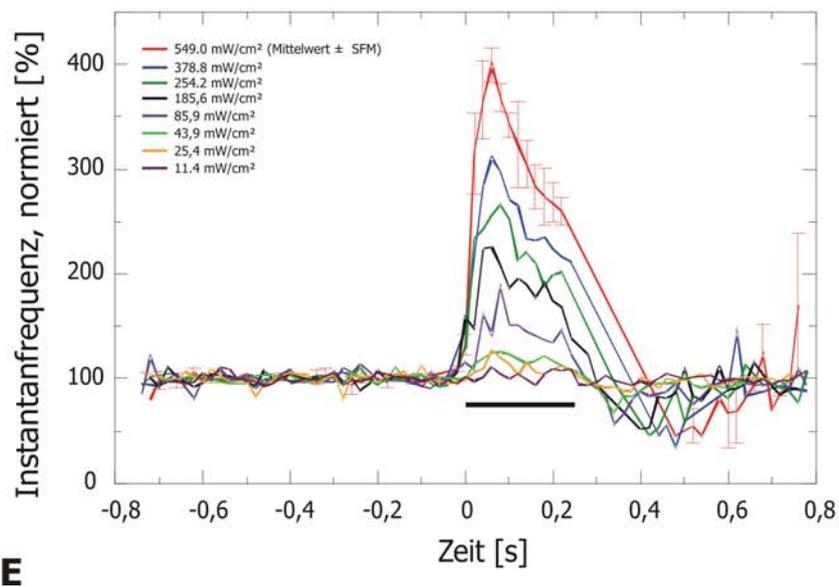
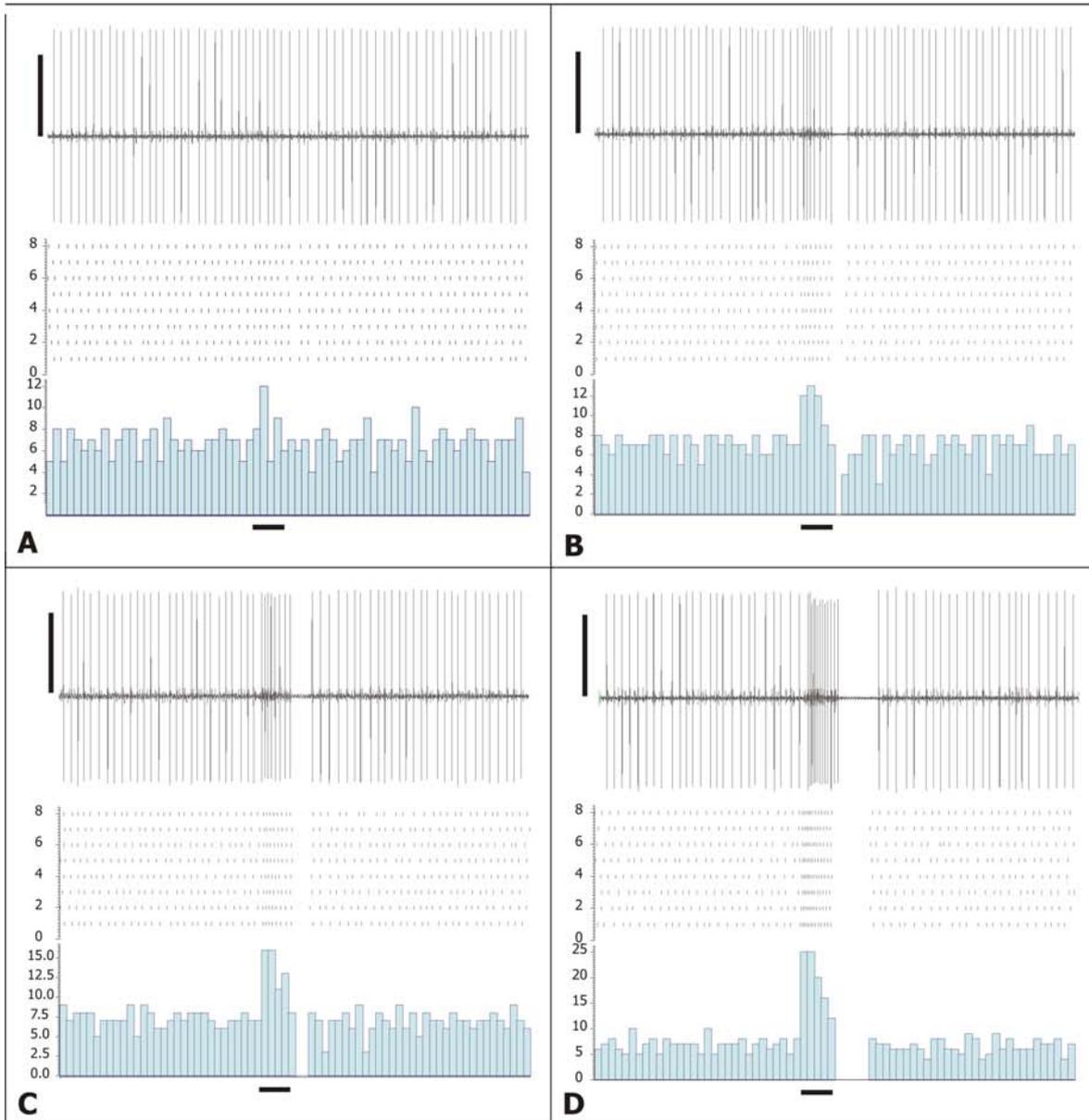
Aufgrund dieser Beobachtungen wurden nur Zellen in die Auswertung einbezogen, die eine regelmäßige Entladungsrate und eine konstante Spike-Amplitude aufwiesen und deren Ableitung über viele Minuten stabil gehalten werden

konnten. Die im Folgenden gezeigten Daten basieren auf 82 Ableitungen von PTO-Sensillen von 51 Tieren. Die Entladungsrate der Sensillen lag in Ruhe bei Raumtemperatur (21-23°C) zwischen 8,7 und 18,8 Hz ($14,9 \pm 3,8$; Mittelwert und Standardfehler), wobei die jeweilige Entladungsrate der einzelnen Zellen für die Dauer des Experiments stabil blieb.

Sämtliche verwendeten nicht-thermischen Test-Stimuli führten nicht zu einer Änderung der Ruheaktivität, während hingegen alle verwendeten thermischen Stimuli eine deutliche Frequenzänderung während der Reizung hervorriefen (siehe 2.2.4).

3.1.1.2 Intensitätsfunktionen

Typische Antworten einer Zelle auf Bestrahlung mit einem Rotlichtlaser (siehe 2.2.4) sind in Abbildung 3.2 A-D beispielartig für vier Intensitäten (32,9, 122,4, 185,6, und 549,0 mW/cm²) dargestellt. Das Zeitfenster zeigt ein Intervall von 1,5 Sekunden vor dem Reiz, die Reizdauer (250 ms) und 1,75 Sekunden Nachlauf. Kontrollversuche (siehe 2.2.4) belegten, dass keine Änderung der Ruheaktivität durch Störungen wie beispielsweise Öffnen und Schließen des Kameraverschlusses, erfolgte. Bei Bestrahlung mit dem Rotlichtlaser kam es bei Reizbeginn zu einer typisch phasisch-tonischen Antwort, die während der gesamten Stimulation anhielt. Die Antwortstärke war dabei intensitätsabhängig. Bei Reizung mit 32,9 mW/cm² (siehe Abb. 3.2 B) erhöhte sich die Rate von 19,6 (Ruheaktivität) auf 22,1 Hz während des Reizes, bei 549,0 mW/cm² von 19,3 (Ruheaktivität) auf 74,4 Hz. Nach Ende der Stimulation kam es zu einer deutlichen Unterdrückung der Spikes. Die Dauer dieser Spike-Unterdrückung war ebenfalls intensitätsabhängig. Bei hohen Intensitäten konnte sie bis zu 500 ms anhalten. Nach dieser Phase der Spike-Unterdrückung kehrte die Aktivität zu Frequenzen zurück, die der Ruheaktivität vor dem Reiz entsprachen.



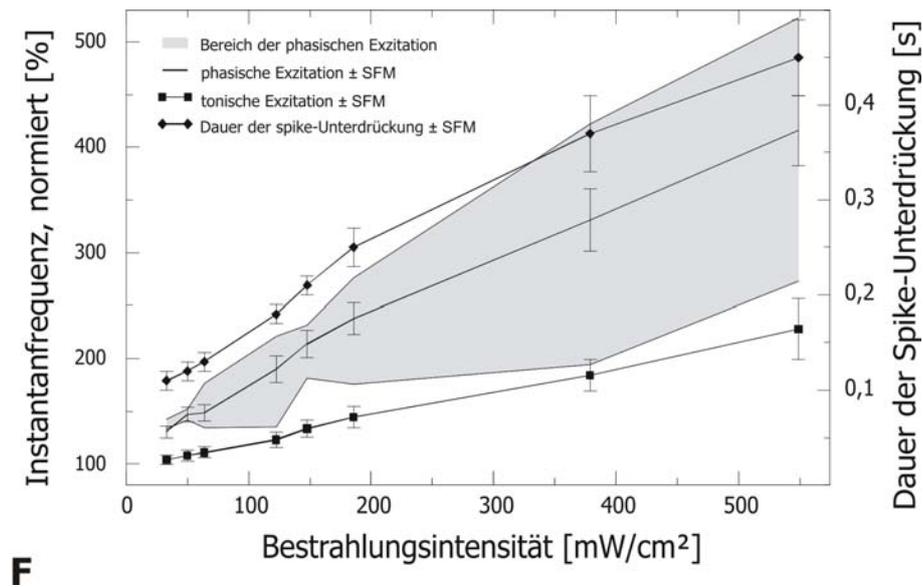


Abbildung 3.2: Intensitätsabhängigkeit der Antwort der Sensillen von *A. nigricans* bei Bestrahlung des prothorakalen Organs mit einem Rotlichtlaser

A-D Originalspuren einer Ableitung mit dazugehörigem Rasterplot und Peristimulustimehistogramm (PSTH) mit je acht Durchläufen (vertikale Balken jeweils 1 mV, horizontale Balken 250 ms, entspricht Stimulationsdauer). Stimulation mit einer Intensität von **A**: 32,9 mW/cm^2 , **B**: 122,4 mW/cm^2 , **C**: 185,6 mW/cm^2 und **D**: 549,0 mW/cm^2 .

E Intensitätsabhängigkeit der Antworten von acht Sensillen bei acht verschiedenen Intensitäten gemittelt über acht Reizgebungen. Die Zellen wurden anhand der Ruheaktivität normiert (Balken 250 ms, entspricht Stimulationsdauer), der Standardfehler ist exemplarisch für die höchste Intensität gezeigt. SFM=Standardfehler des Mittelwerts

F Intensitätskennlinien für phasische und tonische Antwort und Intensitätsabhängigkeit der Dauer der post-Stimulus Spike-Unterdrückung, gemittelt über sechs PTO-Sensillen. SFM=Standardfehler des Mittelwerts

Um die Intensitätsabhängigkeit der Antworten der Sensillen näher zu charakterisieren, wurden Daten von acht Sensillen sechs verschiedener Käfer normiert (siehe 2.2.6). Das in Abbildung 3.2 E gezeigte Zeitfenster beinhaltet ein Intervall von 800 ms vor Reizbeginn, den Stimulus von 250 ms und 550 ms Nachlauf. Die hier gezeigten acht Intensitäten liegen zwischen 11,4 und 549,0 mW/cm^2 . Der Zeitverlauf der Antwort entspricht dem in Abbildungen 3.2 B-D gezeigten: Eine phasisch-tonische Antwort erfolgt auf Bestrahlung des prothorakalen Organs, gefolgt von einer Phase der Spike-Unterdrückung. Die Dauer dieser Spike-Unterdrückung war ebenfalls deutlich intensitätsabhängig und lag zwischen 110 und 310 ms. Die höchste erreichte Frequenz (bei der höchsten verwendeten Intensität von 549 mW/cm^2) lag etwa bei 74 Hz und entspricht somit 480% der Ruheaktivität. Latenzen der maximalen Erregung (Latenz des Spikes mit dem kürzesten Inter-Spike-Intervall zum vorigen Spike) lagen zwischen 80 und

110 ms. Die kürzesten Latenzen des ersten Spikes von 20 ms wurden bei der höchsten Intensität von 549 mW/cm² gemessen.

Das Schwellenkriterium für eine Antwort auf Bestrahlung mit dem Rotlichtlaser wurde nach 20 bis 40 ms erreicht (siehe 2.2.6). Die niedrigste Intensität, die zu einer dem Schwellenkriterium entsprechenden Antwort führte, lag bei 25,4 mW/cm² während bei 11,4 mW/cm² keine klare Antwort mehr festzustellen war. Daher liegt der gemittelte Schwellenwert der untersuchten acht Sensillen zwischen 11 und 25 mW/cm². In Abbildung 3.2 F sind die maximalen Frequenzen (phasischer Antwortteil), die durchschnittlichen Frequenzen (tonischer Antwortteil) und die durchschnittliche Dauer der post-Stimulus Spike-Unterdrückung gegen die Bestrahlungsintensitäten aufgetragen. Hier wurden 500 ms lange Stimuli verwendet, um den tonischen Anteil der Antwort analysieren zu können (siehe 2.2.6). Alle drei genannten Parameter nahmen mit steigender Stimulusintensität zu. (Spearman: $\rho=0,91$; 0,83 und 0,93 für jeweils phasische und tonische Exzitation und die Spike-Unterdrückung, $p<0,001$; $n=$ je 56, 56 bzw. 48; $N=$ je 7, 7 bzw. 6 Sensillen). Der Kurvenverlauf zeigt, dass mit der höchsten verwendeten Stimulus-Intensität (549,0 mW/cm²) keine Sättigung der Antwort des PTO-Sensillum erzielt werden konnte. Die Daten lassen sich jedoch anhand von linearen Beziehungen der drei genannten Parameter zu der Stimulusintensität quantifizieren. Die Regressionskurve zur phasischen Antwort lautet: $f(x)=121,9+0,54x$ ($R^2=0,89$). Der zu 100% Instantanfrequenz (Ruheaktivität) korrelierende Intensitätswert liegt im negativen Bereich der x-Achse, so dass keine Aussage über den Schwellenwert möglich ist. Die ermittelte Regressionskurve zur tonischen Antwort lautet: $f(x)=96,4+0,23x$ ($R^2=0,78$). Diese Kurve erlaubt eine Abschätzung des Schwellenwerts für die tonische Exzitation, da der zu 100% Instantanfrequenz korrespondierende Wert bei einer Intensität von 12,5 mW/cm² liegt. Dieser Schwellenwert liegt im unteren Bereich des zuvor ermittelten Schwellenintervalls (s.o.). Der grau schattierte Bereich in Abbildung 3.2 F stellt den Antwortbereich der maximalen Frequenzen dar, den die einzelnen Sensillen abdecken. Vergleicht man die Intensitätsabhängigkeiten der Sensillen, so unterscheiden sie sich sowohl bezüglich der Frequenz der Ruheaktivität als auch bezüglich der Steigungen der Exzitationskurven. Dasjenige Sensillum, welches die schwächste Antwort auf den Stimulus zeigte (untere gestrichelte Linie in

Abb. 3.2 F) zeigte vor Reizbeginn eine Frequenz von 9,7 Hz und erreichte eine maximale Frequenz von 41,9 Hz. Das Sensillum mit der stärksten Antwort hingegen zeigte eine Ruheaktivität von 13,8 Hz und erreichte bei Stimulation 69,2 Hz. Die dazugehörigen Steigungen der Regressionskurven lagen bei 0,06 und 0,1 Hz/(mW/cm²). Es konnte keine Korrelation zwischen der Ruheaktivität und der maximalen Feuerrate festgestellt werden (Spearman $\rho=0,47$; $p=0,01$; $N=14$). Die Frage stellt sich, ob unterschiedliche Klassen von Sensillen existieren, deren Bestfrequenzen bei verschiedenen Intensitäten liegen. Um dies herauszufinden, wurden die erreichten Maximalfrequenzen bei drei verschiedenen Intensitäten zwischen den Sensillen verglichen. Das Ergebnis zeigt, dass inter-individuelle Unterschiede bestehen (Kruskal-Wallis Test, 25 mW/cm²: $H=38,9$; $p<0,001$; 186 mW/cm²: $H = 43,1$; $p<0,001$; 549 mW/cm²: $H=45,2$; $p<0,001$; $N=6$, $n=8$ für jede Intensität).

3.1.1.3 Antworten auf langanhaltende Stimuli

Um herauszufinden, wie die Sensillen von *A. nigricans* auf konstante, langanhaltende Stimuli reagieren, wurde die Reaktion auf Stimuli von 3 Sekunden Dauer getestet. Abbildung 3.3 A zeigt eine Originalspur bei der höchsten Intensität von 549,0 mW/cm². Das Zeitfenster beinhaltet 1,5 Sekunden vor Reizbeginn, die 3 Sekunden andauernde Stimulation und 2 Sekunden Nachlauf. Der Rasterplot und das Peristimulustimehistogramm (PSTH) über fünf Durchläufe zeigen, dass die Antwort grundsätzlich dem aus Abbildung 3.2 bekannten Antwortschema entspricht: Auf eine phasisch-tonische Antwort bei Reizbeginn (Maximum nach etwa 50 ms) folgt nach Reizende eine post Stimulus Spike-Unterdrückung von 380 ms Dauer. Abbildung 3.3 B zeigt, ähnlich Abb. 3.2 E, den Frequenzverlauf bei fünf überschwelligen Intensitäten (63,7, 122,4, 185,6, 378,8 und 549,0 mW/cm²) über fünf Sensillen gemittelt. Die prozentuale Normierung erfolgte wieder mittels der Ruheaktivität.

Die konstante, über 3 Sekunden anhaltende, Reizung zeigt, dass innerhalb etwa einer Sekunde nach Reizbeginn ein Plateau der Antwortstärke erreicht wird. Diese Abnahme in der Antwortstärke $f(t)$ (t =Zeit) kann für höhere Intensitäten (185,6 bis 549,0 mW/cm²) mit der Formel $f(t)=a+b\cdot\log(t)$ beschrieben werden

($0,58 \leq R^2 \leq 0,87$). Das Plateau in der Antwortstärke hielt für mindestens 10 Sekunden an (Daten hier nicht gezeigt). Für niedrige Intensitäten ließen sich keine aussagekräftigen Regressionskurven ermitteln. Wie in den bereits vorgestellten Intensitätskennlinien für kurze Reize (siehe Abb. 3.2 E) nahm die Antwortstärke sowohl der tonischen als auch der phasischen Antwort mit steigender Intensität zu. In Abbildung 3.3 C ist das Verhältnis der phasischen zu der tonischen Feuerfrequenz (siehe 2.2.6) gegen die Bestrahlungsintensität aufgetragen (Daten aus Abbildung 3.3 B). Dieses Verhältnis steigt mit zunehmender Reizintensität an, der phasische Antwortteil nimmt folglich stärker ab als der tonische.

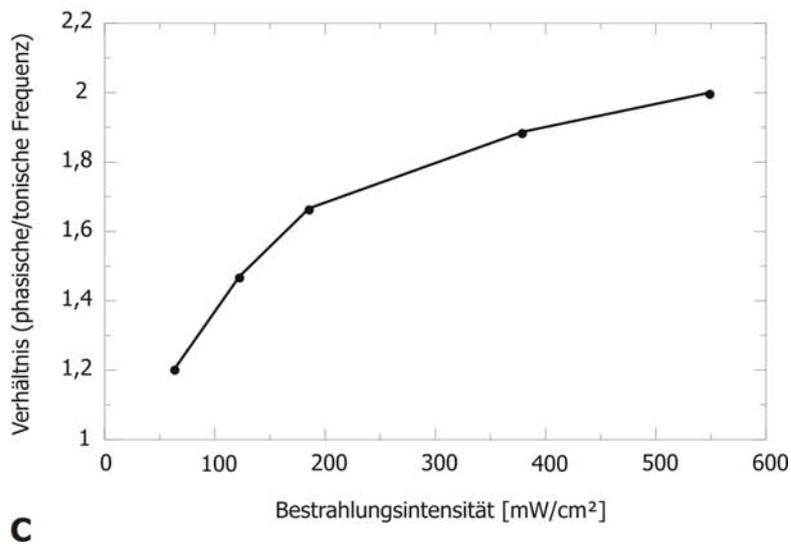
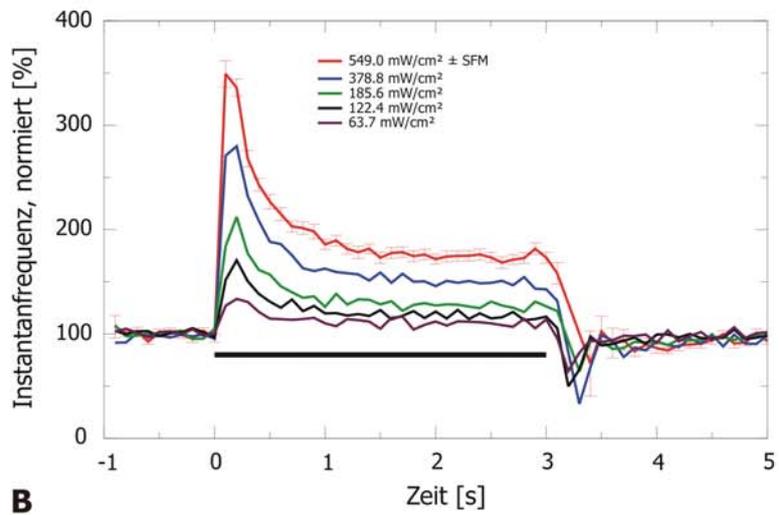
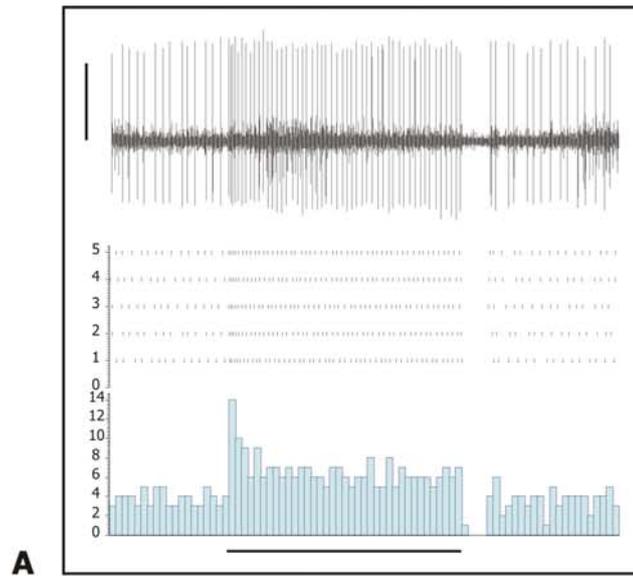


Abbildung 3.3: Antworten der Sensillen von *A. nigricans* auf eine drei Sekunden anhaltende Stimulation mit Rotlicht

A Beispiel einer Originalspur mit zugehörigem Rasterplot und Peristimulustimehistogramm (PSTH) (vertikaler Balken 200 μV , horizontaler Balken 3 s, entspricht Stimulationsdauer).

B Zeitverlauf: Normierte Instantanfrequenz von fünf Sensillen für fünf Intensitäten gegen die Zeit aufgetragen (Balken 3 s, entspricht Stimulationsdauer). Die Standardfehler sind nur bei einer Intensität exemplarisch gezeigt. SFM=Standardfehler des Mittelwerts

C Verhältnis der phasischen zur tonischen Antwort aufgetragen gegen die Intensität.

3.1.1.4 Zeitliche Charakteristika: Effekte der Pausendauer

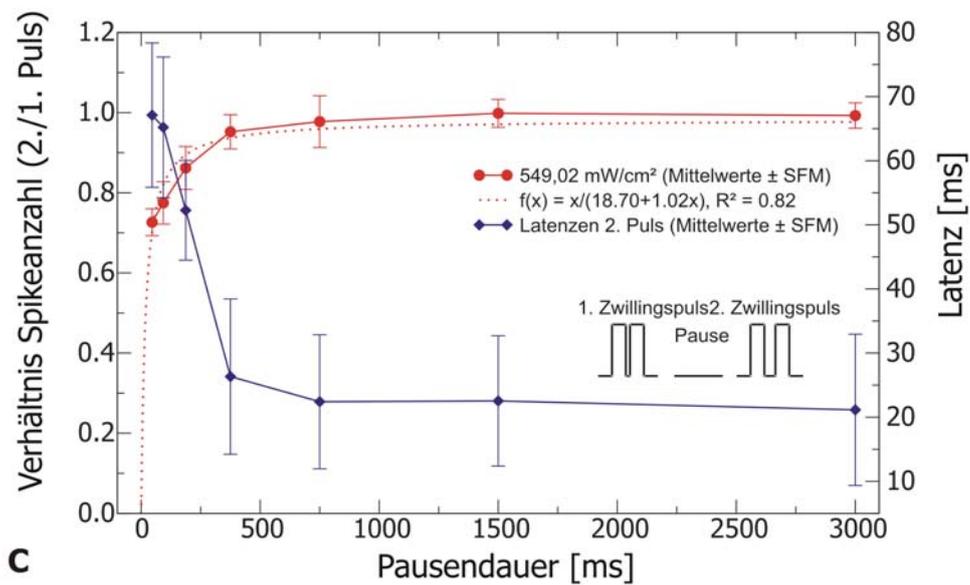
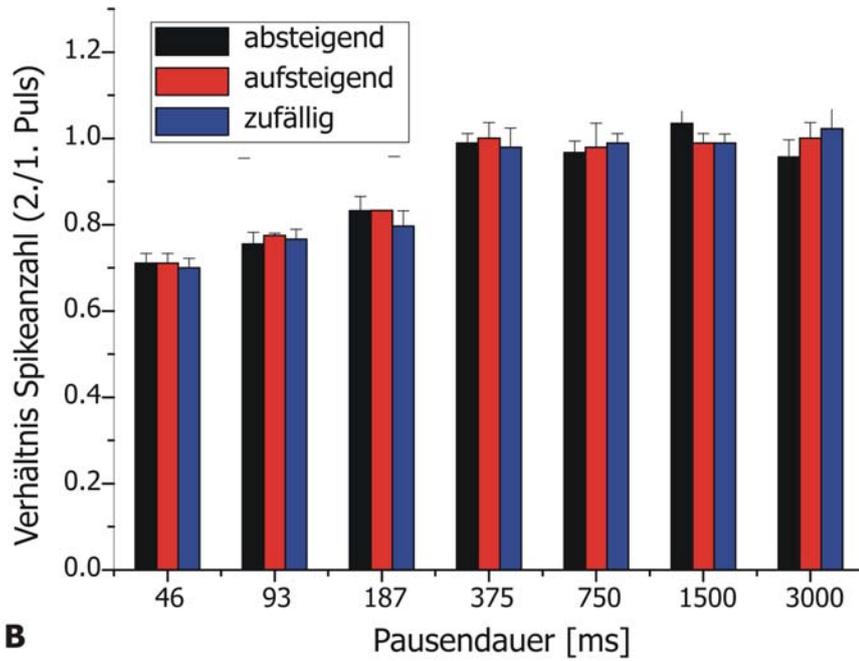
Auf der frischen Waldbrandfläche fliegt *A. nigricans* nicht über einheitlichen, sondern über wechselnden Oberflächentemperaturen. Aufgrund dessen stellt ein länger andauernder konstanter Reiz vermutlich keinen natürlichen Stimulus dar.

Es stellt sich die Frage, wie Pausen zwischen zwei Stimuli die Antworteigenschaften der PTO-Sensillen beeinflussen. Um dies zu testen wurden „Zwillings-Pulse“ gegeben: „Puls 1“ und „Puls 2“ (siehe Abb. 3.4 A). Diese Zwillings-Pulse waren bezüglich der Dauer (500 ms) und der Intensität (549,0 mW/cm^2) identisch. Die Pausendauer zwischen Puls 1 und Puls 2 wurde zwischen 46 und 3000 ms variiert (46, 93, 187, 375, 750, 1500 und 3000 ms), das Intervall zwischen den Zwillings-Puls-Paaren war immer 2 Sekunden. Diese Zeit reichte aus, um die Sensillen wieder zu ihrer Ruheaktivität zurückkehren zu lassen. Somit wurde gewährleistet, dass für jedes Reizpaar identische Bedingungen herrschten.

Die variablen Pausendauern wurden entweder in aufsteigender Reihenfolge (46-3000 ms), in absteigender Reihenfolge (3000 - 46 ms) oder in zufälliger Reihenfolge (187, 1500, 46, 750, 3000, 375 und 93 ms) präsentiert. Abbildung 3.4 B stellt das Verhältnis der Spike-Anzahl, die während Puls 2 generiert wurde, zu der Spike-Anzahl, die während Puls 1 generiert wurde, gegen die Pausendauer dar (N=7). Dieses Verhältnis gibt an, inwiefern sich die Antwortstärke auf Puls 2 verändert. Von Interesse ist hierbei, ob bei kürzeren Pausendauern eine Beeinflussung der Antwort auf Puls 2 durch die Antwort auf Puls 1 festzustellen ist. Die Gegenüberstellung der Art und Weise der Pulspräsentation in diesem Balkendiagramm zeigt, dass diese offensichtlich keine Rolle für die Antwort der Sensillen spielt. Zwischen auf- und absteigender und

zufälliger Reihenfolge der Puls-Paar-Abfolge liegen keine signifikanten Unterschiede vor, es zeigen sich also keine Hystereseeffekte.

Abbildung 3.4 C fasst die Ergebnisse eines Versuchs zusammen, in welchem mit auf- und absteigender Reihenfolge der Pausendauern gereizt wurde (N=7, n=10 Wiederholungen je Pausendauer und Sensillum). Das Verhältnis zwischen der Spike-Anzahl während Puls 2 und der Spike-Anzahl während Puls 1 wird hier erneut genutzt, um Veränderungen der Antwortstärke zwischen Puls 1 und Puls 2 festzustellen. Von der längsten Pausendauer (3000 ms) bis zu einer Pausendauer von 375 ms bleibt dieses Verhältnis konstant bei Werten um 1, es treten also etwa gleich viele Spikes bei der Antwort auf Puls 1 wie bei der Antwort auf Puls 2 auf. Sind die Pausendauern jedoch auf unter 375 ms verkürzt, so nimmt das Verhältnis deutlich ab, d.h. es werden weniger Spikes auf Puls 2 als auf Puls 1 hin generiert. Um Aussagen über das zeitliche Auflösungsvermögen der PTO-Sensillen bei Pausendauern unter 46 ms treffen zu können, wurde den Daten eine entsprechende hyperbolische Funktion angepasst: $f(x)=x/(18.70+1,02x)$, $R^2=0.82$. Korrespondierende Frequenzwerte liegen bei einer Reizintensität von 549 mW/cm² deutlich über der Ruheaktivität. Folglich liegt bei 50% des Verhältnisses der Spike-Anzahlen eine deutliche Antwort auf den Reiz vor. Wie in Abbildung 3.4 C zu erkennen ist, liegt der entsprechende Wert bei 22 ms. Die Sensillen sind demnach in der Lage, eine Pausendauer von 22 ms zwischen zwei identischen Pulsen dieser Intensität zu erkennen.



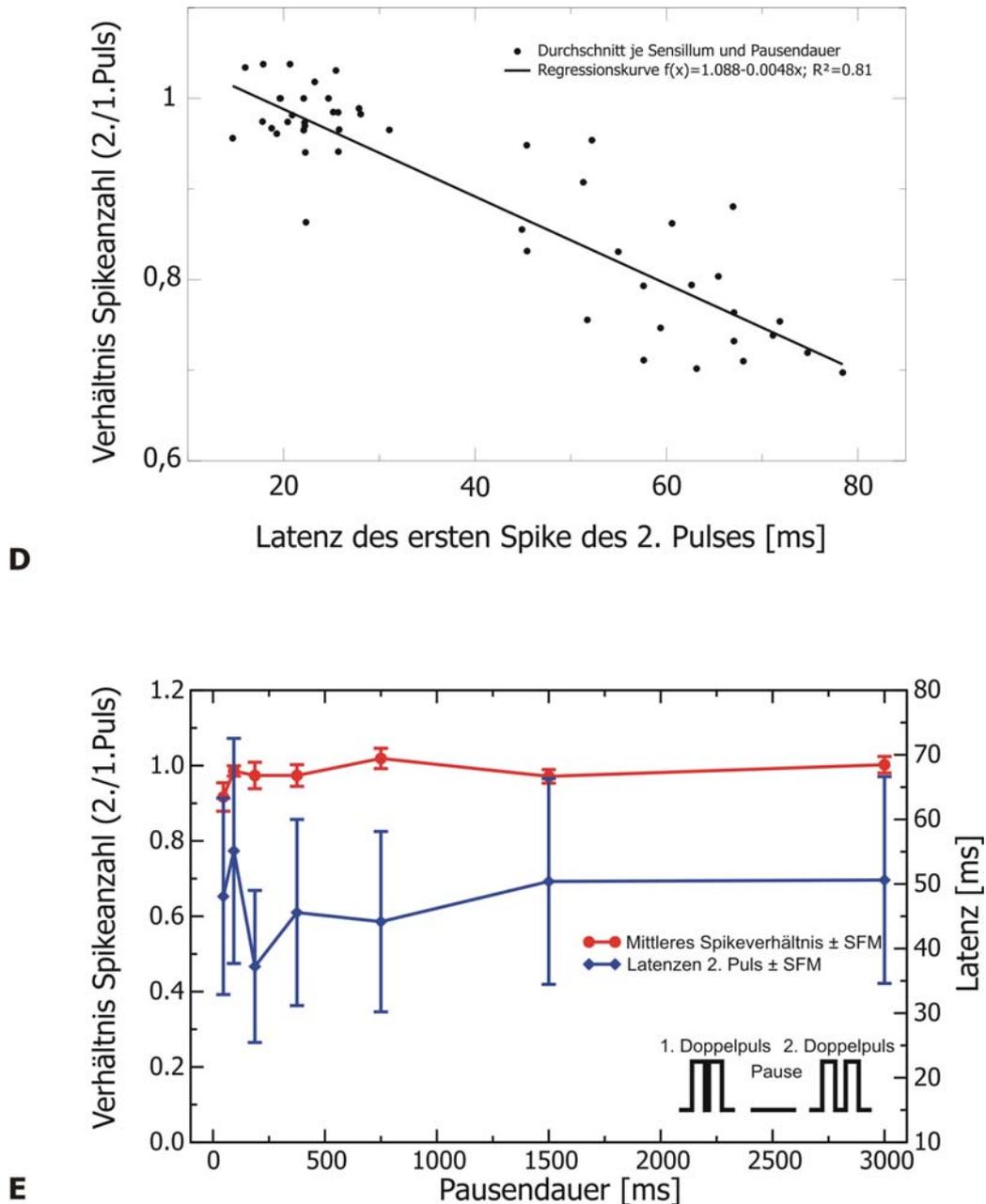


Abbildung 3.4: Antworten der PTO-Sensillen von *A. nigricans* auf Stimulation mit variierenden Pausendauern zwischen identischen Reizen

A Beispiel einer Reizspur zur Verdeutlichung der Stimulationsfolge. Es werden jeweils Zwillingspulse gegeben, zwischen denen die Pausendauer variiert wird (Puls 1 und Puls 2). Die Pause zwischen den Reizpaaren beträgt immer 2 Sekunden. In diesem Beispiel wird die Pausendauer zwischen den Zwillingspulsen stufenweise verringert (3000 bis 46 ms).

B Balkendiagramm des Verhältnisses der Spike-Anzahl während Puls 2 zu derjenigen während Puls 1. Verglichen werden aufsteigende und absteigende Reihenfolge der Pulspräsentation, sowie die zufällige Reizpräsentation.

C Verhältnis der Spikeanzahl während Puls 2 zu derjenigen während Puls 1 aufgetragen gegen die Pausendauer. Auf der rechten y-Achse ist die Latenz des ersten Spikes auf Puls 2 aufgetragen. SFM=Standardfehler des Mittelwerts

D Verhältnis der Spike-Anzahl auf Puls 2 zur Spike-Anzahl auf Puls 1 aufgetragen gegen die Latenz. Eine deutliche Korrelation besteht zwischen diesen beiden Parametern ($R^2=0,81$).

E Dieselbe Auftragung wie in C, jedoch für nur ein PTO-Sensillum bei Reizung mit 122,4 mW/cm². SFM=Standardfehler des Mittelwerts

Ebenfalls in Abbildung 3.4 C ist die Latenz des ersten Spikes auf Puls 2 hin aufgetragen. Sie nimmt bei Pausendauern unter 750 ms zu, bei Pausendauern von 46 ms hat sie sich im Vergleich zu Pausendauern bei 750 ms mehr als verdreifacht (67,1 ms zu 21,1 ms). Um den Einfluss der Latenzen auf die Spike-Anzahl bei beiden Pulsen zu testen wurden die Latenzen des jeweils ersten Spikes bei Puls 1 und Puls 2 mittels Wilcoxon-Test verglichen. Für Pausendauern über 375 ms waren die Latenzen etwa gleich ($0,29 \leq p \leq 1$), für Pausendauern unter 375 ms jedoch waren die Latenzen signifikant verschieden ($p \leq 0,005$; $N=7$, $n=10$ Latenz-Paare je Pausendauer). Eine deutliche Korrelation zwischen Latenzen und Spike-Verhältnissen zeigt, dass die steigende Latenz vermutlich zu der sinkenden Spike-Anzahl bei Puls 2 bei kurzen Pausendauern beiträgt (siehe Abb. 3.4 D, Spearman $\rho = -0,85$; $p < 0,001$; $N=7$, $n=10$).

Abbildung 3.4 E stellt, in der gleichen Weise wie Abbildung 3.4 C, ebenfalls das Verhältnis der Spike-Anzahl (Puls 2/Puls 1) und die Latenz gegen die Pausendauer dar, hier jedoch für eine schwächere Reizintensität ($122,4 \text{ mW/cm}^2$). Das Verhältnis der Spike-Anzahl bleibt bis zu einer Pausendauer von 93 ms zwischen 0,97 und 1, bei der kürzesten Pausendauer von 46 ms ist eine leichte Abnahme auf 0,91 zu verzeichnen. Der Effekt, dass bei kurzen Pausendauern die Antwort auf Puls 2 verringert wird, ist folglich wesentlich weniger ausgeprägt als bei einer hohen Intensität. Betrachtet man die Latenzen des ersten Spikes der Antwort auf Puls 2, so findet sich keine Zunahme hin zu kürzeren Pausendauern (3000 ms Pausendauer: 51 ms Latenz; 46 ms Pausendauer: 50 ms Latenz).

