

Entwicklung bionischer Strömungsmessverfahren
basierend auf Untersuchungen des
Seitenliniensystems der Fische

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

vorgelegt von

Hendrik Herzog

aus
Leipzig

Bonn 2016

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

1. Gutachter: Prof. Dr. Horst Bleckmann
2. Gutachter: PD Dr. Joachim Mogdans

Tag der Promotion: 24. Mai 2016

Erscheinungsjahr: 2016

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

Zusammenfassung

Fische und aquatische Amphibien können mit Hilfe des mechanosensitiven Seitenliniensystems selbst kleinste Wasserbewegungen detektieren. Aus diesen Seitenlinieninformationen können Fische die Geschwindigkeit und Richtung großräumiger Wasserströmungen bestimmen. In der vorliegenden Arbeit wird untersucht, ob die Wahrnehmung von Strömungsreizen durch den Wasserstrom der künstlichen Beatmung in den elektrophysiologischen Versuchen, natürliche Atmungsartefakte und die Schwimmbewegungen der Fische beeinträchtigt wird.

Die künstliche Beatmung verursacht komplexe Strömungsfelder und moduliert die neuronale Aktivität primärer und zentraler Seitenlinienneurone, wobei diese Auswirkungen auf Nervenzellen besonders stark ausgeprägt waren, wenn diese ebenfalls eine hohe Sensitivität für großräumige Strömungsreize (bulk flow) zeigten. Die künstliche Beatmung verursachte somit eine Reduktion der Strömungsantwort der Seitenlinienneurone und kann insbesondere bei geringen Strömungsgeschwindigkeiten die Richtungsselektivität der Seitenliniennervenzellen entlang der rostro-caudalen Achse des Fisches maskieren. Bei abgeschalteter künstlicher Beatmung wurden bei einigen primären Afferenzen und Seitenlinienneuronen des medialen octavolateralen Nucleus entgegen den Ergebnissen früherer Arbeiten richtungsspezifische neuronale Antworten gefunden. Eine verstärkte Richtungspräferenz wurde bei der anterioren Seitenlinie festgestellt, welche vermutlich durch die Asymmetrie von Kopf und Rumpf der Fische verursacht wird.

Morphologische Untersuchungen und fluidische Simulationen legen eine Durchströmung anteriorer Kanalabschnitte in Strömung nahe, welche zusätzlich eine Ermittlung des Anströmwinkels frontaler Strömung mit einer Auflösung weniger Winkelgrade ermöglicht. Im Vergleich zu zentralen Neuronen des limnophilen Goldfisches konnte bei Seitenlinienneuronen des medialen octavolateralen Nucleus der Orfe als rheophile Fischart eine Erhöhung des Dynamikbereichs wahrgenommener Strömungen identifiziert werden, die möglicherweise eine neuronale Anpassung an das Strömungshabitat dieser Fischart darstellen könnte.

In Strömung schwimmende Fische bewegen sich ständig. Selbst wenn die Fische sich an einer relativ festen Position aufhalten, sind kleinräumige rostro-caudale Bewegungen (Mikrobewegungen) zu beobachten. Die elektrophysiologischen Untersuchungen an zentralen Seitenlinienneuronen des Hirnstamms bei der Stimulation mit künstlichen Mikrobewegungen deuten auf eine deutliche Überlagerung der wahrgenommenen Wasserströmungen mit diesen Bewegungsartefakten bei in Strömung schwimmenden Fischen hin, welche sowohl die Wahrnehmung der Gleichstromkomponente der Wasserströmung als auch die Detektion der enthal-

tenen Fluktuationenmuster verschlechtern können.

Schwimmverhalten ist energieaufwändig und führt zu einem erhöhten Sauerstoffbedarf, welcher durch eine effiziente Atmung gedeckt werden muss. Hierbei moduliert natürliches Atmen jedoch wie die künstliche Beatmung die neuronale Aktivität von Rumpfseitenliniennervenfaseren. Fische können diese mögliche Beeinträchtigung der Seitenlinienfunktion durch die Wasserbewegung natürlicher Atmung vermeiden, indem sie die Wasserströmung am Rumpf vorbeileiten, die Neuromasten in stark von der Atemwasserströmung beeinflussten Bereichen reduzieren oder ein unregelmäßiges Atemverhalten mit Phasen ohne Atmung und damit ohne selbsterzeugte hydrodynamische Signale zeigen.

Frühere Studien legten nahe, dass Fische die Strömungsgeschwindigkeit und Strömungsrichtung anhand der räumlich-zeitlichen Ausbreitung von mit der Strömung transportierten Fluktuationen bestimmen. Dieser Mechanismus wurde als Vorbild für ein bionisches Messgerät genutzt, das auf künstlichen Kanalneuromasten basiert.

Die Genauigkeit des korrelationsbasierten Strömungsmessverfahrens wird von verschiedenen Parametern der Messanordnung und des strömenden Fluides wie beispielsweise der Periodizität der erzeugten Strömungsfluktuationen beeinflusst. Das bionische Messverfahren profitiert hierbei von aperiodischen Messsignalen, die hohe Frequenzen enthalten. Differenzdrucksensoren sind aufgrund der Unterdrückung von Gleichtaktstörungen wie Vibrationen und Schall gegenüber einfachen Drucksensoren besser zur Abbildung der Druckfluktuationen geeignet, anhand deren die Strömungsgeschwindigkeit ermittelt werden kann. Der Sensorabstand der Messanordnung sollte möglichst gering sein, um eine hohe Ähnlichkeit der Signalverläufe zu erreichen. Eine mechanische Kopplung der Sensoren, beispielsweise über einen gemeinsamen Hauptkanal der Sensoranordnung, sollte hierbei jedoch vermieden werden. Die direkte Durchströmung des Sensorkanals, ermöglicht weiterhin die Detektion sehr geringer Durchflussraten beispielsweise in mikrofluidischen Anwendungen.

Abstract

Fish and aquatic amphibians use the mechanosensory lateral line system to detect weak water motion. In addition, fish can estimate the velocity and direction of bulk water flow by using lateral line information. This thesis examines whether the perception of flow stimuli is impaired by artificial ventilation used in electrophysiological experiments, water motion generated by natural breathing, and by swimming movements.

Artificial ventilation causes a complex flow pattern and modulates the neuronal activity of primary afferents and hydrodynamic brainstem neurons, whereby the impact is strongest for neurons that were also sensitive to bulk water flow. Thus, artificial ventilation can reduce the flow response of lateral line neurons. Especially at low flow velocities, artificial ventilation can mask the direction sensitivity along the rostral-caudal axis of the fish. In contrary to results obtained in former studies, some primary afferents and hydrodynamic brainstem neurons were direction sensitive to bulk water flow when artificial ventilation was switched off. The anterior lateral line compartments showed a stronger directionality that was most likely based on morphological asymmetries of the fish's body and head. Fluidic simulations and morphological investigations revealed that water moved through the anterior lateral line canals within bulk water flow. This may enable fish to detect the rostral-caudal flow direction accurately and to sense angular orientation of the fish relative to the bulk flow direction. In comparison to limnophilic Goldfish, hydrodynamic brainstem neurons in the rheophilic *Ide* showed an extended dynamic range in terms of coding flow velocity indicating a neuronal adaptation to the flow regime *Ide*s are usually exposed to.

Fish swimming in a current are continuously moving. Even when fish are remaining in a constant position, small rostral-caudal movement amplitudes (micro-motions) can be observed. Electrophysiological investigations using artificial micro-motions revealed that motions of swimming fish cause an intense stimulation of the lateral line. These stimulations are superimposed on the hydrodynamic stimulation by bulk water flow and might mask the perception of the directed current component of the bulk flow as well as flow fluctuations.

Swimming behavior is energetically expensive and increases oxygen consumption. This demand can be met by an effective ventilation system. Similar to artificial ventilation, natural breathing modulates the neuronal activity of posterior lateral line fibers. Fish can cope with breathing induced water flow by three independent mechanisms: by directing it away from the body, by reducing neuromasts in areas exposed to ventilation noise and by showing irregular breathing behavior

including periods of non-breathing, which excludes this source of hydrodynamic noise completely.

Former studies suggested that fish estimate the direction and velocity of a current by using the spatial temporal propagation patterns of flow fluctuations superimposed on the directed current component of fluid flow. This mechanism was used as an inspiration for the development of a biomimetic flow metering device featuring artificial canal neuromasts. The accuracy of flow velocity measurements is influenced by various parameters of the device as well as properties of the fluid flow, for example the periodicity of the flow fluctuations that were generated. Such a bio-inspired measuring device benefits from aperiodic flow fluctuations containing high frequencies.

Difference-pressure sensors suppress common mode signals such as sonic waves and vibrations and are therefore more suitable for monitoring the pressure fluctuations used for estimating bulk flow velocity than simple pressure sensors. The distance between the sensors needs to be as small as possible to achieve a high degree of similarity between the waveforms. However, a mechanical coupling of the sensors, for example by using shared canal segments, should be avoided as it increases unfavorable crosstalk between the sensors. Moreover, the bio-inspired sensor can be used to detect small flow rates in a through flow configuration and among others could be applied to microfluidic applications.

Abkürzungsverzeichnis

Abkürzung	Bedeutung (Bemerkung)
AC	Alternating Current (Wechselstrom)
AD	Analog-digital (Signalumwandlung)
AK	Autokorrelation (mathematische Funktion)
AKK	Autokorrelationskoeffizient (Maß für die Selbstähnlichkeit eines Signals)
ALLN	Anterior Lateral Line Nerve (den Kopf innervierend)
CCD	Charge-Coupled Device (pixelbasierter optischer Detektor)
CCL	Crest Cell Layer (Crestzellschicht des MON)
DC	Directed Current (Gleichstrom)
DNp	Deep Neuropil Layer (tiefe Neuropilschicht des MON)
DON	Descending Octavolateral Nucleus (Akustikkerngebiet)
FFT	Fast Fourier Transform (schnelle Fourier Transformation)
FPGA	Field Programmable Gate Array (programmierbare Logikschalter)
fps	Frames Per Second (Bildwiederholrate)
HDI	Histogram Density Index (Entladungsmusterregelmäßigkeit)
HP	Hochpass (zeitliches Filter)
IC	Integrated Circuit (integrierter Schaltkreis)
IF	Instantaneous Frequency (Instantanfrequenz; $IF = 1/ISI$)
ISI	Inter Spike Intervall (Abstand zwischen neuronalen Entladungen)
KB	künstliche Beatmung
KK	Kreuzkorrelation (mathematische Funktion)
KKK	Kreuzkorrelationskoeffizient (Maß für Ähnlichkeit zweier Signale)
KN	Kanalneuromast
ML	Molecular Layer (Molekularschicht des MON)
MON	Medial Octavolateral Nucleus (Seitenlinienkerngebiet)
MW	Mittelwert
ON	Oberflächenneuromast
PIV	Particle Imaging Velocimetry (Messverfahren für Strömungsfelder)
PLLN	Posterior Lateral Line Nerve (rumpffinnervierender Seitenliniennerv)
PSD	Position Sensitive Device (positionsempfindliche Fotodiode)
PSTH	Peri Stimulus Time Histogram (neuronal Aktivität während Stimulation)
rms	Root Mean Square (Effektivwert)
SDI	Signed Directionality Index (relative Richtungsantwort)
SMD	Surface Mounted Device (Oberflächenmontierte elektronische Bauteile)
SMI	Signed Micromotion Index (relative Antwort künstliche Mikrobewegungen)
SFI	Signed Flow Index (relative Strömungsantwort)
SVI	Signed Ventilation Index (relative Antwort künstliche Beatmung)
TP	Tiefpass (zeitliches Filter)
TZ	Transitional Zone (Übergangsschicht des MON)

Inhaltsverzeichnis

1	Allgemeine Einleitung	20
1.1	Das periphere Seitenliniensystem	20
1.2	Das zentrale Seitenliniensystem	24
1.3	Verarbeitung von Strömungsreizen	26
1.4	Konventionelle Strömungsmessverfahren	27
1.5	Bionische Strömungssensoren	32
1.6	Gliederung der Arbeit	34
2	Künstliche Beatmung	36
2.1	Einleitung	36
2.2	Methoden	37
2.2.1	Elektrophysiologische Untersuchungen	37
2.2.2	Künstliche Beatmung	39
2.2.3	Strömungsreize	42
2.2.4	Dipolreize	45
2.2.5	Stimulationsablauf und Datenanalyse	47
2.3	Ergebnisse	54
2.3.1	Beeinflussung der neuronalen Aktivität primärer Afferenzen von <i>Leuciscus idus</i> und <i>Carassius auratus</i>	55
2.3.2	Beeinflussung der neuronalen Aktivität im MON von <i>L. idus</i> und <i>C. auratus</i>	73
2.4	Diskussion	86
3	Natürliche Atmung	93
3.1	Einleitung	93
3.2	Methoden	95
3.2.1	Elektrophysiologie	95
3.2.2	Visualisierung natürlicher Atemströmung	95
3.2.3	Morphologie der peripheren Seitenlinie	96

3.2.4	Morphologie des Atmungsapparates	96
3.2.5	Atemverhalten frei schwimmender Fische	96
3.3	Ergebnisse	97
3.4	Diskussion	103
4	Strömungswahrnehmung	109
4.1	Einleitung	109
4.2	Methoden	111
4.2.1	Elektrophysiologische Ableitungen	111
4.2.2	Strömungsstimulation	111
4.2.3	Analyse der elektrophysiologischen Ableitungen	111
4.2.4	Morphologie der peripheren Seitenlinie	112
4.3	Ergebnisse	112
4.3.1	Neuronale Antworten primärer Afferenzen auf großräumige Strömungsreize	114
4.3.2	Neuronale Antwort der MON-Neurone auf großräumige Strömungsreize	118
4.3.3	Untersuchung der Richtungsselektivität primärer Afferenzen und Neurone des MON	123
4.3.4	Beeinflussung der Richtungsselektivität durch künstliche Beatmung	134
4.3.5	Morphologie der anterioren Seitenlinie von <i>Leuciscus idus</i> .	136
4.4	Diskussion	143
5	Mikrobewegungen	154
5.1	Einleitung	154
5.2	Methoden	155
5.2.1	Videoanalysen des Schwimmverhaltens	155
5.2.2	Künstliche Mikrobewegungen	157
5.2.3	Stimulationsprotokoll und Datenanalyse	159
5.3	Ergebnisse	162
5.3.1	Analyse des Schwimmverhaltens	162
5.3.2	Künstliche Mikrobewegungen	168
5.4	Diskussion	180
6	Einfluss der Fluktuationen	185
6.1	Einleitung	185
6.2	Methoden	186

6.2.1	Hydrodynamische Messungen	186
6.2.2	Simulation der lokalen Strömungsgeschwindigkeit in Sen- sornähe	188
6.2.3	Künstlich erzeugte Signalformen	188
6.3	Ergebnisse	189
6.3.1	Hydrodynamische Messungen	189
6.3.2	Kreuz- und Autokorrelationen künstlich erzeugter Signal- formen	197
6.4	Diskussion	199
7	Optimierung des Messverfahrens	202
7.1	Einleitung	202
7.2	Methoden	203
7.2.1	Aufbau des Luftströmungssensors	203
7.2.2	Strömungserzeugung und Messkonfiguration	205
7.2.3	Datenanalyse	206
7.2.4	Filterwirkung bei künstlich erzeugten Signalformen	208
7.3	Ergebnisse	208
7.3.1	Zeitliche Filterung künstlich erzeugter Signalformen	208
7.3.2	Einfluss der Differenzierung benachbarter Sensoren und des Messintervalls	211
7.3.3	Einfluss des Sensorabstandes und der Sensorposition auf die Strömungsgeschwindigkeitsbestimmung	213
7.3.4	Auswirkung zeitlicher Filter auf die Geschwindigkeitsmes- sung mittels Kreuzkorrelation	219
7.4	Diskussion	224
8	Sensoranwendungen	227
8.1	Einleitung	227
8.2	Methoden	228
8.2.1	Optimierung des optischen Auslesevorgangs und elektroni- sche Messwerterfassung	228
8.2.2	Frequenzcharakterisierung der Strömungssensoren	233
8.2.3	Durchflussratenbestimmung in Rohrleitungen (Vorstudie)	235
8.2.4	Durchflussratenbestimmung in Rohrleitungen (Firma Hy- drometer)	237
8.2.5	Bestimmung der Kanalströmungsgeschwindigkeit bei direk- tem Durchströmen der künstlichen Kanalneuromasten	238

8.3	Ergebnisse	239
8.3.1	Vorstudie zur Durchflussratenbestimmung in Rohrleitungen	239
8.3.2	Mikrosystemtechnologische Strömungssensoren in industri- enaher Anwendung	245
8.3.3	Bestimmung der Durchflussrate bei direktem Durchströ- men des Sensorkanals	251
8.4	Diskussion	254
9	Smarter Mechanischer Dipol	262
9.1	Einleitung	262
9.2	Methoden	263
9.2.1	Konstruktion des Smarten Mechanischen Dipols	263
9.2.2	Messanordnung	265
9.3	Ergebnisse	266
9.4	Diskussion	269
10	Allgemeine Diskussion	271
10.1	Zusammenfassung der Ergebnisse	271
10.2	Intrinsische Heterogenität der Seitenlinie	272
10.3	Adäquate Stimulation der mechanosensitiven Seitenlinie	276
10.4	Bionische Übertragung	278

Abbildungsverzeichnis

1.1	Das periphere Seitenliniensystem	22
1.2	Anatomischer Aufbau des medialen octavolateralen Nukleus (MON)	25
2.1	Künstliche Beatmung der Versuchstiere während der elektrophysiologischen Versuche	41
2.2	Erzeugung der hydrodynamischen Stimulationen	43
2.3	Charakterisierung der Strömungsstimulation mittels PIV	44
2.4	Kalibrierung der mechanischen Dipolreize	47
2.5	Stimulationsablauf bei der Untersuchung des Einflusses der künstlichen Beatmung im Stillwasser und in Strömung	48
2.6	Entladungsmuster und zugehörige HDI-Werte	50
2.7	Durch künstliche Beatmung verursachte Wasserströmung bei <i>Leuciscus idus</i> und <i>Carassius auratus</i>	54
2.8	Neuronale Aktivität einer PLLN-Faser von <i>Leuciscus idus</i> im Stillwasser	56
2.9	Einfluss der künstlichen Beatmung auf die mittleren Entladungsraten primärer Afferenzen im Stillwasser	57
2.10	Einfluss künstlicher Beatmung auf die relative neuronale Aktivität primärer Afferenzen im Stillwasser	58
2.11	Clusteranalyse der relativen Änderungen der neuronalen Aktivität primärer Afferenzen in Abhängigkeit der künstlichen Beatmung	59
2.12	Einfluss der künstlichen Beatmung im Stillwasser auf das Entladungsmuster primärer Afferenzen mit geringer relativer Entladungsratenänderung	60
2.13	Einfluss der künstlichen Beatmung auf die Entladungsrate der primären Afferenzen im Stillwasser und bei Stimulation mit Strömung	61
2.14	Neuronale Antwort auf künstliche Beatmung und Strömungssensitivität primärer Afferenzen	63

2.15 Clusteranalyse der relativen Strömungsantwort der primären Afferenzen für alle getesteten Stimulationen	64
2.16 Maskierung der Strömungsantwort der primären Afferenzen durch die künstliche Beatmung	65
2.17 Relative Antwort primärer Afferenzen auf künstliche Beatmung und Neuromastenposition	66
2.18 Dipolantworttyp-A (Hochpass)	67
2.19 Antwort einer Seitenliniennervenfaser des Dipolantworttyp-A (Hochpass) auf Dipolreize mit und ohne künstliche Beatmung	68
2.20 Dipolantworttyp-B (Bandpass)	69
2.22 Dipolantworttyp C (Dipolfrequenz)	69
2.21 Antwort einer Seitenliniennervenfaser des Dipolantworttyp-B (Bandpass) auf Dipolreize mit und ohne künstliche Beatmung	70
2.23 Dipolantworttyp D (keine Antwort)	71
2.24 Kodieren der künstlichen Beatmung durch die An/Aus-Antwort einer PLLN-Faser in <i>Leuciscus idus</i>	72
2.25 Effekte der künstlichen Beatmung auf die mittleren Entladungsraten der MON-Neuronen von <i>L. idus</i> und <i>C. auratus</i> im Stillwasser	73
2.26 Relative Effekte der künstlichen Beatmung auf die neuronale Aktivität der MON-Neurone von <i>L. idus</i> und <i>C. auratus</i> im Stillwasser	75
2.27 Einfluss der Ableittiefe der MON-Neurone auf den relativen Einfluss der KB auf die neuronale Aktivität (SVI) im Stillwasser bei <i>L. idus</i> und <i>C. auratus</i>	76
2.28 Clusteranalyse der relativen Änderungen der neuronalen Aktivität der MON-Neurone in Abhängigkeit der künstlichen Beatmung (SVI)	77
2.29 Einfluss künstlicher Beatmung im Stillwasser auf das Entladungsmuster der MON-Neurone mit geringer Entladungsratenänderung bei <i>L. idus</i> und <i>C. auratus</i>	78
2.30 Relative Antwort auf künstliche Beatmung im Stillwasser für <i>Leuciscus idus</i> und <i>Carassius auratus</i>	79
2.31 Relativer Einfluss der künstlichen Beatmung auf die Entladungsraten der MON-Neurone im Stillwasser und bei Stimulation mit Strömung	80
2.32 Zweifaktorielle Clusteranalyse der MON-Neurone basierend auf den relativen Beatmungsantworten im Stillwasser und den relativen neuronalen Antworten aller präsentierten Strömungsreize	81

ABBILDUNGSVERZEICHNIS	13
2.33 Antwort auf künstliche Beatmung und Strömungssensitivität der MON-Neurone	82
2.34 Maskierung der Strömungsantwort der MON-Neurone durch die künstliche Beatmung	84
2.35 Kodieren der künstlichen Beatmung durch die An/Aus-Antwort eines MON-Neurons in <i>Carassius auratus</i>	85
3.1 Morphologie der Kiemen und des Kiemendeckels bei <i>Leuciscus idus</i> und <i>Carassius auratus</i>	97
3.2 Durch jeweils vier aufeinanderfolgende Atemzyklen erzeugte Wasserbewegung bei <i>Leuciscus idus</i> und <i>Carassius auratus</i>	98
3.3 Neuromastenverteilung auf der Fischeoberfläche bei <i>Carassius auratus</i> , <i>Leuciscus idus</i> und <i>Oncorhynchus mykiss</i>	99
3.4 Einfluss natürlicher Atmung auf die neuronale Aktivität von vier PLLN-Fasern bei <i>Carassius auratus</i>	100
3.5 Atemmuster einer frei atmenden, jedoch fixierten Orfe (<i>Leuciscus idus</i>)	101
3.6 Atemintervalllänge freischwimmender Fische	102
4.1 Anzahl der präsentierten Strömungsreize pro primäre Afferenz bzw. MON-Neuron	113
4.2 Stärke der neuronalen Antworten primärer Afferenzen bei Stimulation mit großräumiger Strömung	115
4.3 Stärke der neuronalen Antwort der MON-Neurone von <i>L. idus</i> und <i>C. auratus</i> bei Stimulation mit großräumiger Strömung	122
4.4 Richtungsselektivität einer Seitenliniennervenfasern des PLLN von <i>Leuciscus idus</i>	124
4.5 Richtungsselektivität einer weiteren Seitenliniennervenfasern des PLLN von <i>Leuciscus idus</i>	125
4.6 Richtungsselektivität eines MON-Neurons von <i>Carassius auratus</i> .	126
4.7 Richtungsselektivität eines MON-Neurons von <i>Leuciscus idus</i> . . .	127
4.8 Qualitative Richtungssensitivität anteriorer und posteriorer Seitenlinienanteile für verschiedene absolute Geschwindigkeiten . . .	130
4.9 Richtungspräferenz der anterioren und posterioren primären Afferenzen und MON-Neurone für unterschiedliche Strömungsgeschwindigkeiten	132
4.10 Präferenz für rostro-caudale und caudo-rostrale Strömungsrichtungen bei der anterioren und posterioren Seitenlinie	134

4.11	Beeinflussung der Richtungsselektivität primärer Afferenzen und MON-Neurone durch künstliche Beatmung	135
4.12	Schematische Darstellung der Kopfkanäle von <i>Leuciscus idus</i> . . .	137
4.13	Kopfkanalsystem von <i>Leuciscus idus</i>	138
4.14	Visualisierung der Kopfkanäle bei frontaler Ansicht und unterschiedlichen medio-lateralen und dorso-ventralen Kopfdrehwinkeln	140
4.15	Gegenüberstellung des vereinfachten Kopfkanalmodells mit dem Prandlerrohr	141
4.16	Zweidimensionale Simulation der Fluidbewegung in Kopfnähe bei unterschiedlichen Anströmwindeln	142
4.17	Richtungsselektivität anteriorer primärer Afferenzen aus Chagnaud et al. 2008a	150
5.1	Versuchsaufbau zur Generierung künstlicher Mikrobewegungen . .	158
5.2	Charakterisierung künstlich erzeugter Mikrobewegungen	159
5.3	Zeitlicher Ablauf der Stimulation mit künstlichen Mikrobewegungen und Datenanalyse	160
5.4	Geschwindigkeit und Position von <i>Oncorhynchus mykiss</i> in quasilaminarer Strömung mit 19 cm/s	164
5.5	Verteilung der rostro-caudalen Schwimmgeschwindigkeiten von <i>Oncorhynchus mykiss</i> in quasilaminarer Strömung.	165
5.6	Position von <i>Leuciscus idus</i> in quasilaminarer Strömung	166
5.7	Mikrobewegungen eines in der Strömung schwimmenden Versuchstieres (<i>Leuciscus idus</i>)	167
5.8	Originalaufnahme eines MON-Neurons bei Stimulation mit künstlichen Mikrobewegungen	169
5.9	Zeitliches Entladungsverhalten von vier MON-Neuronen bei Stimulation mit künstlichen Mikrobewegungen	172
5.10	Neuronale Antwort der 16 abgeleiteten Neurone auf künstliche Mikrobewegungen im Stillwasser und in rostro-caudaler Strömung . .	176
5.11	Gruppierung der neuronalen Antworten auf die künstlichen Mikrobewegungen anhand relativer Ratenänderung und Synchronitätskoeffizient R	177
5.12	Zeitliche Abbildung künstlicher Mikrobewegungen	178
5.13	Zeitliche Antwortmuster von MON-Neuronen während künstlicher Mikrobewegungen	179
5.14	Nutzung der Mikrobewegungen zum Beibehalten der absoluten rostro-caudalen Position	183

6.1	Versuchsaufbau zur Erzeugung unterschiedlicher Fluktuationenmuster	187
6.2	Hydrodynamische Parameter der Konfiguration 1	190
6.3	Hydrodynamische Parameter der Konfiguration 2	192
6.4	Hydrodynamische Parameter der Konfiguration 3	193
6.5	Hydrodynamische Parameter der Konfiguration 4	195
6.6	Hydrodynamische Parameter der vier Konfigurationen bei verschie- denen Strömungsgeschwindigkeiten	196
6.7	Korrelation künstlich erzeugter Signalformen.	198
7.1	Mechanischer und elektrischer Aufbau des Gasströmungssensors .	204
7.2	Versuchsaufbau zur Erzeugung und Messung der Luftströmung . .	206
7.3	Erzeugung der Komplexsignale zur Untersuchung der Auswirkung unterschiedlicher zeitlicher Filter auf die Kreuzkorrelation	209
7.4	Simulierter Einfluss verschiedener zeitlicher Filter auf die Kreuz- korrelation	211
7.5	Einfluss der Differenzierung benachbarter Sensoren auf die Ge- schwindigkeitsmessung mittels Kreuzkorrelation	212
7.6	Einfluss der Länge des Messintervalls auf die Kreuzkorrelationsma- xima und die prozentualen Messfehler	213
7.7	Einfluss des Abstandes zwischen den beiden zur Kreuzkorrelation genutzten Sensoren auf die Kreuzkorrelationsmaxima und die pro- zentualen Messfehler	214
7.8	Einfluss der Position benachbarter Sensorenpaare innerhalb der Sensoranordnung auf die Kreuzkorrelationsmaxima und die pro- zentualen Messfehler	215
7.9	Einfluss der Lüfterspannung auf die mittels Drucksensoren be- stimmten Kreuzkorrelationsmaxima und die prozentualen Messfehler	217
7.10	Einfluss der Lüfterspannung auf die mittels virtueller Differenz- drucksensoren bestimmten Kreuzkorrelationsmaxima und prozen- tualen Messfehler	219
7.11	Auswirkung von Hoch- und Tiefpassfilterung auf Kreuzkorrelation der Drucksensorkonfiguration	220
7.12	Auswirkung von Hoch- und Tiefpassfilterung auf Kreuzkorrelation der Differenzdrucksensorkonfiguration	222
8.1	Ausleseverfahren zur Detektion der Lamellenbewegung	229
8.2	Entwicklung der zur Detektion der Lamellenverbiegung genutzten Ausleseelektronik	231

8.3	Mikrosystemtechnologische Herstellung des bionischen Strömungssensors	232
8.4	Integration der mikrosystemtechnologisch hergestellten Strömungssensoren und der Ausleseelektronik in einem gemeinsamen Gehäuse	232
8.5	Sensorcharakterisierung mittels vibrierender Kugel	234
8.6	Ermittlung von Durchflussraten in einer Rohrleitung (Vorstudie) .	236
8.7	Versuchsaufbau zur Erprobung der mikrosystemtechnologisch hergestellten Strömungssensoren in industrienaher Anwendung	238
8.8	Versuchsaufbau zur direkten Durchströmung des Sensorkanals . .	239
8.9	Zeitlich verzögerte Signale in Rohrleitungen	240
8.10	Mittels vier künstlicher Kanalneuromasten bei vier Durchflussraten ermittelte Signalverzögerungen	241
8.11	Skalierte Durchflussraten für unterschiedliche Abstände der zur Kreuzkorrelation genutzten Sensoren	243
8.12	Errechnete Durchflussraten bei unterschiedlichen Sensorabständen für Referenzdurchflussraten von 0 bis 797 l/h	244
8.13	Durchflussratenbestimmung durch das bionische Strömungsmessgerät	245
8.14	Signalverläufe der mikrosystemtechnologischen Sensoren im Messstand der Firma Hydrometer	246
8.15	Kreuzkorrelationsfunktionen der Mikrosystemtechnologischen Sensoren	247
8.16	Skalierte Durchflussraten für unterschiedliche zur Kreuzkorrelation genutzte mikrosystemtechnologische Sensorpaare	249
8.17	Errechnete Durchflussraten bei unterschiedlichen mikrotechnologischen Sensorpaaren für Referenzdurchflussraten von 500 bis 4066 l/h	250
8.18	Durchflussratenbestimmung durch das mikrosystemtechnologische Strömungsmessgerät	251
8.19	Sensorsignale bei direktem Durchströmen des mikrosystemtechnologischen Strömungssensors	252
8.20	Bestimmung mikrofluidischer Durchflussraten bei direktem Durchströmen	253
8.21	Mechanisches Übersprechen innerhalb der Sensoranordnung	256
8.22	DC-Durchströmung im Messstand von Hydrometer bei einer Durchflussrate von 4066 l/h	258
9.1	Schaltplan des Smarten Mechanischen Dipols	264
9.2	Mechanische Konstruktion des Smarten Mechanischen Dipols . . .	265

9.3	Testbedingungen für die Erprobung des Smarten Mechanischen Dipols mit kapazitivem Wegaufnehmer und Hydrofon.	266
9.4	Überprüfung des Smarten Mechanischen Dipols mit einem frequenzmodulierten Signal	267
9.5	Überprüfung des Smarten Mechanischen Dipols mit konstanten Sinusreizen	268
10.1	Sensorausgangssignal eines kommerziell erhältlichen Differenzdruck-sensors bei Stimulation mit vibrierender Kugel	280

Tabellenverzeichnis

1.1	Beispielhafte Übersicht auf dem Markt befindlicher Durchflusssensoren	30
2.1	Beatmungssensitivität der Fasern und Stärke der Strömungsantwort	64
2.2	Dipolantwort und Sensitivität für künstliche Beatmung	71
3.1	Mögliche Anpassung zur Vermeidung der Beeinflussung der Seitenlinienfunktion durch Atemwasserströmung bei <i>Carassius auratus</i> , <i>Leuciscus idus</i> und <i>Oncorhynchus mykiss</i> unter Berücksichtigung der jeweiligen Lebensweise	104
4.1	Anzahl der Ableitungen für die Ableitorte und absoluten Geschwindigkeiten der getesteten Reizpaare	123
4.2	Verteilung der Richtungsantwortverhalten für die getesteten Reizpaare und die Ableitpositionen	129
5.1	Mittlere Entladungsraten der 16 abgeleiteten Neurone für Stillwasser, Mikrobewegung in Stillwasser, Strömung, Mikrobewegung in Strömung, Wiederholung Stillwasser und Wiederholung Mikrobewegung in Stillwasser	171
5.2	Synchronitätskoeffizienten R der 16 abgeleiteten Neurone für Mikrobewegung in Stillwasser, Mikrobewegung in Strömung und Wiederholung der Mikrobewegung in Stillwasser sowie der Zeitpunkt des mittleren Maximums der Entladung relativ zum Beginn der künstlichen Mikrobewegungen	174
6.1	Unterschiede der in den vier Konfigurationen ermittelten hydrodynamischen Parameter	197
7.1	Einfluss der Lüfterspannung auf die Kreuzkorrelation der Drucksensorkonfiguration	216

7.2	Einfluss der Lüfterspannung auch die Kreuzkorrelation der Differenzdrucksensoren	218
7.3	Mediane und Mittelwerte der Kreuzkorrelationskoeffizienten und prozentualen Messfehler für alle Geschwindigkeiten der Drucksensoren	221
7.4	Mediane und Mittelwerte der Kreuzkorrelationskoeffizienten und prozentualen Messfehler für alle Geschwindigkeiten der Differenzdrucksensoren	223
8.1	Anteil der errechneten Durchflussraten außerhalb des Bereiches von 0 bis 2000 l/h für unterschiedliche Sensorabstände	242
8.2	Anteil der errechneten Durchflussraten außerhalb des Bereiches von 0 bis 10000 l/h für unterschiedliche Sensorpaare	248

Kapitel 1

Allgemeine Einleitung

Fische und aquatische Amphibien können mit dem mechanosensitiven Seitenliniensystem kleine, von verschiedenen biologischen und abiotischen Quellen verursachte, Wasserbewegungen wahrnehmen (Dijkgraaf 1933; Bleckmann 2008). Das Seitenliniensystem ist an einer Reihe von Verhaltensweisen wie beispielsweise energieeffizienter Bewegung in Wasserströmung (Liao et al. 2003; Liao 2006, 2007; Bleckmann et al. 2012b), Beutefang (Blaxter & Fuimann 1989; New et al. 2001; Franosch et al. 2003), Räubervermeidung (Dijkgraaf 1962; Dill 1974; Faber et al. 1989), Rheotaxis (Montgomery et al. 1997; Voigt et al. 2000; Kanter & Coombs 2003) und Schwarmverhalten (Pitcher 1979; Partridge & Pitcher 1980) wie auch der innerartigen Kommunikation (Satou et al. 1994) beteiligt. Mit Hilfe der mechanosensitiven Seitenlinie können zusätzlich neuronale Karten der hydrodynamischen Umgebung erstellt (Hassan 1989; de Perera 2004) und im Wasser befindliche Hindernisse erkannt werden (von Campenhausen et al. 1981; Teyke 1985, 1988). Vergleichbare Anforderungen werden auch an autonom navigierende Unterwasserroboter, passive Sonarsysteme oder Fluiddurchflusssensoren gestellt, worin ein steigendes Interesse an bionischen Sensoren und intelligenten Analyseverfahren begründet ist (Übersichten beispielsweise in Coombs 2001; Colgate & Lynch 2004; Yang et al. 2006; Yan et al. 2009).

1.1 Das periphere Seitenliniensystem

Die sensorischen Einheiten des mechanosensitiven Seitenliniensystems sind die Neuromasten. Bis zu mehrere hundert Neuromasten befinden sich auf einer Fischkörperseite auf dem Kopf, dem Rumpf und auf der Schwanzflosse (beispielsweise Schmitz et al. 2008; Beckmann et al. 2010). Ein Neuromast wird von Haarsinneszellen, Mantelzellen und Stützzellen gebildet (Münz 1979), welche von einer

gallertartigen Cupula bedeckt sind (Flock 1971, Abb. 1.1A). Haarsinneszellen sind empfindliche Mechanorezeptoren, die durch ihren polaren Aufbau aus bis zu 150 Stereovilli und einem verlängerten Kinozilium am Rand der Haarsinneszelle richtungssensitiv auf mechanische Auslenkungen im Bereich weniger nm reagieren (beispielsweise Hudspeth & Corey 1977, Übersichten in Hudspeth 1983; Kroese & van Netten 1989). Die Cupula verstärkt die Scherung der Haarsinneszellen durch die Fluidbewegung und fügt nichtlineare Filtereigenschaften hinzu (McHenry et al. 2008; van Netten 2006). Innerhalb eines von der Cupula bedeckten Neuromasten sind die Haarsinneszellen längs einer Vorzugsachse mit größter Sensitivität in zwei entgegengesetzten Orientierungen angeordnet (Flock 1971). Die Auslenkung der Cupula entlang der Achse größter Sensitivität führt bei einer Hälfte der Haarsinneszellen zu einer Depolarisation, bei der spiegelbildlich ausgerichteten Haarzellenpopulation jedoch zu einer Hyperpolarisation (Görner 1963; Bauknight et al. 1976). Jeweils eine afferente Nervenfasern innerviert eine der beiden Haarzellpopulationen (Görner 1963; Faucherre et al. 2009, Abb. 1.1A), was zu einer Richtungsselektivität des Neuromasten gegenüber Auslenkungen der Cupula durch Fluidbewegung entlang seiner Vorzugsachse führt (Flock 1965; Kroese & van Netten 1989). Die Seitenliniennervenfasern (primären Afferenzen) sind spontanaktiv (Görner 1963; Trapani & Nicolson 2011), wobei die Entladungsrate der Nervenfasern stark variieren kann (Münz 1989; Mogdans & Bleckmann 1999) und vermutlich von der Anzahl der Haarsinneszellen innerhalb der innervierten Neuromasten abhängt (Übersichten in Bleckmann 1994, Kroese & Schellart 1992). Orthogonal zur Vorzugsrichtung gerichtete Fluidbewegungen führen zu wesentlich geringeren neuronalen Antworten als Fluidbewegung entlang der Vorzugsrichtung der Neuromasten (Class et al. 1993; Class & Münz 1996, Übersicht in Bleckmann 1994). Die Verringerung oder die Erhöhung der Entladungsrate der afferenten Nervenfasern ermöglicht somit die neuronale Kodierung von Richtung und Stärke der durch Fluidbewegung hervorgerufenen Neuromastenauslenkung (Görner 1963). Die auf dem Kopf befindlichen Neuromasten werden vom anterioren Seitenliniennerv (ALLN) und die auf dem Rumpf befindlichen Neuromasten vom den posterioren Seitenliniennerv (PLLN) innerviert. Zusätzlich projizieren efferente Nervenfasern zu den Neuromasten (Hama 1965; Flock & Russell 1976; Hama & Yamada 1977). Die Funktion und Wirkungsweise dieser Rückkopplungsschleife aus dem Zentralnervensystem ist bisher nur unzureichend verstanden. Die wenigen vorhandenen Arbeiten deuten auf eine Inhibierung der afferenten Nervenfasern durch die Efferenzen, die durch motorneuronale Aktivität sowie visuelle und octavolaterale Stimulation hervorgerufen werden kann (Späth & Schweickert

1975; Russell & Roberts 1972; Russell 1971; Russell & Roberts 1974; Russell 1976; Tricas & Highstein 1991).

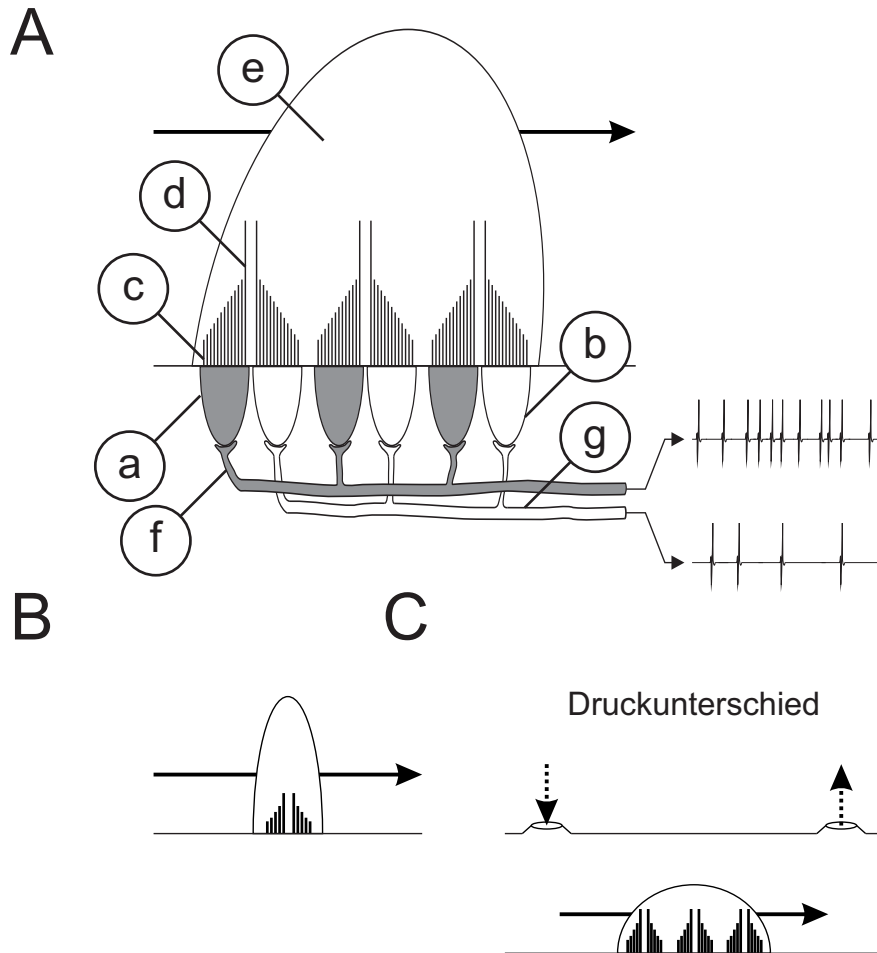


Abbildung 1.1: **Das periphere Seitenliniensystem.** **A:** Vergrößerte Darstellung eines einzelnen ausgelenkten Neuromasten. Gezeigt sind Haarsinneszellenpopulationen (a, b) mit Stereovilli (c) und Kinocilien (d), Cupula (e), afferente Nervenfasern (f, g) mit neuronalen Impulsen (rechts). **B:** Oberflächenneuromasten kodieren die Geschwindigkeitskomponente der Strömung an der Fischeoberfläche. **C:** Kanalneuromasten reagieren auf Fluidbewegung innerhalb des Kanals, die durch Druckunterschiede an den Poren verursacht werden. Massive Pfeile zeigen Fluidbewegung an, gestrichelte Pfeile entsprechen dem Druck, der auf die Kanalporen einwirkt. Verändert nach Bleckmann et al. 2004.

Die meisten Fischarten besitzen auf der Fischhaut lokalisierte Oberflächenneuromasten (Abb. 1.1B) und in Hautkanälchen eingesenkte Kanalneuromasten (Übersicht beispielsweise in Webb 2013, Abb. 1.1C). Die Oberflächenneuromasten (ON) ragen in das umgebende Wasser und detektieren dessen Geschwindigkeitskomponente (Kalmijn 1988). Änderungen der Geschwindigkeit des den Fisch umgebenden Wassers können Druckgradienten entlang der Fischeoberfläche verursachen. Das Kanalsystem transformiert diese Druckgradienten zwischen benachbarten Poren in eine Fluidströmung innerhalb des Kanals, welche die zu-

meist zwischen zwei benachbarten Poren befindlichen Kanalneuromasten (KN) auslenkt. Die KN kodieren somit die Beschleunigungskomponente des umgebenden Wassers (Kalmijn 1988). Die KN und ON werden von separaten primären Afferenzen innerviert (Münz 1985), wodurch die funktionelle Trennung der beiden Neuromastentypen bei der Signalweiterleitung erhalten bleibt. Eine primäre Afferenz kann auch die Haarsinneszellenpopulationen mehrerer ON mit vergleichbarer räumlicher Ausrichtung innervieren (Görner 1963; Münz 1979), wohingegen eine derartige konvergente Verschaltung bei den KN nicht nachgewiesen wurde. Das Seitenliniensystem weist insbesondere im Frequenzbereich von 1 bis 100 Hz eine hohe Sensitivität gegenüber Fluidbewegungen und Druckgradienten im umgebenden Medium auf (Übersicht in Bleckmann 2008).

Primäre Afferenzen, die ON oder KN innervieren, unterscheiden sich bezüglich ihrer neuronalen Antwort auf Dipolreize (Kroese & Schellart 1992; Engelmann et al. 2002) und großräumige Wasserströmung (Engelmann et al. 2002). Bezüglich der Frequenzabstimmung und der frequenzabhängigen Phasenverschiebung der neuronalen Antwort relativ zur Dipolbewegung wurden bei ON und KN unterschiedliche Antwortmuster festgestellt (Kroese & Schellart 1992). Sowohl Kroese & Schellart (1992) wie auch Engelmann et al. (2002) konnten innerhalb der primären Afferenzen zwei distinkte Populationen ausmachen, welche bei der neuronalen Kodierung des Dipolphasenwinkels einen Unterschied von 90° aufwiesen. Dieser Phasenversatz entspricht den ebenfalls um 90° phasenverschobenen Geschwindigkeits- und Beschleunigungskomponenten des verwendeten Dipolreizes (Kalmijn 1988). Wurde zusätzlich zu den Dipolreizen eine Hintergrundströmung präsentiert, reagierten die ON aufgrund ihrer exponierten Lage auf der Fischeoberfläche stärker auf die großräumige Strömung als die KN und konnten die Dipolsignaturen weniger gut kodieren (Engelmann et al. 2000, 2002). Im Gegensatz dazu waren die weniger strömungssensitiven KN auch bei vorhandener Hintergrundströmung noch in der Lage, schwache Dipolsignaturen deutlich abzubilden (Engelmann et al. 2002).

Die beiden Neuromastentypen sind an bestimmten Verhaltensweisen unterschiedlich stark beteiligt. Beispielsweise wird die Beuteerkennung und die Annäherung bei *Cottus bairdi* (Lake Michigan Mottled Sculpin) primär von den KN vermittelt (Coombs et al. 2001), insbesondere wenn eine zusätzliche Rauschquelle wie eine großräumige Hintergrundströmung vorhanden ist (Kanter & Coombs 2003). Rheotaktisches Verhalten, die Ausrichtung zur Strömung, wird hingegen überwiegend durch die ON vermittelt (Montgomery et al. 1997; Baker & Montgomery 1999a,b). In der Arbeit von Montgomery et al. (1997) wurde das Kanalsys-

tem mittels Gentamycin pharmakologisch ausgeschaltet, wobei die Versuchstiere sich dennoch gegen die Strömung ausrichten konnten. Spätere Arbeiten von van Trump et al. (2010) zeigen jedoch, dass Gentamycin sowohl ON wie auch KN blockieren kann, wodurch die exklusive Beteiligung der Seitenlinie an der Rheotaxis teilweise angezweifelt wird (van Trump & McHenry 2013). Die Selektivität von Gentamycin und vergleichbaren Pharmaka scheint nach den Arbeiten von Brown et al. (2011) jedoch konzentrationsabhängig zu sein, womit weder die exklusive Beteiligung der Seitenlinie an der Rheotaxis ausgeschlossen werden kann (van Trump & McHenry 2013), noch die fehlende Beteiligung der KN an der Orientierung in Strömung (Montgomery et al. 1997) gesichert ist.

Die physiologischen und biophysikalischen Arbeiten implizieren eine aufgabenabhängige Spezialisierung der peripheren Seitenlinie. Bestimmte sensorische Anforderungen haben daher vermutlich auch morphologischen Optimierungen, wie beispielsweise komplexe Kanalstrukturen zur Verbesserung des Signalrauschabstands (Klein et al. 2013), bedingt (Übersicht in Coombs et al. 1988).

1.2 Das zentrale Seitenliniensystem

Die Seitenlinieninformationen werden über die primären Afferenzen von den Neuromasten in den ipsilateralen Hirnstamm geleitet, wo sie den medialen octaolateralen Nukleus (MON) als erste zentrale Verarbeitungsstation erreichen. Durch Variationen des Faserdurchmessers der primären Afferenzen wird erreicht, dass trotz unterschiedlicher Entfernung der Neuromasten vom Gehirn und damit einhergehenden unterschiedlichen Faserlängen die Signale zeitgleich im Hirnstamm eintreffen (Schellart & Kroese 2002). Der MON gliedert sich nach New et al. (1996) in das tiefe Neuropil (DNp), die Crestzellschicht (CCL), die Molekularschicht (ML) und die Übergangszone (TZ) zwischen CCL und ML (Abb. 1.2). Die primären Afferenzen werden im tiefen DNp auf zentrale Neurone verschaltet, deren Soma und Axone überwiegend in der CCL liegen. Die aufsteigenden Nervenfasern verlassen den MON aus der CCL und projizieren primär mit kontralateraler Dominanz in den ipsi- und contralateralen Torus semicircularis (TS) im Mesencephalon und die dorsalen Teile des Tectum opticums. Die Seitenlinieninformationen werden anschließend über das Diencephalon in spezialisierte Kerngebiete des Telencephalons geleitet. Die apikalen Dendriten der Crestzellschicht ragen teilweise in die ML, wodurch absteigende Nervenbahnen aus dem Cerebellum und Mesencephalon auf die Verarbeitung im MON zurückwirken können. Zusätzlich entspringen im tiefen Neuropil efferente Nervenfasern, welche auf die Neuromas-

ten zurückverschaltet sind. Die zentrale Verarbeitung von Seitenlinieninformation ist, insbesondere im Vergleich zu den gut untersuchten Kodierungseigenschaften der Neuromasten und der primären Afferenzen, noch unzureichend verstanden.

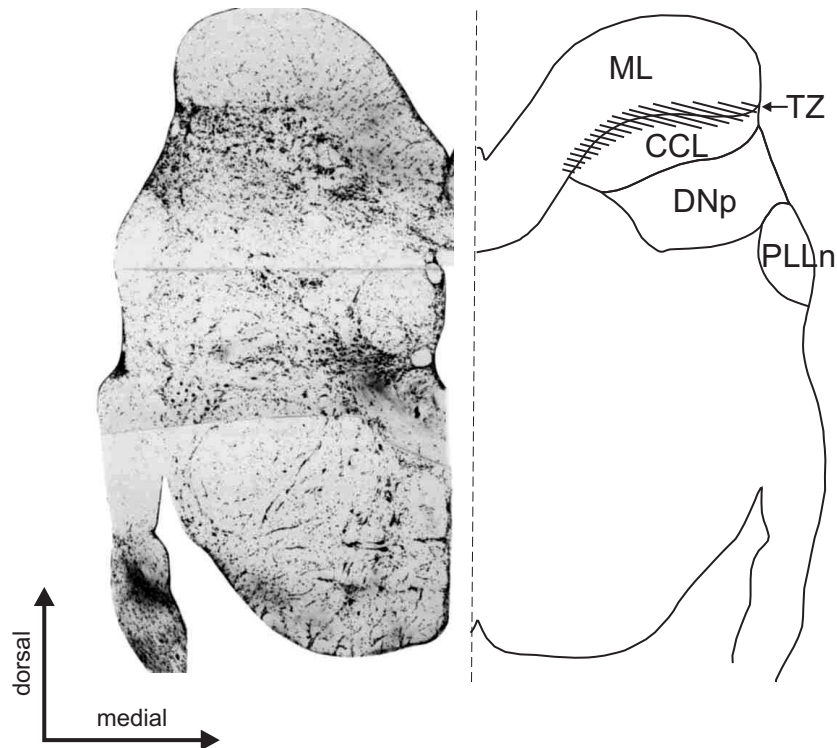


Abbildung 1.2: **Anatomischer Aufbau des medialen octavolateralen Nukleus (MON).** **Links:** Cresyl-Violett gefärbter Querschnitt des Hirnstamms von *C. auratus* am Eintrittspunkt des posterioren Seitenliniennervs. **Rechts:** schematische Darstellung an der Weiterleitung und Verarbeitung von Seitenlinieninformationen beteiligter Hirnstammkerne. ML - Molekularschicht (Molecular Layer), TZ - Übergangsschicht (Transitional Zone), CCL - Crestzellschicht (Crest Cell Layer), DNp - tiefe Neuropilschicht (Deep Neuropil Layer), PLLn - posteriorer Seitenliniennerv (verändert nach New et al. 1996).

Die getrennte Verarbeitung anteriorer und posteriorer Seitenlinienanteile bleibt zum Teil bis ins Mittelhirn erhalten, da eine Seitenlinien-Somatotopie im MON (medio-lateral) (New & Northcutt 1984 bei *Scuphirhynchus platyrhynchus*, Liao 2010; Liao & Haehnel 2012 bei *Danio rerio*), im TS (rostro-caudal) (Plachta et al. 2003 bei *Carassius auratus*) und im dorsomedialen Kern des mesencephalischen Kernkomplexes (Bleckmann et al. 1987 bei *Platyrrhinoidis triseriata*) vorzufinden ist. Weiterhin bleibt auch die Separation der ONs und CNs zumindest teilweise bis auf Ebene des MONs erhalten (Kröther et al. 2002). Zentrale Seitenlinienneurone im MON zeigen in der Regel eine geringere Spontanaktivität (Coombs et al. 1998), teilweise inhibitorische Antwortmuster (Mogdans & Kröther 2001; Künzel et al. 2011) sowie bei Stimulation mit vibrierendem Dipol räumlich stärker ausgedehnte und komplexere rezeptive Felder (Mogdans & Kröther 2001; Künzel et al. 2011),

welche ebenfalls im TS zu finden sind (Meyer 2010) und auf eine mögliche konvergente Verschaltung einer Vielzahl von Neuromasten auf ein zentrales Neuron hindeuten (Übersichten in Bleckmann 1994; Bleckmann et al. 2004; Bleckmann 2008). In den Kerngebieten der aufsteigenden Seitenlinienbahn findet man ab dem Mittelhirn auch multimodale Neurone, welche auch auf visuelle und akustische Reizung reagieren (TS: Hofmann 2010, Diencephalon: Kirsch et al. 2002). Die grundlegende Aufgabe des MON ist derzeit unzureichend geklärt, wobei jedoch eine mögliche Funktion bei der Filterung von selbstinduzierten Atemwasserstörungen diskutiert wird, wie dies im korrespondierenden elektrosensorischen Kerngebiet des dorsalen Nucleus beschrieben wurde (Montgomery & Bodznick 1994; Montgomery et al. 1996; Bodznick et al. 1999, Übersicht in Requarth & Sawtell 2011). Zusätzlich wird eine mögliche Rolle der höheren Seitenlinienzentren bei der Erkennung spezieller räumlich-zeitlicher Muster vermutet, die beispielsweise durch bewegte Objekte oder Strömungsfluktuationen erzeugt werden können (Übersichten in Bleckmann 1994; Bleckmann et al. 2004; Bleckmann 2008).

1.3 Verarbeitung von Strömungsreizen

Großräumige Wasserströmungen (bulk water flow) verursachen bei einem Teil der primären Afferenzen eine Erhöhung der Entladungsrate im Vergleich zur Ruheentladungsrate im Stillwasser, wohingegen anderer Seitenliniennervenfasern ihre Entladungsrate nicht verändern.

Bei einer Erhöhung der Strömungsgeschwindigkeiten von 0 cm/s auf 1,5 cm/s (0,5 bis 4 cm/s bei Voigt et al. 2000) ist bei den anterioren Seitenlinienfasern ein Anstieg der Entladungsrate festzustellen (Voigt et al. 2000 bei *Anguilla dieffenbachii*, Carton & Montgomery 2002 bei *Trematomus bernacchii*), der damit die Strömungsgeschwindigkeit kodieren könnte. Aufgrund der richtungsspezifischen Antwort der Haarsinneszellenpopulationen der Neuromasten und deren separaten Innervierung müssten die spontanaktiven primären Afferenzen richtungsselektiv auf großräumige Wasserströmungen reagieren, wobei eine Strömungsrichtung zu einer Erhöhung der Stillwasserentladungsrate und die andere zu einer Verringerung der Stillwasserentladungsrate führen müsste. Als die Fasern des posterioren, den Rumpf innervierenden, Seitenliniennerven jedoch mit großräumiger Strömung von 4 bis 15 cm/s aus rostro-caudaler und caudo-rostraler Richtung stimuliert wurden, erhöhte sich die Entladungsrate unabhängig von der Strömungsrichtung (Chagnaud et al. 2008a). Hieraus wurde geschlossen, dass die primären Afferenzen weder richtungsselektiv auf großräumige Strömungsfelder antworten, noch die

Strömung direkt kodieren können (Chagnaud et al. 2008a). Primäre Afferenzen antworten vielmehr auf die zusätzlich in der Strömung enthaltenen tieffrequenten Mikrofluktuationen im Bereich von weniger als 5 Hz (Chagnaud et al. 2008b). Die in der Strömung enthaltenen Mikrofluktuationen werden mit der großräumigen Strömung entlang des Fisches verdriftet. Die Autoren konnten anhand von Particle Imaging Velocimetry (PIV) Aufnahmen, synchronen elektrophysiologischen Ableitungen von zwei primären Afferenzen und einer Anordnung von künstlichen Oberflächenneuromasten ("Micropillar", beschrieben in Brücker et al. 2005, 2007) zeigen, dass der Fisch die großräumige Strömungsgeschwindigkeit anhand von räumlich-zeitlichen Ausbreitungsmustern ermitteln kann. Hierfür schlagen Chagnaud et al. (2008b) einen Kreuzkorrelationsmechanismus vor. Mit einer Kreuzkorrelation kann die zeitliche Verzögerung zwischen den an zwei Stellen des Fisches erfassten Mikrofluktuationsverläufen ermittelt werden.