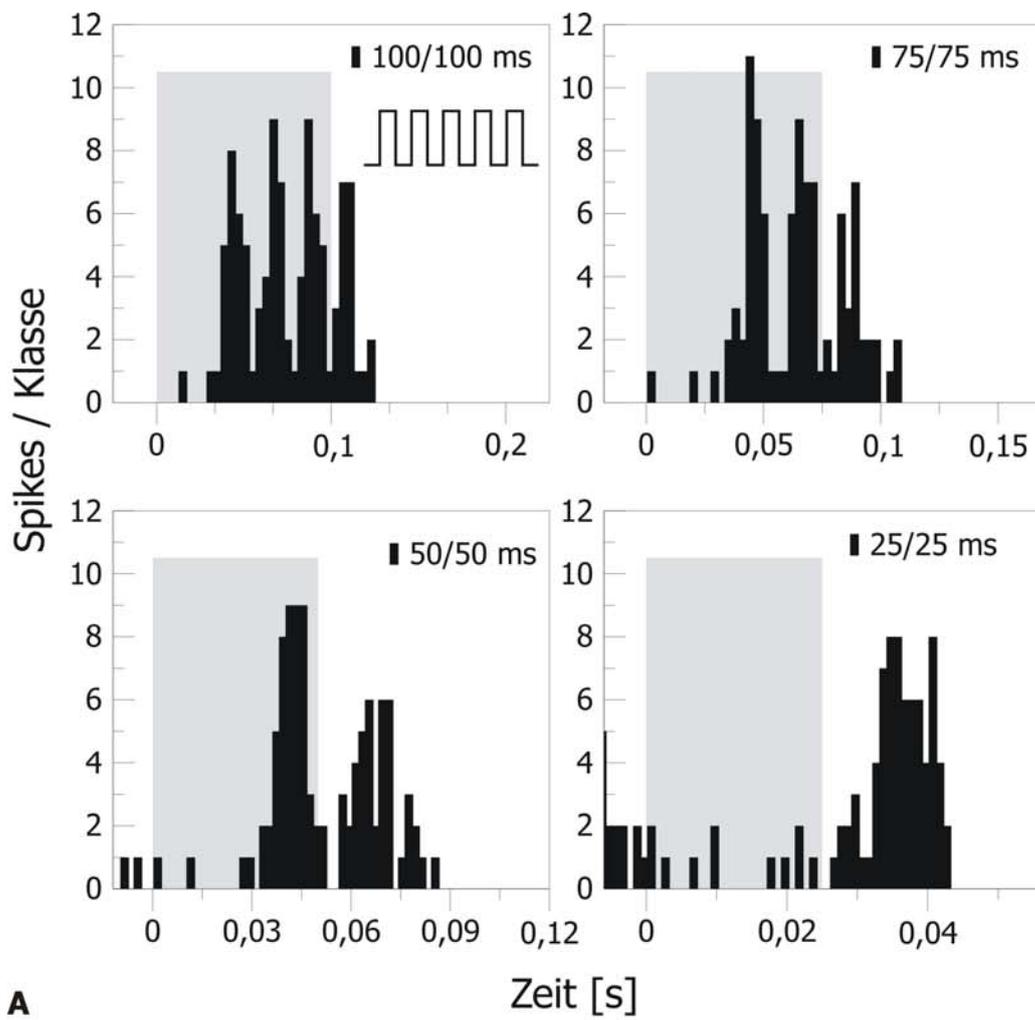
3.1.1.5 Zeitliche Charakteristika: Effekte der Stimulus Frequenz

Da Pausen zwischen zwei Pulsen offensichtlich die Antwortstärke der Sensillen beeinflussen, ist zu erwarten, dass die Antwort auf repetitive Stimuli ebenfalls durch die Dauer der Pausen zwischen den Stimuli beeinflusst wird. Daher wurden Pulsfolgen mit vier verschiedenen Pausen-/Pulsdauern als Reiz präsentiert (25/25, 50/50, 75/75 und 100/100 ms). Das Tastverhältnis (duty cycle) lag konstant bei 50%, um eine identische Bestrahlungszeit und eine ähnliche Spike-Anzahl in einem definierten Zeitfenster zu gewährleisten. Abbildung 3.5 A zeigt das Antwortverhalten eines einzelnen Sensillums für alle vier Reiz- bzw. Pausendauern

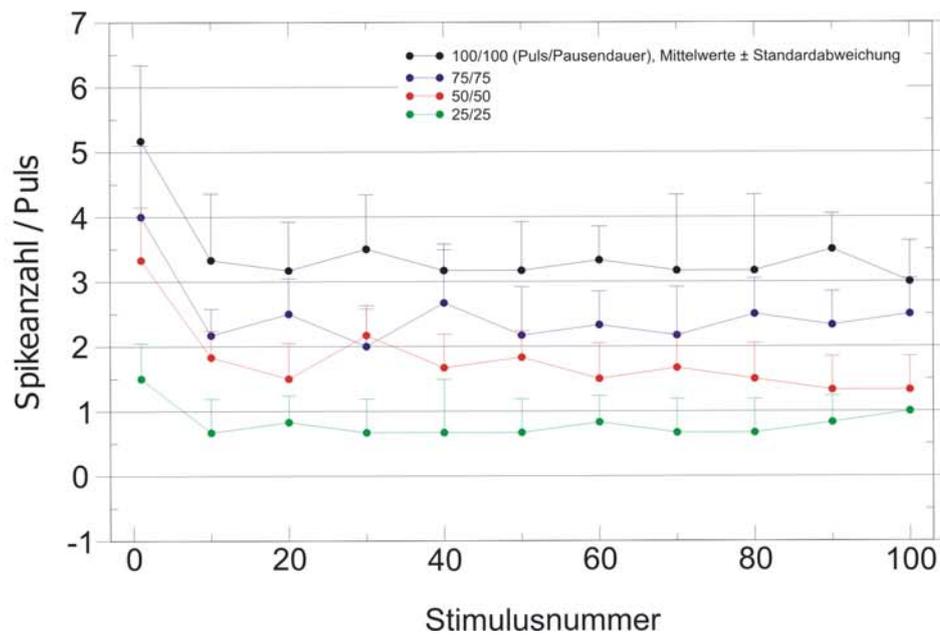
bei der höchsten Intensität von 549,0 mW/cm². Das Zeitfenster der Reizung wurde so gewählt, dass jede Einzelabbildung eine etwa gleich hohe Anzahl an Spikes enthält (n=94, 99, 100 und 101 für 25/25, 50/50, 75/75 und 100/100 ms). Um dies zu erreichen, wurde jeweils eine unterschiedliche Anzahl an Reizen ausgewertet (n=100, 50, 33 und 25 für 25/25, 50/50, 75/75 und 100/100 ms). Längere Reize führten zu einer höheren Spike-Anzahl in der Antwort: 100 ms dauernde Pulse führten zu etwa 3,5 Spikes pro Reiz, 25 ms dauernde Pulse zu etwa 0,9 Spikes je Reizpuls. Bei dem kürzesten Reiz erfolgt die Beantwortung des Stimulus erst nach Reizende.

Abbildung 3.5 B fasst die reizabhängige Verminderung der Antwort zusammen. Hier wurde eine identische Anzahl an Reizpulsen (100) für jede Reiz- bzw. Pausendauer gegeben (N=6 Tiere). Innerhalb der ersten zehn Reize erfolgt eine deutliche Abnahme der Antwortstärke, im Folgenden bleibt die Frequenz stabil. Aufgrund der in Abbildung 3.4 C gezeigten Daten würde man erwarten, dass auch in diesem Versuch die Latenz des ersten Spikes nach Reizbeginn mit abnehmender Pausendauer zunimmt. Dieses ist jedoch nicht der Fall. Die gemittelte Latenz bei dem repetitiven Reizmuster fällt von $54,3 \pm 4,4$ ms (Mittelwert und Standardfehler) für 100 ms auf $41,5 \pm 4,6$ ms (Mittelwert und Standardfehler) für 25 ms Pausendauer ($p=0,007$; Friedman $X^2=15,71$; N=6, n=60 Spikes, nur der 20. bis 80. Reiz wurden hierfür ausgewertet).

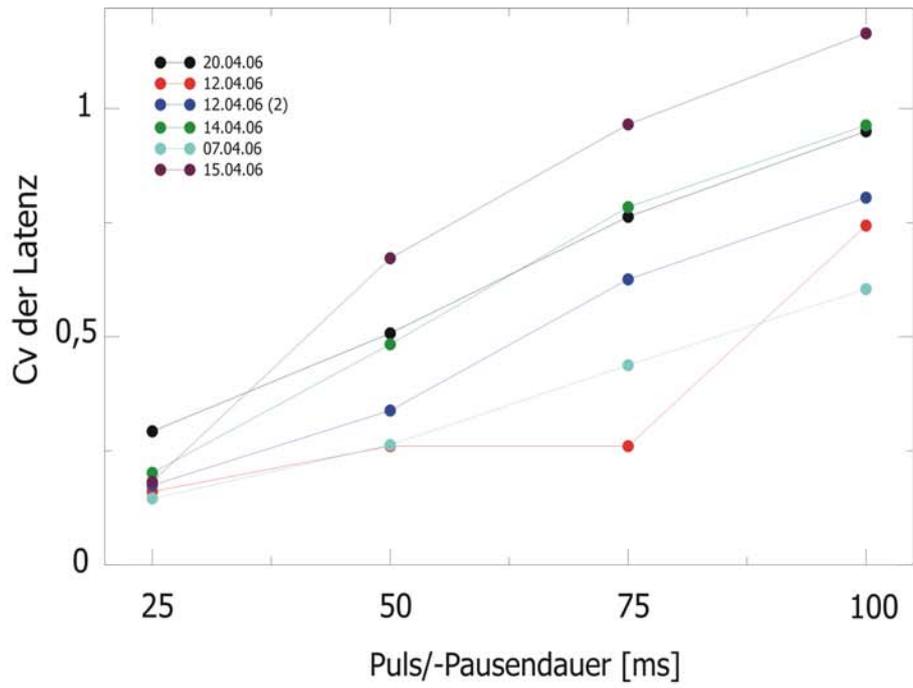
Der Variationskoeffizient C_v der Latenzen (siehe 2.2.6), drückt die Güte der Präzision der Antwort aus. Er variierte zwischen 0,15 und 0,29 für Pausendauern von 25 ms in sechs Experimenten, die Latenzen waren hier normal verteilt (Kolmogorov-Smirnov-Test, $p<0,001$, siehe Abb. 3.5 C). Bei 100 ms andauernden Pausen weitete sich der Bereich des Variationskoeffizienten auf und variierte zwischen 0,60 und 1,16. Die Latenzen bei repetitiven Stimuli variieren folglich bei längeren Reiz- und Pausendauern stärker als bei kurzen.



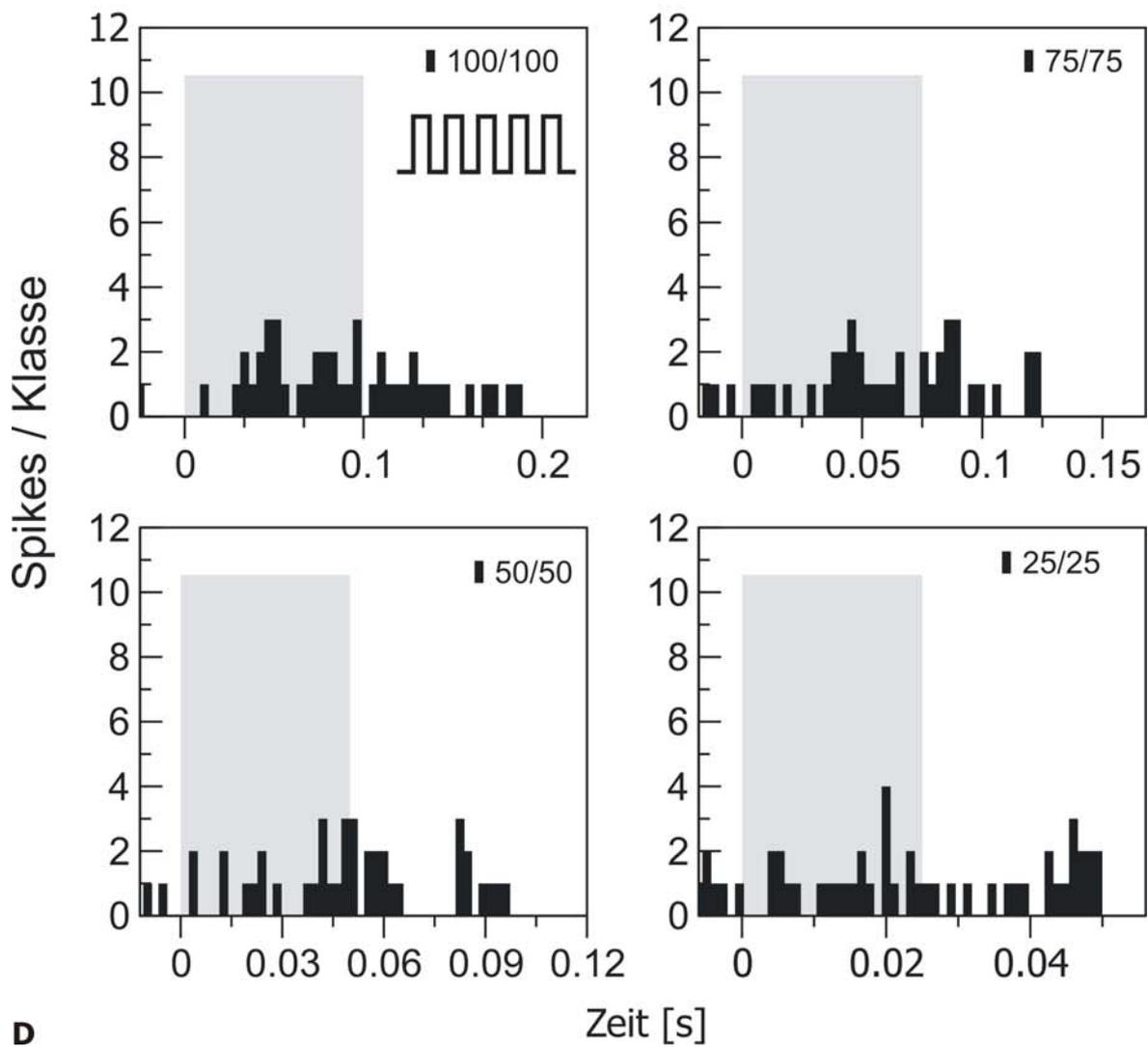
A



B



C



D

Abbildung 3.5: Antwort der PTO-Sensillen von *A. nigricans* auf eine repetitive Stimulation mit verschiedenen Frequenzen

A Peristimulustimehistogramme (PSTHs) der Antwort eines kutikulären Sensillums auf Bestrahlung mit variierenden Stimulusfrequenzen (Tastverhältnis immer 50%, Intensität: 549,0 mW/cm²). Puls-Pausendauern: 100/100, 75/75, 50/50 und 25/25 ms. Die Zeitfenster und Klassenbreiten wurden so angeglichen, dass jeweils die 2,25-fache Dauer des Reizes angegeben ist und dieselbe Anzahl an Klassen für alle Reize besteht. Die Anzahl der ausgewerteten Reize wurde so angepasst, dass dieselbe Bestrahlungszeit für alle vier Reize besteht. Die Spike-Anzahl, die je Reiz ausgelöst wird, verringert sich mit sinkender Stimulusfrequenz. Der grau schattierte Bereich entspricht der Stimulationsdauer.

B Auftragung der Spike-Anzahl je Puls gegenüber der Stimulusnummer für alle vier Puls-Pausendauern. Aufgrund besserer Übersichtlichkeit sind nur die Werte für jeden zehnten Puls gezeigt.

C Variationskoeffizienten der Latenz des ersten Spikes auf Puls 2 für sechs verschiedene Sensillen bei vier verschiedenen Puls-/Pausendauern. Bei längeren Reizen variiert die Latenz deutlich stärker als bei kurzen.

D Peristimulustimehistogramme (PSTHs) der Antwort desselben Sensillums wie in A bei gleichem Reizparadigma, jedoch bei einer schwächeren Reizintensität von 122,4 mW/cm².

Abbildung 3.5 D zeigt das Antwortverhalten desselben Sensillums wie in Abbildung 3.5 A erneut für alle vier Reiz- bzw. Pausendauern, jedoch für eine geringere Reizintensität von 122,4 mW/cm². Aufgrund der insgesamt schwächeren Antwort findet sich keine klare Abbildung einzelner Spikes wieder. Bei Reizdauern von 100 und 75 ms ist eine leicht erhöhte Spike-Anzahl im Bereich von 50 ms nach Reizbeginn festzustellen, dieser Effekt ist jedoch undeutlich. Eine Bestimmung von Latenzen ist daher nicht möglich.

3.1.1.6 Graduierte Potenziale

Durch veränderte Filtereinstellung des extrazellulären Verstärkers (siehe 2.2.5) wurden zusätzlich zu der Aufnahme von Einzelspikes graduierte Potenziale abgeleitet. Dies war, vermutlich aufgrund der Elektrodenposition, nur bei einigen wenigen Sensillen möglich. Abbildung 3.6 A und 3.6 B zeigen die, je über 100 Durchläufe gemittelte Antworten eines Sensillums auf zwei Rotlichtstimuli gleicher Dauer (250 ms), aber verschiedener Intensität. Das Signal weist Potenzialänderungen in Form von zwei Halbwellen auf, von denen die zweite jedoch artifiziellen Ursprungs ist und daher hier keine weitere Beachtung findet (siehe 2.2.5).

Die Dauer der ersten Halbwelle entspricht der Stimulationsdauer. In Abbildung 3.6 A sind sieben Spikes zu erkennen, die dem graduierten Potenzial

aufsitzen. Bei reduzierter Reizintensität reduziert sich auch die Potenzialänderung während des Reizes. Einzelne Spikes sind nicht mehr erkennbar (siehe Abb. 3.6 B). Abbildung 3.6 C zeigt ein graduiertes Potenzial eines weiteren kutikulären Sensillums. Diesmal wurde jedoch die Antwort auf einen längeren Reiz (1000 ms) bei der höchsten Intensität (549,0 mW/cm²) getestet. Erneut sind zu Beginn des Reizes Spikes zu erkennen, die dem graduierten Potenzial aufsitzen. Nach 450 ms kehrt das Potenzial wieder auf den Ruhewert vor Beginn der Reizung zurück. Abbildung 3.6 D fasst die Antworten eines Sensillums bei Reizung mit verschiedenen Intensitäten zusammen. Gemittelt wurde über 100 Reize von je 250 ms Dauer. Die Antworten auf Stimuli fünf verschiedener Intensitäten zwischen 4 und 549,0 mW/cm² sind gezeigt. Die Amplitude der ersten Halbwelle des graduierten Potenzials ist deutlich intensitätsabhängig und steigt mit steigender Reizintensität. Erneut überlagern Spikes das graduierte Potenzial. Die gepunktete Fläche in Abbildung 3.6 D zeigt den relativen Verlauf der analogen Spike-Frequenz (siehe Abb. 3.2 E). Die Dauer der ersten Halbwelle des graduierten Potenzials entspricht diesem Zeitverlauf.

Bei der niedrigsten gezeigten Intensität von 4,4 mW/cm² ist keine klare Antwort mehr zu erkennen, während die nächsthöhere Intensität von 18,7 mW/cm² eine deutliche Potenzialänderung hervorruft. Der Schwellenwert für eine reizkorrelierte Antwort des graduierten Potenzials liegt daher zwischen 4,4 und 18,7 mW/cm². Dieser Bereich überlagert sich teilweise mit den Schwellenwerten die anhand der Messungen der Intensitätsfunktionen ermittelt wurden (11-25 mW/cm², siehe 3.1.1.2). In Abbildung 3.6 E sind die Amplituden der graduierten Potenziale mittels ihrer Integrale für zehn verschiedene Intensitäten quantifiziert. In dieser Abbildung zeigt sich die proportionale Intensitätsabhängigkeit der Integrale des graduierten Potenzials, normiert über mehrere Sensillen (Spearman Rangkorrelation, $r=0,76$ und $0,87$, $p<0,001$, $N=3$).

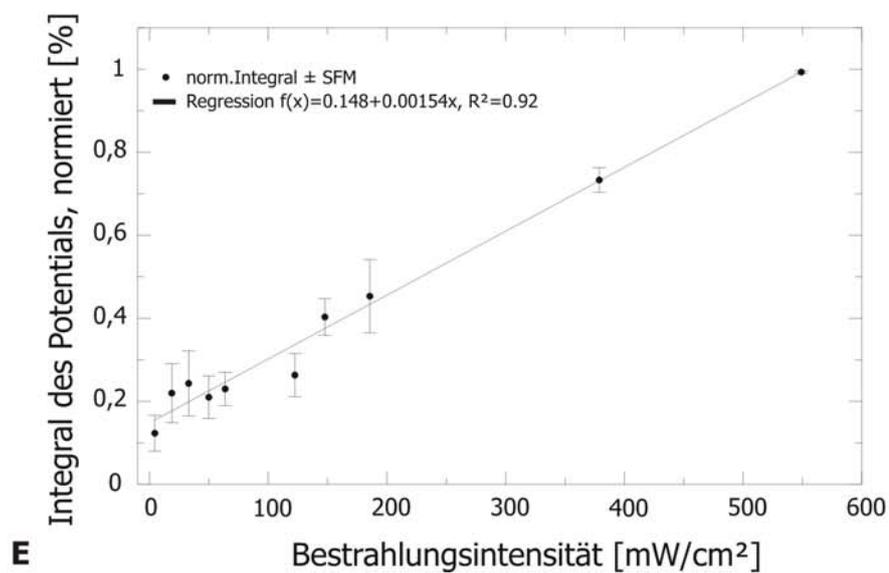
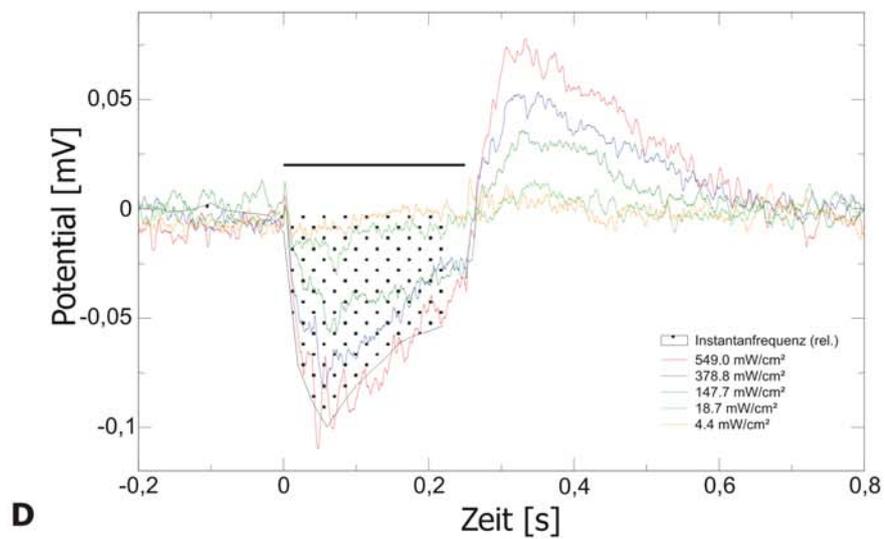
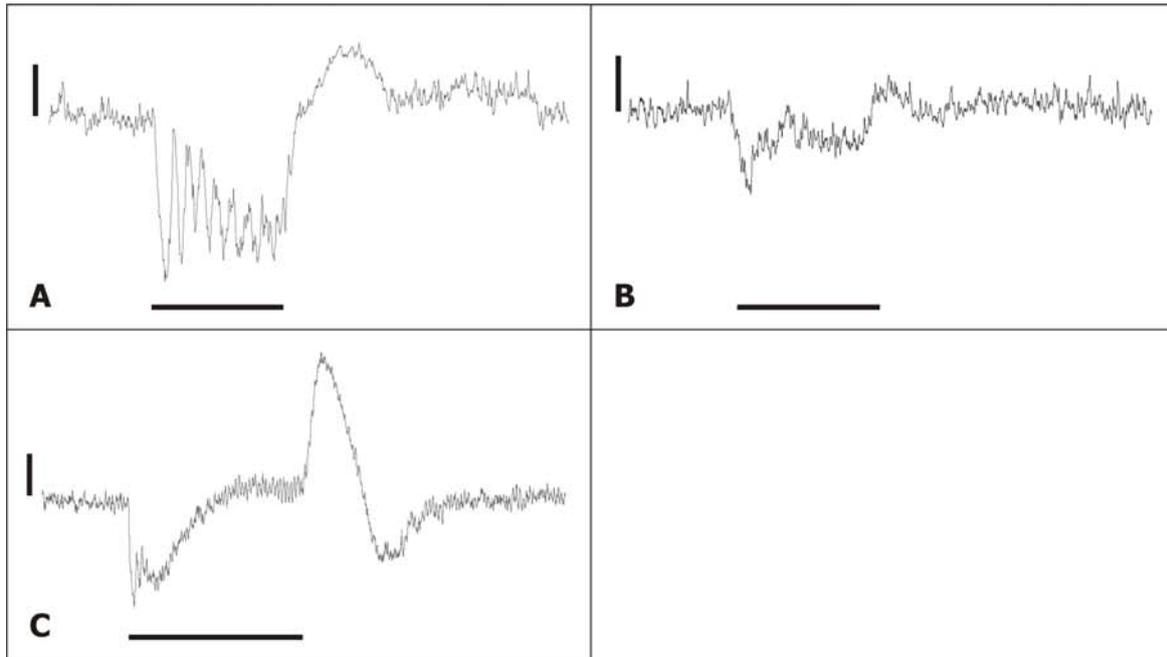


Abbildung 3.6: Ableitung von graduierten Potenzialen von den PTO-Sensillen von *A. nigricans* bei Rotlichtstimulation

A Beispiel einer gemittelten Ableitung (100 Durchläufe). Bei Reizung mit $549,0 \text{ mW/cm}^2$ erfolgt eine Potenzialänderung, die einzelnen Spikes sitzen dem Potenzial auf. Der zeitliche Verlauf der ersten Halbwelle korreliert mit der Reizdauer (vertikaler Balken $200 \mu\text{V}$, horizontaler Balken 250 ms , entspricht Stimulationsdauer).

B Reizung mit 185 mW/cm^2 (100 Durchläufe, vertikaler Balken $200 \mu\text{V}$, horizontaler Balken 250 ms , entspricht Stimulationsdauer).

C Lange Reizung mit 549 mW/cm^2 (80 Durchläufe, vertikaler Balken $200 \mu\text{V}$, horizontaler Balken 1 s , entspricht Stimulationsdauer).

D Antwort eines Sensillums bei fünf Intensitäten gegen die Zeit aufgetragen. Die Dauer der ersten Halbwelle korreliert mit der relativen Instantanfrequenz (schattiert, Balken 250 ms , entspricht Stimulationsdauer).

E Integrale der Potenziale aufgetragen gegen die Intensität. Es besteht ein deutlicher linearer Zusammenhang zwischen Integralgröße und Intensität. SFM=Standardfehler des Mittelwerts

3.1.1.7 Antworten auf einen Breitband Infrarotemitter und einen Infrarotlaser im Vergleich zu Antworten auf Rotlicht-Stimuli

Um verschiedene thermische Stimuli vergleichen zu können, wurden neben dem Rotlichtlaser auch ein breitbandiger Infrarotemitter und ein Infrarotlaser zur Stimulation eingesetzt (siehe 2.2.4). Um die Antworten auf einen breitbandigen Infrarotemitter mit den Antworten auf einen Rotlichtlaser vergleichen zu können, werden im Folgenden Antworten von sechs PTO-Sensillen dargestellt, die auf beide Reize getestet wurden. In Abbildung 3.7 A ist der Zeitverlauf der Antwort eines einzelnen Sensillums auf Reizung mit verschiedenen Intensitäten des Infrarotemitters dargestellt. Ähnlich wie in Abbildung 3.2 E sind Instantanfrequenzen gegen die Zeit aufgetragen. Bei Reizbeginn erfolgt eine deutliche intensitätsabhängige Zunahme der Instantanfrequenz. Aufgrund der manuellen Reizgebung ist es nicht möglich, eine Aussage über Latenzen oder Dauer der post-stimulus Spike-Unterdrückung zu machen (siehe 2.2.4). Die Ruheaktivität vor Reizbeginn ist bei hohen Intensitäten aufgrund der Erwärmung des Verschlusses artifiziell nach oben verschoben. Dies erschwert die exakte Auswertung. Der Schwellenwert bei Reizung mit dem Infrarotemitter liegt bei diesem Sensillum bei 17 mW/cm^2 (Kriterium für eine Antwort siehe 2.2.6). Bei der höchstmöglichen Intensität von 340 mW/cm^2 liegt die maximale Spike-Frequenz bei $28,9 \text{ Hz}$. Im Vergleich dazu liegt die höchste Frequenz bei Antwort auf einen Rotlichtreiz bei $36,0 \text{ Hz}$ (siehe Abb. 3.7 B). Bei einer vergleichbaren Frequenz von $29,6 \text{ Hz}$ liegt die korrespondierende Intensität des Rotlichtlasers bei 254 mW/cm^2 .

Um eine ähnlich starke Antwort hervorzurufen, ist folglich bei Reizung mit dem Rotlichtlaser eine niedrigere Intensität nötig, als bei Reizung mit dem Infrarotemitter. Abbildungen 3.7 C und D zeigen erneut die Zeitverläufe bei Reizung mit Infrarotemitter und Reizung mit Rotlicht, jedoch gemittelt über mehrere Sensillen (N=6). Normiert wurde erneut mittels der Ruheaktivität. Für eine klarere Darstellung ist jeweils nur eine Auswahl der verwendeten Intensitäten dargestellt. Es zeigt sich ein ähnliches Bild wie in Abbildungen 3.7 A und B: 181,1% der Ruhefrequenz werden bei Reizung mit dem Emitter bei der höchsten Intensität (340 mW/cm^2) erreicht, während bei Reizung mit Rotlichtlaser eine normierte Frequenz von 210,7% bereits bei einer Intensität von nur 185 mW/cm^2 erreicht wird. Bei Reizung mit Rotlicht sind die Antworten auf alle gezeigten Reize deutlich überschwellig (niedrigste gezeigte Intensität: 25 mW/cm^2), bei Reizung mit dem Infrarotemitter liegt eine deutliche Antwort ebenfalls bei der niedrigsten Intensität vor (20 mW/cm^2). Bezüglich des Schwellenwertes ist folglich kein deutlicher Unterschied zwischen den beiden Reizarten festzustellen. Die Frequenzkennlinien (Abbildungen 3.7 E und F) zeigen, dass bei Reizung mit dem Rotlichtlaser im Vergleich zur Reizung mit dem Infrarotemitter deutlich niedrigere Intensitäten benötigt werden, um ähnlich starke Antworten hervorzurufen. 100 mW/cm^2 führten beispielsweise zu einer Frequenzerhöhung von etwa 48% bei Rotlichtreizung, jedoch zu nur 14% bei Reizung mit dem Infrarotemitter.

Neben Stimulation mit einem Infrarotemitter wurden auch Versuche mit einem Infrarotlaser als Reizquelle durchgeführt (siehe 2.2.4). Abbildung 3.8 zeigt eine Originalspur als Beispiel für eine Antwort auf Stimulation mit einem Infrarotlaser. Die höchstmögliche Intensität ($265,0 \text{ mW/cm}^2$) und beide Wellenlängen ($1,14 \mu\text{m}$ und $3,39 \mu\text{m}$) wurden als Reiz gegeben. Wie bereits von der Reizung mit dem Rotlichtlaser bekannt (siehe 3.1.1.2), erfolgte eine typisch phasisch-tonische Antwort, gefolgt von einer post-stimulus Spike-Unterdrückung. Die normierte Frequenz stieg während des Reizes auf 194,5% der Ruheaktivität. Die Spike-Unterdrückung dauerte etwa 190 ms an.

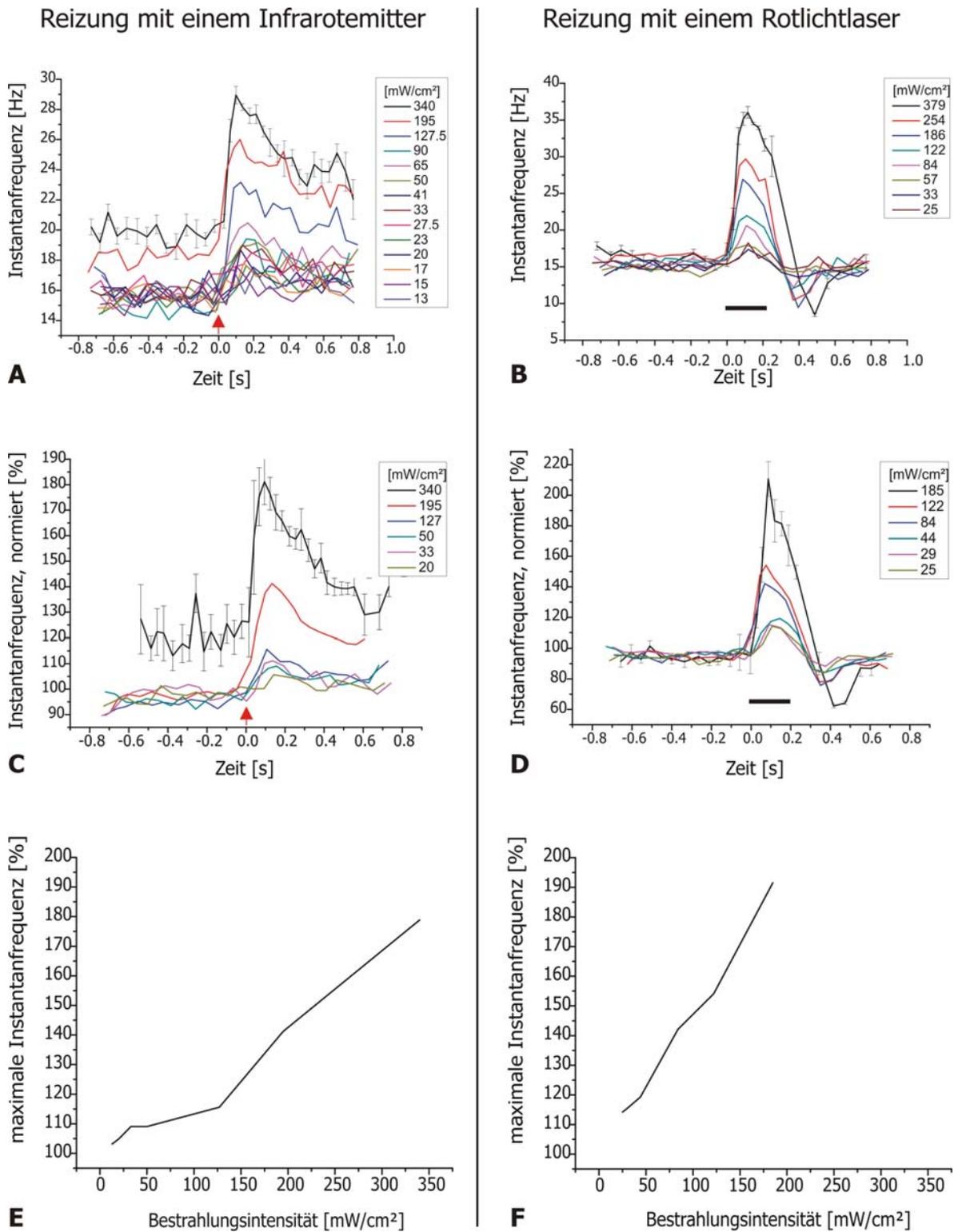


Abbildung 3.7: Vergleich der Antworten der Sensillen von *A. nigricans* bei Stimulation mit einem breitbandigen Infrarotemitter (A, C, E) und Stimulation mit einem Rotlichtlaser (B, D, F)

A Instantanfrequenz einer Zelle bei 14 verschiedenen Emitter-Intensitäten aufgetragen gegen die Zeit. Der Pfeil deutet auf den Reizbeginn, das Reizende ist zwischen den Reizungen nicht synchron und daher nicht angegeben. Die Standardabweichung ist nur für die höchste Intensität gezeigt.

B Antwort derselben Zelle wie in A bei Reizung mit Rotlicht bei acht verschiedenen Intensitäten (Balken 250 ms, entspricht Stimulationsdauer). Die Standardabweichung ist nur für die höchste Intensität gezeigt.

C Gemittelte Antwort von sechs Zellen bei Reizung mit dem Infrarotemitter. Der Pfeil deutet auf den Reizbeginn, das Reizende ist zwischen den Reizungen nicht synchron und daher nicht angegeben. Der Standardfehler ist nur für die höchste Intensität gezeigt.

D Gemittelte Antwort derselben sechs Zellen wie in C, bei Rotlichtstimulation (Balken 250 ms, entspricht Stimulationsdauer). Der Standardfehler ist nur für die höchste Intensität gezeigt.

E Auftragung der maximalen Instantanfrequenz bei Reizung mit dem Infrarotemitter gegen die Intensität gemittelt über sechs Zellen.

F Auftragung der maximalen Instantanfrequenz bei Rotlichtstimulation gegen die Intensität gemittelt über sechs Zellen.

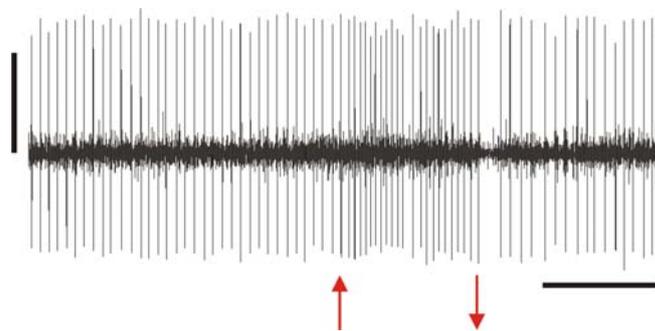


Abbildung 3.8: Antworten der PTO-Sensillen von *A. nigricans* auf Stimulation durch einen Infrarot-Laser

Originalspur bei Stimulation durch den Infrarotlaser (Reizbeginn: Pfeil nach oben, Reizende: Pfeil nach unten, vertikaler Balken 400 μ V, horizontaler Balken 1 s).

3.1.2 Neuroanatomische Untersuchungen am Zentralen Nervensystem

3.1.2.1 Projektionen von Neuronen der prothorakalen Organs und der Antennen von *A. nigricans*

Um die neuronale Verschaltung der Sensillen des prothorakalen Organs von *A. nigricans* zu untersuchen und mit derjenigen der Infrarotsensillen von *M. acuminata* vergleichen zu können, wurden bei 18 Käfern anterograde Färbungen am prothorakalen Organ durchgeführt (siehe 2.3.1). Bei vier Käfern waren fast ausschließlich Projektionen der Sensillen angefärbt. Abbildung 3.9 und Abbildung 3.10 zeigen Montagen aus optischen Horizontalschnitten (aufgenommen mit einem Konfokalmikroskop) durch das Oberschlundganglion von

A. nigricans. Abbildung 3.9 A zeigt eine Montage aus 60 optischen Horizontalschnitten. Das Unterschlundganglion und die posterioren Bereiche des Oberschlundganglions sind zu sehen. Die Schlundkonnektive sind in dieser Ansicht extrem kurz und nicht eindeutig zu identifizieren, ein Bündel aus mehreren gefärbten Afferenzen der PTO-Sensillen zieht durch das Unterschlundganglion nach anterior ins Oberschlundganglion (siehe auch Abb. 3.10 D). Vermutlich im Tritocerebrum terminieren die Projektionen mit weitreichenden Verzweigungen. In der Abbildung ist auf der linken Seite des Unterschlundganglions eine entsprechende Projektion einer geringeren Anzahl an Fasern zu erkennen, im Oberschlundganglion sind diese Projektionen jedoch nicht mehr zu verfolgen. Abbildung 3.9 B zeigt eine Seitenansicht einer dreidimensionalen Darstellung derselben Projektion wie Abbildung 3.9 A. Es zeigt sich in dieser Ansicht, dass das Bündel an Afferenzen bei Austritt aus den Schlundkonnektiven von dorsal nach ventral verläuft und weitreichende Endverzweigungen im ventralen Bereich des Tritocerebrums ausbildet. Abbildung 3.10 zeigt dasselbe Präparat in der Übersicht. Auch hier ist die ventrale Lage der Projektionen zu erkennen (siehe Abb. 3.10 A und B).