Für die Schwimmleistung in gleichmäßiger, großräumiger Strömung scheint die Seitenlinie zumindest nicht exklusiv notwendig zu sein (Übersicht in Dijkgraaf 1962). Auch bei ausgeschalteter Seitenlinie können Fische sich in großräumiger Strömung orientieren, wobei primär das optische System genutzt wird und beispielsweise in Dunkelheit taktile Reizung bei Grundkontakt involviert ist (Lyon 1904; Dijkgraaf 1933, 1962; Hahn 1960; Arnold 1974; Montgomery et al. 2000). Es wird jedoch positive Abstimmung der Lokomotion durch Seitenlinieninformation beim energieeffizienten Schwimmen in Strömung angenommen, wobei ein Ausschalten der mechanosensitiven Seitenlinie im Vergleich zu unbehandelten Tieren die Undulationsamplituden der Schwimmbewegung erhöht (McHenry et al. 2010). Zusätzlich ist die Fähigkeit zur energieeffizienten Interaktion mit Hindernissen (Entraining) herabgesetzt (Sutterlin & Waddy 1975). Ob großräumige Strömungsfelder einen für den Fisch relevanten Stimulus darstellen oder ob die gleichmäßige Hintergrundströmung eher als Rauschquelle wirkt, welche die Perception relevanterer hydrodynamischer Signale maskiert (Engelmann et al. 2002), ist derzeit noch nicht vollständig verstanden.

1.4 Konventionelle Strömungsmessverfahren

Die folgende Übersicht der etablierten Strömungsmessverfahren ist überwiegend dem Lehrbuch von Bohl & Elmendorf (2008) entnommen und beschränkt sich auf die wichtigsten zur Fluidvolumenstrommessung genutzten Sensortypen.

Die rotierenden Stromwegmesser nutzen den Massestrom des strömenden Mediums, um mittels turbinenartiger Strukturen (Flügelrad beziehungsweise hydro-

metrische Flügel) die Fluidbewegung in eine strömungsgeschwindigkeitsabhängige Rotationsbewegung zu überführen. Aufgrund der Reibung an der Lagerachse wird hierbei eine minimale Anlaufgeschwindigkeit benötigt, welche bei Luftströmungen etwa 0,1 bis 0,3 m/s und bei Wasserströmungen 0,03 bis 0,06 m/s beträgt. Nachteilig ist neben dieser minimal benötigten Geschwindigkeit eine mögliche Alterung der Lager und Schmierstoffe, welche die Messungen beeinflussen können. Zusätzlich eignen sich die rotierenden Stromwegmesser nur für konstante Strömungsbedingungen, nicht jedoch für stark turbulente Strömungen und müssen möglichst exakt entlang ihrer Achse angeströmt werden. Wesentliche Vorteile der rotierenden Stromwegmesser sind die kostengünstige Produktion und das rein mechanische Wirkprinzip, sodass die Durchflussmessgeräte ohne elektronische Komponenten auskommen können. Daher werden diese verhältnismäßig primitiven Sensoren in einer Vielzahl von Anwendungen wie Wasseruhren in Haushalten oder der Verbrauchsmessung an Zapfsäulen eingesetzt.

Die Staurohre beziehungsweise Stausonden stellen im einfachsten Fall, der Totaldrucksonde (Pitot-Rohr), rechtwinklig gebogene Röhrchen dar, welche mit dem offenen Ende in die Strömung orientiert sind. Diese Geometrie dient zur Ermittlung des an der Röhrchenöffnung anliegenden Staudrucks, der proportional zur Strömungsgeschwindigkeit ansteigt und mittels Drucksensoren bestimmt wird. Eine weitere Verbesserung stellt beispielsweise das Prandtl-Rohr dar, bei welchem das Pitot-Rohr mit einer statischen Drucksonde erweitert wird. Die statische Drucksonde bestehend aus einem Messkörper, der im Bereich der laminaren Umströmung der Sonde zumeist über eine Vielzahl von kleinen Bohrungen oder Schlitzfenstern mit dem Medium verbunden ist, welche der räumlichen Integration des statischen Drucks dienen. Dadurch kann die Differenz des Staudrucks vor der Sonde und dem hydrostatischen Druck des Fluides bestimmt werden, wodurch die Geschwindigkeitsbestimmung nahezu vollständig vom statischen Druck des Fluides entkoppelt wird. Durch weitere, teils komplexe Abwandlungen dieses Messprinzips lassen sich Stausonden auch zur Bestimmung der Strömungsrichtung einsetzen (Strömungsvektorsonden beziehungsweise Sonden zur Mehrkomponentenmessung). Beim Wirkdruckverfahren mit Drosselgeräten wird die Druckänderung durch eine Leitungsquerschnittsbeeinflussung durch Blenden, Klappen oder Venturidüsen im Vergleich zu einer Referenzstelle ohne Änderung des Leitungsquerschnitts bestimmt. Der Volumenstrom des Fluides kann anhand des zwischen dem Bereich der Querschnittsänderung und der Referenzstelle gemessenen Differenzdrucks bestimmt werden.

Thermische Sonden wie das Hitzdrahtanemometer bestimmen die Strömungs-

geschwindigkeit anhand des Wärmeabtransports von einem beheizten Draht oder Metallfilm durch das strömende Fluid. Der gemessene Parameter ist hierbei der temperaturabhängige Widerstand des Heizelements. Als optische Messverfahren werden neben dem Zusatz von Farbstoffen, Schlieren und der Particle Imaging Velocimetry (PIV) bei Standardmessanforderungen überwiegend laserbasierte Sensoren eingesetzt. Bei den Laserdopplernemometern wird ein Laserstrahl in das Medium eingebracht und der an Partikeln im Fluid reflektierte Bestandteil analysiert. Die Bewegung der mitgeführten Fremdkörper verursacht dabei eine Frequenzverschiebung (Dopplereffekt) des reflektierten Laserstrahls, die proportional zur Fluidströmungsgeschwindigkeit ist. Die Laser-2-Fokus-Systeme nutzen zwei durch parallele Laserstrahlen gebildete Lichtschrangen, um die Geschwindigkeit der im Fluid enthaltenen Fremdkörper zu bestimmen. Die Fremdkörper passieren dabei die beiden Lichtschrangen, wobei aus der zeitlichen Verzögerung der beiden Lichtschrangen mit bekanntem Abstand die Geschwindigkeit der Fremdkörper und somit die Fluidströmungsgeschwindigkeit ermittelt werden kann. Abgesehen vom hohen Herstellungsaufwand und der Notwendigkeit der Verfügbarkeit von Fremdkörpern wie Staub oder Verunreinigungen im Fluid haben die laserbasierten Messverfahren den Vorteil, dass diese die Strömungsgeschwindigkeit direkt erfassen können und somit nicht kalibriert werden müssen. Zusätzlich verfügen diese Geräte über eine hohe Messgenauigkeit in einem weiten Geschwindigkeitsbereich, wenn im Messmedium ausreichend viele Partikel enthalten sind.

Ultraschallsensoren können die Strömungsgeschwindigkeit berührungslos ermitteln. Das Laufzeitdifferenzverfahren nutzt zwei Ultraschallsensoren, welche jeweils ein Messsignal schräg durch die Flüssigkeitsströmung senden und empfangen. Das in Strömungsrichtung laufende Signal erreicht den Empfänger schneller als das gegen die Strömungsrichtung laufende Signal. Anhand des Laufzeitunterschieds der beiden Messungen wird die Strömungsgeschwindigkeit bestimmt. Das Ultraschall-Doppler-Verfahren nutzt wie das Laserdopplerverfahren die Frequenzverschiebung des an im Fluid befindlichen Fremdkörpern reflektierten Messsignals. Beim Driftverfahren wird ein Ultraschallsignal quer zur Strömungsrichtung gesendet und mit mehreren gegenüberliegenden Detektoren empfangen. Durch die orthogonal anliegende Strömung wird das Ultraschallsignal abgelenkt, wobei die Stärke der Ablenkung und damit die relativen Messsignale der Detektoren mit der Strömungsgeschwindigkeit skalieren.

Die magnetisch-induktive Durchflussmessung nutzt die magnetische Induktion durch in der Messflüssigkeit enthaltene und bewegte Ladungsträger. Beim Durchqueren des von Spulen erzeugten Magnetfeldes induzieren in der Flüssigkeit ent-

haltene Ladungsträger einen Stromfluss im Fluid, der von zwei Elektroden erfasst wird. Der gemessene Strom ist hierbei proportional zur Fortbewegungsgeschwindigkeit der Ladungsträger und damit der mittleren Strömungsgeschwindigkeit der Flüssigkeit.

Die Coriolis-Massenflussmesser messen Fluidströme anhand der Corioliskraft, welche bei Massenbewegung auf den Drehpunkt zu und von diesem weg entsteht. Dazu wird ein Rohrstück im Sensor in Vibration versetzt. Anhand der Phasenverschiebung der Vibration zwischen Ein- und Auslauf des Rohrstückes wird die Durchflussrate ermittelt. Zusätzlich zum Massenfluss kann mit dem Coriolis-Massenflussmesser die Dichte und Temperatur des Fluides bestimmt werden. Vorteile dieses Messsystems sind die hohe Messgenauigkeit im Bereich von 0,1% und die Unabhängigkeit der Messwerte von medienspezifischen Parametern (Leitwert, Strömungsprofil, Druck, Temperatur, Dichte). Nachteilig ist vor allem der hohe Kostenaufwand dieser Messgeräte.

Wirbelzähler-Durchflussmesser bestimmen die Strömungsgeschwindigkeit anhand der Frequenz, mit der sich am umströmten Objekt Wirbel ablösen (Kármán'sche Wirbelstraße). Durch die gewählte Objektform lässt sich der Arbeitsbereich der Wirbelstromzähler erweitern. Das Ablösen der Wirbel wird zumeist anhand hierbei erzeugten Vibrationen des Objekts erfasst.

Abschließend werden in Tabelle 1.1 einige auf dem Markt etablierte Strömungssensoren hinsichtlich ihres Funktionsprinzips, Endkundenpreise und der erreichbaren Messgenauigkeit gegenübergestellt. Die Preisangabe entspricht den bei einer Internetrecherche ermittelten Endkundenpreisen, wobei die für Produktionskosten inklusive Material, Produktionsmaschinen, Verpackung und Lagerung ein Anteil in der Größenordnung von unter 10% bis maximal 20% des Endkundenpreises angenommen werden kann.

Tabelle 1.1: Beispielhafte Übersicht auf dem Markt befindlicher Durchflusssensoren.

Hersteller/Model	Funktionsprinzip	Genauigkeit	Preis in €
Inside/PX-50GPM	Schwebekörper	5%	180
Rosemount/8705	Induktiv	0,25%	1.000
Dynasonic/TFX Ultra	Ultraschall	1%	1.400
Hydrometer/Hydrus	Ultraschall	1-2%	440
SeaMetrics/MJ Series	Flügelrad	1,5%	80
Aalborg/XFM	Thermisch (Gase)	1%	540
Universal Flow Monitors/Coolpoint	Wirbelzähler	2%	320
GE Panametrics/Panaflow MV80	Wirbelzähler	0,7%	1.460
Kobold/RCD Series	Differenzdruck (Gase)	3%	740
GE Rheonik/RHM08	Coriolis	0,1%	2.600

Im Rahmen dieser Arbeit soll in Kooperation mit dem Forschungszentrum Caesar und der Firma Hydrometer ein bionisches Messsystem entwickelt werden, welches die Strömungsgeschwindigkeit in Trinkwasserleitungen anhand der räumlich-zeitlichen Ausbreitung von mit der Hauptströmung transportierten Fluktuationen bestimmt. Inspiriert wurde das Projekt von der Strömungswahrnehmung der Fische mit Hilfe des Seitenliniensystems (Chagnaud et al. 2008b).

Korrelationsbasierte Durchflussmesser sind zwar seit längerem Stand der Technik (Sheen & Raptis 1986; Amemiya 1987; Inada & Sugimoto 1989; Margit et al. 1999; Veneruso & Huang 1999; Jakkula et al. 2000; Fukuhara 2002; Ramamurthy & Dabak 2014) und werden in bestimmten Bereichen wie der Kühlwasserüberwachung in Atomkraftwerken, der Messungen in Abwasserleitungen und der Erfassung geförderter Ölmengen erfolgreich eingesetzt, erlangten jedoch nie die allgemeine Verbreitung der zuvor vorgestellten konventionellen Messverfahren. Die bisherigen korrelationsbasierten Durchflussmessgeräte erfassen mit zwei Sensoren die Ausbreitung von in der Strömung transportierten Störungen (Strömungsunregelmäßigkeiten/Fluktuationen) und bestimmen die Zeit, welche zur Überwindung des Sensorabstands benötigt wird mittels Kreuzkorrelation der Signalverläufe. Die Störungen werden hierbei entweder berührungslos mittels auf dem Rohrstück montierten Ultraschallsensoren erfasst oder die Druckschwankungen direkt im strömenden Medium abgenommen. Die korrelationsbasierten Messverfahren weisen im Bereich niedriger Strömungsgeschwindigkeiten Vorteile auf und sind zusätzlich bei kontaktloser Messwerterfassung weitgehend unempfindlich gegenüber im Fluid enthaltenen Fremdkörpern. Das Messverfahren kann jedoch nicht den Volumenstrom über den gesamten Rohrquerschnitt bestimmen, sodass eine mehr oder weniger gleichmäßige Strömung durch die Verwendung von Kollimatoren und/oder langen Einlaufstrecken benötigt wird. Zusätzlich ist prinzipbedingt eine gewisse Beeinflussung des Messverfahrens durch Vibrationen und Schallwellen möglich. Ein Hersteller derartiger Messsysteme ist die Advanced Measurement & Analysis group (AMAG), welcher auf seiner Homepage eine Empfindlichkeit des Messverfahrens gegenüber korrelierten akustischen Störungen eingeräumte, die im Juni 2004 zu einer Unregelmäßigkeit im Atomkraftwerk Byron/Braidwood und einer weiteren Fehlmessung im Atomkraftwerk Ft Calhoun führte. Der Hersteller verbesserte daraufhin den Algorithmus zur Störungsdetektion und -korrektur und setzte eine größere Anzahl an Messsensoren ein um die Messgenauigkeit zu steigern. Dennoch wurde die Aufhebung der Zulassung für Neuinstallation auch zehn Jahre später noch nicht durch die amerikanische Atomaufsichtsbehörde vorgenommen (Stand: Juni 2014).

Obwohl die Studie von Klein & Bleckmann (2011) zeigte, dass die Strömungsgeschwindigkeit mittels künstlicher Kanalneuromasten ermittelt werden kann, ist die Entwicklung eines zuverlässigen und kosteneffizienten Korrelationsdurchflusssensors zur Anwendung im Bereich der Trinkwasserversorgung und Gasströmungsmessung in Anbetracht der möglichen Beeinflussung der Messung durch externe Störquellen und der hohen Messgenauigkeit beziehungsweise geringen Kosten konventioneller Durchflusssysteme eine herausfordernde Aufgabe. Zur Lösung dieser Aufgabe werden daher detaillierte Kenntnisse der zugrundeliegenden hydrodynamischen Vorgänge sowie empfindliche und zuverlässige Sensoren zur Detektion der mit der Hauptströmung transportierten Fluktuationen benötigt.

1.5 Bionische Strömungssensoren

Biologische Mechanorezeptoren sind den etablierten technischen Sensoren hinsichtlich Empfindlichkeit, Dynamikbereich, Robustheit, Größe, Selbstreparaturvermögen und Effektivität zumeist weit überlegen. Das mechanosensitive Seitenliniensystem der Fische wurde aufgrund seiner Fähigkeiten, kleinste Wasserbewegungen und geringste Druckunterschiede wahrzunehmen, von mehreren Forschungsgruppen als Modell für die Entwicklung bionischer Strömungssensoren genutzt (Übersichten beispielsweise in Bleckmann et al. 2012a). Ferner liefern die beispielweise bei Grillen vorzufindenden Sinneshaare der Cerci weitere Inspiration für die Entwicklung sensitiver Strömungssensoren insbesondere zur Anwendung in gasförmigen Medien (Dijkstra et al. 2005; Krijnen et al. 2006). Die Mehrzahl dieser bionischen Ansätze nutzten mikrosystemtechnologische Verfahren um die Submillimeter-Dimensionen der biologischen Sensoren und Aktuatoren zu erreichen (Übersichten beispielsweise in Zhou & Liu 2008; Bogue 2009). Hierbei wurden Micro-electro-mechanical-systems (MEMS) auf einem dünnen Trägermaterial durch die Abfolge einer Vielzahl von Prozessschritten gefertigt. Die Mehrzahl der MEMS-Sensoren basiert auf Hebelstrukturen (Cantilever), welche durch die Strömung ausgelenkt werden. Hierdurch wird eine Änderung des elektronisch erfassten Messwertes herbeigeführt. Die MEMS-Sensoren können anhand ihrer elektronischen Messwerterfassung grob in kapazitive, piezo-elektrische, piezo-resistive, thermische und optische Sensoren unterteilt werden.

Die kapazitiven Strömungssensoren (Dijkstra et al. 2005; Krijnen et al. 2006) besitzen einen aus mindestens zwei Plättchen bestehenden Kondensator, wobei eine der beiden Plättchen mit dem Sensorhaar verbunden ist. Eine Auslenkung

des hebelartigen Sensorhaars verformt eine der beiden Kondensatorplättchen, woraufhin sich die Kapazität des Kondensators ändert. Nachteilig bei diesem Funktionsprinzip ist die zumeist geringe Kapazitätsänderung, welche eine aufwändige Elektronik zum Erfassen der Messwerte erfordert. Zusätzlich kann eine höhere Empfindlichkeit des Sensors nur durch eine größerer verformte Fläche der Kondensatorplättchen und einen geringen Plattenabstand erreicht werden, was jedoch die Fragilität der Sensoren steigert. Weiterhin sind diese Sensoren empfindlich gegenüber eindringenden Ladungsträgern (beispielsweise Wasser), welche zum Kurzschluss der Kondensatorplatten führen können. Dieses Problem wurde durch das Aufbringen einer wasserfesten Versiegelung zum Schutz gegen das Eindringen von Flüssigkeiten und Fremdkörpern gelöst (Izadi et al. 2009).

Piezo-elektrische Sensoren nutzen die bei der Verformung eines Piezokristalls entstehende Spannung als Messsignal. Dieses Funktionsprinzip wurde beispielsweise zur Herstellung einer miniaturisierten Hydrophananordnung genutzt (Asadnia et al. 2013), welche der Detektion und Lokalisation von Unterwasserobjekten dienen könnte (Yang et al. 2006; Goulet et al. 2008). Piezo-resistive Sensoren nutzen die bei einer Deformation eines Piezokristalls auftretende Widerstandsänderung als Messgröße. Dieses Funktionsprinzip wurde zur Herstellung künstlicher Oberflächenneuromasten genutzt (Yang et al. 2006; Chen et al. 2007; Yang et al. 2010; Quattieri et al. 2011), wobei durch das Hinzufügen einer künstlichen Cupula eine Empfindlichkeitssteigerung um einen Faktor von 1000 erzielt werden konnte (Peleshanko et al. 2007; Liu 2007; McConney et al. 2009). Eine zusätzliche Steigung der Empfindlichkeit bei den Cantilever-basierten Sensoren lässt sich durch eine Vergrößerung der Hebellänge erreichen, wobei die vertikale Dimension bei konventionellen MEMS-Techniken einen limitierenden Faktor darstellt. Daher haben Fan et al. 2002 eine Technik entwickelt um Strukturen, deren Dimensionen die Höhe des Trägersubstrates teils erheblich übersteigt, erst nach den MEMS-Prozessen mit Hilfe magnetischer Materialien in die Vertikale zu biegen. Durch die Verwendung sehr dünner Hebelstrukturen mit verbreiterten apikalen Plättchen konnten piezo-resistive Sensoren zur Messung von Luftströmung gefertigt werden (Su et al. 2002). Eine Abwandlung des piezo-resitiven Messprinzips gelang durch die Verwendung von leitfähigen Kunststoffen anstelle des Piezoelements (Liu et al. 2006; Liu 2007). Durch Anreicherung der Kunststoffe mit Kohlenstoffverbindungen (beispielsweise Ruß) konnte das empfindliche und spröde Kristallmaterial des Piezokristalls durch wesentlich flexiblere Materialien (beispielsweise Silikon und Polyurethan) ersetzt und dadurch die Robustheit der Sensoren gesteigert werden.

Die thermische Messwerterfassung nutzt ein mittels Stromfluss aufgeheiztes Thermoelement zur Ermittlung der Strömungsgeschwindigkeit anhand der Kühlung durch das strömende Medium. Mit Hilfe von miniaturisierten Hot-Wire-Anemometern konnten kleine Wasserströmungen detektiert werden (Yang et al. 2006; Liu et al. 2010). Nachteilig bei diesem Sensortyp ist die gegenseitige Beeinflussung einzelner Sensoren innerhalb eines Arrays durch das Aufheizen des umgebenden Wassers und die geringe mechanische Robustheit der filigranen Heizdrähte und Trägerstrukturen.

Bei den optischen Ausleseverfahren wird die sensorische Struktur illuminiert und die Änderung der Strahlungseigenschaften als Indikator für die fluid-induzierte Strukturauslenkung ermittelt. Als sensorische Strukturen wurden bisher dünne Glasfasern (Lien & Vollmer 2007), Mikrosäulen aus Silikon (Große et al. 2006; Große & Schröder 2009; Brücker et al. 2005, 2007) und in Kanalstrukturen verbrachte Silikonbalken (Klein & Bleckmann 2011) genutzt. Zur Bestimmung der optischen Parameter wie Lichtintensität oder die Position eines Lichtpunktes wurden verschiedene optische Detektoren wie Fototransistoren (Klein & Bleckmann 2011), CCD-Chips (Große et al. 2006) und multimodale Glasfasern (Lien & Vollmer 2007) genutzt. Die hohe Sensitivität bei gleichzeitiger Robustheit der flexiblen Sensorstrukturen ist ein wesentlicher Vorteil der optischen Ausleseverfahren. Ein wesentlicher Nachteil ist jedoch die mögliche Beeinflussung der optischen Strömungssensoren durch externe Lichtquellen.

1.6 Gliederung der Arbeit

Die vorliegende Arbeit umfasst einen sinnesphysiologischen und einen bionischen Teilkomplex. Der sinnesphysiologische Teil der Arbeit gliedert sich in vier Kapitel und untersucht die Funktion des Seitenliniensystems unter dem Gesichtspunkt der Wahrnehmung von Strömungsreizen unter der Einbeziehung möglicher Störfaktoren wie Atmungs- und Bewegungsartefakten. Das Kapitel 2 untersucht den Einfluss der üblicherweise in elektrophysiologischen Experimenten verwendeten künstlichen Beatmung auf die neuronale Aktivität der primären Afferenzen und MON-Neurone im Stillwasser, Strömung und bei der Präsentation mechanischer Dipolreize. Das Kapitel 3 widmet sich den hydrodynamischen Signaturen natürlicher Atmung der Fische und potentiellen Strategien, um eine mögliche Beeinflussung der Seitenlinienfunktion durch die Atmungswasserströmung zu vermeiden. Die Wahrnehmung großräumiger Strömungsreize (bulk water flow) ist Gegenstand des Kapitels 4, wobei, im Gegensatz zu den meisten früheren Arbeiten, die Strö-

mungswahrnehmung durch die primären Afferenzen und MON-Neuronen nicht nur am Goldfisch, sondern auch an einer rheophilen Fischart untersucht wird. Zusätzlich wurden wesentlich gleichmäßigere Strömungsreize über einen weiten Geschwindigkeitsbereich präsentiert, die Entstehung und Ausbreitung von Oberflächenwellen verhindert und die künstliche Beatmung als potentielle Störquelle vermieden. Im Kapitel 5 wird die potentielle Interaktion der Schwimmbewegungen und der Wahrnehmung der großräumigen Strömung durch das Seitenliniensystem bei in Strömung schwimmenden Fischen untersucht. Hierbei wird das Schwimmverhalten analysiert und dessen typische Bestandteile durch passiv in Stillwasser und laminarer Strömung bewegte Versuchstiere imitiert.

Im bionischen Teil der Arbeit wird die Entwicklung eines Messgerätes zur Bestimmung von Strömungsgeschwindigkeiten in Rohrleitungen beschrieben. Weiterhin sind der Einfluss der in der Strömung enthaltenen Fluktuationen, die Wirkungen unterschiedlicher Sensoranordnungen und mögliche Optimierungen des Messverfahrens Gegenstand dieses Teils der Arbeit. Im Kapitel 6 soll herausgefunden werden, welche Fluktuationen sich besonders für das korrelationsbasierte Messverfahren eignen. Hierfür werden unterschiedliche Störgegenstände zur gezielten Erzeugung von Fluktuationen in die quasi-laminare Strömung verbracht und dabei die Auswirkungen unterschiedlicher Fluktuationen auf das korrelationsbasierte Messverfahren geprüft. In Kapitel 7 wird ein Messsystem zur Anwendung in Gasströmungen vorgestellt, anhand dessen der Einfluss unterschiedlicher Parameter wie Abstand der Sensoren und Position innerhalb der Messanordnung auf die korrelationsbasierte Bestimmung der Strömungsgeschwindigkeit untersucht wird. Zusätzlich werden mögliche Vorteile der Verwendung von Differenzdrucksensoren im Vergleich zu Drucksensoren und die Auswirkung von unterschiedlichen elektronischen Filtern diskutiert. Das Kapitel 8 zeigt mögliche Anwendungsbereiche der bionischen Strömungsmessgeräte auf und diskutiert die Leistungsfähigkeit und mögliche Einschränkungen des bionischen Messprinzips.

Das Kapitel 9 beschreibt ein Verfahren um die Kugelbewegungen bei der Verwendung hydrodynamischer Dipolreize in Echtzeit zu verfolgen und damit die tatsächlich präsentierte Stimulation darzustellen und zu überwachen. Dies ist insbesondere bei der Verwendung relativ großer vibrierender Kugeln notwendig, deren Schwingverhalten in Abhängigkeit der Anregungsfrequenz stark von den Erwartungswerten abweichen kann.

Im letzten Kapitel 10 werden die Ergebnisse der einzelnen Kapitel der vorliegenden Arbeit abschließend diskutiert.

Kapitel 2

Einfluss künstlicher Beatmung auf die neuronale Aktivität primärer Afferenzen und MON-Neurone

2.1 Einleitung

Das mechano-sensitive Seitenliniensystem der Fische kann kleinste Wasserbewegungen registrieren. In vergangenen Arbeiten wurden überwiegend pharmakologisch immobilisierte Fische verwendet, die aufgrund der fehlenden selbstinduzierten Atmung mittels künstlichen Durchströmens der Kiemen mit Sauerstoff versorgt wurden. Diese künstliche Beatmungsströmung stellt in Anbetracht der extremen Empfindlichkeit der Seitenlinie vermutlich einen nicht unerheblichen hydrodynamischen Stimulus dar. In vorrangegangenen Arbeiten ist dieser Effekt jedoch mit wenigen Ausnahmen (Müller 2007; Chagnaud, persönliche Mitteilung) kaum untersucht worden. Als Kontrollversuch innerhalb einer Diplomarbeit (Müller 2007) wurden die Antworten von acht Fasern des ALLN bei *Carassius auratus* auf Beatmungseffekte getestet. Es wurde nur ein geringer Einfluss auf die Entladungsraten der Seitenliniennervenfaser, die den Kopf des Fisches innervieren, gefunden. Die Auswirkung der künstlichen Beatmung (KB) auf die Aktivität der PLLN-Fasern ist hingegen weitgehend unklar, wobei durch die räumliche Lage hinter den Kiemenöffnungen prinzipiell stärkere Effekte als bei der bereits untersuchten anterioren Seitenlinie zu erwarten sind. Ebenfalls ungeklärt ist der Einfluss der KB auf die Spontanaktivität der Seitenlinienneuronen des Hirnstamms. Somit ergeben sich folgende Fragestellungen:

1. Wird die neuronale Aktivität primärer Seitenlinienafferenzen und zentraler Neurone des MON durch die KB moduliert?
2. Können Strömungsreize oder Dipolstimuli durch die KB maskiert werden oder wird nur die Ruheaktivität im Stillwasser beeinflusst?
3. Wirkt eine mögliche Beeinflussung gleichmäßig auf die gesamte Neuronenpopulation, oder sind beispielsweise Oberflächen- oder Kanalneuromasten innervierende Seitenliniennervenfasern unterschiedlich stark betroffen? Gibt es Unterschiede in der Beatmungssensitivität, welche auf die Position des/der Neuromasten zurückzuführen sind?
4. Unterscheidet sich die Beeinflussung durch die KB zwischen den Seitenlinienneuronen der beiden untersuchten Fischarten (*Leuciscus idus* und *Carassius auratus*)? Wenn ja, welche Rolle haben die Seitenlinienmorphologie und die Lebensweise der untersuchten Arten?

2.2 Methoden

2.2.1 Elektrophysiologische Untersuchungen

Präparation

Für die elektrophysiologischen Versuche wurden 34 Versuchstiere benutzt, wobei an 28 Tieren (*Carassius auratus auratus* N = 6, *Leuciscus idus melanotus* N = 22) erfolgreich Ableitungen durchgeführt werden konnten. Die Totallänge (Schnauze bis Schwanzende) dieser Versuchstiere variierte von 10 cm bis 16 cm (Mittelwert 12,0 cm). Die Fische wurden bis zum Versuchsbeginn in 200 l Aquarien mit Filter bei Raumtemperatur und einem 10 h:14 h Tag-Nacht-Zyklus gehalten. Zu Beginn des Versuchs wurden die Fische mit MS-222 (Tricain-Methansulfonat, Sigma Aldrich) mit einer Konzentration von 0,017% bis 0,1% (Mittelwert 0,034%) paralyisiert. Um eine deutliche Beeinträchtigung der Seitenlinienfunktion zu vermeiden (Späth & Schweickert 1977; Palmer & Mensinger 2004), wurde die MS-222-Dosis minimiert. Während der Präparation wurde der Fisch über einen in das Maul geschobenen Schlauch künstlich beatmet, wobei das Beatmungswasser zur Aufrechterhaltung der Paralyse des Versuchstieres während der Präparation ebenfalls etwa 0,01% MS-222 enthielt. Um Bewegungsartefakte zu vermeiden, wurden die Fische während der Versuche relaxiert. Hierfür wurde Pancuroniumbromid (Verdünnung 1:10 bis 1:30, Organon Teknika) intramuskulär injiziert, wobei die Wirkstoffmenge zwischen 0,011 und 0,05 mg (Mittelwert 0,026 mg) betrug. Um

dessen Wirkung aufrecht zu erhalten, wurde im Versuchsverlauf das Pancuroniumbromid in Abhängigkeit der Fischgröße nach 4 bis 6 h nachdosierte. Zur lokalen Betäubung der Präparationsstelle wurden etwa 0,1 ml Xylocain (Konzentration 2%, Astra Zeneca) auf den Schädel getropft. Die Versuchstiere wurden während der Präparation in einem fischförmig ausgehöhlten Styrodurhalter fixiert und die Haut der Fische feucht gehalten, um ein Austrocknen der Neuromasten (insbesondere Oberflächenneuromasten) zu vermeiden. Anschließend wurde der Schädel mit einem Mikrofräsbohrer (Micromot 50e, Proxxon) und unterschiedlichen Fräsaufsätzen (Fräser, Proxxon sowie Miniaturlochsäge, Fine Science Tools) sowie der Zuhilfenahme einer feinen Präparationsschere eröffnet, sodass das Stammhirn beziehungsweise die Seitenliniennerven sowohl gut mit der Elektrode erreichbar waren als auch eine optische Kontrolle der Elektrodenplatzierung möglich war. Hierfür wurde auf dem Gehirn aufliegendes Gewebe durch Absaugen entfernt und der Vaguslobus (vorrangig bei Ableitung vom PLLN bei *Carassius auratus*) sowie das Cerebellum vorsichtig beiseite geschoben und mit einem kleinen Wattestück fixiert. Um ein Austrocknen des Nervengewebes aufgrund des eröffneten Schädels zu vermeiden, wurde das Gehirn mit Fischringerlösung (Zusammensetzung nach Oakley & Schafer 1978) feucht gehalten. Nach der Präparation wurde das Versuchstier in den Versuchstank überführt, auf dem Fischhalter fixiert und mit sauerstoffangereichertem Wasser beatmet. Die Ableitungen wurden erst 45 bis 60 min nach dem Ende der Präparation durchgeführt, damit eine mögliche Wirkung von MS-222 auf die Seitenlinie abklingen konnte (Späth & Schweickert 1977; Palmer & Mensinger 2004).

Elektrophysiologische Ableitungen

Für die elektrophysiologischen Ableitungen wurden mit LiCl (1 Mol/l) gefüllte Glasmikrokapillarelektroden genutzt. Für die Ableitungen der primären Afferenzen wurden scharfe Elektroden mit Widerständen von 70 bis 150 M Ω verwendet (Glas GB100F-10, Science Products; horizontal Puller P-97, Sutter instruments, annähernd quadratisches Filament ca. 3*3 mm, Parameter: HEAT = 536, PULL = 80, VEL = 80, TIME = 150 für Ramp = 540). Für die extrazellulären Ableitungen im medialen octavolateralen Nucleus (MON) wurden Elektroden mit Widerständen von 15 bis 25 M Ω verwendet (Glas GB150F-8P, Science Products; horizontal Puller P-97, Sutter instruments, Parameter: HEAT = 560, PULL = 5, VEL = 50, TIME = 240, für Ramp = 556). Die Bestimmung der Elektrodenwiderstände erfolgte während des Versuchs über die in den Intrazellulärverstärker eingebaute Elektrodentestfunktion, welche den Spannungsabfall bei einem defi-

nierten DC-Strom durch die Elektrode detektiert. Die LiCl-gefüllten Elektroden wurde mittels einem chlorierten Silberdraht mit einer der beiden selbstgebauten Headstages verbunden, welche auf den Headstages (HS170 für die 15 bis 25 M Ω Elektroden & HS180 für die 70 bis 150 M Ω Elektroden, biologic, Echirolles, Frankreich) des DC-gekoppelten Intrazellulärverstärkers (Modell VF180, biologic, Echirolles, Frankreich) beruhten. Die Vorstufen wurden mit einem Operationsverstärker (OPA129UA, Texas Instruments) realisiert und auf einer kleinen Platine aufgebaut. Ausgiebige Funktionstests der Headstages zeigten, dass diese zufriedenstellend und den Anforderungen entsprechend funktionierten. Die Elektroden wurden in einen Plexiglashalter (Werkstatt des Instituts für Zoologie, Universität Bonn) fixiert und mittels Piezolinearantrieb (Nanostepper Micro Processor Control, Science Products Trading) und Mikromanipulator (HS6, H. Sauer Laborbedarf) unter visueller Kontrolle (Präparationsbinokular M651, Leica) positioniert. Die abgeleiteten Signale wurden anschließend mit dem DC-gekoppelten Intrazellulärverstärker amplifiziert (10-fach bei den primären Afferenzen, bei den extrazellulären Ableitung im MON zusätzlich 10-fach mittels externem DC-gekoppelten Verstärker (Eigenbau)) und gefiltert (10 kHz Tiefpass und 50 Hz Kerbfilter). Als Referenz der unipolaren Ableitungen diente ein chlorierter Silberdraht (Durchmesser 2 mm), der in der Nähe des Versuchstieres im Tank positioniert war. Die Ableitungen wurden während der Experimente mittels Oszillograph (HAMEG HM205-3) und Monitorlautsprecher (Logitech Aktivboxen LS11 über die PC-Soundkarte) überwacht, mit einem AD-Wandler (Power 1401, Cambridge Electronic Design) digitalisiert (10 kHz und 16 bit) und zur späteren Analyse mit Spike2 (Cambridge Electronic Design) auf einem PC gespeichert. Um elektrische Einstreuungen zu vermeiden, wurden die Ableitungen in einem Faraday-Käfig (Eigenbau, Werkstatt des Instituts für Zoologie, Universität Bonn) durchgeführt.

2.2.2 Künstliche Beatmung

Beatmungssystem

Da die Fische während der Versuche, mit Ausnahme der Untersuchung natürlicher Atmungsströmungen (Kapitel 3), mittels Pancuroniumbromid relaxiert waren, wurden die Versuchstiere mit einem passiven Frischwasserstrom über die Kiemen mit Sauerstoff versorgt. Hierzu wurde ein Reservoir (Volumen 10 l) etwa 1,3 m oberhalb des Versuchstanks aufgestellt, dessen Wasser mittels Luftpumpe und Ausströmerstein mit Sauerstoff angereichert wurde (Abb. 2.1). Durch eine Öff-

nung in Bodennähe des Reservoirs strömte das Beatmungswasser durch ein Ventil (M&M International, 12 V/DC) und einen Tropf (Eigenbau) in das Beatmungsrohr des Fischhalters. Das Ventil diente der Kontrolle des Atemwasserstroms, welcher über das Spike2-Programm und das Power 1401 (Cambridge Electronic Design) ferngesteuert an- und ausgeschaltet werden konnte. Eine nachfolgende Schlauchklemme diente der Grobregulierung der verwendeten Durchflussrate. Da das Schließen des Ventils einen Druckstoß im Beatmungswasserstrom erzeugte, wurde dem Ventil ein selbstgebauter Tropf (Volumen 100 ml) nachgeschaltet, der die Druckwelle beim Schließen des Ventils wirkungsvoll dämpfte. Nach der Passage einer zweiten Schlauchklemme, welche die Durchflussmenge feinregulierte, wurde das Frischwasser in das Beatmungsrohr des Fischhalters geleitet. Zusätzlich wurde ein Mundstück (Eigenbau) am Beatmungsrohr montiert, welches das Wasser direkt über die Kiemen der Versuchstiere leitete und diese dadurch mit sauerstoffangereichertem Wasser versorgte. Sobald der Wasserspiegel des Strömungstanks das Niveau des Überlaufs erreicht hatte, floss das Wasser in ein unterhalb des Strömungstanks aufgestelltes Auffangbecken (Volumen 10 l) ab. Vom Auffangbecken wurde das Wasser mit einer Tauchpumpe (Modell 0444 Typ 04, Barwig) zurück in das Reservoir gefördert. Die Tauchpumpe wurde mit zwei Schwimmschaltern (Modell VCS04 SG, Gentech) gesteuert, wobei das Zurückpumpen des Wassers automatisch gestartet wurde, sobald die Wassermenge des oberen Reservoirs ein bestimmtes Niveau unterschritt. Nachdem das Auffangbecken nahezu leer gepumpt war, wurde die Tauchpumpe durch einen zweiten Schwimmschalter ausgeschaltet, um ein Trockenlaufen der Tauchpumpe zu vermeiden.

Charakterisierung der künstlichen Beatmung

Da die Beatmungswasserströmung als möglicher Stimulus betrachtet wurde, erfolgte zu Beginn der Versuche eine Bestimmung der Durchflussmenge. Hierbei wurde vor dem Versuch das aus dem Fischhalter mit montiertem Mundstück herausfließende Wasser in einem kleinen Becher (Volumen 100 ml) aufgefangen und die Zeit gestoppt, die zur vollständigen Füllung des Gefäßes benötigt wurde. Die Durchflussraten der künstlichen Beatmung betragen ohne Versuchstier 200 bis 300 ml/min. Die im Versuch tatsächlich anliegenden Durchflussraten sind durch den hydrodynamischen Widerstand der Kiemen und mögliches Verstopfen des Kreislaufs während des Versuchsverlaufs tendenziell geringer als bei den Messungen ohne Versuchstier. Die durch die künstliche Beatmung erzeugte Wasserströmung wurde visualisiert, indem das Atemwasser mit einer selbstgemischten

Färbelösung versetzt wurde. Diese Färbelösung bestand aus Leitungswasser mit etwa 20 bis 30% brauner Lebensmittelfarbe (Zuckercolour, E150c, Appel) und wurde, unter Zuhilfenahme eines Aräometer, durch Zugabe von Ethanol auf eine Dichte von $1,00 \text{ g/cm}^3$ eingestellt. Die Ausbreitung der Beatmungsströmung wurde mit einer Videokamera (CCIR-Camera, Modell OS-65D, Minitron Enterprise Co., ltd.) aufgezeichnet. Die Aufnahmen wurden anschließend mit Rauschfiltern, De-interlacing sowie Kontrast- und Helligkeitsanpassung bearbeitet. Durch Abziehen des Hintergrundes und Setzen eines Schwellenwerts (VidAna, Version 2.01) wurde das Strömungsfeld isoliert. Anschließend wurde das Strömungsfeld als Standbild für einzelne Zeitpunkte exportiert und zur Darstellung der durch die künstliche Beatmung erzeugten Strömung im Versuchstank genutzt.

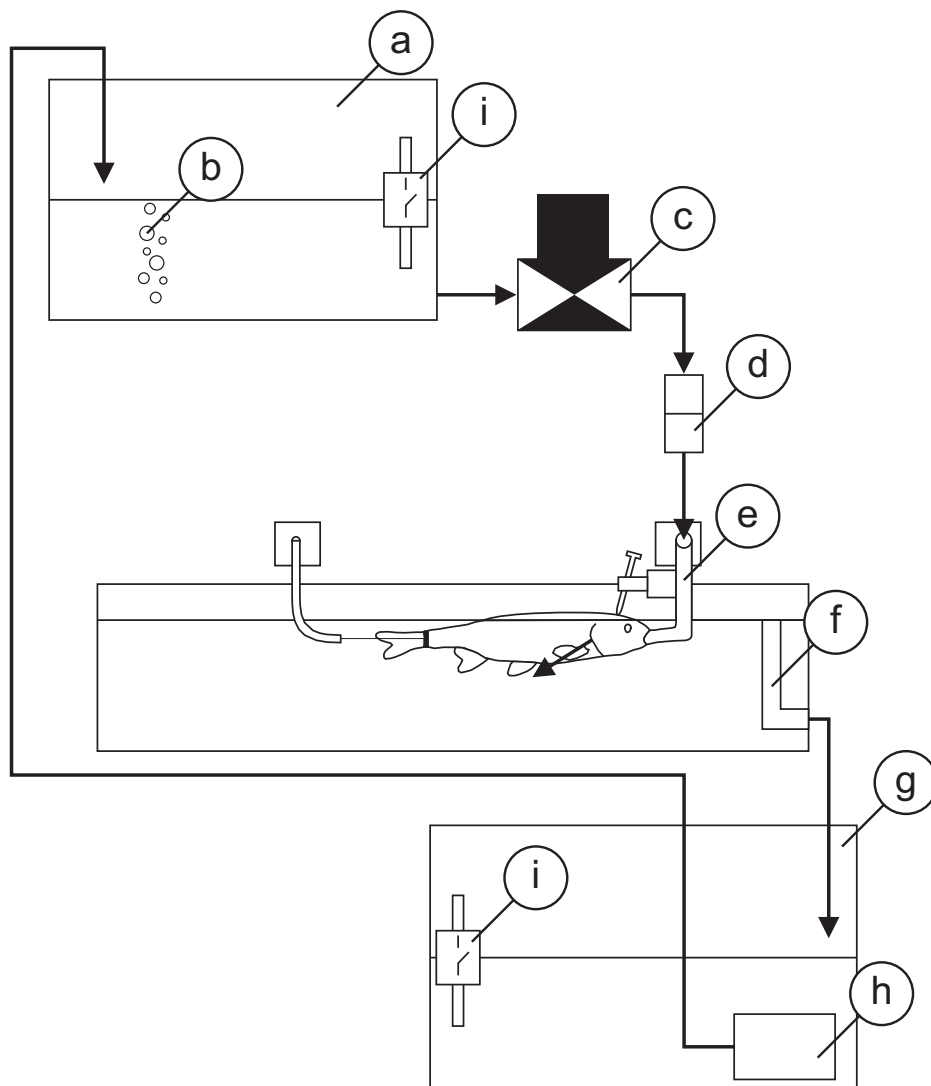


Abbildung 2.1: **Künstliche Beatmung der Versuchstiere während der elektrophysiologischen Versuche.** Versuchsapparat mit Reservoir (a), Sauerstoffanreicherung (b), Ventil (c), Tropf (d), Fischhalter (e), Überlauf des Strömungstanks (f), Auffangbecken (g), Tauchpumpe (h), Schwimmschalter (i). Die Pfeile zeigen den Wasserfluss an.

2.2.3 Strömungsreize

Strömungserzeugung

Die Versuche wurden in einem horizontalen Rundströmungstank durchgeführt (Abmessung in Engelman & Bleckmann 2004, Abb. 2.2A). Ein wesentliches Ziel war die Erzeugung einer möglichst laminaren Strömung und die Vermeidung der Erzeugung von Mikrofluktuationen (AC-Anteil der Strömung, Chagnaud et al. 2008a). Zusätzlich sollte die Strömung in rostro-caudaler und caudo-rostraler Richtung möglichst ähnliche hydrodynamische Bedingungen aufweisen. Daher wurden ober- und unterhalb des Versuchsbereichs Kollimatoren, bestehend aus Kunststoffröhrchen (Durchmesser 3,2 mm, Länge 50 mm; Pfalz Composite, Dierbach), in die Strömung eingebracht. Die Strömung wurde mit einem Eigenbau-Schottelantrieb (Werkstatt des Instituts für Zoologie, Universität Bonn) erzeugt. Der Schottelantrieb nutzt zwei auf einer gemeinsamen Achse montierte, strömungsgünstig geformte Propeller (Graupner Modellbau) mit 95 mm Außendurchmesser. Die Propeller des Eigenbau-Schottelantriebs wurden mit einer PVC-Röhre umkapselt, wodurch die Erzeugung von Oberflächenwellen und das Ansaugen von Luft reduziert werden konnte. Frühere Studien (beispielsweise Engelman et al. 2002; Chagnaud et al. 2006, 2008b; Künzel 2009; Hofmann 2010) nutzten einen planen 80 mm Propeller (Aeronaut), der zur Strömungserzeugung aufgrund seiner geringeren Propellerfläche und der hydrodynamisch ungünstigen Rotorform schneller rotieren musste und daher vermutlich auch stärkere Fluktuationen erzeugte. Die Propeller des Eigenbau-Schottelantriebs wurden von einem DC-Getriebemotor (Modell 3557K024CR, Faulhaber, Schönaich) über einen Zahnriemen angetrieben. Das Motorsteuersignal wurde an einem Analogausgang des Power 1401 (Cambridge Electronic Design) bereitgestellt und mittels steuerbarem Netzteil (Modell 6827A, Hewlett Packard) verstärkt. Die Umkehr der rostro-caudalen Wasserströmung in eine caudo-rostrale Wasserströmung wurde im Gegensatz zu den meisten früheren Arbeiten nicht durch ein Rückwärtslaufen des Motors erzeugt, sondern durch Rotation des gesamten Schottelantrieb um 180°. Hierdurch konnte ein möglicherweise unterschiedliches hydrodynamisches Verhalten der asymmetrisch geformten Propellerflügel ausgeschlossen werden. Die Drehung des Schottelantriebes erfolgte durch einen Schrittmotor mit Zahnriemen und einem am Schottelantrieb befestigten Zahnrad. Die Propellerdrehzahl wurde über eine Dauer von 5 s auf die volle Drehzahl erhöht, wodurch die Entstehung von Druckwellen beim unvermittelten Beginn der Strömung vermieden wurde. Um die Ausbreitung von Oberflächenwellen zu verhindern, wurde der Strömungstank

, mit Ausnahme des Versuchsbereiches, mit unterhalb der Wasseroberfläche angebrachten PVC-Platten abgedeckt, jedoch nicht druckdicht verschlossen (Abb. 2.2B). Die Oberfläche der Platten wurde bis 1 cm oberhalb der Wasseroberfläche mit Filterschwamm (‘‘Filterschaum fein’’, Stärke 2 cm, Hobby) bedeckt, wodurch Oberflächenwellen durch die feine und offenporige Struktur des Filterschwamms wirkungsvoll gedämpft werden sollten.

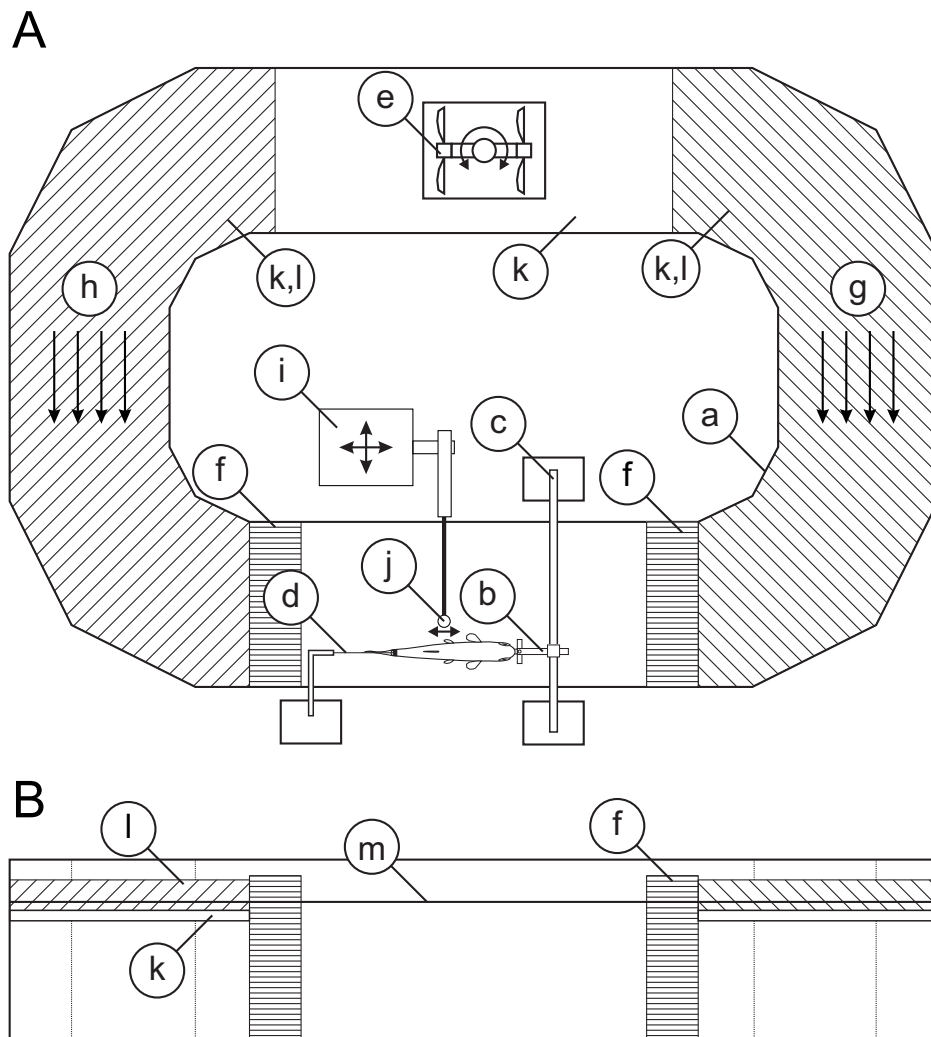


Abbildung 2.2: **Erzeugung der hydrodynamischen Stimulationen.** **A:** Aufsicht des Versuchsaufbaus mit horizontalem Rundströmungstank (a), Fischhalter (b), Traverse zur Befestigung des Fischhalters (c), Befestigung des Fischschwanzes (d), Schottelantrieb mit Dualpropeller (e) und Kollimatoren (f) zur Generierung vergleichbarer Wasserströmung in rostro-caudaler (g) und caudo-rostraler Richtung (h). Dipolreize wurden mittels eines in drei-Achsen verfahrbaren Schwingerregers (i) und vibrierender Kugel (j) erzeugt. **B:** Seitenansicht des Strömungstanks. Mit Ausnahme des Versuchsbereiches wurde der Strömungstank mit Kunststoffplatten (k) abgedeckt, auf denen Filterschwammstücke (l) befestigt wurden. Der Wasserstand (m) wurde so gewählt, dass die Ausbreitung von Oberflächenwellen durch den Filterschwamm vermieden wurde.

Charakterisierung der Strömungsreize

Die Strömungsreize wurden mittels Particle Image Velocimetry (PIV) charakterisiert (Abb. 2.3). Hierzu wurden dem Wasser Schwebepartikel (Dantec Dynamics, PSP 50 μm) zugegeben und diese innerhalb einer horizontalen Schicht etwa 4 cm unterhalb der Wasseroberfläche mittels grünem Laser (Wellenlänge 500-600 nm, Leistung <500 mW) illuminiert.

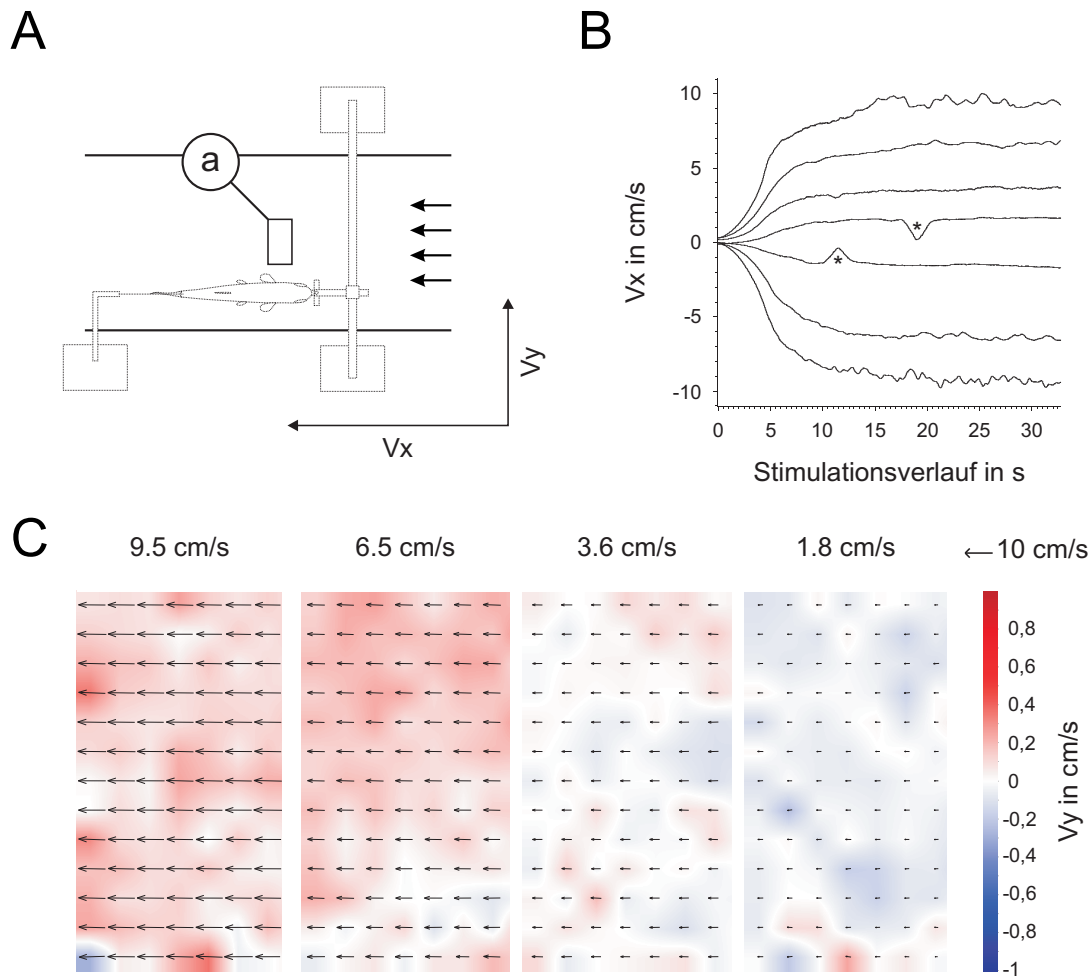


Abbildung 2.3: **Charakterisierung der Strömungsstimulation mittels PIV.** **A:** Position des 23 mm mal 45 mm großen Abschnitts (a) in dem die PIV ohne Versuchstier und Fischhalter durchgeführt wurde. Die Strömungsrichtung entspricht dem tatsächlichen Versuchsaufbau und verläuft für rostro-caudale Strömung entgegen der üblichen Darstellung von rechts nach links. **B:** Räumlich gemittelte Vx-Strömungskomponente im Verlauf der Strömungsgenerierung. Positive Werte entsprechen rostro-caudaler Strömungsrichtung, negative caudo-rostraler Strömungsrichtung. Die Kurvenverläufe sind über drei Bilder gemittelt (80 Hz Tiefpass) dargestellt. Die Sternchen kennzeichnen ein von Schwebstoffen im Versuchstank verursachtes Artefakt. **C:** Räumliche Eigenschaften der Strömung innerhalb des in A gezeigten Abschnitts "a" nach Erreichen der maximalen Geschwindigkeit in Hauptströmungsrichtung (Vx) nach circa 20 s. Die Vektoren zeigen den Betrag und die Richtung der jeweiligen Bereiche an. Die Vy-Komponente der Strömung ist zusätzlich farbcodiert im Hintergrund unterlegt.

Die Partikelbewegung wurde innerhalb eines kleinen Ausschnittes (Abb. 2.3A) mit einer Hochgeschwindigkeitskamera (HighSpeedStar, LaVision) mit 250 Bildern pro Sekunde (fps) vom Beginn der Strömungsgenerierung bis zur vollständigen Füllung des Pufferspeichers nach 32,8 s erfasst. Die Auswertung der aufgezeichneten PIV-Daten erfolgte mit DaVis imaging software (LaVision). Untersucht wurde der zeitliche Verlauf der über alle Vektoren des gemessenen Versuchsbereichsabschnitts gemittelten V_x -Komponente sowie die räumliche Verteilung der Vektoren innerhalb dieses Abschnitts nach Erreichen der Maximalgeschwindigkeit. Die Strömungsgeschwindigkeit in Hauptströmungsrichtung (V_x -Komponente) stieg nach Beginn der Strömungsgenerierung kontinuierlich an, wobei nach 20 s bei allen Strömungsreizen die Maximalgeschwindigkeit erreicht wurde (Abb. 2.3B). Die Strömungsgeschwindigkeiten von 1,8 bis 6,5 cm/s zeigten im zeitlichen Verlauf nur geringe Schwankungen der V_x -Komponente. Die V_y -Komponente der Strömung betrug nur 5% der V_x -komponente, wobei die Vektoren bis 6,5 cm/s nahezu parallel orientiert waren (Abb. 2.3C). An dieser Stelle möchte ich Herrn Dr. Adrian Klein für die Unterstützung bei den PIV-Aufnahmen und deren Analyse danken.

2.2.4 Dipolreize

Zur Stimulation wurden sinusförmige Dipolreize mit Frequenzen von 20, 40, 60, 80 und 100 Hz verwendet. Die Reizlänge betrug jeweils 300 ms, wobei zusätzlich jeweils 20 ms lange Anstiegs- und Abfallrampen verwendet wurden, um ein mechanisches Überschwingen der Kugel zu vermeiden. Die sinusförmigen Signale wurden in Spike2 (Cambridge Electronic Design) mittels "Wavemake"-Skript (www.ced.co.uk/files/Scripts/wavemake.zip, Cambridge Electronic Design) erzeugt und an einem Analogausgang des Power 1401 (Cambridge Electronic Design) bereitgestellt. Die ausgegebene Wellenform wurde zur Ansteuerung des DC-gekoppelten Leistungsverstärkers (PA25E, Ling Dynamic Systems) genutzt, welcher das verstärkte Signal einem Schwingerreger (Minishaker 4810, Brüel & Kjær instruments) zuführte. Die Bewegung des Schwingerregerzapfens wurde mit einem Plexiglasdipolhalter (Eigenbau, Werkstatt des Instituts für Zoologie, Universität Bonn) und einem Karbonröhrchen (Durchmesser 2 mm außen, 1 mm innen) auf eine Kunststoffkugel (Durchmesser 10 mm) übertragen. Die Schwingungsrichtung der vibrierenden Kugel war rostro-caudal orientiert, wobei die Kugel, 1 cm vom Fisch entfernt, auf Höhe des Rumpfseitenlinienkanals positioniert war (Abb. 2.2A). Die Amplituden wurden für alle Frequenzen und Intensitäten mit einem kapazitiven Wegaufnehmer (Model 4810, LOT-Oriel GmbH & Co. KG,

Darmstadt) für jeweils 5 präsentierte Reizungen oberhalb des Wassers am Plexiglasdipolhalter gemessen (die prinzipielle Messanordnung ist in Abbildung 9.3 auf Seite 266 gezeigt). Die Steuersignalamplituden wurden so angepasst, dass die errechnete maximale Kugelgeschwindigkeit (Formel 2.1) bei allen Frequenzen möglichst ähnlich war. Es wurden für die unterschiedlichen Frequenzen mittlere Kugelgeschwindigkeiten von 2,16 mm/s (Standardabweichung 0,30 mm/s) und 4,65 mm/s (Standardabweichung 0,23 mm/s) verwendet (Abb. 2.4). Die Kugelauslenkungen variierten zwischen 17,5 μm beziehungsweise 38 μm bei 20 Hz und 4,2 μm beziehungsweise 8,6 μm bei 100 Hz für die geringeren beziehungsweise höheren Geschwindigkeiten. Die aus den Auslenkungen ebenfalls berechnete maximale Beschleunigung der Kugel (Formel 2.1) stieg nahezu kontinuierlich von 0,28 m/s² beziehungsweise 0,6 m/s² bei 20 Hz bis auf 1,65 m/s² beziehungsweise 2,96 m/s² bei 100 Hz an (Abb. 2.4).

$$\begin{aligned}
 v &= 2\pi fd & a &= \text{maximale Kugelbeschleunigung} \\
 a &= (2\pi f)^2 d & d &= \text{maximale Kugelauslenkung} \\
 & & f &= \text{Schwingungsfrequenz} \\
 & & v &= \text{maximale Kugelgeschwindigkeit}
 \end{aligned} \tag{2.1}$$

Zusätzlich wurde die grobe Position des/der von dem abgeleiteten Neuron innervierten Neuromasten bestimmt. Hierfür wurde eine 4 mm Kugel (Stecknadelkopf) an einem kleinen, batteriebetriebenen Vibrator befestigt und diese vibrierende Kugel manuell am Fisch vorbei bewegt. Die Neuromastenposition wurde anhand einer Änderung des Entladungsmusters bei einer bestimmten Position der vibrierenden Kugel relativ zum Fischkörper festgestellt. Die Amplituden wie auch die Frequenzen sind bei diesem Gerät direkt gekoppelt und konnten nicht genau bestimmt werden. Daher wurde die Stimulusintensität bei jedem abgeleiteten Neuron so gewählt, dass die Antwort gerade noch deutlich zu bemerken war. Die so ermittelte Position mit der deutlichsten neuronalen Antwort wurde einem der vier in Abbildung 2.7 auf Seite 54 eingezeichneten Abschnitten zugeordnet, wobei P1 den Kopf der Versuchstiere, P2 den vorderen Rumpfabschnitt, P3 den mittleren Rumpfabschnitt und P4 den caudalen Rumpfabschnitt umfasste.

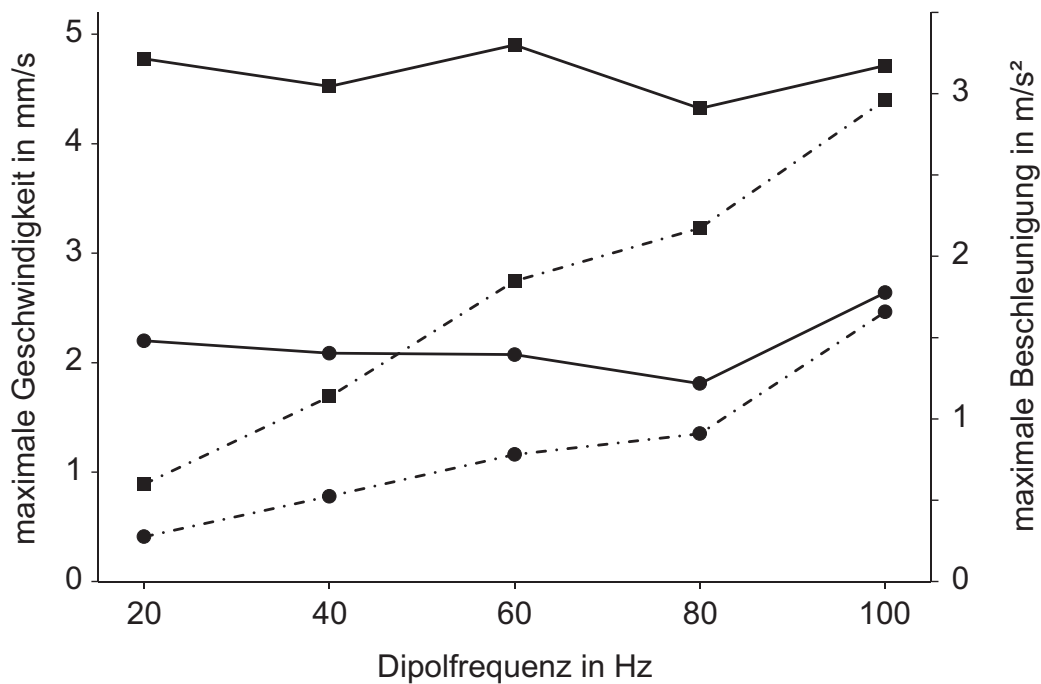


Abbildung 2.4: **Kalibrierung der mechanischen Dipolreize.** Die aus der Auslenkung des Dipolhalters errechneten maximalen Kugelgeschwindigkeiten (durchgezogene Linien & linke Ordinate) und maximale Kugelbeschleunigungen (gestrichelte Linien & rechte Ordinate) für die verwendeten Dipolfrequenzen bei geringer (2,16 mm/s, Kreise) und höherer Reizintensität (4,65 mm/s, Quadrate).

2.2.5 Stimulationsablauf und Datenanalyse

Für die Untersuchung des Einflusses der künstlichen Beatmung (KB) wurde die neuronale Aktivität von jeweils 30 s mit und ohne KB im Stillwasser beziehungsweise in Strömung verglichen. Hierfür wurden die Entladungen der Neurone erst mit KB 30 s lang aufgezeichnet und danach die KB für 40 s abgestellt. Der Übergang von 10 s zwischen an- und abgeschalteter KB wurden nicht in die Analysen einbezogen (Abb. 2.5). Um das Entstehen einer Druckwelle bei Anschalten des Propellers zu vermeiden, wurde bei den präsentierten Strömungsreizen zusätzlich die Motorspannung im Verlauf der ersten 5 s kontinuierlich erhöht. Zusätzlich wurde die Beschleunigung des Tankwassers im Verlauf der folgenden 15 s nicht in die Analyse einbezogen, da die Strömungsgeschwindigkeit in diesem Zeitbereich noch nicht konstant war (siehe Abschnitt 2.2.3). Die bei den caudo-rostralen Strömungsreizen durchgeführte Drehung des Schottelantriebs um 180° wurde ebenfalls nicht für die Analyse der neuronalen Entladungen genutzt.

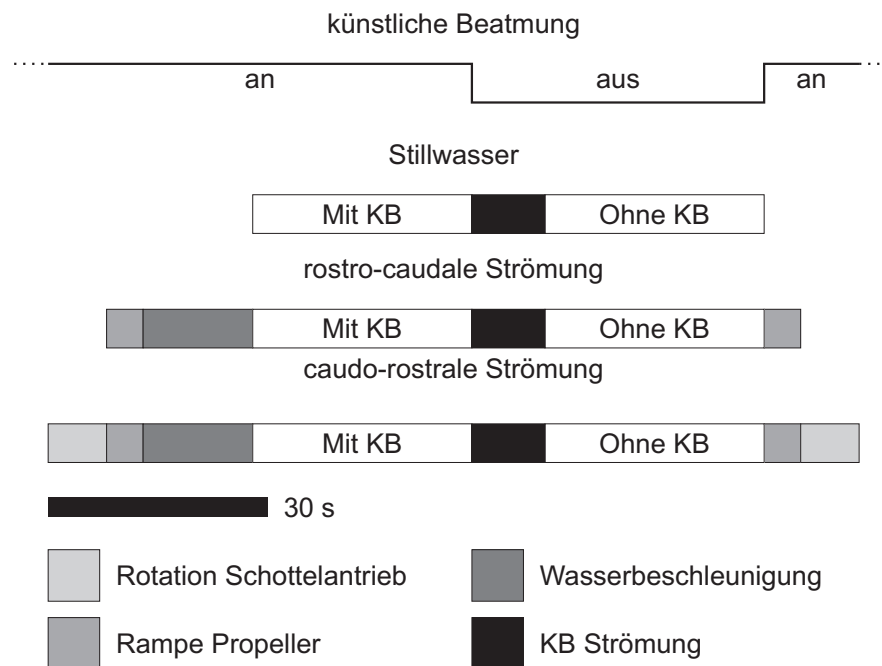


Abbildung 2.5: **Stimulationsablauf bei der Untersuchung des Einflusses der künstlichen Beatmung im Stillwasser und in Strömung.** Von oben nach unten: Status der künstlichen Beatmung, Stillwasserprotokoll mit einer Gesamtdauer von 70 s mit Übergang (schwarzer Balken) zwischen der Phase mit und ohne KB, rostrocaudale Strömung mit einer Gesamtdauer von 95 s mit Beschleunigungsphase des Wassers (dunkelgraue Balken, siehe auch Abb. 2.3B) sowie caudo-rostrale Strömung mit einer Gesamtdauer von 111 s mit zusätzlicher Rotation des Schottelantriebs (hellgrau, siehe auch Abschnitt 2.2.3). Die weiß gekennzeichneten Abschnitte mit einer Länge von 30 s und konstanten Strömungsbedingungen wurden zur Auswertung genutzt.

Stimulationsablauf zur Untersuchung des Einflusses der künstlichen Beatmung auf die neuronale Aktivität bei der Präsentation von Dipolreizen

Dipolreize unterschiedlicher Frequenz wurden innerhalb eines Stimulationsprotokolls bei ein- und ausgeschalteter künstlicher Beatmung jeweils fünf mal in randomisierter Reihenfolge präsentiert. Der Abstand zwischen den Reizen wurde variiert, wobei dieser mindestens 250 ms und im Mittel 500 ms betrug. Hierdurch sollte eine Überlagerung der neuronalen Antwort auf die Reizpräsentation mit Zeiteffekten vermieden werden. Die verschiedenen Dipol-Stimuli wurden anhand von Trigger- und Markersignalen während der Stimulation gekennzeichnet, sodass in der Analyse die einzelnen Frequenzen, Amplituden sowie der Status der KB zugeordnet werden konnte. Das Stimulationsprotokoll entsprach im Wesentlichen der zur Untersuchung des Einflusses der KB im Stillwasser verwendeten Struktur, wobei die einzelnen Phasen jedoch länger waren (im Mittel ungefähr 42 s) und ihre tatsächliche Länge aufgrund des zufälligen Interstimulusintervalls variierte.

Analyse der elektrophysiologischen Ableitungen

Die elektrophysiologischen Ableitungen wurden mit Spike2 (Cambridge Electronic Design) und selbstgeschriebenen Skripten analysiert. Die zuvor aufgezeichneten Ableitungen (Originalableitungen mit 10 kHz und 16 Bit) wurden in Spike2 auf den Frequenzbereich zwischen 100 Hz und 10 kHz begrenzt (Filtereinstellungen: DC Remove 0,01 s; Smooth 0,0001 s). Weitere Analysen wurden nur für Aufnahmen durchgeführt, wenn die Amplitude der Entladungen mindestens 3-mal so groß wie das Grundrauschen war und im Verlauf der Ableitung nur geringe Schwankungen zeigte. Die meisten Ableitungen hatten ein Signal-Rausch-Verhältnis von mehr als 5:1. Anschließend wurden die Entladungen aus den Signalverläufen mittels Schwellenwert-Methode in digitale Events (Zeitpunkt der Entladung) überführt und hieraus die Instantanenfrequenzen (Reziprok des Inter-Spike-Intervalls) berechnet. Die Instantanenfrequenzen der abgeleiteten Neurone wurden für die jeweils 30 s langen Stimulationen (Abb. 2.5) aus Spike2 exportiert, mittels Visual-Basic-for-Application (VBA)-Makro in Excel 2010 importiert und anschließend mittels Plugin in R (RExcel, Version 3.2.2, Erich Neuwirth; R system software, Version 2.14.1, The R Foundation; R(D)COM server Version 3.1-2B7, Thomas Baier; R-commander, Rcmdr, Version 1.8-1, John Fox) analysiert und dargestellt.

Mittlere Entladungsrate und Entladungsmuster im Stillwasser und in Strömung

Die neuronale Aktivität wurde anhand der mittleren Entladungsrate (Anzahl der Entladungen geteilt durch 30 s Stimulationsdauer) untersucht. Neuronale Informationskodierung kann nicht nur durch eine Zu- oder Abnahme der Entladungsrate erfolgen, sondern auch durch eine Veränderung des Entladungsmusters. Deshalb wurde das Entladungsmuster anhand des Histogram Density Index (HDI) beschrieben. Hierfür wurde die mittlere Entladungsrate durch den Mittelwert der Instantanenfrequenzen des Neurons geteilt. Der HDI ist als dimensionsloser Faktor von der absoluten Entladungsrate entkoppelt und beschreibt die Regelmäßigkeit des Entladungsmusters der Neurone hinsichtlich der Verteilung der Inter-Spike-Intervalle (Abb. 2.6).

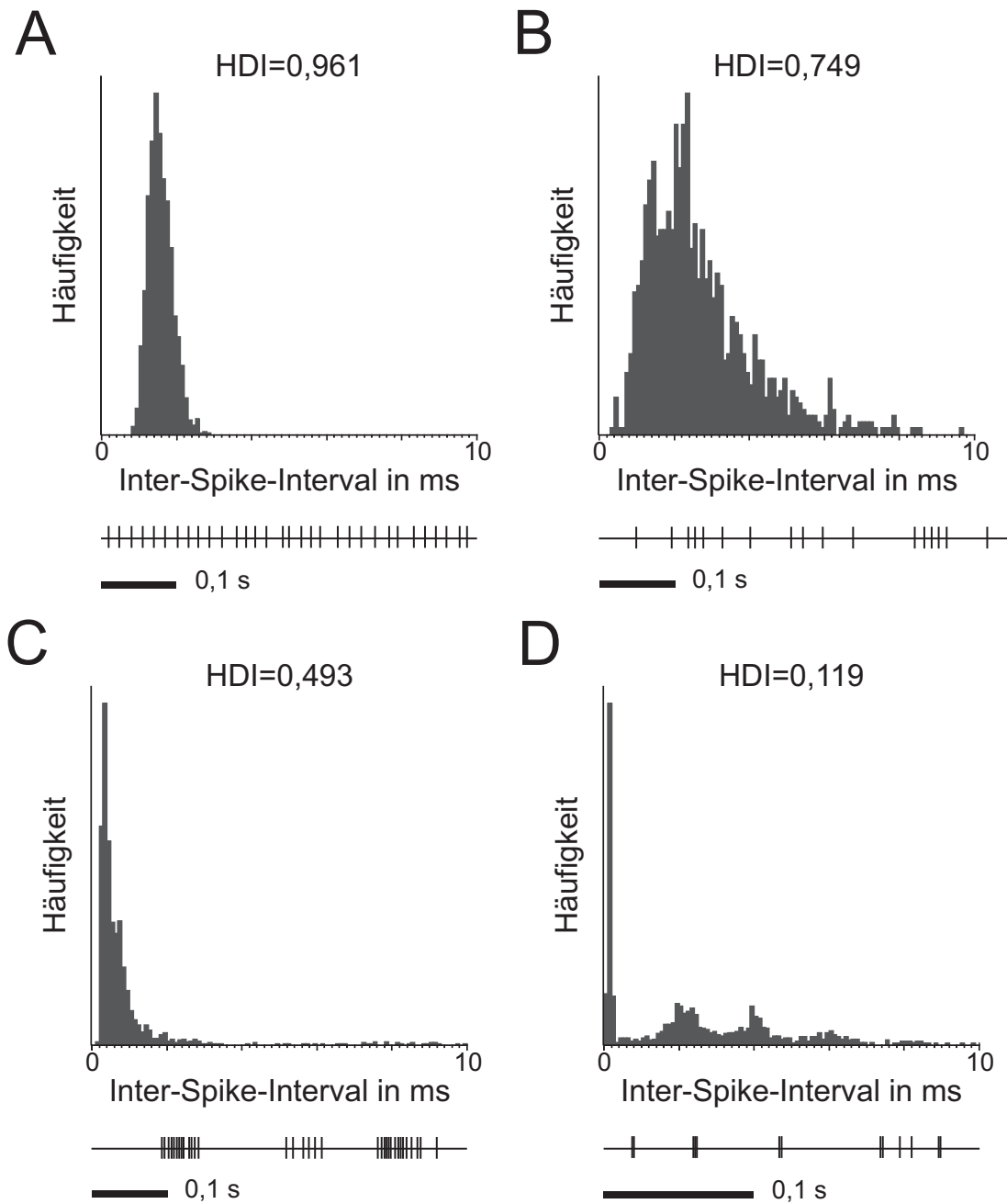


Abbildung 2.6: **Entladungsmuster und zugehörige HDI-Werte.** **A bis D:** Beispielhafte Entladungsmuster und Verteilung der Inter-Spike-Intervalle von vier primären Afferenzen. **A:** sehr regelmäßiges Entladungsmuster mit nahezu gleichem Inter-Spike-Intervall und schmaler, symmetrischer Verteilungsfunktion. **B:** unregelmäßigeres Entladungsmuster mit breiter, unsymmetrischer Verteilung der Inter-Spike-Intervalle. **C:** unregelmäßiges Entladungsmuster mit einer starken zeitlichen Häufung der Entladungen und schiefer Verteilung der Inter-Spike-Intervalle. **D:** sehr unregelmäßiges Entladungsmuster mit deutlich ungleichmäßig verteilten Inter-Spike-Intervallen mit mehreren Maxima. **Jeweils oben:** Interspike-Histogramm aus 30 s Ableitungen. **Jeweils unten:** Sequenz des Entladungsmusters.

Bei einer mittleren Entladungsrate der Neurone größer 1 Hz liegt der HDI zwischen 0 und 1. Ein HDI-Wert von 1 entspricht hierbei einem extrem regelmäßigen Muster mit einem konstanten Abstand der Entladungen, bei dem der Mittelwert

der Instantanfrequenzen der mittleren Entladungsrate entspricht (Abb. 2.6A). Bei einem HDI-Wert nahe 0 hingegen liegt ein sehr unregelmäßiges Entladungsmuster mit starker Variation der Inter-Spike-Intervalle vor, wobei der Mittelwert der Instantanfrequenzen durch die gehäuft auftretenden, sehr hohen Instantanfrequenzen wesentlich größer ist als die mittlere Entladungsrate des Neurons (Abb. 2.6C, D).

Relative Entladungsratenänderungen durch künstliche Beatmung und großräumige Strömung

Die relativen Entladungsratenänderungen, bezogen auf einen Referenzwert, wurden mittels mehrerer Faktoren ausgedrückt. Da teilweise bei dem Referenzwert oder der Stimulationsbedingung keine Entladungen festzustellen waren, wurde die relative Entladungsratenänderung nicht direkt prozentual angegeben, sondern in Anlehnung an den Signed Directivity Index (Wagner & Takahashi 1992) berechnet. Zur Bestimmung der Sensitivität auf die künstliche Beatmung wurde der Signed Ventilation Index (SVI) verwendet, der bei jeweils gleicher Strömungsbedingung die Entladungsrate mit und ohne künstliche Beatmung vergleicht:

$$SVI = \begin{cases} 100 \cdot (1 - \frac{f_O}{f_K}) & \text{für } f_K > f_O \\ 100 \cdot (\frac{f_K}{f_O} - 1) & \text{für } f_K < f_O \end{cases} \quad (2.2)$$

f_O = mittlere Entladungsrate ohne künstliche Beatmung

f_K = mittlere Entladungsrate mit künstlicher Beatmung

Zur Beschreibung der relativen Strömungsantwort wurde der Signed Flow Index (SFI) genutzt und die Entladungsraten im Stillwasser und bei Stimulation mit großräumiger Strömung verglichen:

$$SFI = \begin{cases} 100 \cdot (1 - \frac{f_S}{f_F}) & \text{für } f_F > f_S \\ 100 \cdot (\frac{f_F}{f_S} - 1) & \text{für } f_F < f_S \end{cases} \quad (2.3)$$

f_S = mittlere Entladungsrate im Stillwasser

f_F = mittlere Entladungsrate in Strömung

Die relativen Änderungswerte des SVI und SFI liegen alle zwischen -100 und +100. Ein Wert von 0 zeigt hierbei eine gleich hohe Entladungsrate bei dem Referenzwert oder der Stimulationsbedingung an. Werte von 100 oder -100 zeigen,

dass bei einer der beiden Bedingungen keine Entladungen vorgefunden wurden. Das relative Änderungsmaß kann nicht bestimmt werden, wenn bei beiden zu vergleichenden Stimulationen keine Entladungen festzustellen waren.

Stimulation mit Dipolreizen

Die neuronalen Entladungsmuster der Neurone bei Stimulation mit Dipolreizen wurden anhand der mittleren Entladungsrate (Anzahl der Entladungen geteilt durch die Stimulationsdauer) und der Phasenkopplung untersucht. Die Phasenkopplung wurde anhand des mittleren Phasenwinkels und des Synchronitätskoeffizienten R (Goldberg & Brown 1969) ausgedrückt. Der Synchronitätskoeffizient kann zwischen 0 und 1 liegen, wobei 0 eine völlige Gleichverteilung der Entladungen über die Stimulusphase anzeigt und 1 einer perfekten Synchronität bezogen auf die Stimulusphase entspricht. Zusätzlich wurde mittels Rayleightest der Z -Wert bestimmt und anhand dieses Z -wertes geprüft, ob eine signifikante Phasenkopplung ($Z > 4,6$ für $p \leq 0,01$) vorlag (Batschelet 1981, Formel 2.4). Zur Berechnung der Parameter und zur Durchführung der Statistik wurde das "mean_angle"-Skript (www.ced.co.uk/files/Scripts/mean_angle.zip, Cambridge Electronic Design) genutzt. Da einige Neurone phasische Antworten (Onset) auf Dipolreize zeigen (Müller 2007; Frings 2011), wurde die erste und zweite Hälfte der Stimuli jeweils separat untersucht und in der vorliegenden Arbeit nur die zweite Stimulushälfte zur Auswertung herangezogen.

$$\begin{aligned}
 Z &= R^2 \cdot N \\
 R &= \textit{Synchronitätsindex} \\
 N &= \textit{Entladungsanzahl}
 \end{aligned}
 \tag{2.4}$$

Die Seitenliniennervenfaseren wurden anhand ihrer neuronalen Antworten auf die präsentierten Dipolfrequenzen (20, 40, 60, 80, 100 Hz) in vier Typen (A, B, C, D) eingeordnet: Fasern des Dipolantworttyp-A wiesen ein Hochpassverhalten auf, reagierten also vornehmlich auf hohe Frequenzen von 80 Hz oder 100 Hz mit einer starken Zunahme der Entladungsraten und Phasenkopplung, wohingegen die Antworten auf Dipolreize niedriger Frequenz wesentlich geringer ausfielen beziehungsweise ganz fehlten. Fasern des Dipolantworttyp-B wiesen maximale Entladungsraten bei Dipolfrequenzen von 60 oder 80 Hz auf, wohingegen die Entladungsraten bei höheren und niedrigeren Dipolfrequenzen geringer waren. Die Fasern des Dipolantworttyp-C zeigten eine gleichmäßige Zunahme der Entladungsrate mit ansteigenden Dipolfrequenzen und nur geringe Entla-

dungsratenunterschiede zwischen den beiden präsentierten Dipolintensitäten von 2,16 mm/s und 4,65 mm/s. Die Fasern des Dipoltyp-D zeigten bei Stimulation mit dem mechanischen Dipol keine Erhöhung der Entladungsrate und zumeist keine signifikante Phasenkopplung.

Clusteranalysen

Aufgrund der morphologischen Variabilität der peripheren Seitenlinie (Oberflächen- und Kanalneuromasten, räumliche Orientierung der Neuromasten und Kanalabschnitte, Position auf dem Fischkörper) waren innerhalb der abgeleiteten Seitenliniennervenfasern und MON-Neuronen potentiell unterschiedliche Teilgruppen zu erwarten, welche auf die präsentierte Stimulation unterschiedlich reagieren. Daher wurde mittels Clusteranalysen untersucht, ob sich die abgeleiteten Neurone aufgrund bestimmter Antwortparameter (beispielsweise die Beeinflussung der neuronalen Aktivität durch die künstliche Beatmung) in deutlich getrennte Untergruppen (Cluster) einteilen lassen und ob diese Cluster sich auch in weiteren relevanten Parametern in ihrem neuronalen Antwortmuster (beispielsweise Strömungssensitivität) unterscheiden.

Hierzu wurde ein agglomeratives Clusterverfahren mit Ward's minimaler Varianz als Fusionsalgorithmus (Ward 1963) und euklidischer Distanzbestimmung der untersuchten Variablen verwendet. Das zugehörige Dendrogramm zeigt hierbei die Beziehung der Daten zueinander. Die Ähnlichkeit der jeweiligen "Blätter" des Stammbaumes (in der vorliegenden Arbeit jeweils im unteren Bereich des Dendrogramms) zueinander wird hierbei anhand hierarchischer, zumeist dichotomer, Verzweigungen (Knoten) dargestellt, wobei die Distanz der "Blätter" (in der vorliegenden Arbeit als Höhe bezeichnet) zueinander durch die Länge der "Äste" dargestellt wird. Das hierarchische Clusterverfahren teilt somit die untersuchte Population von Individuen nicht in eine bestimmte und vorher definierte Anzahl an Gruppen ein, sondern liefert durch die Stärke der Ähnlichkeiten der "Blätter" nur die Grundlage für eine spätere, manuelle Festlegung auf eine bestimmte Gruppenanzahl (weitere Übersichten beispielsweise in Cormack 1971; Hartung & Elpelt 1984; Bacher et al. 2010; Härdle & Simar 2012).

2.3 Ergebnisse

Das Strömungsmuster der künstlichen Beatmung (KB) im Stillwasser ist in Abbildung 2.7 beispielhaft für *Leuciscus idus melanotus* und *Carassius auratus auratus* für eine Dauer von 3 s gezeigt. Bei *Leuciscus idus* war die Wasserströmung der künstlichen Beatmung primär rostro-caudal gerichtet, wobei die Geschwindigkeit mindestens 3 cm/s betrug. Zusätzlich zu dieser DC-Komponente wurden Verwirbelungen an den Randgebieten festgestellt, wo die Beatmungsströmung auf das stehende Wasser des Versuchstanks traf. Hierbei war der ventrale Bereich des Fischrumpfes stärker betroffen als der dorsale. Zusätzlich ist ein kleiner Teil des Beatmungswassers aus dem Maul herausgeflossen. Bei *Carassius auratus* hingegen war der Anteil, welcher das Maul verließ, wesentlich größer als bei *Leuciscus idus*. Der verbleibende Wasserstrom durch die Kiemen war stärker ventral gerichtet als bei *Leuciscus idus*, wodurch nur ein kleiner Teil des vorderen ventralen Rumpfabschnitts direkt von der KB betroffen war. Der Wasserstrom der KB wurde hierbei nur exemplarisch untersucht, wobei die Ausprägung der Wasserbewegung vermutlich ebenfalls von Faktoren wie der Fischgröße und der Montage der Versuchstiere auf dem Fischhalter abhängt. Die Auswirkungen dieser Strömungsmuster auf die neuronale Aktivität primärer Afferenzen und Neuronen des MON wird nachfolgend untersucht.

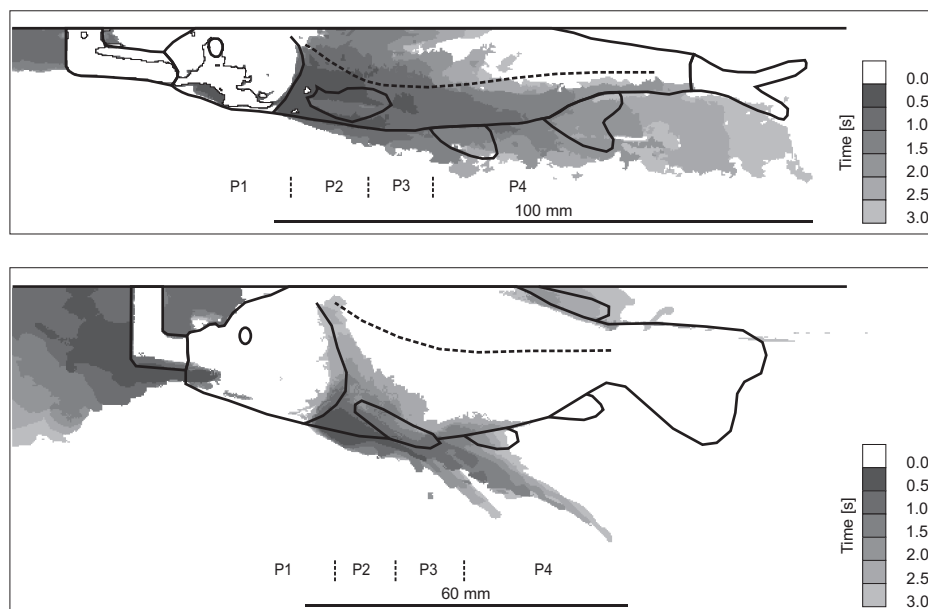


Abbildung 2.7: **Durch künstliche Beatmung verursachte Wasserströmung bei *Leuciscus idus* (oben) und *Carassius auratus* (unten).** Der zeitliche Verlauf der Wasserbewegung ist in Graustufen codiert. Um den Einfluss der KB in Abhängigkeit der Neuromastenposition auf dem Fischkörper zu untersuchen, wurde die Position des/der Neuromasten mit einer kleinen vibrierenden Kugel bestimmt und den vier Abschnitten P1 bis P4 zugeordnet.

2.3.1 Beeinflussung der neuronalen Aktivität primärer Afferenzen von *Leuciscus idus* und *Carassius auratus*

Künstliche Beatmung im Stillwasser

Ein Beispiel einer elektrophysiologischen Ableitung von dem posterioren Seitenliennerv bei *Leuciscus idus* ist in Abbildung 2.8 gezeigt. Die neuronale Aktivität dieser PLLN-Faser verringerte sich unmittelbar (innerhalb etwa 1 s) nach dem Abschalten der künstlichen Beatmung. Mit KB war die mittlere Entladungsrate der Faser erhöht (Mittelwert = $60,0 \pm$ Standardabweichung 2,9 für die 10 Stimulationen) und variierte zudem stärker (HDI = $0,31 \pm$ Standardabweichung 0,02 für die 10 Stimulationen), wohingegen die mittleren Entladungsraten ohne KB geringer waren (Mittelwert = $41,3 \pm$ Standardabweichung 2,7 für die 10 Stimulationen) und ein regelmäßigeres Muster aufwiesen (HDI = $0,75 \pm$ Standardabweichung 0,02 für die 10 Stimulationen). Mit KB wurden Spitzenwerte der Instantanfrequenzen von über 300 Hz festgestellt, welche Akkumulationen von Entladungen repräsentieren, welche mit sehr kurzem Abstand (weniger als 4 ms) aufeinander folgen. Wenn die KB abgestellt wurde, traten diese hohen Instantanfrequenzen kaum noch auf. Wann immer es möglich war, wurde die Stimulation mit KB wiederholt, um die Reproduzierbarkeit der beobachteten Effekte festzustellen. Die Abbildung 2.8B zeigt das Peristimulus-Time-Histogram für 10 Abschaltvorgänge der KB der in Abbildung 2.8A gezeigten Faser. Dieses Beispiel verdeutlicht, dass die Effekte der KB reproduzierbar und in Koinkidenz mit dem Abschalten der KB waren.

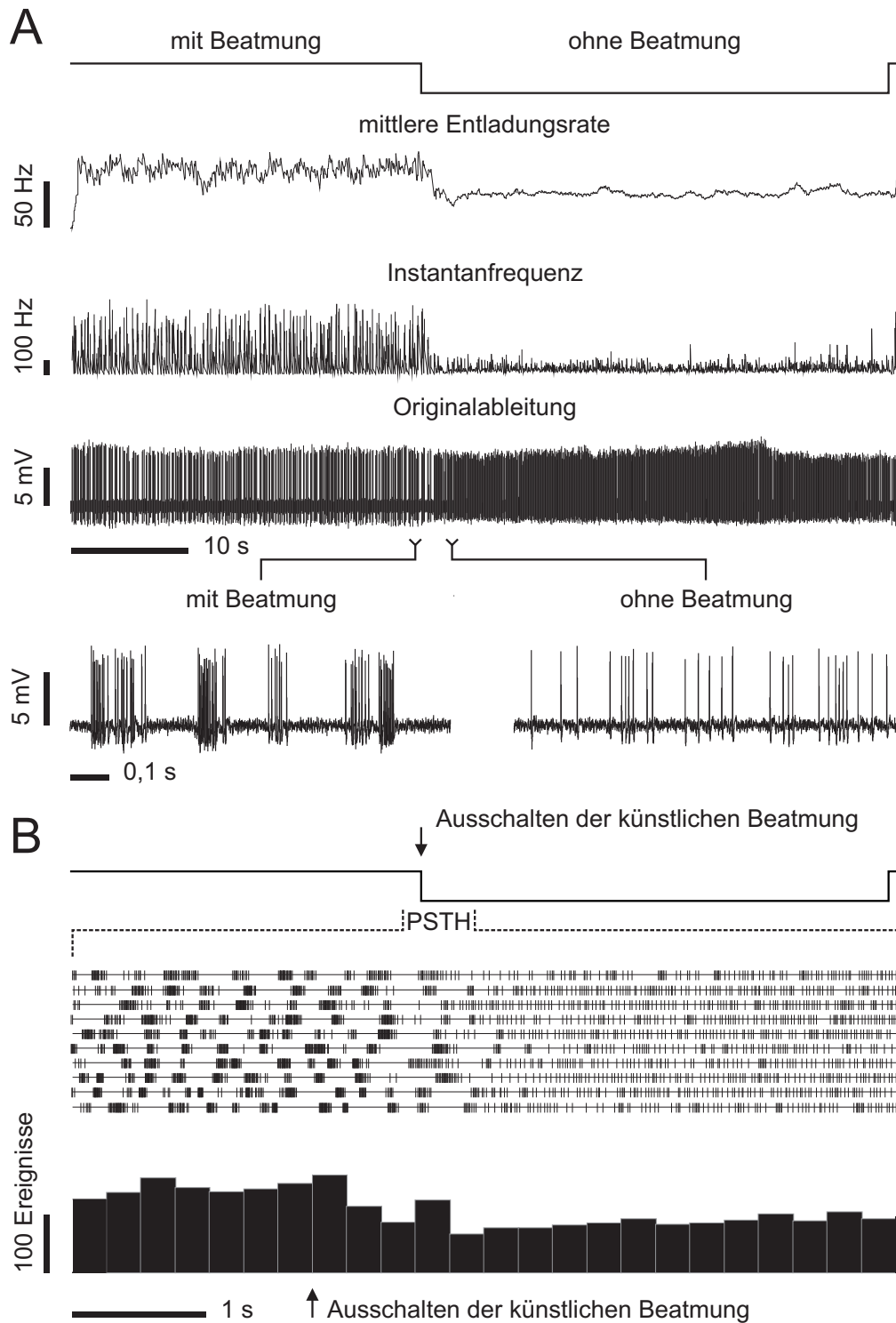


Abbildung 2.8: Neuronale Aktivität einer PLLN-Faser von *Leuciscus idus* im Stillwasser. **A:** von oben nach unten: Zeitspur der künstlichen Beatmung (etwa 200 ml/min), über 0,1 s gemittelte Entladungsrate, Instantanfrequenz, Originalaufnahme, Vergrößerungen eines Zeitbereiches mit (links) und ohne (rechts) KB. **B:** Peristimulus-Time-Histogram ($n=10$) der in A gezeigten PLLN-Faser. Von oben nach unten: Zeitverlauf der KB mit dargestelltem Zeitverlauf, Raster Plot über 10 Wiederholungen (vertikale Linien zeigen Entladung), aufsummierte Entladungen über 0,25 s Zeitintervalle. Pfeil: Zeitpunkt des Abschaltens der KB.

Die mittleren Entladungsraten der 101 im Stillwasser mit und ohne KB aufgenommenen Seitenliniennervenfaser sind in Abbildung 2.9 gezeigt. Es wurden Entladungsraten von weniger als 1 Hz bis mehr als 200 Hz ermittelt (mit KB: Mittelwert = 39,8 Hz; Median = 33,3 Hz; ohne KB: Mittelwert = 34,0 Hz; Median = 27,6 Hz). Im Mittel waren die Entladungsraten der primären Afferenzen erhöht, wenn die KB vorhanden war (Zweiseitiger, gepaarter Wilcoxon Vorzeichenrangtest mit Kontinuumskorrektur: $V = 774$; p -Wert = $2,934e-09$; Medianunterschied = 1,7 Hz). Die Daten der in Abbildung 2.8 beispielhaft gezeigten PLLN-Faser sind in Abbildung 2.9 als größerer, schwarz gefüllter Kreis eingezeichnet.

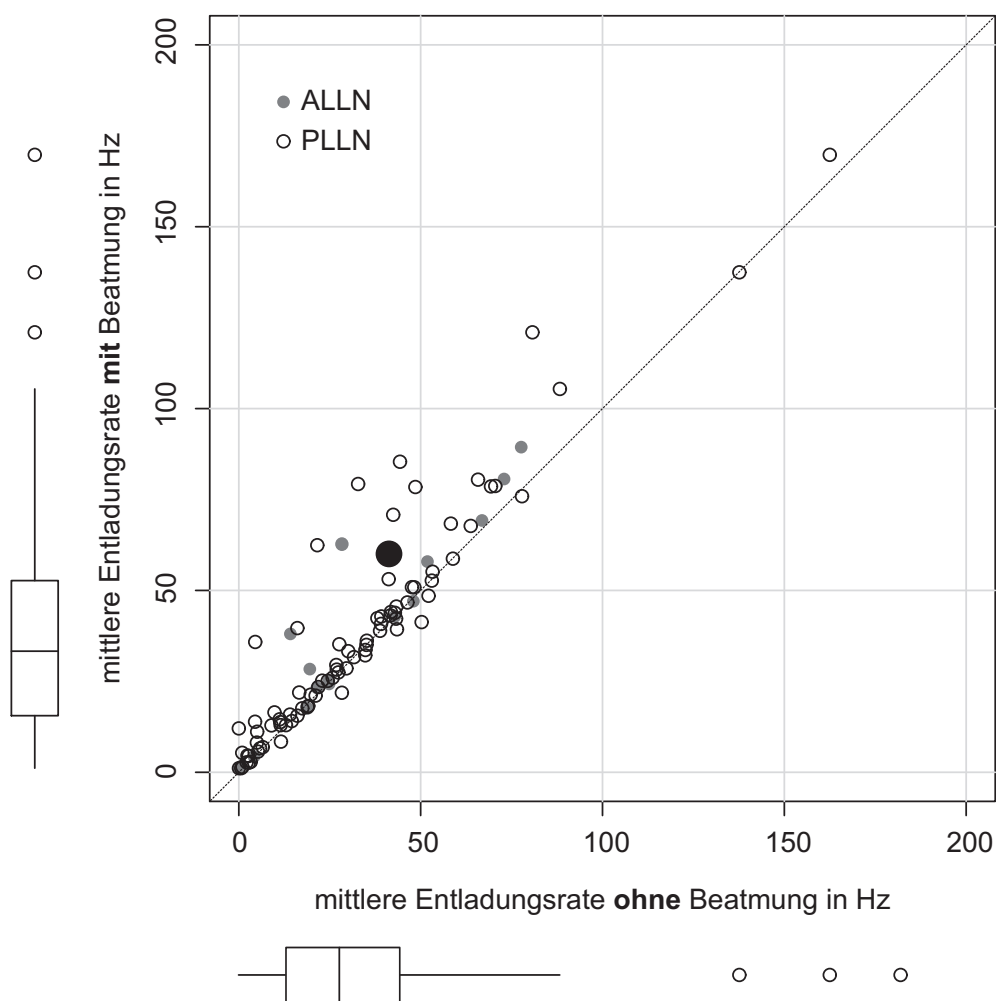


Abbildung 2.9: **Einfluss der künstlichen Beatmung auf die mittleren Entladungsraten primärer Afferenzen von *Leuciscus idus* und *Carassius auratus* im Stillwasser.** Mittlere Entladungsraten anteriorer (grau gefüllte Kreise, $n=15$) und posteriorer (ungefüllte Kreise, $n=86$) Seitenliniennervenfaser mit KB sind gegen die mittleren Entladungsraten ohne KB aufgetragen. Box-and-whisker-plots an den Achsen zeigen die Verteilung der mittleren Entladungsraten beider Bedingungen für alle Fasern. Die gepunktete Linie zeigt gleiche Entladungsraten in beiden Bedingungen an. Die Entladungsraten der in Abbildung 2.8 auf der vorherigen Seite gezeigten PLLN-Faser sind als großer, schwarz gefüllter Kreis dargestellt. Eine Nervenfaser ist aufgrund ihrer Entladungsrate mit KB von über 200 Hz nicht im Diagramm dargestellt.

Da die absoluten Entladungsraten zwischen den Fasern stark variierten, wurde die Antwort auf die KB in ein relatives Änderungsmaß, den Signed Ventilation Index (SVI), überführt. Die relativen Aktivitätsänderungen der primären Afferenzen durch die KB sind bezogen auf die mittleren Entladungsraten im Stillwasser ohne KB in Abbildung 2.10 dargestellt. Die Daten der in Abbildung 2.8 gezeigten PLLN-Faser sind als schwarz gefüllter Kreis eingezeichnet. Diese Faser zeigte eine Abnahme der Entladungsrate von 31,2% (SVI-Wert = 31,2), wenn die KB abgeschaltet wurde.

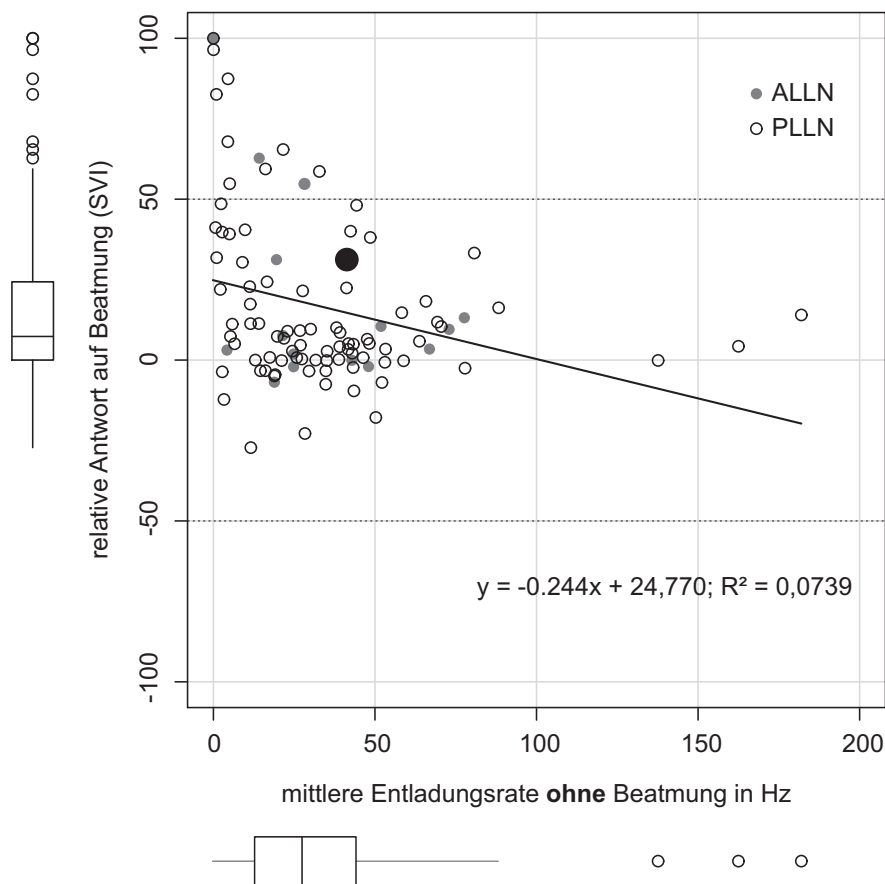


Abbildung 2.10: **Einfluss künstlicher Beatmung auf die relative neuronale Aktivität primärer Afferenzen bei *Leuciscus idus* und *Carassius auratus* im Stillwasser.** Die relative Änderung der neuronalen Aktivität anteriorer (grau gefüllte Kreise, n=15) und posteriorer (ungefüllte Kreise, n=86) Seitenliniennervenfasern aufgrund der KB im Stillwasser ist den mittleren Entladungsraten ohne KB im Stillwasser (Ruheaktivität) gegenübergestellt. Die Daten der in Abbildung 2.8 auf Seite 56 gezeigten PLLN-Faser sind als größerer, schwarz gefüllter Kreis dargestellt. Box-and-whisker-plots an den Achsen zeigen die Verteilung der SVI-Werte und mittlere Entladungsraten ohne KB im Stillwasser für alle Fasern. Die eingezeichnete Gerade ist die lineare Regression der mittleren Entladungsraten ohne KB und der relativen Antwort auf die KB. Positive SVI-Werte entsprechen einer Erhöhung der neuronalen Aktivität bei vorhandener KB, wohingegen negative SVI-Werte eine Verringerung anzeigen. Die gestrichelten Linien zeigen eine Halbierung (SVI-Wert 50) oder Verdopplung (SVI-Wert -50) der neuronalen Aktivität bezogen auf die Ruheaktivität an. Der SVI-Wert 100 zeigt an, dass neuronale Aktivität nur vorhanden war, wenn die KB angeschaltet war, wobei diese Fasern keine Ruheaktivität haben.

Die SVI-Werte der Seitenliniennervenfasern sind signifikant von Null verschieden (ein-Stichproben-t-Test: $t = 6,2973$ für 100 Freiheitsgrade; p -Wert = $8,148e-09$). Die primären Afferenzen zeigten mit KB eine erhöhte relative neuronale Aktivität (Mittelwert = $16,5$; Median = $7,3$). Die relative Änderung der neuronalen Aktivität korrelierte negativ mit der mittleren Entladungsrate im Stillwasser ohne KB (Spearman's Rangkorrelation: $S = 220147,6$; p -Wert = $0,004253$; $\rho = -0,282164$). Dieser Zusammenhang lässt sich jedoch nicht gut durch eine lineare Regression vorhersagen ($y = -0,244x + 24,770$; Residuen Standardfehler = $25,32$ für 99 Freiheitsgrade; angepasstes $R^2 = 0,07385$; F-Wert = $8,974$ für 1 and 99 Freiheitsgrade; p -Wert = $0,003461$). Die größten SVI-Werte wurden bei Fasern mit geringer Ruheaktivität gefunden. Da jedoch einige Fasern mit geringer mittlerer Aktivität im Stillwasser ohne KB keine oder nur eine geringe Änderung der neuronalen Aktivität durch die KB zeigten, gilt der Umkehrschluss, dass eine geringe Ruheaktivität auch eine starke relative Antwort bedingt, nur unzureichend.

Da die relativen Antworten auf die künstliche Beatmungsströmung innerhalb der primären Afferenzen sehr variabel waren, wurde mittels Clusteranalyse untersucht, ob sich die Afferenzen aufgrund ihrer relativen Antwort auf die künstliche Beatmung in Gruppen einteilen lassen. Das Dendrogramm der Clusteranalyse (SVI-Werte, Methode: Wards, Distanz: euklidisch) zeigt zwei Hauptgruppen (1 und 2 in Abb. 2.11A).

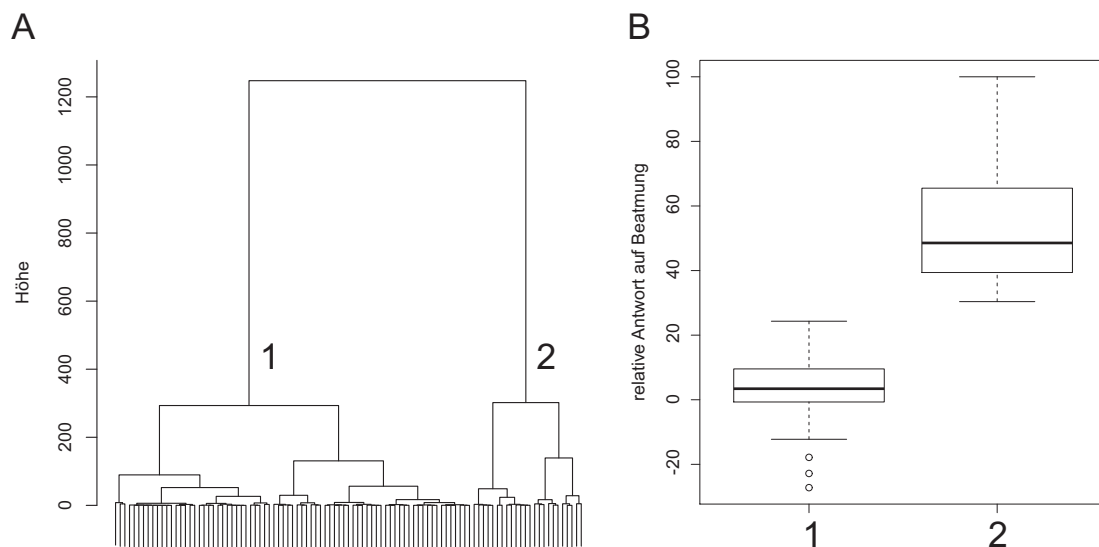


Abbildung 2.11: **Clusteranalyse der relativen Änderungen der neuronalen Aktivität primärer Afferenzen in Abhängigkeit der künstlichen Beatmung.** A: Dendrogramm B: Vergleich der SVI-Werte für Gruppe 1 und 2 aus A.

Die meisten primären Afferenzen (Gruppe 1) zeigten nur eine geringe Beeinflussung der Ruheaktivität durch die künstliche Beatmung (SVI-Werte zwischen

-27,2 und 24,3, Median = 3,4), wohingegen bei 25 der 101 primären Afferenzen (Gruppe 2) ein stärkerer Effekt mit Ratenabnahmen von mehr als 30% auftrat (SVI-Werte zwischen 30,4 und 100; Median = 48,6) (Abb. 2.11B).

Die 76 primären Afferenzen der Gruppe 1, welche eine geringe Beeinflussung der mittleren Entladungsraten zeigten, wurden hinsichtlich einer Änderung im zeitlichen Muster des Auftretens von Entladungen untersucht, um eine Änderung des Entladungsmusters bei vergleichbarer absoluter Entladungsrate zu detektieren. Die entsprechenden HDI-Werte für Stillwasser mit und ohne Beatmung sind in Abbildung 2.12 gezeigt.

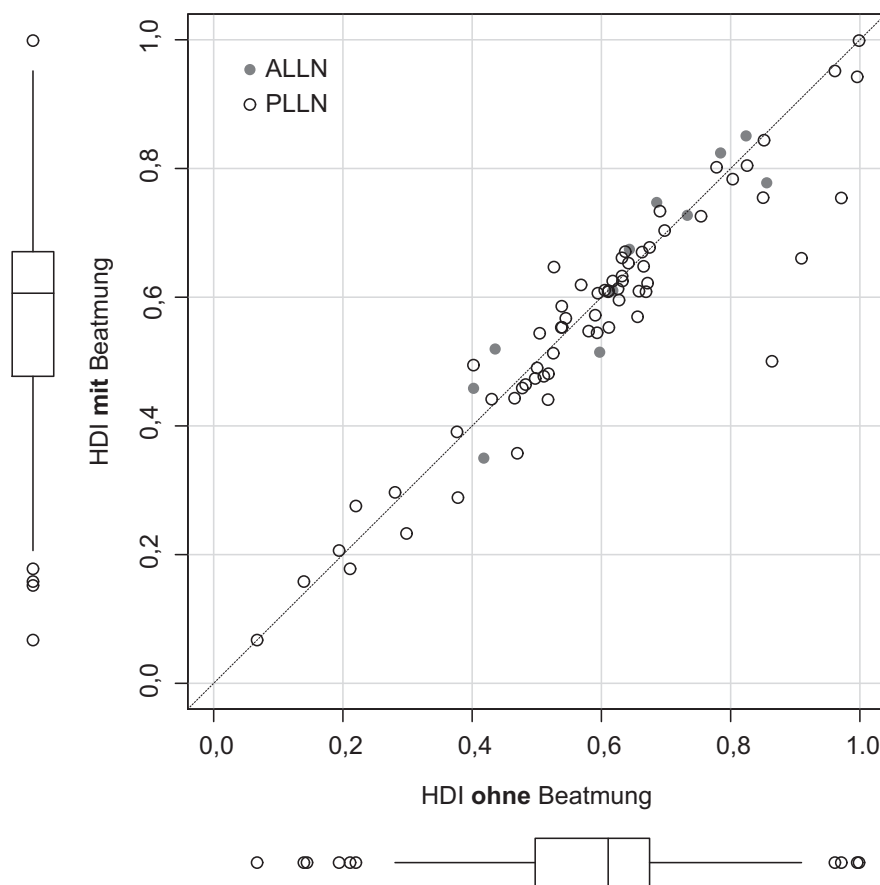


Abbildung 2.12: **Einfluss der künstlichen Beatmung im Stillwasser auf das Entladungsmuster primärer Afferenzen bei *Leuciscus idus* und *Carassius auratus* mit geringer relativer Entladungsratenänderung.** Die Regelmäßigkeit des Entladungsmusters (HDI) anteriorer (grau gefüllte Kreise, $n = 11$) und posteriorer (ungefüllte Kreise, $n = 65$) Seitenliniennervenfaser mit geringer Ratenänderung ohne und mit KB sind gegenübergestellt. Box-and-whisker-plots an den Achsen zeigen die Verteilung der HDI-Werte ohne und mit KB für alle Fasern. HDI-Werte nahe 1 zeigen hierbei ein sehr regelmäßiges Entladungsmuster an, wobei der Abstand zwischen sukzessiven Entladungen nahezu konstant ist. HDI-Werte nahe 0 hingegen zeigen ein sehr unregelmäßiges Muster mit großer Variabilität in den Abständen zwischen aufeinanderfolgenden Entladungen (Bursts) an (siehe auch Abb. 2.6 auf Seite 50).

Die HDI-Werte der primären Afferenzen mit einer geringen Ratenänderung

waren bei vorhandener künstlicher Beatmung kleiner als ohne KB (Einseitiger, gepaarter Wilcoxon Vorzeichenrangtest mit Kontinuumskorrektur: $V = 1094$; p -Wert = 0,04047; Medianunterschied = 0,0074). Das Entladungsmuster war somit bei eingeschalteter KB unregelmäßiger. Dies gilt insbesondere für Fasern, die ein sehr regelmäßiges Entladungsmuster (hohe HDI-Werte) ohne KB zeigten.

Künstliche Beatmung bei Strömungsstimulation

Der Einfluss der künstlichen Beatmung auf die Entladungsraten wurde auch während der Stimulation der Seitenlinie mit einer großräumigen Wasserströmung untersucht (Abb. 2.13).

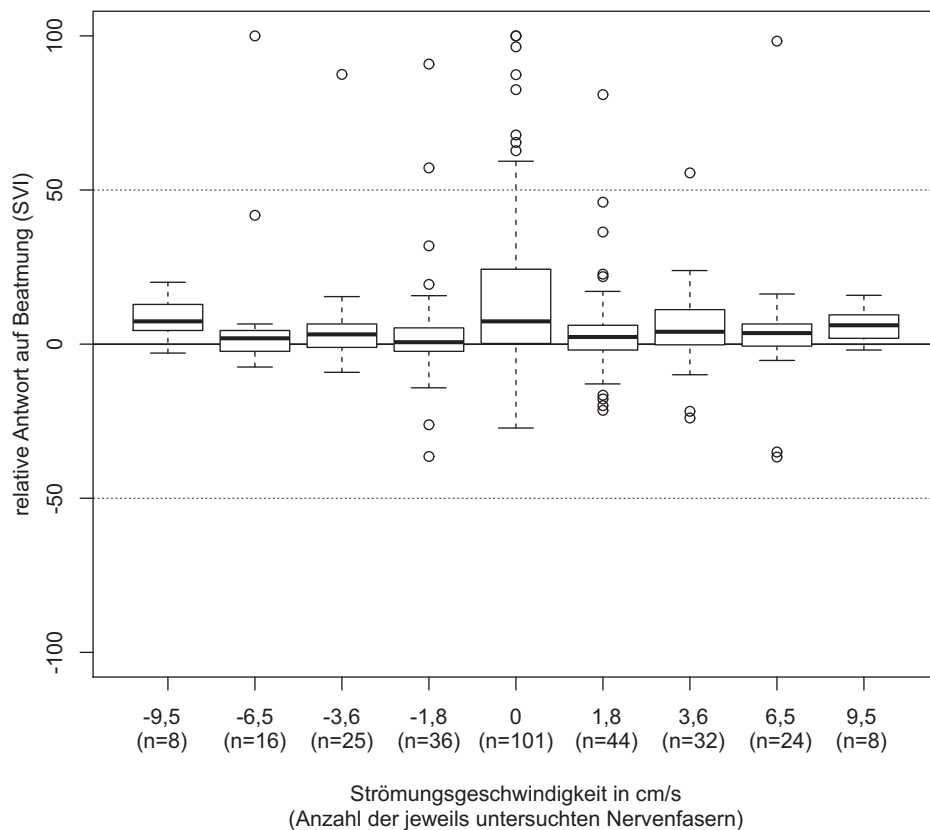


Abbildung 2.13: **Einfluss der künstlichen Beatmung auf die Entladungsrate der primären Afferenzen im Stillwasser und bei Stimulation mit Strömung.** Die relativen Entladungsratenänderungen durch die KB (SVI) werden mittels Box-and-whisker-plots für verschiedene Strömungsgeschwindigkeiten gezeigt. Hierbei stehen positive Geschwindigkeiten für rostro-caudale und negative Geschwindigkeiten für caudo-rostrale Strömungen. Die Stillwasserbedingung (0 cm/s) wurde als Vergleichswert angegeben. Die jeweilige Anzahl der getesteten Fasern ist unterhalb in Klammern gezeigt. Positive SVI-Werte zeigen eine relative Zunahme der Entladungsrate, wenn die KB vorhanden ist, wohingegen negative Werte eine Abnahme bei KB anzeigen. Die gestrichelten Linien zeigen eine Verdopplung (SVI-Wert 50) oder eine Halbierung (SVI-Wert -50) der Aktivität der Faser relativ zur jeweiligen Stimulationsbedingung ohne KB an. Ein SVI-Wert von 100 zeigt das Fehlen von Entladungen bei abgeschalteter KB an.