Abbildung 3.9 C zeigt ein ähnliches Verzweigungsmuster der Afferenzen der PTO-Sensillen eines weiteren Präparates (Montage aus 260 Einzelbildern). Erneut sind die kurzen Schlundkonnektive in dieser Ansicht nicht einwandfrei zu identifizieren. Auch in diesem Präparat zeigen sich die weitreichende Endverzweigungen, die hier jedoch nicht eindeutig dem Tritocerebrum zugeordnet werden können, möglicherweise liegen Teile von ihnen im Deutocerebrum. Abbildung 3.9 D zeigt eine Montage aus 40 Einzelbildern des Prothorax desselben Präparates wie in Abbildung 3.9 C. Die angefärbten Afferenzen ziehen aus dem Nerv 3 ins Prothorakalganglion. Einige wenige der Fasern ziehen bis an die Mittellinie, terminieren dort oder biegen an der Mittellinie wieder nach anterior ab. Der Hauptteil der Afferenzen zieht jedoch nicht bis an die Mittellinie, sondern biegt unmittelbar nach Eintritt in das Prothorakalganglion nach anterior ab und zieht, ohne weitere Verzweigungen auszubilden, gebündelt nach anterior ins Oberschlundganglion.

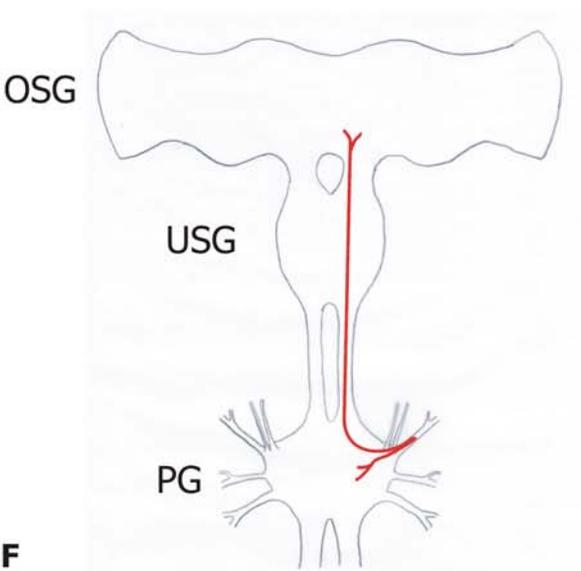
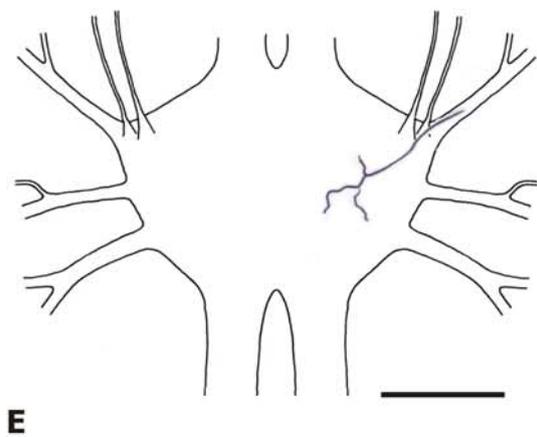
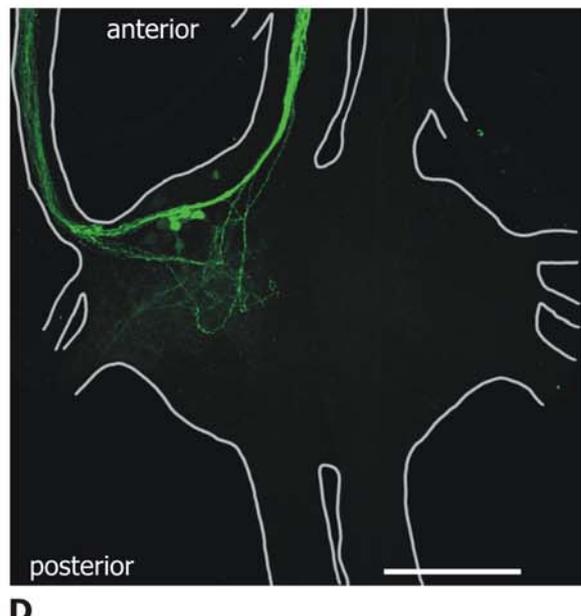
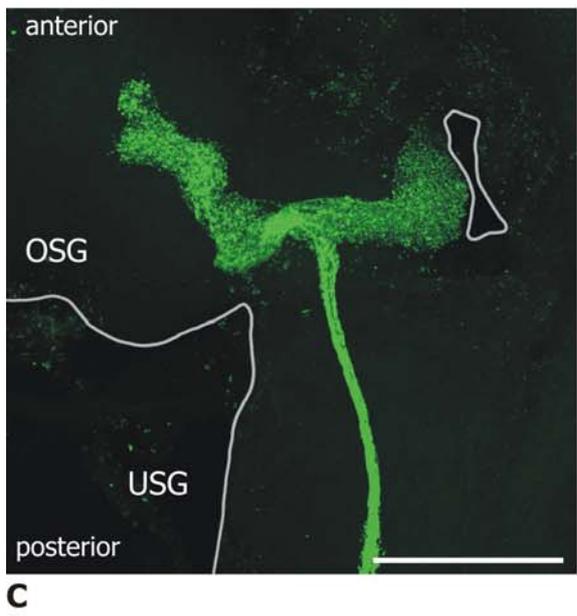
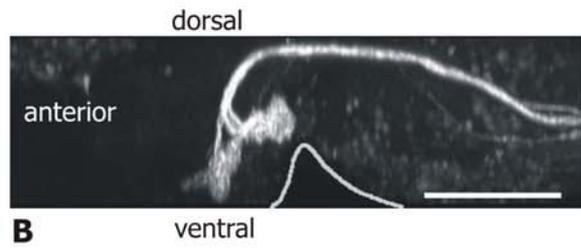
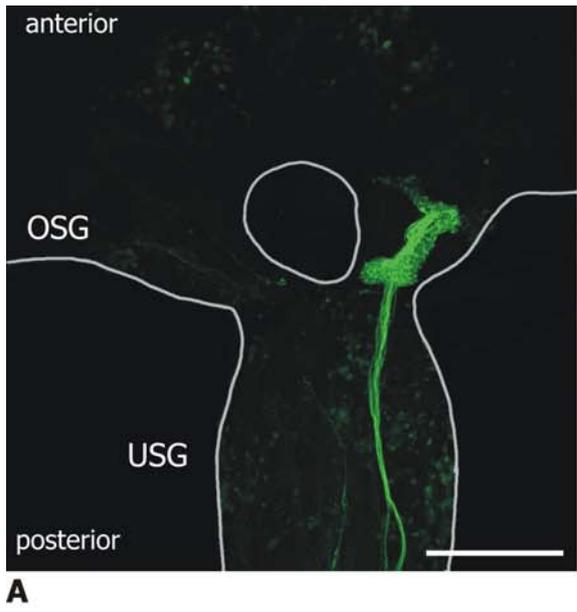
Die angefärbten Somata, die angrenzend zu den beschriebenen Afferenzen sichtbar sind, stammen aufgrund ihrer Lage vermutlich von sogenannten strand

receptors und sind zufällig angefärbt. Strand receptors messen die Spannungen in Gelenken oder Muskeln der Beine und haben, im Gegensatz zu den anderen sensorischen Neuronen des Beines, ihre Zellkörper im Zentralen Nervensystem (Burrows 1996). Bei Wanderheuschrecken kommt es vor, dass die strand receptors zufällig angefärbt werden (Bräunig, Matheson, persönliche Mitteilungen). Eine lokale Projektion einer einzelnen Afferenz der Sensillen ist in Abbildung 3.9 E zeichnerisch dargestellt. Die Faser verläuft mit wenigen kurzen Verzweigungen zur posterioren Mittellinie des Prothoraka Iganglions.

Diese Ergebnisse zeigen, wie in der Schemazeichnung Abbildung 3.9 F zusammengefasst, dass die Afferenzen der PTO-Sensillen sowohl lokale Verzweigungen im Prothorax ausbilden, als auch intersegmental unverzweigt nach anterior ins Tritocerebrum bzw. posteriore Deutocerebrum projizieren. Nach den bisherigen Ergebnissen ist es jedoch nur ein kleiner Anteil der Fasern, die rein lokal im Prothorakalganglion terminieren.

Zum Vergleich der Projektionsgebiete wurden zusätzlich zwei Färbungen des Antennennervs von *A. nigricans* durchgeführt. Abbildung 3.9 G zeigt exemplarisch eine Montage von 225 optischen Schnitten einer Antennenprojektion. Die Fasern des Antennennervs projizieren überwiegend in den olfaktorischen Antennallobus im Deutocerebrum und bilden dort die typischen Glomeruli aus.

Zum Vergleich wurde diese Färbung nun mit der aus Abbildung 3.9 A graphisch übereinandergelegt (siehe Abb. 3.9 H). Hier zeigt sich, dass das Projektionsgebiet der PTO-Sensillen weiter posterior im Oberschlundganglion liegt, als das Projektionsgebiet der Sensillen der Antennen. Vermutlich kommt es zu keiner Überlappung dieser beiden Projektionsgebiete. Dies bestätigen auch die Übersichtsbilder des Präparates aus Abbildung 3.9 A in Abbildung 3.10. Der Antennallobus liegt deutlich weiter anterior als die Projektionen der PTO-Sensillen (siehe Abb. 3.10 B).



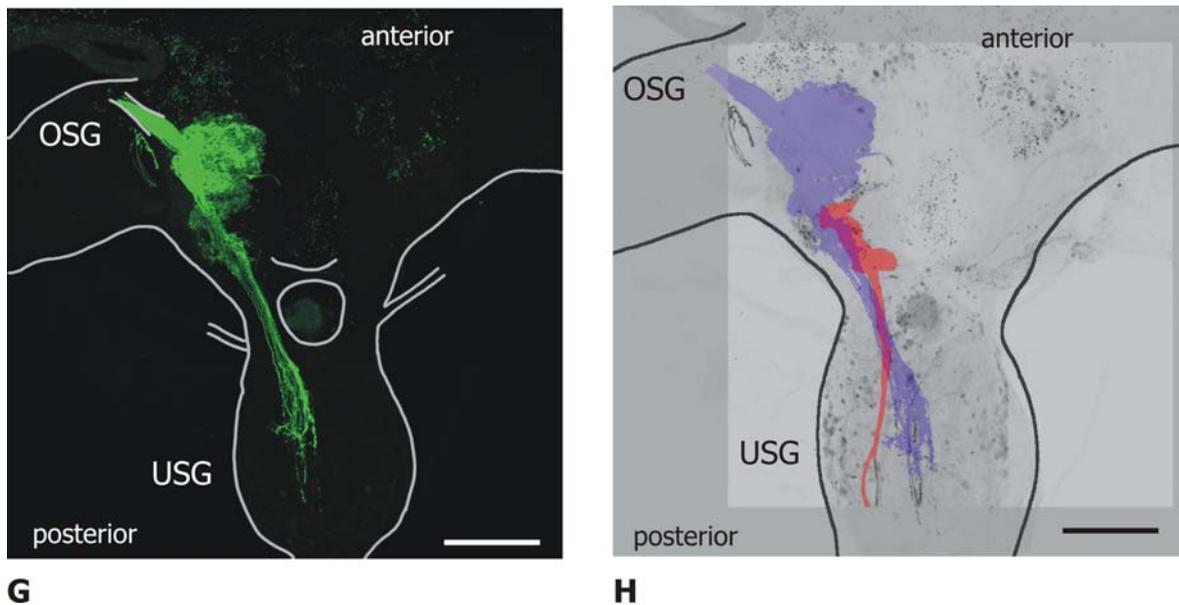


Abbildung 3.9: Konfokalmikroskopische Aufnahmen von anterograden Färbungen der Sensillen des prothorakalen Organs mit Neurobiotin

A Montage aus 60 konfokalen Horizontalschnitten. Ein Bündel angefärbter Afferenzen der PTO-Sensillen zieht unverzweigt durch das Unterschlundganglion und terminiert vermutlich im Tritocerebrum des Oberschlundganglion, dort verzweigen die Afferenzen extensiv.

B Seitenansicht der Projektion aus A. Die Verzweigungen liegen hauptsächlich ventral im Oberschlundganglion.

C Montage aus 260 konfokalen Horizontalschnitten. Afferenzen der Sensillen eines weiteren Präparates ziehen durch das Unterschlundganglion ins Oberschlundganglion. Hier sind möglicherweise auch Teile des posterioren Deutocerebrum Projektionsort.

D angefärbte Afferenzen der Sensillen im Prothorakalganglion desselben Präparates wie in C. Der von der sensorischen Scheibe stammende Nerv ist deutlich gefärbt, die Afferenzen zweigen bis auf wenige Ausnahmen direkt nach anterior in die Konnektive ab, vereinzelte Verzweigungen laufen in Richtung der Mittellinie des Prothorakalganglions.

E Zeichnung einer lokalen Projektion einer Afferenz eines Sensillums im Prothorax eines weiteren Präparates. Diese Faser terminiert an der Mittellinie des Prothorakalganglions.

F Schematische Übersicht über die Projektionen der Afferenzen der Sensillen im Zentralen Nervensystem. Der Hauptteil der Fasern steigt direkt ins Oberschlundganglion auf.

G Montage aus 225 konfokalen Horizontalschnitten. Die Färbung des Antennennervs zeigt extensive Verzweigungen im olfaktorischen Antennallobus des Deutocerebrums .

H Gemeinsame Ansicht von A und G zum Vergleich der Projektionen der PTO-Sensillen mit den Projektionen des Antennennervs. Das Projektionsgebiet des Antennennervs liegt weiter anterior im Oberschlundganglion als dasjenige der Afferenzen der Sensillen des prothorakalen Organs.

(Balken jeweils = 100 μ m)

Abkürzungen: OSG=Oberschlundganglion, PG=Prothorakalganglion, USG=Unterschlundganglion

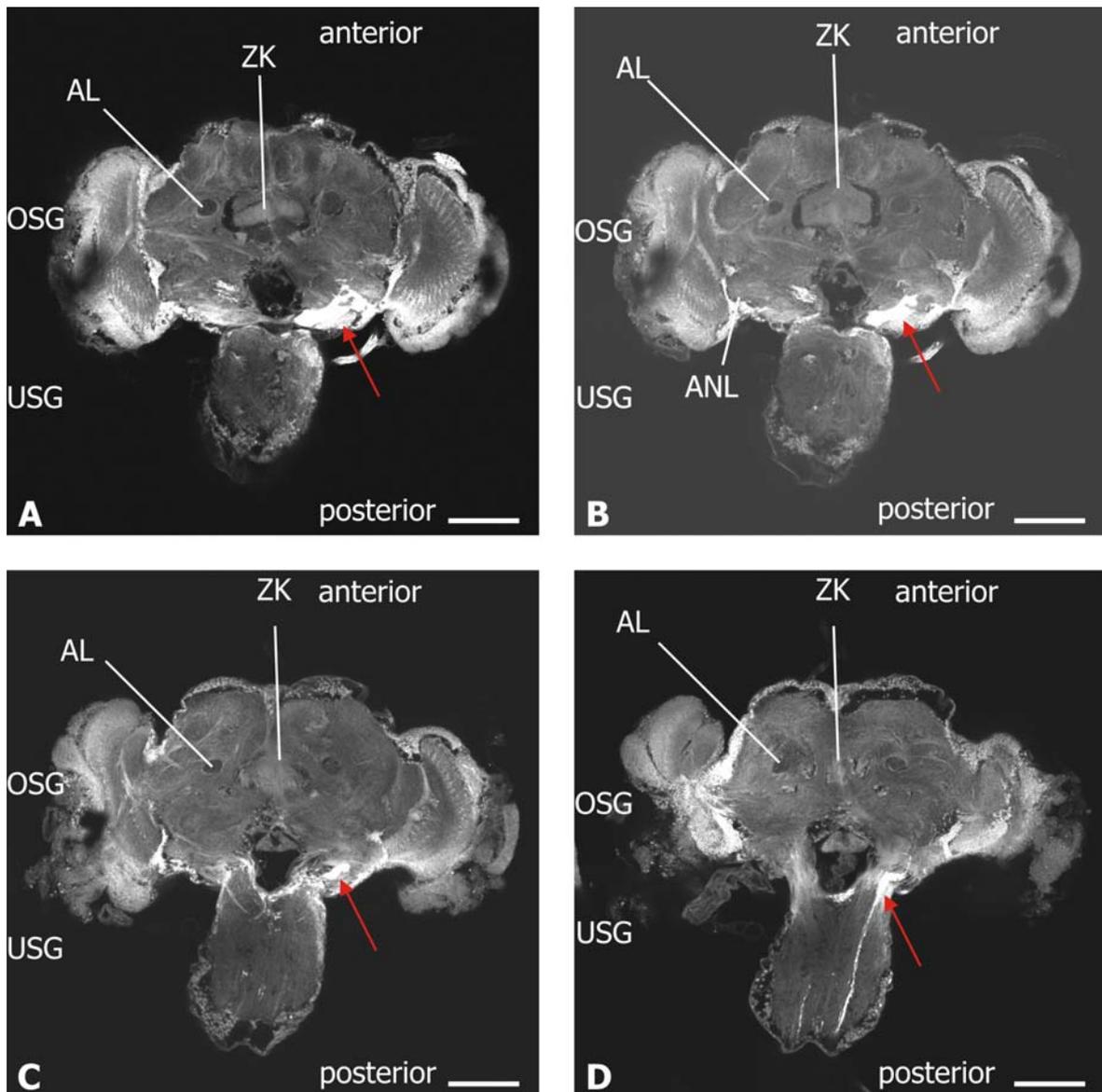


Abbildung 3.10: Montagen aus je zehn optischen Horizontalschnitten durch das Oberschlundganglion von *A. nigricans* mit Färbung der Afferenzen der Sensillen des prothorakalen Organs

Von A bis D: ventral nach dorsal, Färbungen der Afferenzen sind in weiss dargestellt (rote Pfeile) (Balken= 100 μ m).

Abkürzungen: AL=Alpha lobe, ANL=Antennallobus, OSG=Oberschlundganglion, USG=Unterschlundganglion, ZK=Zentralkomplex

3.1.3 Freilandbeobachtungen zur Biologie und Verhalten

3.1.3.1 Charakteristika der Habitate

A. nigricans konzentriert sich, wie bereits erwähnt, auf den frischen Brandflächen bevorzugt an den Hot Spots. Es konnte beobachtet werden, dass die Käfer diese Hot Spots gezielt anfliegen und zumeist in unmittelbarer Nähe der Hot Spots landen. Nach einiger Zeit des offenbar explorativen Umherlaufens verkriechen sich die Käfer häufig unter Holzstücken oder unter dem lockeren Aschematerial, welches den Waldboden bedeckt. Abbildung 3.11 A zeigt eine Aufnahme eines Hot Spots mit einer herkömmlichen Digitalkamera. Mit bloßem Auge ist nicht zu erkennen, ob diese Stelle noch eine höhere Temperatur aufweist, als der umgebende Waldboden. Mit Hilfe der Infrarotkamera jedoch (siehe Abb. 3.11 B) wird erkennbar, dass an diesem Hot Spot Stelle teilweise noch Oberflächentemperaturen von über 90°C herrschen. Beobachtungen zeigen, dass sich die Hot Spots häufig an der Stelle vollständig ausgebrannter Baumstümpfe befinden oder in Arealen um größere Bäume oder Baumgruppen herum.

Im Rahmen dieser Arbeit wurden neun Hot Spots an fünf verschiedenen Waldbrandstellen mit Hilfe der Infrarotkamera näher untersucht (siehe 2.4). Die Faktoren Größe, Form und maximale Temperatur wurden verglichen (siehe Tabelle 3.1). Die Größe der analysierten Hot Spots war verschieden. Der kleinste Hot Spot (A2) hatte eine Fläche von 0,016 m² (bei einem elliptischen Durchmesser von 18 x 15 cm, siehe 2.4.2), während der größte (C1) eine Fläche von 0,3804 m² (elliptischer Durchmesser 98 x 45 cm) aufwies. Es wurden keine Käfer an Hot Spots gefunden, die mehr als einen Meter im Durchmesser maßen. Die jeweilige Maximaltemperatur der analysierten Hot Spots war deutlich verschieden und reichte von 124°C (Hot Spot D1) bis 472,8°C (Hot Spot C2). Es konnte keine Korrelation zwischen der Größe und der Maximaltemperatur festgestellt werden (Spearman Koeffizient = 0,67; p = 0,865; n=9). Es stellte sich heraus, dass die Hot Spots nicht in Hinblick auf Größe und Temperatur, sondern auch in Hinblick auf ihre Form verschieden waren. Einige der Hot Spots wiesen einen klaren Grenzbereich auf, wie beispielsweise Hot Spot A2 in Abbildung 3.11 C. Andere, wie Hot Spot D1 in Abbildung 3.11 D, wiesen eine

diffuse Temperaturverteilung auf. Bei derartigen Hot Spots waren die Grenzen unklar und die Temperaturverteilung eher mosaikartig mit kühleren Stellen innerhalb des Hot Spots. In einer dreidimensionalen Darstellung der Hot Spots, erneut am Beispiel von Hot Spot A2 und Hot Spot D1, werden diese Unterschiede noch deutlicher (siehe Abb. 3.11 E und F). Es wird klar, wie distinkt die Grenzen und wie steil die Temperaturgradienten bei Hot Spot A2 im Vergleich zu Hot Spot D1 sind. Der Vergleich der Temperaturprofile dieser beiden Hot Spots verdeutlicht, dass die Temperaturgradienten sehr verschieden sein können. Bei Hot Spot A2 beispielsweise fällt die Temperatur von 378°C auf einer Strecke von 3 cm auf 55°C ab (108°C/cm), während bei Hot Spot D3 der steilste Temperaturgradient 22°C/cm beträgt (siehe Abb. 3.11 G und H). Die meisten Hot Spots wiesen in einigen Regionen steile Temperaturgradienten auf, Temperaturabfälle von über 80°C auf 50°C über eine Strecke von nur wenigen Zentimetern traten häufig auf.

Hot Spot	T max [°C]	T Luft [°C]	Ellipt. Ø [cm]	Fläche [m ²]	Käferzahl	Landing	Appearance	Landing/Min
A1	253.2	37.51	26x11	0.0182	12	4	8	0.062
A2	378.9	37.51	18x15	0.0160	2	0	2	0.000
B1	148.4	31.58	22x24	0.0328	33	15	18	0.254
B2	440.4	31.58	51x16	0.0486	15	15	0	0.375
C1	270.8	39	98x45	0.3804	15	15	0	0.500
C2	472.8	39	78x28	0.1856	8	8	0	0.308
D1	124.4	33.56	64x28	0.1472	19	19	0	0.655
D3	125.9	33.56	68x32	0.1888	6	6	0	0.261
E1	421.9	38.54	90x32	0.2428	5	5	0	0.313

Tabelle 3.1: Eigenschaften der neun analysierten Hot Spots

Die Tabelle gibt eine Übersicht über die Eigenschaften der Hot Spots. Maximaltemperatur („T max“), Lufttemperatur („T Luft“), Größe (elliptischer Durchmesser „ellipt. Ø“ und „Fläche“) und Käferzahl je Hot Spot sind angegeben. Die Anzahl der Käfer, die landeten („Landing“) und die Anzahl der Käfer die auftauchten („Appearance“), ist getrennt angegeben, die Landungen pro Zeiteinheit („Landing/Min“) ermöglichen einen Vergleich der Anflugeraten an den Hot Spots.

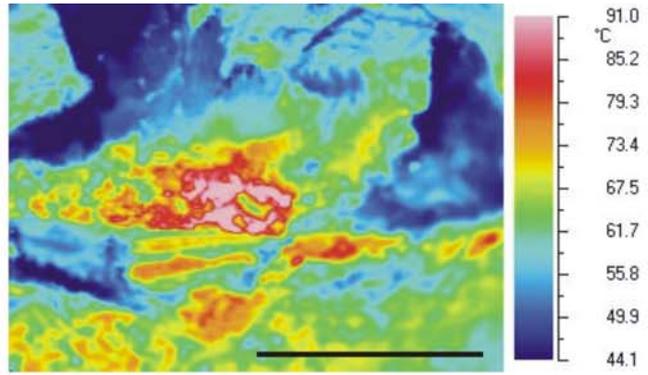
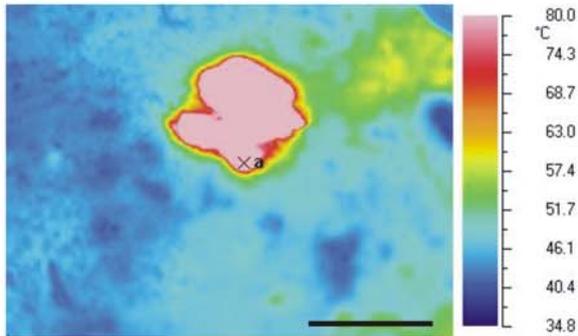
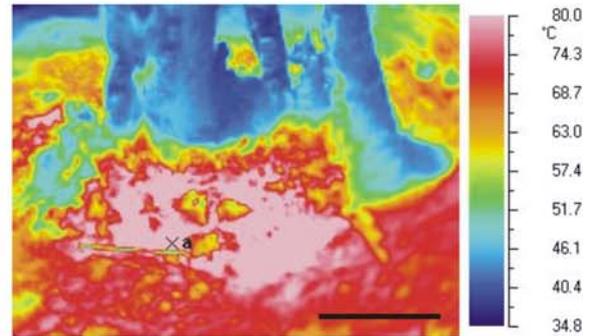
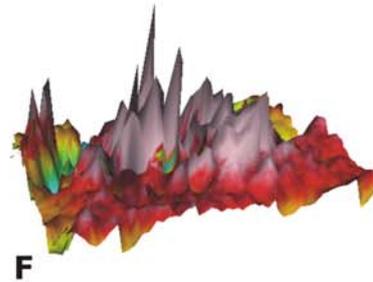
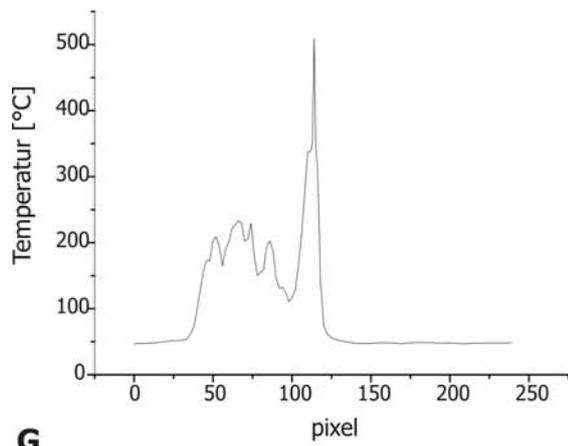
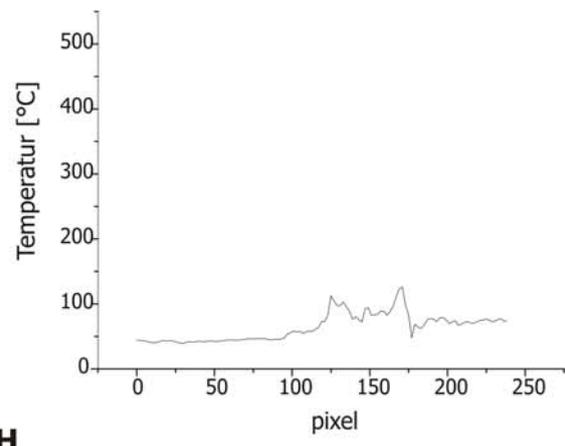
**A****B****C****D****E****F****G****H**

Abbildung 3.11: Thermografie von Habitaten von *A. nigricans*, aufgenommen auf frischen Brandflächen in Westaustralien

A Foto eines typischen Habitates auf einer frischen Brandfläche mit zwei Bäumen und einem dazwischenliegenden Aschefeld.

B Dasselbe Habitat wie in A, als Thermogramm dargestellt. Die Bäume sind hier erkennbar, da sie niedrigere Oberflächentemperaturen aufweisen, als der Waldboden. Das Aschefeld zwischen den Bäumen ist noch bis zu 120°C heiß (Balken 50 cm).

C-H Beispiele zweier Hot Spots im Vergleich. Der erste Hot Spot in C weist eine gleichmäßige Temperaturverteilung auf und hat klare Grenzen (Balken 20 cm). Die heißeste Stelle ist 380°C heiß (xa). Der zweite Hot Spot in D ist größer und weist eine diffusere Temperaturverteilung auf (Balken 25 cm). Die heißeste Stelle ist in diesem Fall 125°C warm (xa). Deutlich werden die Unterschiede auch in den dreidimensionalen Darstellungen E und F und in den Temperaturprofilen G und H (parallel zur Seitenkante des Thermogramms durch die heißeste Stelle gelegt).

Um zu ermitteln, von wie vielen Käfern ein Hot Spot je Zeiteinheit angefliegen wurde, wurden die Käfer, die an jedem einzelnen Hot Spot landeten, gezählt (siehe Tabelle 3.1). Um einen Wert zu erhalten, der einen Vergleich der Hot Spots erlaubt, wurde die Anzahl der landenden Käfer durch die Zeit der Observierung des jeweiligen Hot Spots geteilt. Dieser Wert wurde nun mit den Maximaltemperaturen und der Größe der Hot Spots verglichen. Es wurde dabei keine signifikante Korrelation gefunden (Spearman $p=-0,017$; $p=0,966$; $n=9$ Temperatur verglichen mit Käferlandungen je Minute, Spearman $p=0,653$; $p=0,057$; $n=9$ Größe verglichen mit Käferlandungen je Minute).

3.1.3.2 Verhalten im natürlichen Habitat

Zur Verhaltensanalyse auf der Brandfläche wurden folgende fünf Verhaltenskategorien gebildet: „Landing“, „Appearance“, „Hiding“, „Search Run“ und „Take Off“ (siehe 2.4.3).

Abbildung 3.12 zeigt zwei verschiedene Beispiele des Verhaltens, das individuelle Käfer an einem Hot Spot zeigten. Mehrere Thermogramme wurden für diese Art der Darstellung übereinandergelegt, so dass eine Verhaltenssequenz auf einem Bild zu erkennen ist. Diese Sequenz zeigt einen Teil der Route, die individuelle Käfer am Rand eines Hot Spots zurückgelegt haben. Der Käfer in Abbildung 3.12 A tauchte auf („Appearance“) und krabbelte Richtung Hot Spot. Etwa 2 cm nah an dessen Grenze vergrub er sich („Hiding“). Der Käfer in Abbildung 3.12 B hingegen flog den Hot Spot an, landete am Rand, krabbelte ein Stück in Richtung des Hot Spots und flog dann ab und landete erneut, diesmal näher am Hot Spot als zuvor.

Auch dieser Käfer vergrub sich nah an der Grenze zum Hot Spot (etwa 4 cm). Es wird deutlich, dass beide Käfer sich gezielt auf den jeweiligen Hot Spot zubewegen und sich sehr nah an der Hot Spot Grenze verkriechen. Insgesamt wurden Sequenzen von neun Tieren analysiert, die alle ein ähnliches Verhalten zeigten.

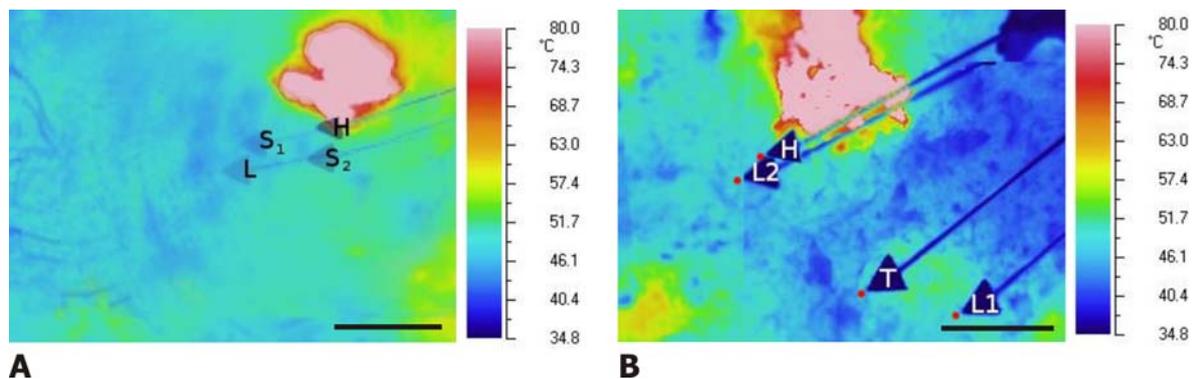


Abbildung 3.12: Verhaltenssequenzen einzelner Käfer an Hot Spots am Beispiel von zwei Tieren

Mehrere Thermogramme wurden für diese Darstellung graphisch übereinandergelegt. Das Zeigewerkzeug markiert die Stellen, an denen die Käfer sich aufhielten.

A Ein Käfer landet (L), läuft (S) Richtung Hot Spot und verkriecht sich (H) direkt an der Grenze des Hot Spots (Balken 20 cm).

B Ein weiterer Käfer landet (L1), läuft ein Stück, fliegt wieder ab (T) und landet direkt erneut (L2) näher am Hot Spot als zuvor und verkriecht sich (H) ebenfalls direkt an der Hot Spot Grenze (Balken 20 cm).

Abkürzungen: H="Hiding", L="Landing", S="Searching", T="Take Off", nummeriert nach zeitlichem Auftreten

Zusätzlich zu der Analyse von Verhaltenssequenzen wurde die exakte Temperatur der Aufenthaltsorte der Käfer untersucht. Die Aufteilung in vier der bekannten Kategorien: "Landing", "Appearance", "Hiding" und "Take Off" blieb dabei bestehen, um diese zu vergleichen (siehe Abb. 3.13 A). Es traten keine signifikanten Unterschiede zwischen den gemittelten Temperaturen in den vier Kategorien auf. Die Mediane für „Landing“ und „Take Off“ liegen mit 48,65 und 46,2°C nah beieinander.

Das Landeverhalten der Käfer wurde von allen Kategorien am detailliertesten untersucht. Dies liegt darin begründet, dass es für die Käfer eine besonders kritische Aufgabe darstellt, aus dem Flug heraus sichere Landepositionen auszuwählen. Der Käfer muss fähig sein, in dem thermisch mosaikartigen und

daher potentiell gefährlichen Gelände sichere Landeplätze zu detektieren. Aus diesen Beobachtungen heraus wurde die maximale Landetemperatur ermittelt, auf der ein Käfer landete und in diesem Zusammenhang auch die Entfernungen zu gefährlich heißen Stellen. Die höchste Temperatur einer Oberfläche, auf der ein Käfer landete, betrug 66,4°C (an Hot Spot D1) und der minimale Abstand eines Landeplatzes zu einem Bereich mit 70°C Oberflächentemperatur betrug nur 0,7 cm (ebenfalls an Hot Spot D1). Entfernungen zu 70°C heißen Oberflächen von unter einem Zentimeter traten auch an anderen Hot Spots auf.

Abbildungen 3.13 B und C zeigen Beispiele zweier Hot Spots (B1 und C1), an denen alle Landeplätze der beobachteten Käfer auf einem Thermogramm eingetragen sind. Die Landeplätze sind jeweils um den Hot Spot herum verteilt und scheinen nicht mit dem Ort der Maximaltemperatur zu korrelieren. Offensichtlich wurde keine bestimmte Stelle präferiert. Es fällt auch hier erneut auf, dass die Käfer zum Teil sehr nah an den Rändern der Hot Spots landeten.

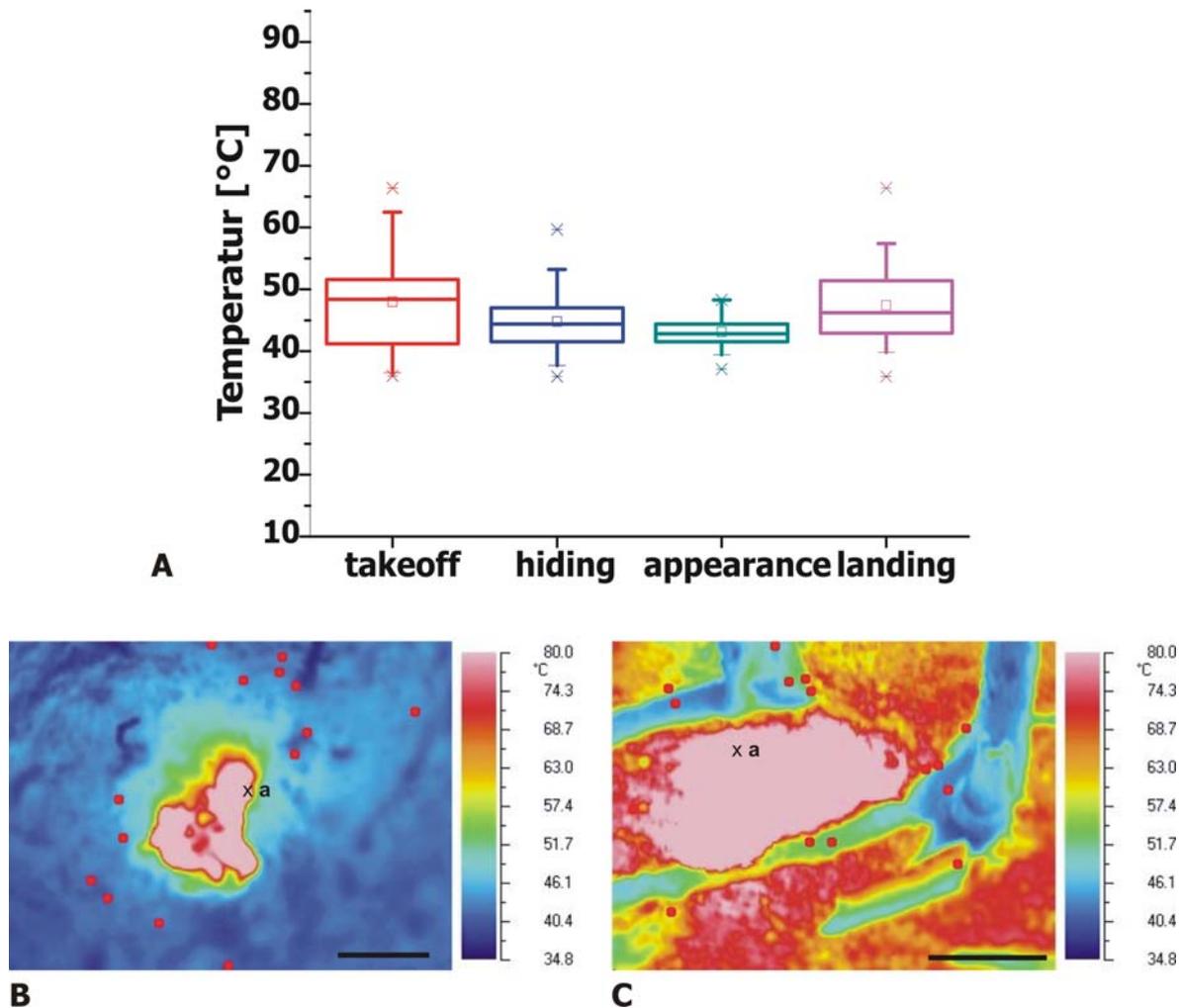


Abbildung 3.13: Das Verhalten von *A. nigricans* an Hot Spots

A Box Plot über Bodentemperaturen von Käferpositionen, für jede Verhaltenskategorie einzeln aufgetragen. Es tritt kein signifikanter Unterschied zwischen den Kategorien auf, die Mediane von „Landing“ und „Take Off“ sind ähnlich.

B Die Landepunkte aller beobachteten Käfer an einem Hot Spot sind mit roten Punkten markiert. Die Landeplätze sind um den Hot Spot verteilt und sind nah an der Grenze des Hot Spots (Balken 20 cm, x a: 148,4°C).

C Alle Käferlandungen an einem weiteren Hot Spot. Viele Landungen finden auf den Baumstämmen oder auf den dazugehörigen Schattenplätzen statt (Balken 50 cm, x a: 256,6°C).

Um zu testen, ob visuelle Reize die Käfer in ihrem Verhalten beeinflussen, wurde der Einfluss des Sonnenlichts auf das sichtbare Muster eines Hot Spots untersucht. Spot D1 wurde nach der regulären Datenaufnahme künstlich so verändert, dass der Hot Spot, der zuvor voll besonnt war, nun teilweise im Schatten eines Baumstammes lag (siehe 2.4.3). Abbildungen 3.14 A und B zeigen den Hot Spot vor und nach der Veränderung. Die Temperatur des Hot Spots fiel durch den fehlenden Einfluss der Sonnenstrahlung von 124 auf 116°C. Verhaltensdaten von sechs Käfern wurden in der gewohnten Weise gesammelt und mit den Daten vor

der künstlichen Veränderung des Hot Spots verglichen. Auf eine gleichlange Zeiteinheit bezogen landeten nach der Veränderung exakt die gleiche Anzahl Käfer an dem Hot Spot wie vorher.

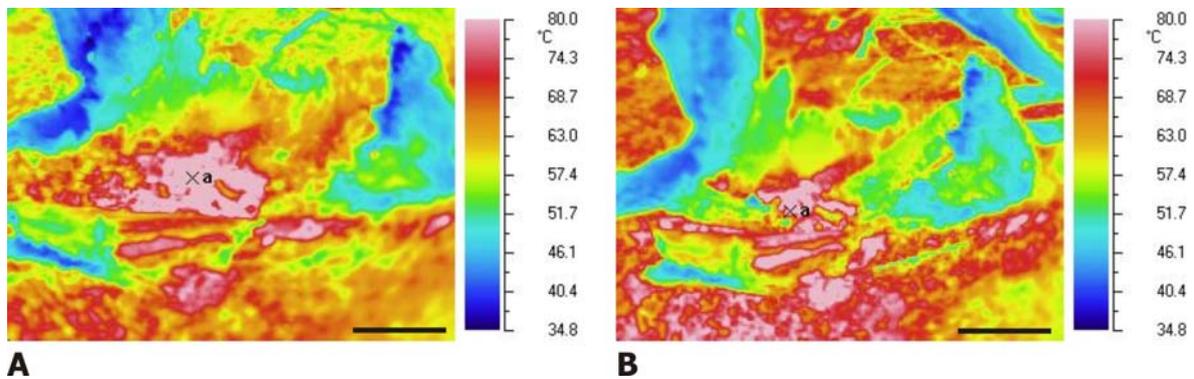


Abbildung 3.14: Einfluss eines artifiziellen Schattens auf das Verhalten der Käfer an einem Hot Spot

A Thermogramm des natürlichen Hot Spots (Balken 20 cm, x a: 124°C).

B Thermogramm nach künstlichem Schattenwurf über den Hot Spot. Durch die fehlende Sonneneinstrahlung ist das Temperaturprofil des Hot Spots leicht verändert (Balken 20 cm, x a: 116°C).

3.1.3.3 Beobachtungen zu Reproduktion und Individualentwicklung

Es besteht die Vermutung, dass das pyrophile Verhalten von *A. nigricans* in Zusammenhang mit der Reproduktion stehen könnte. Aus diesem Grund sind Beobachtungen im Freiland von Interesse. Zusätzlich können so gewonnene Informationen relevant für eine angestrebte Laborzucht von *A. nigricans* sein.

Auf frischen Waldbrandflächen konnten mehrere Kopulationen von *A. nigricans* und auch Eiablagen von zwei Weibchen an je einem Hot Spot beobachtet werden. Diese Weibchen legten jeweils ein einzelnes Ei in Holzspalten eines verkohlten Baumstumpfes direkt an einem Hot Spot. Zahlreiche der an Hot Spots gesammelten Weibchen legten in den folgenden Tagen in Gefangenschaft mehrere Eier ab, meist in den ersten 48 Stunden nach dem Einfangen. Die Larven schlüpften etwa weitere 48 Stunden später aus den Eiern. Verschiedenes Futter wie beispielsweise Wurzeln, Holz und Erde (an Hot Spots gesammelt) und Blätter verschiedener Bäume von der Brandfläche (z.B. Eukalyptus) wurden den Larven angeboten. Haferflocken, Rosinen und verschiedene Nussarten wurden ebenfalls angeboten, da diese Mischung sich als Futter für adulte *A. nigricans* eignet. Die

einzigste Nahrung, die von den *A. nigricans* Larven akzeptiert wurde, waren jedoch gekochte Eier und gegartes Rinderhackfleisch. Ameisen- und Termitenpuppen wurden ebenfalls teilweise akzeptiert.

Die Larven von *A. nigricans* entwickelten sich mit dem angebotenen Futter innerhalb weniger Tage bis zum dritten Larvalstadium, nach diesem Stadium gingen sie jedoch ausnahmslos ein.

Die Larve von *A. nigricans* zeigt von der äußeren Morphologie her keine Ähnlichkeit zu den holzbohrenden Buprestidenlarven, den sogenannten „Hammerkopflarven“ die eine typische Thoraxform aufweisen.

3.1.4 Zusammenfassung

Im Rahmen dieser Arbeit wurden Physiologie und die Neuroanatomie der Sensillen des prothorakalen Organs von *A. nigricans* durchgeführt. Weiterhin wurde das Verhalten von *A. nigricans* auf der frischen Brandfläche untersucht. Die elektrophysiologischen Untersuchungen belegen, dass die PTO-Sensillen phasisch-tonisch auf Erwärmung reagieren. Der Antwort folgt eine Phase der Spike-Unterdrückung. Sowohl Antwortstärke als auch die Dauer der Spike-Unterdrückung sind intensitätsabhängig. Bei Rotlicht der Intensität $549,0 \text{ mW/cm}^2$ wird keine Sättigung der Antwort erreicht. Die Schwelle für eine Antwort liegt zwischen 11 und 25 mW/cm^2 . Bei langen Reizen adaptieren die PTO-Sensillen, die tonische Antwort erreicht dabei einen Plateauwert. Das zeitliche Auflösungsvermögen der Sensillen liegt bei wenigstens 20 Hz .

Die neuronalen Projektionen der Afferenzen der PTO-Sensillen wurden im Rahmen dieser Arbeit erstmals untersucht. Neben wenigen lokalen Verzweigungen ascendiert der Hauptteil der Afferenzen bis ins Oberschlundganglion. Dort terminieren die Verzweigungen vermutlich in der Region des Tritocerebrums.

Das Verhalten von *A. nigricans* wurde auf frischen Brandflächen beobachtet. Die Käfer sammeln sich an Hot Spots. Die Käfer landen punktgenau in der unmittelbaren Umgebung des Hot Spots auf etwa $41\text{-}52^\circ\text{C}$ warmen Bereichen. Minimale Entfernungen der Landeplätze liegen unter 1 cm entfernt von 70°C heißen Bereichen.

Dieses Verhalten steht vermutlich in Zusammenhang mit der Reproduktion. Die Weibchen legen Eier in der Nähe des Hot Spots ab. Die Larven entwickeln sich bis zum dritten Larvalstadium relativ schnell und sind wahrscheinlich fleischfressend.

3.2 Untersuchungen an *M. acuminata* und *M. cuspidata*

3.2.1 Elektrophysiologie im Zentralen Nervensystem

3.2.1.1 Hakenableitungen an den Konnektiven

Der Vorteil von Ableitungen im Zentralen Nervensystem ist, dass die Rezeptoren selbst frei von Einflüssen durch die Ableitung bleiben. Zu diesem Zweck wurden Hakenableitungen an den Konnektiven und an Nerv 5 an *M. acuminata* und *M. cuspidata* bei Reizgebung mit dem Rotlichtlaser durchgeführt. Nur bei einem von 11 Tieren konnten reizkorrelierte Potenziale abgeleitet werden. Hier wurden Antworten auf 20 verschiedene Intensitäten getestet. Abbildung 3.15 A zeigt eine über 30 Reize gemittelte Antwort des zur Reizung ipsilateralen Konnektivs, abgeleitet zwischen Pro- und Meso-Metathorax bei Reizung mit der höchstmöglichen Intensität von 549,0 mW/cm². Mit einer Latenz von 2,9 ms ist eine deutliche Potenzialänderung festzustellen. Eine deutliche Intensitätsabhängigkeit zeigte sich dann bei Reizung mit einer abgeschwächten Intensität von 185 mW/cm², die Antwort-Amplitude betrug hier nur etwa die Hälfte des vorigen Wertes, die Latenz ist mit 3,4 ms etwas länger (siehe Abb. 3.15 B). Bei Reizung unter 50 mW/cm² konnten keine klaren Signale mit der entsprechenden Latenz abgeleitet werden (siehe Abb. 3.15 C - E). Um zu prüfen, ob visuelle Neurone die abgeleitete Antwort beeinflussen, wurde der Focus des Lasers auf das Auge gelegt (siehe Abb. 3.15 G). Eine deutliche reizkorrelierte Antwort ist auch hier zu erkennen. Die Latenz des Hauptanteils dieser Antwort ist mit etwa 20 ms allerdings deutlich länger als die der zuvor mit dem Laserfocus auf dem Organ abgeleiteten Signale. Um sicherzugehen, dass jeglicher Einfluss visueller Neurone ausgeschaltet wird, wurden die Schlundkonnektive durchtrennt. Eine erneute Reizung mit einer Intensität von 185 mW/cm² belegte, dass sich die

Signalstärke der ersten Potenzialänderung nicht ändert (siehe Abb. 3.15 H). Da die Trennung der Schlundkonnektive aus Sicherheitsgründen erst nach erfolgreicher Ableitung als Kontrolle erfolgte, ist es wahrscheinlich, dass bei dem vorhergehenden Versuch ebenfalls visuelle Anteile in dem Signal enthalten sind (siehe Abb. 3.15 A-E). Die Kontrolle ohne Laser (Abb. 3.15 F) zeigt, dass zusätzlich eine leichte Potenzialänderung bei 8-16 ms artifizuell (durch den Kameraverschluss) verursacht wurde. Die Schwelle für eine Antwort auf den Rotlichtreiz liegt bei dieser Ableitung somit zwischen 50 und 185 mW/cm².

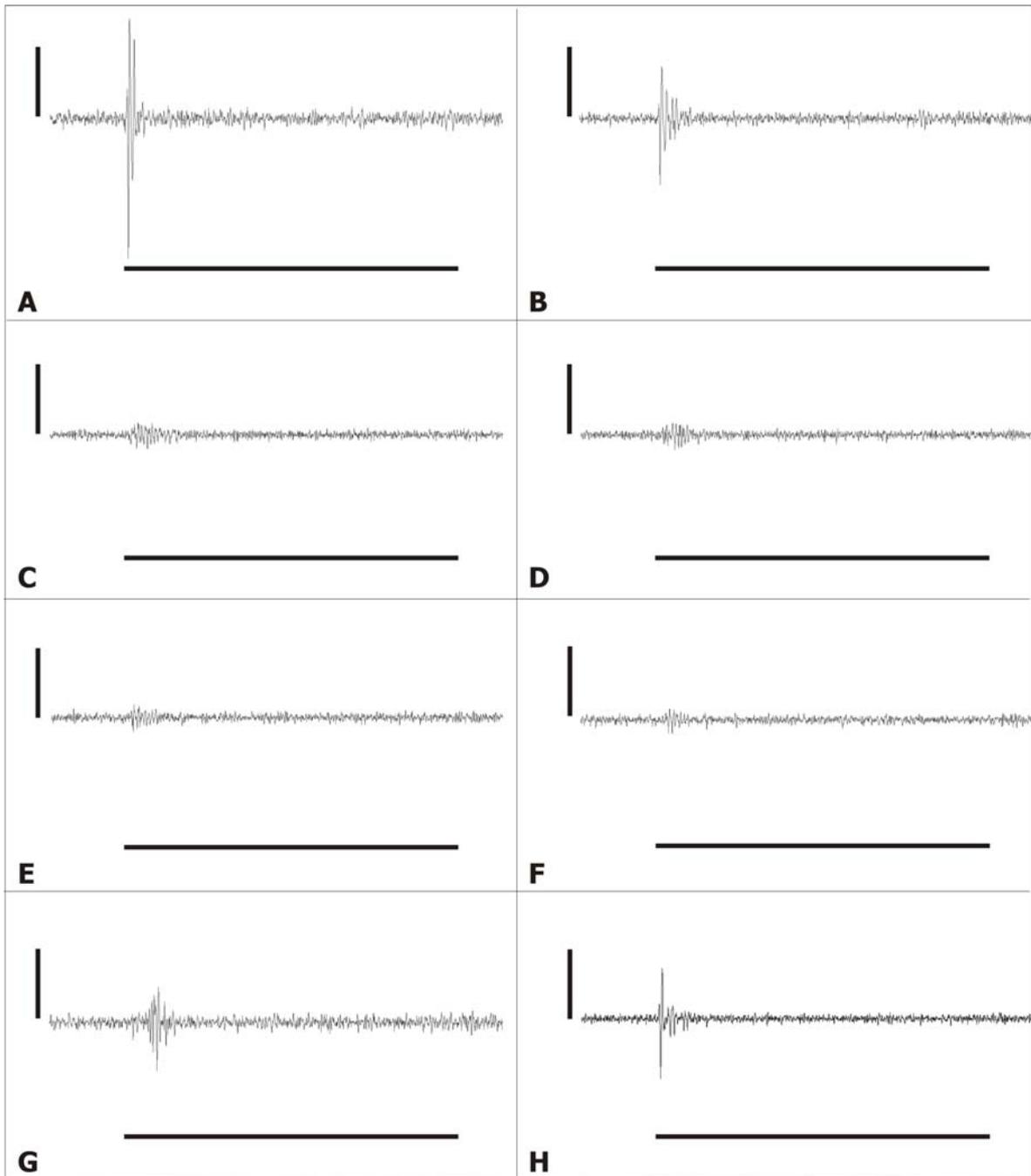


Abbildung 3.15: Hakenableitungen am thorakalen Konnektiv von *M. acuminata*

Dargestellt sind über je 30 Durchläufe gemittelte Signale (vertikaler Balken 100 μV , horizontaler Balken 220 ms, entspricht Stimulationsdauer).

A-E Antworten auf Bestrahlung mit Rotlicht der Intensität 549 mW/cm^2 (A), 185 mW/cm^2 (B), 50 mW/cm^2 (C), 7 mW/cm^2 (D) und 0,01 mW/cm^2 (E).

F Der Kontrollversuch ohne Stimulation zeigt eine geringe Potenzialänderung als Artefakt des Kameraverschlusses.

G Reizkorrelierte Antworten bei Bestrahlung des Auges.

H Kontrollversuch nach Durchtrennung der Konnektive zwischen Unterschlundganglion und Oberschlundganglion bei Bestrahlung mit 185 mW/cm^2 .

3.2.1.2 Extrazelluläre Einzelzelleitungen infrarotsensitiver Zellen im Thorakalganglion

Ein Ziel dieser Arbeit war es, intrazellulär von infrarotsensitiven Zellen im Zentralen Nervensystem von *M. acuminata* bzw. *M. cuspidata* abzuleiten. Um ideale Ableitorte für intrazelluläre Ableitungen zu ermitteln, wurde zunächst mit niederohmigen Glaselektroden ($<5 \text{ M}\Omega$) systematisch im Meso-Metathorakalganglion nach reizkorrelierten Potenzialen gesucht. Als Suchreiz wurde dafür ein Rotlichtlaser verwendet. Bei drei Käfern konnten reizkorrelierte extrazelluläre Potenziale im fusionierten Meso-Metathorakalganglion abgeleitet werden. Die Ableitungen waren bei allen drei Tieren von nur wenigen Sekunden Dauer, so dass weiterführende Tests wie Kontrollreizungen nicht möglich waren. Abbildung 3.16 A zeigt eine Originalspur einer Zelle, die auf den ersten Reiz mit sieben Spikes reagierte und den ganzen Reizzeitraum lang feuerte. Nach Reizende stoppte die Zelle das Feuern, auf den zweiten bis sechsten Reiz hin feuerte sie nur noch maximal vier Spikes. Die Latenzen des ersten Spikes lagen jeweils bei etwa 50 ms. Der Ableitort dieser Zelle lag nah der Eintrittsstelle von Nerv 1 und Nerv 2. Abbildung 3.16 B zeigt eine Zelle, die eine Ruheaktivität zeigte und zu Reizbeginn drei zusätzliche Spikes feuerte, der erste Spike hatte dabei ein Latenz von 40 ms. Der Ableitort lag hier in der Nähe der Eintrittsstelle des Nervs 5. Abbildung 3.16 C zeigt eine Zelle die den Reizbeginn mit je zwei Spikes beantwortete, bei einer Latenz von 20 ms. Der Ableitort lag hier an der Mittellinie des Meso-Metathorakalganglions.

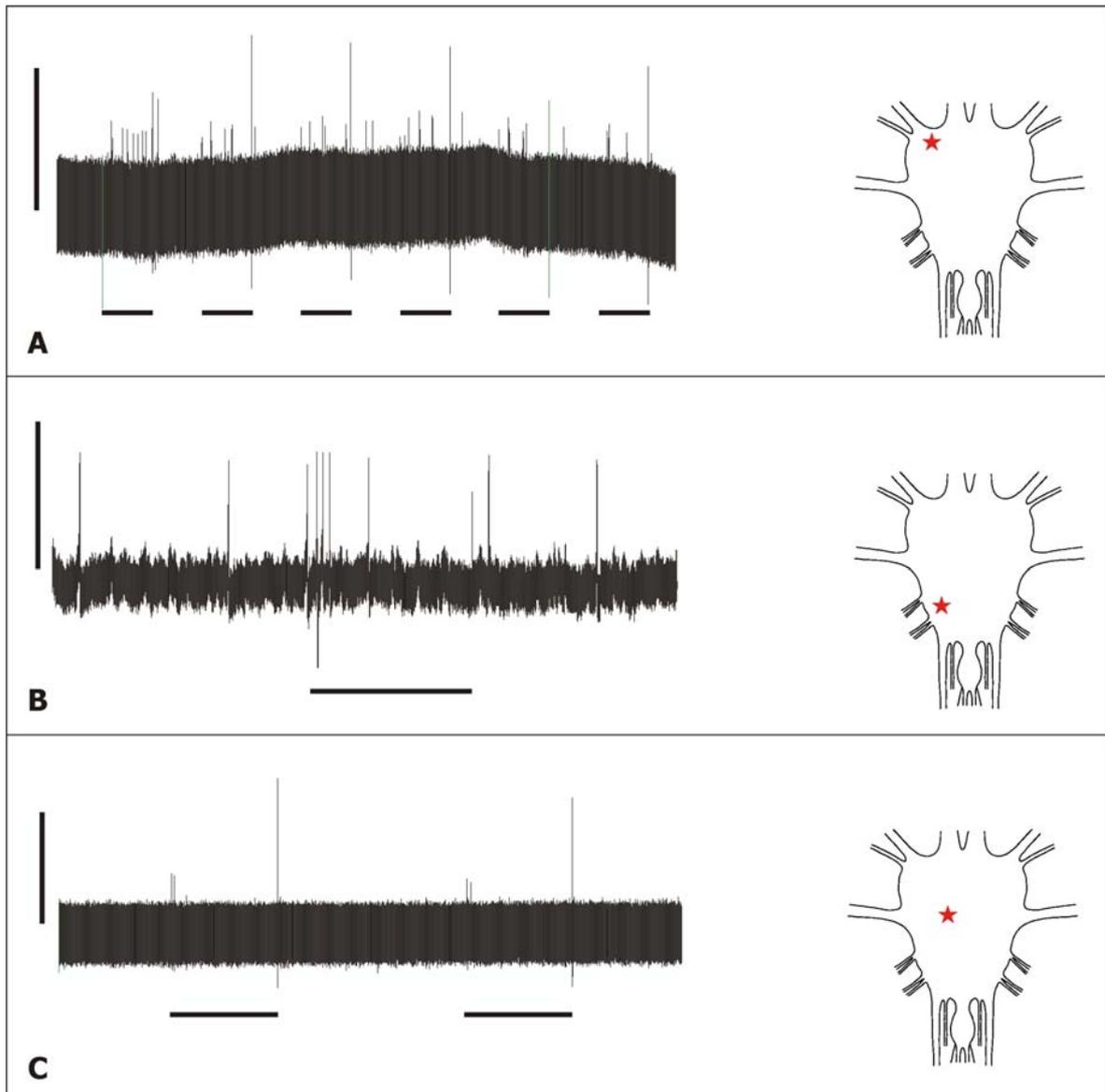


Abbildung 3.16: Extrazelluläre Antworten im Meso-Metathorakalganglion von *M. cuspidata* auf Bestrahlung der Infrarotorgane

Bei Reizende tritt bei allen Ableitungen ein Artefakt durch den Kameraverschluss auf. Die Insets zeigen den jeweiligen Ableitort.

A Originalspur über sechs Reizungen. Beim ersten gezeigten Reiz werden sieben Spikes generiert, im Folgenden treten je Reiz nur noch bis zu vier Spikes auf (vertikaler Balken 5 μ V, horizontale Balken 300 ms, entsprechen Stimulationsdauer).

B Originalspur über einen Einzelreiz. Der Reizbeginn ist deutlich durch das Auftreten zusätzlicher Spikes codiert (vertikaler Balken 50 μ V, horizontaler Balken 1 s, entspricht Stimulationsdauer).

C Originalspur über zwei Reize. Beide werden zu Beginn durch jeweils zwei Spikes codiert (vertikaler Balken 30 μ V, horizontaler Balken 1 s, entspricht Stimulationsdauer).

3.2.1.3 Ableitungen von Summenpotenzialen

Ein weiterer Anhaltspunkt, um ideale Ableitstellen für intrazelluläre Ableitungen zu finden, ist das Ableiten von reizkorrelierten Feldpotenzialen. Mit niederohmigen Glaselektroden ($< 5 \text{ M}\Omega$) konnten durch mehrfaches Mitteln über 135 bzw. 35 Reize in zwei Fällen deutlich reizkorrelierte Summenpotenziale im Meso-Metathorakalganglion abgeleitet werden. Der Ableitort war in beiden Fällen nahe der Eintrittsstelle des Nervs 5. Die Ableitungen waren zu instabil, um weiterführende Tests wie beispielsweise Kontrollreizungen zu ermöglichen. Abbildung 3.17 A zeigt eine deutliche Potenzialänderung mit einer Latenz von 8 bzw. 55 ms nach Reizbeginn, die nach Reizende wieder auf das Ruhepotenzial zurückkehrte. Abbildung 3.17 B zeigt ebenfalls ein reizkorreliertes Summenpotenzial, welches auf den Reizbeginn mit einer deutlichen negativen Potenzialänderung mit einer Latenz von 6 ms reagiert. Nach 15 ms kommt es zu einer reversen Potenzialänderung.

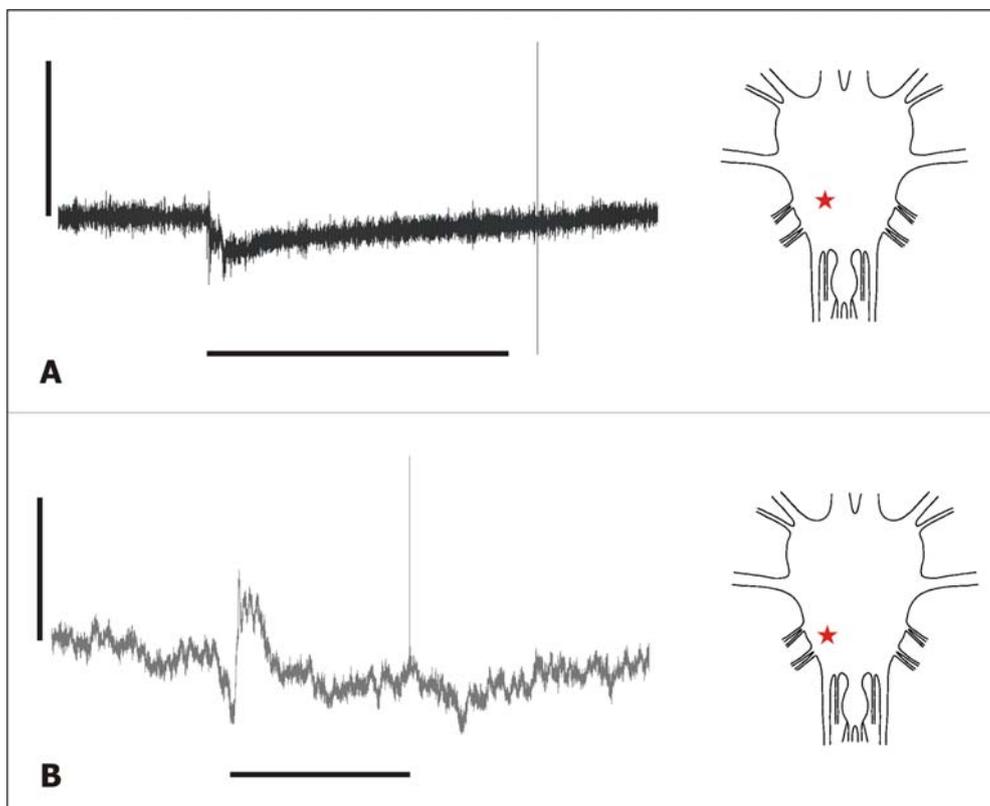


Abbildung 3.17: Reizkorrelierte Feldpotenziale im Meso-Metathorakalganglion von *M. cuspidata* bei Bestrahlung mit Rotlicht (378 mW/cm^2)

Die Insets zeigen den jeweiligen Ableitort. Bei Reizende tritt bei beiden Ableitungen ein Artefakt durch den Kameraverschluss auf.

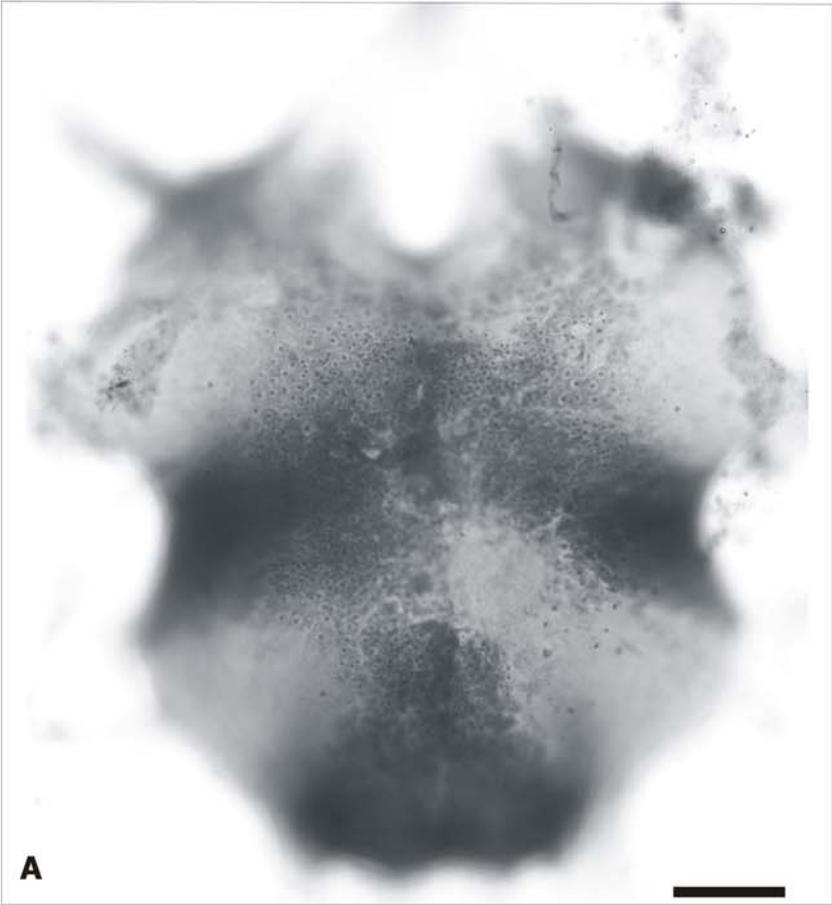
A Bei Reizbeginn erfolgt eine negative Potenzialänderung (35 Durchläufe, vertikaler Balken 7 μV , horizontaler Balken 1 s, entspricht Stimulationsdauer).

B Bei Reizbeginn erfolgt zunächst eine kurze negative Potenzialänderung, unmittelbar gefolgt von einer positiven Potenzialänderung (vertikaler Balken 5 μV , horizontaler Balken 300 ms, entspricht Stimulationsdauer).

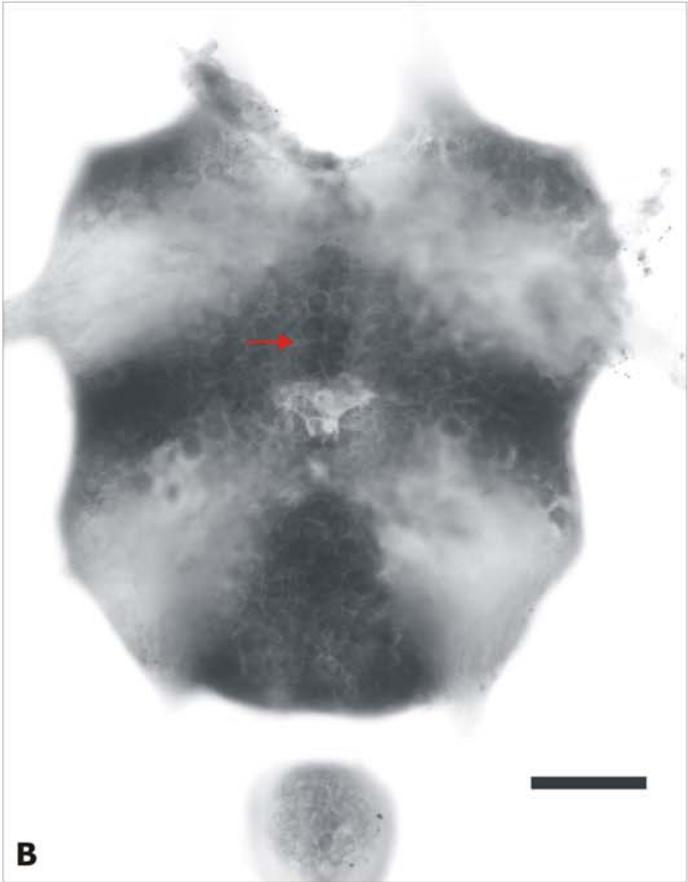
3.2.1.4 Verteilung und Größe der Somata in den thorakalen Ganglien

In Vorbereitung auf intrazelluläre Ableitungen ist es von Bedeutung, über die Größe und Position der Zellkörper der Zellen im betreffenden Ganglion informiert zu sein. Anhand von Somafärbungen mit Toluidinblau (Merck) an 13 Meso-Metathorakalganglien von *M. cuspidata* konnte festgestellt werden, dass die Zellkörper in der ventralen Somarinde dicht gelagert sind (siehe Abb. 3.18 A und B). Die Größe der Somata ist als Anhaltspunkt für die Entwicklung optimaler Elektrodenspitzen für intrazelluläre Ableitungen von Bedeutung. Die Mehrzahl der ausgemessenen Zellkörper hatten Durchmesser von 8 bis 12 μm (siehe Abb. 3.18 A und B). Einige auffallend große Zellkörper an der ventralen Mittellinie waren bis zu 21 μm groß. Sie traten in zwei Clustern (anterior und posterior) auf (siehe Abb. 3.18 B).

Eine frühere Schnittserie durch ein fusioniertes Meso-Metathorakalganglion von *M. acuminata* hatten ergeben, dass die maximale Somagröße in diesem Präparat bei unter 20 μm lag (A. Grotfeld, unveröffentlichte Ergebnisse).



A



B

Abbildung 3.18: Toluidin-Färbung des gesamten Meso-Metathorakalganglions von *M. cuspidata* zur Markierung der Somata der Ventralseite

A Ansicht der Ventralseite des Ganglions. Die Somata weisen in den meisten Fällen einen Durchmesser von etwa 10 μm auf (Balken 100 μm).

B Bei einem weiteren Präparat liegen die größten Somata auf der Ventralseite (roter Pfeil) an der Mittellinie des Ganglions (Balken 100 μm).

3.2.2 Intrazelluläre Ableitungen im Meso-Metathorakalganglion

An insgesamt 101 Tieren konnten 14 Einzelzellen für bis zu 8 Minuten stabil abgeleitet und teilweise mit Lucifer Yellow gefärbt werden (Stromstärke bis zu 7 nA). Als Elektroden wurden Dickwand-Elektroden (Widerstand $> 100 \text{ M}\Omega$) und Dünnwandelektroden (Widerstand 30-80 $\text{M}\Omega$) verwendet. Sobald ein Signal einer Zelle abgeleitet wurde, wurden Tests zur Modalität dieser Zelle durchgeführt (siehe 2.2.4). Aufgrund dieser Tests wurden die abgeleiteten Zellen wie folgt klassifiziert:

3.2.2.1 Mechanosensitive Einheiten

Bei einem Käfer konnte eine mechanosensitive Zelle stabil abgeleitet und gefärbt werden. Die Zelle reagierte auf mechanische Reizung des Abdomens mit Erhöhungen der Rate, gefolgt von Phasen der Spike-Unterdrückung. Die genauen Reizzeitpunkte waren aufgrund der Reizmethode nicht exakt mit den Antworten der Zelle zu korrelieren.

Die Einstichstelle der Elektrode lag in der Nähe der Eintrittsstelle des Nervs 4. Die Zelle verläuft sehr wahrscheinlich intersegmental, daher ist kein Soma angefärbt (siehe Abb. 3.19). Ein Neurit, vermutlich das Axon, läuft aus dem ersten Abdominalganglion durch das Meso-Metathorakalganglion und weiter ins anteriore Konnektiv. Zahlreiche Verzweigungen führen über die Mittellinie nach kontralateral und vermutlich auch ins kontralaterale Konnektiv.

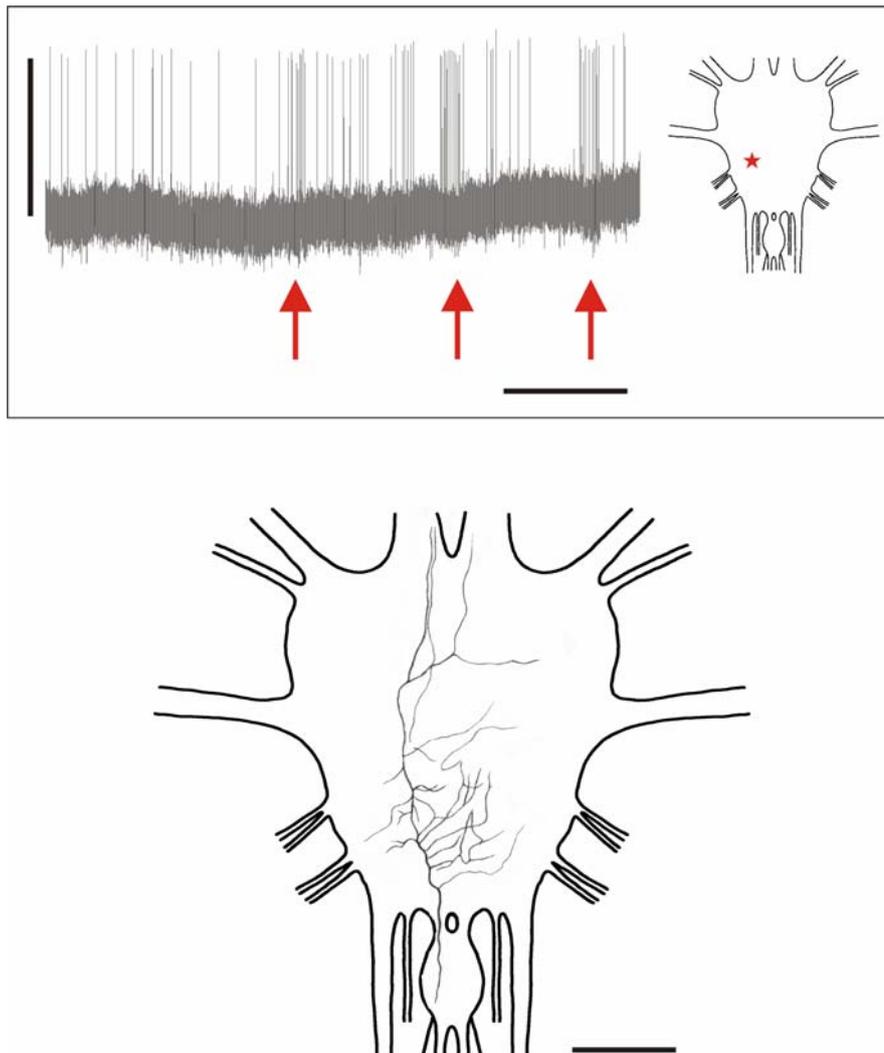


Abbildung 3.19: Intrazelluläre Ableitung und Färbung einer Zelle bei *M. cuspidata* die auf mechanische Reizung am Abdomen reagierte

A Originalableitung, die Pfeile deuten den Beginn der Stimulation an (vertikaler Balken 5 mV, horizontaler Balken 2 s).

B Zeichnung der gefärbten Zelle im Meso-Metathorakalganglion. Das Neuron verläuft intersegmental, das Soma liegt nicht im Thorax. Das Neuron zieht ipsilateral zur Ableitstelle in die Konnektive zum Unterschlundganglion (Balken 100 µm). Das Inset zeigt den ungefähren Ableitort

3.2.2.2 Visuell sensitive Einheiten

Zwei Zellen bei zwei verschiedenen Tieren reagierten sowohl auf Bewegungen der Hand, als auch auf Kaltlichtreize und wurden daher als visuell sensitive Zellen eingeordnet. Abbildung 3.20 A zeigt die Originalspur der ersten Zelle bei Reizung mit Kaltlicht. Mit einer Amplitude von über 10 mV wurde eine gleichmäßige Qualität der Ableitung für mehrere Minuten erreicht. Die Zelle reagierte stärker auf Bewegungen, als auf reine Lichtreize. Abbildung 3.20 B zeigt, dass zwei Zellen

während dieser Ableitung angefärbt wurden. Es wird nicht klar, welche der beiden Zellen dem abgeleiteten Signal zuzuordnen ist. Eine der beiden Zellen verläuft intersegmental sowohl durchs erste Abdominalganglion als auch nach anterior ins Konnektiv und weist im Meso-Metathorakalganglion kein Soma auf. Im posterioren Bereich zeigt sie Verzweigungen nach kontralateral. Die zweite Zelle hat ihr Soma kontralateral nah der Mittellinie und verzweigt sowohl nach posterior als auch nach anterior, nach anterior verläuft sie intersegmental und verlässt das Ganglion durch das Konnektiv. Posterior reichte die Färbung bis kurz über das erste Abdominalganglion. Der Ableitort lag an der Eintrittsstelle des Nervs 4 (siehe Inset Abb 3.20 A).