Die Antwort auf die KB im Stillwasser ($n = 101$) wurde mit den Antworten auf die KB in allen in rostro-caudal gerichteten Strömungsstimuli ($n = 108$) und allen Strömungsstimulationen in caudo-rostraler Richtung ($n = 84$) verglichen. Hierbei wurde ein unterschiedlich starker Einfluss der KB festgestellt (Kruskal-Wallis Rangsummentest: Kruskal-Wallis $\chi^2 = 12,971$; Freiheitsgrade = 2; p-Wert = 0,001525; Mediane der SVI-Werte: rostro-caudal = 3,08; caudo-rostral = 2,07; Stillwasser = 7,33). Insgesamt hatte die KB im Stillwasser den größten Einfluss auf die relative neuronale Aktivität.

Die relative Antwort der primären Afferenzen auf die KB im Stillwasser ist gegenüber der relativen Antwort auf Strömungsstimulation ohne KB in Abbildung 2.14 dargestellt. Zur Beschreibung der relativen Strömungsantwort wurde der Signed Flow Index (SFI) verwendet, welcher die relative Änderung der Entladungsraten gegenüber der jeweiligen Stillwassersituation beschreibt. Nicht alle auf die Beeinflussung durch die KB untersuchten Fasern konnten auch auf ihre Strömungsantwort untersucht werden. Zusätzlich wurden die meisten Zellen nicht nur mit einer, sondern mit mehreren Strömungsgeschwindigkeiten stimuliert. Die Abbildung 2.14 zeigt daher die Ergebnisse von 192 Strömungsstimulationen von 53 Seitenliniennervenfasern (bei einer Faser konnte der SFI nicht bestimmt werden, da diese ohne KB in Strömung und im Stillwasser keine neuronale Aktivität aufwies). Es wurde eine Korrelation zwischen der Antwortstärke auf die Strömungsstimulation und der Beatmungssensitivität im Stillwasser gefunden (Spearman's Rangkorrelation: $S = 652433,5$; p-Wert = $8,141e-11$; $\rho = 0,4469103$). Dies zeigt, dass stärkere Strömungsantworten von Fasern stammen, die auch durch die KB stark beeinflusst wurden. Eine lineare Regression beschreibt diesen Zusammenhang ($y = 0,51002x + 0,77694$; Residuen Standard Fehler = 21,04 für 190 Freiheitsgrade; angepasstes $R^2 = 0,3215$; F-Wert = 91,51 für 1 und 190 Freiheitsgrade; p-Wert < $2,2e-16$).

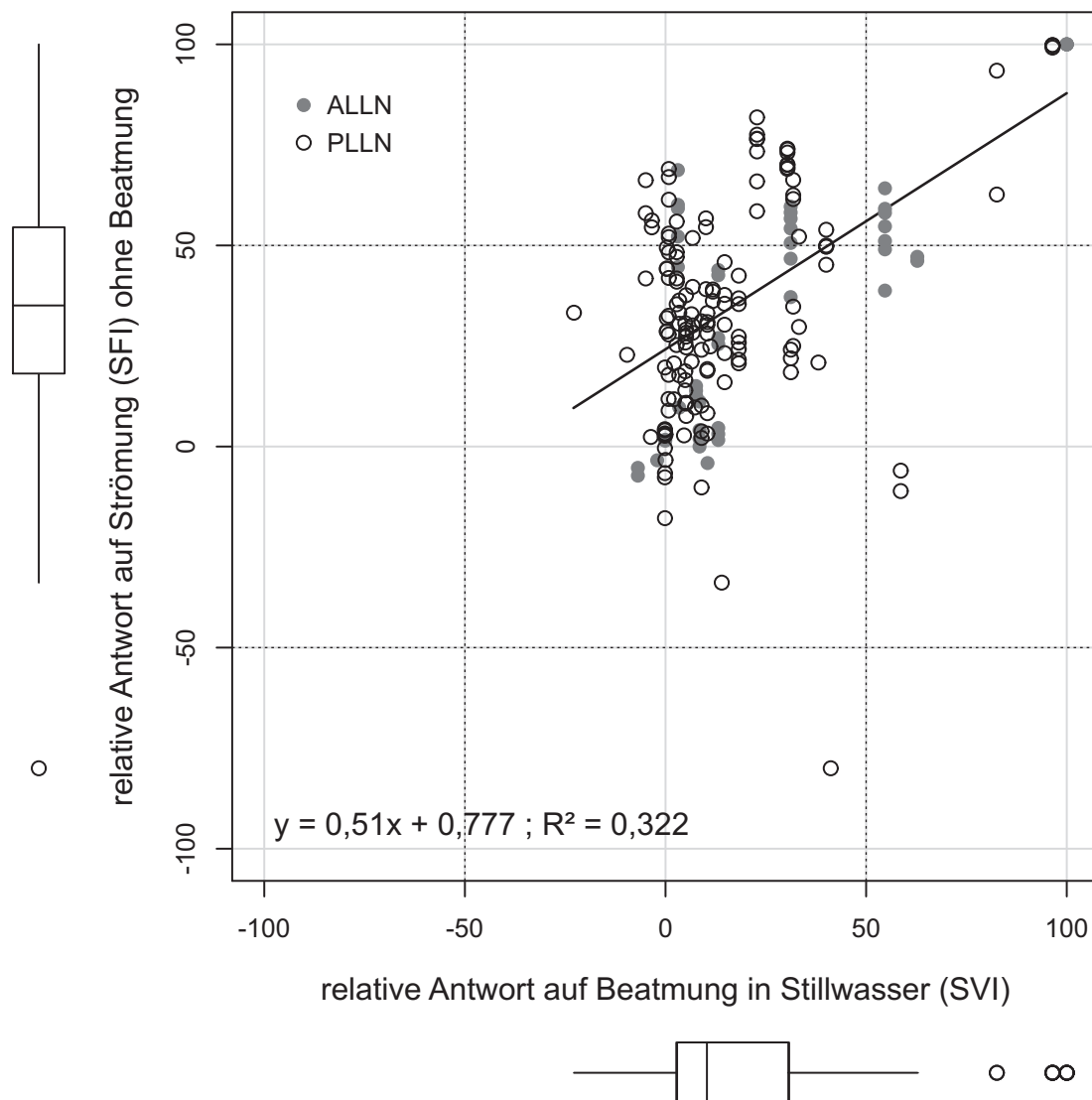


Abbildung 2.14: **Neuronale Antwort auf künstliche Beatmung und Strömungssensitivität primärer Afferenzen.** Die relative Antwort auf KB (SVI) anteriorer (grau gefüllte Kreise) und posteriorer (ungefüllte Kreise) Seitenliniennervenfasern ist gegenüber der relativen Antwort auf Strömung (SFI) ohne Beatmung dargestellt. In dieser Abbildung sind 192 Strömungsstimulationen von 53 Nervenfasern enthalten. Die Box-and-whisker-plots an den Achsen zeigen die Verteilung der SVI-Werte und der SFI-Werte für verschiedene Stimulationen. Die eingezeichnete Gerade ist die lineare Regression der relativen Beatmungsantwort im Stillwasser und der relativen Antwort auf die präsentierten Strömungsstimuli. Positive SVI-Werte zeigen eine relative Zunahme der Entladungsrate, wenn die KB vorhanden ist, wohingegen negative Werte eine Abnahme bei KB anzeigen. Die gestrichelten Linien zeigen eine Verdopplung (SVI-Wert 50) bzw. eine Halbierung (SVI-Wert -50) der Aktivität der Faser relativ zur jeweiligen Stimulationsbedingung ohne KB an. Ein SVI-Wert von 100 zeigt das Fehlen von Entladungen bei abgeschalteter KB an. Vergleichbar zeigen positive SFI-Werte eine relative Zunahme der Entladungsrate, wenn mit Strömung stimuliert wurde, wohingegen negative Werte eine Abnahme bei Strömung anzeigen. Die gestrichelten Linien zeigen eine Verdopplung (SFI-Wert 50) oder eine Halbierung (SFI-Wert -50) der Aktivität der Faser relativ zur Stillwasserbedingung an. Ein SFI-Wert von 100 zeigt an, dass nur unter Strömungsstimulation neuronale Aktivität festzustellen war.

Die Fasern antworteten auf Strömungsreize sehr variabel. Daher wurde mittels

Clusteranalyse untersucht, ob sich die Antworten auf die Strömung klassifizieren lassen. Das Dendrogramm dieser Clusteranalyse der Strömungsantworten (SFI-Werte; Methode: Wards; Distanz: euklidisch) zeigte zwei Hauptgruppen (1 und 2 in Abb. 2.15A). In den meisten Fällen ($n = 110$) wurde eine geringe Strömungsantwort festgestellt, wohingegen bei einem Teil der Strömungsstimulationen ($n = 82$) stärkere relative Strömungsantworten festgestellt wurden (Abb. 2.15B).

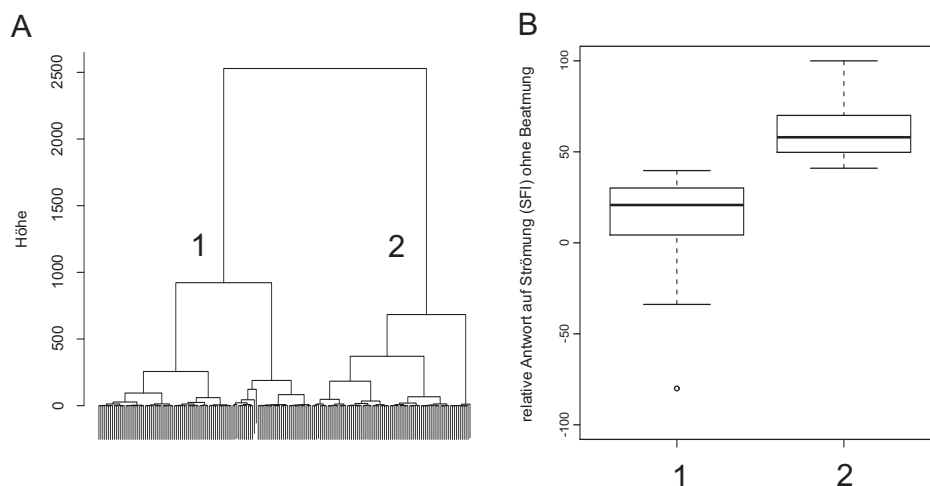


Abbildung 2.15: **Clusteranalyse der relativen Strömungsantwort der primären Afferenzen für alle getesteten Stimulationen. A:** Dendrogramm **B:** Vergleich der SFI-Werte für Gruppe 1 und 2 aus A.

Es wurde untersucht, ob die Stärke der Strömungsantwort mit der Beatmungssensitivität der abgeleiteten Faser korreliert. Die Tabelle 2.1 zeigt die Häufigkeiten geringer und stärkerer Strömungsantworten für nicht beatmungssensitive und beatmungssensitive Fasern. Grundlage hierfür bilden die jeweiligen Clusteranalysen, welche in Abbildung 2.11 und Abbildung 2.15 dargestellt sind. Geringe Strömungsantworten traten überwiegend bei nicht beatmungssensitiven Fasern auf (Pearson's χ^2 -Test: $\chi^2 = 39,6412$ für 1 Freiheitsgrad; p-Wert = $3,052e-10$).

Tabelle 2.1: **Beatmungssensitivität der Fasern und Stärke der Strömungsantwort.**

	1 wenig beatmungssensitiv	2 stark beatmungssensitiv
1 geringe Strömungsantwort	98	12
2 stärkere Strömungsantwort	39	43

Da beatmungssensitive Fasern stärker auf Strömungsreize antworten, könnte die Antwort auf die Strömung durch die künstliche Beatmung verringert, also maskiert sein. Die relative Antwort (SFI) primärer Afferenzen ($n = 53$) auf verschiedene Strömungsreize ($n = 192$) jeweils mit und ohne KB ist in Abbildung 2.16 gezeigt. Die gestrichelte Linie zeigt eine nicht durch die KB beeinflusste

Strömungsantwort an. Bei Betrachtung aller Strömungsantworten war die relative Antwort der primären Afferenzen auf Strömung verringert, wenn die KB vorhanden war (einseitiger, gepaarter Wilcoxon Vorzeichenrangtest mit Kontinuumskorrektur: $V = 15812$; p -Wert $< 2,2e-16$; Medianunterschied = 6,142).

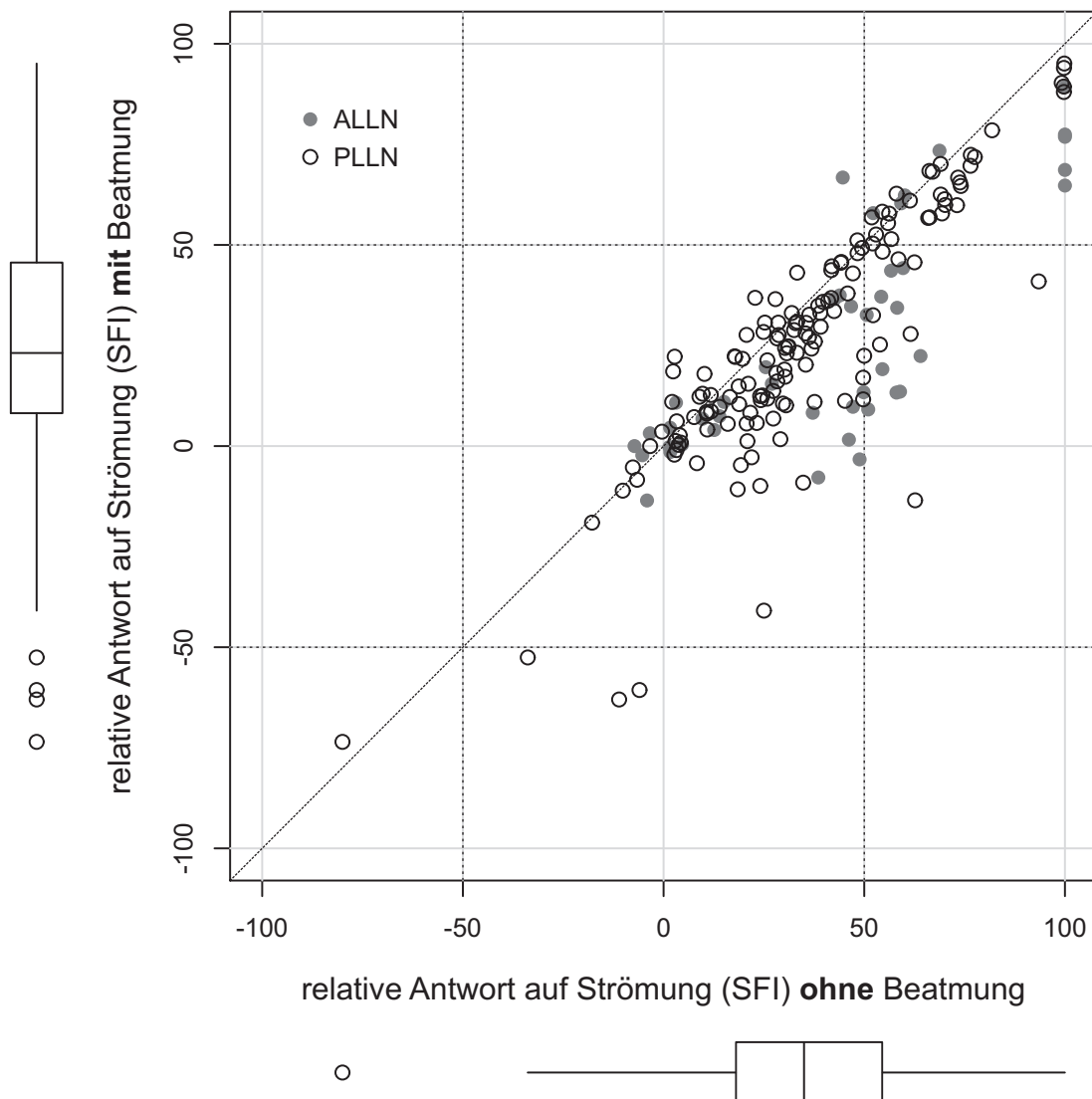


Abbildung 2.16: **Maskierung der Strömungsantwort der primären Afferenzen durch die künstliche Beatmung.** Die relative Antwort auf Strömung (SFI) anteriorer (grau gefüllte Kreise) und posteriorer (ungefüllte Kreise) Seitenliniennervenfaser ohne KB ist gegenüber der relativen Antwort auf Strömung (SFI) mit KB dargestellt. In dieser Abbildung sind 192 Strömungsstimulationen von 53 Nervenfasern enthalten. Die Box-and-whisker-plots an den Achsen zeigen die Verteilung der SFI-Werte ohne und mit KB. Auf der gepunkteten Diagonalen liegende Punkte zeigen Strömungsantworten an, welche nicht durch die KB beeinflusst wurden. Positive SFI-Werte zeigen eine relative Zunahme der Entladungsrate an, wenn mit Strömung stimuliert wurde, wohingegen negative Werte eine Abnahme bei Strömung anzeigen. Die gestrichelten Linien zeigen eine Verdopplung (SFI-Wert 50) oder eine Halbierung (SFI-Wert -50) der Aktivität der Faser relativ zur Stillwasserbedingung an. Ein SFI-Wert von 100 zeigt an, dass neuronale Aktivität nur unter Strömungsstimulation festgestellt wurde.

Künstliche Beatmung und Neuromastenanordnung auf dem Fischkörper

Bei einem Teil der Fasern ($n = 58$) konnte die Neuromastenposition am Fisch approximiert werden. Hierzu wurde ein kleiner vibrierender Dipol am Fisch vorbeibewegt und die Stelle mit der stärksten Antwort als Neuromastenposition notiert. Die Positionen wurden entsprechend Abbildung 2.7 einem der Abschnitte P1 bis P4 zugeordnet. Die Verteilungen der relativen Antworten auf die KB (SVI-Werte) für die approximierten Neuromastenpositionen sind in Abbildung 2.17 gezeigt. Es wurden nur Ergebnisse von in *Leuciscus idus* abgeleiteten Fasern in der Abbildung 2.17 dargestellt.

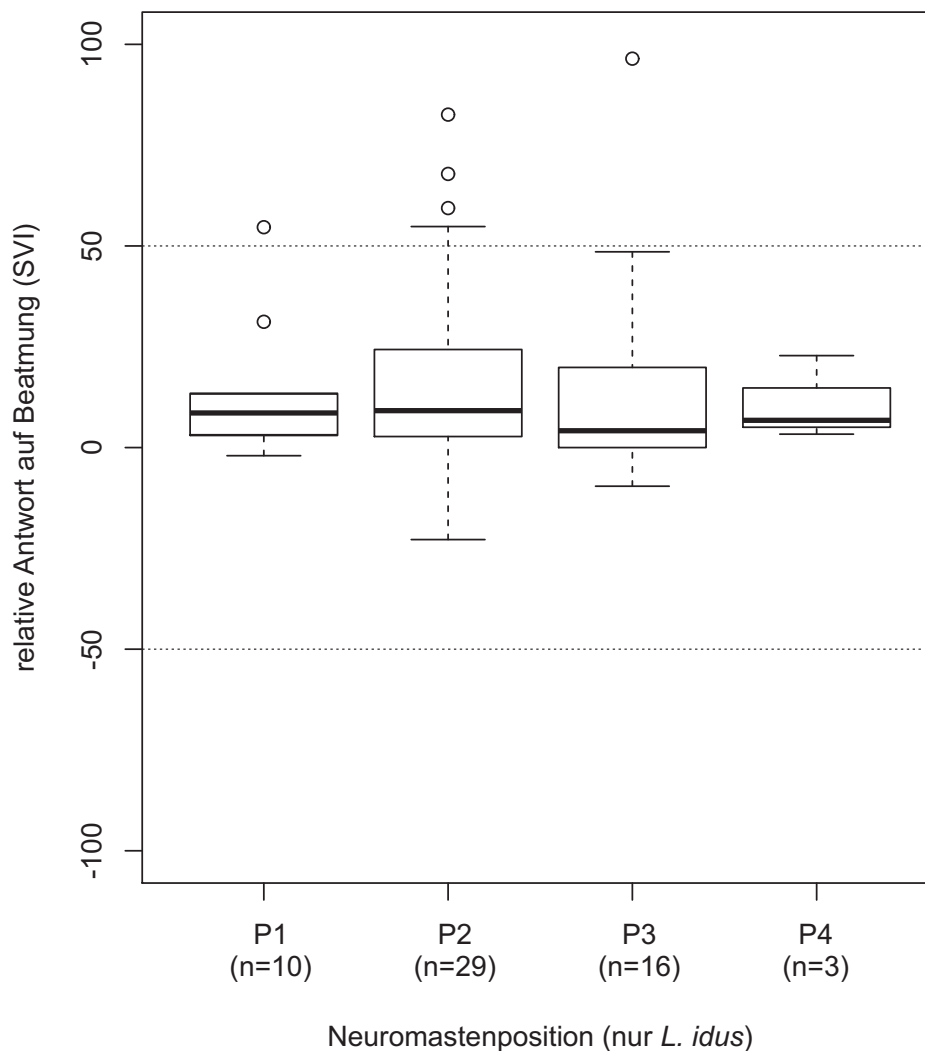


Abbildung 2.17: **Relative Antwort primärer Afferenzen auf künstliche Beatmung für verschiedene Neuromastenpositionen.** Die Verteilung der relativen Antworten auf die KB im Stillwasser (SVI) ist für die Körperabschnitte P1 bis P4 (siehe Abb. 2.7) von *Leuciscus idus* gezeigt. Die Anzahl der diesen Körperabschnitten zugeordneten Fasern ist in Klammern darunter angegeben.

Die Antworten unterschieden sich nicht zwischen den Körperabschnitten (Kruskal-Wallis Rangsummentest: Kruskal-Wallis $\chi^2 = 0,6133$ für 3 Freiheitsgrade; p-Wert = 0,893; Mediane der SVI-Werte: P1 = 8,577; P2 = 9,153; P3 = 4,170; P4 = 6,757). Es ist jedoch die Tendenz zu erkennen, dass sehr starke Antworten auf die KB insbesondere bei den vorderen Rumpfabschnitten P2 und P3 gefunden wurden, welche sich knapp hinter der Kiemenöffnung befinden.

Antworten auf den mechanischen Dipol

Die Antworten von elf Fasern wurden dem Dipolantworttyp-A (Hochpass) zugeordnet. In dem in Abbildung 2.18 gezeigten Beispiel stieg die Entladungsrate zwischen 80 Hz und 100 Hz sprunghaft an, wobei zusätzlich die Phasenkopplungsstärke R mit steigender Frequenz zunahm.

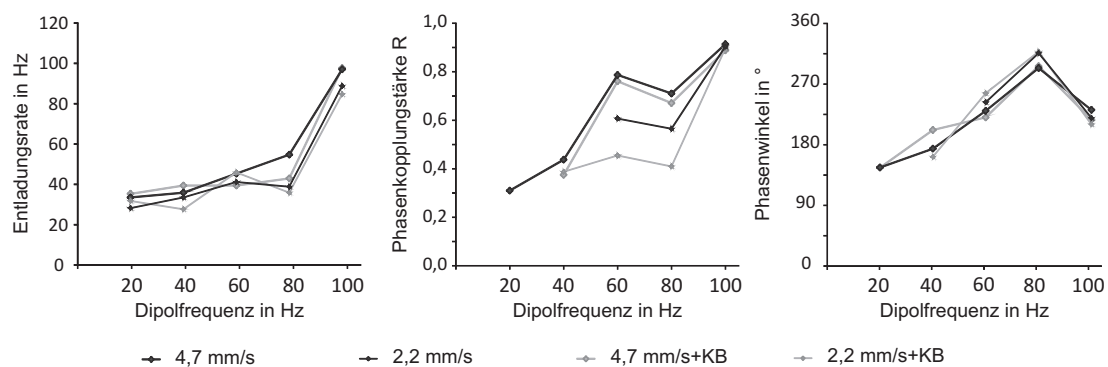


Abbildung 2.18: **Dipolantworttyp-A (Hochpass).** Von links nach rechts: Entladungsrate einer Faser in Abhängigkeit der Reizfrequenz; Stärke der Phasenkopplung; Phasenwinkel. Datenpunkte ohne signifikante Phasenkopplung (Rayleigh-Statistik: p-Wert > 0,01) sind im mittleren und rechten Diagramm nicht gezeigt.

Die Abbildung 2.19 zeigt Rasterplots und PSTHs der in Abbildung 2.18 gezeigten Nervenfasern bei Stimulation mit unterschiedlichen Dipolfrequenzen jeweils mit und ohne KB. In den Rasterplots der Antworten auf die 100 Hz-Reize war die neuronale Aktivität sichtbar an die Phase des Dipolstimulus gekoppelt. Die Antwort war mit und ohne KB gleichermaßen deutlich ausgeprägt.

Jeweils zwei Fasern des Dipolantworttyp-B (Bandpass) zeigten eine maximale Entladungsrate bei 60 oder 80 Hz. Eine Faser mit einer maximalen Entladungsrate bei Stimulation mit 60 Hz ist in Abbildung 2.20 gezeigt. Bei dieser Faser stieg die Entladungsrate zwischen 20 Hz und 60 Hz an und fiel bei höheren Frequenzen wieder ab. Die Faser zeigte ohne KB eine hohe Phasenkopplungsstärke, welche unter KB verringert war.

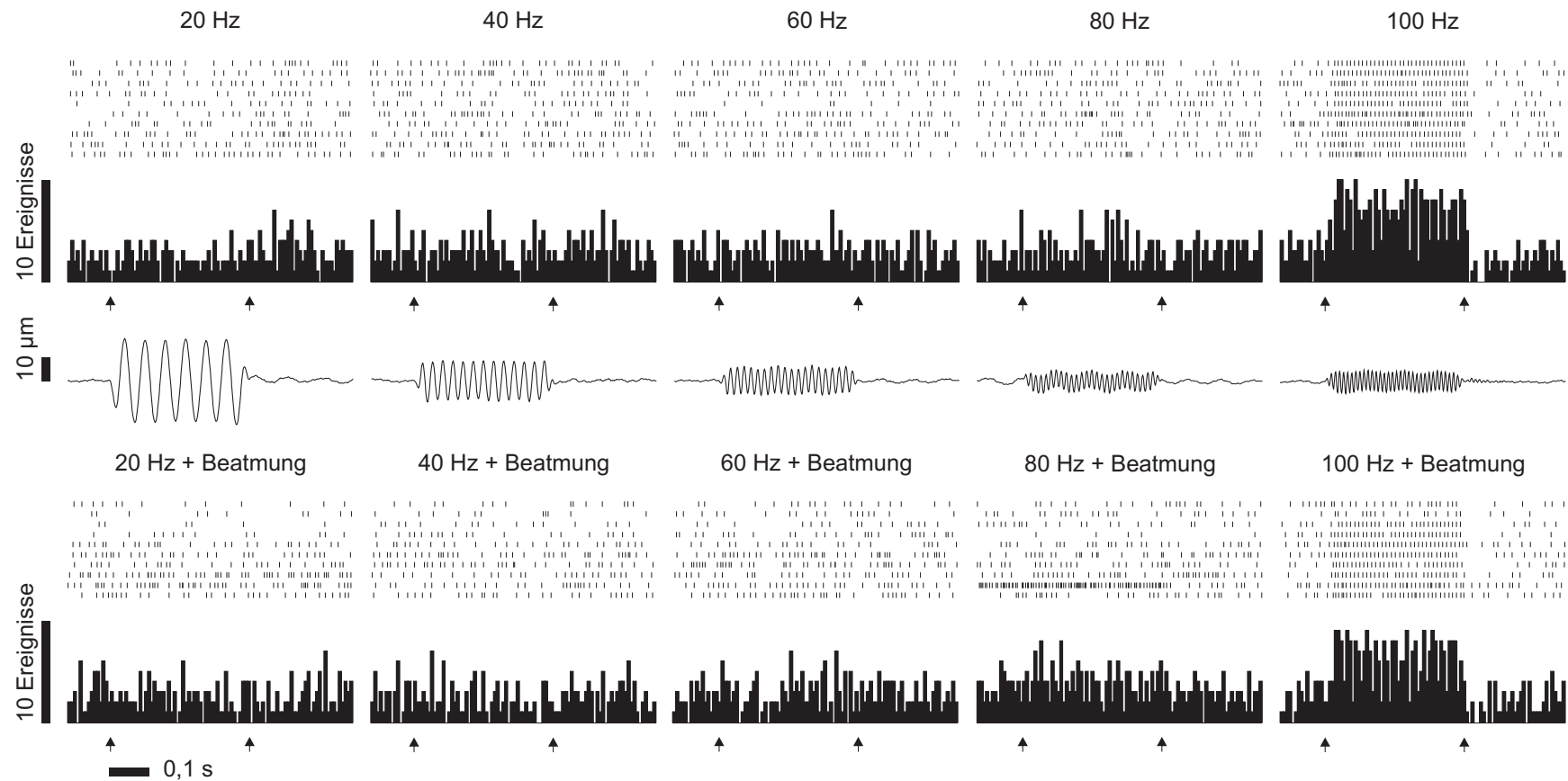


Abbildung 2.19: Antwort einer Seitenliniennervenfaser des Dipolantworttyp-A (Hochpass) auf Dipolreize mit und ohne künstliche Beatmung. **Obere Reihe:** Rasterplot und PSTH (Bin-Größe 7 ms) für Stimulation mit Dipol ohne KB. **Mittlere Reihe:** Auslenkung des mechanischen Dipols gemessen mit kapazitivem Wegaufnehmer. **Untere Reihe:** Rasterplot und PSTH (Bin-Größe 7 ms) für Stimulation mit Dipol und KB. **Jeweils von links nach rechts:** neuronale Antworten bzw. Auslenkungen für Dipolfrequenzen von 20, 40, 60, 80 und 100 Hz. Die maximale Geschwindigkeit des Dipols ist für alle Frequenzen 2,2 mm/s. Die Pfeile unter der oberen Reihe zeigen den Anfang und das Ende der Dipol-Stimulation an.

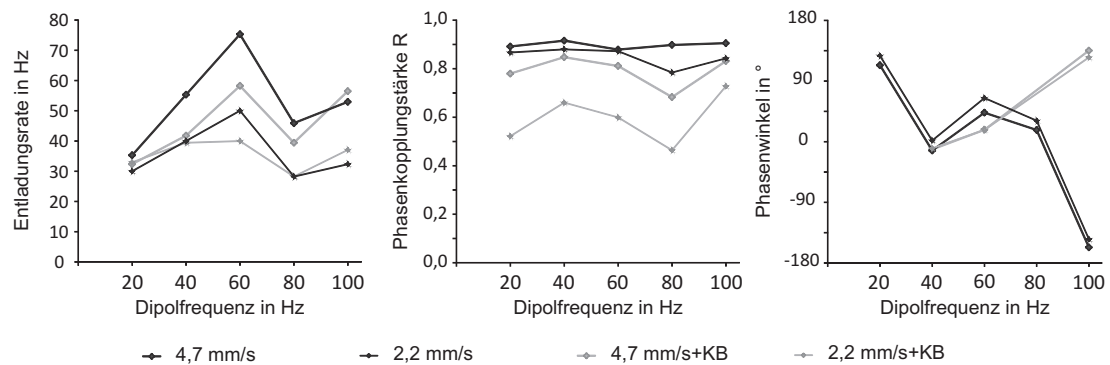


Abbildung 2.20: **Dipolantworttyp-B (Bandpass)**. Von links nach rechts: Entladungsrates der Faser in Abhängigkeit der präsentierten Frequenz, Stärke der Phasenkopplung, Phasenwinkel. Datenpunkte ohne signifikante Phasenkopplung (Rayleigh-Statistik: p-Wert > 0,01) sind im mittleren und rechten Diagramm nicht gezeigt.

Die Rasterplots und PSTHs der in Abbildung 2.20 gezeigten Nervenfasern bei Stimulation mit unterschiedlichen Dipolfrequenzen jeweils mit und ohne KB sind in Abbildung 2.21 dargestellt. Diese Faser zeigte ohne KB eine stark phasengekoppelte Antwort auf Dipolfrequenzen von 20 bis 60 Hz, wohingegen die Antwort auf höhere Dipolfrequenzen gering ausfiel. Die Latenz der Antwort auf den Dipol betrug etwa 110 bis 130 ms. Bei vorhandener KB (untere Reihe) war die Phasenkopplung der Faser schwächer, wobei in diesem Beispiel die Dipolantwort durch die KB maskiert war.

Ein Beispiel der zwölf Fasern des Dipolantworttyp-C (kontinuierliche Zunahme der Entladungsrates mit Dipolfrequenz) ist in Abbildung 2.22 gezeigt. Die Entladungsrates stieg mit zunehmender Dipolfrequenz immer weiter an, die Phasenkopplungsstärke war über alle Frequenzen hoch. Der Unterschied zwischen den unterschiedlichen Geschwindigkeiten war, im Gegensatz zu den bisher gezeigten Typen, gering.

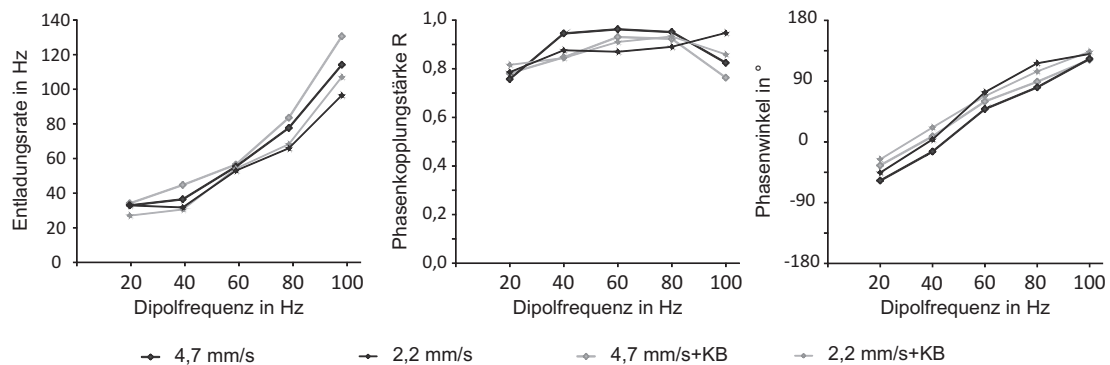


Abbildung 2.22: **Dipolantworttyp C (Dipolfrequenz)**. Von links nach rechts: Entladungsrates der Faser in Abhängigkeit der präsentierten Frequenz, Stärke der Phasenkopplung, Phasenwinkel. Datenpunkte ohne signifikante Phasenkopplung (Rayleigh Statistik: p-Wert > 0,01) wurden im mittleren und rechten Diagramm nicht gezeigt.

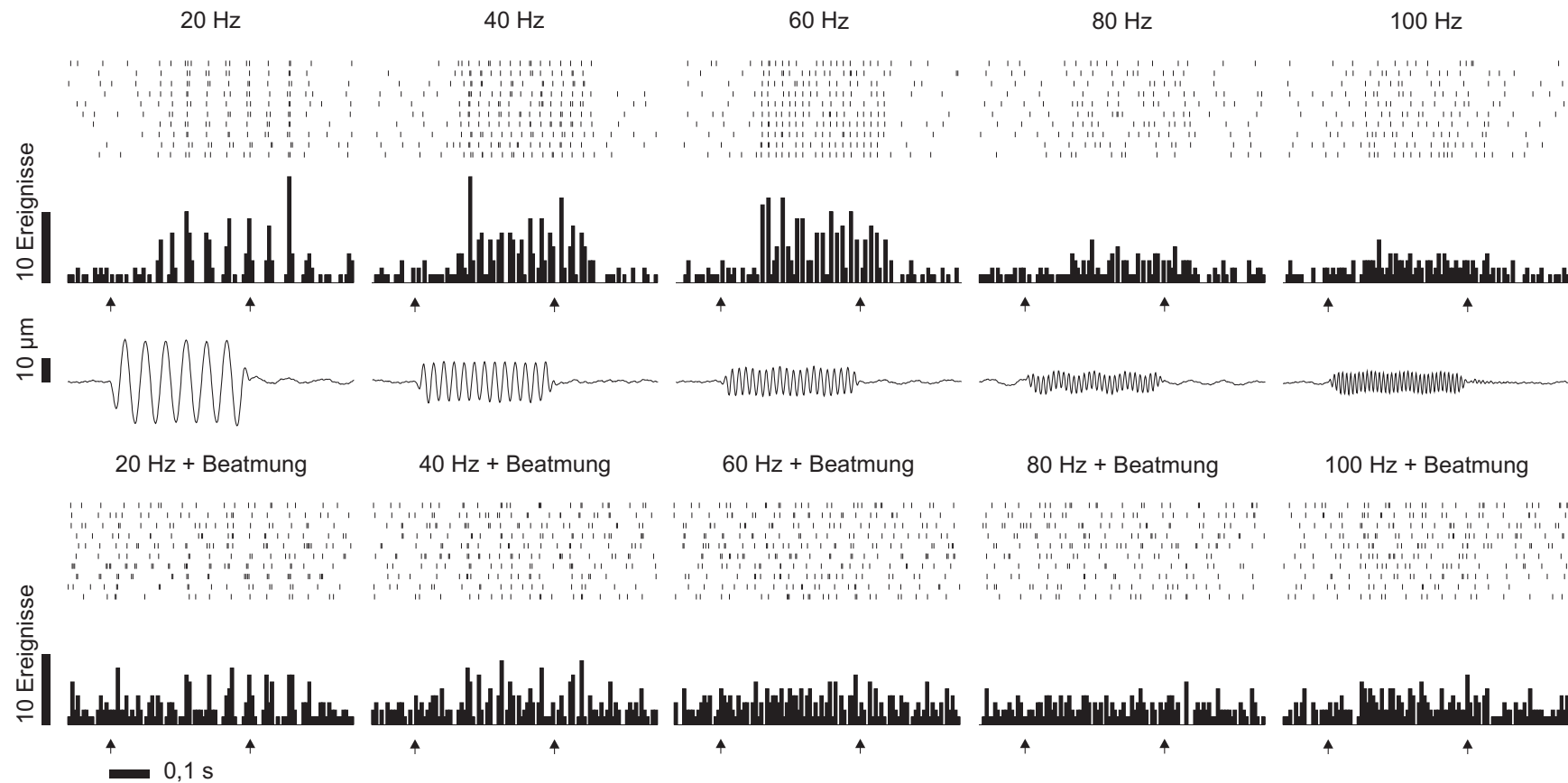


Abbildung 2.21: **Antwort einer Seitenliniennervenfaser des Dipolantworttyp-B (Bandpass) auf Dipolreize mit und ohne künstliche Beatmung. Obere Reihe:** Rasterplot und PSTH (Bin-Größe 7 ms) für Stimulation mit Dipol ohne KB. **Mittlere Reihe:** Auslenkung des mechanischen Dipols gemessen mit kapazitivem Wegaufnehmer. **Untere Reihe:** Rasterplot und PSTH (Bin-Größe 7 ms) für Stimulation mit Dipol und KB. **Jeweils von links nach rechts:** neuronale Antworten bzw. Auslenkungen für Dipolfrequenzen von 20, 40, 60, 80 und 100 Hz. Die maximale Geschwindigkeit des Dipols ist für alle Frequenzen 2,2 mm/s. Die Pfeile unter der oberen Reihe zeigen den Anfang und das Ende der Dipol-Stimulation an.

Die sechs Fasern des Typs D antworteten nicht auf den mechanischen Dipol. Wie beispielhaft in Abbildung 2.23 gezeigt, zeigten diese Fasern keine systematische Änderung der Entladungsrate und bestenfalls sporadische Phasenkopplung.

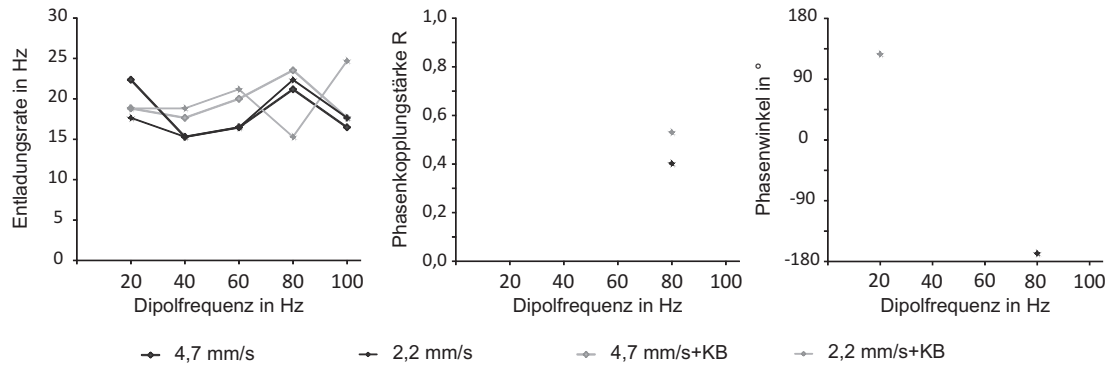


Abbildung 2.23: **Dipolantworttyp D (keine Antwort).** Von links nach rechts: Entladungsrate der Faser in Abhängigkeit der präsentierten Frequenz, Stärke der Phasenkopplung, Phasenwinkel. Datenpunkte ohne signifikante Phasenkopplung (Rayleigh-Statistik: p-Wert > 0,01) wurden im mittleren und rechten Diagramm nicht gezeigt.

Es wurde untersucht, inwieweit die vier gefundenen Dipolantwort-Typen hinsichtlich der Beeinflussung durch die künstliche Beatmung Unterschiede zeigten. Tabelle 2.2 zeigt die Häufigkeiten beatmungssensitiver und nicht beatmungssensitiver Fasern für die vier Dipolantwort-Typen A bis D. Grundlage hierfür bildet die in Abbildung 2.11 gezeigte Clusteranalyse und die in Abbildung 2.18 bis Abbildung 2.23 gezeigte Charakterisierung nach der Dipolantwort. Es wurde ein Zusammenhang zwischen dem beobachteten Dipolantwortverhalten und der Sensitivität für KB festgestellt (Pearson's χ^2 -Test: $\chi^2 = 16,2112$ für 4 Freiheitsgrade; p-Wert = 0,002748; Fisher's exakter Test (aufgrund der Erwartungswerte kleiner als 5): p-Wert = 0,001689). Alle elf Fasern mit Hochpasscharakteristik waren nicht beatmungssensitiv, wohingegen alle vier Fasern des Typs B von der KB beeinflusst wurden. Die Gruppen des Typs C und D enthielten sowohl Faser die von der KB beeinflusst wurden, aber auch einige Fasern, die eine Beeinflussung durch die KB zeigten.

Tabelle 2.2: **Dipolantwort und Sensitivität für künstliche Beatmung.**

	1 - schwach beatmungssensitiv	2 - stark beatmungssensitiv
A - Hochpass	11	0
B - Bandpass 60 Hz	0	2
B - Bandpass 80 Hz	0	2
C - Dipolfrequenz	9	3
D - Keine Antwort	5	1

Besondere Beobachtungen bei den Seitenliniennervenfaser

Eine der beatmungssensitiven Seitenliniennervenfaser reagierte besonders stark auf die KB. Die Faser wurde bei *Leuciscus idus* innerhalb des posterioren Seitenliniennervs hirstammnah aufgenommen. Die Faser zeigte im Stillwasser mit KB eine mittlere Ruheaktivität von 12,1 Hz bei einer Standardabweichung von 7,2 Hz für die acht durchgeführten Wiederholungen. Wurde die KB abgestellt, so zeigte die Faser nach kurzer Zeit ($<0,3$ s) nahezu keine Entladungen mehr. Dieses Entladungsverhalten bei der KB wurde bei allen acht durchgeführten Wiederholungen festgestellt (Abb. 2.24).

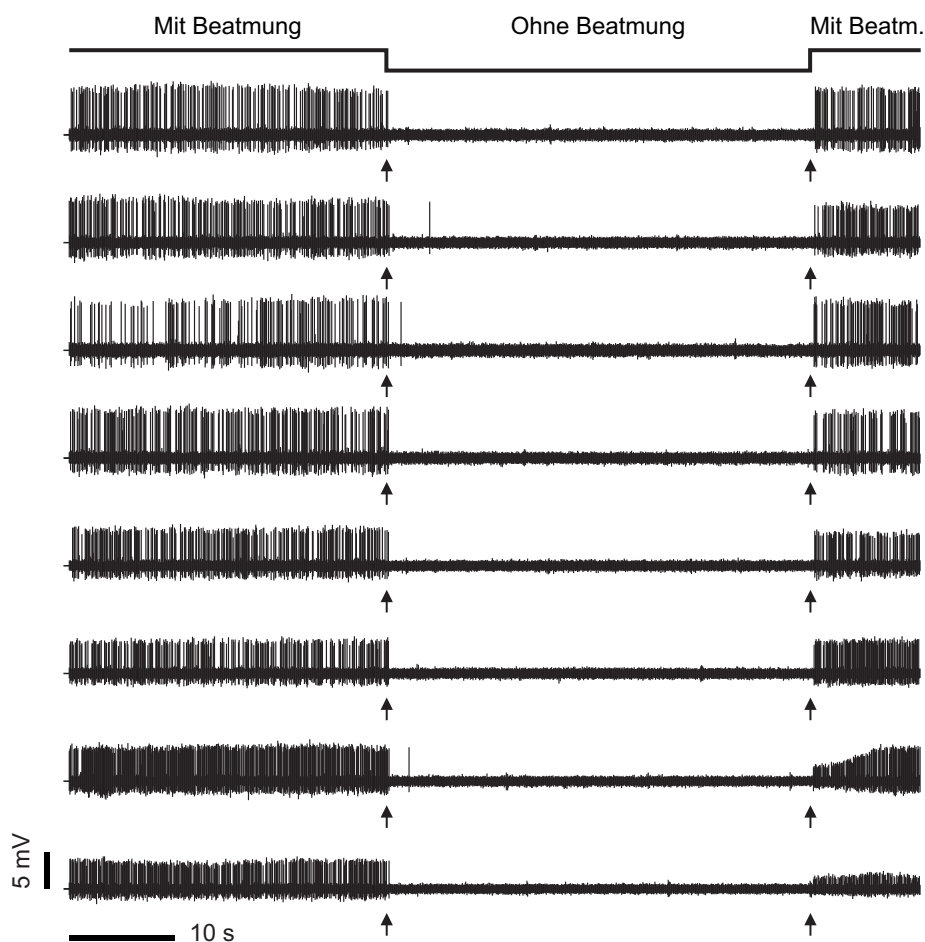


Abbildung 2.24: Kodieren der künstlichen Beatmung durch die An/Aus-Antwort einer PLLN-Faser in *Leuciscus idus*. Von oben nach unten: Zeitverlauf der künstlichen Beatmung, Originalaufnahmen von acht wiederholten Beatmungszeitverläufen. Pfeile: Zeitpunkt des Ab- bzw. Anschaltens der künstlichen Beatmung.

Diese Faser wurde nicht weitergehend durch Strömungsreize oder Dipolstimulation charakterisiert, sodass nicht geklärt werden konnte, ob die Faser auch auf externe Strömungsreize reagiert hätte. Grund hierfür war, dass die Faser zu Beginn der vorliegenden Studie aufgenommen wurde und die Charakterisierung

der Fasern mittels Dipol- und Strömungsreizen sowie der Lokalisierung des Neuronasts erst im Verlauf der Studie eingeführt wurde.

2.3.2 Beeinflussung der neuronalen Aktivität im MON von *L. idus* und *C. auratus*

Künstliche Beatmung im Stillwasser

Die mittleren Entladungsraten der 70 im Stillwasser mit und ohne KB aufgenommenen MON-Neurone sind in Abbildung 2.25 gezeigt.

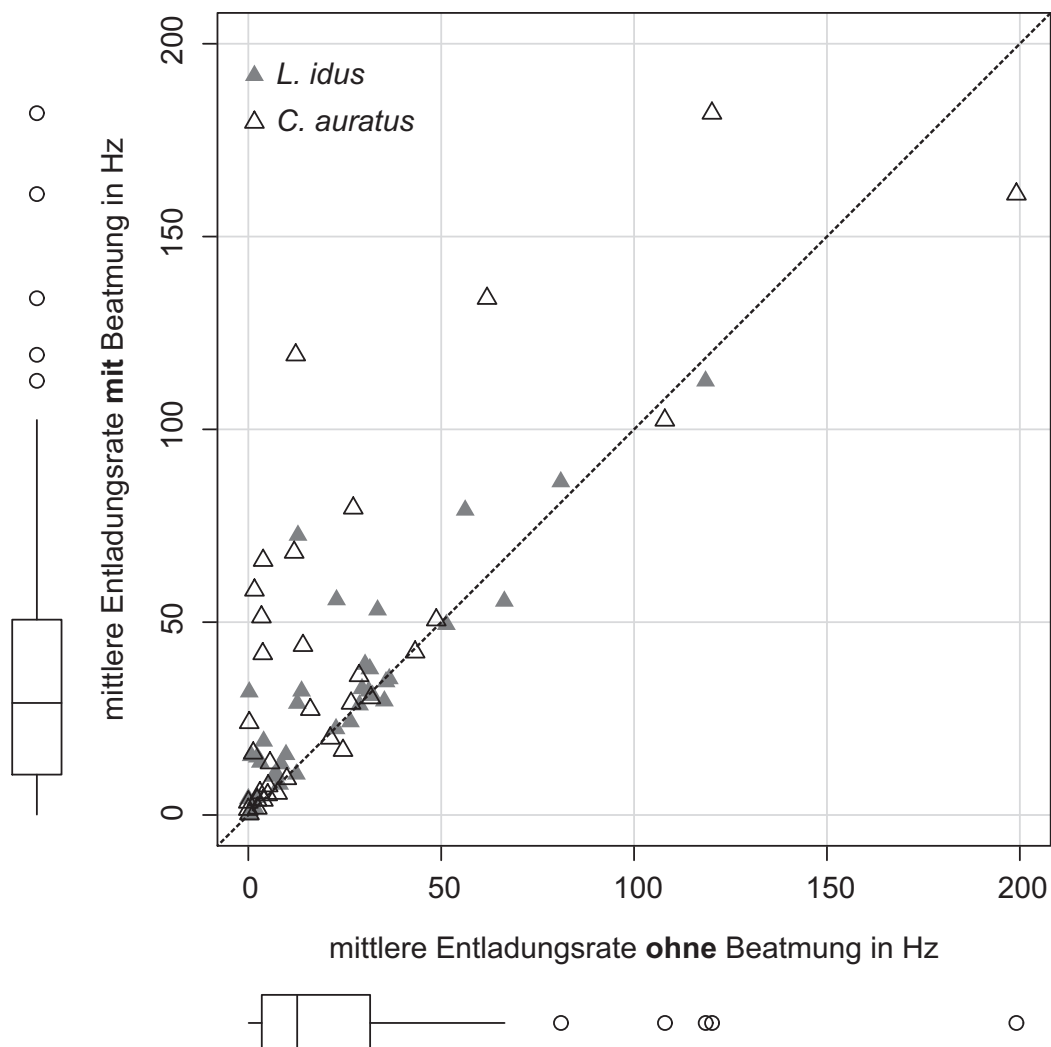


Abbildung 2.25: Effekte der künstlichen Beatmung auf die mittleren Entladungsraten der MON-Neuronen von *L. idus* (gefüllte Dreiecke) und *C. auratus* (ungefüllte Dreiecke) im Stillwasser. Mittlere Entladungsraten der im MON abgeleiteten Neurone ohne KB sind gegen die mittleren Entladungsraten mit KB aufgetragen. Box-and-whisker-plots an den Achsen zeigen die Verteilung der mittleren Entladungsraten für beide Stimulationen für alle Neurone separat. Die gepunktete Linie zeigt gleiche Entladungsraten in beiden Bedingungen an.

Die Entladungsraten der MON-Neurone variierten deutlich, wobei Entladungsraten von weniger als 1 Hz bis zu 200 Hz ermittelt wurden (mit KB: Mittelwert = 37,2 Hz; Median = 29,0 Hz; ohne KB: Mittelwert = 24,7 Hz; Median = 12,6 Hz). Einige Zellen änderten ihre Entladungsraten unter KB und andere blieben von der KB unbeeinflusst. Über die Population der MON-Zellen waren die Entladungsraten erhöht, wenn die KB vorhanden war (zweiseitiger, gepaarter Wilcoxon Vorzeichenrangtest mit Kontinuumskorrektur: $V = 465$; p-Wert = $9,149e-06$; Medianunterschied = 3,1 Hz).

Die durch die KB verursachten relativen Änderungen der neuronalen Aktivität (SVI) der MON Zellen sind bezogen auf die mittleren Entladungsraten im Stillwasser ohne KB in Abbildung 2.26 dargestellt. Die SVI-Werte der MON-Neurone waren signifikant von Null verschieden (Ein-Stichproben-t-Test; $t = 5,996$ für 69 Freiheitsgrade; p-Wert = $8,292e-08$). Die Neurone zeigten eine erhöhte relative neuronale Aktivität, wenn die KB vorhanden war (Mittelwert = 31,4; Median = 28,6). Die relative Änderung der neuronalen Aktivität war mit der mittleren Entladungsrate der MON-Zellen im Stillwasser ohne KB korreliert (Spearman's Rangkorrelation: $S = 86145,54$; p-Wert = $7,423e-06$; $\rho = -0.5072266$). Dabei wurden die am stärksten von 0 abweichenden SVI-Werte bei Zellen gefunden, welche eine geringe mittlere Entladungsrate im Stillwasser ohne Beatmung hatten. Dieser Zusammenhang lässt sich nicht sonderlich gut durch eine lineare Regression vorhersagen ($y = -0,46x + 42,65$; Residuen Standardfehler = 41,24 für 68 Freiheitsgrade, angepasstes $R^2 = 0,1133$; F-Wert 9,816 für 1 und 99 Freiheitsgrade; p-Wert = 0,002552). Die relative Antwort auf die KB der MON-Neurone war daher keine direkte Folge der mittleren Entladungsrate. Einige Neurone mit geringer mittlerer Aktivität im Stillwasser ohne KB zeigten keine oder nur eine geringe Änderung der neuronalen Aktivität durch die KB.

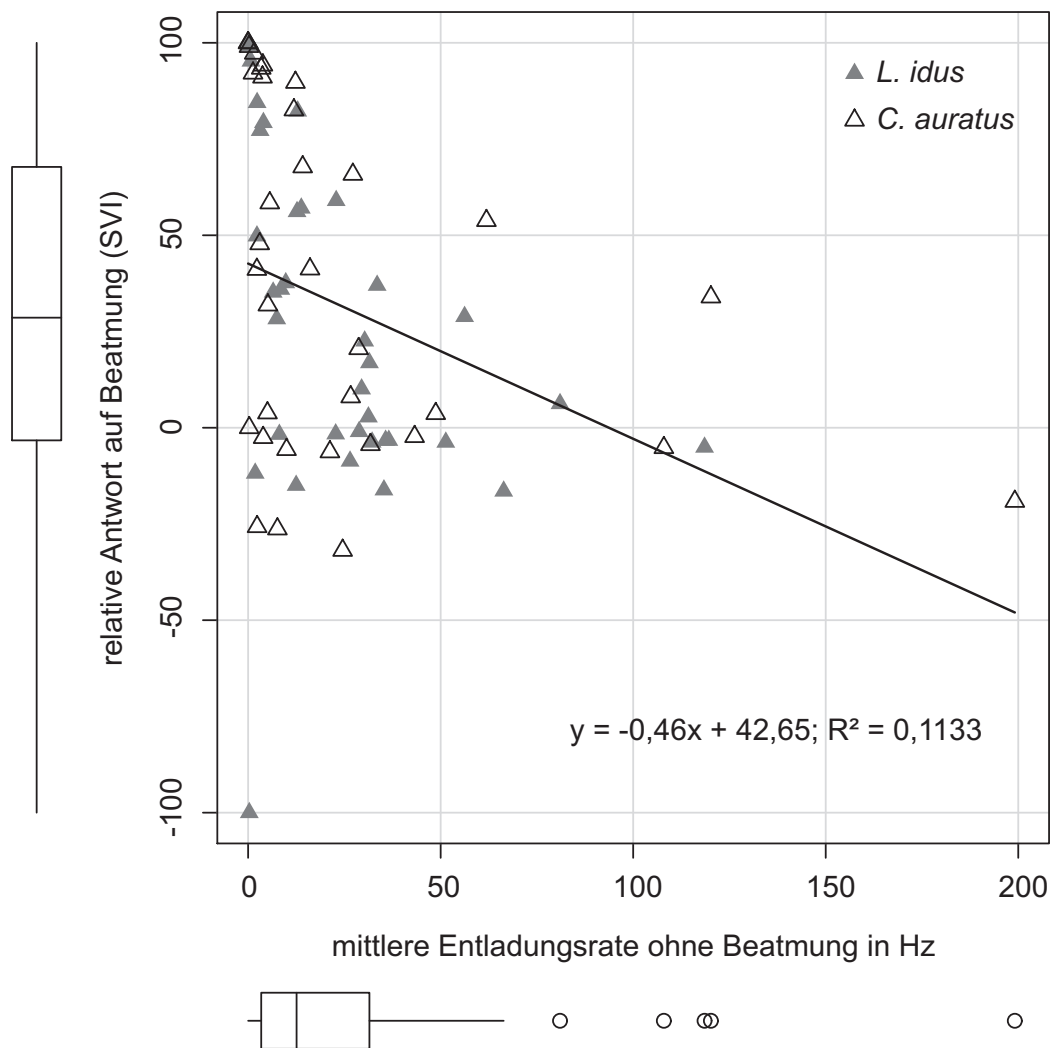


Abbildung 2.26: **Relative Effekte der künstlichen Beatmung auf die neuronale Aktivität der MON-Neurone von *L. idus* (gefüllte Dreiecke) und *C. auratus* (ungefüllte Dreiecke) im Stillwasser.** Die relative Änderung der neuronalen Aktivität der MON-Neurone ($n = 70$) aufgrund der KB in Stillwasser ist den mittleren Entladungsraten ohne KB in Stillwasser (Ruheaktivität) gegenübergestellt. Box-and-whisker-plots an den Achsen zeigen die Verteilung der SVI-Werte und mittlere Entladungsraten ohne KB in Stillwasser für alle Zellen. Die eingezeichnete Gerade ist die lineare Regression der mittleren Entladungsraten ohne KB und der relativen Antwort auf die KB. Positive SVI-Werte entsprechen einer Erhöhung der neuronalen Aktivität wenn die KB vorhanden ist, wohingegen negative SVI-Werte eine Verringerung anzeigen. Die gestrichelten Linien zeigen eine Halbierung (SVI-Wert 50) oder Verdopplung (SVI-Wert -50) der neuronalen Aktivität bezogen auf die Ruheaktivität an. Der SVI-Wert 100 zeigt an, dass neuronale Aktivität nur vorhanden war, wenn die KB angeschaltet war, wobei diese Neurone keine Ruheaktivität aufwiesen.