Abbildung 3.20 C zeigt eine Zelle eines weiteren Käfers, die ebenfalls deutlich auf Reizung mit Kaltlicht reagierte. Die Amplitude der Ableitung lag bei 50 mV. Das Einschalten der Kaltlichtlampe führte zu einer deutlichen Erhöhung der Feuerfrequenz, das Ausschalten zu einer post-Stimulus Spike-Unterdrückung. Gefärbt wurden im Verlauf des Experiments zwei Zellen, deren Soma jeweils mitgefärbt wurde (siehe Abb. 3.20 D). Aufgrund der Einstichstelle der Elektrode scheint die ipsilaterale Zelle die zu sein, der das gezeigte Signal zuzuordnen ist. Das Soma dieser Zelle liegt auf der Mittellinie, Neurite ziehen nach lateral, sind jedoch nicht weiter gefüllt. Der Ableitort lag nahe der Mittellinie im anterioren Teil des Ganglions.

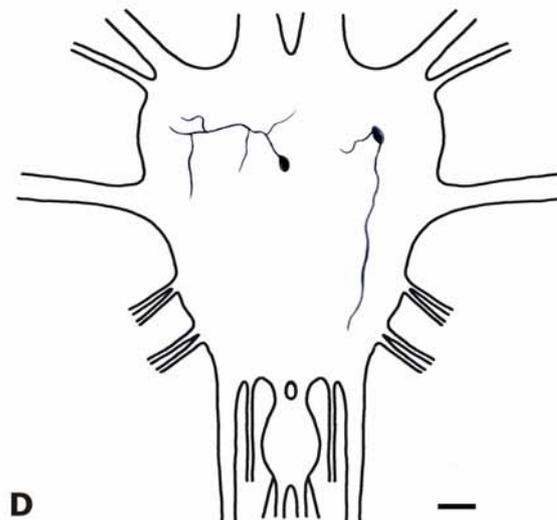
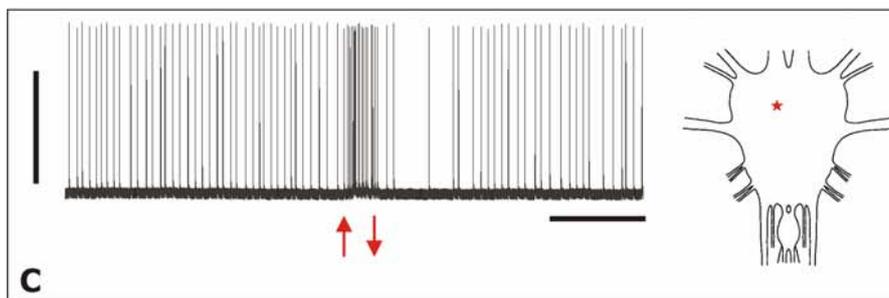
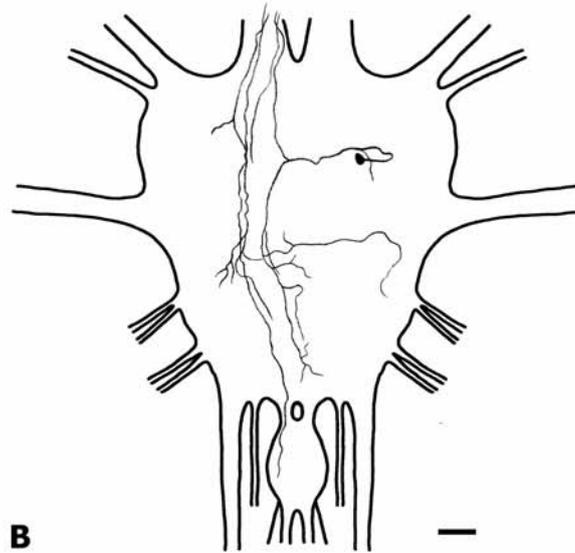
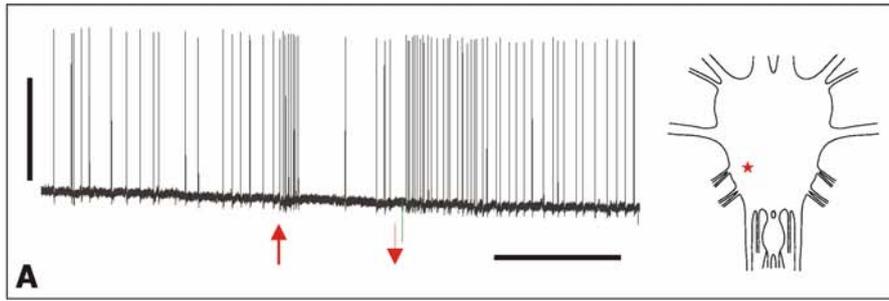


Abbildung 3.20: Intrazelluläre Ableitungen und Färbungen zweier Neurone bei *M. cuspidata*, die auf visuelle Reize reagierten

A Originalableitung, die Pfeile deuten den Stimulationszeitpunkt (Kaltlicht an und aus) an. Die Zelle reagiert auf Beleuchtung des ipsilateralen Auges (vertikaler Balken 10 mV, horizontaler Balken 2 s).

B Zeichnung zweier angefärbter Zellen aus A, deren Somata angefärbt sind (Balken 50 μm). Das Inset zeigt den Ableitort.

C Originalableitung, die Pfeile deuten den Stimulationszeitpunkt (Bewegung vor dem ipsilateralen Auge) an, die Zelle zeigt eine deutliche Erhöhung ihrer Feuerrate (vertikaler Balken 50 mV, horizontaler Balken 1 s).

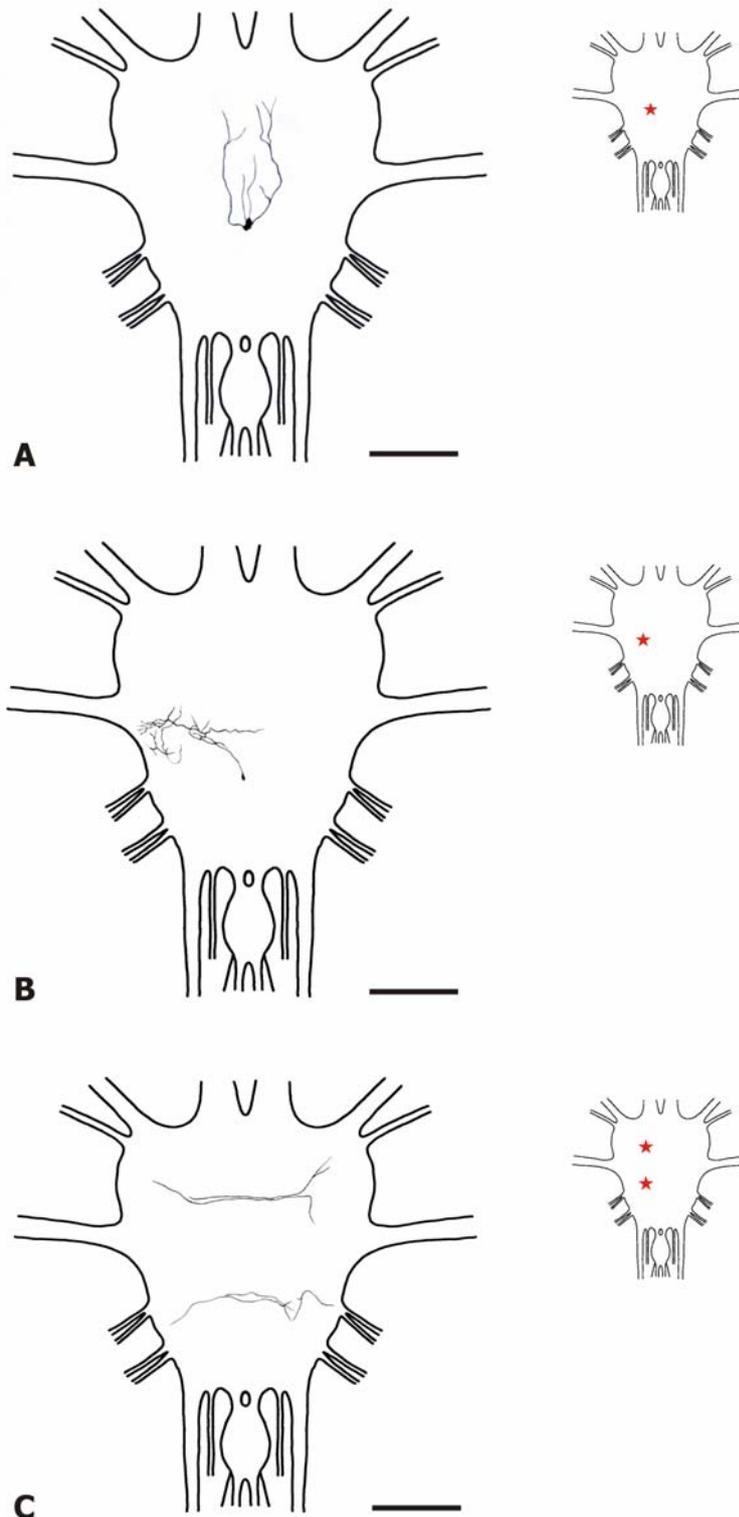
D Zeichnung des angefärbten Neurons. Das Inset zeigt den ungefähren Ableitort.

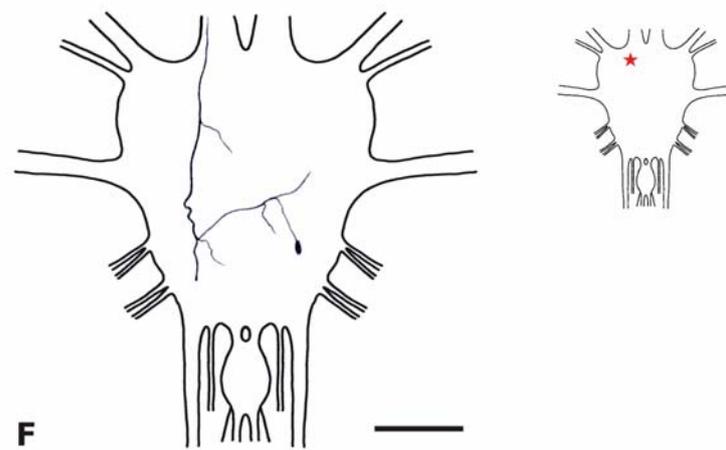
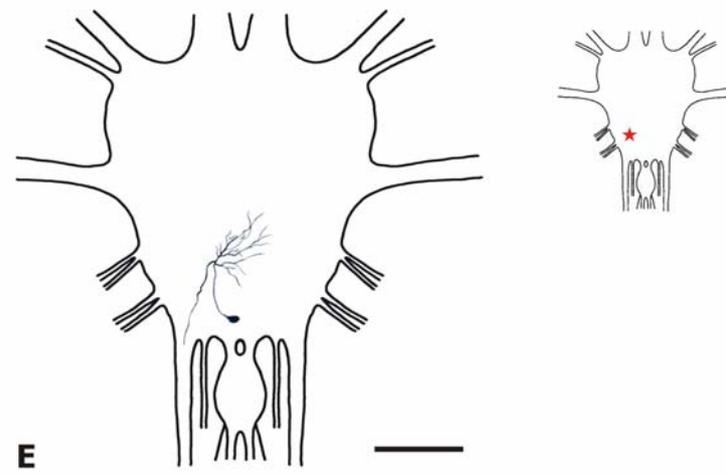
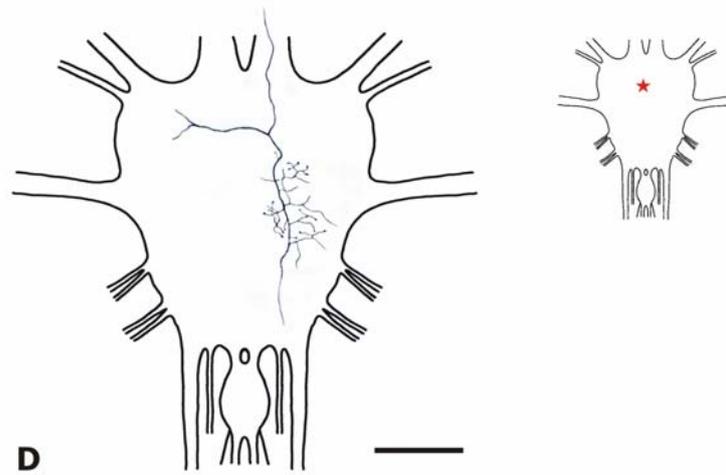
3.2.2.3 Gefärbte jedoch nicht charakterisierte Zellen

Es wurden 11 Zellen stabil über mehrere Minuten abgeleitet, die jedoch auf keinen der getesteten Reize reagierten (siehe 2.2.4). In neun dieser Fällen gelang eine Färbung der Zelle.

Abbildung 3.21 A zeigt eine Zelle, deren Soma auf Höhe der Mittellinie liegt. Symmetrisch ziehen zwei Hauptneurite nach anterior. Die Zelle bleibt der Färbung nach im Meso-Metathorakalganglion. Das Soma der in Abbildung 3.21 B gezeigten Zelle liegt ebenfalls im Meso-Metathorakalganglion nahe der Mittellinie. Die Zelle scheint der Färbung nach in Nerv 3 zu projizieren, jedoch ist der Tracer nicht ausreichend weit gelaufen, um dies mit Bestimmtheit zu sagen. In Abbildung 3.21 C sind zwei angefärbte Zellen dargestellt, die beide quer zur Ganglionachse verlaufen und die lateralen Ganglionhemisphären verbinden. Die Somata sind hier nicht gefärbt. In Abbildung 3.21 D ist die Färbung eines intersegmentalen Interneurons gezeigt. Es ist kein Soma im Meso-Metathorakalganglion zu finden. Eine der zahlreichen Verzweigungen zieht nach ipsilateral, die Mehrzahl der Verzweigungen bleibt jedoch kontralateral zur Ableitstelle. Das in Abbildung 3.21 E gezeigte Neuron hat sein Soma ipsilateral der Ableitstelle und verzweigt lokal im metathorakalen Neuromer. Die Projektionen stammen aus dem Beinnerv. In Abbildung 3.21 F ist ein weiteres intersegmentales Neuron gezeigt. Das Soma befindet sich auf der kontralateralen Seite der Ableitung und ein langer Neurit zieht nach anterior in das Konnektiv. In Abbildung 3.21 G sind zwei gefärbte Zellen dargestellt. Die anteriore Zelle hat ihr Soma nahe der Mittellinie, bei der zweiten ist kein Soma angefärbt. Aufgrund kurzer Färbezeiten sind die Färbestrecken zu kurz und die Neurite nur unvollständig dargestellt. Dies trifft auch für die beiden in Abbildung 3.21 H

gezeigten Neurone zu, deren Somata dicht nebeneinander liegen. Ebenfalls zwei Neurone wurden in dem in Abbildung 3.21 I dargestellten Versuch an einer Ableitstelle gleichzeitig angefärbt. Beide ziehen über die Mittellinie, das Soma eines der Neurone liegt posterior nahe des Beinners.





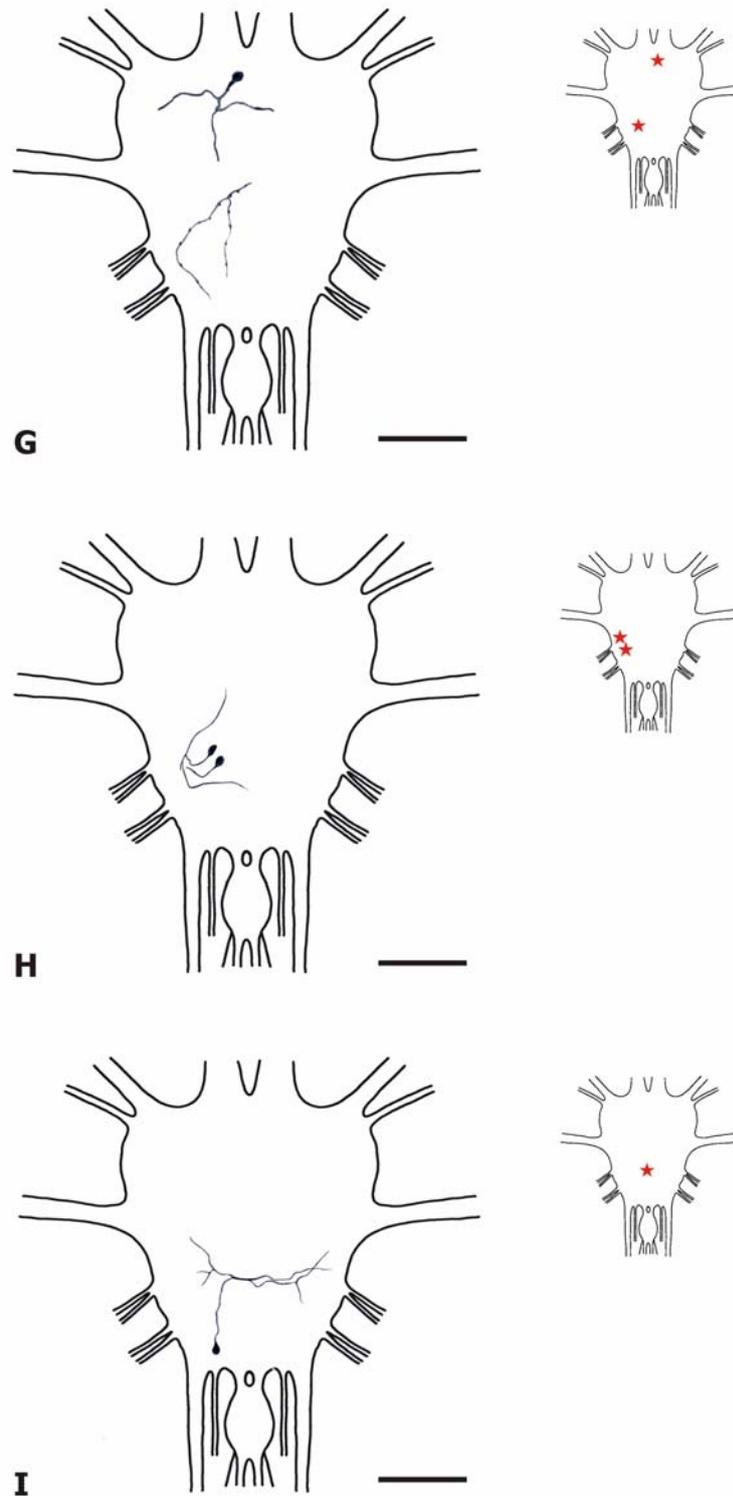


Abbildung 3.21: Zeichnungen abgeleiteter und angefärbter Neurone von *M. cuspidata*, die ihrer Funktion nach nicht charakterisiert werden konnten
Die jeweiligen Insets zeigen die ungefähren Ableitorte (Balken je 100 µm).

3.2.3 Neuroanatomie

3.2.3.1 Projektionen der photomechanischen Sensillen im Zentralen Nervensystem von *M. acuminata* bzw. *M. cuspidata*

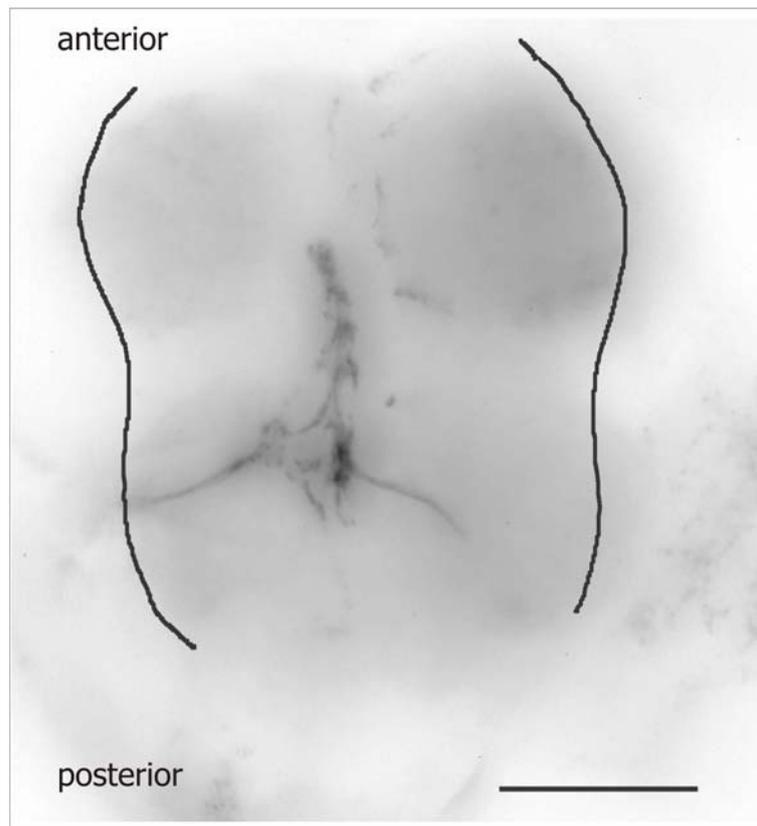


Abbildung 3.22: Anterograde Färbung von Afferenzen photomechanischer Sensillen beider Körperseiten von *M. cuspidata* im fusionierten Meso-Metathorakalganglion

Die Fasern treten durch den Nerv 5 in das Ganglion ein und verlaufen zur Mittellinie. Dort ascendieren und descendieren sie (Balken 100 µm).

Die Hypothese besteht, dass etwa 10% der Afferenzen der photomechanischen Sensillen bis ins Oberschlundganglion ziehen (siehe 1.). Dies konnte bislang jedoch nicht gezeigt werden. Um diese Hypothese zu prüfen wurden in dieser Arbeit anterograde Färbungen an 13 Tieren mit verschiedenen Tracern durchgeführt (siehe 2.3.1). Bei vier Tieren wurden erfolgreich Afferenzen des Infrarotorgans mit Neurobiotin angefärbt. Ein Beispiel ist in Abbildung 3.22 gezeigt. Die Afferenzen der photomechanischen Sensillen ziehen durch Nerv 5 ins

Meso-Metathorakalganglion und verlaufen dort zur Mittellinie. Dort verzweigen sie sowohl nach anterior als auch nach posterior. In allen Fällen waren die Projektionen nur im Meso-Metathorakalganglion zu verfolgen.

Färbungen, die intersegmental über das Meso-Metathorakalganglion hinausgingen, wurden nicht erreicht.

3.3 Zusammenfassung

Ein Ziel dieser Arbeit bestand darin, im Zentralen Nervensystem von *M. acuminata* bzw. *M. cuspidata* von infrarotsensitiven Zellen abzuleiten.

Eine Hakenableitung am thorakalen Konnektiv zeigte reizkorrelierte Potenziale. Die Schwelle für eine Antwort lag hier zwischen 50 und 185 mW/cm².

Im fusionierten Meso-Metathorakalganglion konnten reizkorrelierte extrazelluläre Potenziale sowie reizkorrelierte Feldpotenziale abgeleitet werden. Hier reichten die Ableitzeiten nicht für eine nähere Charakterisierung.

Erstmals wurde ein Präparat für intrazelluläre Ableitungen an *M. acuminata* bzw. *M. cuspidata* entwickelt. Es gelangen erstmals intrazelluläre Ableitungen und Färbungen mehrerer Einzelzellen im fusionierten Meso-Metathorakalganglion. Visuelle und mechanische Reize wurden teilweise von den Zellen beantwortet, keine der Zellen reagierte jedoch auf Infrarotstrahlung. Reizkorrelierte extrazellulär abgeleitete Potenziale im Meso-Metathorakalganglion ermöglichen eine Diskussion über ideale Ableitorte im Ganglion.

4 Diskussion

4.1 Beobachtungen zu Ökologie und Verhalten von *A. nigricans* auf Brandflächen

Im Rahmen dieser Arbeit wurden neun Hot Spots, die von *A. nigricans* gezielt angeflogen wurden und in deren Umgebung sich *A. nigricans* aufhielt, bezüglich ihrer Größe und Temperatur untersucht. Die untersuchten Hot Spots waren alle nicht größer als 1 m im Durchmesser. Ihre maximale Temperatur war mit 119 bis 472,8°C sehr unterschiedlich. Sie korrelierte nicht mit der Größe der Hot Spots. Die Maximaltemperatur der Hot Spots scheint ebenso wie die Größe anhand der Daten dieser Arbeit keine bedeutende Rolle für das Anflugverhalten zu spielen, denn die Zahl der anfliegenden Käfer pro Minute korrelierte nicht mit diesen Faktoren. Das Einzel-Experiment, visuell wahrnehmbare Eigenschaften des Hot Spots künstlich zu verändern, belegte, dass die Käfer sich bei der Auswahl der Hot Spots und dem Landeverhalten nicht durch den Schattenwurf beeinflussen ließen. Dies ist ein Anhaltspunkt dafür, dass die prothorakalen Organe eine entscheidende Rolle für die Detektion der Hot Spots spielen können.

Die Beobachtungen zeigten, dass *A. nigricans* bei Lufttemperaturen von bis zu 39°C aktiv auf den Brandflächen ist (siehe Tabelle 3.1). Viele Insekten präferieren geringere Umgebungstemperaturen. Beispielsweise präferiert der Dünen-Sandlaufkäfer *Cicindela hybrida* eine Umgebungstemperatur von 35 °C (Dreisig 1980, zitiert in: Nachtigall 1996), Bienen (*Apis mellifera*) präferieren etwa 34°C, Schaben (*Periplaneta americana*) nur etwa 30°C Umgebungstemperatur (Grodzicki und Caputa 2005), bei Moskitos steigt die Mortalität ab 38°C (Kirby und Lindsay 2004). Es ist jedoch von einigen thermophilen Insekten bekannt, dass sie bei derart hohen Temperaturen noch aktiv sind. Das Taubenschwänzchen *Macroglossum stellatarum* beispielsweise ist bis zu einer Körpertemperatur von 46° aktiv (Herrera 1992). In Bezug auf das Verhalten von *A. nigricans* auf der Brandfläche ist die Temperatur des Waldbodens jedoch von größerer Bedeutung als die Umgebungstemperatur. Auch hier gibt es Beispiele von Insekten, die bei

hohen Oberflächentemperaturen am Boden noch aktiv sind. Der Dünen-Sandlaufkäfer *Cicindela hybrida* beispielsweise ist bei Bodentemperaturen von maximal 53,5°C noch aktiv, er läuft jedoch extrem schnell, hebt seinen Körper möglichst weit an und macht Pausen von maximal 10 Sekunden Dauer (Nachtigall 1996). Arbeiter der Wüstenameise *Cataglyphis rosenhaueri* und der Wüstenameise *Melophorus bagoti* sind bei Bodentemperaturen von etwa 50°C noch aktiv (*Cataglyphis rosenhaueri*: Cerdá und Retana 2000, *Melophorus bagoti*: Muser et al 2005). Sie sind, unter anderem durch eine erniedrigte Transpirationsrate, physiologisch an die Bedingungen ihres Lebensraums angepasst. Von *M. acuminata* ist bekannt, dass die Käfer noch auf Flächen aktiv sind, die für die menschliche Hand zu heiss sind („too hot to place one’s hand“, Linsley 1943). Diese Beispiele zeigen, dass es besonderer Anpassungen der Physiologie oder des Verhaltens von Insekten erfordert, sich auf heißem Untergrund zu bewegen.

Um zu testen, ob die Temperatur des Bodens einen Einfluss auf das Verhalten von *A. nigricans* hat, wurde das Verhalten der Käfer in fünf Kategorien eingeteilt (siehe 2.4.3). Die Temperaturen von Käferpositionen wurden an den verschiedenen Hot Spots getrennt für jede Kategorie ausgewertet. Der Median der Temperaturen war zwischen diesen Kategorien nicht signifikant verschieden. Hier ist von besonderer Bedeutung, dass die Temperatur der Landeplätze (Kategorie „Landing“) nicht verschieden von der Temperatur der „Take Off“-Plätze war. Aus den Beobachtungen ist zu folgern, dass sich die Käfer bevorzugt in einem Temperaturbereich von ca. 41 bis 52° aufhalten (siehe Abb. 3.13 A). Es ist zu fordern, dass die Käfer wahrnehmen, wenn sie sich in diesem Temperaturbereich befinden und ebenfalls wahrnehmen, wenn sie an die Grenze zu deutlich anderen Temperaturen gelangen. Aufgrund seiner Lage spielt das prothorakale Organ vermutlich bei der Lokomotion am Boden keine wichtige Rolle. Es ist daher zu fordern, dass der Käfer Thermorezeptoren besitzt, die wichtige Informationen über die Lufttemperaturen liefern. Für gewöhnlich sitzen Thermorezeptoren bei Insekten auf den Antennen und sind Kälterezeptoren, die bei Wärmereizen gehemmt werden. Es sind jedoch in einigen Fällen auch Wärmerezeptoren bekannt (siehe 4.2.2). Es ist sehr wahrscheinlich, dass *A. nigricans* leistungsfähige Wärmerezeptoren besitzt, die ihm eine sichere Lokomotion am Boden auf den Brandflächen ermöglichen.

Das Landeverhalten wurde von allen Kategorien am detailliertesten untersucht, da es in Zusammenhang mit den Orientierungsfähigkeiten des Käfers während des Fluges steht. Es ist davon auszugehen, dass der Käfer im Flug Informationen erhält, ob er sicher landen kann oder nicht. Die Untersuchungen des Landeverhaltens zeigen, dass *A. nigricans* Landeplätze vorzieht, die deutlich heißer sind als der umgebende Waldboden, dessen Temperatur bei voller Sonneneinstrahlung üblicherweise zwischen 40 und 45°C beträgt. Die mittlere Temperatur der Landeplätze lag bei 49°C, die Maximaltemperatur bei 66,4°C (siehe Abb. 3.13 A). Dies ist ein sehr hoher Wert, der näher betrachtet werden muss. Es besteht hier die Möglichkeit, dass die Temperatur überschätzt ist. Der Boden auf frischen Waldbrandflächen ist üblicherweise mit einer lockeren Schicht aus dunklen Ascheteilchen bedeckt. Diese können durch die Absorption von Sonnenstrahlung und Infrarotstrahlung aus dem Boden stark aufgeheizt sein. Da jedoch davon auszugehen ist, dass diese Ascheteilchen eine äußerst geringe Wärmekapazität aufweisen, ist das Landen auf derartigen Flächen für die Käfer vermutlich nicht bedrohlich. Die Kontaktflächen zwischen den Ascheteilchen und dem Käfer sind sehr gering und zudem ist die Kontaktdauer durch das meist zügige Krabbeln des Käfers nur kurz.

Um zu untersuchen, wie exakt *A. nigricans* Temperaturgrenzen wahrnehmen kann und wie nah der Käfer folgerichtig an diesen Grenzen landet, wurde die minimale Distanz der Landeplätze zu 70°C heißen Stellen der neun analysierten Hot Spots ermittelt. Sie betrug unter 1 cm (siehe 3.1.3.2). Da eine Temperatur von 70°C mit Sicherheit bedrohlich für den Käfer ist, ist zu fordern, dass er derartige Temperaturgrenzen detektieren kann. Besonders das Landen an den Hot Spot Grenze erfordert eine genaue Navigation, ein Irrtum ist lebensbedrohlich. Der Käfer muss folglich Informationen über die Temperaturverteilung der Bodenoberflächen in dem thermisch unregelmäßigen Gelände erhalten.

Die Frage stellt sich, worin der Nutzen für die Käfer liegt, sich derart nah an den Hot Spots und teilweise unter der warmen Asche aufzuhalten.

Eine Interpretation dieses Verhaltens ist, dass der Aufenthalt auf frischen Brandflächen eine Strategie zur Feindvermeidung darstellt. Die beobachteten Käfer

hatten eine auffällig geringe Fluchtdistanz. Dies ist auf einer frischen Waldbrandfläche auch bei *M. atrata* der Fall (eigene Beobachtungen). Dieses Verhalten ist erklärbar, da auf frischen Brandflächen üblicherweise kaum noch Predatoren anzutreffen sind.

Ein weiterer Vorteil der frischen Brandfläche ist eine geringe Dichte an Nahrungskonkurrenten (Wikars 1992, Wikars 1997).

Eine weitere mögliche Interpretation des komplexen Verhaltens von *A. nigricans* auf der Brandfläche ist, dass es in engem Zusammenhang mit der Reproduktion stehen könnte. Diese Arbeit beschreibt zum ersten Mal Beobachtungen zur Reproduktion von *A. nigricans*. Die in Gefangenschaft geschlüpften Larven überlebten unter den gegebenen Bedingungen bis zum dritten Larvalstadium. Wie viele Larvalstadien *A. nigricans* insgesamt durchläuft und wie lange das Puppenstadium dauert, ist daher unklar. Fest steht, dass die Larven nach nur etwa 48 Stunden schlüpfen und innerhalb einer Woche bereits das dritte Larvalstadium erreichen.

Die Morphologie und die beschriebenen Nahrungspräferenzen der Larven legen nahe, dass diese nicht wie *M. acuminata* und *M. atrata* in Holz bohren. Die einzige akzeptierte Nahrung bestand aus tierischem Protein wie Fleisch und Hühnerei. Dies könnte ein Hinweis für eine räuberische bzw. aasfressende Lebensweise sein. Die äußere Morphologie der Larven widerspricht ebenfalls einer holzbohrenden Ernährung, da die typische Thoraxform fehlt (Graham und Knight 1965).

Die in dieser Arbeit dargelegten Beobachtungen legen nahe, dass die Larve von *A. nigricans* die Brandfläche nutzt, indem sie sich von Nahrungsquellen ernährt, die erst durch das Feuer entstehen. Eventuell ernährt sie sich von Aas. Dies könnten Tiere sein, die durch die hohen Temperaturen getötet wurden, beispielsweise Ameisen- oder Termitenbrut. Derartige Nahrungsressourcen sind nur kurz nach einem Brand verfügbar. Daher könnte ein hoher Evolutionsdruck auf den Entwicklungszeiten der ersten Larvenstadien liegen.

Die Frage stellt sich, warum adulte *A. nigricans* einen derart hohen Aufwand bezüglich der Suche nach geeigneten Hot Spots auf der Brandfläche treiben. Eine Erklärung könnte ebenfalls die Larvalentwicklung betreffen: Die höhere Temperatur des Waldbodens könnte die Ei- und Larvalentwicklung beschleunigen.

Die erhöhten Temperaturen des Waldbodens auf frischen Brandflächen resultieren aus der vermehrten Sonneneinstrahlung (Wikars 1992, Wikars 1997). Es ist bekannt dass die Geschwindigkeit der Larvalentwicklung von Insekten generell temperaturabhängig ist. Bei der Wüstenheuschrecke *Schistocerca gregaria* ist beschrieben, dass die Entwicklung je nach Temperatur zwischen 17 und 50 Tage dauern kann (Shulov und Pener 1963, zitiert in: Bentley et al 1979). Die Entwicklung der Milchkrautwanze *Oncopeltus* dauert bei Temperaturen zwischen 35 und 15°C zwischen 5 und 33 Tagen (Richards 1957; zitiert in: Chapman 1998). Auch bei *Locusta migratoria* und der australischen Wanderheuschrecke *Chortoicetes terminifera* wurde eine Temperaturabhängigkeit der Entwicklungsdauer gefunden (Chapman und Whitham 1968, Wardhaugh 1978 beide zitiert in: Bentley et al 1979).

Folgende Theorie scheint den Daten dieser Arbeit nach wahrscheinlich: Die Weibchen von *A. nigricans* suchen auf der Brandfläche gezielt nach geeigneten Hot Spots hauptsächlich aus zwei Gründen. Erstens erhöht die Nutzung von „Treffpunkten“ auf einer grossen Fläche die Wahrscheinlichkeit Paarungspartner anzutreffen (dies gilt auch für die Männchen). Zweitens bietet der Waldboden einer frischen Brandfläche Eiablageplätze mit erhöhter Temperatur und vermutlich ausreichend geeignete Nahrung für die Larven.

Die Untersuchungen zeigen, wie unterschiedlich die Anpassungen des Verhaltens an Brandflächen innerhalb der pyrophilen Insekten sein können. Die Daten dieser Arbeit deuten darauf hin, dass die Larven von *A. nigricans* innerhalb des Habitats Brandfläche eine ökologische Nische besetzen, die von jener der Larven von *M. atrata* und *M. acuminata* bzw. *M. cuspidata* verschieden ist.

4.2 Das prothorakale Infrarotorgan von *A. nigricans*

4.2.1 Der adäquate Reiz für die Sensillen des prothorakalen Infrarotorgans

Im Rahmen dieser Arbeit wurden extrazelluläre Ableitungen am prothorakalen Organ von *A. nigricans* durchgeführt. Bei etwa jedem zweiten Tier führten sie zu einer stabilen Ableitung eines PTO-Sensillum. Diese Ableitungen zeigten, dass die Sensillen Informationen in Form von Spikes codieren. Dieses Verhalten ist typisch für zahlreiche Rezeptoren, unter anderem auch für Mechanorezeptoren (Rice 1975, McIver 1985, French 1988) und Thermorezeptoren (Loftus 1968, Tichy 1979) bei Arthropoden.

Die Mehrzahl der PTO-Sensillen von *A. nigricans* war mit etwa 15 Hz ohne äußere Reizgebung aktiv. Einige Sensillen zeigten ein burstartiges Entladungsmuster. Dieses Verhalten ließ sich teilweise durch das Bewegen der Elektrode auslösen oder verändern. Es ist daher davon auszugehen, dass mechanische Ereignisse in der Kutikula oder direkt am Rezeptorneuron zu einer Änderung der neuronalen Aktivität führten. Daher ist das burst-Verhalten als pathologisch einzustufen und auf den Einfluss der Elektrode zurückzuführen (siehe 3.1.1.1). Die im Folgenden diskutierten Eigenschaften der PTO-Sensillen von *A. nigricans* beziehen sich aufgrund dieser Beobachtungen nur auf Sensillen, die in Ruhe ein regelmäßiges stabiles Entladungsmuster zeigten.

Als erster Schritt für eine physiologische Charakterisierung der PTO-Sensillen wurde durch die Präsentation verschiedener Stimuli untersucht, ob - und falls ja bei welcher Reizmodalität - es zu Veränderungen des Verhaltens der Sensillen kommt. Test-Stimuli, wie akustische Reize, eine Veränderung der Kohlendioxid-Konzentration und Licht einer Kaltlichtquelle modulierten das Antwortverhalten der Sensillen nicht. Verschiedene thermische Reize, sowohl konvektive Temperaturreize wie warme Luft, als auch Wärmestrahlung waren in der Lage, die Feuerfrequenz der Sensillen zu verändern (siehe 2.2.4). Somit bestätigen die Untersuchungen, die im Rahmen dieser Arbeit durchgeführt wurden, die

Ergebnisse der ersten elektrophysiologischen Untersuchungen an *A. nigricans* (Schmitz et al 2002).

Die Antworten der PTO-Sensillen auf drei verschiedene thermische Stimuli wurden in dieser Arbeit detaillierter untersucht. Hierzu wurden ein Rotlichtlaser, ein breitbandiger Infrarotemitter und ein Infrarotlaser verwendet (siehe 2.2.4). In allen drei Fällen führte eine Erwärmung des prothorakalen Organs zu phasisch-tonischen Antworten. Phasisch-tonische Antworten sind unter anderem typisch für Mechanorezeptoren (Rice 1975, McIver 1985) und für Thermorezeptoren bei Arthropoden (Loftus 1968, Tichy 1979, Altner und Loftus 1985, siehe 4.2.2). Die phasisch-tonische Antwort war bei überschwelligem Reizen stets von einer Phase der spike-Unterdrückung nach Ausschalten des Reizes gefolgt. Die Dauer dieser Spike-Unterdrückung zeigte bei Reizung mit dem Rotlichtlaser eine lineare Zunahme mit steigender Reizintensität. Sie betrug im Bereich der getesteten Stimulusintensitäten zwischen 100 und 450 ms (siehe Abb. 3.2 F). Bei einzelnen Sensillen betrug sie maximal 500 ms. Die Ursache der intensitätsabhängigen Spike-Unterdrückung ist anhand von extrazellulären Ableitungen der Sensillen nicht zu klären. Es ist jedoch typisch für phasisch-tonische Rezeptoren, dass sie nach Reizende eine „überschiessende Hemmung“ (silent period) zeigen (Penzlin 1996). Inhibitorische Einflüsse durch Interneurone sind als Ursache derartiger Spike-Unterdrückung theoretisch denkbar.

Eine efferente Innervierung der PTO-Sensillen von *A. nigricans* ist jedoch nicht sehr wahrscheinlich. Die Ableitstelle liegt vermutlich so dicht an Dendritenaussensegment und Somaregion des Rezeptors, dass efferente Innervierungen auf Höhe des prothorakalen Organs bestehen müssten, um die hemmenden Einflüsse in der Ableitung erkennbar zu machen. Untersuchungen der Ultrastruktur der Sensillen geben aber keinerlei Hinweise auf derartige efferente Innervierungen (Kreiss et al 2005). Intrinsische Vorgänge innerhalb der Rezeptorzelle sind folglich als Ursache der Spike-Unterdrückung wahrscheinlicher. Denkbar ist hier, dass durch intrinsische Adaptationsvorgänge (siehe 4.2.2) die Empfindlichkeit der Rezeptoren sinkt und es daher nach Ende des Reizes zu der überschiessenden Reaktion kommt.

Im Folgenden werden die Antworten der PTO-Sensillen auf die genannten drei verschiedenen thermischen Stimuli diskutiert.

Bei Bestrahlung mit dem verwendeten Rotlichtlaser war eine deutliche Intensitätsabhängigkeit sowohl der Antwortstärke als auch der Dauer der spike-Unterdrückung nach Reizende festzustellen. Der Rotlichtlaser führt vermutlich zu einer geringfügigen Erwärmung des prothorakalen Organs. Messungen an toten Käfern (*M. atrata*) mit einem Thermoelement ergaben, dass Rotlicht im Intensitätsbereich von 100 mW/cm^2 die Kutikula des Infrarotorgans innerhalb eines Zeitraumes von 200 ms um nur $0,15^\circ\text{C}$ erwärmt (Schmitz und Trenner 2003). Stärkere Strahlung von 440 mW/cm^2 führte zu einer Erwärmung um $1,3^\circ\text{C}$. Diese Werte belegen, dass die eigentliche Temperaturänderung des Infrarotorgans, also der Insektenkutikula, bei *M. atrata* sehr moderat ist. Aufgrund der unterschiedlichen Morphologie der Infrarotorgane ist nicht zu erwarten, dass dieselben Werte bei *A. nigricans* erreicht werden, es ist aber davon auszugehen, dass die Temperaturänderungen bei Bestrahlung mit Rotlicht im prothorakalen Organ ebenfalls sehr gering sind und bei geringen Intensitäten unter 100 mW/cm^2 nur wenige Zehntel Grad Celsius betragen. Intensitäten unter 100 mW/cm^2 rufen jedoch bereits eine deutliche Antwort des PTO-Sensillums hervor.

Der verwendete breitbandige Infrarotemitter ist nicht unmittelbar mit den verwendeten Lasern zu vergleichen, da ein grundsätzlicher Unterschied zwischen diesen Reizformen besteht: Da Laser monochromatisch sind, gilt die angegebene Intensität nur für ein schmales Wellenlängenband. Bei einem breitbandigen Emitter jedoch tritt eine Verteilung der Gesamtintensität auf verschiedene Wellenlängen auf. Diese Verteilung ist laut dem „Wienschen Verschiebungsgesetz“ temperaturabhängig. Für den verwendeten Emitter gilt, dass bei der maximal möglichen Temperatur das Emissionsmaximum bei etwa $3 \mu\text{m}$ liegt. Dies entspricht Emissionswellenlängen von Waldbränden, die mit etwa 700°C brennen (Hecht 1989, zitiert in: Schmitz und Bleckmann 1998). Der Infrarotemitter bewirkte ebenfalls eine intensitätsabhängige Antwort der PTO-Sensillen (siehe Abb. 3.7). Bei ähnlicher Bestrahlungsintensität des Infrarotemitters und des

Rotlichtlasers erfolgte auf den Infrarotemitter eine etwa um 20% geringere Antwort der PTO-Sensillen.

Ein Grund für die schwächere Antwort auf den Infrarotemitter könnte im Versuchsaufbau liegen, der mehrere Probleme birgt: Sowohl die Ausrichtung des Emitters auf das Organ, als auch die Abschwächung der Intensität sind nicht so genau wie bei einem Laser. Ein weiteres Problem dieser Reizgebung bestand darin, dass sich der Verschluss im Laufe des Versuches aufheizte und offensichtlich die Ruheaktivität der PTO-Sensillen auch in geschlossenem Zustand beeinträchtigte (siehe Abb. 3.7 A). Die Intensitätsabhängigkeit der PTO-Sensillen bei Reizung mit dem Infrarotemitter ist aufgrund dieser Faktoren nicht exakt quantifizierbar.

Stimulationen der PTO-Sensillen von *A. nigricans* mit dem Infrarotlaser (siehe 2.2.4) führten ebenfalls zu einer Antwort der PTO-Sensillen (siehe Abb. 3.8). Die Experimente wurden bei der höchstmöglichen Intensität ($265,0 \text{ mW/cm}^2$) mit beiden Wellenlängen ($1,15$ und $3,39 \mu\text{m}$) durchgeführt.

Die maximale Feuerfrequenz während der Reizung betrug $24,7 \text{ Hz}$, eine Verdoppelung im Vergleich zur Ruheaktivität. Diese Antwort ist, verglichen mit derjenigen auf Stimulation mit Rotlicht, relativ schwach: Eine ähnliche Maximalfrequenz ($24,2 \text{ Hz}$) wurde bei Rotlichtreizung bereits bei einer Intensität von $49,9 \text{ mW/cm}^2$ registriert.

Hier ist zu beachten, dass die exakte Positionierung des Infrarotlasers aufwändig und störungsanfällig ist und die Möglichkeit besteht, dass das Organ nicht mit voller Intensität bestrahlt wurde. Eine tatsächlich geringere Empfindlichkeit der PTO-Sensillen für monochromatische Infrarotbestrahlung im Vergleich zu Rotlichtstrahlung könnte in der Beschaffenheit der Kutikula des prothorakalen Organs begründet sein. Das Absorptionsspektrum des prothorakalen Organs von *A. nigricans* ist nicht bekannt. Für *M. acuminata* ist gezeigt, dass die verschiedenen Wellenlängen des infraroten Spektrums unterschiedlich stark von der Kutikula des Infrarotorgans absorbiert werden. Strahlung im Bereich von $2,75 - 3,5 \mu\text{m}$ wird sehr gut absorbiert (Sowards et al 2001). In Absorptionsspektren können jedoch Lücken schlechterer Absorptionseigenschaften vorkommen und es ist denkbar, dass die Strahlung von $1,5$ bzw.

3,39 μm bei *A. nigricans* in derartige Lücken fällt. Für die Detektion exakt dieser Wellenlänge besteht keine Notwendigkeit und daher auch kein Evolutionsdruck.

Die Aussage, dass die PTO-Sensillen weniger empfindlich auf breitbandige und monochromatische Infrarotstrahlung als auf Erwärmung durch Rotlichtstrahlung reagieren, ist aufgrund der geschilderten Problematik daher kritisch.

Die nähere Charakterisierung des Antwortverhaltens der PTO-Sensillen bestätigt folglich die Hypothese, dass es sich bei diesen Sensillen um Thermorezeptoren handelt, die generell auf Erwärmung reagieren.

Ein Vergleich mit Thermorezeptoren bei infrarotsensitiven Schlangen und infrarotsensitiven Käfern zeigt, dass die Morphologie des prothorakalen Organs diesen Befund stützt.

Die PTO-Sensillen von *A. nigricans* zeichnen sich durch einen bisher einzigartigen Bauplan aus: Das Dendriteninnensegment und die Somaregion des Neurons bilden einen großen Komplex, der direkt unter der Kutikula des prothorakalen Organs positioniert ist und zahlreiche Mitochondrien enthält (siehe 1). Kreiss et al beschrieben die Ähnlichkeiten dieses Komplexes mit den terminalen Nervenmassen von infrarotsensitiven Schlangen (Kreiss et al 2005). Bei den Boidae liegen die Infrarotorgane unter der Oberfläche der Labialschuppen oder in Grubenorganen in den Lippenschuppen (Amemiya et al 1996), bei den Crotalinae in Grubenorganen in der Nähe der Augen (Lynn 1931). Terminale Dendritenmassen (TNM), welche von den feinen Nervenendigungen des Nervus Trigemini gebildet werden, liegen bei beiden Schlangenfamilien dicht unter der Organoberfläche (Bleichmar und de Robertis 1962, Bullock und Fox 1957, Terashima et al 1970, von Düring 1974, Amemiya et al 1996). Wie auch das Dendriteninnensegment und die Somaregion des Neurons von *A. nigricans* zeichnen sich die TNMs durch eine hohe Anzahl an Mitochondrien aus (Molenaar 1992). Die TNMs funktionieren nach dem Bolometer-Prinzip: Wärmerezeptoren messen die Erwärmung eines Absorbermaterials (Bullock und Cowles 1952, Bullock und Diecke 1956, Goris und Nomoto 1967, Hartline 1974, De Cock Buning et al 1981a). Morphologisch fallen hier auch Ähnlichkeiten zu den Terminalen Dendritenmassen (TDM) bei *M. atrata* auf (siehe 1, Schmitz, Schmitz und Bleckmann 2000, Schmitz et al 2001). Auch diese liegen dicht unter der

Oberfläche und weisen eine hohe Anzahl an Mitochondrien auf. Sie fungieren ähnlich wie die TNMs der Schlangen ebenfalls als Bolometer und messen die Erwärmung einer Fläche, der Kutikula.

Die Hypothese liegt nahe, dass die PTO-Sensillen von *A. nigricans* ebenfalls nach dem Bolometerprinzip arbeiten und die Erwärmung der Kutikula des prothorakalen Organs messen.

4.2.2 Die Sensillen des Infrarotorgans als Thermorezeptoren

In Hinblick auf ihre Funktion als Thermorezeptoren wurden die Antworteigenschaften der PTO-Sensillen bei Erwärmung mit dem Rotlichtlaser näher untersucht. Die ermittelte Schwelle für eine Antwort lag bei den untersuchten Sensillen zwischen 11 und 25 mW/cm² (siehe Abb. 3.2 E). Der aus der Kennlinie abgeschätzte Schwellenwert des tonischen Antwortteils lag bei etwa 12 mW/cm² (siehe Abb. 3.2 F). Dieser Wert liegt also im unteren Bereich der gemessenen Schwelle.

Die maximale Feuerrate der Sensillen von *A. nigricans* bei der höchsten verwendeten Bestrahlungsintensität (549 mW/cm²) betrug nahezu das Vierfache der Ruheaktivität (etwa 75 Hz). Eine Sättigung der Antwort trat hier nicht ein (siehe Abb. 3.2 F). Die Steigung der Intensitätskennlinien lässt vermuten, dass hier nur ein Ausschnitt des dynamischen Bereichs ermittelt wurde. Über den gesamten dynamischen Bereich kann daher noch keine Aussage gemacht werden, außer dass er mindestens 17 dB umfaßt.

Bei einigen Präparaten gelangen Ableitungen des graduierten Potentials (siehe 2.2.5) der PTO-Sensillen von *A. nigricans*. Diese zeigten eine deutliche Potenzialänderung während des Reizes. Die erste Halbwelle dieser biphasischen Potenzialänderung entspricht bezüglich ihres Zeitverlaufes der Dauer der erhöhten Spike-Frequenz während der Reizung. Dem Potential sitzen einzelne Potenziale geringerer Amplitude auf, die auf die Spikes zurückzuführen sind. Das Potential dieser ersten Halbwelle ist deutlich intensitätsabhängig (siehe Abb. 3.6 D). Die Amplitude der ersten Halbwelle gibt die Steilheit der Flanke des ursprünglich

monophasischen Signals wieder (siehe 2.2.5). Die Integrale der Potenzialänderungen bei verschiedenen Reizintensitäten zeigen, dass es auch bei der höchsten verwendeten Intensität (549 mW/cm^2) zu keiner Sättigung kommt. Dies entspricht den Ergebnissen der Ableitungen von Einzelspikes.

Es ist zu vermuten, dass es sich bei der ersten Halbwelle um das Rezeptorpotenzial handelt. Die Schwellenwerte liegen mit etwa $4,4 \text{ mW/cm}^2$ etwas unter den Schwellenwerten, die anhand der Spike-Frequenz ermittelt wurden ($11\text{-}25 \text{ mW/cm}^2$). Dies erklärt sich dadurch, dass das Rezeptorpotenzial bereits mit einer Potenzialänderung auf den Reiz reagieren kann, auch wenn der Schwellenwert für das Auslösen von Spikes noch nicht erreicht wurde.

Da die exakte Position der Elektrode bei dieser Art der extrazellulären Ableitungen nicht bekannt ist, ist unklar, wo genau am Neuron die Potenziale abgeleitet werden. Über intrinsische Vorgänge auf Ebene des Neurons kann aufgrund der vorliegenden Daten keine Aussage gemacht werden.

Die Ableitung graduerter Potenziale ist auch bei anderen sensorischen Systemen von Arthropoden, beispielsweise auch bei *M. acuminata* (Schmitz, Mürtz und Bleckmann 2000, Hammer et al 2001) und bei Spinnen (Spaltsinnesorgan: French et al 2002) gezeigt. Bei den photomechanischen Sensillen von *M. acuminata* wurde, ebenfalls bei Reizung mit einem Infrarotlaser, eine geringere Schwelle des graduierten Potentials verglichen mit der Spike-Schwelle gefunden ($6,8$ zu $17,4 \text{ mW/cm}^2$, Hammer et al 2001).

Um zu untersuchen, ob die PTO-Sensillen von *A. nigricans* auf thermische Reize adaptieren, wurden sie mit langanhaltenden konstanten Rotlicht-Stimuli gereizt. Bei Stimulation mit Reizen von mehr als 3 s Dauer nahmen die Spike-Frequenzen innerhalb einer Sekunde ab und erreichten einen Plateauwert (siehe Abb. 3.3 B). Die Abnahme der Spike-Frequenz ist als Adaptation auf den Rotlichtstimulus zu interpretieren.

Adaptation meint eine Abnahme der ursprünglich hohen Feuerfrequenz eines Neurons bei langanhaltender und konstanter Stimulation (Mendelssohn and Loewenstein 1964, Coro et al 1998, Givois und Pollack 2000). Sowohl bei Vertebraten als auch bei Invertebraten ist bekannt, dass Mechanorezeptoren eine breite Spanne an dynamischen Antworteigenschaften aufweisen. Sie können

sowohl langsam als auch schnell (innerhalb von einer Sekunde) adaptieren (Bohnenberger 1981, French 1989, French 1992, French und Torkkeli 1994). Der phasische Anteil der PTO-Sensillen von *A. nigricans* zeigte eine stärkere Adaptation als der tonische Anteil (siehe Abb. 3.3 C). Der tonische Anteil adaptierte nicht vollständig, sondern sank auf einen Plateauwert, der für mindestens 10 s konstant blieb. Bei keiner der verwendeten Intensitäten kam es zu einer vollständigen Adaptation. Für hohe Intensitäten kann der Kurvenverlauf der Adaptation näherungsweise durch eine logarithmische Funktion beschrieben werden. Für niedrige Intensitäten lassen sich keine Regressionskurven mit ausreichend gutem Regressionskoeffizienten anpassen. Es ist jedoch für viele sensorische Neuronen beschrieben, dass ihre Adaptation einer sogenannten „power-law“ Beziehung folgt (French 1992, Drew und Abbott 2006). Folglich reagieren die PTO-Sensillen von *A. nigricans* eher untypisch. Es sei jedoch erwähnt, dass in einigen Fällen die bestmögliche Passung neben der logarithmischen Funktion einer power-law Beziehung folgte.

Adaptation kann an allen Phasen der Reiztransduktion erfolgen. Sie kann rein mechanische Ursachen haben, intrinsisch während der Transduktion oder bei nachgeschalteten Prozessen generiert werden (French 1992, Hamill und McBride 1994, French and Torkkeli 1994). Die vorliegenden extrazellulären Ableitungen an den PTO-Sensillen von *A. nigricans* lassen keine Aussagen über das hier zugrundeliegende Prinzip der Adaptation zu. Es bleibt daher vorerst bei der Beschreibung dieses Phänomens.

Wichtig ist jedoch der mögliche Nutzen einer Adaptation der PTO-Sensillen auf thermische Reize für den Käfer. Ein Haupteffekt von Adaptation ist, dass die Menge an sensorischer Information, die ein Organismus verarbeitet, gesteigert werden kann (Mendelsson und Loewenstein 1964, Pastzor und Bush 1983, French 1984, Laughlin 1989, Clague et al 1997). Sättigungseffekte können durch Adaptation vermieden werden. Im Fall von *A. nigricans* könnte das Intensitätsspektrum der Sensillen erhöht werden, indem durch Adaptation erneute Reaktionen auf transiente Stimuli vor einer gleichbleibenden Hintergrundintensität möglich wären. Die Sensitivität auf Reizänderungen würde so erhalten bleiben.

Da die PTO-Sensillen höchstwahrscheinlich als Thermorezeptoren fungieren, bietet sich ein Vergleich mit den bekannten Thermorezeptoren bei Arthropoden und insbesondere ein Vergleich mit Thermorezeptoren im Dienste der Infrarotperzeption bei Schlangen und Käfern an.

Das typisch phasisch-tonische Antwortmuster mit Spike-Unterdrückung nach Reizende, wie es die PTO-Sensillen von *A. nigricans* zeigen, ist für zahlreiche Rezeptoren verschiedener Modalitäten beschrieben. Thermorezeptoren bei Vertebraten und bei Arthropoden reagieren ebenfalls mit diesem Antwortmuster (Vertebraten: Hensel und Huopaniemi 1969, Hensel und Kenshalo 1969, Hensel und Iggo 1971, Terashima und Goris 1974, Hellon et al 1975, Loftus 1978, Darian-Smith et al 1979; De Cock Buning et al 1981a, De Cock Buning et al 1981b, Terashima und Goris 1983, Schäfer et al 1988).

Bei Arthropoden wurden Thermorezeptoren auf verschiedenen Körperteilen gefunden. Meist sind dies Kälterezeptoren, die mit einer phasisch-tonischen Aktivitätserhöhung auf einen rapiden Temperaturabfall und mit einer Aktivitätserniedrigung auf Erwärmung reagieren (Loftus 1968, Tichy 1979, Altner und Prillinger 1980, Altner und Loftus 1985, Tichy und Loftus 1987, Ameisemeier und Loftus 1988, Nishikawa et al 1992, Yokohari 1999, Merivee et al 2003). Kältezellen feuern bei Temperaturen zwischen 20 und 30°C in der Regel mit etwa 20-40 Hz und können sowohl Temperaturabfälle als auch –anstiege codieren (Must et al 2006). Meist ist bei dem thermorezeptiven Neuron die Oberfläche der Membran des Dendritenaußensegmentes beispielsweise durch Lamellierung vergrößert. Die Membranfläche korreliert mit der Empfindlichkeit auf konstante bzw. langsame Reize (Ehn und Tichy 1996b). Teilweise sind die thermorezeptiven Neurone mit einem olfaktorischen Rezeptor assoziiert, so auch zum Beispiel bei Schaben (Yokohari 1999). Typisch für Insekten ist die sogenannte Triade: Zwei Hygrorezeptoren (je ein Feucht- und Trockenrezeptor) und ein Kälterezeptor sind in einem antennalen Sensillum assoziiert (Altner und Loftus 1985, Chapman 1998, Yokohari 1999, Tichy und Gingl 2000). Wärmerezeptoren, deren Aktivität mit zunehmender Erwärmung steigt, wurden auf der Antenne der Larven des Höhlenkäfers *Speophyes lucidulus* (Loftus und Corbière-Tichané 1981, Corbière-Tichané und Loftus 1983), auf den Tarsalorganen der Spinne *Cupiennius salei* (Ehn und Tichy 1996a, Ehn und Tichy 1996b) und bei einigen blutsaugenden

Insekten (Zecke: *Amblyomma variegatum*, Hess und Loftus 1984; Moskito: *Aedes aegypti*, Davis und Sokolove 1975, Raubwanze *Triatoma infestans*: Lazzari und Wicklein 1994) gefunden. Die wärmerzeptive Sinneszelle kommt hier teilweise gemeinsam mit einer Kältezelle in einem Sensillum vor. Die Wärmезelle auf dem Tarsus der Zecke *Amblyomma variegatum* reagiert phasisch-tonisch auf Erwärmung durch Konvektion und codiert Temperaturänderungen von 1,5°C mit einem Anstieg von 10 auf 45 Hz (Gingl und Tichy 2001). Bei dem Höhlenkäfer *Speophyes lucidulus* reagiert die Kältezelle wesentlich empfindlicher auf Temperaturänderungen als die Wärmезelle (Corbière-Tichané und Loftus 1983). Die Wärmезelle auf dem Tarsus von *Cupiennius salei* reagiert auf 0,6°C Temperaturänderung (Ehn und Tichy 1996a), ist aber, außer bei sehr schnellen Temperaturänderungen, weniger empfindlich als die Kältezelle (Ehn und Tichy 1996b). Auf Bestrahlung mit Infrarot reagieren sowohl die Kältezellen einiger Insekten (*Locusta migratoria*, *Periplaneta americana*) als auch die Wärmезelle von *Amblyomma variegatum* nur außerhalb des biologisch bedeutsamen Bereichs, daher sind sie vermutlich auf konvektive Erwärmung spezialisiert (Gingl und Tichy 2001).

Von besonderem Interesse ist ein Vergleich der Physiologie der PTO-Sensillen von *A. nigricans* mit der Physiologie von Infrarotorganen infrarotsensitiver Schlangen. Ableitungen von Afferenzen der Infrarotorgane von *Agkistrodon blomhoffi brevicaudus* belegen, dass die Thermorezeptoren des Grubenorgans eine regelmäßige, jedoch temperaturabhängige Hintergrundaktivität aufweisen: Zwischen 15 und 33°C Temperatur der Organmembran feuern die Thermorezeptoren mit einer Frequenz zwischen 10 und 30 Hz (de Cock Buning et al 1981a). Bei Reizung mit einem Rotlichtlaser ($\lambda=632,8$ nm, Intensität: 2 mW) reagierten die Thermorezeptoren mit einer phasisch-tonischen Antwort. Bei anhaltender Stimulation kam es zu einer deutlichen Adaptation. Nach Reizung folgte einer Phase der Spike-Unterdrückung oder der verringerten Aktivität (de Cock Buning et al 1981a). Das grundsätzliche Antwortverhalten ist also demjenigen des multipolaren Neurons von *M. atrata* und auch demjenigen des kutikulären Sensillums von *A. nigricans* sehr ähnlich.

Extrazelluläre Ableitungen, die methodisch mit denen dieser Arbeit vergleichbar sind, wurden auch am Infrarotorgan von *M. atrata* durchgeführt (Schmitz und Bleckmann 1998, Schmitz und Trenner 2003). Das multipolare Neuron von *M. atrata* ist bei 20°C Umgebungstemperatur mit 10 Hz in Ruhe aktiv, die Ruhefrequenzen liegen also etwas unter denen der PTO-Sensillen von *A. nigricans*. Das multipolare Neuron von *M. atrata* reagiert phasisch-tonisch auf Stimulation mit Rotlicht, eine Phase der Spike-Unterdrückung folgt hier der Reizung (Schmitz und Trenner 2003). Die Schwelle für eine Antwort auf den Rotlichtlaser liegt bei *M. atrata* mit 40 mW/cm² über der von *A. nigricans*, Latenzen liegen hier bei etwa 50 ms (Schmitz und Trenner 2003). Wie auch bei *A. nigricans* ist nicht bekannt, ob und wenn ja bei welcher Intensität es zu einer Sättigung der Antwort kommt. Bis zur höchsten getesteten Stimulusintensität von 1,3 W/cm² steigt die Feuerfrequenz des multipolaren Neurons bis auf etwa 300 Hz kontinuierlich an (Schmitz und Trenner 2003). Der dynamische Bereich bei Reizung mit Rotlicht umfasst bei *M. atrata* mindestens 34 dB, derjenige des kutikulären Sensillums von *A. nigricans* umfasst deutlich mehr als 17 dB.

Aufgrund dieses Vergleichs der Antworteigenschaften wird deutlich, dass eine Ähnlichkeit zwischen den Eigenschaften des multipolaren Neurons von *M. atrata* und den PTO-Sensillen von *A. nigricans* besteht. Beide zeigen eine Ruheaktivität, reagieren phasisch-tonisch auf Stimulation mit Rotlicht, gefolgt von einer Phase der Spike-Unterdrückung bei Reizende. Das Adaptationsverhalten des multipolaren Neurons von *M. atrata* unterscheidet sich jedoch von dem der PTO-Sensillen von *A. nigricans*. Schmitz und Trenner konnten zeigen, dass die Infrarotrezeptoren von *M. atrata* mehr als 10 Minuten Bestrahlung benötigen, ehe sie nahezu vollständig adaptieren (Schmitz und Trenner 2003). Anders als bei den PTO-Sensillen von *A. nigricans* nahm die Frequenz der multipolaren Neurone von *M. atrata* kontinuierlich ab und erreichte keinen Plateauwert.

Messungen an *M. atrata* zeigten, dass die Entladungsrate des multipolaren Neurons eine exponentielle Temperaturabhängigkeit aufweist. Unter 10°C Körpertemperatur wird sie unregelmäßig und fällt teilweise fast auf 0 Hz ab, zwischen 20 und 30°C ist sie regelmäßig (20°C: etwa 8 Hz, 25°C: etwa 12 Hz) (Schmitz und Trenner 2003). Somit wird offensichtlich die Eigentemperatur des Organs codiert. Ob die PTO-Sensillen von *A. nigricans* eine echte Spontanrate

aufweisen oder die gemessene Ruheaktivität den Einfluss der Umgebungstemperatur widerspiegelt wurde im Rahmen dieser Arbeit nicht untersucht. Aufgrund der morphologischen und physiologischen Ähnlichkeiten liegt die Hypothese nahe, dass die Ruheaktivität der Sensillen von *A. nigricans* wie bei *M. atrata* ebenfalls von Temperatur des Organs selbst abhängt.

Neben den Infrarotsensoren von *A. nigricans* und *M. atrata* ist ein weiterer Infrarotsensor bei Käfern bekannt: Das Infrarot-Sensillum von *M. acuminata* funktioniert nach dem bislang einzigartigen photomechanischen Prinzip (siehe 1., Vondran et al 1995, Schmitz und Bleckmann 1998, Schmitz, Mürtz und Bleckmann 2000, Schmitz et al 2007). Es unterscheidet sich deutlich in seinen Antworteigenschaften von den Infrarotorganen von *A. nigricans* und *M. atrata*: Es ist in Ruhe nicht aktiv und antwortet rein phasisch auf thermische Reize. Es codiert daher den Reizbeginn. Die Schwelle für eine Antwort auf Stimulation mit einem Rotlichtlaser liegt bei etwa 5 mW/cm². Latenzen des ersten Spikes der phasischen Antwort liegen hier bei etwa 5 ms (Schmitz und Trenner 2003). Mit einer Frequenz von etwa 500 Hz ist das photomechanische Sensillum von *M. acuminata* bei etwa 100 mW/cm² Bestrahlungsintensität bereits in Sättigung. Der dynamische Bereich der Antwort umfasst 29 dB. Das photomechanische Sensillum zeigt eine schnelle Adaptation (Schmitz und Bleckmann 1998). Das zeitliche Auflösungsvermögen ist, verglichen mit dem der PTO-Sensillen von *A. nigricans*, hoch: Das photomechanische Sensillum von *M. acuminata* feuert bis zu einer Pulsfrequenz von 100 Hz auf einzelne Reize (Schmitz und Bleckmann 1998). Graduierte Potenziale folgen dem Reiz bis zu einer Frequenz von 600 Hz (Schmitz, Mürtz und Bleckmann 2000) bzw. 300-500 Hz (Hammer et al 2001). Dieses sehr hohe zeitliche Auflösungsvermögen lässt sich vor allem durch die geringere Latenz der rein phasischen Antwort erklären. Das photomechanische Sensillum ist folglich empfindlicher und reagiert schneller als die Infrarotorgane von *A. nigricans* und *M. atrata*.

Offensichtlich bietet sich aufgrund der Morphologie und der Physiologie eine Trennung der Infrarotsensillen bei Käfern in das photomechanische Sensillum von *M. acuminata* einerseits und die Sensillen von *A. nigricans* und *M. atrata*

andererseits an. Die PTO-Sensillen von *A. nigricans* liegen bezüglich ihrer Empfindlichkeit auf Rotlichtreizung zwischen dem multipolaren Neuron von *M. atrata* und dem photomechanischen Sensillum von *M. acuminata*. Generell ist hier jedoch zu beachten, dass unterschiedliche Schwellenkriterien bei den verschiedenen Arbeiten verwendet wurden.

Die Transduktionsprozesse, die den Antworteigenschaften zugrunde liegen, sind im Fall von *M. atrata* und *A. nigricans* noch nicht entschlüsselt. Es liegt nahe, dass die Infrarotrezeptoren von *A. nigricans* und *M. atrata*, ähnlich den Infrarotorganen einiger Schlangen (s.o.), nach dem Bolometerprinzip funktionieren und die Erwärmung der Oberfläche des prothorakalen Organs messen (Schmitz et al 2001, Kreiss et al 2005).

4.2.3 Das Infrarotorgan im Verhaltenskontext

Die Ergebnisse aus den Verhaltensbeobachtungen zeigen, dass *A. nigricans* sehr nah an den Rand, niemals aber auf einem Hot Spot selbst landet (siehe 3.1.3.1). Während des Fluges scannen die Käfer offenbar die Oberfläche des Waldbodens und entscheiden sich oft für Landungen auf etwa 49°C heißen Stellen mit nur geringen Abständen zu über 70°C heißen Bereichen des Hot Spots.

Dieses Verhalten zeigt, dass eine Erfassung der thermischen Gradienten durch den Käfer erfolgen muss. Durch die Bewegung des Fluges erhalten die thermischen Gradienten zusätzlich eine zeitliche Komponente. Grundsätzlich hängt diese auch von dem Öffnungswinkel der Sensillen und des ganzen Organs ab. Dies wird hier jedoch vernachlässigt, da nur das einzelne Sensillum betrachtet wird. Die zeitlichen Antworteigenschaften der PTO-Sensillen sind von besonderem Interesse und vermutlich verhaltensrelevanter als Antworten auf konstante Dauerreize.

Um das zeitliche Auflösungsvermögen der Sensillen zu untersuchen, wurden zwei Arten von Experimenten durchgeführt: Erstens wurden Pausendauern zwischen zwei identischen „Zwillingsreizen“ variiert (Puls 1 und Puls 2) (siehe Abb. 3.4 A), zweitens wurden repetitive Pulse mit variierender Puls- und Pausenlänge getestet. So wurde sowohl der Einfluss der Spike-Unterdrückung auf die Beantwortung des

folgenden Reizes getestet, als auch das zeitliche Auflösungsvermögen der Sensillen bei Reizen zwischen 5 und 20 Hz untersucht.

Es stellte sich heraus, dass die Antwortstärke der PTO-Sensillen bei Pausendauern unter 375 ms Dauer abnahm (siehe Abb. 3.4 C). Einer Extrapolation der Daten zufolge sind die Sensillen in der Lage, Einzelpulse zu detektieren, zwischen denen eine Pause von 22 ms besteht.

Es ist bekannt, dass Käfer Fluggeschwindigkeiten im Bereich von 2-3 m/s erreichen können (Kartoffelkäfer *Leptinotarsa decemlineata*: 2-3 m/s: Weber et al 1993, Borkenkäfer *Ips typographus*, 2 m/s: Byers 2000, Dünen-Sandlaufkäfer *Cicindela hybrida* 3 m/s: Nachtigall 1996). *A. nigricans* fliegt vermutlich jedoch deutlich langsamer (eigene Beobachtungen). Eine hypothetische Berechnung zeigt, welche Bedeutung die Detektion von Pausen zwischen Reizen für das Verhalten von *A. nigricans* haben könnte: Angenommen, der Käfer fliegt mit 0,2 bis 0,5 m/s, so entspricht der korrespondierende Wert bei einer Pausendauer von 500 ms einer Distanz von 10 bzw. 25 cm. Diese räumliche Auflösung würde bedeuten, dass eine kühlere Stelle von ca. 10 bzw. 25 cm zwischen zwei heißen Stellen detektiert werden kann. Eine kritische Pausendauer von 22 ms würde einer Fläche von 4 mm bzw. 1 cm entsprechen (je nach Geschwindigkeit des Käfers). Diese Werte passen zu den in dieser Arbeit ermittelten Minimalabständen von unter 1 cm zu 70°C heißen Hot Spot Grenzen, die die Verhaltensbeobachtungen erbrachten (siehe 3.1.3.2). Diese rein hypothetischen Betrachtungen gelten nur für deutlich überschwellige und identische Reize und eine konstante Fluggeschwindigkeit, sie sind daher nur als Näherung zu betrachten.

Anhand des Antwortverhaltens der PTO-Sensillen von *A. nigricans* auf repetitive Reizung mit variierenden Puls- und Pausendauern konnte das zeitliche Auflösungsvermögen untersucht werden. Bei Pulsdauern von 25 ms Dauer und höchster Reizintensität (549,0 mW/cm²) wurde je Reiz nur noch etwa ein Spike generiert (siehe Abb. 3.5 A). Die untere Grenze des zeitlichen Auflösungsvermögens der PTO-Sensillen von *A. nigricans* liegt daher vermutlich bei wenigstens 20 Hz. Dies bedeutet, dass der Käfer mindestens alle 50 ms auf den Beginn eines Reizes reagieren kann. Welche Auswirkungen dies im Verhalten hat, hängt natürlich wieder von der Fluggeschwindigkeit des Käfers ab.

Bei verringerter Pausendauer zwischen zwei Zwillingspulsen (Puls 1 und Puls 2) trägt die steigende Latenz des ersten Spikes auf Puls 2 offensichtlich zu der geringeren Spike-Anzahl bei kurzen Pausendauern bei (siehe Abb. 3.4 C). Bei repetitiven Reizen jedoch nimmt die Latenz des ersten Spikes bei kürzeren Reiz- und Pausendauern ab. Auf den ersten Blick sind diese Ergebnisse widersprüchlich. Es ist davon auszugehen, dass die Spike-Unterdrückung, die einem Reiz folgt, die Antwort auf den nachfolgenden Reiz in ihrer Stärke und Genauigkeit beeinflusst. Die Dauer der Spike-Unterdrückung ist neben der Intensität auch von der Dauer des Reizes abhängig. Ein langer Reiz hat so vermutlich einen größeren Einfluss auf den Folgereiz als ein sehr kurzer. Dies würde bedeuten, dass die 500 ms andauernden Pulse in den Zwillingspuls-Versuchen in der Lage wären, den Folgepuls zu beeinflussen. Die kurzen Pulse von 25 bis 100 ms Dauer in den repetitiven Reizungen hingegen könnten zu kurz sein, um den Folgepuls noch zu beeinflussen. Für diese Erklärung spricht, dass die Latenz des ersten Spikes bei repetitiven Reizen bei kürzeren Reizen weniger variierte, als bei längeren.

Ein anderer Ansatz, den Effekt der Latenzen zu erklären ist, dass die repetitive Stimulation zu einem dauerhaften Exzitationszustand der PTO-Sensillen führen könnte, der den Effekt der Spike-Unterdrückung nach Reizen teilweise oder komplett kompensieren könnte.

Beide Experimente wurden mit verschiedenen Reizintensitäten durchgeführt. Bei schwächeren Reizintensitäten nimmt die Fähigkeit zur Pausendetektion beim Zwillingspuls-Reizparadigma ab, da die Antworten generell schwächer sind. Es werden je Reiz deutlich weniger Spikes generiert, als bei hohen Reizintensitäten. Bei einer Intensität von $122,4 \text{ mW/cm}^2$ ist nur bei der kürzesten Pausendauer von 46 ms eine leichte Abnahme der Spike-Anzahl festzustellen (siehe Abb. 3.4 E). Der Folgepuls (Puls 2) wird hier offensichtlich nicht so stark vom vorherigen Puls (Puls 1) beeinflusst, da die Dauer der Spike-Unterdrückung kürzer ist. Die Antwort der PTO-Sensillen auf repetitive Reizung wird bei geringeren Reizintensitäten ebenfalls deutlich schlechter (siehe Abb. 3.5 D). Einzelreize unter 100 ms Dauer werden nicht mehr codiert.

Das zeitliche Auflösungsvermögen der PTO-Sensillen ist also deutlich intensitätsabhängig. Aufgrund dessen ist davon auszugehen, dass die untere

Grenze des zeitlichen Auflösungsvermögen bei Reizung mit Intensitäten im Sättigungsbereich noch deutlich niedriger als 20 Hz ist und Pausen zwischen zwei identischen Reizen detektiert werden können, die kürzer als 22 ms sind. Von auditorischen Rezeptorneuronen des Grashüpfers *Chorthippus biguttulus* L. ist bekannt, dass die Fähigkeit zur Pausendetektion ebenfalls mit der Reizintensität ansteigt (Ronacher und Römer 1985).

Die zeitlichen Antworteigenschaften der PTO-Sensillen stellen vermutlich eine Anpassung an das Überfliegen von Temperaturgradienten dar.

Bislang wurden die Eigenschaften des Infrarotorgans auf Ebene der Sensillen diskutiert. Es stellt sich die Frage, welche Bedeutung dem paarige Infrarotorgan mit seinen je bis zu 90 Sensillen im Verhaltenskontext zukommt.

Das prothorakale Organ weist eine spezielle Bauweise auf. Durch die Anordnung der Sensillen auf der scheibenförmigen Struktur ist die thermische Masse relativ gering. Zudem ist das Organ durch die luftgefüllte Grube, über der es aufgehängt ist vom Rest des Körpers thermisch nahezu isoliert. Diese beiden Faktoren optimieren die Möglichkeiten, auf Temperaturänderungen sensitiv zu reagieren. Warum weist das Organ eine so hohe Anzahl an Rezeptoren auf? Hier bieten sich mehrere Erklärungen an.