Der Einfluss der Ableittiefe der Neurone ($n = 51$; basierend auf der Penetrationstiefe der Glasmikroelektrode) auf die relative Änderung der neuronalen Aktivität (SVI) ist in Abbildung 2.27 dargestellt.

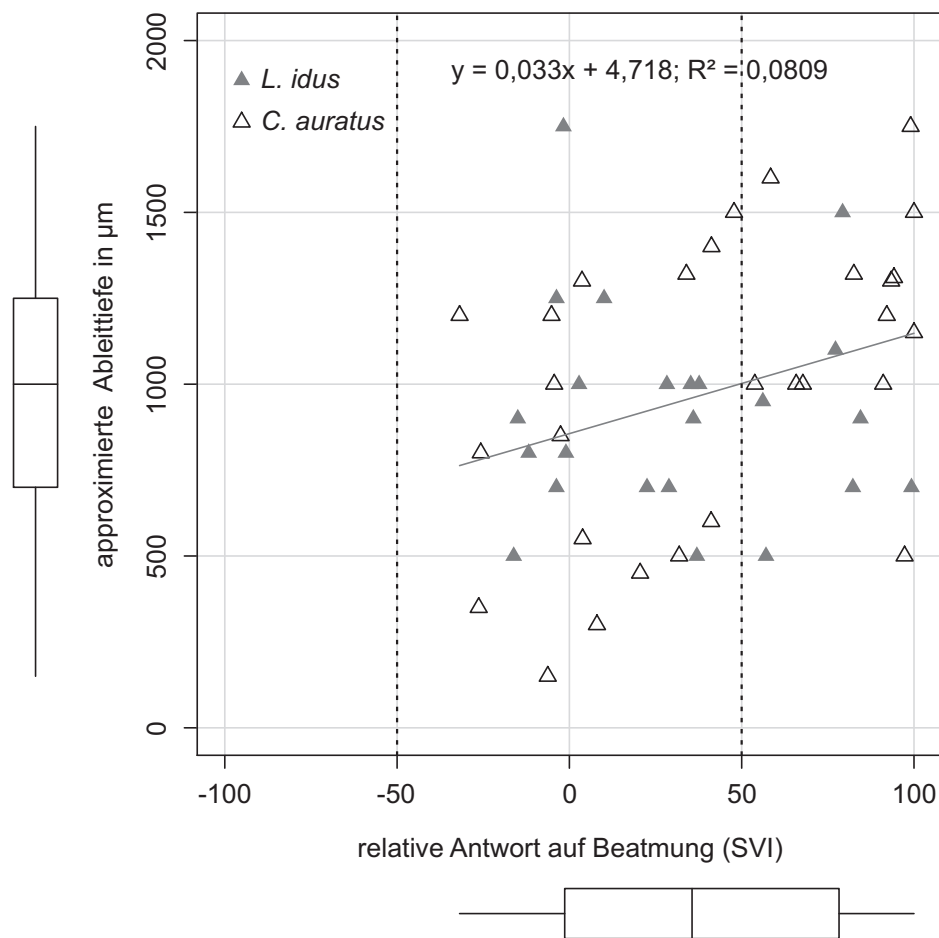


Abbildung 2.27: Einfluss der Ableittiefe der MON-Neurone auf den relativen Einfluss der KB auf die neuronale Aktivität (SVI) im Stillwasser bei *L. idus* (gefüllte Dreiecke) und *C. auratus* (ungefüllte Dreiecke). Die relative Änderung der neuronalen Aktivität der MON-Neurone ($n=51$) aufgrund der KB im Stillwasser für die ungefähren Ableittiefen der Neurone aufgetragen. Box-and-whisker-plots an den Achsen zeigen die Verteilung der Ableittiefen und SVI-Werte im Stillwasser für alle Zellen. Die eingezeichnete Gerade ist die lineare Regression der Ableittiefen und der relativen Antwort auf die KB. Positive SVI-Werte entsprechen einer Erhöhung der neuronalen Aktivität bei vorhandener KB, wohingegen negative SVI-Werte eine Verringerung anzeigen. Die gestrichelten Linien zeigen eine Halbierung (SVI-Wert 50) oder Verdopplung (SVI-Wert -50) der neuronalen Aktivität bezogen auf die Ruheaktivität an. Der SVI-Wert 100 zeigt an, dass neuronale Aktivität nur bei eingeschalteter KB vorhanden war, wobei diese Neurone keine Ruheaktivität aufwiesen.

Es wurde ein Zusammenhang zwischen der Ableittiefe und den SVI-Werten gefunden (Spearman's Rangkorrelation: $S = 15784,42$; p-Wert = $0,01827$; $\rho = 0,3262007$). Die SVI-Werte waren für tiefer im Gewebe liegende Zellen höher als für Zellen, die näher zur Oberfläche des MON abgeleitet wurden. Dieser Zusammenhang ist unter Berücksichtigung der möglichen Ungenauigkeit der Elektrodenposition im Bereich von $100 \mu\text{m}$ bis eventuell $300 \mu\text{m}$ trotz des Erreichens des Signifikanzniveaus von $p < 0,05$ als eher schwach einzuschätzen ($y = 0,033x + 4,718$; Residuen Standardfehler: $38,98$ für 50 Freiheitsgrade, angepasstes $R^2 =$

0,08087; F-Wert = 5,487 für 1 und 50 Freiheitsgrade; p-Wert = 0,02318).

Die relativen Antworten auf die künstliche Beatmungsströmung waren, wie bereits bei den primären Afferenzen festgestellt, auch innerhalb der MON-Neurone sehr variabel. Daher wurde mittels Clusteranalyse untersucht, ob sich die Neurone aufgrund ihrer relativen Antwort auf die künstliche Beatmung in Gruppen einteilen lassen. Das Dendrogramm der Clusteranalyse (SVI-Werte; Methode: Wards; Distanz: euklidisch) in Abbildung 2.28A zeigt zwei Hauptgruppen (1 und 2). Die Population der MON-Neurone spaltete sich in zwei ungefähr gleich große Gruppen auf. Von den 70 untersuchten MON-Neuronen wurden 31 (*L. idus*: 17; *C. auratus*: 14) nur gering durch die künstliche Beatmung beeinflusst (Gruppe 1). Hierbei wurden, mit Ausnahme einer Zelle, welche nur bei abgeschalteter KB Aktivität zeigte, überwiegend geringe Ratenabnahmen festgestellt (SVI-Werte zwischen -100 und 10,1; Median = -3,8). Bei 39 (*L. idus*: 19; *C. auratus*: 20) der 70 MON-Neurone (Gruppe 2) war eine deutlich stärkere Beeinflussung durch die KB vorhanden, wobei diese Neurone Ratenabnahmen von mehr als 16,9% zeigten (SVI-Werte zwischen 16,9 und 100; Median = 59,0). Die relative Antwort auf die Atmungsströmung (SVI) beider Gruppen ist in Abbildung 2.28B dargestellt.

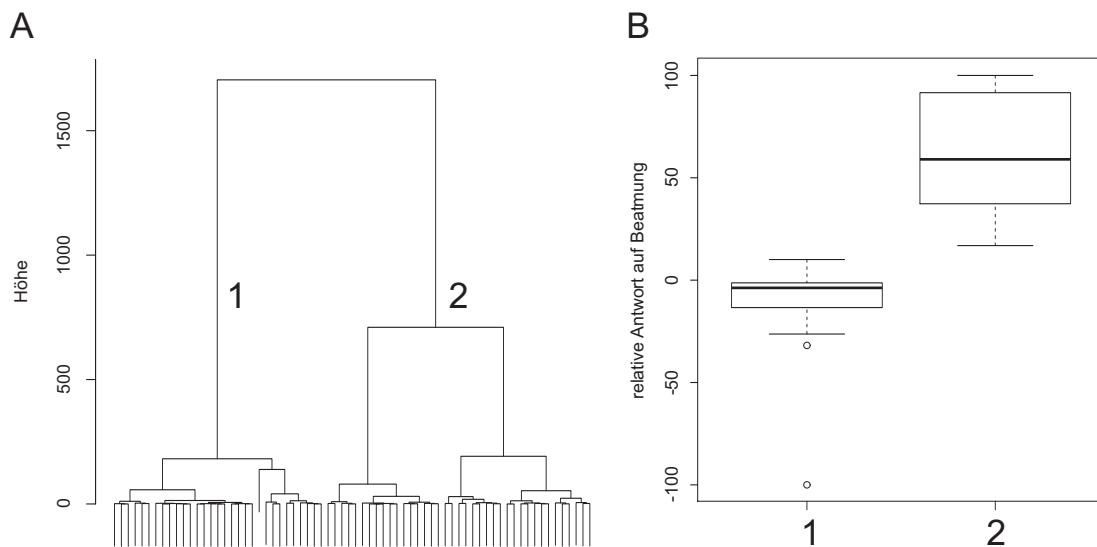


Abbildung 2.28: **Clusteranalyse der relativen Änderungen der neuronalen Aktivität der MON-Neurone in Abhängigkeit der künstlichen Beatmung (SVI).** A: Dendrogramm B: Vergleich der SVI-Werte für Gruppe 1 und 2 aus A.

Die 30 MON-Neurone der Gruppe 1 (Abb. 2.28B), welche nur eine geringe Beeinflussung der mittleren Entladungsraten zeigten, wurden hinsichtlich einer Änderung im zeitlichen Muster des Auftretens von Entladungen untersucht (das Neuron mit einem SVI von -100 wurde ausgeschlossen, da es bei eingeschalteter KB keine Entladungen aufwies). Die HDI-Werte für Stillwasser mit und ohne Be-

atmung sind in Abbildung 2.29 gezeigt. Innerhalb der Neuronenpopulation mit geringer Ratenänderung unterschieden sich die HDI-Werte bei an- und abgestellter KB nicht signifikant (einseitiger, gepaarter Wilcoxon Vorzeichenrangtest mit Kontinuumskorrektur: $V = 311$; p -Wert = 0,05472; Medianunterschied = 0,0051), wobei zwei der Neurone der SVI-Gruppe 1 jedoch ein wesentlich regelmäßigeres Entladungsmuster ohne KB zeigten (Abb. 2.29).

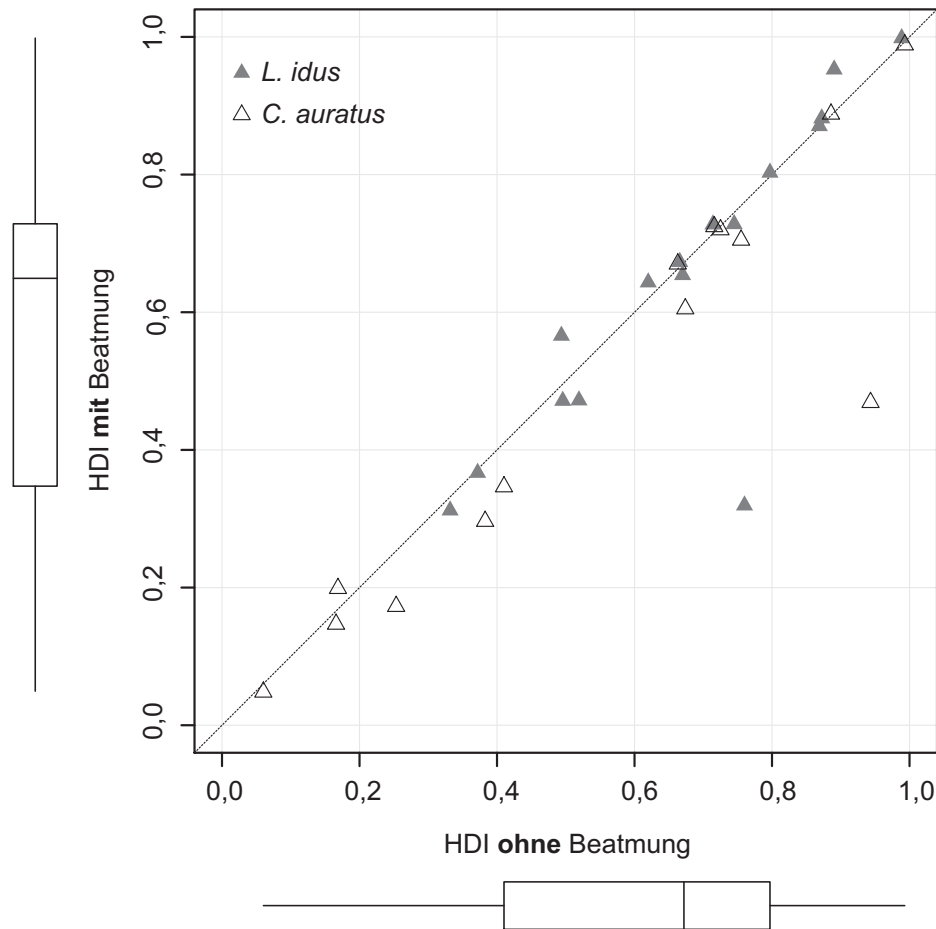


Abbildung 2.29: **Einfluss künstlicher Beatmung im Stillwasser auf das Entladungsmuster der MON-Neurone mit geringer Entladungsratenänderung bei *L. idus* (gefüllte Dreiecke) und *C. auratus* (ungefüllte Dreiecke).** Die Regelmäßigkeit des Entladungsmusters (HDI) der MON-Zellen mit geringen SVI-Werten ohne und mit KB sind gegenübergestellt. Box-and-whisker-plots an den Achsen zeigen die Verteilung der HDI-Werte ohne und mit KB. HDI-Werte nahe 1 zeigen hierbei ein sehr regelmäßiges Entladungsmuster mit nahezu konstantem Abstand zwischen sukzessiven Entladungen an. HDI-Werte nahe 0 hingegen zeigen ein sehr unregelmäßiges Muster mit großer Variabilität in den Abständen zwischen aufeinanderfolgenden Entladungen (Bursts) an (siehe auch Abb. 2.6).

Künstliche Beatmung bei beiden Fischarten

Da der Wasserstrom der KB bei *Leuciscus idus* und *Carassius auratus* unterschiedliche Strömungsfelder ausbildete (bereits beispielhaft in Abb. 2.7 gezeigt),

wurde untersucht, ob die KB bei beiden Fischarten zu unterschiedlich starken Antworten der MON-Neurone führt. Es wurde kein Unterschied in der Häufigkeit zwischen den beiden Fischarten innerhalb der nicht beatmungssensitiven (Gruppe 1 in Abb. 2.28) und der beatmungssensitiven MON-Neurone (Gruppe 2 in Abb. 2.28) gefunden (Pearson's χ^2 -Test: $\chi^2 = 0,259$ für 1 Freiheitsgrad; p-Wert = 0,6108). Auch gab es keinen signifikanten Unterschied zwischen der Beatmungssensitivität in Stillwasser (SVI-Werte) der MON-Neurone zwischen beiden Fischarten (zweiseitiger Wilcoxon Rangsummentest mit Kontinuumskorrektur: $V = 530$; p-Wert = 0,3382; Median für *Leuciscus idus* = 19,7; Median für *Carassius auratus* = 37,5). Die Beeinflussung der neuronalen Aktivität der primären Afferenzen und MON-Neurone ist für beide Spezies in Abbildung 2.30 dargestellt.

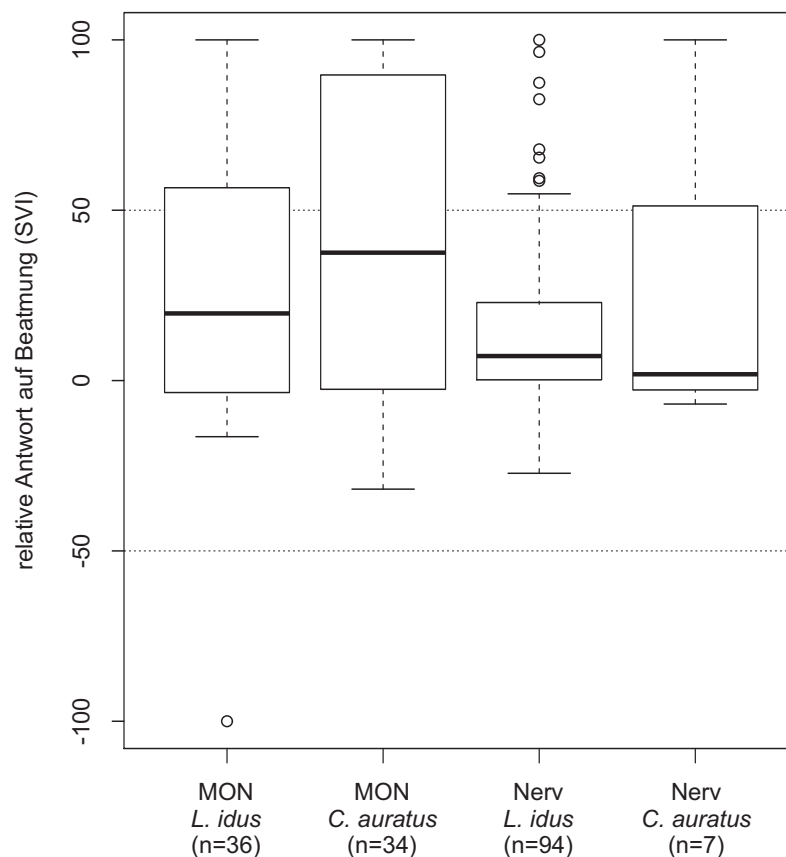


Abbildung 2.30: **Relative Antwort auf künstliche Beatmung im Stillwasser für *Leuciscus idus* und *Carassius auratus*.** Die Verteilung der relativen Antworten auf die KB im Stillwasser (SVI) ist für den MON von *Leuciscus idus* und *Carassius auratus* sowie die Seitenliniennervenfaser von *Leuciscus idus* und *Carassius auratus* gezeigt. Die Anzahl der abgeleiteten Zellen ist jeweils in Klammern angegeben.

Auf einen Vergleich des Einflusses der KB auf die primären Afferenzen beider Arten wurde aufgrund der stark abweichenden Zellzahlen (94 gegenüber 7 Seitenliniennervenfaser) verzichtet. Im Folgenden werden die MON-Neurone beider Spezies

daher zusammengefasst.

Künstliche Beatmung bei Strömungsstimulation

Der Einfluss der künstlichen Beatmung auf die Entladungsraten wurde auch bei zusätzlicher Stimulation mit externer Wasserströmung untersucht. Die relativen Antworten der MON-Neurone auf die KB im Stillwasser und bei verschiedenen Strömungsstimulationen sind in Abbildung 2.31 gezeigt.

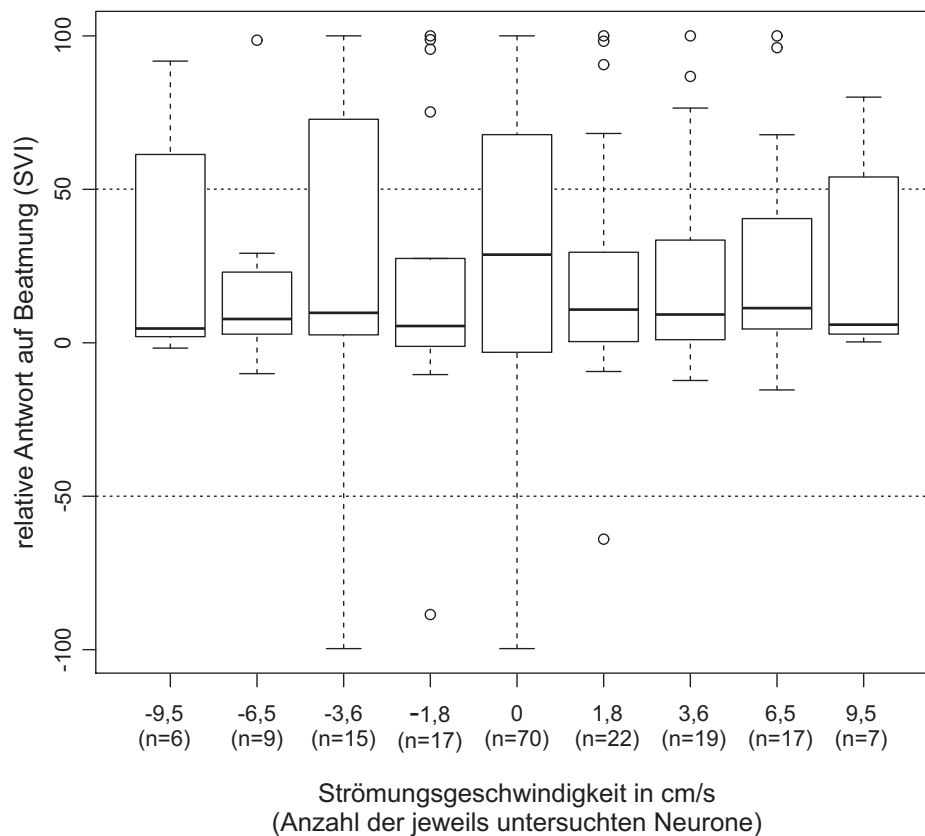


Abbildung 2.31: **Relativer Einfluss der künstlichen Beatmung auf die Entladungsraten der MON-Neurone im Stillwasser und bei Stimulation mit Strömung.** Die relativen Entladungsratenänderungen durch die KB (SVI) werden mittels Box-and-whisker-plots für verschiedene Strömungsgeschwindigkeiten gezeigt. Positive Geschwindigkeiten entsprechen rostro-caudaler und negative Geschwindigkeiten caudo-rostraler Strömung. Die Stillwasserbedingung (0 cm/s) wurde zum Vergleich eingefügt. Die Anzahl der jeweils untersuchten Neurone ist unterhalb in Klammern angegeben. Positive SVI-Werte zeigen eine relative Zunahme der Entladungsrate, wenn die KB vorhanden ist, wohingegen negative Werte eine Abnahme bei KB anzeigen. Die gestrichelten Linien zeigen eine Verdopplung (SVI-Wert 50) oder eine Halbierung (SVI-Wert -50) der Aktivität der Neurone relativ zur jeweiligen Stimulationsbedingung ohne KB an. Ein SVI-Wert von 100 zeigt das Fehlen von Entladungen bei abgeschalteter KB an.

Die Antworten auf die KB im Stillwasser ($n = 70$) wurden mit den Antworten auf die KB in allen rostro-caudal gerichteten Strömungsstimuli ($n = 65$) und allen caudo-rostral gerichteten Strömungsstimuli ($n = 47$) verglichen. Hierbei

wurde kein signifikant unterschiedlicher Einfluss der KB festgestellt (Kruskal-Wallis Rangsummentest: Kruskal-Wallis $\chi^2 = 0,3166$ für 2 Freiheitsgrade; p-Wert = 0,8536). Die KB beeinflusste somit sowohl im Stillwasser wie auch bei Stimulation mit rostro-caudaler und caudo-rostraler Strömung die relative neuronale Aktivität.

Die Antworten der MON-Neurone auf Strömungsreize waren, wie auch die Beeinflussung durch die KB, sehr variabel. Daher wurden die Antworten der mit Strömungsreizen stimulierten Neurone auf Basis ihrer relativen Strömungsantwort (SFI) und SVI-Werte im Stillwasser mittels Clusteranalyse klassifiziert. Das Dendrogramm der Clusteranalyse (SFI-Werte & Stillwasser-SVI-Werte; Methode: Wards; Distanz: euklidisch) in Abbildung 2.32A zeigt drei Hauptgruppen (1, 2 und 3). Bei 23,5% der Strömungsstimulationen (Cluster 1, n = 25) wurde eine geringe Antwort auf Strömung und KB festgestellt, wohingegen bei den meisten Strömungsstimulationen und KB (Cluster 2, n = 56) eine mittlere Antwortstärke auftrat. Bei den verbleibenden 23,5% der Ableitungen (Cluster 3, n = 25) wurde eine starke Antwort auf Strömung und KB festgestellt (Abb. 2.32B).

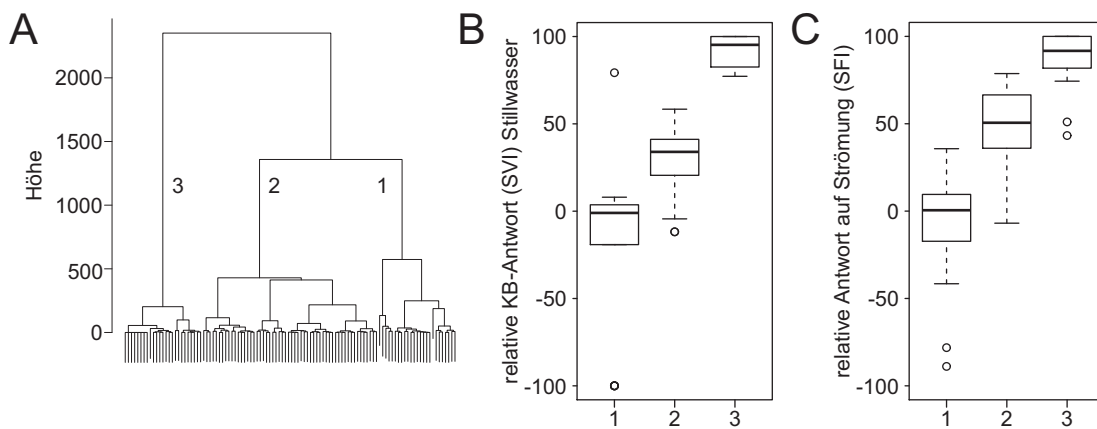


Abbildung 2.32: **Zweifaktorielle Clusteranalyse der MON-Neurone basierend auf den relativen Beatmungsantworten im Stillwasser und den relativen neuronalen Antworten aller präsentierten Strömungsreize.** **A:** Dendrogramm **B:** Vergleich der Stillwasser-SVI-Werte der auf Strömung getesteten Neurone für Gruppe 1, 2 und 3 aus A. **B:** Vergleich der SFI-Werte der Neurone für Gruppe 1, 2 und 3 aus A.

Die relativen Antworten der MON-Zellen auf die KB im Stillwasser ist gegenüber der relativen Antworten auf Strömungsstimulation ohne KB in Abbildung 2.33 dargestellt. Zur Beschreibung der relativen Strömungsantwort wurde der Signed Flow Index (SFI) verwendet, welcher die relative Änderung der Entladungsraten gegenüber der jeweiligen Stillwassersituation beschreibt.

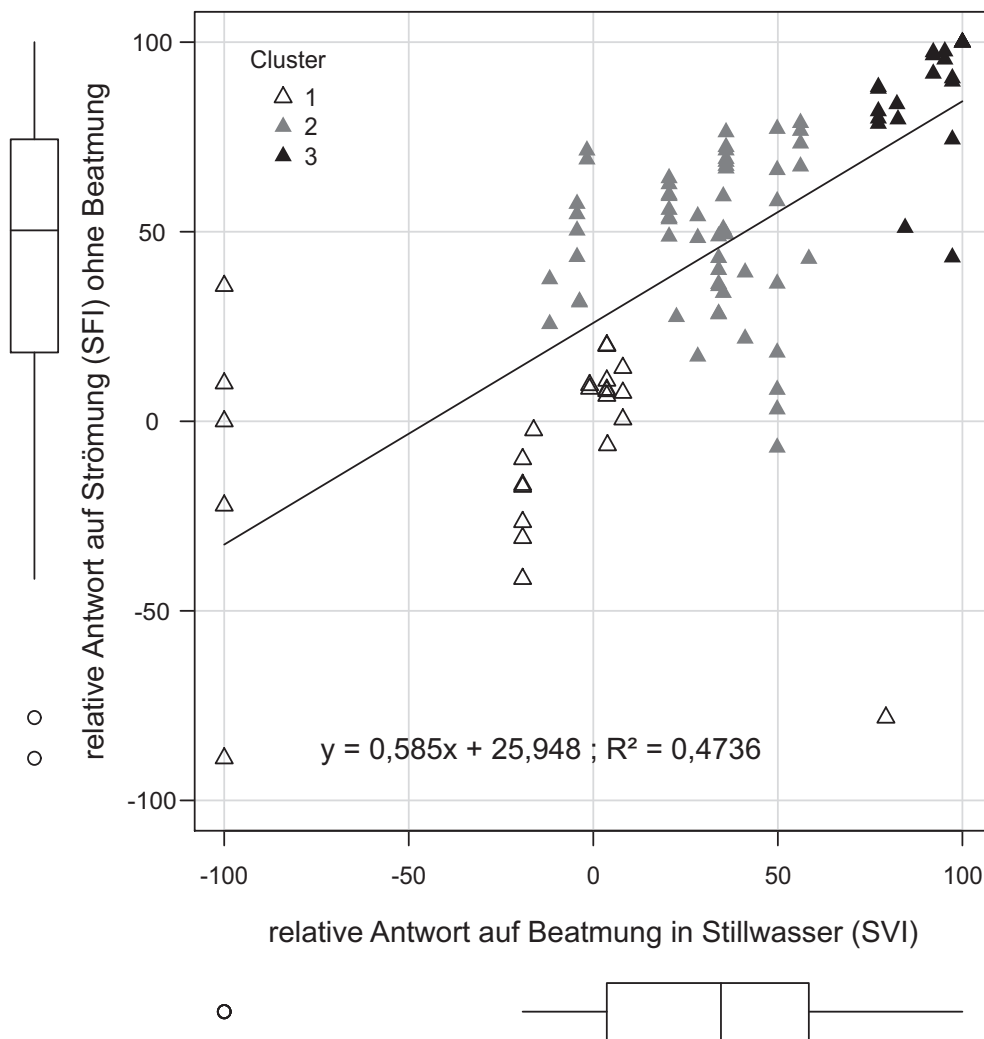


Abbildung 2.33: **Antwort auf künstliche Beatmung und Strömungssensitivität der MON-Neurone.** Die relative Antwort auf KB (SVI) der MON-Neurone ist gegenüber der relativen Antwort auf Strömung (SFI) ohne Beatmung dargestellt. In dieser Abbildung sind 106 Strömungsstimulationen von 30 MON-Neuronen enthalten. Die unterschiedlichen Symbole zeigen die anhand der SFI- und Stillwasser-SVI-Werte durchgeführten Eingruppierung der neuronalen Antworten in die in der Abbildung 2.28 auf Seite 77A gezeigten Cluster 1 (ungefüllt), 2 (grau) und 3 (schwarz). Die Box-and-whisker-plots an den Achsen zeigen die Verteilung der SVI-Werte und der SFI-Werte für unterschiedliche Strömungsstimulationen. Die eingezeichnete Gerade ist die lineare Regression der relativen Beatmungsantwort im Stillwasser und der relativen Antwort auf die präsentierten Strömungsstimuli. Positive SVI-Werte zeigen eine relative Zunahme der Entladungsrate, wenn die KB vorhanden ist, wohingegen negative Werte eine Abnahme bei KB anzeigen. Die gestrichelten Linien zeigen eine Verdopplung (SVI-Wert 50) bzw. eine Halbierung (SVI-Wert -50) der Aktivität der Neurone relativ zur jeweiligen Stimulationsbedingung ohne KB an. Ein SVI-Wert von 100 zeigt das Fehlen von Entladungen bei abgeschalteter KB an. Vergleichbar zeigen positive SFI-Werte eine relative Zunahme der Entladungsrate, wenn mit Strömung stimuliert wurde, wohingegen negative Werte eine Abnahme bei Strömung anzeigen. Die gestrichelten Linien zeigen eine Verdopplung (SFI-Wert 50) oder eine Halbierung (SFI-Wert -50) der Aktivität der Zellen relativ zur Stillwasserbedingung an. Ein SFI-Wert von 100 zeigt an, dass nur unter Strömungsstimulation neuronale Aktivität festzustellen war.

Nicht alle auf die KB getesteten Neurone konnten auch auf Strömung getestet

werden. Zusätzlich wurden die meisten Zellen nicht nur mit einer, sondern mit mehreren Strömungsgeschwindigkeiten stimuliert. Die Abbildung 2.33 zeigt daher 106 Strömungsstimulationen von 30 MON-Neuronen (im Vergleich zu Abb. 2.31 entfielen sechs Strömungsstimulationen, da bei abgeschalteter KB sowohl im Stillwasser wie auch unter Strömung keine Entladungen vorhanden waren). Die Antwortstärke auf die Strömungsstimulation korrelierte mit der Beatmungssensitivität im Stillwasser (Spearman's Rangkorrelation: $S = 52071,37$; p -Wert $< 2,2e-16$; $\rho = 0,7376559$), wobei stärkere Strömungsantworten von Neuronen stammen, die im Stillwasser stärker durch die KB beeinflusst wurden. Eine lineare Regression beschreibt diesen Zusammenhang ($y = 0,5846x + 25,9482$; Residuen Standard Fehler = 28,63 für 104 Freiheitsgrade; angepasstes $R^2 = 0,4736$; F -Wert = 95,47 für 1 und 104 Freiheitsgrade; p -Wert = $2,2e-16$).

Die relative Antwort (SFI) der MON-Neurone ($n = 30$) auf verschiedene Strömungsreize ($n = 105$) jeweils mit und ohne KB ist in Abbildung 2.34 gezeigt. Die gestrichelte Linie zeigt eine nicht durch die KB beeinflusste Strömungsantwort an. Bei Betrachtung aller Strömungsstimulationen, war die relative Strömungsantwort der MON-Neurone bei vorhandener KB verringert (einseitiger, gepaarter Wilcoxon Vorzeichenrangtest mit Kontinuumskorrektur: $V = 4236$; p -Wert = $1,701e-06$; Medianunterschied = 13,1).

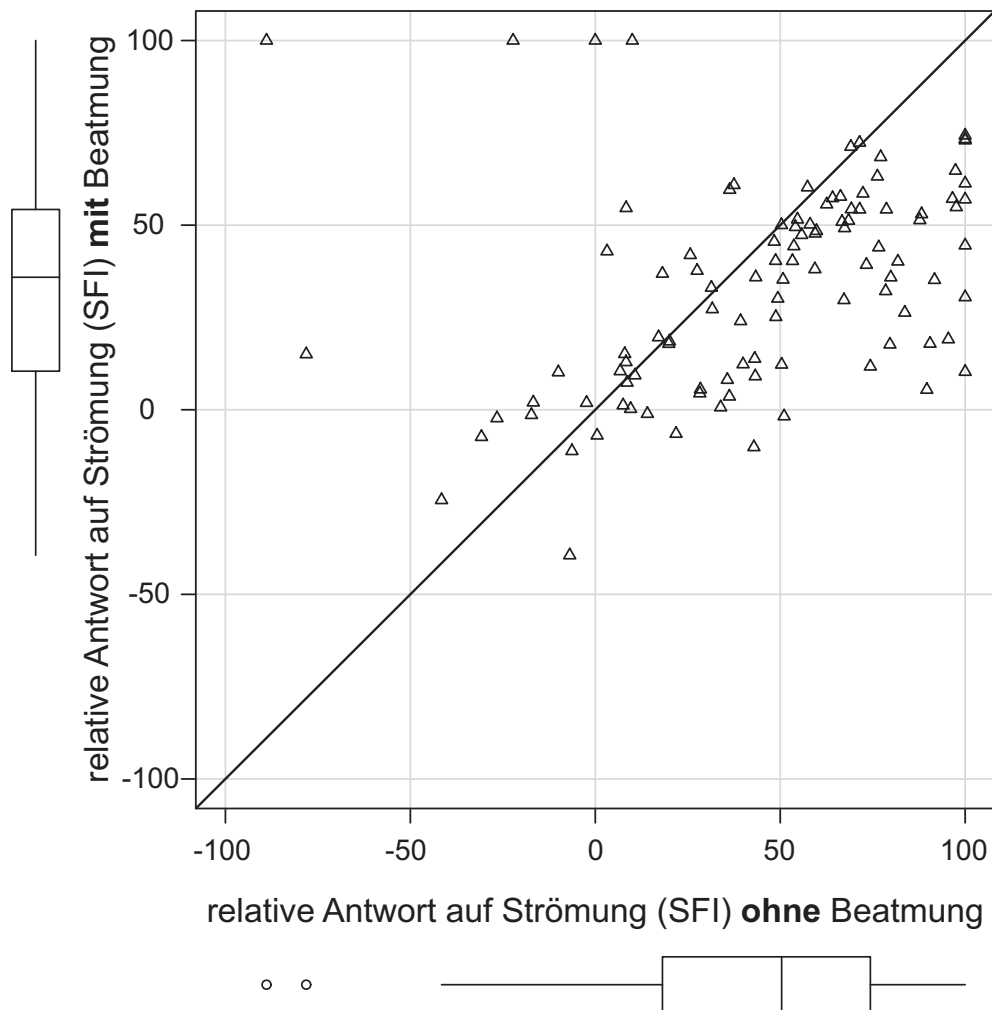


Abbildung 2.34: **Maskierung der Strömungsantwort der MON-Neurone durch die künstliche Beatmung.** Die relative Antwort auf Strömung (SFI) der MON-Zellen ohne KB ist gegenüber der relativen Antwort auf Strömung (SFI) mit KB dargestellt. In dieser Abbildung sind 105 Strömungsstimulationen von 30 Neuronen enthalten. Die Box-and-whisker-plots an den Achsen zeigen die Verteilung der SFI-Werte ohne und mit KB. Auf der gepunkteten Diagonalen liegende Punkte zeigen Strömungsantworten an, welche nicht durch die KB beeinflusst wurden. Positive SFI-Werte zeigen eine relative Zunahme der Entladungsrates, wenn mit Strömung stimuliert wurde, wohingegen negative Werte eine Abnahme bei Strömung anzeigen. Die gestrichelten Linien zeigen eine Verdopplung (SFI-Wert 50) oder eine Halbierung (SFI-Wert -50) der Aktivität der Neurone relativ zur Stillwasserbedingung an. Ein SFI-Wert von 100 zeigt an, dass neuronale Aktivität nur unter Strömungsstimulation festgestellt wurde.

Besondere Beobachtungen bei den Mon-Neuronen

Von den beatmungssensitiven Neuronen des MON reagierte eine Zelle besonders stark auf die KB, wohingegen diese nicht auf hydrodynamische Reizung bei abgestellter KB reagierte (Abb. 2.35). Das Neuron wurde bei *Carassius auratus* in einer Tiefe von ca. 1200 μm abgeleitet.

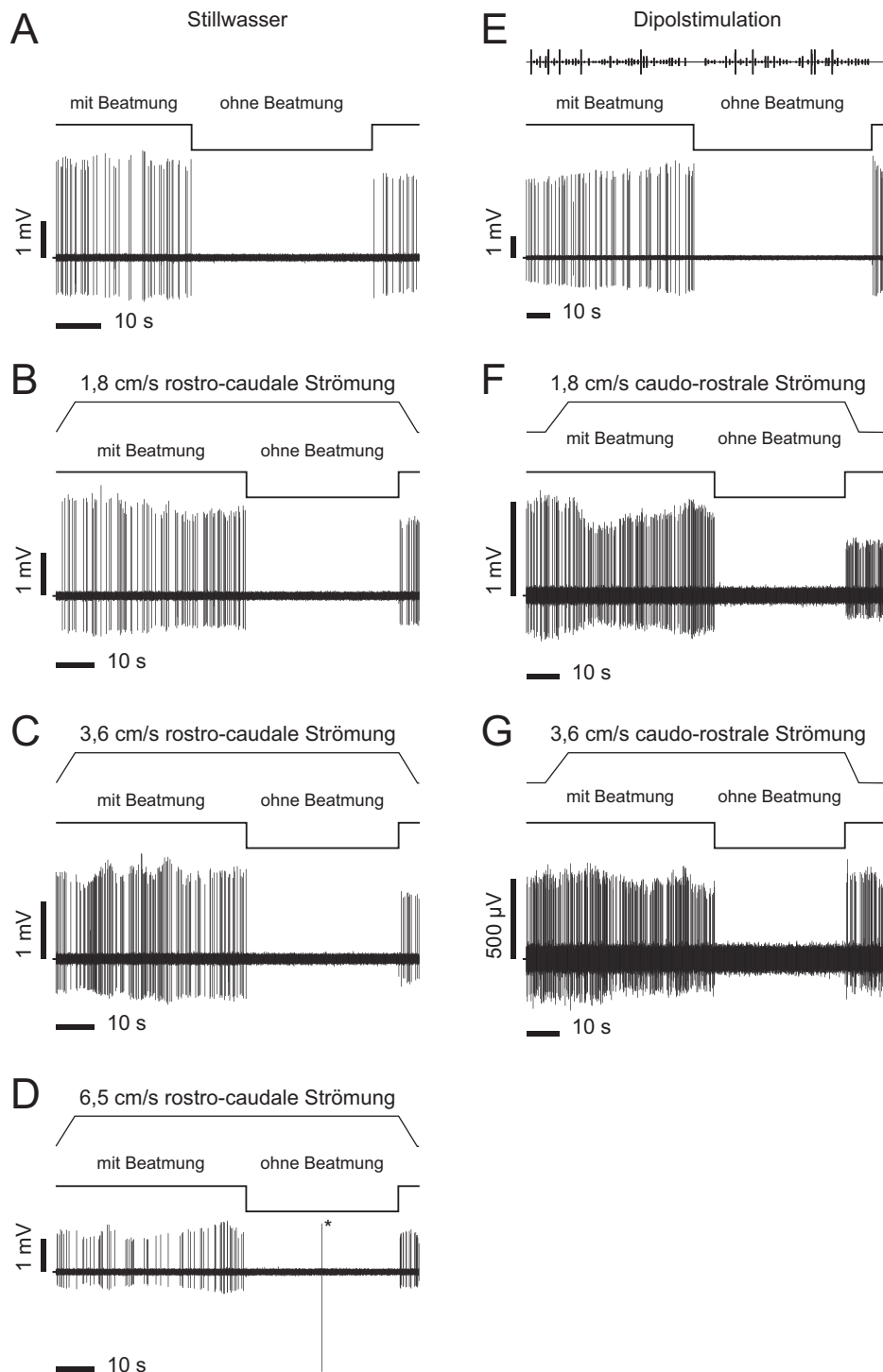


Abbildung 2.35: **Kodieren der künstlichen Beatmung durch die An/Aus-Antwort eines MON-Neurons in *Carassius auratus*.** **A bis G:** Originalableitungen eines Neurons, welches nur bei eingeschalteter KB eine neuronale Aktivität zeigte (jeweils vorderer Zeitabschnitt). Selbst bei unterschiedlicher Reizung (in B bis G jeweils oben) konnten bei abgeschalteter KB keine Entladungen beobachtet werden (hinterer bzw. mittlerer Zeitabschnitt). **A:** Stillwasser. **B bis D:** rostro-caudale Strömung mit einer Geschwindigkeit von 1,8 cm/s in **B**, 3,6 cm/s in **C** und 6,5 cm/s in **D**. Ein Artefakt ist mit einem Stern gekennzeichnet. **E:** Dipolstimulation mit 20, 40, 60, 80 und 100 Hz mit zwei unterschiedlichen Amplituden. Die obere Spur zeigt das Ausgangssignal des D/A-Wandlers, wobei die einzelnen vertikalen "Balken" jeweils einem der 100 Sinusreize entsprechen. **F und G:** caudo-rostrale Strömung mit einer Geschwindigkeit von 1,8 cm/s in **F** und 3,6 cm/s in **G**.

2.4 Diskussion

Die verwendete künstliche Beatmung (KB) stellt einen komplexen hydrodynamischen Stimulus dar, wobei dessen Ausformung unter anderem von der verwendeten Fischart beziehungsweise deren Maul- und Kiemenmorphologie abhängen könnte (vergleiche hierzu Abb. 3.1 auf Seite 97).

Primäre Afferenzen

Die Ruheentladungsraten der primären Afferenzen waren im Stillwasser bei eingeschalteter KB höher (Mittelwert = 39,7 Hz; Median = 33,3 Hz) als ohne KB (Mittelwert = 34,3 Hz; Median = 27,6 Hz). Die komplexe Beatmungsströmung beeinflusst demnach die neuronale Aktivität der primären Afferenzen. Die absoluten Entladungsraten liegen im Bereich derer früherer Studien wie beispielsweise Mogdans & Bleckmann 1998 (Median = 21,5 Hz), Coombs et al. 1998 (Mittelwert = 17,4 Hz für *Carassius auratus*), Chagnaud et al. (2008b) (Mittelwert = 19,1 Hz; Median = 15,3 Hz) oder auch Mogdans & Geisen 2009 (Mittelwert = 30,3 Hz; Median = 30 Hz). Die Ruheaktivitäten der primären Afferenzen variierten stark von weniger als 1 Hz bis hin zu über 200 Hz. Diese Variabilität wurde ebenfalls in früheren Studien, beispielsweise Mogdans & Geisen 2009 (0,2 bis 102,3 Hz) oder Mogdans & Bleckmann 1998 (1,4 bis 63 Hz), gefunden und scheint charakteristisch für die Seitenliniennervenfasern zu sein. Aufgrund der starken Variabilität der Ruheaktivitäten wurden für die Analyse überwiegend relative Änderungen der Ruheaktivität beschrieben. Dem liegt folgende Annahme zugrunde: Eine absolute Ratensteigerung von beispielsweise 5 Hz, die mittlere Ratenänderung der primären Afferenzen in dieser Studie, hat bei einer Nervenfasern mit einer Ruheentladungsrate von nur 5 Hz eine stärkere Auswirkung, als bei einer Faser mit einer Ruheaktivität von 80 Hz. Die Beschreibung der relativen Änderung in Form eines Faktors ist insbesondere bei einer sehr geringen Anzahl von Entladungen grundsätzlich kritisch zu sehen. Da in den Stillwasser- und Strömungsbedingungen jedoch Daten über mindestens 30 s erhoben wurden, bilden selbst bei geringen Entladungsraten von beispielsweise 2 Hz noch 60 Entladungen die Grundlage für das relative Änderungsmaß. Weiterhin wurde die Stimulation teilweise mehrfach präsentiert, wodurch sich die Datengrundlage weiter erhöhte. Innerhalb der primären Afferenzen wurden zwei Teilpopulationen identifiziert, die entweder nur schwache relative Änderungen der neuronalen Aktivität zeigten oder mit mindestens 30% Ratenänderung auf die KB reagierten.

Auswirkung der KB auf Oberflächen- und Kanalneuromasten

Die Ruheaktivität der stark beatmungssensitiven Fasern war sowohl mit KB als auch ohne KB geringer als die Ruheaktivität der Fasern, die nur schwache relative Änderungen der neuronalen Aktivität bei Abschalten der KB zeigten. Münz & Claas (1983) führten die Unterschiede in den Spontanentladungsraten der primären Afferenzen auf unterschiedliche Haarsinneszellanzahlen in den Oberflächen- und Kanalneuromasten zurück. Die Arbeit von Kroese & Schellart (1992) zeigte, dass die Oberflächenneuromasten innervierenden Seitenliniennervenfasern eine geringere Spontanaktivität aufwiesen als jene, die Kanalneuromasten innervierten. In der vorliegenden Arbeit wurde festgestellt, dass der Einfluss der KB im Stillwasser besonders groß war. Demnach sind insbesondere die Ruheaktivitäten der primären Afferenzen durch die KB erhöht, wohingegen der Einfluss der KB während der Präsentation von Strömungsreizen schwächer als im Stillwasser war. Dieser Umstand kann dadurch erklärt werden, dass bei einem Strömungsreiz bereits Wasserbewegung im Versuchstank vorhanden ist, wodurch die zusätzliche Wasserströmung durch die KB weniger Einfluss hatte. Ferner wurde bei jenen Fasern eine stärkere Strömungsantwort gefunden, die im Stillwasser ebenfalls stark auf die KB reagierten. Es konnte weiterhin gezeigt werden, dass die Strömungsantworten der Nervenfasern bei der üblicherweise verwendeten KB geringer ausfielen als bei abgeschalteter Beatmung. Dies war insbesondere bei stark strömungssensitiven Fasern zu beobachten. Da die Wahrnehmung von Strömung durch das Seitenliniensystem der Fische im Kapitel 4 ausführlich untersucht wird, wurde bei den Strömungsreizen im Kontext der KB nicht systematisch zwischen den Strömungsrichtungen und Strömungsgeschwindigkeiten unterschieden. Engelmann & Bleckmann (2004) zeigten, dass sich die Seitenliniennervenfasern bezüglich der Strömungssensitivität in zwei Typen einteilen lassen. Die strömungssensitiveren Fasern wurden hierbei, gestützt durch unterschiedliches Antwortverhalten dieser Fasern auf Dipolreize, als Oberflächenneuromasten innervierend angesprochen.

Um die Beteiligung der Oberflächen- und Kanalneuromasten an den neuronalen Antworten der primären Afferenzen auf KB weiter zu untersuchen, wurde bei einem Teil der aufgenommenen Fasern, in Anlehnung an frühere Studien (Montgomery et al. 1988; Kroese & Schellart 1992; Wubbels 1992; Engelmann & Bleckmann 2004), zusätzlich mechanische Dipolreize bei ein- beziehungsweise abgeschalteter KB präsentiert. Die Fasern des Dipolantworttyps A wiesen ein Hochpassverhalten auf, reagierten also vornehmlich auf hohe Frequenzen von 80 Hz oder 100 Hz, wohingegen die Antworten auf Dipolreize niedriger Frequenz we-

sentlich geringer ausfielen beziehungsweise ganz fehlten. Die Fasern des Dipoltyps A antworteten demnach erst auf die hohen Beschleunigungswerte der Dipolreize höherer Frequenzen (da die Geschwindigkeit des Dipols bei unterschiedlichen Frequenzen konstant gehalten wird, steigt mit zunehmender Frequenz die Beschleunigung an). In der Arbeit von Kroese & Schellart (1992) wurde festgestellt, dass die Kanalneuromasten innervierende Fasern bei hohen Dipolfrequenzen die größte Empfindlichkeit zeigen. Aufgrund des gezeigten Hochpassverhaltens innervierten die elf nicht beatmungssensitiven Seitenlinienfasern des Dipolantworttyps A mit hoher Wahrscheinlichkeit Kanalneuromasten.

Bei Fasern des Dipolantworttyps B wurden die maximalen Entladungsraten bei Dipolfrequenzen von 60 oder 80 Hz und zusätzlich eine stärkere Sensitivität gegenüber der KB gefunden. In der Arbeit von Kroese & Schellart (1992) wurden Seitenliniennervenfasern, welche bei niedrigen Dipolfrequenzen die höchste Sensitivität aufwiesen, als Oberflächenneuromasten innervierende Fasern angesprochen. Auch wenn die neuronale Abbildung von Dipolreizen in der Regel bei vorhandener KB möglich war, wurde bei einem Teil der Fasern des Dipolantworttyps B die Antwort auf die präsentierten Dipolreize durch die KB maskiert (vergleiche Abb. 2.20 und Abb. 2.21). Dieser Effekt wurde bei Fasern des Dipolantworttyps A nicht beobachtet. Die Maskierung von Dipolreizen durch zusätzlich präsentierte Wasserströmung bei einem Teil der Seitenliniennervenfasern wurde auch in der Studie von Engelmann & Bleckmann (2004) gefunden. Die Fasern, bei welchen die Dipolantworten durch die Strömung maskiert wurden, innervierten vermutlich Oberflächenneuromasten, wohingegen die Kanalneuromasten innervierenden Fasern nicht durch die präsentierte Strömung in der Abbildung der Dipolreize beeinflusst wurden.

Die Fasern des Dipoltyps D reagierten nicht auf die präsentierte Dipolstimulation, was entweder auf eine Stimulation unterhalb der spezifischen Reizschwelle der Fasern oder eine Beschädigung des/der Neuromasten hinweist. Fasern des Dipolantworttyps C hingegen reagierten auf alle präsentierten Dipolreize, wobei sich die neuronalen Antworten dieser Fasern kaum zwischen den beiden präsentierten Geschwindigkeitsamplituden unterschieden. Dies lässt darauf schließen, dass die Fasern bei den präsentierten Dipolamplituden bereits in Sättigung waren und daher alle präsentierten Frequenzen und Intensitäten gleich gut in ihrer Entladungsrate abbildeten. Anhand des Antwortverhaltens dieser beiden Dipolantworttypen kann daher nicht zwischen Oberflächen- oder Kanalneuromasten innervierenden Fasern unterschieden werden, was auch die Zuordnung sowohl nicht beatmungssensitiver wie auch beatmungssensitiver Fasern zu den Dipolantworttypen C und

D erklären könnte.

Die gefundenen Unterschiede hinsichtlich der Ruheaktivität, der Stärke der Strömungsantwort und der Reaktion auf Dipolstimuli deuten darauf hin, dass die Beatmungssensitivität der primären Afferenzen unter anderem abhängig davon ist, ob die Faser einen Oberflächen- oder Kanalneuromasten innerviert. Die stark durch die KB beeinflussten Fasern innervierten mit großer Wahrscheinlichkeit Oberflächenneuromasten, wohingegen Kanalneuromasten innervierende Fasern vermutlich kaum durch die KB beeinflusst wurden. Der Anteil der nicht beatmungssensitiven Fasern betrug in der vorliegenden Arbeit 76%, wobei dieser Anteil vermutlich nicht ausschließlich Fasern beinhaltet, die Kanalneuromasten innervierten. Im Versuchsverlauf wurden die Fasern nicht vor der Datenaufnahme mittels Pipettenbewegung oder anderer manuell verursachter Wasserbewegungen auf Reaktion bei hydrodynamischer Stimulation getestet. Dadurch sollte eine mögliche Vorselektion auf Fasern, die beispielsweise besonders gut auf großräumige, niederfrequente Stimuli reagieren, vermieden werden. Es wird vermutet, dass sich innerhalb der 101 Seitenliniennervenfasern auch Fasern befanden, die beschädigte Neuromasten innervierten und somit keinen sensorischen Eingang mehr erhielten. Da der überwiegende Anteil der Nervenfasern bei *Leuciscus idus* aufgenommen wurde, könnte der geringe Anteil an beatmungssensitiven Fasern auch durch die spezifische Seitenlinienmorphologie dieser Fischart begründet sein. Im Bauchbereich, unterhalb des Rumpfkanaals, befinden sich bei *Leuciscus idus* keine Oberflächenneuromasten (Schmitz et al. 2014, sowie Abb. 3.3 auf Seite 99). Die KB überströmt insbesondere diesen Bereich (vergleiche Abb. 2.7 auf Seite 54), in dem keine Oberflächenneuromasten lokalisiert sind.

Einfluss der Neuromastenposition auf die Beatmungssensitivität

Die Beeinflussung der neuronalen Aktivität der Nervenfasern war, zumindest bei *Leuciscus idus*, gleichmäßig auf die Körperregionen P1 bis P4 verteilt. In der Tendenz befanden sich die Neuromasten der am stärksten beeinflussten Fasern jedoch direkt hinter den Kiemen. In anderen Körperabschnitten wurden ebenfalls Fasern gefunden, welche auf die Wasserströmung der KB reagierten, wobei dieser Befund durch das großräumige Strömungsfeld der KB (siehe Abb. 2.7) erklärt werden kann.

Neurone des MON

Die im MON abgeleiteten Neuronen zeigten, wie die primären Afferenzen, im Stillwasser mit KB höhere Entladungsraten (Mittelwert = 37,3 Hz; Median =

29,0 Hz) als ohne KB (Mittelwert = 24,7 Hz; Median = 12,6 Hz). Somit konnte auch für die Neurone des MON ein Einfluss der künstlichen Beatmung auf die Entladungsraten im Stillwasser gezeigt werden. Die absoluten Entladungsraten sind im Vergleich zu den in anderen MON-Studien gefundenen Ruheentladungsraten, beispielsweise Ali 2008; Ali et al. 2010 (Mittelwert = 14,4 Hz; Median=10,0 Hz für *Carassius auratus*), Coombs et al. 1998 (Mittelwert = 5,5 Hz für *Carassius auratus*), Künzel 2009 (Mittelwert = 17,3 Hz; Median = 12,5 Hz für *Carassius auratus*), leicht erhöht. Die Ergebnisse der im MON abgeleiteten Neurone stimmen im Wesentlichen mit den Beobachtungen bei den primären Afferenzen überein. Der Anteil der beatmungssensitiven MON-Neurone war im Vergleich mit den afferenten Seitenlinienfasern höher, wobei die Einteilung mittels Clusteranalysen zu unterschiedlichen Grenzwerten führte (beatmungssensitive primäre Afferenzen: SVI-Wert > 30,4, beatmungssensitive MON Neurone: SVI-Wert > 16,9). Weiterhin ist der Einfluss der künstlichen Beatmung auf die neuronale Aktivität der MON-Neurone auch in den verwendeten Strömungsstimulationen deutlich vorhanden. Es wurden keine systematischen Unterschiede hinsichtlich der Sensitivität für künstliche Beatmung zwischen beiden Fischarten gefunden, obwohl ein leichter Trend hin zu einer stärkeren Beeinflussung der bei *Carassius auratus* abgeleiteten Neurone festzustellen war. Als besondere Beobachtung wurde im MON von *Carassius auratus* ein Neuron gefunden, welches ausschließlich auf die künstliche Beatmung, nicht jedoch auf andere hydrodynamische Reize, reagierte (siehe Abb. 2.35). Die neuronale Antwort war ähnlich eindeutig wie die am posterioren Seitenliniennerv von *Leuciscus idus* abgeleitete Faser, welche in Abbildung 2.24 gezeigt ist. Hierbei handelt es sich möglicherweise um einen Mechanorezeptor, welcher die Kiemenbewegung während der natürlichen Atmung kodieren könnte.