Die Intensitätskennlinien der PTO-Sensillen von *A. nigricans* belegen signifikante Unterschiede bezüglich der Maximalfrequenzen zwischen den phasischen Antworten verschiedener kutikulärer Sensillen bei gleicher Bestrahlungsintensität (siehe Abb. 3.2 F, grau schattierter Bereich). Da je Organ bzw. Körperseite bis zu 90 Sensillen vorhanden sind (Schmitz et al 2002, Kreiss et al 2005), wäre es denkbar, dass eine individuelle Anpassung einzelner Sensillen oder Sensillengruppen an Bereiche von Reizintensitäten vorliegt. Sensorische Systeme antworten häufig auf adäquate Stimuli über breite Intensitätsbereiche. Dennoch müssen sie sensitiv und präzise genug reagieren können. Da die Feuerfrequenzen einzelner Neurone begrenzt sind, herrscht hier ein Konflikt zwischen dynamischem Bereich und Sensitivität. Eine erhöhte Anzahl an Rezeptoren erlaubt eine Spezialisierung der einzelnen Rezeptoren oder Rezeptorengruppen an Intensitäten oder Intensitätsbereiche. So wird eine hohe Sensitivität bei gleichzeitiger

Abdeckung des gesamten Reizspektrums erreicht (Matheson 1992). Eine derartige range fractionation ist bei mehreren sensorischen Systemen dokumentiert (Chordotonalorgane: Cohen 1963, Matheson 1992, Propriozeptoren: Hofmann et al 1985, Mechanorezeptoren: Shimozava und Kanou 1984, auditorische Neurone: Kalmring et al 1978). Solch eine Fraktionierung bewirkt folglich eine Verschiebung der Intensitätskennlinien der Rezeptoren auf der Intensitätsachse (bei Auftragung der Antwortstärke gegen die Intensität). Die Kennlinien der untersuchten PTO-Sensillen von *A. nigricans* sind jedoch lediglich in ihrer Steigung verschieden. Es ist also nicht sehr wahrscheinlich, dass eine Fraktionierung des Intensitätsbereiches bei den Sensillen vorliegt.

Denkbar wäre ebenfalls eine unterschiedliche spektrale Empfindlichkeit der Sensillen oder Sensillengruppen: Die bei einem Waldbrand auftretenden verschiedenen Wellenlänge der Infrarotstrahlung könnten verschiedene Sensillen unterschiedlich stark ansprechen.

Der Vorteil von vielen Rezeptoren gegenüber nur einem einzelnen kann neben einer Fraktionierung auch eine Erhöhung der Genauigkeit oder der Sensitivität der Antworten auf Reize sein. Zum Einen können die zeitlichen Eigenschaften eines Stimulus besser abgebildet werden, da sich eventuell auftretende zeitliche Unschärfen der Antworten einzelner Rezeptoren herausmitteln. Die in dieser Arbeit gefundene Schwelle von 11-25 mW/cm² ist ein gemittelter Wert über mehrere Sensillen und setzt zudem voraus, dass die betreffenden Sensillen eine deutliche Antwort auf den Reiz zeigten. Es ist jedoch davon auszugehen, dass einzelne Sensillen schon bei geringeren Reizintensitäten stochastisch schwach ansprechen. Die Konvergenz vieler Rezeptoren auf ein nachgeschaltetes Interneuron erhöht daher zum Anderen die Wahrscheinlichkeit, dass durch Integration der Eingänge auch derartige schwache Reize wahrgenommen werden. Hier spielt das Hintergrundrauschen der Ruheaktivität eine große Rolle, da über eine Integration über viele Einheiten das Signal-Rausch-Verhältnis verbessert werden kann, welches die Fähigkeiten, schwache Reize zu detektieren, limitiert.

Wahrscheinlich ist die Schwelle zur Detektion eines Rotlicht-Reizes eines nachgeschalteten zentralen Interneurons bei *A. nigricans* daher geringer als die angegebenen 11-25 mW/cm².

Bei der Spinne *Cupiennius salei* ist beschrieben, dass die Schwelle der Detektion eines Temperaturwechsels einer einzelnen Wärmезelle um den Faktor zehn erhöht wird, wenn die Eingänge von 70 Wärmезellen kombiniert werden (Ehn und Tichy 1996b).

Ein weiterer Vorteil einer hohen Anzahl an Rezeptoren kann eine Richtcharakteristik der einzelnen Rezeptoren sein. Durch eine unterschiedliche Ausrichtung der Rezeptoren könnte so detektiert werden, aus welcher Richtung ein Reiz stammt. Da vermutlich die Reiztransduktion bei *A. nigricans* im Somabereich der Sensillen stattfindet, ist eine Richtungsempfindlichkeit jedoch eher unwahrscheinlich. Möglich ist aber eine Erhöhung der räumlichen Auflösung durch die erhöhte Anzahl an Rezeptoren.

Die grosse Anzahl an Rezeptoren deutet darauf hin, dass *A. nigricans* detailliertere Informationen über die Temperaturverteilung auf der Brandfläche erhält als *M. atrata*, der je Körperseite nur ein bis drei multipolare Neurone besitzt. Möglicherweise ist das Auffinden von Hot Spots und das gezielte Landen an den Hot Spots der entscheidende Unterschied im Verhalten der beiden Käfer, der die Unterschiede der Organe erklärt. Hier wird deutlich, dass der beschriebene Unterschied zwischen den physiologischen Eigenschaften der drei vorgestellten Sensillentypen von *A. nigricans*, *M. acuminata* und *M. atrata* seine Entsprechung im Verhalten findet.

Die Ortung von Waldbränden erfordert den Einsatz spezialisierter Sinnessysteme. Die Antennen von pyrophilen Käfern der Gattung *Melanophila* sind dafür bekannt, Rauchgas sehr sensitiv zu perzipieren. Die Antennen von *M. acuminata* beispielweise reagieren sehr sensitiv auf Guaiakol, einen Stoff der bei der unvollständigen Verbrennung von Holz entsteht (Schütz et al 1999). *M. acuminata* kann demnach einen brennenden Baumstamm von 30 cm Durchmesser auf 1 km Entfernung wahrnehmen. Rauchgas stimuliert die Käfer vermutlich zu Suchflügen (Schmitz und Schütz 2000). Auch bei *A. nigricans* ist eine generelle Aktivierung bei Präsentation von Rauchgas zu beobachten, die sich dadurch äußert, dass ruhende Käfer beginnen zu antennieren und umherzulaufen (unveröffentlichte Beobachtungen). Es ist davon auszugehen, dass die Perzeption von Rauchgas

über antennale olfaktorische Rezeptoren für die Detektion von Waldbränden durch *A. nigricans* eine Rolle spielt.

Im Fall von *M. acuminata* wird vermutet, dass die Käfer mit Hilfe des Infrarotorgans Waldbrände über lange Distanzen detektieren können. Spekulationen über die möglichen Distanzen reichen von 1 km (Hammer et al 2001), 12 km (Schmitz und Bleckmann 1998), 20 km (Linsley 1943), bis hin zu 80 km (von Dyke 1926). Hier ist die hohe Empfindlichkeit des photomechanischen Sensillums von Bedeutung.

Die Sensillen von *M. atrata* und *A. nigricans* andererseits sind weniger empfindlich. Es ist daher möglich, dass die Infrarotorgane dieser beiden Käferarten nicht hauptsächlich an die Ortung von Bränden angepasst sind.

Das komplexe Verhalten von *A. nigricans* auf der Brandfläche selbst stellt jedoch zusätzlich zu der Detektion eines Brandes weitere Anforderungen an die Sinnessysteme und legt die Existenz eines spezialisierten Organs nahe: Besonders das punktgenaue Landen auf geeigneten Landeplätzen erfordert eine geeignete Sensorik. Die Hot Spots weisen nur selten noch Rauchentwicklung auf. Es ist daher unwahrscheinlich, dass *A. nigricans* olfaktorische Reize zur Detektion von Hot Spots verwendet. Die antennalen Thermorezeptoren sind vermutlich zum Großteil, wie bei anderen Insekten beschrieben, Kälterezeptoren und für diese spezielle Aufgabe nicht angepasst (siehe 4.2.2). Falls *A. nigricans* zusätzlich Wärmerezeptoren auf den Antennen besitzt, sind diese höchstwahrscheinlich aber nicht sensitiv genug, um eine Fernortung eines Brandes zu ermöglichen.

Die Ergebnisse aus den Verhaltensbeobachtungen unterstützen folglich die physiologischen Ergebnisse dieser Arbeit, die belegen, dass das prothorakale Organ von *A. nigricans* auf Erwärmung reagiert. Insgesamt zeigt das zeitliche Antwortverhalten der PTO-Sensillen von *A. nigricans*, dass es sehr wahrscheinlich ist, dass die Eigenschaften der Sensillen an die Detektion von Temperaturgradienten angepasst sind. Somit ermöglicht das prothorakale Organ dem Käfer, in einem thermischen Mosaik von Oberflächentemperaturen zu navigieren und sichere Landeplätze zu finden.

Ausblick

Eine weitergehende Charakterisierung der PTO-Sensillen wäre von Interesse, um dieses bislang nur bei *A. nigricans* gefundene Sinnesorgan weiter aufzuklären. Die Ermittlung des vollständigen dynamischen Bereichs ist hier zu nennen. Weiterhin ist ein Vergleich der Eigenschaften einer großen Anzahl an Sensillen anzustreben, um Aussagen über eine Fraktionierung in Intensitätsbereiche oder Wellenlängen oder über eine Richtungssensitivität machen zu können.

Die Frage stellt sich, welche Eigenschaften den Hot Spot für den Käfer attraktiv machen. Was beeinflusst die Entscheidung des Käfers an einem Hot Spot zu landen und an einem anderen nicht? Nur anhand von Verhaltensversuchen unter Laborbedingungen wäre diese Frage eindeutig zu beantworten.

4.3 Ableitungen im Zentralen Nervensystem von *M. cuspidata*

4.3.1 Anpassung der Methode des intrazellulären Ableitens an die Verhältnisse bei *Melanophila*-Käfern

Ziel dieser Arbeit war es, erstmals im fusionierten Meso-Metathorakalganglion von *M. acuminata* bzw. *M. cuspidata* intrazellulär von infrarotsensitiven Neuronen abzuleiten, um eine Identifikation von infrarotsensitiven Einzelzellen zu ermöglichen. Einzelzelleableitungen derartiger Neurone ermöglichen die Ermittlung von Empfindlichkeitsschwellen zentraler Neurone und die Aufklärung des zugrundeliegenden neuronalen Netzwerkes mittels Färbungen von Einzelzellen. Aufgrund der geringen Anzahl an Versuchstieren war es jedoch lediglich möglich, ein entsprechendes Präparat zu entwickeln und die Methode des intrazellulären Ableitens an die Verhältnisse bei *Melanophila*-Käfern anzupassen.

Etwa jeder siebte Versuch führte zu einer erfolgreichen Ableitung, nicht jeder davon zu einer erfolgreichen Färbung. Ein zugrundeliegendes Problem lag in vielen Fällen in der Instabilität der Ableitungen. Trotz der Unterstützung des Ganglions mittels des Löffels und einer Befestigung mittels eines zweiten Ringes, der bei

einigen Präparaten auf die Ventralseite gedrückt wurde, waren Bewegungen des Ganglions nicht auszuschließen. Auch das Durchtrennen der meisten ins Ganglion ziehenden Nerven brachte nicht in allen Fällen eine bessere Stabilität. Des Weiteren sind auch interne Bewegungen im Ganglion durch Spannungen in der Ganglienhülle nicht zu vermeiden gewesen. Es hat sich hier als eine gute Methode erwiesen, die Elektrode zunächst nur so gering wie möglich in die Hülle einzustechen und sie dann langsam mit häufigen, minutenlangen Pausen durch das Ganglion zu treiben, um eine Entspannung der Ganglienhülle zu ermöglichen. Bei etwa einem Viertel der Präparate hat es sich zudem als hilfreich erwiesen, die Ganglienhülle für etwa 30 Sekunden mit Kollagenase (siehe 2.2.3) anzudauen.

In dieser Arbeit sind mehrere Zellen gezeigt, die stabil über bis zu 8 Minuten intrazellulär abgeleitet wurden. Als Elektroden eigneten sich sowohl Dünnwandelektroden mit Widerständen zwischen 30 und 50 M Ω als auch Dickwandelektroden mit über 150 M Ω Widerstand. Die Spitzendurchmesser lagen in den mittels eines Rasterelektronenmikroskops untersuchten Fällen meist unter 100 nm. Färbungen der abgeleiteten Zellen mit Lucifer Yellow durch Strominjektion waren bei mindestens 2 min Färbezeit in mehr als der Hälfte der Fälle erfolgreich. Hier waren Dünnwandelektroden deutlich besser geeignet als Dickwandelektroden. Strominjektionen von bis zu 7 nA führten dazu, dass bei einigen Präparaten sehr kurze Färbezeiten von unter fünf Minuten ausreichten, um den Großteil einer Zelle anzufärben.

Die Somafärbungen der ventralen Seite des Ganglions mit Toluidin zeigten, dass die Somadurchmesser in der Regel bei etwa 10 μm lagen (siehe Abb. 3.18). An der Mittellinie ist jedoch ein Cluster von mehreren Somata zu erkennen, die mit bis zu etwa 20 μm deutlich größer sind. Die Anordnung und die relative Größe dieser Zellen ähneln sehr stark den bei zahlreichen Insekten beschriebenen DUM-Neuronen (dorsal unpaired median). DUM-Neurone zeichnen sich dadurch aus, dass ihre Somata auf der Mittellinie des Ganglions liegen und die Axone beidseitig lateral verlaufen (Hoyle et al 1974, Burrows 1996, Bräunig und Pflüger 2001). Die Somata der lokalen DUM-Neurone bei Wanderheuschrecken haben eine Größe von 30-80 μm (Burrows 1996). Von einigen holometabolen Insekten ist bekannt, dass bei fusionierten Ganglien die typischen DUM-Neurone fehlen können (Bräunig und

Pflüger 2001). Es treten jedoch hier auf der Ventralseite der Ganglien Zellen mit ähnlicher Morphologie auf. Diese Zellen werden folgerichtig als VUM-Neurone (ventral unpaired median) bezeichnet (*Apis mellifera*: Schröter et al 2007, *Calliphora erythrocephala*: Schlurmann und Hausen 2003). Ihre Position auf der Ventralseite könnte eine Folge der Fusionierung von Ganglien sein. Beim Mehlkäfer *Tenebrio molitor* sind im vierten Abdominalganglion zwei unpaare Neurone beschrieben, deren Somata medioventral im Ganglion liegen und deren Neurite bilateral und symmetrisch verlaufen (Paspalas et al 1993). Da die Coleoptera ebenfalls zu den Holometabolen zählen, besteht die Wahrscheinlichkeit, dass im fusionierten Meso-Metathorakalganglion VUM-Neurone auftreten könnten. Hierfür spricht auch, dass auf der Dorsalseite der Toluidin-Ganzpräparate keine Somata gefunden wurden, die typischen DUM-Neuronen entsprechen.

Es kann folglich festgehalten werden, dass die Somata von Neuronen im Meso-Metathorakalganglion bei *M. cuspidata* deutlich kleiner sind, als vergleichbare Zellen bei Wanderheuschrecken. Anhand der Verteilung der Somata kann davon ausgegangen werden, dass, mit Ausnahme der mutmaßlichen VUM-Neurone, grundsätzlich ein ähnlicher Aufbau der thorakalen Ganglien vorliegt wie bei Heuschrecken. Dies entspricht dem Prinzip der Parsimonie, welches besagt, dass Änderungen im Zentralen Nervensystem von Insekten im Gegensatz zu Änderungen in der Peripherie eher gering sind (Dethier 1963). Einige der in dieser Arbeit abgeleiteten Zellen bei *M. cuspidata* weisen starke morphologische Ähnlichkeiten mit identifizierten Neuronen aus den Thorakalganglien von Wanderheuschrecken auf. Das Neuron in Abbildung 3.20 A beispielsweise ähnelt von seiner Morphologie her stark dem DCMD-Neuron (descending contralateral movement detector), welches bei Wanderheuschrecken Bewegungen detektiert (Burrows und Rowell 1973, O'Shea et al 1974). Auch die physiologische Reaktion auf visuelle Reize passt zu dieser strukturellen Ähnlichkeit. Das Neuron in Abbildung 3.21 A ist der Morphologie nach vermutlich ein VUM-Neuron. Das Soma der Zelle misst 10,2 µm und ist folglich relativ klein. Das Neuron in Abbildung 3.21 E ist aller Wahrscheinlichkeit nach ein Motoneuron. Motoneurone haben zumeist ihr Soma und den Großteil ihrer Verzweigungen ipsilateral zum innervierten Muskel (Burrows 1996). Die Somata sind mit teilweise über 100 µm

Durchmesser die größten Beschriebenen bei Wanderheuschrecken (Burrows 1996). Das Soma des Motoneurons von *M. cuspidata* ist mit 14,6 µm Durchmesser ebenfalls überdurchschnittlich groß.

Insgesamt sprechen die Ergebnisse der intrazellulären Anfärbungen dafür, dass die Morphologie des fusionierten Meso-Metathorakalganglions von *M. cuspidata* ähnlich ist wie die der Ganglien von Wanderheuschrecken und Grillen. Dies passt zu einer Untersuchung von Breidbach, die ergab, dass sowohl Larven, als auch adulte Mehlkäfer (*Tenebrio molitor*) homologe zentralnervöse Neurone zu Diptera und Orthoptera aufweisen (Breidbach 1990).

4.3.2 Infrarotsensitive Einheiten im Zentralen Nervensystem von *M. acuminata* bzw. *M. cuspidata*

Im Rahmen dieser Arbeit wurden verschiedene Methoden verwendet, um im Zentralen Nervensystem von *M. acuminata* bzw. *M. cuspidata* Potenziale von infrarotsensitiven Zellen abzuleiten.

Bei einer extrazellulären Hakenableitung am thorakalen Konnektiv bei *M. acuminata* wurden deutlich reizkorrelierte Potenzialänderungen mit einer intensitätsabhängigen Latenz von 3 ms bei Stimulation mit dem Rotlichtlaser abgeleitet. Kontrollversuche schlossen aus, dass es sich bei diesen Potenzialänderungen um visuelle Antworten handelte (siehe 3.2.1.1). Die ermittelte Schwelle für eine Reizantwort der Summenpotentiale lag zwischen 50 und 185 mW/cm² und damit deutlich höher als der Schwellenwert in der Peripherie von 5 mW/cm² bei vergleichbarer Reizung (Schmitz und Trenner 2003). Zwei verschiedene Interpretationen sind hier möglich: Erstens liegen keine Informationen vor, wie weit die Elektrode von den Neuronen, deren Signale abgeleitet wurden, entfernt war. Die Elektrode umschloss in beiden Fällen je etwa eine Hälfte des Nervquerschnittes. Es sind jedoch keine Daten vorhanden, wo in den Konnektiven die Fasern von infrarotsensitiven Neuronen verlaufen. Querschnitte zeigen jedoch, dass es innerhalb der Konnektive zahlreiche Fasern gibt, die unter 1 µm im Durchmesser messen (A. Grotefeld, unveröffentlichte Daten). Dies würde dafür sprechen, dass die Signale an der Elektrode letztendlich nur schwach waren. Es ist bekannt, dass starke Reize eine synchrone Antwort von

Rezeptoren gleicher Modalität hervorrufen können. Bei schwachen Reizen jedoch ist die Streuung der Latenz der Antwort von sensorischen Systemen stärker als bei starken Reizen (siehe z.B. Ronacher und Römer 1985, Schmitz, Mürtz und Bleckmann 2000, Schmitz und Trenner 2003). Dies könnte dazu führen, dass in einer Summenableitung die Antwort auf einen starken Reiz besser abgebildet wird als diejenige auf einen schwachen Reiz.

Repräsentieren die gemessenen Schwellen jedoch die realen Schwellenwerte der abgeleiteten Neurone, so ist auch dies zu interpretieren. Der Schwellenwert könnte tatsächlich im Konnektiv höher sein als in der Peripherie, wenn die gemessenen Potenziale nicht von den Afferenzen sondern von Interneuronen stammen. Es ist bekannt, dass Interneurone unempfindlicher sein können als die Afferenzen, von denen sie Eingänge erhalten (z.B. auditorische Interneurone bei Dipteren: Stumpner und Lakes-Harlan 1996). Da nur Daten einer Ableitung vorliegen, ist es nicht möglich, allgemeingültige Aussagen über die Schwellen der Neurone im Konnektiv zu treffen. Bei früheren Hakenableitungen im thorakalen Konnektiv wurde, hier bei Reizung mit einem Infrarotlaser, ein Schwellenwert von 14 mW/cm^2 gemessen (Hammer et al 2001). Dieser lag geringfügig unter dem in der Peripherie bei identischer Reizung gemessenen Schwellenwert von $17,3 \text{ mW/cm}^2$ (Hammer et al 2001). Ob hier von Afferenzen oder von Interneuronen abgeleitet wurde oder ob ein kombinierte Antwort vorlag ist unklar. Die in dieser Arbeit gefundenen, intensitätsabhängigen Latenzen der Potenziale von unter 3 ms (549 mW/cm^2) bzw. $3,4 \text{ ms}$ (185 mW/cm^2) sind sehr kurz. Bei deutlich überschwelligen Reizen treten am Rezeptor selbst Latenzen von unter 2 ms auf (Schmitz, Mürtz und Bleckmann 2000, Hammer et al 2001). Nach Gronenberg et al bleiben 50 % der Afferenzen der photomechanischen Sensillen im Meso-Metathorakalganglion (siehe 1). Es ist davon auszugehen, dass diese Afferenzen sowohl auf aufsteigende als auch auf absteigende Interneurone verschalten, deren Axone ebenfalls im thorakalen Konnektiv liegen. Bei früheren Ableitungen am thorakalen Konnektiv fanden Hammer et al (2001) vergleichbar lange Latenzen von $17,3 \pm 7,3 \text{ ms}$. Die Autoren erklären diese Latenzen mit einer langsamen Leitungsgeschwindigkeit der sehr schmalen primären Afferenzen. Spekulationen über die Leitungsgeschwindigkeit der Afferenzen liegen bei $0,09 \text{ m/s}$ (Hammer et al 2001).

Den Daten dieser Arbeit folgend sind die Leitungsgeschwindigkeiten wesentlich höher, da eine Zeitdifferenz von unter 2 ms zwischen Rezeptor und Ableitstelle am Konnektiv auftritt. Dies würde einer Leitungsgeschwindigkeit von etwa 0,5 m/s entsprechen.

Die kurze Latenz legt daher nahe, dass die Potenziale von primären Afferenzen und nicht von Interneuronen stammen.

Um Anhaltspunkte zu haben, wo im fusionierten Meso-Metathorakalganglion von *M. cuspidata* gute Chancen bestehen, infrarotsensitive Zellen intrazellulär abzuleiten, wurde mit niederohmigen Elektroden systematisch nach reizkorrelierten Potenzialen gesucht. In drei Fällen gelang es, reizkorrelierte Potenziale extrazellulär abzuleiten (siehe Abb. 3.16). Da die Ableitungen zu kurz waren, um weitere Tests zu ermöglichen, ist nicht mit Sicherheit zu sagen, von welchen Zellen die Potenziale stammen könnten. Die Latenzen der drei Ableitungen lagen zwischen 20 und 50 ms. Diese Latenzen sprechen eindeutig gegen primäre Afferenzen der photomechanischen Sensillen als unmittelbare Verursacher der Potenziale. Die Zelle in Abbildung 3.16 A feuert während des gesamten Reizzeitraums, die Zellen in Abbildung 3.16 B und C feuern nur bei Reizbeginn. Die Zelle in 3.16 B feuert jedoch auch ohne Reiz. Die einzige Zelle, die sich folglich grundsätzlich so verhält, wie die Afferenzen, ist die Zelle in Abbildung 3.16 C. Möglicherweise könnten die Ableitungen von Interneuronen stammen, die, vielleicht auch nur unter anderem, Informationen der photomechanischen Sensillen verarbeiten. Möglich ist jedoch auch, dass die Zellen nicht infrarotsensitiv sind, sondern von Rezeptoren anderer Modalitäten exzitatorische Eingänge erhalten. Hier sind beispielsweise visuelle oder akustische Einflüsse denkbar.

Neben den Einzelzellpotenzialen wurden an zwei Stellen im fusionierten Meso-Metathorakalganglion reizkorrelierte Feldpotenziale abgeleitet. Auch hier ist aufgrund der Kürze der Ableitungen nicht mit Sicherheit zu sagen, von welchen Zellen die Potenziale stammen. Latenzen lagen hier bei 8 bzw. 55 ms (siehe Abb. 3.17 A) und 6 ms (siehe Abb. 3.17 B). Die kurzen Latenzen könnten für ein Signal der primären Afferenzen sprechen. Die Ableitorte lagen in beiden Fällen nah der Eintrittsstelle des Nervs 5.

Insgesamt kann festgehalten werden, dass geeignete Orte für die Suche nach infrarotrezeptiven Zellen im Meso-Metathorakalganglion von *M. acuminata* bzw. *M. cuspidata* an dieser Eintrittsstelle und an der Mittellinie des Ganglions liegen. Die Methode mit niederohmigen Glaskapillaren nach Feldpotenzialen zu suchen, brachte keine höhere Erfolgschance als das intrazelluläre Ableiten. Die Stabilität war auch bei dieser Methode bei nahezu allen Präparaten problematisch.

Ausblick

Die Daten dieser Arbeit geben erste Hinweise, wo für intrazelluläre Ableitungen aussichtsreiche Ableitorte im Meso-Metathorakalganglion von *M. acuminata* bzw. *M. cuspidata* liegen könnten. Nachdem in dieser Arbeit systematisch an verschiedenen Stellen im Ganglion Ableitversuche unternommen wurden, ist die Wahrscheinlichkeit, auf infrarotsensitive Einheiten zu treffen, an der Nervwurzel des Nervs 5 und an der Mittellinie des Ganglions am höchsten. Die Methode des intrazellulären Ableitens und Färbens einzelner Einheiten im Meso-Metathorakalganglion bei *Melanophila*-Käfern wurde im Rahmen dieser Arbeit etabliert. Es ist davon auszugehen, dass nach diesen Vorarbeiten intrazelluläre Ableitungen infrarotsensitiver Zellen bei einer ausreichenden Anzahl an Versuchstieren in Zukunft möglich sind.

4.4 Die Projektionen infrarotsensorischer Einheiten im Zentralen Nervensystem von *A. nigricans* im Vergleich zu *M. acuminata* bzw. *M. cuspidata*

Die photomechanischen Sensillen von *M. acuminata* sind wahrscheinlich aus trichoiden Sensillen hervorgegangen (Vondran et al 1995, Schmitz und Bleckmann 1997, Schmitz et al 2007). Die Hauptbegründung für diese Hypothese liegt darin, dass das rezeptive Neuron Eigenschaften eines mechanosensitiven Neurons bei trichoiden Sensillen aufweist. Am Rand des Organs von *M. acuminata* sind zudem Übergangssysteme (mit Wachsdrüsen assoziierte Haare) und intermediate Sensilla (unvollständig entwickelte Sensillen) gefunden worden, welche Eigenschaften

beider Sensillentypen aufweisen (Schmitz et al 2007). Des Weiteren sprechen die beschriebenen Projektionen der photomechanischen Sensillen von *M. acuminata* ebenfalls für eine Abstammung der Sensillen von Haarmechanorezeptoren (Gronenberg und Schmitz 1999).

Die Ultrastruktur der PTO-Sensillen von *A. nigricans* weist ebenfalls Ähnlichkeiten mit trichoiden Sensillen auf, obwohl momentan noch keine Daten zu der Reiztransduktion vorliegen (Kreiss et al 2005). Bei zwei Käfern, die während dieser Arbeit untersucht wurden, wurden auf je einem prothorakalen Organ je ein Sensillum trichodeum gefunden (unveröffentlichte Beobachtung). Dies könnte eventuell ein Atavismus sein und somit ein weiterer Hinweis darauf, dass sich die PTO-Sensillen von Haarmechanorezeptoren ableiten könnten. Während der extrazellulären Ableitungen der Sensillen konnte ihre Aktivität teilweise mechanisch beeinflusst werden (siehe 3.1.1.1). Dies könnte ein Hinweis auf eine mechanosensitive Funktion des Rezeptorneurons sein. Es ist jedoch bekannt, dass Neurone verschiedener Modalitäten unter Einfluss starker nichtadäquater Reize ihre Aktivität verändern können. Beispielsweise feuert das visuelle Interneuron DCMD (siehe 4.3.1) bei Wanderheuschrecken auch bei Stimulation durch laute Geräusche (O'Shea 1975). Zusätzlich gibt es Beispiele für bimodale Rezeptoren: Rezeptoren im Grubenorgan von *Phyton reticulatus*, die neben Infrarotstrahlung auch auf Berührungen ansprechen (De Cock Buning 1983).

Aufgrund der vermuteten Abstammung der Infrarotsensillen von *A. nigricans* und *M. acuminata* von trichoiden Sensillen scheint es sinnvoll, die zentralen Projektionen dieser Sensillentypen miteinander zu vergleichen.

An Wanderheuschrecken sind die Projektionen externer Mechanorezeptoren in den thorakalen Ganglien ausführlich untersucht (Burrows 1996, Pflüger 1980, Bräunig et al 1981, Hustert et al 1981, Pflüger et al 1981, Künzi und Burrows 1995, Hustert 1985, Johnson und Murphey 1985). Die Projektionen verbleiben zumeist ipsilateral und lokal in dem betreffenden Ganglion (v.a. diejenigen einzeln stehender trichoider Sensillen). Die Projektionsgebiete einzelner Haarmechanorezeptoren (sogenannter single hairs) der Mittellinie des Thorax, sind vor allem die ventralmost ventral association centers (vVAC) (Burrows 1996,

Pflueger et al 1981, Johnson und Murphey 1985). Dort bilden die Afferenzen teilweise dichte Verzweigungen (Pflüger 1980). Von Sensillen der sogenannten hair plates ist jedoch bekannt, dass sie auch intersegmental projizieren. Des Weiteren ist von einigen single hairs am Thorax beschrieben, dass sie in das nächste anteriore Ganglion projizieren, was jedoch nicht für Haare am Prothorax gilt (Pflüger, Burrows 1996). In den thorakalen Ganglien tritt eine somatotope Organisation der mechanosensitiven Afferenzen auf: Die trichoiden Haare der Beine projizieren ipsilateral und lokal in die sogenannten ventral association centers (VACs; Newland 1991). Dort findet sich eine Verteilung korrespondierend zu den Achsen des Beines wieder.

Die Information der Infrarotorgane ist im Gegensatz zu derjenigen der trichoiden Sensillen, vermutlich nicht für die Kontrolle der Beinbewegungen und für lokale Reflexe bedeutsam. Wahrscheinlich ist, dass sie hauptsächlich für das Flugverhalten eine Rolle spielen. Dies würde die beschriebenen intersegmentalen Verbindungen erklären.

Sensorische Afferenzen, die mit dem Flugverhalten assoziiert sind (beispielsweise windsensitive Haarmechanorezeptoren), verlaufen häufig intersegmental (plurisegmental) (Wanderheuschrecken: Bräunig et al 1983, Altman und Tyrer 1977, *Tenebrio molitor*: Breidbach 1990, Ameisen: Gronenberg und Peeters 1993). Intersegmentale Projektionen sind ebenfalls für die Halteren der Dipteren (Sandemann und Markl 1980, Strausfeld und Seyan 1982; zitiert in: Gronenberg und Schmitz 1999), für Afferenzen einiger Tympanalorgane (Lakes-Harlan und Heller 1992, Miller 1984; zitiert in: Gronenberg und Schmitz 1999) und für Chordotonalorgane (Hustert 1978, Bräunig et al 1981, Pflüger et al 1988) beschrieben.

Gronenberg und Schmitz untersuchten die Afferenzen des Infrarotorgans von *M. acuminata* und ordneten sie ebenfalls dieser Gruppe von plurisegmentalen sensorischen Neuronen zu (Gronenberg und Schmitz 1999). Anterograde Färbungen der Infrarotsensillen zeigten, dass der Durchmesser der Axone, die durch den mesothorakalen Beinnerv ziehen, bei 1-2 μm liegt. Die Afferenzen treten ventral in das Meso-Metathorakalganglion ein und bilden dort einige

Verzweigungen in einem Areal, welches vermutlich homolog zu den VACs bei Heuschrecken ist. Mehrere zentrale Trakte (sowohl aufsteigende als auch absteigende) verlaufen in diesem Bereich zum Oberschlundganglion. Dies legt nahe, dass Interaktionen der infrarotsensorischen Afferenzen eher mit diesen intersegmentalen Interneuronen stattfinden, als mit lokalen Neuronen (Gronenberg und Schmitz 1999). Der Hauptanteil der Afferenzen projiziert demnach ventral in sowohl die meta- als auch die mesothorakalen Neuromere des fusionierten Meso-Metathorakalganglions und konvergiert dort vermutlich auf Interneurone (Gronenberg und Schmitz 1999). Die Projektionen der Afferenzen bleiben im Meso-Metathorax ipsilateral und steigen teilweise zum Prothorax auf, wo sie kleine Verzweigungen ausbilden. Der Prothorax wird aber hauptsächlich als Passage nach anterior interpretiert. Etwa 50 % der Afferenzen konnten bis in das Prothorakalganglion verfolgt werden, etwa 20% der Fasern bis in das Unterschlundganglion. Keine Faser wurde bis in das Oberschlundganglion gefärbt. Da jedoch Projektionen in den Schlundkonnektiven gefunden wurden, gehen Gronenberg und Schmitz dennoch davon aus, dass etwa 10 % der Afferenzen bis ins Oberschlundganglion projizieren. Kontrollfärbungen mechanosensitiver Haare des Thorax zeigten ähnliche Verzweigungsmuster - bis auf einige wichtige Unterschiede: Die Projektionen der Haarmechanorezeptoren verliefen eher in den lateralen Regionen des Ganglions und bildeten keine Verzweigungen nach anterior aus.

Die während dieser Arbeit vorgenommenen vier anterograden Färbungen der photomechanischen Sensillen von *M. acuminata* bestätigen die Ergebnisse von Gronenberg und Schmitz. Es konnten keine Färbungen bis in das Oberschlundganglion verfolgt werden. Möglicherweise könnte dieses Ergebnis mit unzureichenden Laufeigenschaften des Tracers zusammenhängen. Dies ist jedoch aufgrund des normalerweise sehr guten Transportes von Neurobiotin und aufgrund der langen Färbezeiten von bis zu 72 Stunden eher unwahrscheinlich. Wahrscheinlicher ist jedoch, dass die Anzahl der durchgeführten Färbungen zu gering war, um ein entsprechendes Präparat zu färben.

Die in dieser Arbeit gezeigten anterograden Färbungen der PTO-Sensillen von *A. nigricans* zeigen ungewöhnliche Projektionen. Sie sind ebenfalls plurisegmental

und weisen kaum Ähnlichkeiten zu den für Wanderheuschrecken geschilderten Verzweigungsmustern thorakaler Haarmechnorezeptoren auf. Falls sich die PTO-Sensillen phylogenetisch von trichoiden Sensillen ableiten, so ist die neuronale Verschaltung offensichtlich mit einer Umwandlung der zentralen Projektionsgebiete einhergegangen. Dies widerspricht dem Prinzip der correspondence neuronaler Elemente, welches besagt, dass Rezeptoren, die im Laufe der Evolution einen Funktionswandel durchgemacht haben, dennoch auf dieselben postsynaptischen Einheiten verschalten (Altmann und Tyrer 1977, Davis 1983, Pearson et al 1985).

Da keine Verzweigungen im Unterschlundganglion gefunden wurden, ist davon auszugehen, dass der Hauptteil der Afferenzen der Sensillen bis ins Oberschlundganglion zieht. Es ist aufgrund der vorliegenden gefärbten Präparate nicht mit Sicherheit zu sagen, wo exakt im Oberschlundganglion die Afferenzen der Sensillen terminieren. Da in den Präparaten jeweils nur einige Sensillen je prothorakalem Organ angefärbt wurden, ist zudem davon auszugehen, dass das eigentliche Verzweigungsgebiet im Oberschlundganglion noch ausgedehnter ist, als in den Färbungen gezeigt. Theoretisch wäre hier auch eine Somatotopie denkbar. Mit welchen Neuronen die Afferenzen im Oberschlundganglion Verbindungen eingehen, ist noch unklar.

Vermutlich terminieren die Afferenzen hier im Tritocerebrum (siehe Abb. 3.9 und 3.10). Generell ist festzuhalten, dass es nur sehr wenige Arbeiten gibt, die sich detailliert mit der Anatomie des Käfergehirns auseinandersetzen (Michels 1880, Brandt 1879, Holste 1923, Beier 1927, Hilton 1939, Goosen 1949, Dönges 1954). Das Tritocerebrum wird in diesen Arbeiten jedoch nur grob morphologisch charakterisiert. Ghaffar zeigte, dass beim blinden Höhlenkäfer die Grenzen Trito- und Deutocerebrum nicht distinkt sind (Ghaffar et al 1984). Bei den Präparaten, die in dieser Arbeit untersucht wurden ist die Neuropilgrenze ebenfalls nicht eindeutig zu erkennen.

Das Tritocerebrum ist, verglichen mit dem Proto- und Deutocerebrum, auch bei den gut untersuchten Insekten, wie beispielsweise den Wanderheuschrecken, bislang Gegenstand nur weniger Untersuchungen gewesen. Daher ist die Funktion immer noch nicht vollständig entschlüsselt (Aubele und Klemm 1977, Burrows 1996). Untersuchungen an Wanderheuschrecken zeigen, dass das Tritocerebrum

zum Großteil Fasertrakte enthält, die meist unverzweigt durch das Tritocerebrum verlaufen (Aubele und Klemm 1977). Das Tritocerebrum weist hauptsächlich Verbindungen mit folgenden Regionen auf: Den dorsalen und lateralen Hirnregionen wie den Pilzkörpern und den optischen Loben, dem ventralen Nervensystem, dem stomatogastrischen System, den retro-cerebralen Drüsen und den Muskeln der Mundwerkzeuge (Jawlowski 1936, Klemm 1971, Aubele und Klemm 1977, Burrows 1996). Vier Nerven finden Eingang in das Tritocerebrum: die frontalen Konnektive, die Labralnerven, der Pharyngealnerv und der nervus corporis cardiaci III (Burrows 1996). Sensorische Eingänge ins Tritocerebrum stammen fast ausschließlich aus dem Labralnerv, der hauptsächlich Neurone der Mundwerkzeuge beinhaltet (Aubele und Klemm 1977, Kent und Hildebrand 1987, Strausfeld 1976). Daher wird die Funktion des Tritocerebrums hauptsächlich mit der Nahrungsaufnahme von Insekten assoziiert (Jorgensen et al 2006, Rajashekar und Singh 1994, Bullock und Horridge 1964).

Die Hypothese liegt nahe, dass Informationen der PTO-Sensillen, der antennalen Thermorezeptoren und der antennalen olfaktorischen Rezeptoren in das komplexe pyrophile Verhalten involviert sind. Die Frage stellt sich daher, ob eine unmittelbare Verschaltung der genannten Afferenzen im Zentralnervensystem erfolgt. Sensorische Afferenzen der Antennen projizieren unabhängig von der Modalität ins Deutocerebrum (Gewecke 1972, Bräunig 1985). Dort kommt es zu einer Auftrennung in einzelne Trakte (Staudacher et al 2005). Der Hauptanteil der zumeist olfaktorischen Neurone zieht in die Glomeruli des Antennallobus (Strausfeld 1976, Rospars und Hildebrand 1992, Laurent 1996).

Im Oberschlundganglion von *Periplaneta* wurden Projektionsneurone gefunden, die Eingänge der Kältezellen der Antenne verarbeiten (Nishikawa et al 1991, Zeiner und Tichy 2000, Fischer und Tichy 2002, Must et al 2006). Diese Projektionsneurone liegen lokal im Antennallobus oder senden Kollaterale aus, die bis ins Unterschlundganglion projizieren können (Nishikawa et al 1995). Es treten sowohl Projektionsneurone auf, die auf Kältereize reagieren, als auch solche die auf Wärmereize reagieren. Inhibitorische Eingänge der antennalen Kältezellen liegen der Antwort der Wärme-Projektionsneurone vermutlich zugrunde (Fischer und Tichy 2002). Eine Verarbeitung von thermischen Reizen im

Oberschlundganglion ist also grundsätzlich beschrieben. Der Vergleich einer anterograden Färbung der Antennennervs und der Färbung der PTO-Sensillen bei *A. nigricans* zeigt, dass der Hauptanteil der Projektionen antennaler Sensillen anterior zu denen der PTO-Sensillen liegt (siehe Abb.3.9 H). Es kommt also zu keiner direkten Überlappung der Projektionsgebiete der Afferenzen.