Alternative Ursachen für die Beeinflussung der neuronalen Aktivität durch die künstliche Beatmung

Die erhöhte neuronale Aktivität bei eingeschalteter KB kommt wahrscheinlich durch die Stimulation des Seitenliniensystems durch die von der KB hervorgerufenen Wasserbewegungen zustande. Alternativ kommen mechanischer Stress auf die abgeleiteten Nervenzellen und/oder Sauerstoffunterversorgung durch das Abschalten der KB in Betracht. Die KB wurde in den Versuchen mit einem Ventil abgeschaltet. Die hierbei entstehende Druckwelle hatte in den Vorversuchen gelegentlich zum Verlust von abgeleiteten Fasern geführt. Um diesen mechanischen Stress zu eliminieren wurde ein 200 ml fassender Tropf zwischen Ventil und Mundstück eingebaut, wodurch die Ausbreitung der Druckwelle wirkungsvoll

vermieden werden konnte. Auch konnte der Abschaltvorgang mehrmals wiederholt werden, ohne dass die Fasern verloren gingen (siehe Abb. 2.8). Gegen die prinzipiell ebenfalls mögliche Beeinflussung der neuronalen Aktivität durch eine Sauerstoffunterversorgung während der Zeit, in der die Beatmung abgeschaltet war, spricht die Tatsache, dass sich die Entladungsrate der Fasern sehr schnell nach dem Abstellen der KB verringerte. Weiterhin wurde eine Abnahme nur bei einem Teil der Seitenliniennervenfaser beobachtet, obwohl alle gleichermaßen von einem potentiellen Sauerstoffmangel betroffen sein müssten. Im natürlichen Atemverhalten wurden zumindest bei *L. idus* Atempausen von teilweise über 30 s beobachtet (siehe Kapitel 3). Die Zeiträume ohne Atemwasserstrom durch die KB waren vergleichbar lang und lagen damit im physiologisch tolerierten Bereich der Versuchstiere. Auch wurde im Verlauf der Versuche keine augenscheinliche Verschlechterung der Ableitqualität oder der Anzahl der abgeleiteten Neurone beobachtet, wovon bei einem starken Langzeiteffekt auszugehen wäre.

Künstliche Beatmung und zusätzliche hydrodynamische Stimulation

Bedingt durch die Komplexität der Wasserströmung der KB und der Vielzahl von verwendeten Versuchsaapparaturen in früheren Arbeiten, lässt sich der Einfluss der künstlichen Beatmung auf die Ergebnisse dieser Arbeiten nur schwer abschätzen. Die in früheren Studien überwiegend mit KB gemessene Ruheaktivität wurde in Anbetracht der Ergebnisse der vorliegenden Arbeit vermutlich durch die Wasserströmung der KB erhöht, d.h. die eigentlichen Spontanentladungsraten der primären Afferenzen sind im Stillwasser ohne KB wesentlich geringer. Beispielsweise führten Wubbels et al. (1990) die unregelmäßige, burst-artige Ruheaktivität primärer Afferenzen auf vorhandenes Rauschen in dem Versuchsaufbau zurück, wobei in Anbetracht der in der vorliegenden Arbeit beobachteten Effekte die Wasserströmung der künstlichen Beatmung höchstwahrscheinlich dazu gehörte. In den meisten Arbeiten diente die Ruheaktivität der Nervenfasern als Bezugspunkt für die Antwort auf wissentlich präsentierte Stimuli. Beinhaltet dieser Referenzwert jedoch bereits eine Stimulation durch die Beatmungswasserströmung, so werden die Antworten auf präsentierte Stimulationen als geringer wahrgenommen, als diese eigentlich sind. Fasern mit geringer Ruheentladungsrate sind möglicherweise bereits durch die präsentierte KB in Sättigung getrieben und reagierten daher weniger stark auf die wissentlich präsentierte Stimulation. In der vorliegenden Arbeit konnte beispielsweise gezeigt werden, dass die Antwort der primären Afferenzen auf Strömungsstimuli durch die KB verringert wird, da die Ruheentladungsraten bereits eine Stimulation durch die Wasserströmung der

KB enthalten. Fasern, die starke Antworten auf Strömung zeigten, reagierten ebenfalls stark auf die KB. Daher werden diese strömungssensitiven Fasern selektiv in ihrer Strömungsantwort beeinflusst. Vorherige Arbeiten könnten daher die Funktion des Seitenliniensystems insbesondere hinsichtlich Sensitivität und auch Selektivität auf bestimmte Stimuli unterbewertet haben. Wenige frühere Studien haben vorbeugend die Beeinflussung durch die künstliche Beatmung vermieden, beispielsweise indem der Atemwasserstrom vom Fisch weggelenkt wurde (Späth & Schweickert 1977) oder die künstliche Beatmung vom untersuchten Bereich der Fischeoberfläche separiert wurde (Kroese & Schellart 1992) oder die Beatmung des Fisches durch eine konstante großräumige Hintergrundströmung erfolgte (Voigt et al. 2000). Bei einem überwiegenden Teil der Arbeiten am Seitenliniensystem der Fische hat die künstliche Beatmung jedoch vermutlich die Ergebnisse zumindest zum Teil beeinflusst. Inwieweit die Durchflussmenge der künstlichen Beatmung die Stärke der ungewollten Stimulation des Seitenliniensystems beeinflusst, ist derzeit unklar. Erwartungsgemäß sollte eine geringere Durchflussrate zu weniger starken Effekten führen, sodass eine Minimierung des Durchflusses ratsam erscheint. Durch die Einführung der Dipolstimulationen und somit verlängerten Phasen mit abgeschalteter künstlicher Beatmung, wurden zu Beginn der Studie tendenziell eher geringe Durchflussraten verwendet, wohingegen bei den später durchgeführten Ableitungen im Hirnstamm tendenziell eher höhere Durchflussraten verwendet wurden. Die angegebenen Durchflussraten entsprechen der Situation ohne Versuchstier, wobei eine mögliche Verringerung der Durchflussmenge durch den Widerstand der Kiemen oder ein mögliches Verstopfen des Beatmungssystems unberücksichtigt bleibt. Jedoch können, aufgrund der hohen Sensitivität, auch geringe Strömungen von den Neuromasten perzipiert werden, sodass das kurzzeitige Abstellen der künstlichen Beatmung im Rahmen der natürlichen Atemphysiologie (siehe Kapitel 3) sinnvoll erscheint, um die beobachteten Effekte in zukünftigen Arbeiten zu vermeiden.

Kapitel 3

Natürliche Atmung und Seitenlinienfunktion

3.1 Einleitung

Dieses Kapitel ist in Auszügen als Abstract im Tagungsband zum 3rd International Congress of Respiratory Science erschienen (Herzog et al. 2014). Das Atmen ist für Fische unter anderem essentiell um Sauerstoff aufzunehmen und Kohlendioxid abzugeben. Innerhalb der 32.500 bekannten Fischarten (www.fishbase.org) sind neben verschiedenen physiologischen Umsetzungen des Wasseratmens (water-breathing fish) auch ergänzende Spezialisierungen, wie beispielsweise Hautatmung (Lungenfische), das Labyrinthorgan (Labyrinthfische) oder auch Darmatmung (bei zahlreichen Vertretern der Welse) bekannt (Übersichten in Hughes 1970; Reid et al. 2005). Der Atemvorgang ist ein komplexer Vorgang, bei welchem zahlreiche Subkompartimente präzise koordiniert zusammenarbeiten (beispielsweise Ballintijn 1972, 1985; Bamford 1974; Bursleson & Milsom 1993; Bursleson & Smith 2001; Roberts & Ballintijn 1988) und der ein hohes Maß an individueller Variabilität aufweist. Die Ausformung einzelner Atemzüge wie auch deren Abfolge kann unter anderem durch den Sauerstoffgehalt des Wassers und der Kohlendioxidkonzentration im Blut (Jones 1952; Randall & Shelton 1963; Bursleson 2009) sowie Temperatur und Bewegungsaktivität des Fisches beeinflusst werden (Heath 1973; Weatherleys et al. 1982). Zusätzlich können optische oder akustische Reize Schreckreaktionen (arousal and fright response) hervorrufen und die Atmung beeinflussen (beispielsweise Laming & Savage 1980).

Wie im vorherigen Kapitel 2 dargelegt, beeinflusst die Wasserströmung der künstlichen Beatmung die Funktion des Seitenliniensystems. Die natürliche Atmung ist im Gegensatz zur künstlichen Beatmung ein periodisches Ereignis und

erzeugt potentiell ebenfalls hydrodynamische Signale, welche die Seitenlinienfunktion beeinträchtigen könnten. Die Beeinflussung der Seitenlinienfunktion durch das Atmen kann durch die aktive Bewegung des Operculums oder/und die bei der Expiration ausgestoßene Wasserströmung erzeugt werden. Die Bewegung des Operculum beeinflusst primär die auf dem Kopf befindlichen Oberflächen- und Kanalneuromasten. In elektrophysiologischen Untersuchungen (Tricas & Highstein 1991; Palmer et al. 2003) am anterioren Seitenliniennerv von freibeweglichen Fischen (*Opsanus tau*, Toad fish) wie auch an freiatmenden, jedoch fixierten Fischen (*Scorpoena papiliosus*, draft scorpion fish, Montgomery et al. 1996) wurde bei einem Teil der primären Afferenzen eine Modulation der neuronalen Aktivität durch die Atmung festgestellt. Die Expiration erzeugt hingegen eine Wasserströmung, welche vorrangig die Rumpfneuromasten in ihrer Funktionsweise beeinträchtigen könnte. Inwieweit dieses Strömungsfeld eine Modulation der neuronalen Aktivität der Rumpfneuromasten hervorrufen kann, wurde mit Ausnahme einer Diplomarbeit (Engelmann 1999, unveröffentlicht) nicht untersucht. Zu den Auswirkungen auf die Verarbeitung von Seitenlinieninformationen durch den MON gibt es unterschiedliche Ergebnisse. Engelmann fand bei *Carassius auratus auratus* (1999, unveröffentlicht) bei etwa der Hälfte der MON-Zellen und bei 4 von 5 PLLN-Fasern eine Modulation der neuronalen Aktivität durch den Atemzyklus. Dagegen beschreiben Montgomery et al. (1996) bei Crestzellen im MON bei *Scorpoena papiliosus* (draft scorpion fish) nur geringe oder keine Modulation der neuronalen Aktivität durch die Atmung. Montgomery & Bodznick (1994) beschreiben einen adaptiven Filtermechanismus, wobei die Neuronen im MON mit Reafferenzen der Atmungsmuskulatur so verschaltet werden, dass die durch die Atmung verursachte Modulation der neuronalen Aktivität der primären Afferenzen herausgerechnet werden kann. Ob dieser Mechanismus die komplexe räumlich-zeitliche Ausbreitung von Wasserbewegungen am Rumpf des Fisches vollständig herausfiltern kann oder ob weitere Strategien zur Vermeidung von atmungsbedingten neuronalen Modulationen existieren, ist weitgehend unklar. In diesem Teil der Arbeit wurde daher folgende Fragestellungen untersucht:

1. Welche hydrodynamischen Signaturen werden von natürlicher Atmung generiert?
2. Inwiefern wird die neuronale Aktivität des Rumpfseitenliniensystems von der natürlichen Atemwasserströmung moduliert?
3. Haben Fische Strategien entwickelt, um eine Beeinflussung der Seitenlinienfunktion durch atmungsbedingte Wasserbewegungen zu vermeiden?

3.2 Methoden

3.2.1 Elektrophysiologie

Die elektrophysiologischen Ableitungen wurden an einem Exemplar von *Carassius auratus* im bereits beschriebenen Versuchsaufbau durchgeführt (siehe Abschnitt 2.2.1 und Abb. 2.2 auf Seite 43), wobei jedoch auf die künstliche Beatmung verzichtet wurde. Es wurde ein anderer Fischhalter verwendet, wobei der Rumpf des Fisches auf der kontralateral zur Ableitstelle gelegenen Seite vom Halter umschlossen und auf der ipsilateralen Seite mit Garn fixiert wurde. Dieser Fischhalter wurde auch für die Visualisierung der Atemwasserströmung genutzt. Die Versuchstiere wurden nicht pharmakologisch relaxiert, um den natürlichen Atemvorgang nicht zu beeinträchtigen. Der Kopf der Versuchstiere wurde nicht fixiert und war dadurch frei beweglich, sodass die Versuchstiere mechanisch unbeeinflusst atmen konnten. Die freie Beweglichkeit des Kopfes führte jedoch zu Einschränkungen in der Ableitstabilität, sodass die Nervenfasern bei stärkeren Kopfbewegungen verloren gingen. Daher konnten die Ableitung der acht Seitenlinienfasern nur zwischen 8,6 s und 80,4 s stabil gehalten werden (Mittelwert = 31,3 s; Median = 25,3).

3.2.2 Visualisierung natürlicher Atemströmung

Die natürliche Atemströmung wurde bei jeweils einem Exemplar von *Leuciscus idus* und *Carassius auratus* mit der bereits beschriebenen Farblösung visualisiert (Abschnitt 2.2.2). Die Farblösung wurde während der Inspiration mittels Kanüle in das Tankwasser nahe dem Maul des Versuchstieres appliziert. Hierdurch war die Färbung des Atemwasserstroms im Vergleich zur künstlichen Beatmung weniger intensiv. Eine Beeinflussung der natürlichen Atmung durch die in der Farblösung enthaltenen Substanzen ist zwar prinzipiell nicht auszuschließen, die Videoaufnahmen von Atemzyklen vor und nach der Applizierung zeigten jedoch in den dargestellten Beispielen keine augenscheinlich auffälligen Verhaltensänderungen. Die Analyse der Aufnahmen erfolgte in vergleichbarer Weise wie bei der Wasserströmung der künstlichen Beatmung, wobei jedoch zusätzlich der Hintergrund eines Einzelbildes vor der Tintenapplikation zur Subtraktion des Hintergrundes genutzt wurde, um den Kontrast der Expirationsströmung zu erhöhen.

3.2.3 Morphologie der peripheren Seitenlinie

Die Neuromasten von *Leuciscus idus* und *Carassius auratus* wurden mit 0,005%iger Methylenblaulösung angefärbt. Hierfür wurden 115 mg Methylenblau (Carl-Roth GmbH) in 2 l Leitungswasser gelöst und die Fische anschließend für 1,5 bis 2,5 h in der Färbelösung gehalten. Anschließend wurden die Versuchstiere mit einer Überdosis MS-222 (Tricain-Methansulfonat, Sigma Aldrich) getötet und die Neuromastenverteilung auf der Fischeoberfläche mit Hilfe eines Binokulars (Präparationsbinokular M651, Leica) mit Kameraaufsatz (DFC290HD, Leica) untersucht und dokumentiert.

3.2.4 Morphologie des Atmungsapparates

Der Atmungsapparat jeweils eines Individuums von *Leuciscus idus* und *Carassius auratus* wurde unter Verwendung eines Binokulars (Präparationsbinokular M651, Leica) mit Kameraaufsatz (DFC290HD, Leica) freipräpariert und fotografisch dokumentiert. Hierbei wurden im Wesentlichen das Operculum und die den Kiemen aufliegenden Schädelteile entfernt. Die Aufnahmen der Tiere wurden anschließend nachgezeichnet (Corel Draw X3, Corel Corporation) und diese Zeichnungen passend übereinander gelegt.

3.2.5 Atemverhalten frei schwimmender Fische

Das Atemverhalten frei schwimmender Fische wurde mit einer Videokamera aufgezeichnet. Die Atemzyklen wurden visuell aus den Videos bestimmt. Im Gegensatz zu invasiveren Methoden wie beispielsweise Elektromyogramme der Kiemenmuskulatur wurden die Maulbewegungen manuell aus den Videos in Atemintervalllängen übertragen. Dieses Verfahren ist zwar wesentlich zeitaufwändiger, vermeidet jedoch eine mögliche Beeinflussung der natürlichen Atmung durch die Messapparatur (methodische Übersicht in Heath 1972). Es wurden jeweils drei Individuen von *Leuciscus idus* und *Carassius auratus* während des Schwimmens in einem größeren Strömungstank bei einer geringen Hintergrundströmung aus der frontalen Perspektive gefilmt. Um eine Beeinflussung der natürlichen Atmung durch externe Faktoren wie z. B. die ungewohnte Umgebung oder Störungen durch anwesende Personen zu vermeiden, wurden die Versuchstiere 3 Tage in dem zirkulären Strömungstank (Arbeitsbereich 80 cm*20 cm, Wasserstand 14,5 cm) bei einer durch eine starke Strömungspumpe generierten leichten Hintergrundströmung von 2 bis 3 cm/s gehalten. Die Videoaufzeichnungen wurden in den Abendstunden am Wochenende und in Abwesenheit von Personen im Raum durchgeführt. Die

Gesamtaufnahmezeit betrug jeweils 1,2 h, wobei jedoch aufgrund des hohen zeitlichen Aufwandes bei der manuellen Auswertung insgesamt nur 5 min weitgehend zufällig ausgewähltes Videomaterial ausgewertet wurde, in denen die Maulbewegungen der drei Versuchstiere überwiegend zusammenhängend und zeitgleich beobachtet werden konnten.

Zum Vergleich wurde das Atmungsverhalten hinsichtlich des Abstandes zwischen zwei Maulöffnungen bei drei Forellen (*Oncorhynchus mykiss*) bestimmt. Hierbei wurde auf die Datengrundlage des im Kapitel 5.2.1 beschriebenen Versuchs zum Schwimmverhalten von *Oncorhynchus mykiss* zurückgegriffen. Für diese Versuche wurde ein vertikaler Strömungstank verwendet, wobei die Geschwindigkeit der quasilaminaren Strömungen 19 cm/s betrug (siehe Przybilla et al. 2010 für eine detaillierte Beschreibung des Strömungstanks und des Videosystems). Die Videoaufnahmen (30 fps) wurden im Rahmen eines Verhaltenspraktikums aufgezeichnet und von Nadja Grap zur Verfügung gestellt. Es wurde jeweils nur ein Versuchstier zeitgleich aufgezeichnet (Aufnahmedauer 243 bis 365 s).

3.3 Ergebnisse

Die Morphologie der Kiemen und des Kiemendeckels bei *Leuciscus idus* und *Carassius auratus* ist in Abbildung 3.1 gezeigt.

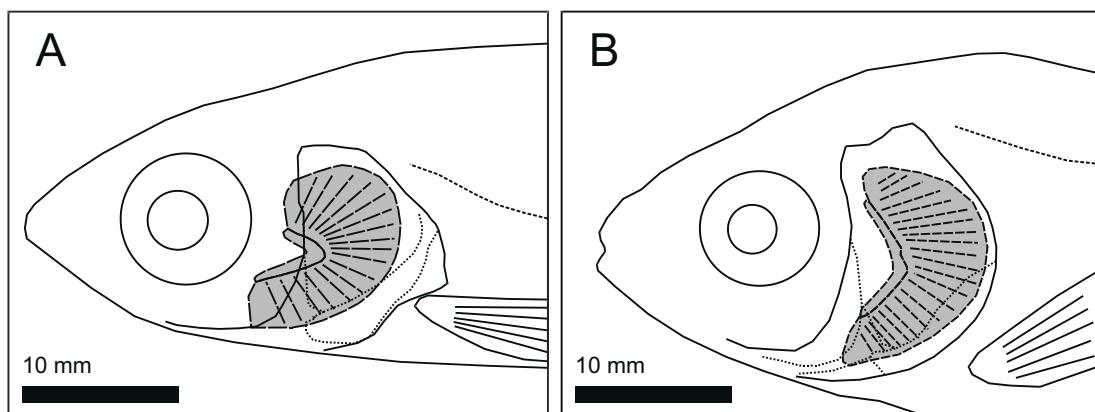


Abbildung 3.1: Morphologie der Kiemen und des Kiemendeckels bei *Leuciscus idus* in A und *Carassius auratus* in B. Die unter dem Kiemendeckel befindlichen Kiemen (grau gefärbt) wurden freipräpariert und mit der Kiemendeckelansicht überlagert. Die Orientierung der Kiemenfilamente ist durch lang gestrichelte Linien angedeutet. Die Subkompartimente der Kiemendeckel sind durch gepunktete Linien dargestellt.

Die Form der Kiemen wie auch deren Lage innerhalb des Kopfes unterscheidet sich deutlich zwischen beiden Arten. Die Kiemenbögen bei *Leuciscus idus* sind stärker gekrümmt und in Relation zum Operculum weiter rostral gelegen. Zusätz-

lich ist das Suboperculum, der hintere Kiemendeckelteil, nach caudal verlängert. Der Kiemendeckel bei *Carassius auratus* ist eher halbmondförmig ausgeformt und bedeckt die weniger stark gekrümmten Kiemen nur knapp.

Die Abbildung 3.2 zeigt die von vier Atemzyklen verursachten Strömungsfelder für jeweils ein Individuum von *Leuciscus idus* (A bis D) und *Carassius auratus* (E bis H) im Stillwasser.

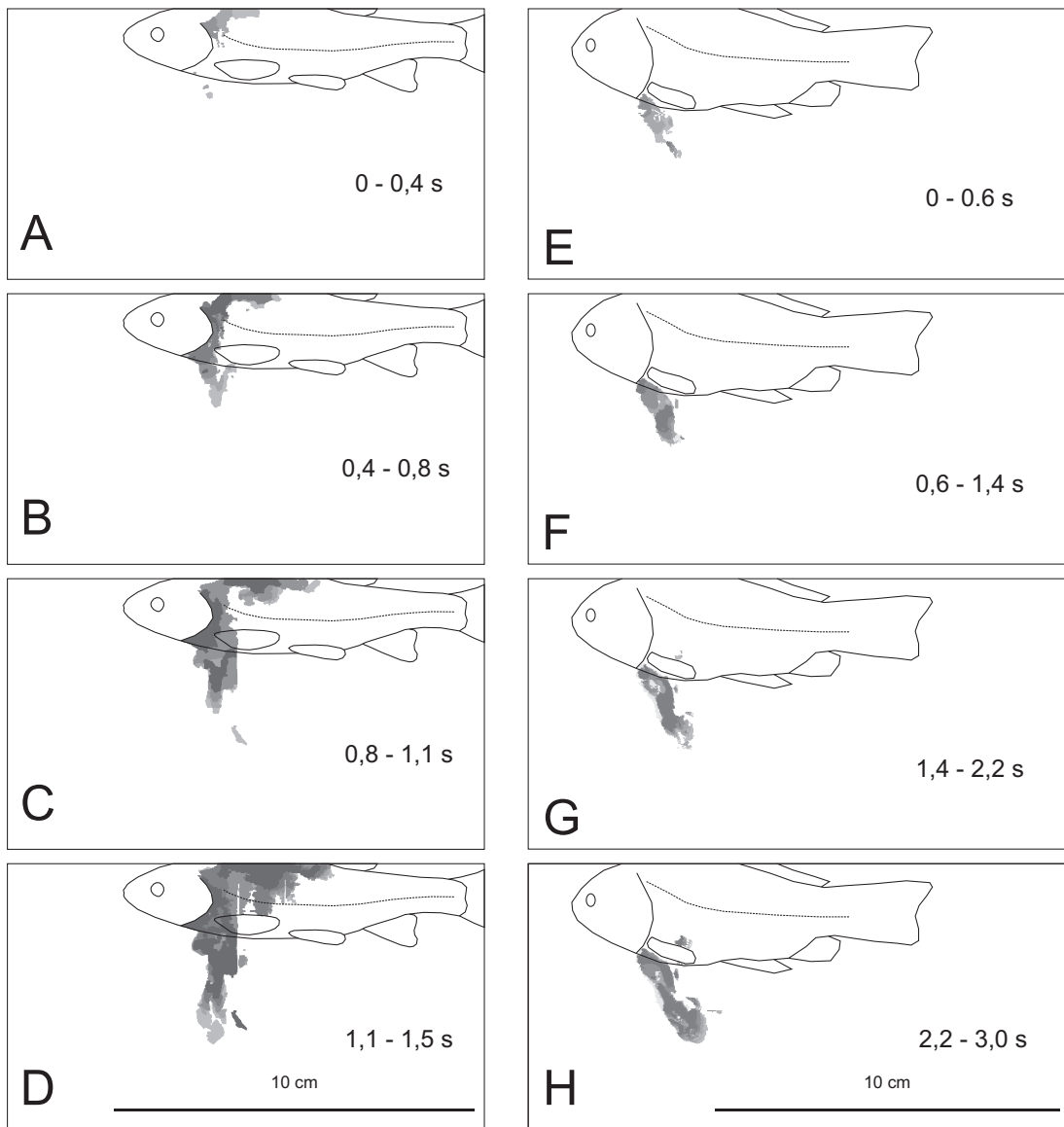


Abbildung 3.2: Durch jeweils vier aufeinanderfolgende Atemzyklen erzeugte Wasserbewegung bei *Leuciscus idus* (A-D) und *Carassius auratus* (E-H). Die Wasserströmung wurde mittels Farblösung visualisiert und für je einen Atemzyklus (Abbildungsteile) dargestellt. Innerhalb eines jeden Atemzyklus ist der Strömungsverlauf in Graustufen dargestellt, wobei die dargestellten Zeitintervalle an die jeweilige Atemzykluslänge angepasst wurden und bei *Leuciscus idus* 0,1 s und bei *Carassius auratus* 0,2 s betragen. In C und D sind durch die Befestigung des Fisches verursachte Artefakte als helle vertikale Streifen innerhalb des Strömungsmusters zu erkennen.

Die natürliche Atmung verursachte eine komplexe Wasserströmung. Bei *Leuciscus idus* war neben einer ventral gerichteten Hauptströmung eine schwächere dorsale Komponente zu erkennen. Im Gegensatz hierzu war die Atemwasserströmung bei *Carassius auratus* primär ventral und leicht caudal gerichtet.

Das Vorhandensein von Neuromasten in bestimmten Bereichen der Körperoberfläche von *Leuciscus idus* und *Carassius auratus* ist in Abbildung 3.3 dargestellt. Hierbei wurde in Übereinstimmung mit bisherigen Studien (Schmitz et al. 2008, 2014) festgestellt, dass *Leuciscus idus* (Abb. 3.3B) im Gegensatz zu *Carassius auratus* (Abb. 3.3A) auf den ventralen Rumpfabschnitten keine Oberflächenneuromasten aufweist. Die Rumpfkänäle verlaufen in beiden Spezies nicht gerade, sondern biegen im vorderen Rumpfdrittel nach dorsal ab. Der vordere Rumpfkänälabschnitt ist dadurch, insbesondere bei *Carassius auratus*, weiter von der Hauptströmungsrichtung der Atemwasserströmung entfernt. Im Vergleich zu *Leuciscus idus* und insbesondere zu *Carassius auratus* zeigt *Oncorhynchus mykiss* eine deutlich geringere Anzahl von Epidermalneuromasten, wobei diese auf dem Rumpf nur im dorsalen Bereich vor der Rückenflosse, an der Schwanzwurzel und auf Höhe des Seitenlinienkanals, ausgebildet sind (Abb. 3.3C, nach Engelmann 2002).

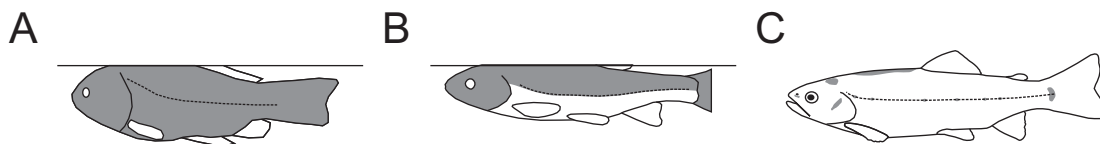


Abbildung 3.3: Neuromastenverteilung auf der Fischoberfläche bei *Carassius auratus* in A, *Leuciscus idus* in B und *Oncorhynchus mykiss* in C. Die Körperbereiche mit Epidermalneuromasten sind grau unterlegt. Die gestrichelten Linien zeigen den Verlauf der Rumpfsseitenlinienkanäle. Darstellung in C verändert nach Engelmann (2002).

Die Originalableitungen von zwei PLLN-Fasern während freier Atmung eines Goldfisches (*Carassius auratus*) sind in Abbildung 3.4 (A und B) gezeigt. Bei vier der acht abgeleiteten PLLN-Fasern wurde die neuronale Aktivität durch die Atmung moduliert, wobei die Stärke und der Zeitpunkt der Modulation relativ zur Expiration variierte (Abb. 3.4C und D). Bei drei der vier Fasern trat eine Entladungsraterhöhung nach der Expiration auf, wohingegen eine Faser eine Verringerung der Entladungsrate zeigte. Eine der Ableitungen zeigte eine besonders deutliche Modulation der neuronalen Aktivität (Abb. 3.4A). Der Rasterplot der akkumulierten neuronalen Aktivität dieser Faser über 36 Atemzyklen (Abb. 3.4C) verdeutlicht die Modulation der neuronalen Aktivität relativ zur Expiration, wobei eine maximale Entladungshäufigkeit zwischen 0,1 s und 0,3 s nach dem Ausatmen des Fisches auftrat.

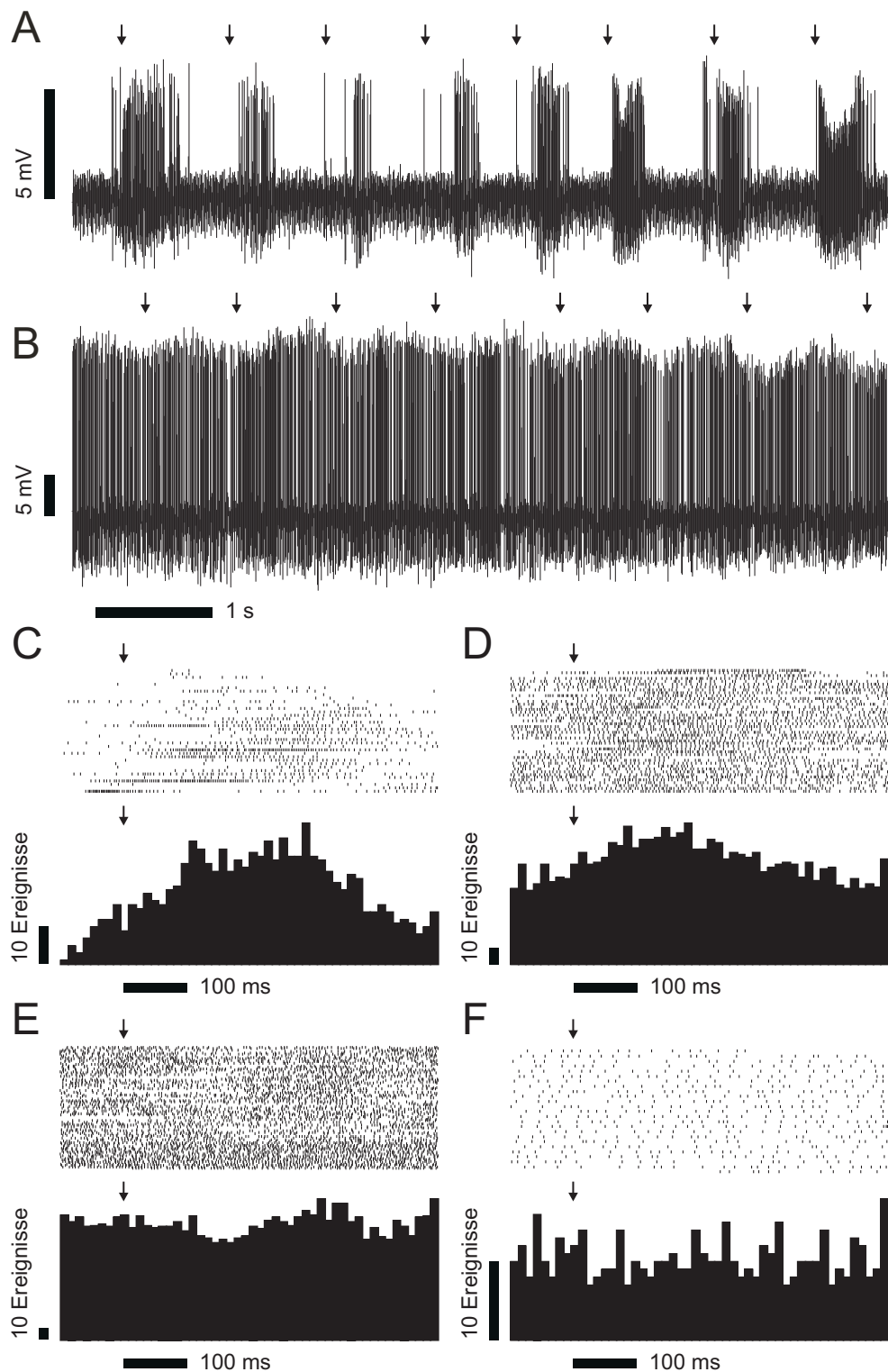


Abbildung 3.4: **Einfluss natürlicher Atmung auf die neuronale Aktivität von vier PLLN-Fasern bei *Carassius auratus*.** **A und B:** Originalableitungen. Die Pfeile zeigen die maximale Öffnung des Kiemendeckels als Indikator für die Expirationsphase des Atemzyklus an. **A:** Beispiel für eine Modulation der neuronalen Aktivität mit einem markanten Burst-Muster. **B:** Beispiel für eine Ableitung ohne Modulation durch die Atmung. **C bis F:** Rasterplots (oben) und Peri-stimulus-time-histogramm (unten) der neuronalen Aktivität während der Atemzyklen. **C, D:** Beispiele einer Modulation der neuronalen Aktivität während der Atmung. Daten in C aus der in A dargestellten Aktivität berechnet. **E, F:** Beispiele für eine nicht modulierte neuronale Aktivität während der Atmung. Daten in E aus der in B dargestellten Aktivität berechnet.

Die neuronalen Entladungsmuster während der einzelnen Atemzüge unterschieden sich deutlich hinsichtlich ihres zeitlichen Auftretens und der Entladungszahl im untersuchten Zeitfenster. Bei den verbleibenden vier Ableitungen wurde keine mit den Atemzyklen korrespondierende Modulation gefunden (Abb. 3.4 B, E und F).

Eine beispielhafte Atemsequenz einer fixierten, aber frei atmenden Goldorfe (*Leuciscus idus*) ist in Abbildung 3.5 dargestellt. Bei *Leuciscus idus* wurden Zeitabschnitte mit schneller Atmung getrennt durch längere Atempausen beobachtet. In dem gezeigten Beispiel betrug zu Beginn der Atemphasen die Atmungsfrequenz über 4 Hz und verlangsamte sich im weiteren Verlauf auf unter 3 Hz, wobei ein leichter Anstieg auf etwa 3,5 Hz festzustellen war, kurz bevor die Atmung eingestellt wurde. Besonders hervorzuheben sind die etwa 14 s beziehungsweise 32 s langen Intervalle ohne Atmung zwischen den Phasen mit schneller Atmung.

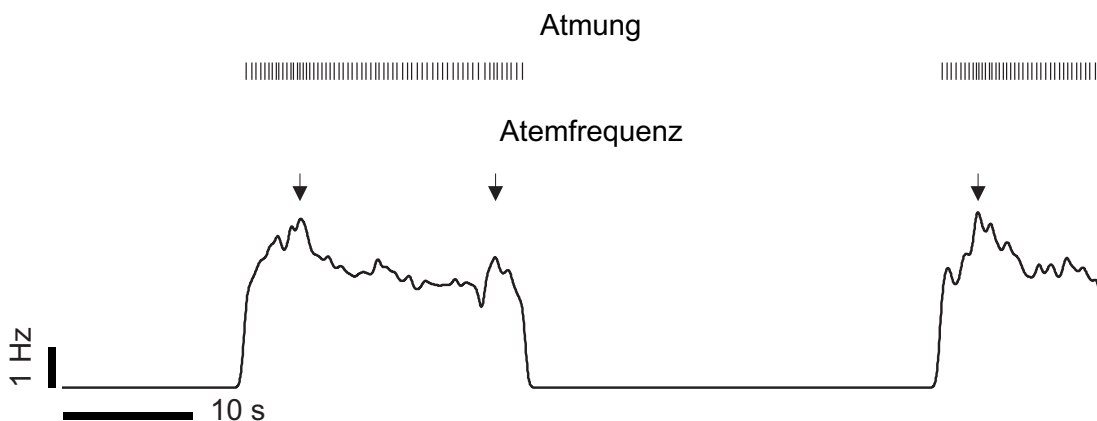


Abbildung 3.5: **Atemmuster einer frei atmenden, jedoch fixierten Orfe (*Leuciscus idus*)**. Die in der oberen Zeile gezeigten Striche repräsentieren den Zeitpunkt des Inspirationsmaximums (maximale Maulöffnung). Darunter ist die aus diesen Zyklen berechnete und über ein 1 s Zeitfenster geglättete Atemfrequenz dargestellt. Die Pfeile markieren besonders hohe Atemfrequenzen bzw. kurze Atemzykluslängen.

Um auszuschließen, dass die beobachteten Atempausen der künstlichen Versuchssituation mit fixiertem Fisch geschuldet waren, wurden je drei freischwimmende Orfen (*Leuciscus idus*) und Goldfische (*Carassius auratus*) hinsichtlich ihres Atemverhaltens simultan untersucht. Die Ergebnisse der Videoanalyse der Atemmuster freischwimmender Fische sind in Abbildungen 3.6A und 3.6B dargestellt. Die Intervalle zwischen zwei aufeinanderfolgenden Atemzügen wiesen ein hohes Maß an Unregelmäßigkeit auf (Shapiro-Wilk Normalverteilungstest für *Carassius auratus*: $W = 0,6301$; $p\text{-Wert} < 2,2e-16$; für *Leuciscus idus*: $W = 0,425$; $p\text{-Wert} < 2,2e-16$). Neben einer Vielzahl von kurzen Atemabständen wurden längere Pausen von bis zu 24,8 s bei *Leuciscus idus* und 8,6 s bei *Carassius auratus* festgestellt. Die Länge der Atemintervalle von *Leuciscus idus* (Median

= 0,44 für 545 Atemintervalle) und *Carassius auratus* (Median = 0,76 für 767 Atemintervalle) unterschieden sich signifikant (Wilcoxon Rangsummentest mit Kontinuitätskorrektur; $W = 276004$; $p\text{-Wert} < 2,2e-16$), wobei bei *Leuciscus idus* kurze Atemintervalle (0,3 bis 0,5 s) häufiger beobachtet wurden als bei *Carassius auratus*. Die Atemintervalllängen variierten zwischen den Videosequenzen (Wilcoxon Rangsummentest mit Kontinuitätskorrektur für *Leuciscus idus*: $W = 40057$, $p\text{-Wert} = 0,055$; Kruskal-Wallis Rangsummentest für *Carassius auratus*: Kruskal-Wallis $\chi^2 = 100,1016$ für 3 Freiheitsgrade; $p\text{-Wert} < 2,2e-16$), wie auch zwischen den jeweiligen Individuen einer Art (Kruskal-Wallis Rangsummentest für *Leuciscus idus*: Kruskal-Wallis $\chi^2 = 87,2901$ für 2 Freiheitsgrade; $p\text{-Wert} < 2,2e-16$; für *Carassius auratus*: Kruskal-Wallis $\chi^2 = 60,3728$ für 2 Freiheitsgrade, $p\text{-Wert} = 7,766e-14$). Bei der Analyse wurden unvollständig aufgezeichnete Atemzyklen ignoriert, was zur Folge hatte, dass bei *Leuciscus idus* 31,0% und bei *Carassius auratus* 29,7% der Versuchsdauer nicht berücksichtigt werden konnten.

Zum Vergleich wurde das Atemverhalten von 3 Regenbogenforellen (*Oncorhynchus mykiss*) in einem größeren Strömungstank und bei höheren Strömungsgeschwindigkeiten untersucht (Abb. 3.6C). Die mittlere Atemfrequenz betrug hierbei 2,4 Hz und das maximale beobachtete Atemintervall war nur 1,0 s lang. Aufgrund des bei *Oncorhynchus mykiss* verwendeten Versuchsdesigns mit jeweils nur einem Versuchstier im Strömungstank, konnten 96,9% der Versuchsdauer in die Analyse einbezogen werden.

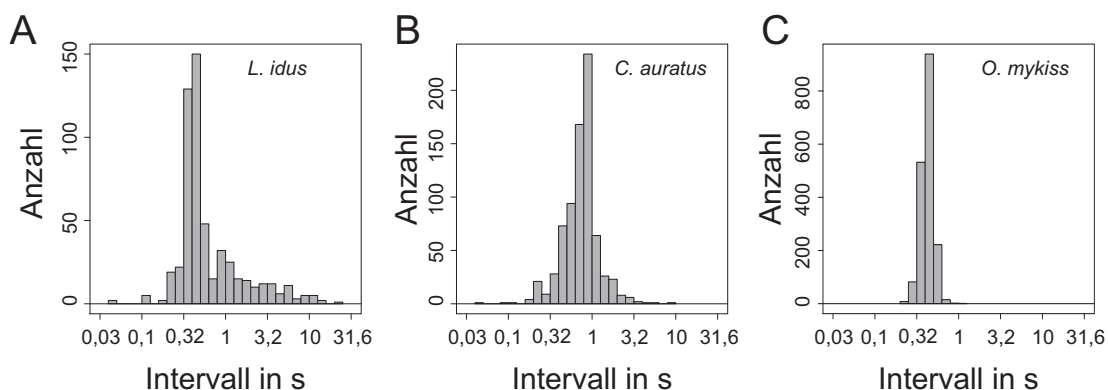


Abbildung 3.6: **Atemintervalllänge freischwimmender Fische.** Die Histogramme zeigen die Häufigkeiten der logarithmisch aufgetragenen Intervalle zwischen zwei Atemzyklen bei *Leuciscus idus* in A, *Carassius auratus* in B und *Oncorhynchus mykiss* in C jeweils für alle Versuchstiere einer Art akkumuliert.

3.4 Diskussion

Die natürliche Atmung verursachte komplexe hydrodynamische Strömungsfelder, die bei *Leuciscus idus* und *Carassius auratus* unterschiedlich ausgeprägt waren. Während bei *Carassius auratus* die Strömungsfelder der natürlichen Atmung und der künstlichen Beatmung mit jeweils einer ventral gerichteten Hauptströmungskomponente prinzipiell ähnlich waren, unterschieden sich bei *Leuciscus idus* die Strömungsfelder der passiven Beatmung und der aktiven Atmung sichtbar (Abb. 2.7 auf Seite 54). Bei *Leuciscus idus* wurde bei künstlicher Beatmung eine leicht ventrale und vorrangig caudal gerichtete Hauptströmungskomponente mit einem kleinen dorsalen Anteil gefunden, wohingegen die natürliche Atmung eine deutlich stärker ventral gerichtete und prominent dorsale Strömungskomponente auswies. Die Untersuchungen zur Kiemen- und Operculummorphologie legen eine morphologische Ursache für die Ausprägung des Strömungsmusters nahe. Die bei *Leuciscus idus* beobachteten Unterschiede zwischen passiver Durchströmung der Kiemen und der aktiven Kiemendeckelbewegung bei natürlicher Atmung implizieren eine aktive Lenkung des Atemwasserstroms durch die an der Kiemendeckelbewegung beteiligten Muskulatur. Die Atemwasserströmung führte bei einem Teil der bei *Carassius auratus* abgeleiteten PLLN-Fasern zu einer Modulation der neuronalen Aktivität. Die Antwortstärke und das zeitliche Auftreten der Modulation relativ zum Expirationsmaximum variierte bei der in Abbildung 3.4A und Abbildung 3.4C gezeigten PLLN-Fasern zwischen einzelnen Atemzyklen. Vergleichbare Beobachtungen wurden auch von Engelmann 1999 (PLLN von *C. auratus*, unveröffentlicht) gemacht. Da die Intensität der Atmung der physiologischen Regulation unterliegt (Ballintijn 1972), ist die beobachtete Variabilität der Modulation der neuronalen Aktivität vermutlich durch eine unterschiedliche Intensität der Atemzüge verursacht worden. Die Atemwasserströmung kann daher als komplexe und variabel ausgeprägte zusätzliche Stimulation des Seitenliniensystems angesehen werden, durch welche die Wahrnehmung externer hydrodynamischer Ereignisse potentiell beeinträchtigt werden kann. Bei den untersuchten Spezies konnten unterschiedliche Anpassungen zur Minimierung der Modulation der neuronalen Aktivität von Seitenlinienneuronen durch natürliches Atmen beobachtet werden.

Um eine Beeinflussung der hydrodynamischen Wahrnehmung durch die Atemwasserströmung zu vermeiden, eignen sich prinzipiell vier Grundstrategien:

1. Der Atemstrom wird möglichst stark von der Fiscoberfläche wegelenkt.
2. Die periphere Seitenlinie wird in den von der Atemwasserströmung betrof-

fenen Bereichen reduziert.

3. Die temporäre Vermeidung von Atemwasserströmen durch unregelmäßiges Atemverhalten mit Phasen ohne Atmung und damit ungestörten hydrodynamischen Bedingungen.
4. Die Atemeffekte werden mittels neuronaler Filtermechanismen herausgerechnet um die ursprünglichen, ungestörten hydrodynamischen Signaturen zu rekonstruieren (Montgomery & Bodznick 1994).

Die Ergebnisse der vorliegenden Arbeit deuten darauf hin, dass die untersuchten Spezies jeweils mindestens eine dieser Strategien zur Vermeidung der Beeinflussung der Seitenlinienfunktion durch die Atmung nutzen. Die relative Bedeutung der prinzipiell möglichen Strategien der jeweiligen Spezies kann hierbei auf das bevorzugte Habitat und die generelle Lebensweise zurückgeführt werden (Tab. 3.1).

Tabelle 3.1: Mögliche Anpassungen zur Vermeidung der Beeinflussung der Seitenlinienfunktion durch Atemwasserströmung bei *Carassius auratus*, *Leuciscus idus* und *Oncorhynchus mykiss* unter Berücksichtigung der jeweiligen Lebensweise. Der Anteil der Rumpfmuskulatur am Gesamtgewicht der jeweiligen Fischarten ist der Abbildung 8 in Bainbridge 1960 entnommen, für *L. idus* wurden die Werte für *Leuciscus leuciscus* verwendet. ON - Oberflächenneuromasten.

	<i>C. auratus</i>	<i>L. idus</i>	<i>O. mykiss</i>
Habitat	Stillwasser	mittlere Strömung	starke Strömung
Rumpfmuskelanteil	~ 35-45%	~ 42-60%	~ 55-68%
Atemstromlenkung	stark ventral	caudo-ventral mit dorsalem Anteil	unklar bzw. nicht untersucht
Anpassung der peripheren Seitenlinie	nicht erkennbar	ventraler Rumpfteil ohne ON	Rumpf fast ohne ON
Atemverhalten	unregelmäßig, zum Teil mit Atempausen	unregelmäßig mit langen Atempausen	regelmäßig, kaum Atempausen

Carassius auratus als typische limnophile Fischart hat mit ungefähr 35 bis 45% den geringsten Rumpfmuskulaturanteil. Der Atemstrom ist ventral vom Körper weggerichtet und überströmt unter Stillwasserbedingungen kaum den Fischkörper. Eine Reduktion der Neuromastenzahl auf den ventralen Rumpfabschnitten hätte unter diesen Bedingungen kaum Vorteile. Da *Carassius auratus*, beziehungsweise dessen Zuchtform, der Goldfisch, überwiegend die Sedimente stehender Gewässer nach Nahrung durchsucht, ist dessen natürliche hydrodynamische Umwelt weder durch die großräumige Strömung von Fließgewässern noch durch anhaltendes aktives Schwimmen gekennzeichnet. Ein Transport der Atemstörungen

entlang des Fischkörpers findet im Vergleich zu den beiden anderen untersuchten Spezies vermutlich kaum statt. In der vorliegenden Arbeit wurden jedoch auch bei *C. auratus* bei Stimulation mit großräumiger Strömung Atempausen festgestellt, im Vergleich zu *L. idus* waren diese jedoch kürzer und traten seltener auf. Bei subjektiver Betrachtung zeichnete sich das Schwimmverhalten von *C. auratus* in Strömung, insbesondere im Vergleich mit den anderen beiden untersuchten Spezies, dadurch aus, dass die Versuchstiere häufiger die Rand- und Grundbereiche des Versuchsbeckens aufsuchten, kaum an festen Positionen verharrten und trotz der relativ langsamen präsentierten Strömung häufig verdriftet wurden. Der “ungewohnte” Transport der durch die Atmung verursachten Verwirbelungen mit der Hintergrundströmung könnte eine mögliche Erklärung für dieses Verhalten sein, wobei jedoch ebenfalls der geringere Anteil der Rumpfmuskulatur und der Gesamthabitus von *C. auratus* als mögliche Ursachen für die beobachteten Auffälligkeiten im Schwimmverhalten in Betracht kommen.

Bei *L. idus* sind im Vergleich zu *C. auratus* weitergehende Anpassungen hinsichtlich der Vermeidung einer Modulation der neuronalen Aktivität durch Atemwasserströmungen in fließendem Wasser erkennbar. Als mögliche morphologische Anpassung wurden bei *L. idus* ventral des Rumpfsseitenlinienkanals keine Oberflächenneuromasten gefunden. Dies ist auch bei weiteren rheophilen Cypriniden wie *Barbatula barbatula*, *Barbus barbus*, *Leuciscus leuciscus*, *Phoxinus phoxinus* wie auch bei einigen indifferenten/limnophilen Cypriniden wie *Cobitis taenia*, *Tinca tinca*, *Rutilus sericeus* und *Rutilus rutilus* der Fall (Beckmann et al. 2010). Das Fehlen von Oberflächenneuromasten auf den ventralen Rumpfabschnitten lässt sich nur unzureichend mit der für die rheophile Lebensweise potentiell notwendigen Strömungswahrnehmung erklären, da die Wasserströmung verständlicherweise den gesamten Fischkörper umströmt und dieses Muster ebenfalls bei indifferenten/limnophilen Fischarten gefunden wurde. Außerdem wurde eine ausschließliche Reduktion der Oberflächenneuromasten auf den dorsalen Rumpfabschnitten und die Ausbildung von Oberflächenneuromasten auf den ventralen Rumpfabschnitten in der Studie von Beckmann et al. (2010) bei den untersuchten Arten (*Barbatula barbatula*, *Barbus barbus*, *Chondrostoma nasus*, *Cobitis taenia*, *Leuciscus cephalus*, *Leuciscus leuciscus*, *Phoxinus phoxinus*, *Rutilus rutilus*, *Rhodeus sericeus*, *Scardinius erythrophthalmus*, *Tinca tinca*, *Vimba vimba*) nicht beobachtet. Im Gegensatz zur Stillwassersituation, die bei *Carassius auratus* und weiteren limnophilen Cypriniden vermutlich überwiegend anzutreffen ist, wird die ventrale Atemströmung mit den enthaltenen Turbulenzen durch die Strömung entlang des ventralen Körperabschnittes transportiert, wenn der Fischkörper in Fließwasser

umströmt wird oder aktiv schwimmt. Die Beeinflussung der Seitenlinienaktivität durch den Atemwasserstrom könnte durch das Fehlen von Oberflächenneuromasten auf dem ventralen Rumpfabschnitt vermieden werden. Bei *Leuciscus idus* wurden zusätzlich unerwartet lange Pausen ohne Atmung beobachtet, welche sowohl bei dem fixierten, freiatmenden Individuum als auch in den freibeweglichen Fischgruppen auftraten. Bei dem Atmungsverhaltensversuch mit jeweils drei synchron aufgenommenen Fischen ist zu berücksichtigen, dass bei beiden Fischarten ungefähr 30% der Atmungsintervalle aufgrund von optischem Verdecken durch andere Fische nicht in die Analyse einbezogen wurden. Da der Sichtverlust bei längeren Intervallen wahrscheinlicher wird, ist der Anteil der längeren Atempausen in der Analyse tendenziell unterrepräsentiert. Diese beobachteten Atempausen könnten einen weiteren sehr effektiven Mechanismus zur Unterdrückung der Atemwasserströmungen darstellen, durch den die Wahrnehmung der hydrodynamischen Umwelt und die notwendige Respiration zeitlich separiert werden. Die beobachteten Atempausen sind hinsichtlich einer gleichmäßigen und optimalen Sauerstoffversorgung als unvorteilhaft anzusehen. Darüber hinaus wurden zumindest in einigen Fällen Unterschiede hinsichtlich der maximalen Länge und Häufigkeit der Zeitintervalle ohne Atmung zwischen den untersuchten Fischarten *Leuciscus idus* und *Carassius auratus* gefunden. Bei *Leuciscus idus* wurden im Vergleich zu *Carassius auratus* längere Phasen ohne Atmung häufiger beobachtet. Unter Berücksichtigung der rheophilen Lebensweise, der stärker ausgeprägten Schwimmmuskulatur (ungefähr 42 bis 60% der Fischmasse) und damit potentiell einhergehenden erhöhten Sauerstoffbedarfs, wäre im Vergleich zu *Carassius auratus* eine gleichmäßigere und intensivere Atmung zu erwarten. Die beobachteten Atempausen müssen daher einen wesentlichen Vorteil bieten, welcher die potentielle physiologische Beeinträchtigung durch die verminderte Sauerstoffaufnahme überwiegt. Die Vermeidung von Atmungsartefakten durch das Einfügen von längeren Pausen innerhalb des Atemverhaltens könnte ein derart wesentlicher Vorteil sein, dass dieser die mutmaßlich unvorteilhaftere Sauerstoffversorgung durch das unregelmäßige Atmen von *Leuciscus idus* rechtfertigt.

Bei *Oncorhynchus mykiss* wurde ein sehr regelmäßiges Atemmuster ohne deutliche Atempausen festgestellt. Der Rumpf der rheophilen Spezies *Oncorhynchus mykiss* weist noch weniger Oberflächenneuromasten auf. Abgesehen von wenigen Neuromasten (9 vor der Rückenflosse, 6 oberhalb des Rumpfkanales und 3 auf der Schwanzwurzel, Engelmann 2002) ist der Rumpf insbesondere im ventralen Abschnitt weitgehend frei von Oberflächenneuromasten. Eine wesentliche Beeinflussung der Seitenlinienfunktion durch Atmungsströmung ist aufgrund die-

ser starken Reduktion der Rumpfoberflächenneuromasten sehr unwahrscheinlich, auch wenn das Strömungsmuster natürlicher Atmung bei *Oncorhynchus mykiss* in der vorliegenden Arbeit nicht untersucht wurde. Ein unregelmäßiges Atemmuster mit längeren Atempausen ist daher nicht nötig, beziehungsweise aufgrund des hohen Rumpfmuskulaturanteils von ungefähr 55 bis 68% nicht durchführbar.

Die bei *Leuciscus idus* und *Carassius auratus* in der vorliegenden Arbeit vorgefundenen Atempausen stellen somit möglicherweise eine verhaltensbiologische Anpassung dar, um die Störung der Wahrnehmung der hydrodynamischen Umwelt durch selbsterzeugte Atemwasserströmung zu vermeiden. Die Beeinflussung des Atemverhaltens durch externe Reize, wie beispielsweise ein plötzlicher Schatten, wurde vermieden, indem die Fische einige Tage an das Versuchsbecken gewöhnt wurden und die Aufnahmen in den Abendstunden am Wochenende ohne Anwesenheit von Personen im Raum durchgeführt wurden. Die Atempausen traten weiterhin nicht gleichzeitig bei allen drei Fischen auf, wovon bei einem externen Auslöser auszugehen wäre. Das Pausieren der Atmung könnte zudem das Entstehen hydrodynamischer oder auch elektromagnetischer Signaturen vermeiden, die beispielsweise von einem Raubfisch wahrgenommen werden könnten.

Ergänzend zu der Atemwasserstromlenkung, den morphologischen Anpassungen der peripheren Seitenlinie und der Vermeidung von Atmungsartefakten mit diskontinuierlichem Atemverhalten könnten auch zentralnervöse Filter (Montgomery & Bodznick 1994), oder eine Kompensation der durch den Atemstrom erzeugten Störungen durch efferente Seitenliniennervenfasern einer Verringerung der Beeinflussung der Seitenlinienfunktion durch natürliches Atmen dienen. Ein derartiges Einwirken efferenter Seitenlinienfasern des ALLN während des Atmungszyklus konnte, zumindest bei *Carassius auratus*, bisher nicht gefunden werden (Russell 1966). Montgomery & Bodznick (1994) beschreiben einen adaptiven Filtermechanismus, welcher die durch natürliche Atmung entstehenden Störungen aus den kontaminierten hydrodynamischen Signaturen herausfiltern kann. Hierbei sollen Reafferenzen der Atmungsgeneratoren im Hirnstamm mit den wiederkehrend und zeitlich gekoppelten Atmungsstörungen verrechnet und dadurch eliminiert werden. Bei den elektrophysiologischen Untersuchungen zum Einfluss der künstlichen Beatmung (Kapitel 2) wurden teilweise primäre Afferenzen und MON-Neurone gefunden, die selektiv auf die künstliche Beatmung reagierten (Abb. 2.24 auf Seite 72 und Abb. 2.35 auf Seite 85). Unter Einbeziehung dieser Ergebnisse stellt sich die Frage, ob die Bewegung der Operculums nicht zusätzlich oder ausschließlich durch spezialisierte Neuromasten, welche im Bereich der Übergänge einzelner Knochenkompartimente des Kiemendeckels lo-

kalisiert sind, erreicht werden kann (vergleiche Maruska & Tricas 1998, 2004). Der wesentliche Vorteil hierbei wäre die Verfügbarkeit einer monomodalen Kontrollstruktur (vergleiche Burleson et al. 2001) zur sensorischen Abbildung der Atembewegungen und Filterung beziehungsweise Suppression der von natürlicher Atmung erzeugten hydrodynamischen Signale. Der Ansatz, die periodische Atemwasserströmung mittels elektrischer Pumpe nachzustellen, ist in der vorliegenden Arbeit leider aufgrund der elektrischen Störungen und hydraulischem Stress auf das abgeleitete Gewebe, welcher wiederholt zum Verlust der abgeleiteten Neurone führte, verhindert worden. Im Gegensatz zu den für das elektrosensorische System relevanten Muskelartefakten sind die hydrodynamischen Strömungsfelder natürlicher Atmung wesentlich komplexer, langanhaltender und können darüber hinaus variabel ausgeprägt sein. Die Intensität der jeweiligen Atembewegungen beeinflusst die Ausbreitung und Intensität der Atemwasserströmungen (siehe Abb. 3.4C). Die Strömungsmuster einzelner aufeinanderfolgender Atemstöße interagieren miteinander und formen komplexe Strömungsmuster (siehe Abb. 3.2). Zusätzlich wird sich die Ausbreitung in Abhängigkeit der Fließgeschwindigkeit des Wassers beziehungsweise der Schwimgeschwindigkeit des Fisches verändern. Daher ist es fraglich, inwieweit ein adaptiver Filter im Hirnstamm die ursprüngliche, ungestörte hydrodynamische Information wiederherstellen kann. Die beobachteten Anpassungsstrategien der drei in der vorliegenden Arbeit untersuchten Fischarten sprechen tendenziell dafür, dass die durch Atembewegungen verursachten Wasserströme die Analyse hydrodynamischer Signale zumindest erheblich erschweren, wobei die durch die natürliche Atmung kontaminierten Signaturen möglicherweise auf Ebene des Hirnstammes supprimiert werden. Eine mögliche Suppression beziehungsweise Filterung mechanosensorischer Seitenlinieninformationen auf Hirnstammebene könnte auch Auswirkungen auf die elektrophysiologischen Arbeiten bei Verwendung künstlicher Beatmung haben. Eine Verrechnung der durch die Stimulation verursachten hydrodynamischen Muster mit den Reafferenzen der bei relaxierten Versuchstieren funktionslosen Atemmuskulatur könnte eine Modulation der Neuronenaktivität in den höheren Hirnarealen verursachen. Eine mögliche Supprimierung natürlicher Atmungsartefakte allein aufgrund der Kiemendeckelstellung, sollte diese beispielsweise durch Dehnungsrezeptoren oder taktile Neuromasten im Bereich zwischen den Kompartimenten des Kiemendeckels erfasst werden, könnte die Eingänge zu höheren Hirnzentren weitgehend deaktivieren. Ein temporäres Abschalten der künstlichen Beatmung ist daher gerade bei der Ableitung von neuronaler Aktivität höheren Hirnzentren (*torus semicircularis*, *tectum opticum*) anzuraten.