Aufgrund des komplexen Verhaltens von *A. nigricans* auf der Brandfläche (siehe 3.1.3.2) ist davon auszugehen, dass die Information des prothorakalen Organs hauptsächlich für die Flugsteuerung und insbesondere für das Landeverhalten bedeutend ist. Vermutlich wird die Information im Oberschlundganglion mit weiteren Informationen verknüpft und über deszendierende Interneurone unter anderem auch zurück in den Thorax verschaltet.

Gronenberg und Schmitz gehen davon aus, dass bei *M. acuminata* die Informationen der photomechanischen Sensillen ebenfalls hauptsächlich im Oberschlund- oder Unterschlundganglion verarbeitet werden (Gronenberg und Schmitz 1999). Die Hypothese liegt nahe, dass im Oberschlundganglion beider Käfer die Infrarotinformation mit visuellen, olfaktorischen und mechanosensorischen Informationen verknüpft wird .

Ausblick

Die Projektionen von *A. nigricans* im Oberschlundganglion sind von besonderem Interesse. Hier müssten erneute anterograde Färbungen vorgenommen werden, um die Ergebnisse dieser Arbeit zu verifizieren und zu vervollständigen. Doppelfärbungen von Antenne und prothorakalem Organ in einem Präparat wären hier notwendig. Des Weiteren ist eine genaue anatomische Rekonstruktion des Oberschlundganglions durchzuführen. So könnten die Projektionsgebiete der Afferenzen antennaler olfaktorischer Sensillen und der Afferenzen der prothorakalen Sensillen analysiert werden und schließlich Aussagen über mögliche Verschaltungen getroffen werden. Derartige Färbungen wären auch bei *M. acuminata* vor demselben Hintergrund von Interesse.

Von besonderem Interesse wäre ein Vergleich der Projektionen bei beiden Käferarten. Dies würde weitere Hinweise auf die Phylogenese der morphologisch und physiologisch verschiedenen Infrarotrezeptoren geben.

Anhang A: Literaturverzeichnis

- Altman JS und Tyrer NM (1977) Locust Wing Hinge Stretch Receptors 1. Primary Sensory Neurons with Enormous Central Arborizations. *Journal of Comparative Neurology* 172(3): 409-430.
- Altner H und Loftus R (1985) Ultrastructure and function of insect thermo- and hygrosensors. *Annual Review of Entomology* 30: 273-95.
- Altner H und Prillinger I (1980) Ultrastructure of invertebrate chemo-, thermo- and hygrosensors and its functional significance. *International Review of Cytology* 67: 69-139.
- Ameismeier F und Loftus R (1988) Response Characteristics of Cold Cell on the Antenna of *Locusta-Migratoria* L. *Journal of Comparative Physiology A* 163(4): 507-516.
- Amemiya RCG, Atobe Y, Ishii N und Kusunoki T (1996) The ultrastructure of infrared receptors in a boid snake, *python regius*. Evidence for periodic regeneration of the terminals. *Animal Eye Research* 15: 13-25.
- Apel K (1988) Befallsverteilung von *Melanophila acuminata* Deg., *Phaenops cyanea* F. und *Ph. formaneki* Jacob. (Col., Buprestidae) auf Waldbrandflächen. *Beiträge Forstwirtschaft* 22(2): 45-48.
- Aubele E und Klemm N (1977) Origin, Destination and Mapping of Tritocerebral Neurons of Locust. *Cell and Tissue Research* 178(2): 199-219.
- Barth FG (2004) Spider mechanoreceptors. *Current Opinion in Neurobiology* 14(4): 415-422.
- Beier M (1927) Vergleichende Untersuchungen über das Centralnervensystem der Coleopterenlarven. *Zeitschrift für Wissenschaftliche Zoologie* 130: 174-250.
- Bentley D, Keshishian H, Shankland M und Toroianraymond A (1979) Quantitative Staging of Embryonic Development of the Grasshopper, *Schistocerca-Nitens*. *Journal of Embryology and Experimental Morphology* 54(DEC): 47-74.
- Bleichmar H und de Robertis E (1962) Submicroscopic Morphology of the Infrared Receptor of Pit Vipers. *Zeitschrift Für Zellforschung Und Mikroskopische Anatomie* 56(6): 748-761.
- Bohnenberger J (1981) Matched Transfer Characteristics of Single Units in a Compound Slit Sense Organ. *Journal of Comparative Physiology* 142(3): 391-402.
- Brandt E (1879) Vergleichend-anatomische Untersuchungen des Nervensystems der Käfer (Coleoptera) Horae. Soc. Entomol. Ross. (Russk. Entomol. Obsch.) 15: 51-67.
- Bräunig P (1985) Mechanoreceptive Neurons in an Insect Brain. *Journal of Comparative Neurology* 236(2): 234-240.
- Bräunig P, Hustert R und Pflüger HJ (1981) Distribution and Specific Central Projections of Mechanoreceptors in the Thorax and Proximal Leg Joints of Locusts 1. Morphology, Location and Innervation of Internal Proprioceptors of Prothorax and Metathorax and Their Central Projection. *Cell and Tissue Research* 216(1): 57-77.
- Bräunig P und Pflüger HJ (2001) The unpaired median neurons of insects. *Advances in Insect Physiology* 28: 185-266.
- Bräunig P, Pflüger HJ und Hustert R (1983) The Specificity of Central Nervous Projections of Locust Mechanoreceptors. *Journal of Comparative Neurology* 218: 197-207
- Breidbach O (1990) Metamorphic Changes in the Central Projections of Hair Sensilla in *Tenebrio molitor* L (Insecta, Coleoptera). *Cell and Tissue Research* 259(1): 159-175.

- Bullock TH und Cowles RB (1952) Physiology of an Infrared Receptor - the Facial Pit of Pit Vipers. *Science* 115(2994): 541-543.
- Bullock TH und Diecke FPJ (1956) Properties of an Infrared Receptor. *Journal of Physiology (Lond)* 134: 47-87
- Bullock TH und Fox W (1957) The Anatomy of the Infra-Red Sense Organ in the Facial Pit of Pit Vipers. *Quarterly Journal of Microscopical Science* 98(2): 219-234.
- Bullock TH und Horridge GA (1964) *Structure and Function in the Nervous System of Invertebrates*. San Francisco, W.H. Freeman.
- Burrows M (1996) *The neurobiology of an insect brain*. Oxford, Oxford University Press.
- Burrows M und Rowell CHF (1973) Connections between Descending Visual Interneurons and Metathoracic Motoneurons in Locust. *Journal of Comparative Physiology* 85(3): 221-234.
- Byers JA (2000) Wind-aided dispersal of simulated bark beetles flying through forests. *Ecological Modelling* 125(2-3): 231-243.
- Cerda X und Retana J (2000) Alternative strategies by thermophilic ants to cope with extreme heat: individual versus colony level traits. *Oikos* 89(1): 155-163.
- Champion GC (1922) The geographical distribution and synonymy of the dasytid-beetle *Acanthocnemus nigricans* HOPE (=ciliatus PERRIS). *Entomologist's Monthly Magazine (Series 3.8)* 58, 77-79
- Chapman RF (1998) *The Insects – Structure and Function*, 4th ed, Cambridge University Press
- Chapman RF und Whitham F (1968) External Morphogenesis of Grasshopper Embryos. *Proceedings of the Royal Entomological Society of London Series A - General Entomology* 43: 161-169.
- Clague H, Theunissen F und Miller JP (1997) Effects of adaptation on neural coding by primary sensory interneurons in the cricket cercal system. *Journal of Neurophysiology* 77(1): 207-220.
- Cohen MJ (1963) Crustacean Myochordotonal Organ as a Proprioceptive System. *Comparative Biochemistry and Physiology* 8(3): 223-243.
- Corbière-Tichané G und Loftus R (1983) Antennal Thermal Receptors of the Cave Beetle, *Speophyes-Lucidulus* Delar 2. Cold Receptor Response to Slowly Changing Temperature. *Journal of Comparative Physiology* 153(3): 343-351.
- Coro F, Perez M, Mora E, Boada D, Conner WE, Sanderford MV und Avila H (1998) Receptor cell habituation in the A(1) auditory receptor of four noctuid moths. *Journal of Experimental Biology* 201(20): 2879-2890.
- Crowson RA (1970) Further observations on cleroida (Coleoptera) *Proceedings of the Royal Entomological Society London (B)* 39, pt1-2: 1-20.
- Darian-Smith I, Johnson KO, Lamotte C, Shigenaga Y, Kenins P und Champness P (1979) Warm Fibers Innervating Palmar and Digital Skin of the Monkey - Responses to Thermal Stimuli. *Journal of Neurophysiology* 42(5): 1297-1315.
- Davis EE und Sokolove PG (1975) Temperature Responses of Antennal Receptors of Mosquito, *Aedes-Aegypti*. *Journal of Comparative Physiology* 96(3): 223-236.
- Davis NT (1983) Serial homologies of the motor neurons of the dorsal intersegmental muscles of the cockroach, *Periplaneta americana*. *Journal of Morphology* 176:197-210
- De Cock Buning T (1983) Thresholds of infrared sensitive tectal neurons in *Python reticulatus*, *Boa constrictor* and *Agkistrodon rhodostoma*. *Journal of Comparative Physiology A* 151: 461-467.

- De Cock Buning T, Terashima S, Goris RC (1981a) Crotaline pit organs analyzed as warm receptors. *Cellular and Molecular Neurobiology* 1: 271-278.
- De Cock Buning T, Terashima S, Goris RC (1981b) Python pit organs analyzed as warm receptors. *Cell. Mol. neurobiol.* 1: 271-278.
- Dethier V (1963) *The Physiology of Insect Senses*. London, Methuen & Co. LTD.
- Dönges J (1954) Der Kopf von *Cionus scrophulariae* L. (Curculionidae) *Zoologische Jahrbücher Abteilung für Anatomie* 74: 1-76.
- Dreisig H (1980) Daily Activity, Thermoregulation and Water-Loss in the Tiger Beetle *Cicindela-Hybrida*. *Oecologia* 44(3): 376-389.
- Drew PJ und Abbott LF (2006) Models and properties of power-law adaptation in neural systems. *Journal of Neurophysiology* 96(2): 826-833.
- Düring von M (1974) Radiant Heat Receptor and Other Tissue Receptors in Scales of Upper Jaw of *Boa Constrictor*. *Zeitschrift Für Anatomie Und Entwicklungsgeschichte* 145(3): 299-319.
- Ehn R und Tichy H (1996a) Response characteristics of a spider warm cell: Temperature sensitivities and structural properties. *Journal of Comparative Physiology A* 178(4): 537-542.
- Ehn R und Tichy (1996b) Threshold for detecting temperature changes in a spider thermoreceptor. *Journal of Neurophysiology* 76(4): 2608-2613.
- Evans WG (1964) Infrared Receptors in *Melanophila acuminata* De Geer. *Nature (London)* 202:211.
- Evans WG (1966a) Perception of Infrared Radiation from Forest Fires by *Melanophila acuminata* De Geer (Buprestidae, Coleoptera) *Ecology* 47: 1061-1065
- Evans WG (1966b) Morphology of the infrared sense organ of *Melanophila acuminata* (Buprestidae, Coleoptera) *Annals of the Entomological Society of America* 59: 873-877
- Evans WG und Kuster JE (1980) The infrared receptive fields of *Melanophila acuminata* (Coleoptera: Buprestidae). *Canadian Entomologist* 112(2): 211-216
- Fischer H und Tichy H (2002) Cold-receptor cells supply both cold- and warm-responsive projection neurons in the antennal lobe of the cockroach. *Journal of Comparative Physiology A* 188(8): 643-648.
- French AS (1984) Action-Potential Adaptation in the Femoral Tactile Spine of the Cockroach, *Periplaneta-Americana*. *Journal of Comparative Physiology* 155(6): 803-812.
- French AS (1988) Transduction Mechanisms of Mechanosensilla. *Annual Review of Entomology* 33: 39-58.
- French AS (1989) 2 Components of Rapid Sensory Adaptation in a Cockroach Mechanoreceptor Neuron. *Journal of Neurophysiology* 62(3): 768-776.
- French AS (1992) Mechanotransduction. *Annual Review of Physiology* 54: 135-152.
- French AS und Torkkeli PH (1994) The Basis of Rapid Adaptation in Mechanoreceptors. *News in Physiological Sciences* 9: 158-161.
- French AS, Torkkeli PH und Seyfarth EA (2002) From stress and strain to spikes: mechanotransduction in spider slit sensilla. *Journal of Comparative Physiology A* 188(10): 739-752.
- Gewecke M (1972) Bewegungsmechanismus und Gelenkrezeptoren der Antennen von *Locusta Migratoria*. *Zeitschrift für Morphologie der Tiere* 71: 128-149.
- Ghaffar H, Larsen JR, Booth GM und Perkes R (1984) General Morphology of the Brain of the Blind Cave Beetle, *Neaphaenops-Tellkampffii* Erichson (Coleoptera, Carabidae) *International Journal of Insect Morphology & Embryology* 13(5-6): 357-371.

- Gingl E und Tichy H (2001) Infrared sensitivity of thermoreceptors. *Journal of Comparative Physiology A* 187(6): 467-475.
- Givois und Pollack (2000) Sensory habituation of auditory receptor neurons: implications for sound localization. *Journal of Experimental Biology* 203: 2529-2537.
- Goosen H (1949) Untersuchungen an Gehirnen verschieden großer, jeweils verwandter Coleopteren und Hymenopterenarten. *Zoologische Jahrbücher Abteilung für Allgemeine Zoologie* 62: 1-64.
- Goris RC und Nomoto M (1967) Infrared Reception in Oriental Crotaline Snakes. *Comparative Biochemistry and Physiology* 23(3): 879-892.
- Graham S und Knight F (1965) *Principles of forest entomology*. New York, McGraw-Hill Book.
- Grodzicki P und Caputa M (2005) Social versus individual behaviour: a comparative approach to thermal behaviour of the honeybee (*Apis mellifera* L.) and the American cockroach (*Periplaneta americana* L.) *Journal of Insect Physiology* 51(3): 315-322.
- Gronenberg W und Peeters C (1993) Central Projections of the Sensory Hairs on the Gemma of the Ant *Diacamma* - Substrate for Behavioral Modulation. *Cell and Tissue Research* 273(3): 401-415.
- Gronenberg W und Schmitz H (1999) Afferent projections of infrared-sensitive sensilla in the beetle *Melanophila acuminata* (Coleoptera : Buprestidae) *Cell and Tissue Research* 297(2): 311-318.
- Hamill OP und McBride DW (1994) Molecular Mechanisms of Mechanoreceptor Adaptation. *News in Physiological Sciences* 9: 53-59.
- Hammer DX, Schmitz H, Schmitz A, Rylander HG und Welch AJ (2001) Sensitivity threshold and response characteristics of infrared detection in the beetle *Melanophila acuminata* (Coleoptera : Buprestidae) *Comparative Biochemistry and Physiology A* 128(4): 805-819.
- Hartline PH (1974) Thermoreception in snakes" in: Fessard A (ed) *Handbook of Sensory Physiology, Vol 3* Springer, Berlin Heidelberg New York: 297-312.
- Hecht E (1989) *Optik*. Addison-Wesley (Deutschland) Bonn
- Hellon RF, Hensel H und Schafer K (1975) Thermal Receptors in Scrotum of Rat. *Journal of Physiology-London* 248(2): 349-357.
- Hensel H und Huopaniemi T (1969) Static and Dynamic Properties of Warm Fibres in Infraorbital Nerve. *Pflugers Archiv-European Journal of Physiology* 309(1): 1-10.
- Hensel H und Iggo A (1971) Analysis of Cutaneous Warm and Cold Fibres in Primates. *Pflugers Archiv-European Journal of Physiology* 329(1): 1-8.
- Hensel H und Kenshalo DR (1969) Warm Receptors in Nasal Region of Cats. *Journal of Physiology-London* 204(1): 99-112.
- Herrera CM (1992) Activity pattern and thermal biology of a day-flying hawkmoth (*Macroglossum stellatarum*) under mediterranean summer conditions. *Ecological Entomology* 17(1): 52-56.
- Hess E und Loftus R (1984) Warm and Cold Receptors of 2 Sensilla on the Foreleg Tarsi of the Tropical Bont Tick *Amblyomma-Variegatum*. *Journal of Comparative Physiology* 155(2): 187-195.
- Hilton W (1939) Nervous system and sense organs: LXXXI Coleoptera. *Journal of Entomology and Zoology*. 31: 50-71.
- Hofmann T, Koch UT und Bassler U (1985) Physiology of the Femoral Chordotonal Organ in the Stick Insect, *Cuniculina-Impigra*. *Journal of Experimental Biology* 114(JAN): 207-223.

-
- Holste G (1923) Das Gehirn von *Dytiscus marginalis*. Zeitschrift für Wissenschaftliche Zoologie (Suppl.) 120: 251-280.
- Holt GR, Softky WR, Koch C und Douglas RJ (1996) Comparison of discharge variability in vitro and in vivo in cat visual cortex neurons. Journal of Neurophysiology 75(5): 1806-1814.
- Hoyle G, Dagan D, Moberly B und Colquhou W (1974) Dorsal Unpaired Median Insect Neurons Make Neurosecretory Endings on Skeletal-Muscle. Journal of Experimental Zoology 187(1): 159-165.
- Hustert R (1978) Segmental and interganglionic projections from primary fibres of insect mechanoreceptors Cell and Tissue Research 194(2): 337-351.
- Hustert R (1985) Multisegmental Integration and Divergence of Afferent Information from Single Tactile Hairs in a Cricket. Journal of Experimental Biology 118: 209-227.
- Hustert R, Pflüger JH und Bräunig P (1981) Distribution and Specific Central Projections of Mechanoreceptors in the Thorax and Proximal Leg Joints of Locusts 3. The External Mechanoreceptors - the Campaniform Sensilla. Cell and Tissue Research 216(1): 97-111.
- Jawlowski H (1936) Über den Gehirnbau der Käfer. Zeitschrift für Morphologie und Ökologie der Tiere 32: 67-91.
- Johnson SE und Murphey RK (1985) The afferent projection of mesothoracic bristle hairs in the cricket, *Acheta-domesticus*. Journal of Comparative Physiology A 156(3): 369-379.
- Jorgensen K, Kvello P, Almaas TJ und Mustaparta H (2006) Two closely located areas in the suboesophageal ganglion and the tritocerebrum receive projections of gustatory receptor neurons located on the antennae and the proboscis in the moth *Heliothis virescens*. Journal of Comparative Neurology 496(1): 121-134.
- Kalmring K, Lewis B und Eichendorf A (1978) Physiological Characteristics of Primary Sensory Neurons of Complex Tibial Organ of *Decticus-Verrucivorus* L (Orthoptera, Tettigoniidae) Journal of Comparative Physiology 127(2): 109-121.
- Kent KS und Hildebrand JG (1987) Cephalic Sensory Pathways in the Central-Nervous-System of Larval *Manduca-Sexta* (Lepidoptera, Sphingidae) Philosophical Transactions of the Royal Society of London Series B-Biological Sciences 315(1168): 1-36.
- Kirby MJ und Lindsay SW (2004) Responses of adult mosquitoes of two sibling species, *Anopheles arabiensis* and *A. gambiae* s.s (Diptera: Culicidae), to high temperatures. Bulletin of Entomological Research 94: 441-448.
- Klemm N (1971) Monoaminhaltige Strukturen im Zentralnervensystem der Trichoptera (Insecta) Teil II. Zeitschrift für Zellforschung 117:537-558.
- Kreiss EJ, Schmitz A und Schmitz H (2005) Morphology of the prothoracic discs and associated sensilla of *Acanthocnemus nigricans* (Coleoptera, Acanthocnemidae) Arthropod Structure & Development 34(4): 419-428.
- Kuenzi F und Burrows M (1995) Central Connections of Sensory Neurons from a Hair Plate Proprioceptor in the Thoraco-Coxal Joint of the Locust. Journal of Experimental Biology 198(7): 1589-1601.
- Lakes-Harlan R und Heller KG (1992) Ultrasound-Sensitive Ears in a Parasitoid Fly. Naturwissenschaften 79(5): 224-226.
- Laughlin SB (1989) The Role of Sensory Adaptation in the Retina. Journal of Experimental Biology 146: 39-62.
- Laurent G (1996) Dynamical representation of odours by oscillating and evolving neural assemblies Trends in Neuroscience 19: 489-496.
- Lawrence J und Britton EB (1994) Australian Beetles. Melbourne, Melbourne University Press.

- Lazzari CR und Wicklein M (1994) The Cave-like Sense Organ in the Antennae of Triatominae Bugs. Mem Inst Oswaldo Cruz Rio de Janeiro 89(4): 643-648.
- Linsley E (1943) Attraction of *Melanophila beetles* by fire and smoke. Journal Eco Entomol 36: 341-342.
- Loftus R (1968) Response of Antennal Cold Receptor of *Periplaneta Americana* to Rapid Temperature Changes and to Steady Temperature. Zeitschrift Für Vergleichende Physiologie 59(4): 413-455.
- Loftus R (1978) Peripheral thermal receptors. In: Sensory ecology. New York, Plenum Publishing.
- Loftus R und Corbière-Tichané G (1981) Antennal Warm and Cold Receptors of the Cave Beetle, *Speophyes-Lucidulus* Delar, in Sensilla with a Lamellated Dendrite 1. Response to Sudden Temperature-Change. Journal of Comparative Physiology 143(4): 443-452.
- Lynn WG (1931) The structure and function of the facial pit of the pit viper. American Journal of Anatomy 49: 97-139.
- Mainz T, Schmitz A und Schmitz H (2004) Variation in number and differentiation of the abdominal infrared receptors in the Australian 'fire-beetle' *Merimna atrata* (Coleoptera, Buprestidae) Arthropod Structure & Development 33(4): 419-430.
- Matheson T (1992) Range Fractionation in the Locust Metathoracic Femoral Chordotonal Organ. Journal of Comparative Physiology A 170(4): 509-520.
- McIver SB (1985) Mechanoreception. Comparative Insect Physiology, Biochemistry and Pharmacology 6: 71-133.
- Mendelson M und Loewenstein WR (1964) Mechanisms of Receptor Adaptation. Science 144(361): 554-555.
- Merivee E, Vanatoa A, Luik A, Rahi M, Sammelseg V und Ploomi A (2003) Electrophysiological identification of cold receptors on the antennae of the ground beetle *Pterostichus aethiops*. Physiological Entomology 28(2): 88-96.
- Michels H (1880) Beschreibung des Nervensystems von *Oryctes nasicornis* im Larven-Puppen-und Käferzustande. Zeitschrift für Wissenschaftliche Zoologie. 34: 641-702.
- Miller L (1984) Biology of *Chrysopidae*. Series Entomologica 27: 134-149.
- Molenaar GJ (1992) Anatomy and physiology of infrared sensitivity of snakes. In: Biology of the reptilia, Neurology C, Sensorimotor Integration, Vol. 17, ed. Gans C, University of Chicago press, Chicago and London, 368-453.
- Muona J und Rutanen I (1994) The Short-Term Impact of Fire on the Beetle Fauna in Boreal Coniferous Forest. Annales Zoologici Fennici 31(1): 109-121.
- Muser B, Sommer S, Wolf H und Wehner R (2005) Foraging ecology of the thermophilic Australian desert ant, *Melophorus bagoti*. Australian Journal of Zoology 53(5): 301-311.
- Must A, Merivee E, Luik A, Mand M und Heidemaa M (2006) Responses of antennal campaniform sensilla to rapid temperature changes in ground beetles of the tribe platynini with different habitat preferences and daily activity rhythms. Journal of Insect Physiology 52(5): 506-513.
- Nachtigall W (1996) Insect flight behaviour in a natural environment 6. Locomotory behaviour in a population of the tiger beetle species *Cicindela hybrida* on a small, hot, sandy area (Coleoptera: Cicindelidae) Entomologia Generalis 20(4): 241-248.
- Newland PL (1991) Morphology and Somatotopic Organization of the Central Projections of Afferents from Tactile Hairs on the Hind Leg of the Locust. Journal of Comparative Neurology 312(4): 493-508.

- Nishikawa M, Yokohari F und Ishibashi T (1991) Deutocerebral Interneurons Responding to Thermal Stimulation on the Antennae of the Cockroach, *Periplaneta americana* L. *Naturwissenschaften* 78(12): 563-565.
- Nishikawa M, Yokohari F und Ishibashi T (1992) Response Characteristics of 2 Types of Cold Receptors on the Antennae of the Cockroach, *Periplaneta-Americana* L. *Journal of Comparative Physiology A* 171(3): 299-307.
- Nishikawa M, Yokohari F und Ishibashi T (1995) Central Projections of the Antennal Cold Receptor Neurons and Hygroreceptor Neurons of the Cockroach *Periplaneta-Americana*. *Journal of Comparative Neurology* 361(1): 165-176.
- O'Shea M (1975) 2 Sites of Axonal Spike Initiation in a Bimodal Interneuron. *Brain Research* 96(1): 93-98.
- O'Shea M, Rowell CHF und Williams JL (1974) Anatomy of a Locust Visual Interneuron - Descending Contralateral Movement Detector. *Journal of Experimental Biology* 60(1): 1-12.
- Paspalas C, Consoulas C und Theophilidis G (1993) The Fate of Specific Motoneurons and Sensory Neurons of the Pregenital Abdominal Segments in *Tenebrio-Molitor* (Insecta, Coleoptera) During Metamorphosis. *Rouxs Archives of Developmental Biology* 202(4): 204-213.
- Pasztor VM und Bush BMH (1983) Graded Potentials and Spiking in Single Units of the Oval Organ, a Mechanoreceptor in the Lobster Ventilatory System 3. Sensory Habituation to Repetitive Stimulation. *Journal of Experimental Biology* 107(NOV): 465-472.
- Pearson KG, Boyan GS, Bastiani M, Goodman CS (1985) Heterogeneous properties of segmental homologous interneurons in the ventral nerve cord of locusts. *Journal of Comparative Neurology* 233:133-145.
- Penzlin H (1996) *Lehrbuch der Tierphysiologie* 6.Auflage, Gustav Fischer Verlag Jena
- Pflüger HJ (1980) Central Nervous Projections of Sternal Trichoid Sensilla in Locusts. *Naturwissenschaften* 67(6): 316-317.
- Pflüger HJ, Bräunig P und Hustert R (1981) Distribution and Specific Central Projections of Mechanoreceptors in the Thorax and Proximal Leg Joints of Locusts 2. The External Mechanoreceptors – Hair Plates and Tactile Hairs. *Cell and Tissue Research* 216(1): 79-96.
- Pflüger HJ, Bräunig P und Hustert R (1988) The Organization of Mechanosensory Neuropiles in Locust Thoracic Ganglia. *Philosophical Transactions of the Royal Society of London Series B-Biological Sciences* 321(1202): 1-26.
- Rajashekhar KP und Singh RN (1994) Neuroarchitecture of the Tritocerebrum of *Drosophila-Melanogaster*. *Journal of Comparative Neurology* 349(4): 633-645.
- Richards AG (1957) Cumulative effects of optimum and suboptimum temperatures on insect development. In: *Influence of Temperature on Biological Systems*, ed. Johnson FH, American Physiological Society, Washington: 145-162.
- Rice MJ (1975) Insect Mechanoreceptor Mechanism. In: *Advances in Behavioral Biology, Sensory Physiology and Behaviour*: 135-165.
- Ronacher B und Römer H (1985) Spike synchronisation of tympanic receptor fibres in a grasshopper (*Chorthippus biguttulus* L., Acrididae). *Journal of Comparative Physiology A* 157: 631-642.
- Rospars JP und Hildebrand JG (1992) Anatomical Identification of Glomeruli in the Antennal Lobes of the male Sphinx moth *manduca Sexta*. *Cell Tissue Research* 270: 205-227.
- Sandeman DC und Markl H (1980) Head Movements in Flies (Calliphora) Produced by Deflection of the Halteres. *Journal of Experimental Biology* 85(APR): 43-60.
- Schäfer K, Braun HA und Kurten L (1988) Analysis of Cold and Warm Receptor Activity in Vampire Bats and Mice. *Pflugers Archiv-European Journal of Physiology* 412(1-2): 188-194.

- Schlurmann M und Hausen K (2003) Mesothoracic ventral unpaired median (mesVUM) neurons in the blowfly *Calliphora erythrocephala*. *Journal of Comparative Neurology* 467(3): 435-453.
- Schmitz A, Sehrbrock A und Schmitz H (2007) The Analysis of the mechanosensory origin of the infrared sensilla in *Melanophila acuminata* (Coleoptera; Buprestidae) adduces new insights into the transduction mechanisms" *Arthropod Structure and Development* in press
- Schmitz H, Schmitz A, Bleckmann H (2000) A new type of infrared organ in the Australian fire-beetle *Merimna atrata* (Coleoptera: Buprestidae) *Naturwissenschaften* 87: 542-545.
- Schmitz H und Bleckmann H (1997) Fine structure and physiology of the infrared receptor of beetles of the genus *Melanophila* (Coleoptera : Buprestidae) *International Journal of Insect Morphology & Embryology* 26(3-4): 205-215.
- Schmitz H und Bleckmann H (1998) the photomechanic infrared receptor for the detection of forest fires in the beetle *melanophila acuminata*. *Journal of Comparative Physiology A* 182: 647-657.
- Schmitz H, Bleckmann H und Mürtz M (1997) Infrared detection in a beetle. *Nature* 386(6627): 773-774.
- Schmitz H, Mürtz M und Bleckmann H (2000) Responses of the infrared sensilla of *Melanophila acuminata* (Coleoptera : Buprestidae) to monochromatic infrared stimulation. *Journal of Comparative Physiology A* 186(6): 543-549.
- Schmitz H, Schmitz, A. und Bleckmann, H. (2001) Morphology of a thermosensitive multipolar neuron in the infrared organ of *Merimna atrata* (Coleoptera, Buprestidae) *Arthropod Structure & Development* 30: 99-111.
- Schmitz H, Schmitz A, Trenner S und Bleckmann H (2002) A new type of insect infrared organ of low thermal mass. *Naturwissenschaften* 89(5): 226-229.
- Schmitz H und Schütz, S. (2000) Die spezialisierten Sinnesorgane des Feuerkäfers. *Biologie in unserer Zeit* 5: 266-273.
- Schmitz H und Trenner S (2003) Electrophysiological characterization of the multipolar thermoreceptors in the fire-beetle *Merimna atrata* and comparison with the infrared sensilla of *Melanophila acuminata* (both Coleoptera, Buprestidae) *Journal of Comparative Physiology A* 189(9): 715-722.
- Schmitz und Schmitz (2002) Australian fire-beetles. In: *Landscape* 36-41
- Schröter U, Malun D und Menzel R (2007) Innervation pattern of suboesophageal ventral unpaired median neurones in the honeybee brain. *Cell Tissue Research* 327: 647-667.
- Schütz S, Weissbecker B, Hummel HE, Apel KH, Schmitz H und Bleckmann H (1999) Insect antenna as a smoke detector. *Nature* 398(6725): 298-299.
- Shimozawa T und Kanou M (1984) Varieties of Filiform Hairs - Range Fractionation by Sensory Afferents and Cercal Interneurons of a Cricket. *Journal of Comparative Physiology* 155(4): 485-493.
- Shulov AS und Pener MP (1963) Studies on the development of eggs of the desert locust (*Schistocerca gregaria* Forskal) and its interruption under certain conditions of humidity. *Anti-Locust Bulletin* 41: 1-59.
- Sowards LA, Schmitz H, Tomlin DW, Naik RR und Stone MO (2001) Characterization of beetle *Melanophila acuminata* (Coleoptera : Buprestidae) infrared pit organs by high-performance liquid chromatography/mass spectrometry, scanning electron microscope, and Fourier transform-infrared spectroscopy. *Annals of the Entomological Society of America* 94(5): 686-694.
- Staudacher EM, Gebhardt M und Dürr V (2005) Antennal movements and mechanoreception: Neurobiology of active tactile sensors. *Advances in Insect Physiology*, Vol 32. 32: 49-205.

- Strausfeld N (1976) Atlas of an Insect Brain. Berlin, Heidelberg, New York, Springer.
- Strausfeld NJ und Seyan HS (1982) Convergence of visual, haltere, and prosternal inputs at neck motor neurons of *Calliphora erythrocephala*. Cell Tissue Res 240: 601-615.
- Stumpner A und LakesHarlan R (1996) Auditory interneurons in a hearing fly (*Therobia leonidei*, Ormiini Tachinidae, Diptera) Journal of Comparative Physiology A 178(2): 227-233.
- Terashima S und Goris RC (1974) Electrophysiology of snake infrared receptors. In: Phillis GAKJW (ed) Progress in Neurobiology, Oxford, Pergamon Press: 311-332.
- Terashima S, Goris RC, Katsuki Y (1970) Structure of warm fiber terminals in the pit membrane of vipers. Ultrastr. Res. 31: 494-506.
- Terashima S und Goris RC (1983) Static response of infrared neurons of crotaline snakes-normal distribution of interspike intervals. Cell. Mol. Neurobiol. 3: 27-37.
- Tichy H (1979) Hygro Receptive and Thermo-Receptive Triad in Antennal Sensillum of the Stick Insect, *Carausius-Morosus*. Journal of Comparative Physiology 132(2): 149-152.
- Tichy H und Gingl E (2000) Problemes in Hygro-and Thermoreception. In: Ecology of sensing, Springer: 271-287.
- Tichy H und Loftus R (1987) Response Characteristics of a Cold Receptor in the Stick Insect *Carausius-Morosus*. Journal of Comparative Physiology A 160(1): 33-42.
- Van Dyke E (1926) Buprestid swarming. Pan-Pacific Entomologist 3: 41.
- Vondran T, Apel KH und Schmitz H (1995) The infrared receptor of *Melanophila acuminata* De Geer (Coleoptera: Buprestidae): Ultrastructural study of a unique insect thermoreceptor and its possible descent from a hair mechanoreceptor. Tissue & Cell 27(6): 645-658.
- Wardhaugh KG (1978) Description of Embryonic Stages of Australian Plague Locust, *Chortoicetes-Terminifera* (Walk) Acrida 7(1): 1-9.
- Weber DC, Ferro DN und Stoffelano JG (1993) Quantifying flight of colorado potato beetles (Coleoptera, Chrysomelidae) with a microcomputer-based flight mill system. Annals of the Entomological Society of America 86(3): 366-371
- Wicklow DT (1988) Parallels in the Development of Post-Fire Fungal and Herb Communities. Proceedings of the Royal Society of Edinburgh Section B-Biological Sciences 94: 87-95.
- Wikars L (1992) Forest fires and insects. Entomol Tidskr 113:1-12.
- Wikars L (1997) Effects of Forest Fire and the Ecology of Fire-adapted Insects. Dissertation, Universität Uppsala
- Yokohari F (1999) VII Hygro- and Thermoreceptors. in: Atlas of Arthropod Sensory Receptors. Ed. Eguchi E und Tominaga Y, Springer
- Zeiner R und Tichy H (2000) Integration of temperature and olfactory information in cockroach antennal lobe glomeruli. Journal of Comparative Physiology A 186(7-8): 717-727.

Anhang B: Rezepte

Ringerlösung für Grillen nach Wilson (für *Melanophila acuminata*)

Stammlösung:

NaCl	8,1816 g
KCl	0,745 g
CaCl ₂ x 2 H ₂ O	1,02914 g
MgCl ₂ x 6 H ₂ O	0,2033 g

in 88 ml a. dest. lösen

Gebrauchslösung:

Stammlösung	17,6 ml
NaHCO ₃	0,066 g
TES	0,220 g
Trehalose	0,300 g

Auf 200 ml mit a. dest. auffüllen
pH Wert einstellen

Phosphatpuffer nach Sørensen (PB), 0,1M

Stammlösungen:

A 0,2 M
NaH₂PO₄ x H₂O 13,8 g / 500 ml a. dest.

B 0,2 M
Na₂HPO₄ 14,2 g / 500 ml a. dest.

für
pH-Wert 7,2 28 ml A : 72 ml B
p-Wert 7,0 39 ml A : 61 ml B
je + 100 ml a. dest

PBS

PB (s.o.) 10 ml
NaCl 0,9 g
auf 100 ml mit a. dest. Auffüllen

PBS-Triton-X 0,1%

PB (s.o.) 10 ml
NaCl 0,9 g
Triton X₁₀₀ 0,1 ml
auf 100 ml mit a. dest. auffüllen

Soma-Färbung am Ganzpräparat mit Toluidinblau

Frisch herauspräpariertes, nicht fixiertes Gewebe in Toluidinblau-Färbelösung bei 60°C färben:

Färbelösung:

Toluidinblau 5 g
Borax 30 g
Borsäure 5 g
H₂Odest 500 ml
pH-Wert: 7,6
Wenn es zu überfärben beginnt in Bodian-Lösung überführen

Bodian-Fixierlösung:

Formalin 5 ml
Eisessig 5 ml
Ethanol (80%ig) 90 ml

Bodian-Lösung so oft wechseln, bis der Fixierer klar bleibt. Dann Präparat für etwa 15 min inkubieren, mittels Alkoholreihe entwässern:
70%, 90%, 100%, 100% Ethanol
in Methylsalicylat aufklaren

Färbung mit Neurobiotin und Detektion mit CY3

alles in schwarzen Blockschälchen mit Deckel (im Dunkeln) durchführen

Lösungen:

Neurobiotin: 5%: 5 mg auf 100 µl a. dest., immer einfrieren
Formaldehyd-Lösung: 4% in PB (s.o.)
PBS-Triton X 0,1% (s.o.)
Collagenase Typ IV (Sigma Aldrich): 0,1% in PBS (s.o.)
Cy3-conjugated Streptavidin (Jackson Immuno): 1:2000 in PBS (s.o.)

Prozessierung:

- Neurobiotin ca. 24 Stunden im Tier diffundieren lassen
- Gewebe in Formaldehyd-Lösung im Kühlschrank über Nacht oder ca. 4 Stunden bei Raumtemperatur fixieren
- Waschen in PBS-Triton-X: 6 mal 10 min
- Inkubieren mit Collagenase 30 min
- Waschen mit PBS: 6 mal 10 min
- CY3-Avidin mindestens 24 Stunden bei Raumtemperatur auf dem Schüttler inkubieren
- Waschen in PBS: 6 mal 10 min
- Dehydrieren je 10 min in: 30%, 50%, 70%, 90%, 98%, 2x 100% Isopropanol
- Aufklaren in Methylsalicylat, am Mikroskop mit Fluoreszenz (Grünfilter) anregen

Anhang C: Erklärung

Rheinische Friedrich-Wilhelms-Universität Bonn
Institut für Zoologie
Poppelsdorfer Schloß
53115 Bonn

Juni, 2007

Erklärung

Hiermit erkläre ich an Eides statt, dass ich für meine Promotion „Vergleichende Untersuchungen zur Neuro- und Verhaltensbiologie infrarotsensitiver pyrophiler Käfer“ keine anderen als die angegebenen Hilfsmittel benutzt habe, und dass die inhaltlich und wörtlich aus anderen Werken entnommenen Stellen und Zitate als solche gekennzeichnet sind.

Eva-Juliane Kreiß