Kapitel 4

Neuronale Verarbeitung großräumiger Wasserströmungen

4.1 Einleitung

Ein Teil der primären Seitenlinienafferenzen (strömungssensitive Fasern) erhöht in Abhängigkeit von der Strömungsgeschwindigkeit ihre Entladungsrate (Voigt et al. 2000; Carton & Montgomery 2002; Engelmann et al. 2002; Chagnaud et al. 2008a). Da die in den Neuromasten befindlichen Haarsinneszellen auf eine Auslenkung ihrer Zilienbündel in einer Richtung depolarisieren und in der anderen Richtung hyperpolarisieren, müsste die Entladungsrate bei umgekehrter Strömungsrichtung abnehmen, d. h. die Nervenfasern inhibiert werden. Eine Verringerung der Entladungsraten (relativ zur Ruheentladungsrate im Stillwasser) während der Stimulation mit großräumigen Wasserströmungen wurde bei den primären Afferenzen von *Carassius auratus* jedoch nicht festgestellt (Chagnaud et al. 2008a). Hieraus schlossen Chagnaud et al. (2008a), dass Fische die Strömungsrichtung entlang der rostro-caudalen Achse nicht direkt ermitteln können. Die ebenfalls in der großräumigen Strömung enthaltenen kleinen Verwirbelungen (Mikrofluktuationen) können jedoch einen starken Einfluss auf die neuronalen Entladungsmuster und -raten haben (Chagnaud et al. 2008a) und lassen sich, da sich diese Mikrofluktuationen mit der Strömung entlang des Fisches fortbewegen, zur indirekten Bestimmung der Strömungsgeschwindigkeit und -richtung aus den räumlich-zeitlichen Ausbreitungsmustern dieser Mikrofluktuationen mittels eines Kreuzkorrelationsmechanismus nutzen (Chagnaud et al. 2008b).

Die vorliegende Arbeit untersucht die Selektivität von primären Afferenzen und MON-Neuronen für rostro-caudale und caudo-rostrale Strömungsrichtung, wobei neben dem bereits von Chagnaud et al. (2008a) getesteten Geschwin-

digkeitsbereich auch geringere Strömungsgeschwindigkeiten von 1,8 cm/s und 3,6 cm/s verwendet wurden. Durch konstruktive Verbesserungen der Strömungserzeugung konnte bei geringen und mittleren Strömungsgeschwindigkeiten bis 6,5 cm/s eine deutliche Verringerung des Anteils der Mikrofluktuationen erreicht werden (Abb. 2.3 auf Seite 44, vergleiche Chagnaud et al. 2008a), wodurch möglicherweise eine schwache neuronale Antwort auf die Strömungsrichtung weniger durch die Fluktuationskomponente verdeckt werden kann. Um vergleichbare Strömungsbedingungen bei rostro-caudaler und caudo-rostraler Strömungsrichtung zu erhalten, wurde in der vorliegenden Arbeit der komplette Antrieb um 180° rotiert. Im Gegensatz zu einigen früheren Arbeiten (Künzel 2009; Hofmann 2010) wurden zeitlich konstante Strömungsgeschwindigkeiten präsentiert, da die Beschleunigungsphase der Strömung nicht in die Auswertung einbezogen wurde (Kapitel 2, Abschnitt 2.2.3 auf Seite 44). Zusätzlich wird die künstliche Beatmung als mögliche Quelle ungewollter Stimulation der Seitenlinie (siehe Kapitel 2 auf Seite 36) vermieden, welche in früheren Arbeiten eine mögliche Richtungssensitivität maskiert haben könnte. Weiterhin wurde neben *Carassius auratus* mit *Leuciscus idus* eine rheophile Fischart untersucht, die aufgrund ihrer Lebensweise morphologische und neuronale Anpassung an die Wahrnehmung von Strömungsgeschwindigkeiten und -richtung haben könnte. In diesem Kapitel werden daher folgende Fragestellungen bearbeitet:

1. Lassen sich unter der verbesserten hydrodynamischen Versuchsbedingung bei *Leuciscus idus* und/oder *Carassius auratus* primäre Afferenzen beziehungsweise MON-Neurone nachweisen, die selektiv die rostro-caudale und caudo-rostrale Strömungsrichtung kodieren können?
2. Unterscheiden sich die neuronalen Antworten von primären Afferenzen und MON-Neuronen auf großräumige Strömungsreize beispielsweise hinsichtlich der Antwortstärke oder der Fähigkeit Strömungsrichtungen und / oder Geschwindigkeiten zu kodieren?
3. Welche Funktion übernehmen die anterioren und posterioren Seitenlinienanteile bei der Verarbeitung von Strömungsreizen?
4. Unterscheidet sich die neuronale Verarbeitung von Strömungsreizen zwischen *Leuciscus idus* und *Carassius auratus*?
5. Besitzt *Leuciscus idus* zusätzlich morphologische Anpassungen der peripheren Seitenlinie an die rheophile Lebensweise?

4.2 Methoden

4.2.1 Elektrophysiologische Ableitungen

Die durchgeführte Präparation und die genutzten elektrophysiologischen Ableitetechniken sowie die dazugehörige Vorverarbeitung der aufgezeichneten Ableitungsdaten wurden bereits im Kapitel 2, Abschnitt 2.2.1 auf Seite 38 beschrieben.

4.2.2 Strömungsstimulation

Die Strömungsreize sind im Abschnitt 2.2.3 auf Seite 42 beschrieben. In die Analyse der neuronalen Antwort der Neurone auf Strömungsreize wurden primär nur Sequenzen mit konstanter Strömungsgeschwindigkeit und abgeschalteter künstlicher Beatmung einbezogen. Hierdurch sollte eine Beeinflussung der neuronalen Antworten durch die von der künstlichen Beatmung hervorgerufenen Wasserbewegungen vermieden werden (siehe Abb. 2.14, Abb. 2.16, Abb. 2.33, Abb. 2.34). Zum Vergleich mit früheren Arbeiten werden die Strömungsantworten bei eingeschalteter künstlicher Beatmung jedoch exemplarisch den Strömungsantworten ohne künstliche Beatmung gegenübergestellt (Abb. 4.4, Abb. 4.5, Abb. 4.6, Abb. 4.7, Abb. 4.11 in diesem Kapitel).

4.2.3 Analyse der elektrophysiologischen Ableitungen

Die Analyse der elektrophysiologischen Ableitung bezüglich der mittleren Entladungsrate und der relativen Ratenänderung bei Strömungsreizen (SFI) ist im Abschnitt 2.2.5 auf Seite 49 beschrieben. Zusätzlich wurde die Antwort der Neurone auf Strömungsreize mittels normierten Entladungsraten (mittlere Entladungsrate bei Strömung abzüglich der Ruheentladungsrate in Stillwasser) ausgedrückt. Die Entladungsratenänderung der primären Afferenzen und MON-Neurone bei Strömungsstimulation, im Vergleich zur Ruheentladungsrate im Stillwasser, wurde anhand der normierten Entladungsratenänderung untersucht. Zur Bestimmung der normierten Ratenänderung wurde von den Entladungsraten bei Strömungsstimulation jeweils die Ruheentladungsrate der Neurone im Stillwasser subtrahiert (siehe auch Chagnaud et al. 2008a). Weiterhin wurde die neuronale Antwort der primären Afferenzen und MON-Neurone hinsichtlich der geschwindigkeitsbezogenen Entladungsratenänderung (normierte Entladungsrate geteilt durch absolute Strömungsgeschwindigkeit) untersucht (siehe auch Carton & Montgomery 2002; Kröther et al. 2004). Da die absoluten Ruheentladungsraten in Stillwasser stark variierten (0 Hz bis über 100 Hz), wurde die neuronale Antwort auf Strömungsrei-

ze zusätzlich mittels eines relativen Änderungsmaßes mit Bezug auf die jeweilige Ruhentladungsrate in Stillwasser, dem Signed Flow Index (SFI, siehe Formel 2.3 auf Seite 51), untersucht.

Um die Selektivität der Neurone auf eine bestimmte Strömungsrichtung zu beschreiben, wurde der Signed Directivity Index (SDI, siehe Wagner & Takahashi 1992) verwendet, welche die Entladungsrate bei rostro-caudaler und caudo-rostraler Stimulation mit großräumiger Strömung gleicher absoluter Geschwindigkeit vergleicht. Die relativen Änderungswerte liegen alle zwischen -100 und +100. Der Wert 0 zeigt hierbei eine gleich hohe Entladungsrate bei beiden Strömungsrichtungen an. Werte von -100 oder +100 zeigen, dass bei einer der beiden Strömungsrichtungen keine Entladungen vorgefunden wurden. Das relative Änderungsmaß kann nicht bestimmt werden, wenn bei den beiden zu vergleichenden Stimulationen keine Entladungen festzustellen waren.

$$SDI = \begin{cases} 100 \cdot \left(1 - \frac{f_{CR}}{f_{RC}}\right) & \text{für } f_{RC} > f_{CR} \\ 100 \cdot \left(\frac{f_{RC}}{f_{CR}} - 1\right) & \text{für } f_{RC} < f_{CR} \end{cases} \quad (4.1)$$

f_{RC} = mittlere Entladungsrate in rostro – caudaler Strömung

f_{CR} = mittlere Entladungsrate in caudo – rostraler Strömung

4.2.4 Morphologie der peripheren Seitenlinie

Die Neuromasten und Kopfkanäle wurden vital mit Methylenblau gefärbt (siehe Abschnitt 3.2.3 auf Seite 96) oder postmortal mit schwarzer Tinte (Pelikan 4001) gefüllt.

4.3 Ergebnisse

Von 101 primären Afferenzen konnten 54 (49 Fasern von *L. idus*, 5 Fasern von *C. auratus*) mit großräumiger Strömung stimuliert werden. Hierbei konnten die Neurone mit 193 Strömungsreizen stimuliert werden (180 Strömungsreize bei *L. idus*; 13 Strömungsreize bei *C. auratus*), wobei der Median drei (Mittelwert = 3,57) Strömungsreize pro Nervenfasern betrug (Abb. 4.1A). Von den 70 abgeleiteten MON-Neuronen wurden 32 mit großräumiger Strömung stimuliert. Es konnten 112 Strömungsstimulationen bei diesen 32 Neuronen präsentiert werden, wobei der Median drei (Mittelwert: 3,5) unterschiedliche Strömungsgeschwindigkeiten beziehungsweise -richtungen pro Neuron betrug (Abb. 4.1B). Die jeweilige An-

zahl von Ableitung bei *L. idus* und *C. auratus* ist in Abbildung 4.3 angegeben. Nur bei drei primären Afferenzen und vier Neuronen des MON konnte das vollständige Stimulationsprotokoll mit allen Strömungsgeschwindigkeiten und -richtungen durchgeführt werden (Abb. 4.1). Aufgrund der überwiegend unvollständigen Stimulationsprotokolle werden die neuronalen Antwortmuster aller primärer Afferenzen bzw. MON-Neurone auf bestimmte Strömungsreize zusammenfassend betrachtet. Hierbei wird zwischen den Antworten der primären Afferenzen und den Nervenzellen des MON auf großräumige Strömungsreize unterschieden. Zusätzlich wird die Richtungsselektivität anhand präsentierter Strömungsreize mit gleicher absoluter Strömungsgeschwindigkeit, aber invertierter Strömungsrichtungen (rostro-caudal und caudo-rostral) untersucht. Die gezeigten Ergebnisse beruhen jeweils auf 30 s langen Strömungsreizen mit weitgehend konstanter Strömungsgeschwindigkeit (siehe Abb. 2.3B auf Seite 44) und, soweit nicht gesondert vermerkt, abgeschalteter künstlicher Beatmung. Bei wiederholter Präsentation einzelner Strömungsreize, wurde der Mittelwert der jeweiligen Wiederholungen zur Analyse genutzt. Die Anzahl der Nervenfasern und MON-Neurone, welche mit einer bestimmten Strömungsgeschwindigkeit und -richtung stimuliert wurden, ist jeweils in den Abbildungen 4.2 auf Seite 115 und 4.3 auf Seite 122 angegeben.

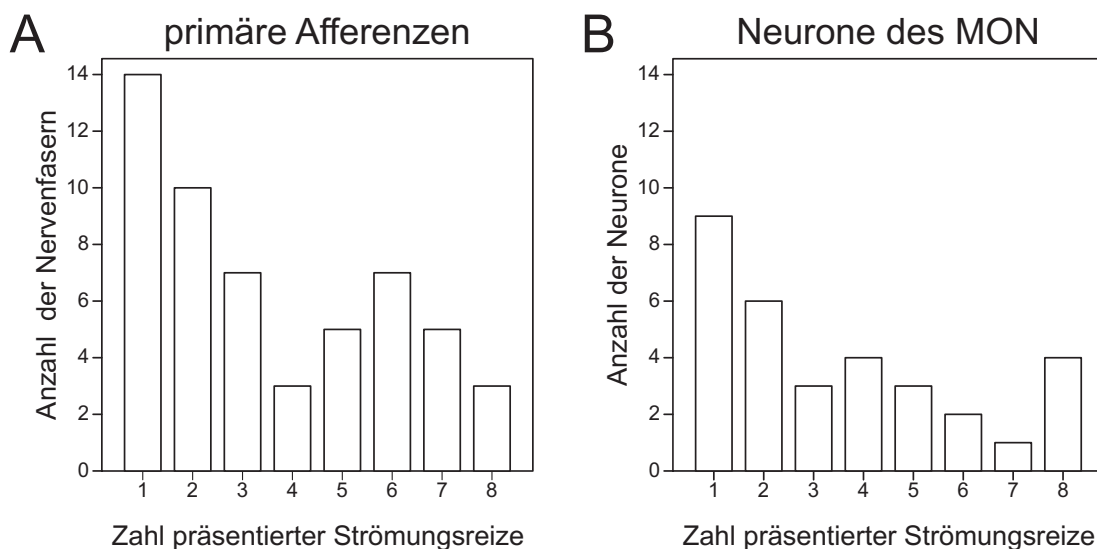


Abbildung 4.1: **Anzahl der präsentierten Strömungsreize pro primäre Afferenz bzw. MON-Neuron.** **A:** Anzahl der primären Afferenzen, die mit einer bestimmten Anzahl Strömungsreize stimuliert wurden. **B:** Anzahl der MON-Neurone, die mit einer bestimmten Anzahl Strömungsreize stimuliert wurden. Das vollständige Protokoll umfasste acht Strömungsreize (jeweils in rostro-caudaler und caudo-rostral Richtung Geschwindigkeiten von 1,8 cm/s, 3,6 cm/s, 6,5 cm/s und 9,5 cm/s)

4.3.1 Neuronale Antworten primärer Afferenzen auf großräumige Strömungsreize

Die Abbildung 4.2 zeigt mittlere Entladungsraten, normierte Entladungsratenänderungen (mittlere Entladungsrate bei Strömungsstimulation abzüglich der Ruheentladungsrate), geschwindigkeitsbezogene Entladungsratenänderungen (normierte Entladungsratenänderung geteilt durch die präsentierte absolute Strömungsgeschwindigkeit) und relative Entladungsratenänderungen bezogen auf die im Stillwasser ermittelte Ruheentladungsrate (SFI) für unterschiedliche Strömungsreize. Die Mehrzahl der Ableitungen wurde in *Leuciscus idus* am PLLN (75,6%) und ALLN (17,6%) durchgeführt. Bei *Carassius auratus* wurden nur 6,8% der Ableitungen durchgeführt, welche mit den Ableitungen der primären Afferenzen von *Leuciscus idus* zusammengefasst analysiert wurden.

Absolute Entladungsraten (primäre Afferenzen)

In Stillwasser traten die geringsten absoluten Entladungsraten auf (Mittelwert aller Ableitungen im Stillwasser = 34,0 Hz), wohingegen in rostro-caudaler Strömungsrichtung (Mittelwerte: 1,8 cm/s = 44,3 Hz; 3,6 cm/s = 48,9 Hz; 6,5 cm/s = 48,6 Hz; 9,5 cm/s = 68,0 Hz) und caudo-rostraler Strömungsrichtung (Mittelwerte: 1,8 cm/s = 45,9 Hz; 3,6 cm/s = 57,4 Hz; 6,5 cm/s = 55,5 Hz; 9,5 cm/s = 56,9 Hz) die Entladungsraten höher waren (Abb. 4.2A). Die absoluten Entladungsraten unterschieden sich nur signifikant zwischen 3,6 cm/s caudo-rostral und Stillwasser (Homogenität der Varianzen mittels Bartlett-Test: p-Wert = 0,3033; Einwege-Anova: Quadratsumme = 23949 für 8 Freiheitsgrade; F-Wert = 2,994; p-wert = 0,00307; Tukey-Kontrast als Post-Hoc-Test: 3,6 cm/s caudo-rostral gegen Stillwasser; p-Wert = 0,0255). Bei ausschließlicher Betrachtung der Strömungsrichtung und ohne Berücksichtigung der absoluten Strömungsgeschwindigkeiten (im Folgenden als "zusammengefasste Strömungsreize" bezeichnet), unterscheiden sich die absoluten Entladungsraten zwischen den zusammengefassten rostro-caudalen Strömungsreizen und Stillwasser, den zusammengefassten caudo-rostralen Strömungsreizen und Stillwasser, jedoch nicht zwischen den zusammengefassten rostro-caudalen Strömungsreizen und den zusammengefassten caudo-rostralen Strömungsreizen (Homogenität der Varianzen mittels Bartlett-Test: p-Wert = 0,621; Einwege-Anova: Quadratsumme = 17683 für 2 Freiheitsgrade; F-Wert = 8,834; p-Wert = 0,000189; Tukey-Kontrast als Post-Hoc-Test: rostro-caudal gegen Stillwasser: p-Wert = 0,003223; caudo-rostral gegen Stillwasser: p-Wert = 0,000354; rostro-caudal gegen caudo-rostral: p-Wert = 0,696031).

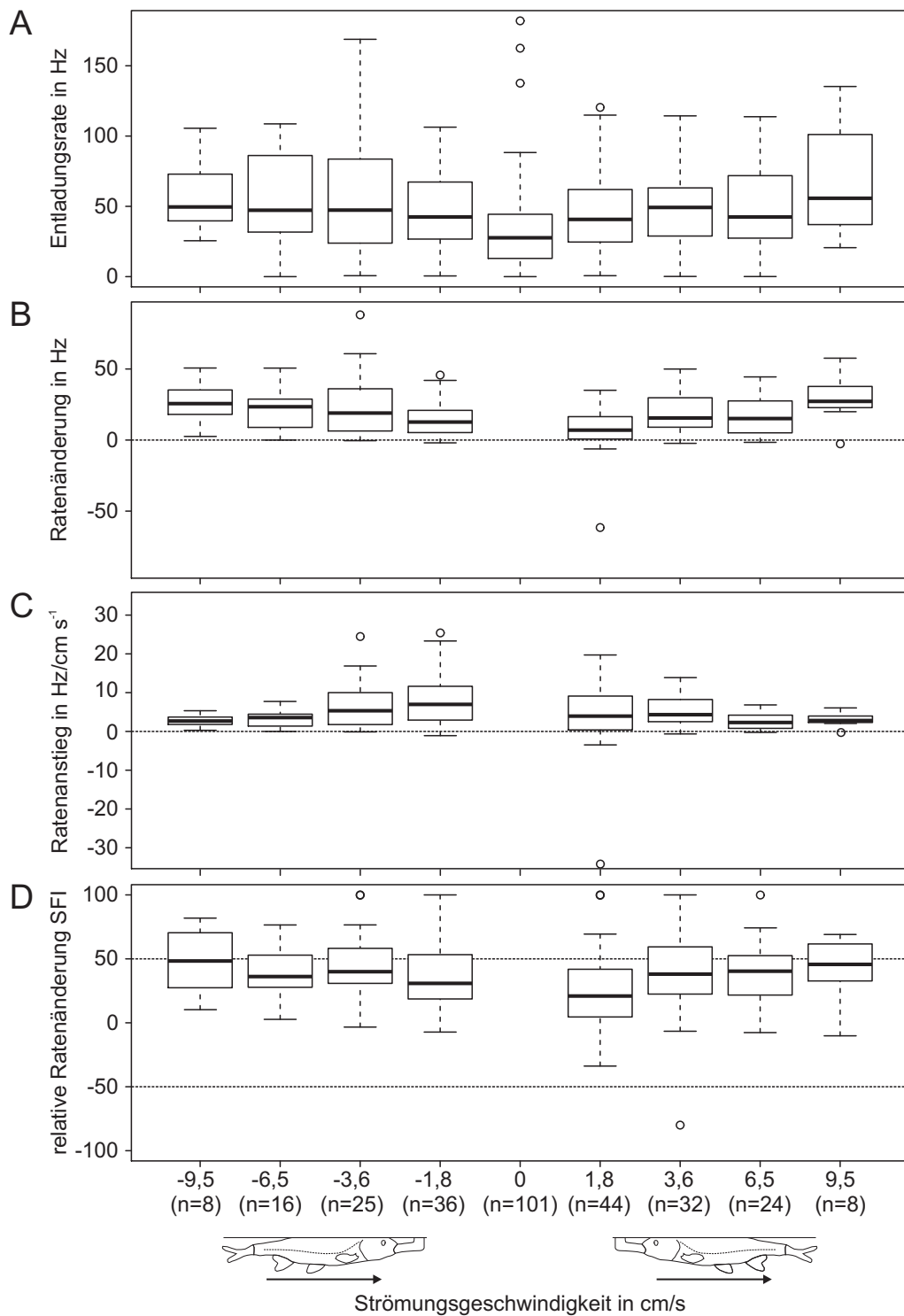


Abbildung 4.2: **Stärke der neuronalen Antworten primärer Afferenzen bei Stimulation mit großräumiger Strömung.** Abszisse: Strömungsgeschwindigkeit, -richtung (Piktogramme, 0 cm/s = Stillwasser) und Anzahl der Fasern in Klammern. **A:** Entladungsrates ohne künstliche Beatmung. **B:** normierte Ratenänderung. **C:** geschwindigkeitsbezogene Entladungsratenänderung **D:** relative Ratenänderung (SFI). Ein SFI-Wert von 50 (oder -50) entspricht einer Verdopplung (oder Halbierung) der Entladungsrates bei präsentierter Strömung bezogen auf die Stillwasserentladungsrates (gestrichelte Linien), ein SFI-Wert von 0 bedeutet keine Ratenänderung. Die Ableitungen der primären Afferenzen von *Leuciscus idus* und *Carassius auratus* wurden zusammengefasst.

Normierte Entladungsratenänderung (primäre Afferenzen)

Im Mittel erhöhten die primären Afferenzen bei allen präsentierten Strömungsreizen in rostro-caudaler (Mittelwerte: 1,8 cm/s = +8,5 Hz; 3,6 cm/s = +19,7 Hz; 6,5 cm/s = +17,1 Hz; 9,5 cm/s = +28,9 Hz) und in caudo-rostraler Strömungsrichtung (Mittelwerte: 1,8 cm/s = +14,6 Hz; 3,6 cm/s = +23,5 Hz; 6,5 cm/s = +21,2 Hz; 9,5 cm/s = +26,4 Hz) ihre Entladungsrate (Abb. 4.2B). Die absolute Strömungsgeschwindigkeit hatte einen signifikanten Einfluss auf die normierten Entladungsratenänderungen, wohingegen die Entladungsratenänderungen sich zwischen den zusammengefassten rostro-caudalen und caudo-rostralen Strömungsreizen nicht signifikant unterschied (Homogenität der Varianzen mittels Bartlett-Test: “Strömungsrichtung” p-Wert = 0,9662; “absolute Geschwindigkeit” p-Wert = 0,1198; Zweifache-Anova Faktor “Strömungsrichtung”: Quadratsumme = 876 für 1 Freiheitsgrad; F-Wert = 3,5739; p-Wert = 0,06026; Faktor “absolute Geschwindigkeit”: Quadratsumme = 5634 für 3 Freiheitsgrade; F-Wert = 7,6640; p-Wert = 7,425e-05; Interaktion “Strömungsrichtung” & “absolute Geschwindigkeit”: Quadratsumme = 254 für 3 Freiheitsgrade; F-Wert = 0,3449; p-Wert = 0,79290). Stärkere Entladungsratenänderungen traten bei höheren absoluten Strömungsgeschwindigkeiten auf (Spearman’s Rangkorrelation: $S = 845646,2$; p-Wert = 3,282e-05; $\rho = 0,2942032$).

Geschwindigkeitsbezogene Entladungsratenänderungen/Slope (primäre Afferenzen)

Die primären Afferenzen zeigten sowohl bei rostro-caudaler Strömungsrichtung (Mittelwerte: 1,8 cm/s = +4,72 Hz/cm s⁻¹; 3,6 cm/s = +5,48 Hz/cm s⁻¹; 6,5 cm/s = +2,63 Hz/cm s⁻¹; 9,5 cm/s = +3,04 Hz/cm s⁻¹) als auch bei caudo-rostraler Strömungsrichtung (Mittelwerte: 1,8 cm/s = +8,12 Hz/cm s⁻¹; 3,6 cm/s = +6,52 Hz/cm s⁻¹; 6,5 cm/s = +3,26 Hz/cm s⁻¹; 9,5 cm/s = +2,78 Hz/cm s⁻¹) positive geschwindigkeitsbezogene Entladungsratenänderungen (Abb. 4.2C). Die geschwindigkeitsbezogenen Entladungsratenänderungen unterschieden sich sowohl zwischen den zusammengefassten rostro-caudalen Strömungsreizen und den zusammengefassten caudo-rostralen Strömungsreizen als auch innerhalb der präsentierten absoluten Strömungsgeschwindigkeiten signifikant voneinander (Homogenität der Varianzen mittels Bartlett-Test: “Strömungsrichtung” p-Wert = 0,7314; “absolute Geschwindigkeit” p-Wert < 2,2e-16; Zweifache-Anova Faktor “Strömungsrichtung”: Quadratsumme = 159,8 für 1 Freiheitsgrad; F-Wert = 4,6069; p-Wert = 0,033146; Faktor “absolute Geschwindigkeit”: Quadratsumme = 409,8 für 3 Freiheitsgrade; F-Wert = 3,9393; p-Wert = 0,009366; Interaktion

“Strömungsrichtung” & “absolute Geschwindigkeit”: Quadratsumme = 88,6 für 3 Freiheitsgrade; F-Wert = 0,8519; p-Wert = 0,467209; Kruskal-Wallis Rangsummentest für “absolute Geschwindigkeit” (aufgrund der fehlenden Varianzhomogenität): Kruskal-Wallis $\chi^2 = 12,6498$ für 3 Freiheitsgrade; p-Wert = 0,005459; Mediane der Entladungsratenanstiege pro cm/s Strömungsgeschwindigkeit: 1,8 cm/s = +5,66 Hz/cm s⁻¹; 3,6 cm/s = +4,54 Hz/cm s⁻¹; 6,5 cm/s = +3,02 Hz/cm s⁻¹; 9,5 cm/s = +2,80 Hz/cm s⁻¹). Bei höheren absoluten Strömungsgeschwindigkeiten traten geringere geschwindigkeitsbezogene Entladungsratenänderungen auf (Spearman’s Rangkorrelation: S = 1461808; p-Wert = 0,002104; $\rho = -0,2200606$).

Relative Entladungsratenänderung SFI (primäre Afferenzen)

Die Entladungsraten der primären Afferenzen waren bei rostro-caudalen (SFI-Mittelwerte: 1,8 cm/s = 25,0; 3,6 cm/s = 37,8; 6,5 cm/s = 40,4 Hz; 9,5 cm/s = 42,3) und caudo-rostralen Strömungsreizen (SFI-Mittelwerte: 1,8 cm/s = 36,6; 3,6 cm/s = 43,2; 6,5 cm/s = 39,9; 9,5 cm/s = 48,0) zwischen 33,3% (SFI-Wert 25,0) und 92,3% (SFI-Wert 48,0) höher als die Ruheentladungsraten im Stillwasser (Abb. 4.2D). Weder die absolute Strömungsgeschwindigkeit noch die Strömungsrichtung der präsentierten Strömungsreize hatten einen signifikanten Einfluss auf die SFI-Werte (Homogenität der Varianzen mittels Bartlett-Test: “Strömungsrichtung” p-Wert = 0,105; “absolute Geschwindigkeit” p-Wert = 0,4563; Zweifache-Anova Faktor “Strömungsrichtung”: Quadratsumme = 2223 für 1 Freiheitsgrad; F-Wert = 2,7848; p-Wert = 0,09686; Faktor “absolute Geschwindigkeit”: Quadratsumme = 5719 für 3 Freiheitsgrade; F-Wert = 2,3882; p-Wert = 0,07039; Interaktion “Strömungsrichtung” & “absolute Geschwindigkeit”: Quadratsumme = 984 für 3 Freiheitsgrade; F-Wert = 0,4109; p-Wert = 0,74535). Die primären Afferenzen wiesen bei höheren absoluten Strömungsgeschwindigkeiten stärkere relative Entladungsratenänderungen auf (Spearman’s Rangkorrelation: S = 926977,3; p-Wert = 0,002855; $\rho = 0,2141703$). Weiterhin haben Fasern mit geringen Ruheentladungsraten stärkere relative Entladungsratenzunahmen bei Strömungsstimulation, wohingegen Fasern mit höherer Ruheaktivität eine geringere relative Entladungsratenzunahme zeigten (Spearman’s Rang Korrelation: S = 1749190; p-Wert = 1,315e-12; $\rho = -0,4828467$).

4.3.2 Neuronale Antwort der MON-Neurone auf großräumige Strömungsreize

Die MON-Daten setzen sich aus Ableitungen von *Leuciscus idus* (60 Strömungsreize, 18 Neurone, 7 Versuchstiere) und *Carassius auratus* (56 Strömungsreize, 14 Neurone, 4 Versuchstiere) zusammen (Abszisse in Abb. 4.3 auf Seite 122), wobei eine vergleichbare Anzahl von Ableitungen bei den jeweiligen Strömungsrichtungen und absoluten Strömungsgeschwindigkeiten bei den beiden Fischarten durchgeführt wurde (Pearson's Chi-Quadratstest; $\chi^2 = 4,5223$; 7 Freiheitsgrade; p-Wert = 0,718). Die neuronale Antwort der MON-Neurone auf Strömungsreize wurde, wie bei den bereits gezeigten primären Afferenzen, anhand der mittleren Entladungsrate, der normierten Entladungsratenänderung, der geschwindigkeitsbezogenen Entladungsratenänderung und der relativen Entladungsratenänderung (SFI) beschrieben (Abb. 4.3).

Absolute Entladungsraten (MON)

Im Stillwasser bei abgeschalteter künstlicher Beatmung unterschieden sich die Ruheentladungsraten aller MON-Neurone von *L. idus* (n = 36; Median = 18,3 Hz) und *C. auratus* (n = 34; Median = 8,8 Hz) nicht signifikant (Wilcoxon Vorzeichenrangtest mit Kontinuumskorrektur: W = 716; p-Wert = 0,2239). Auch bei Ausschuss nicht mit Strömung stimulierten MON-Neuronen (die Abb. 4.3A zeigt die Ruheentladungsraten aller abgeleiteten MON-Neuronen), waren die Ruheentladungsraten ohne KB im Stillwasser bei den MON-Neuronen von *L. idus* (n = 18; Median = 7,0 Hz) und *C. auratus* (n = 14; Median = 8,8 Hz) nicht signifikant voneinander verschieden (Wilcoxon Vorzeichenrangtest mit Kontinuumskorrektur; W = 115; p-Wert = 0,6899). Bei *L. idus* unterschieden sich die absoluten Entladungsraten (Abb. 4.3A) bei den präsentierten Stimulationen (inklusive der Spontanentladungsraten der mit Strömungsreizen stimulierten Neuronen) nicht signifikant (Homogenität der Varianzen mittels Bartlett-Test: p-Wert = 0,2971; Einwege-Anova: Quadratsumme = 3093 für 8 Freiheitsgrade; F-Wert = 1,419; p-Wert = 0,204). Auch bei *C. auratus* waren keine signifikant unterschiedlichen absoluten Entladungsraten bei den präsentierten Strömungsreizen beziehungsweise Stillwasser festzustellen (Homogenität der Varianzen mittels Bartlett-Test: p-Wert = 0,9822; Einwege-Anova: Quadratsumme = 48409 für 8 Freiheitsgrade; F-Wert = 1,468; p-Wert = 0,204). Auch bei ausschließlicher Betrachtung der Strömungsrichtung und ohne Berücksichtigung der absoluten Strömungsgeschwindigkeiten ("zusammengefasste Strömungsreize"), unterscheiden sich die absoluten

Entladungsraten weder bei *L. idus* (Homogenität der Varianzen mittels Bartlett-Test: p-Wert = 0,04184; Kruskal-Wallis Rangsummentest (aufgrund der fehlenden Varianzhomogenität): Kruskal-Wallis $\chi^2 = 4,559$ für 2 Freiheitsgrade; p-Wert = 0,1023) noch bei *C. auratus* (Homogenität der Varianzen mittels Bartlett-Test: p-Wert = 0,5291; Einwege-Anova: Quadratsumme = 17729 für 2 Freiheitsgrade; F-Wert = 2,102; p-Wert = 0,131) signifikant zwischen rostro-caudaler sowie caudo-rostraler Strömungsrichtung und Stillwasser.

Normierte Entladungsratenänderung (MON)

Die Entladungsraten der MON-Neurone von *L. idus* nahmen bei präsentierten Strömungsreizen sowohl bei rostro-caudaler (Mittelwerte: 1,8 cm/s = +10,9 Hz; 3,6 cm/s = +19,5 Hz; 6,5 cm/s = +8,4 Hz; 9,5 cm/s = +15,3 Hz) als auch bei caudo-rostraler Strömungsrichtung (Mittelwerte: 1,8 cm/s = +9,6 Hz; 3,6 cm/s = +9,0 Hz; 6,5 cm/s = +2,6 Hz; 9,5 cm/s = +6,0 Hz) zu (Abb. 4.3B). Auch bei *C. auratus* waren Entladungsratenzunahmen bei präsentierten Strömungsreizen bei rostro-caudaler (Mittelwerte: 1,8 cm/s = +14,3 Hz; 3,6 cm/s = +16,6 Hz; 6,5 cm/s = +7,5 Hz; 9,5 cm/s = +50,8 Hz) und bei caudo-rostraler Strömungsrichtung (Mittelwerte: 1,8 cm/s = +10,7 Hz; 3,6 cm/s = +15,7 Hz; 6,5 cm/s = +19,0 Hz; 9,5 cm/s = +56,5 Hz) vorhanden (Abb. 4.3B). Die Stärke der Entladungsratenzunahme wurde weder signifikant durch die präsentierten absoluten Strömungsgeschwindigkeiten und die Strömungsrichtung beeinflusst, noch waren die Entladungsratenänderungen zwischen *L. idus* und *C. auratus* signifikant verschieden (Homogenität der Varianzen mittels Bartlett-Test: "Strömungsrichtung" p-Wert = 0,1057; "absolute Geschwindigkeit" p-Wert = 0,02439; "Spezies" p-Wert = 4,132e-12; Dreiwege-Anova Faktor "Strömungsrichtung": Quadratsumme = 237 für 1 Freiheitsgrad; F-Wert = 1,8057; p-Wert = 0,5617; Faktor "absolute Geschwindigkeit": Quadratsumme = 3778 für 3 Freiheitsgrade; F-Wert = 1,84811; p-Wert = 0,1513; Faktor "Spezies": Quadratsumme = 1359 für 1 Freiheitsgrad; F-Wert = 1,9493; p-Wert = 0,1659; Alle Interaktionen der Faktoren p > 0,1 Kruskal-Wallis Rangsummentest für "absolute Geschwindigkeit" (aufgrund der fehlenden Varianzhomogenität): Kruskal-Wallis $\chi^2 = 3,3288$ für 3 Freiheitsgrade; p-Wert = 0,3437, Einseitiger, gepaarter Wilcoxon Vorzeichenrangtest mit Kontinuumskorrektur für "Spezies" (aufgrund der fehlenden Varianzhomogenität): W = 1342,5; p-Wert = 0,2055; Mediane *L. idus* = +6,7 Hz, *C. auratus* = +12,2). Die Entladungsratenzunahme korrelierte weder bei *L. idus* (Spearman's Rangkorrelation: S = 38964,13; p-Wert = 0,5302; $\rho = -0,08263771$) noch bei *C. auratus* mit der absoluten Strömungsgeschwindigkeit (Spearman's Rangkorrelation: S =

18616,15; p-Wert = 0,1442; $\rho = 0,2053212$).

Geschwindigkeitsbezogene Entladungsratenänderung/Slope (MON)

Die MON-Neurone von *L. idus* zeigten sowohl bei rostro-caudaler (Mittelwerte: 1,8 cm/s = +6,0 Hz/cm s⁻¹; 3,6 cm/s = +5,4 Hz/cm s⁻¹; 6,5 cm/s = +1,3 Hz/cm s⁻¹; 9,5 cm/s = +1,6 Hz/cm s⁻¹) als auch bei caudo-rostraler Strömungsrichtung (Mittelwerte: 1,8 cm/s = +5,3 Hz/cm s⁻¹; 3,6 cm/s = +2,5 Hz/cm s⁻¹; 6,5 cm/s = +0,4 Hz/cm s⁻¹; 9,5 cm/s = +0,6 Hz/cm s⁻¹) positive geschwindigkeitsbezogene Entladungsratenänderungen (Abb. 4.3C). Bei *C. auratus* waren ebenfalls positive geschwindigkeitsbezogene Entladungsratenänderungen bei Stimulation mit rostro-caudaler (Mittelwerte: 1,8 cm/s = +8,0 Hz/cm s⁻¹; 3,6 cm/s = +4,6 Hz/cm s⁻¹; 6,5 cm/s = +1,2 Hz/cm s⁻¹; 9,5 cm/s = +5,3 Hz/cm s⁻¹) und caudo-rostraler Strömungsrichtung (Mittelwerte: 1,8 cm/s = +5,9 Hz/cm s⁻¹; 3,6 cm/s = +4,4 Hz/cm s⁻¹; 6,5 cm/s = +2,9 Hz/cm s⁻¹; 9,5 cm/s = +5,9 Hz/cm s⁻¹) festzustellen. Weder die absoluten Strömungsgeschwindigkeiten noch die Strömungsrichtung hatten einen signifikanten Einfluss auf die Stärke der geschwindigkeitsbezogenen Entladungsratenzunahme, noch unterschieden sich die geschwindigkeitsbezogenen Entladungsratenzunahmen zwischen *L. idus* und *C. auratus* (Homogenität der Varianzen mittels Bartlett-Test: "Strömungsrichtung" p-Wert = 0,8422; "absolute Geschwindigkeit" p-Wert = 2,43e-06; "Spezies" p-Wert = 7,77e-10. Dreiwege-Anova Faktor "Strömungsrichtung": Quadratsumme = 27,6 für 1 Freiheitsgrad; F-Wert = 0,3961; p-Wert = 0,5306; Faktor "absolute Geschwindigkeit": Quadratsumme = 407,8 für 3 Freiheitsgrade; F-Wert = 1,9539; p-Wert = 0,1261; Faktor "Spezies": Quadratsumme = 43,4 für 1 Freiheitsgrad; F-Wert = 0,6242; p-Wert = 0,4314; Alle Interaktionen der Faktoren p > 0,7 Kruskal-Wallis Rangsummentest für "absolute Geschwindigkeit" (aufgrund der fehlenden Varianzhomogenität): Kruskal-Wallis $\chi^2 = 4,8992$ für 3 Freiheitsgrade; p-Wert = 0,1793, Einseitiger, gepaarter Wilcoxon Vorzeichenrangtest mit Kontinuumskorrektur für "Spezies" (aufgrund der fehlenden Varianzhomogenität): W = 1355; p-Wert = 0,2328; Mediane: *L. idus* = +1,1 Hz/cm s⁻¹; *C. auratus* = +3,3 Hz/cm s⁻¹). Bei *L. idus* wurden signifikant geringere geschwindigkeitsbezogene Entladungsratenänderungen bei höheren absoluten Strömungsgeschwindigkeiten gefunden (Spearman's Rangkorrelation: S = 48654,75; p-Wert = 0,005829; $\rho = -0,3518962$). Bei *C. auratus* hingegen waren die geschwindigkeitsbezogenen Ratenänderungen nicht mit der absoluten Strömungsgeschwindigkeit korreliert (Spearman's Rangkorrelation: S = 22764,29; p-Wert = 0,8424; $\rho = 0,02824691$).

Relative Entladungsratenänderung SFI (MON)

Im Mittel zeigten die Neurone des MON von *L. idus* sowohl bei rostro-caudaler (SFI-Mittelwerte: 1,8 cm/s = 50,4; 3,6 cm/s = 61,6; 6,5 cm/s = 48,1; 9,5 cm/s = 47,1) als auch bei caudo-rostraler Strömungsrichtung (SFI-Mittelwerte: 1,8 cm/s = 52,4; 3,6 cm/s = 57,9; 6,5 cm/s = 37,2; 9,5 cm/s = 61,6) eine relative Entladungsratenzunahme zwischen 59,2% (SFI-Wert 37,2) und 160,4% (SFI-Wert 61,6) (Abb. 4.3D). Bei *C. auratus* hingegen betrug die Entladungsratenzunahme bei rostro-caudaler (SFI-Mittelwerte: 1,8 cm/s = 36,4; 3,6 cm/s = 45,6; 6,5 cm/s = 19,8; 9,5 cm/s = 45,0) und bei caudo-rostraler Strömungsrichtung (SFI-Mittelwerte: 1,8 cm/s = 26,9; 3,6 cm/s = 46,3; 6,5 cm/s = 20,4; 9,5 cm/s = 42,9) nur zwischen 24,7% (SFI-Wert 19,8) und 86,2% (SFI-Wert 46,3).

Weder die absoluten Strömungsgeschwindigkeiten noch die Strömungsrichtung hatten einen signifikanten Einfluss auf die Stärke der Entladungsratenzunahme, die relative Entladungsratenzunahme unterschied sich jedoch zwischen den beiden untersuchten Spezies (Homogenität der Varianzen mittels Bartlett-Test: "Strömungsrichtung" p-Wert = 0,1629; "absolute Geschwindigkeit" p-Wert = 0,3904; "Spezies" p-Wert = 0,2415; Dreiwege-Anova Faktor "Strömungsrichtung": Quadratsumme = 158 für 1 Freiheitsgrad; F-Wert = 0,0957; p-Wert = 0,75779; Faktor "absolute Geschwindigkeit": Quadratsumme = 5679 für 3 Freiheitsgrade; F-Wert = 1,1443; p-Wert = 0,33561; Faktor "Spezies": Quadratsumme = 7853 für 1 Freiheitsgrad; F-Wert = 4,7472; p-Wert = 0,03196; Alle Interaktionen der Faktoren $p > 0,8$). Die SFI-Werte korrelierten bei *L. idus* weder mit der absoluten Strömungsgeschwindigkeit (Spearman's Rangkorrelation: $S = 32288,24$; p-Wert = 0,4342; $\rho = 0,1028554$) noch mit den Ruheentladungsraten im Stillwasser (Spearman's Rangkorrelation: $S = 44875,04$; p-Wert = 0,05722; $\rho = -0,2468753$). Bei *C. auratus* waren die SFI-Werte nicht mit der absoluten Strömungsgeschwindigkeit (Spearman's Rangkorrelation: $S = 15538,58$; p-Wert = 0,7831; $\rho = 0,04171555$), jedoch stark negativ mit den Ruheentladungsraten im Stillwasser korreliert (Spearman's Rangkorrelation: $S = 26654,22$; p-Wert = $1,388e-06$; $\rho = -0,6438002$), wobei stärkere relative Entladungsratenänderungen bei Neuronen mit geringer Ruheaktivität im Stillwasser auftraten.

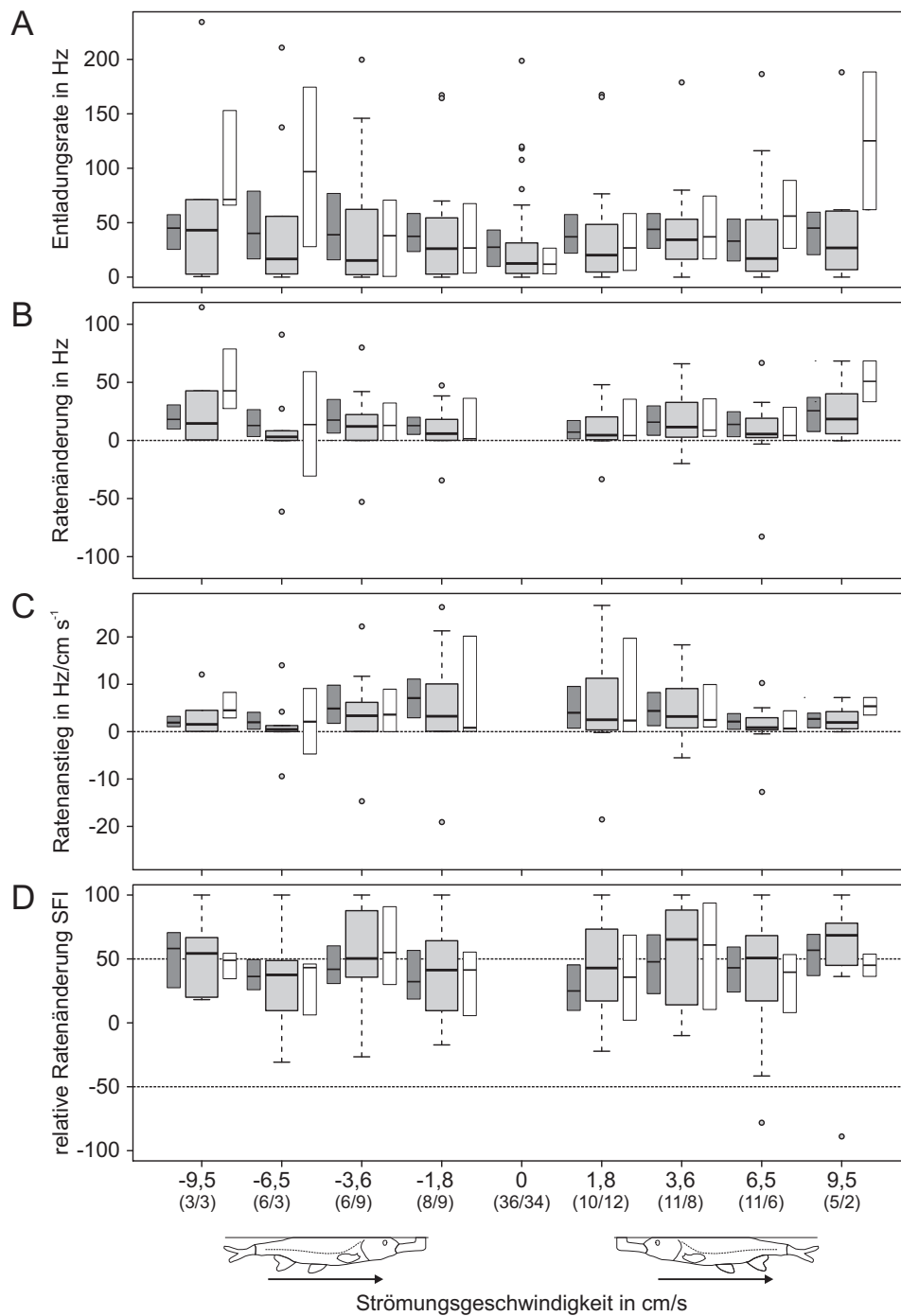


Abbildung 4.3: **Stärke der neuronalen Antwort der MON-Neurone von *L. idus* und *C. auratus* bei Stimulation mit großräumiger Strömung.** Die hellgrauen Box-and-Whisker-plots zeigen die zusammengefassten Antworten der Neurone von *L. idus* und *C. auratus*, dunkelgraue Boxplots (dargestellt sind nur die 25%-, 50%- und 75%-Perzentile) zeigen Antworten der Neurone von *L. idus*, ungefüllte Boxplots (dargestellt sind nur die 25%-, 50%- und 75%-Perzentile) zeigen Antworten der Neurone von *C. auratus*. **Abszisse:** Strömungsgeschwindigkeit und -richtung (Piktogramme, 0 cm/s = Stillwasser), sowie in Klammern die Anzahl der Ableitungen von *L. idus*/*C. auratus*. **A:** Entladungsrates ohne künstliche Beatmung. **B:** normierte Ratenänderung. **C:** geschwindigkeitsbezogene Entladungsratesänderung **D:** relative Ratenänderung (SFI). Ein SFI-Wert von 50 (oder -50) entspricht einer Verdopplung (oder Halbierung) der Entladungsrates bei präsentierter Strömung bezogen auf die Stillwasserentladungsrates (gestrichelte Linien), ein SFI-Wert von 0 bedeutet keine Ratenänderung.

4.3.3 Untersuchung der Richtungsselektivität primärer Afferenzen und Neurone des MON

Bei einem Teil der abgeleiteten primären Afferenzen und MON-Neurone wurden Strömungsreize mit gleicher absoluter Geschwindigkeit aber invertierter Strömungsrichtung präsentiert, um die Richtungspräferenz der Seitenliniennervenzellen zu untersuchen (siehe auch Chagnaud et al. 2008a). Hierbei konnten 19 Strömungsgeschwindigkeitspaare bei neun Fasern des ALLN und 58 Strömungsgeschwindigkeitspaare bei 29 Fasern des PLLN sowie 43 Strömungsgeschwindigkeitspaare bei 21 Neuronen des MON mit Strömungsreizen gleicher Geschwindigkeit in rostro-caudaler und caudo-rostraler Richtung stimuliert werden. Die primären Afferenzen und MON-Neurone konnten im Mittel mit zwei Strömungsgeschwindigkeitspaaren auf ihre Richtungsselektivität getestet werden (Tab. 4.1). Bei zwei Neuronen des MON und einer ALLN-Faser waren sowohl bei rostro-caudaler wie auch in caudo-rostraler Strömung ohne künstliche Beatmung keine Entladungen festzustellen, weshalb diese Neurone nicht auf Richtungsspezifität untersucht werden konnten.

Tabelle 4.1: Anzahl der Ableitungen für die Ableitorte und absoluten Geschwindigkeiten der getesteten Reizpaare.

Geschwindigkeitspaar in cm/s	1,8	3,6	6,5	9,5	Summe
ALLN	8	5	5	1	19
PLLN	26	16	11	5	58
MON	16	13	9	5	43

Richtungssensitive primäre Afferenzen und MON-Neurone

Innerhalb der Population der abgeleiteten Nervenzellen wurde bei einigen primären Afferenzen und MON-Neuronen eine Präferenz für eine Strömungsrichtung festgestellt. Die Entladungsraten mit zugehörigen Originalableitungen für die präsentierten Strömungsreizpaare sind im Folgenden exemplarisch für je zwei primäre Afferenzen und MON-Neurone mit Strömungsrichtungspräferenz gezeigt. Die Abbildung 4.4 zeigt die neuronale Aktivität einer Faser des PLLN von *Leuciscus idus* bei Stimulation mit Strömungsreizpaaren mit absoluten Strömungsgeschwindigkeiten von 1,8 cm/s und 3,6 cm/s, sowie die Ruheaktivität im Stillwasser. Die mittlere Entladungsrate dieser Nervenfaser war bei Strömungen mit einer absoluten Geschwindigkeit von 1,8 cm/s in caudo-rostraler Richtung wesentlich höher als bei rostro-caudaler Strömungsrichtung (Abb. 4.4F). Bei dem Strömungsreizpaar mit 3,6 cm/s absoluter Strömungsgeschwindigkeit waren die Entladungsraten der

caudo-rostralen und rostro-caudalen Strömungsrichtungen vergleichbar hoch. Die Entladungsraten dieser Faser waren mit und ohne künstliche Beatmung (KB) jeweils ähnlich hoch (graue und schwarze Linie in Abb. 4.4F).

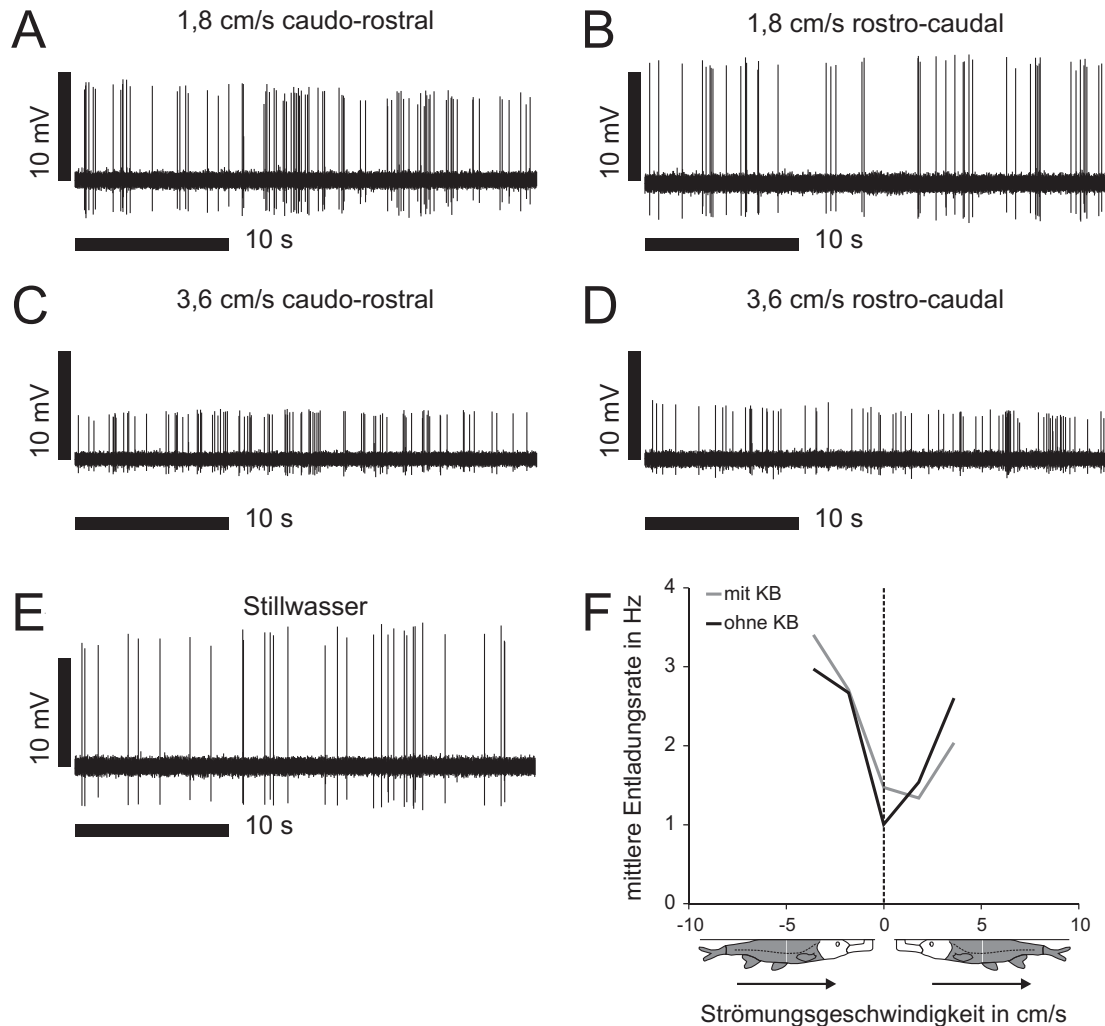


Abbildung 4.4: **Richtungselektivität einer Seitenliniennervenfasers des PLLN von *Leuciscus idus*.** **A bis E:** Originalableitungen der Nervenfasers für jeweils 30 s Stimulation ohne künstliche Beatmung. **A, C:** caudo-rostrale Strömung. **B, D:** rostro-caudale Strömung. **A, B:** 1,8 cm/s absolute Strömungsgeschwindigkeit. **C, D:** 3,6 cm/s absolute Strömungsgeschwindigkeit. **E:** Ruheaktivität im Stillwasser. **F:** Über jeweils 30 s gemittelte Entladungsraten bei unterschiedlichen Strömungsgeschwindigkeiten und -richtungen sowie mit (graue Linie) und ohne künstliche Beatmung (schwarze Linie). Die Piktogramme illustrieren die verwendete Strömungskondition und die Neuromastenposition (grau). Negative Geschwindigkeiten zeigen caudo-rostrale Stimulation an.

Die Abbildung 4.5 zeigt die Ableitung einer Faser des PLLN von *Leuciscus idus* bei Stimulation mit einem Strömungsreizpaar mit einer absoluten Strömungsgeschwindigkeit von 1,8 cm/s, sowie die Ruheaktivität im Stillwasser. Diese Faser innervierte einen (oder mehrere) Neuromasten, welcher im vorderen Rumpfabschnitt ("P2" in Abb. 2.17 auf Seite 66) lokalisiert wurde und anhand der

Reaktion auf den mechanischen Dipolreiz mit einem Entladungsratenmaximum bei 60 Hz als Oberflächenneuromast (siehe Diskussion in Kapitel 2) angesprochen wurde. Bei Stimulation mit 1,8 cm/s starker caudo-rostraler Strömung zeigte die Faser im Vergleich zur rostro-caudalen Strömungsrichtung eine wesentlich höhere mittlere Entladungsrate (Abb. 4.5F). Im Gegensatz zu der zuvor gezeigten Nervenfasern wurden Strömungsreizpaare mit höherer Geschwindigkeit nicht präsentiert. Die Nervenfasern zeigten eine deutliche Reaktion auf die künstliche Beatmung, wobei die Richtungspräferenz bei eingeschalteter künstlicher Beatmung deutlich geringer ausfiel (graue und schwarze Linie in Abb. 4.5F).

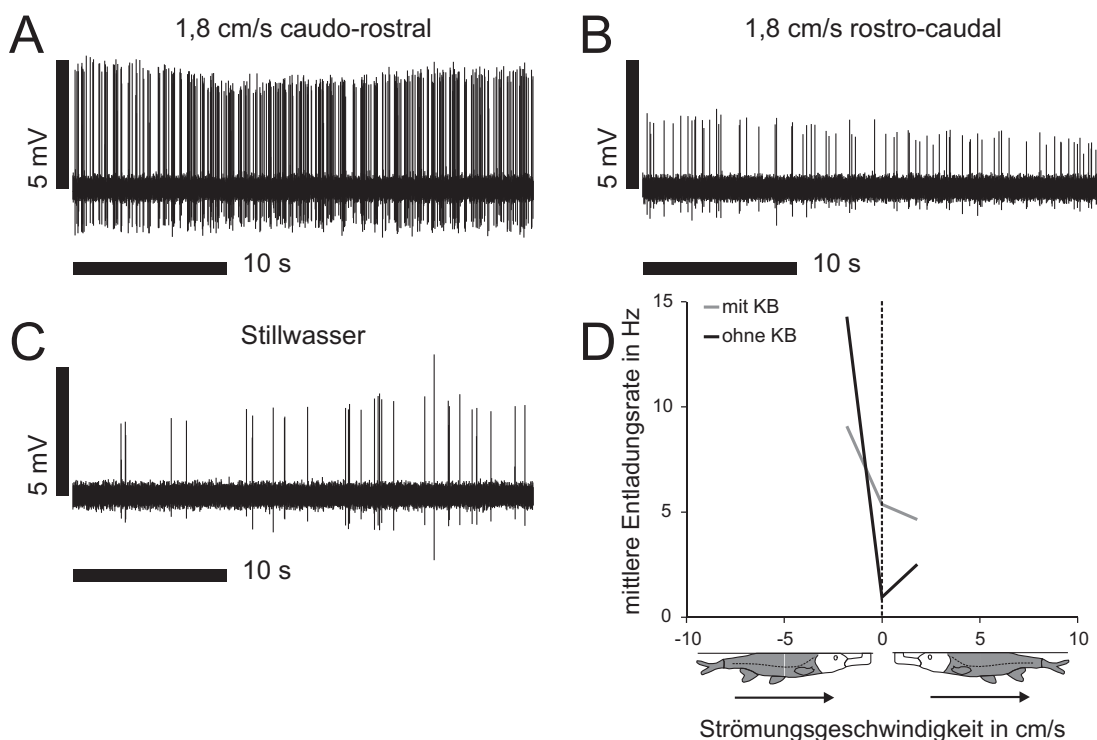


Abbildung 4.5: **Richtungselektivität einer weiteren Seitenliniennervenfasers des PLLN von *Leuciscus idus*.** **A bis E:** Originalableitungen der Nervenfasers für jeweils 30 s Stimulation ohne künstliche Beatmung. **A:** 1,8 cm/s caudo-rostrale Strömung. **B:** 1,8 cm/s rostro-caudale Strömung. **C:** Ruheaktivität im Stillwasser. **D:** Über jeweils 30 s gemittelte Entladungsrates bei unterschiedlichen Strömungsgeschwindigkeiten und -richtungen sowie mit (graue Linie) und ohne künstliche Beatmung (schwarze Linie). Die Piktogramme illustrieren die verwendete Strömungskondition und die Neuromastenposition (grau). Negative Geschwindigkeiten zeigen caudo-rostrale Stimulation an.

Die Abbildung 4.6 zeigt die neuronale Antwort eines MON-Neurons von *Carrasius auratus* bei Stimulation mit Strömungsreizpaaren mit absoluten Strömungsgeschwindigkeiten von 1,8 cm/s und 3,6 cm/s sowie die Ruheaktivität im Stillwasser. Die Position des/der von dem Neuron innervierten Neuromasten wurde im vorderen Rumpfabschnitt lokalisiert. Bei rostro-caudaler Strömung mit

1,8 cm/s, war die Entladungsrate im Vergleich zur caudo-rostralen Strömungsrichtung stärker erhöht (Abb. 4.6F), wohingegen bei dem Strömungsreizpaar mit 3,6 cm/s sich die Entladungsraten bei rostro-caudaler und caudo-rostraler Strömungsrichtung nur gering unterschieden. Bei eingeschalteter KB waren die Entladungsraten des Neurons um ein Vielfaches erhöht und die Richtungsselektivität verringert (graue und schwarze Linie in Abb. 4.6F).

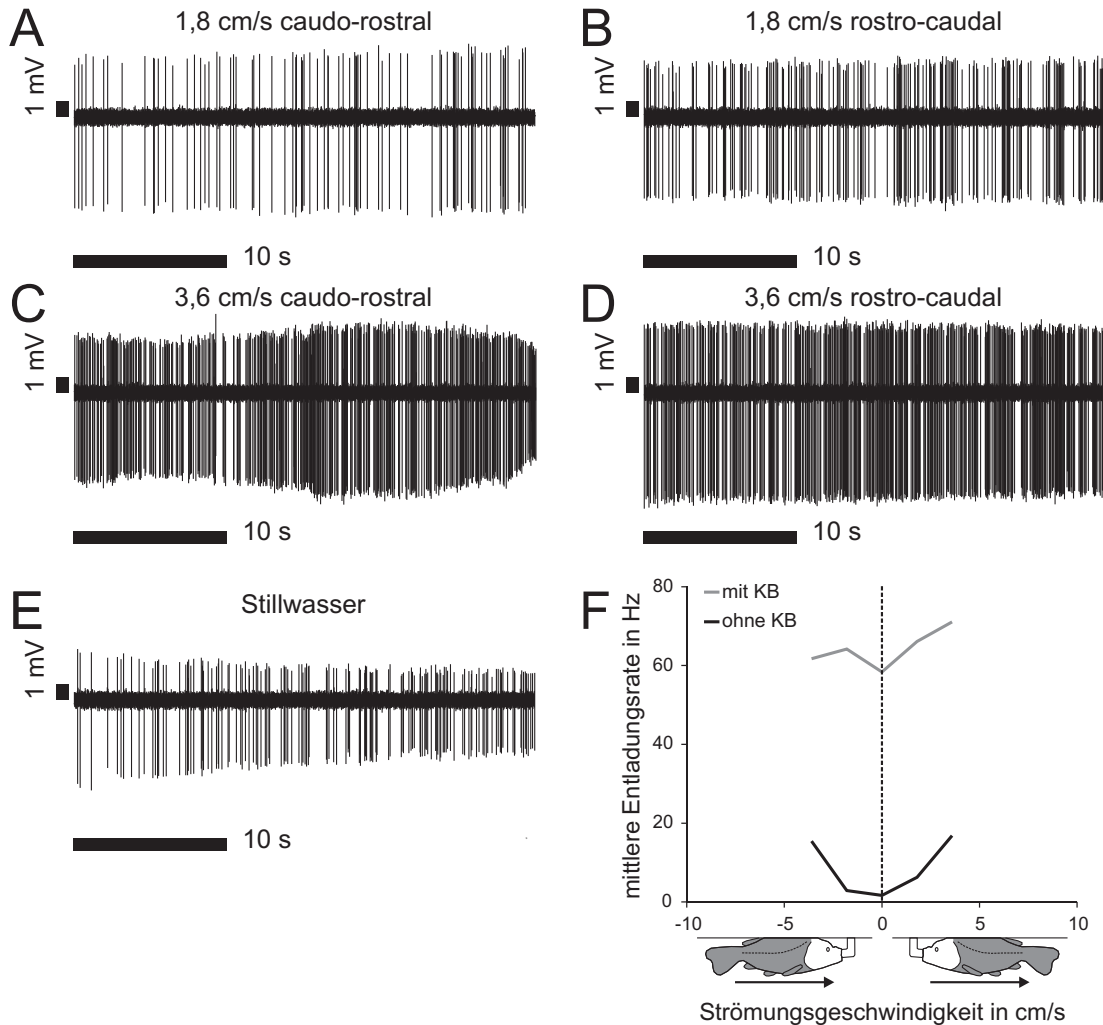


Abbildung 4.6: **Richtungsselektivität eines MON-Neurons von *Carassius auratus*.** **A bis E:** Originalableitungen der Nervenfasern für jeweils 30 s Stimulation ohne künstliche Beatmung. **A und C:** caudo-rostrale Strömung. **B und D:** rostro-caudale Strömung. **A und B:** 1,8 cm/s absolute Strömungsgeschwindigkeit. **C und D:** 3,6 cm/s absolute Strömungsgeschwindigkeit. **E:** Ruheaktivität im Stillwasser. **F:** Über jeweils 30 s gemittelte Entladungsraten bei unterschiedlichen Strömungsgeschwindigkeiten und -richtungen sowie mit (graue Linie) und ohne künstliche Beatmung (schwarze Linie). Die Piktogramme illustrieren die verwendete Strömungskondition und die Neuromastenposition (grau). Negative Geschwindigkeiten zeigen caudo-rostrale Stimulation an.

Die Abbildung 4.7 zeigt die Ableitung eines MON-Neurons von *Leuciscus idus* bei allen Strömungsreizpaaren und im Stillwasser.

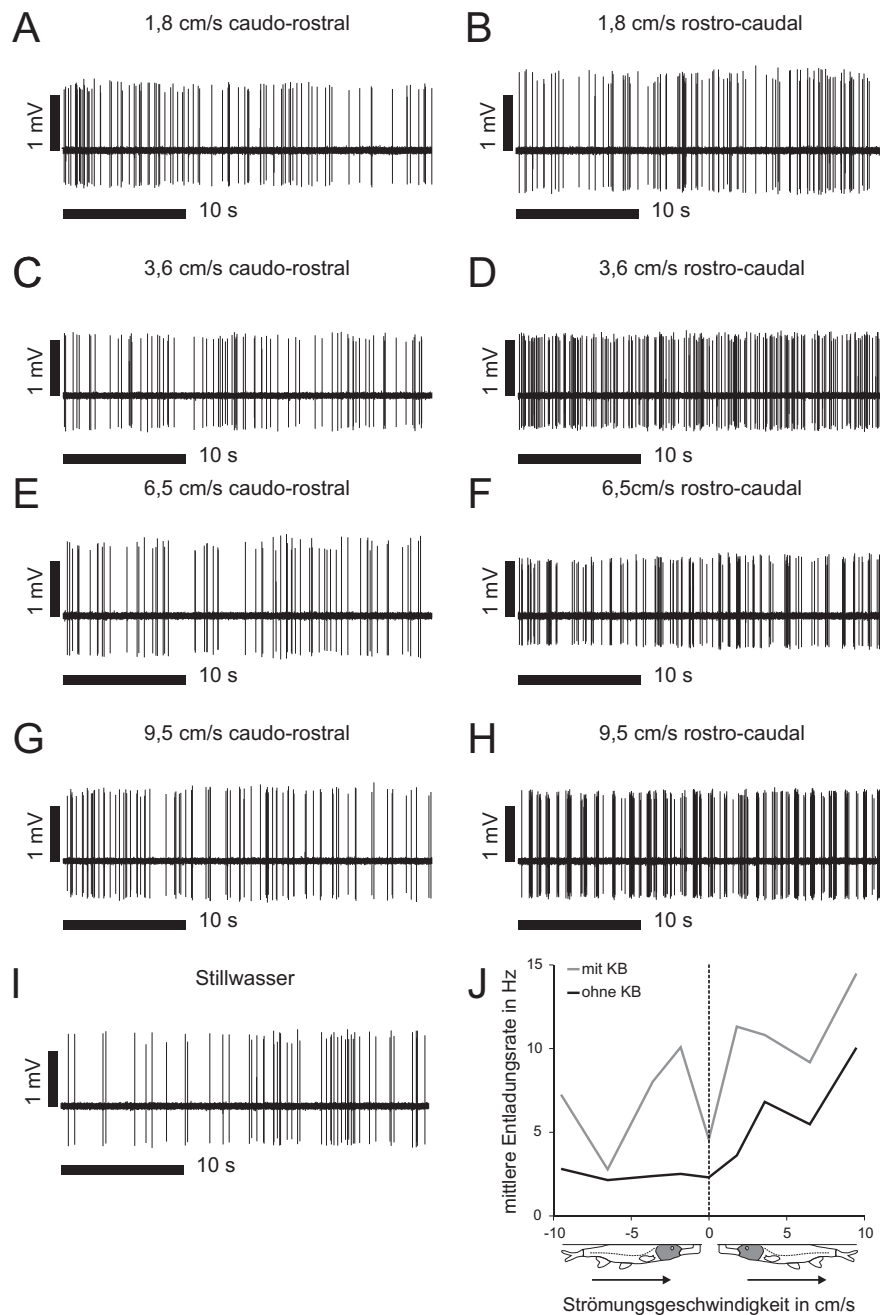


Abbildung 4.7: **Richtungselektivität eines MON-Neurons von *Leuciscus idus*.** **A bis I:** Originalableitungen der Nervenfasern für jeweils 30 s Stimulation ohne künstliche Beatmung. **A, C, E und G:** caudo-rostrale Strömung. **B, D, F und H:** rostro-caudale Strömung. **A und B:** 1,8 cm/s absolute Strömungsgeschwindigkeit. **C und D:** 3,6 cm/s absolute Strömungsgeschwindigkeit. **E und F:** 6,5 cm/s absolute Strömungsgeschwindigkeit. **G und H:** 9,5 cm/s absolute Strömungsgeschwindigkeit. **I:** Ruheaktivität im Stillwasser. **J:** Über jeweils 30 s gemittelte Entladungsrate bei unterschiedlichen Strömungsgeschwindigkeiten und -richtungen sowie mit (graue Linie) und ohne künstliche Beatmung (schwarze Linie). Die Piktogramme illustrieren die verwendete Strömungskondition und die Neuromastenposition (grau). Negative Geschwindigkeiten zeigen caudo-rostrale Stimulation an.

Der/die von dem Neuron innervierten Neuromasten lagen im ventralen Kopfbereich des Versuchstieres. Bei abgeschalteter künstlicher Beatmung erhöhte das

Neuron bei rostro-caudaler Stimulation die Entladungsrate mit zunehmender Strömungsgeschwindigkeit. Im Gegensatz hierzu verharrte die Entladungsrate bei caudo-rostraler Stimulation selbst bei sehr hohen Strömungsgeschwindigkeiten auf dem Niveau der Ruheaktivität im Stillwasser. Bei eingeschalteter künstlicher Beatmung waren die Entladungsraten höher und die Richtungsselektivität weniger stark ausgeprägt (graue und schwarze Linie in Abb. 4.7F).

Die gezeigten Beispiele deuten auf zwei grundsätzliche Mechanismen hin, welche prinzipiell zur Kodierung der Strömungsrichtung mittels Entladungsratenänderung geeignet sind. In dem in Abbildung 4.7 gezeigten Beispiel erhöhte sich die Entladungsrate des MON-Neurons nur bei Stimulation in rostro-caudaler Richtung, wohingegen die Stimulation aus caudo-rostraler Richtung sich die Entladungsrate im Vergleich zur Ruheaktivität nicht wesentlich erhöhte. Daher könnte in diesem Fall die Strömungsrichtung qualitativ kodiert sein. Zusätzlich kann die Entladungsrate bei einer Strömungsrichtung stärker zunehmen als in der anderen Richtung (siehe Abb. 4.5), wodurch sich die Entladungsrate zwischen beiden Strömungsrichtungen unterscheidet. Diese quantitative Richtungsselektivität kann mittels Signed Directivity Index (SDI) erfasst werden.

Qualitative Untersuchung der Richtungsselektivität

Als Richtungsspezifität der Nervenzellen wurde eine unterschiedliche neuronale Antwort bei der Stimulation mit rostro-caudaler und caudo-rostraler Strömungsrichtung mit gleicher absoluter Strömungsgeschwindigkeit definiert. Zur qualitativen Untersuchung der Strömungsrichtungspräferenz wurde als Kriterium für eine Reaktion auf einen Strömungsreiz eine relative Ratenänderung von mindestens 25% bei gleichzeitiger Änderung der absoluten Entladungsraten um mindestens 1 Hz festgelegt. Bei 20,5% der präsentierten Strömungsreizpaare wurde bei beiden präsentierten Strömungsrichtungen keine Reaktion der primären Afferenzen und Neuronen des MON beobachtet (Tab. 4.2). Bei 64,1% der präsentierten Strömungsreizpaare wurde eine neuronale Antwort der primären Afferenzen und Neurone des MON bei beiden Strömungsrichtungen festgestellt. Bei 15,4% der präsentierten Strömungsreizpaare wurde eine neuronale Antwort der primären Afferenzen und MON-Neurone nur bei einer der beiden präsentierten Strömungsrichtungen festgestellt. Es bestand kein Unterschied in der Häufigkeit der unterschiedlichen Strömungsrichtungsantworttypen und des Ableitortes (Pearson's χ^2 -Test: $\chi^2 = 4,2634$ für 4 Freiheitsgrade; p-Wert = 0,3715; 2 erwartete Häufigkeiten < 5). Bei 22,2% der präsentierten Strömungsreizpaare wurde bei Fasern des ALLN eine neuronale Antwort bei nur einer präsentierten Strömungsrichtung

beobachtet, wohingegen die Fasern des posterioren Seitenliniennervs nur bei 8,6% der präsentierten Strömungsreizpaare eine derartige Richtungspräferenz zeigten. Bei den Neuronen des MON wurde bei 22,2% der präsentierten Strömungsreize eine neuronale Antwort bei nur einer Strömungsrichtung festgestellt.

Tabelle 4.2: **Verteilung der Richtungsantwortverhalten (relative Ratenänderung mindestens +/- 25% bei mindestens 1 Hz absoluter Entladungsratenänderung) für die getesteten Reizpaare und die Ableitpositionen.**

Strömungsrichtungsantworttyp	ALLN	PLLN	MON	Summe
keine neuronale Antwort	4 (22%)	12 (21%)	8 (20%)	24 (21%)
beide Richtungen	10 (56%)	41 (71%)	24 (58%)	75 (64%)
nur eine Richtung	4 (22%)	5 (8%)	9 (22%)	18 (15%)
Summe	18	58	41	117

Qualitative Richtungsselektivität der anterioren und posterioren Seitenlinie bei unterschiedlichen Strömungsgeschwindigkeiten

Die Abbildung 4.8 auf der nächsten Seite zeigt den Anteil der präsentierten Reizpaare mit qualitativer, neuronaler Antwort (mindestens +/-25% relative bei mindestens 1 Hz absoluter Entladungsratenänderung) auf nur eine, beide und keine der präsentierten Strömungsrichtungen eines Reizpaares für anteriore und posteriore Anteile des Seitenliniensystems. Die Neuromastenposition der Neurone konnte bei 4 der 41 präsentierten Strömungsreizpaare nicht zuverlässig bestimmt werden. Bei den Fasern des anterioren Seitenliniennerven wurde bei 4 von 18 Strömungspaaren eine Präferenz für nur eine Strömungsrichtung festgestellt. Bei den Fasern des posterioren Seitenliniennerven wurde hingegen nur bei 5 der 58 präsentierten Strömungsreizpaaren eine derartige Richtungsselektivität gefunden, die nur bei niedrigen Strömungsgeschwindigkeiten von 1,8 und 3,6 cm/s auftrat. Da der MON sowohl Eingänge des anterioren als auch des posterioren Seitenliniennerven erhält, wurde die Position des rezeptiven Feldes des MON-Neurons mit Hilfe des batteriegetriebenen Dipols untersucht und dem Kopf- und Rumpfbereich der Versuchstiere zugeordnet.

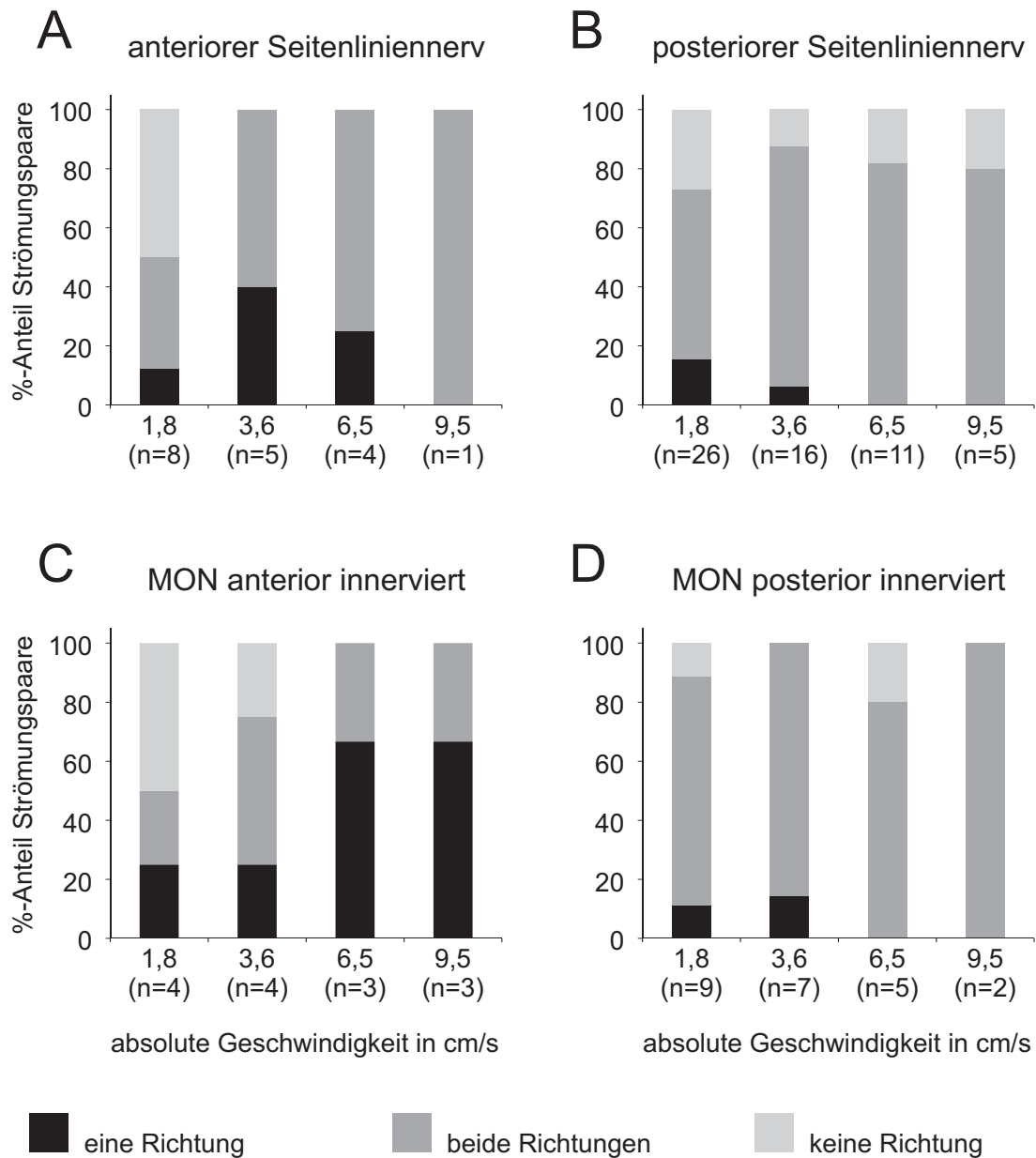


Abbildung 4.8: **Qualitative Richtungssensitivität anteriorer und posteriorer Seitenlinienanteile für verschiedene absolute Geschwindigkeiten. Jeweils in A bis D:** prozentualer Anteil der Strömungsreizpaare mit Antwort auf nur eine Strömungsrichtung (schwarze Balken), beide Strömungsrichtungen (dunkelgraue Balken) und keine Strömungsrichtung (hellgraue Balken) für die verwendeten Strömungsgeschwindigkeiten. Die jeweilige Gesamtanzahl der getesteten Strömungsreizpaare ist in Klammern angegeben. Als Antwort auf einen Strömungsreiz wurde eine relative Ratenänderung mindestens $\pm 25\%$ bei mindestens 1 Hz absoluter Entladungsratenänderung im Vergleich zur Ruheentladungsrate im Stillwasser definiert. **A** und **B:** primäre Afferenzen. **C** und **D:** Neurone des MON. **A** und **C:** anteriore Seitenlinienanteile. **B** und **D:** posteriore Seitenlinienanteile. Die Bestimmung der Neuromastenposition bei den Neuronen des MON erfolgte manuell mittels batteriegetriebenem Dipol. **C:** im Abschnitt P1 lokalisierte Neuromastenpositionen. **D:** in den Abschnitten P2 bis P4 lokalisierte Neuromasten (vergleiche Abb. 2.7 auf Seite 54). Bei 4 der 41 Strömungsreizpaare wurde die Neuromastenposition der abgeleiteten MON-Neurone nicht zuverlässig ermittelt, weshalb diese in der Abbildung nicht gezeigt sind.

Die Antwortmuster der Neurone des MON ähneln prinzipiell denen der primären Afferenzen hinsichtlich der Richtungsspezifität bei anterioren und posterioren Seitenlinienanteilen. Innerhalb der MON-Neurone mit posteriorer Innervierung wurde nur bei 2 von 23 Strömungspaaren eine neuronale Antwort auf nur eine Strömungsrichtung gefunden, wohingegen bei den Neuronen mit anteriorer Innervierung bei 6 von 14 Strömungspaaren eine Richtungspräferenz gefunden wurde, welche auch bei höheren absoluten Strömungsgeschwindigkeiten von 6,5 cm/s und 9,5 cm/s auftrat. Es wurden unterschiedliche Beobachtungshäufigkeiten der verschiedenen Strömungsrichtungsantworttypen und der absoluten Strömungsgeschwindigkeit gefunden (Pearson's χ^2 -Test: $\chi^2 = 14,9361$ für 6 Freiheitsgrade; p-Wert = 0,02076; 6 erwartete Häufigkeiten < 5).

Stärke der Richtungsselektivität (SDI-Wert) der anterioren und posterioren Seitenlinie bei unterschiedlichen Strömungsgeschwindigkeiten

Die Präferenz der Nervenzellen wurde, zusätzlich zur vorrangegangenen qualitativen Betrachtung, mittels des Signed Directivity Index (SDI) quantitativ untersucht. Da die Nervenzellen sowohl die rostro-caudale wie auch die caudo-rostrale Strömungsrichtung bevorzugen könnten und sich in diesem Fall die Strömungsantworten bei der Analyse gegenseitig neutralisierten, wurde der Betrag der SDI-Werte (ungerichtete SDI-Werte) gebildet. Hierbei wird die Intensität der Richtungsselektivität, unabhängig von der bevorzugten Strömungsrichtung, ausgedrückt. Bei den Fasern des ALLN wurde eine Richtungsabhängigkeit im Bereich von 6% bis 34% Ratenunterschiede gefunden (Mediane der ungerichteten SDI-Werte: 1,8 cm/s = 5,7; 3,6 cm/s = 21,6; 6,5 cm/s = 25,3; 9,5 cm/s = 16,7) (Abb. 4.9A). Der Großteil der PLL-Nervenfasern zeigte eine geringe Richtungsselektivität im Bereich von 9% bis 19% Entladungsratenunterschied (Mediane der ungerichteten SDI-Werte: 1,8 cm/s = 8,6; 3,6 cm/s = 11,9; 6,5 cm/s = 8,9; 9,5 cm/s = 19,3) bei Stimulation mit rostro-caudaler und caudo-rostraler Strömung mit gleicher absoluter Strömungsgeschwindigkeit (Abb. 4.9B). Auch die meisten Neurone des MON zeigten nur eine geringe Selektivität für die Strömungsrichtung, wobei jedoch in der Tendenz eine etwas stärkere relative Entladungsratenänderung im Vergleich zu den primären Afferenzen von 15% bis 65% festgestellt wurde (Mediane der ungerichteten SDI-Werte: 1,8 cm/s = 7,6; 3,6 cm/s = 14,1; 6,5 cm/s = 15,9; 9,5 cm/s = 19,7). Bei Unterscheidung der anterior und posterior innervierten MON-Neurone, zeigten die Neurone, welche Neuromasten am Kopf innervierten, deutlich stärker Richtungsspezifitäten von 12,6% bis 158,4% (Mediane der ungerichteten SDI-Werte: 1,8 cm/s = 11,2; 3,6 cm/s = 43,6; 6,5 cm/s =

61,0; 9,5 cm/s = 72,1) als die posterior innervierten MON-Neurone, welche Ratenunterschiede zwischen 10,1% und 18,5% zeigten (Mediane der ungerichteten SDI-Werte: 1,8 cm/s = 12,5; 3,6 cm/s = 11,6; 6,5 cm/s = 15,6; 9,5 cm/s = 9,2) (Abb. 4.9C und D).

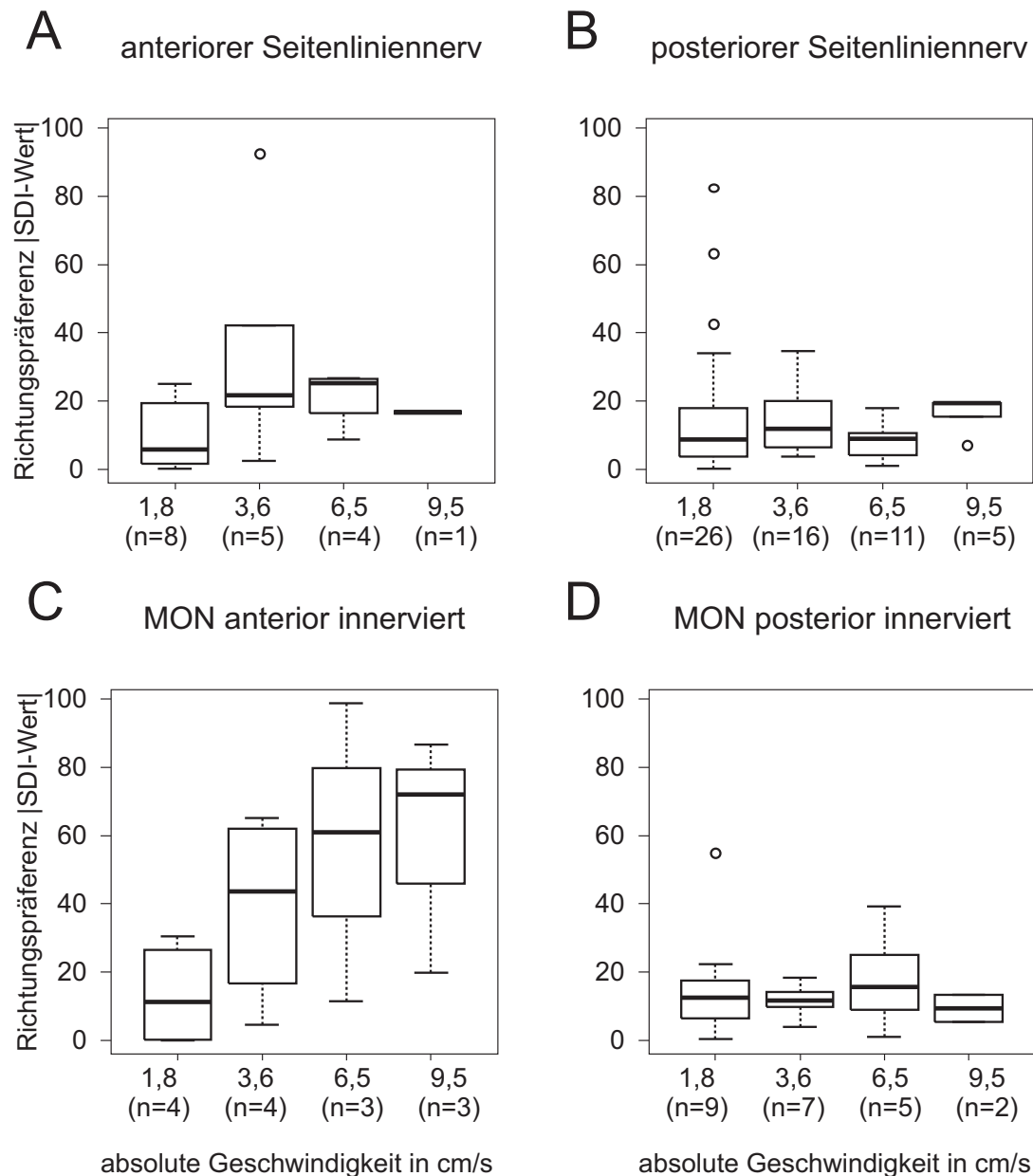


Abbildung 4.9: **Richtungspräferenz der anterioren und posterioren primären Affenzen und MON-Neurone für unterschiedliche Strömungsgeschwindigkeiten.** Die Absolutbeträge der SDI-Werte (ungerichtete SDI-Werte) sind für verschiedene Strömungsgeschwindigkeitspaare (rostro-caudale und caudo-rostrale Stimulation mit gleicher Absolutströmungsgeschwindigkeit) dargestellt. **A:** ALLN. **B:** PLLN. **C:** anterior innervierte Neurone des MON. **D:** posterior innervierte MON-Neurone. Die Anzahl der Stimulationspaare ist in Klammern angegeben. Ein absoluter SDI-Wert von 50 zeigt, dass in einer Stimulationsrichtung doppelt so viele Entladungen auftraten wie in der entgegengesetzten Strömungsrichtung.

Es war ein signifikanter Unterschied zwischen den Ableitorten (ALLN, PLLN, MON anterior innerviert und MON posterior innerviert), jedoch nicht innerhalb der verwendeten absoluten Strömungsgeschwindigkeiten vorhanden (Homogenität der Varianzen mittels Bartlett-Test: "Ableitort" p-Wert = $1,773e-05$; "Strömungsgeschwindigkeit" p-Wert = $0,2171$; Zweifache-Anova Faktor "Ableitort": Quadratsumme = $7299,2$ für 3 Freiheitsgrade; F-Wert = $7,8364$; p-Wert = $9,768e-05$; Faktor "absolute Geschwindigkeit": Quadratsumme = $779,4$ für 3 Freiheitsgrade; F-Wert = $0,8367$; p-Wert = $0,47693$; Interaktion "Ableitort" & "absolute Geschwindigkeit": Quadratsumme = $6825,0$ für 9 Freiheitsgrade; F-Wert = $2,4424$; p-Wert = $0,01502$; Kruskal-Wallis Rangsummentest für "Ableitort" (aufgrund der fehlenden Varianzhomogenität): Kruskal-Wallis $\chi^2 = 8,3532$ für 3 Freiheitsgrade; p-Wert = $0,03925$, Mediane absolute SDI-Werte: ALLN = $17,5$; PLLN = $9,9$; anterior innervierter MON = $29,6$; posterior innervierter MON = $12,5$). Es wurde eine signifikante Korrelation der ungerichteten SDI-Werte mit der absoluten Strömungsgeschwindigkeit bei den Nervenfasern des ALLN (Spearman's Rangkorrelation: $S = 515,4884$; p-Wert = $0,05014$; $\rho = 0,4680203$) und PLLN (Spearman's Rangkorrelation: $S = 30266,19$; p-Wert = $0,6068$; $\rho = 0,06899032$) sowie den posterior innervierten MON-Neuronen (Spearman's Rangkorrelation: $S = 1941,902$; p-Wert = $0,8542$; $\rho = 0,04056207$) gefunden. Bei anterior innervierten MON-Neuronen war eine signifikante Korrelation der ungerichteten SDI-Werte mit der absoluten Strömungsgeschwindigkeit (Spearman's Rangkorrelation: $S = 207,2561$; p-Wert = $0,0441$; $\rho = 0,5444921$) vorhanden.

Richtungsselektivität für rostro-caudale und caudo-rostrale Strömungsrichtung

Zusätzlich zu der zuvor untersuchten absoluten Stärke der Richtungspräferenz wurde untersucht, welche Strömungsrichtung tatsächlich mit einer höheren Entladungsrate beantwortet wurde. Bei der anterioren Seitenlinie (ALLN und anterior innervierte MON-Neurone) wurden bei 7 der 32 präsentierten Strömungsreizpaare (21,9%) SDI-Werte größer als 50 festgestellt, wohingegen bei keinem Strömungsreizpaar SDI-Werte von kleiner als -50 auftraten (Abb. 4.10). Somit zeigen die deutlich richtungssensitiven anterioren Seitenlinienanteile bei rostro-caudaler Strömungsrichtung eine höhere Entladungsrate als bei caudo-rostraler Strömungsrichtung. Bei der posterioren Seitenlinie (PLLN und posterior innervierte MON-Neurone) wurde nur bei 2 der 81 präsentierten Strömungsreizpaare ein SDI-Wert von größer als 50 und bei 1 von 81 Strömungsreizpaaren ein SDI-Wert von kleiner als -50 gefunden. Bei der posterioren Seitenlinie wurden nur in

3,7% der Strömungsreizpaare eine deutliche Richtungspräferenz gefunden, wobei aufgrund des geringen Anteils auch keine allgemeine Bevorzugung der rostro-caudalen oder caudo-rostralen Strömungsrichtung festzustellen war.

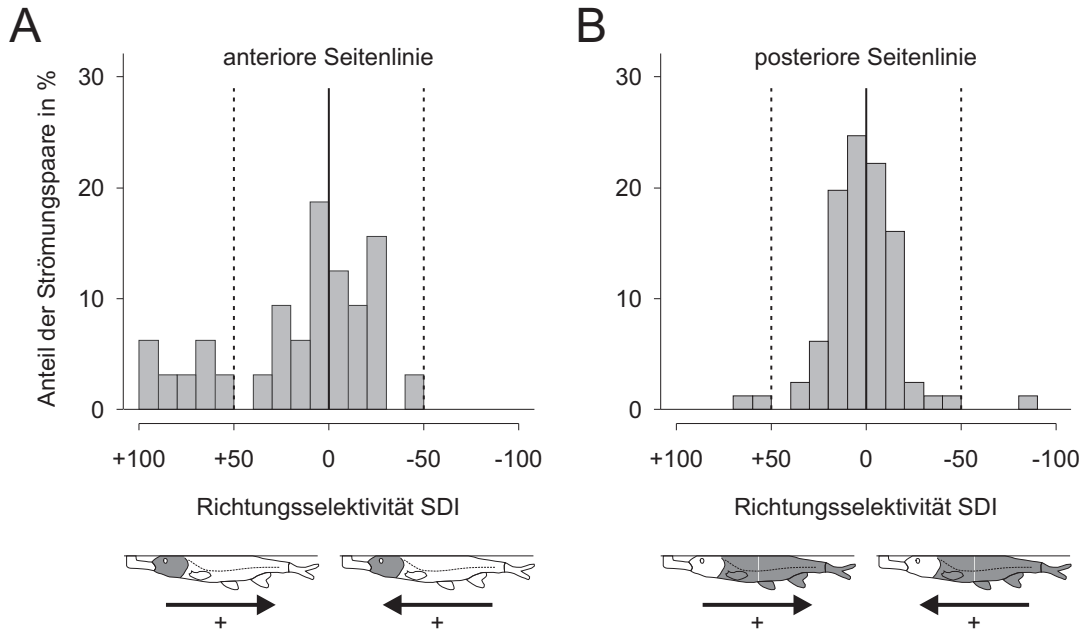


Abbildung 4.10: **Präferenz für rostro-caudale und caudo-rostrale Strömungsrichtungen bei der anterioren und posterioren Seitenlinie.** Die Histogramme zeigen den Anteil der Strömungspaare mit jeweiligen SDI-Werten. **A:** Fasern des ALLN und anterior innervierte MON-Neurone. **B:** Fasern des PLLN und posterior innervierte MON-Neurone. Piktogramme zeigen die Neuromastenposition (Kopf oder Rumpf) und die Strömungsrichtung (Pfeile) mit einer höheren Entladungsrate an. Ein SDI-Wert von 0 (durchgezogene Linie) zeigt an, dass bei beiden Strömungsrichtungen gleich viele Entladungen auftraten. Ein SDI-Wert von 50 (gestrichelte Linie) zeigt an, dass bei Stimulation mit rostro-caudaler Strömung doppelt so viele Entladungen auftraten wie in caudo-rostraler Strömungsrichtung. Ein SDI-Wert von -50 (gestrichelte Linie) zeigt, dass bei Stimulation mit caudo-rostraler Strömung doppelt so viele Entladungen auftraten wie in rostro-caudaler Strömungsrichtung.

4.3.4 Beeinflussung der Richtungsselektivität durch künstliche Beatmung

Da die künstliche Beatmung einen primär rostro-caudal gerichteten Strömungsstimulus darstellt (Abb. 2.7 auf Seite 54 im Kapitel 2), könnte die KB auch die Richtungsselektivität beeinflussen oder gar beeinträchtigen. Daher wurde die Richtungsselektivität der primären Afferenzen und der Neurone des MON bei vorhandener und abgestellter künstlicher Beatmung verglichen (Abb. 4.11). Die Richtungspräferenz war jedoch bei abgeschalteter KB weder bei den Fasern des anterioren (einseitiger, gepaarter Wilcoxon Vorzeichenrangtest: $V = 116$; p-Wert = 0,09819; Medianunterschied = 2,42) noch des posterioren Seitenliniennerven (einseitiger, gepaarter Wilcoxon Vorzeichenrangtest: $V = 759$; p-Wert = 0,7737;

Medianunterschied = -0,70) im Vergleich zur Stimulation ohne KB signifikant verringert.

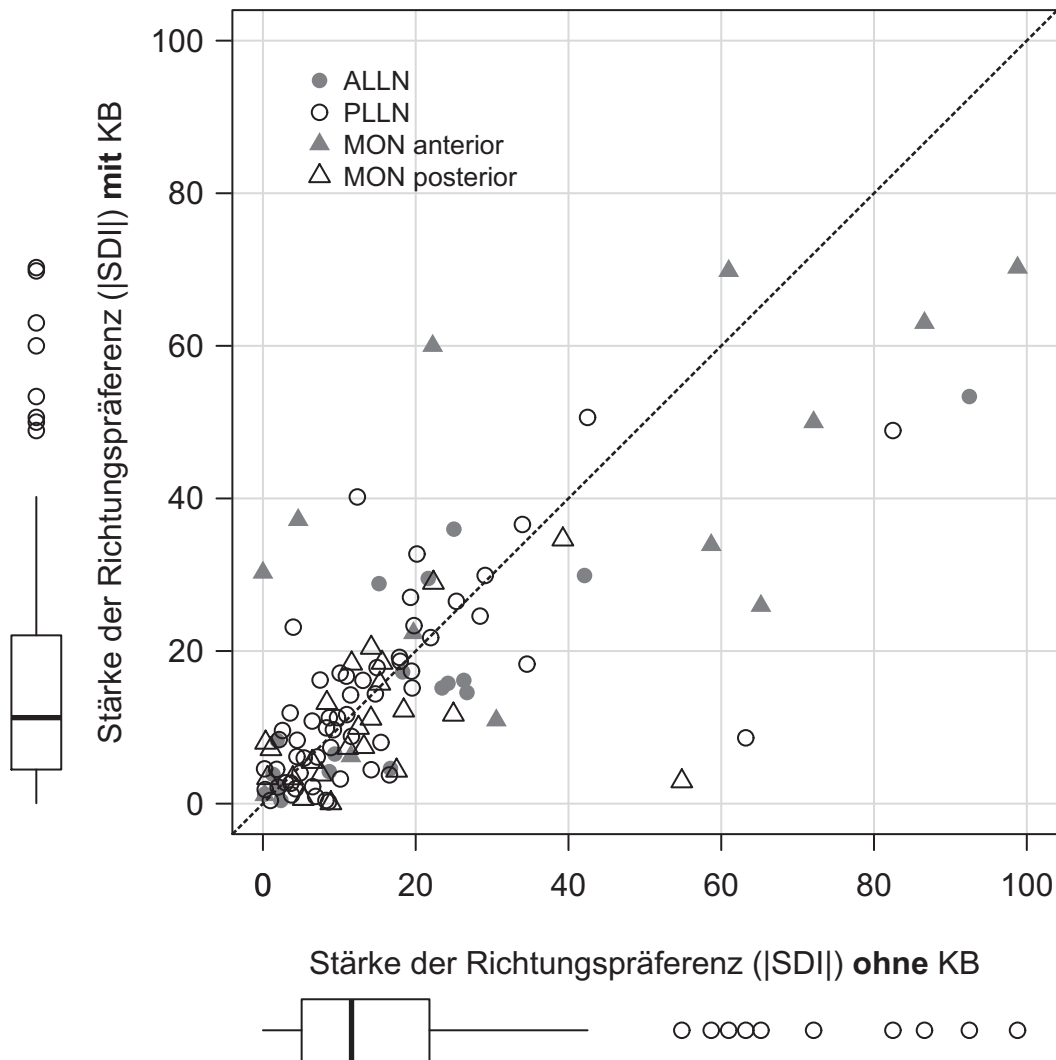


Abbildung 4.11: **Beeinflussung der Richtungsselektivität primärer Afferenzen und MON-Neurone durch künstliche Beatmung.** Die Richtungsselektivität (ungerichtete SDI-Werte) ohne KB ist gegenüber der Richtungsselektivität mit eingeschalteter KB dargestellt. In dieser Abbildung sind 19 Strömungsgeschwindigkeitspaare in neun Fasern des ALLN (graue Kreise), 58 Strömungsgeschwindigkeitspaare bei 29 Fasern des PLLN (ungefüllte Kreise) sowie 43 Strömungsgeschwindigkeitspaare bei 21 Neuronen des MON (anterior innervierter MON: grau gefüllte Dreiecke, posterior innervierter MON: ungefüllte Dreiecke) enthalten. Die Box-and-whisker-plots an den Achsen zeigen die Verteilung der ungerichteten SDI-Werte ohne und mit KB. Auf der gepunkteten Diagonalen liegende Punkte zeigen eine Richtungspräferenz, welche nicht durch die KB beeinflusst wurde.

Auch bei den anterior (Einseitiger, gepaarter Wilcoxon Vorzeichenrangtest: $V = 51$; p -Wert = 0,3677; Medianunterschied = -5,30) und posterior (Einseitiger,

gepaarter Wilcoxon Vorzeichenrangtest: $V = 168$; p -Wert = 0,1883; Medianunterschied = -2,57) innervierten MON-Neuronen ließ sich eine Beeinflussung der Richtungspräferenz nicht statistisch nachweisen. Jedoch ist festzuhalten, dass die künstliche Beatmung insbesondere die ohne KB stark ausgeprägten Strömungsrichtungspräferenzen zum Teil deutlich verringerte (Datenpunkte in der rechten Hälfte der Abb. 4.11), der hohe Anteil an Strömungspaaren mit schwacher Richtungsantwort jedoch das Erreichen des Signifikanzniveaus verhinderte.

4.3.5 Morphologie der anterioren Seitenlinie von *Leuciscus idus*

Die elektrophysiologischen Untersuchungen, insbesondere eine der exemplarischen Originalableitungen (Abb. 4.7), haben Hinweise darauf gegeben, dass die Kopfseitenlinie eine besondere Bedeutung bei der richtungsspezifischen Wahrnehmung von Strömungsreizen haben könnte. Daher wurde ihre Morphologie mit Fokussierung auf das Kanalsystem untersucht. Die Abbildung 4.12 zeigt in schematischer Darstellung das Kopfkanalsystem von *L. idus*. Der Verlauf der Kopfkanäle entspricht im Wesentlichen dem Grundtyp der Actinopterygia (Coombs et al. 1988), wobei bei *L. idus* die Verbindung zwischen dem Supraorbitalkanal (SO) und dem otischen Kanal (Ot) nicht ausgebildet ist und der Supraorbitalkanal nach caudal bis in die Nähe des Supratemporalkanals (ST) zieht. Bei den drei untersuchten Individuen wurden geringfügige Unterschiede hinsichtlich der Anzahl und Lage einzelner Poren gefunden, wobei jedoch die Kanalverläufe und Porenpositionen insbesondere im rostralen Bereich eine hohe Übereinstimmung zeigten. Bei dem in Abbildung 4.12 gezeigten Individuum wurden insgesamt 56 Kopfkanalporen ermittelt.

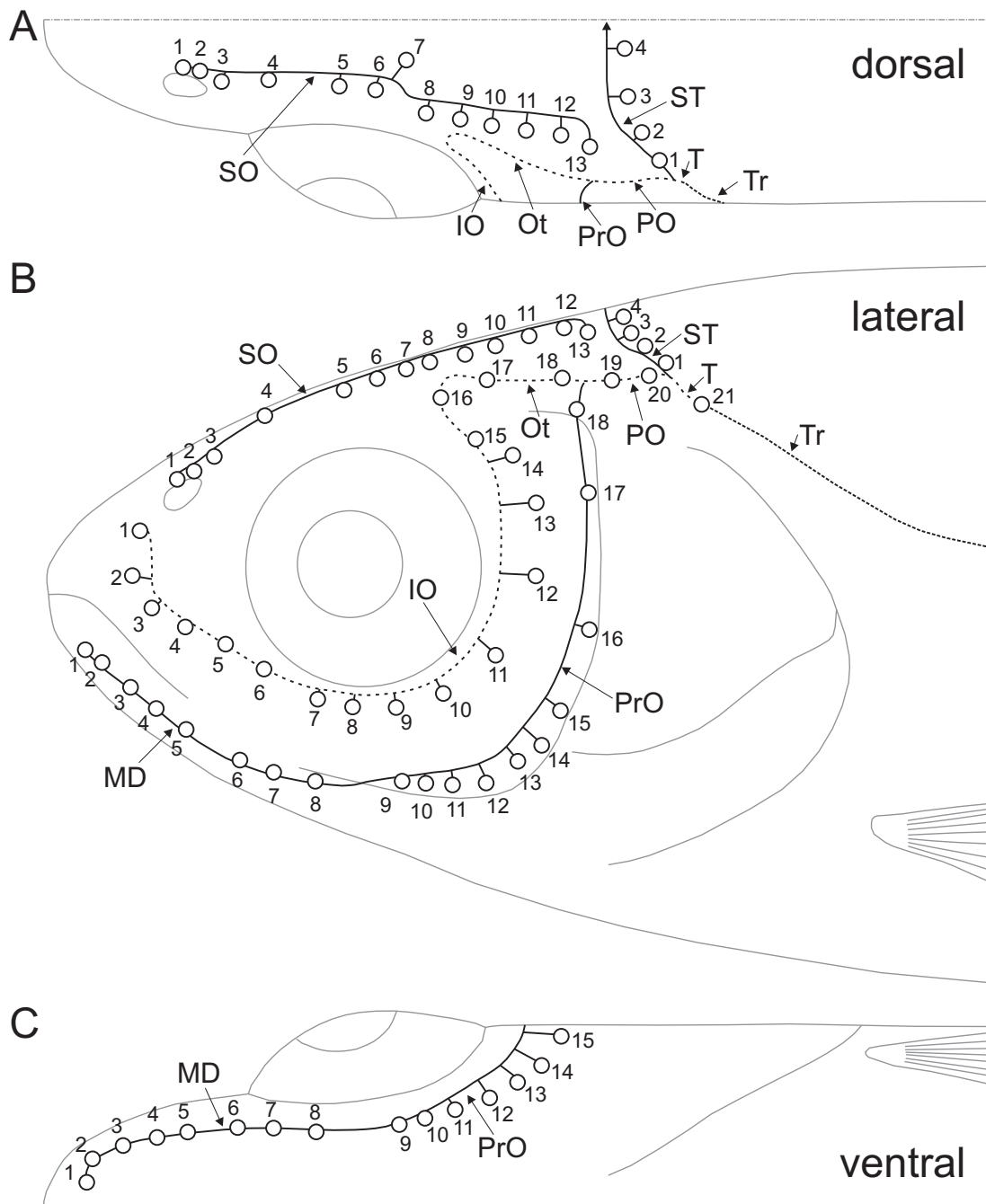


Abbildung 4.12: **Schematische Darstellung der Kopfkanäle von *Leuciscus idus*.** **A:** dorsale Ansicht mit den Poren des Supraorbital- und Supratemporalkanals. **B:** laterale Ansicht. **C:** ventrale Ansicht mit den Poren des Mandibular- und Präopercularkanals. Dargestellt ist der Mandibularkanal (MD), Infraorbitalkanal (IO), Supraorbitalkanal (SO), otischer Kanal (Ot), Präopercularkanal (PrO), postotischer Kanal (PO), Supratemporalkanal (ST), Temporalkanal (T) und ergänzend der Rumpfsseitenlinienkanal (Tr). Kreise und nebenstehende Zahlen bezeichnen die jeweiligen Kanalporen. Die Abbildung zeigt beispielhaft das Kanalsystem eines Individuums. Bezeichnungen nach Coombs et al. 1988.

Die Abbildung 4.13 zeigt mit Methylenblau durchgeführte Färbungen von zwei Versuchstieren sowie hierauf beruhende Zeichnungen der Kopfkanäle von *L. idus*. Die Kanalporen weisen zumeist einen wesentlich kleineren Durchmesser als das mit Methylenblaulösung gefüllte Kanallumen auf. Zusätzlich sind insbesondere die beiden rostralen Poren des Infraorbitalkanals ("IO" in Abb. 4.13C) frontal zur Strömung ausgerichtet. Die Größe der in die Fischeoberfläche eingesenkten Poren des Preopercularkanals nahmen von rostral nach caudal zu. Es waren keine speziellen Strukturen zur Abgrenzung gegen das umgebende Medium erkennbar.

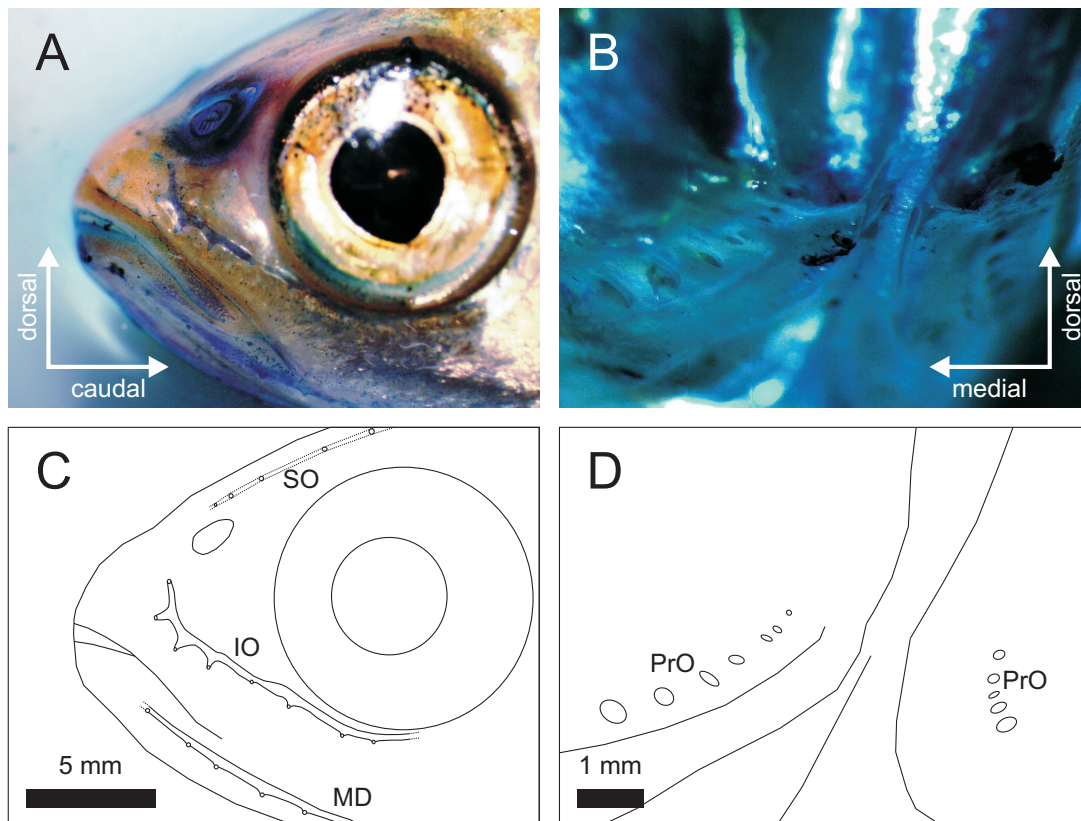


Abbildung 4.13: **Kopfkanalsystem von *Leuciscus idus*.** **A:** Lateralansicht (25-fache Vergrößerung). **B:** Frontalansicht mit ca. 20° mediolateral und 5° ventral gedrehtem Kopf (40-fache Vergrößerung). **C und D:** Zeichnungen zu den Abbildungsteilen A und B, mit Bezeichnung der Kopfkanäle (SO-Supraorbitalkanal; IO-Infraorbitalkanal, PrO-Preopercularkanal) und Kanalporen (Kreise).

Eine mögliche medio-laterale und dorso-ventrale Richtungsspezifität wurde mittels frontaler Betrachtung gefärbter Kopfkanäle untersucht. Hierbei wurde der vom Rumpf getrennte Kopf orthogonal auf einer schwenkbaren Plattform montiert und die Lage der Kopfkanäle und deren Poren unter verschiedenen medio-lateralen und dorso-ventralen Kopfneigungswinkeln analysiert (Abb. 4.14), wobei ich Markus Lambertz für die Unterstützung bei der fotografischen Dokumentation danken möchte. Bei einer orthogonalen Orientierung des Kopfes (approximierte

natürliche Schwimmlage, 0° medio-lateral und 0° dorso-ventral) waren die frontalen Poren aller rostralen Kanalabschnitte sichtbar (Abb. 4.14C). Wurde der Kopf um 30° lateral gedreht (Abb. 4.14D), waren nur noch die Kanalporen einer Kopfhälfte nach vorn orientiert. Bei einer dorso-ventralen Drehung des Kopfes um $+30^\circ$ (Abb. 4.14A) waren die frontalen Abschnitte des Supraorbitalkanals überwiegend durch den Kopf verdeckt, wohingegen bei einer dorso-ventralen Kopfdrehung um -30° (Abb. 4.14E) der Mandibularkanal nicht mehr sichtbar war. Die Kopfposition relativ zur Hauptströmungsrichtung könnte daher durch spezifische Stimulation der unterschiedlichen Kopfkanalabschnitte kodiert werden.

Da die Fluidbewegung in den Seitenlinienkanälen eines intakten Fisches nur schwer zu erfassen sind, wurde, basierend auf den zuvor erfassten morphologischen Grundprinzipien der Kopfkanäle, ein vereinfachtes geometrisches Modell des Kopfkanalsystems entwickelt, welches zur numerischen Simulation von Wasserströmungen in Kopfnähe genutzt wurde (Abb. 4.15A). Dieses Modell bildet die grobe Kontur des Fischkopfes als Ellipsoid nach. Die zum Medium geöffneten Poren der Infraorbitalkanäle beider Kopfhälften sind entlang des ellipsoiden Kopfes radial orientiert und haben eine Ausdehnung im Bereich des Hauptkanaldurchmessers. Die Pfeile in Abbildung 4.15A sind jeweils orthogonal zu den Poren ausgerichtet und zeigen die optimale Anströmrichtung jeder Pore. Die frontalen Poren des Kopfkanalmodells sind im Gegensatz zur Kanalmorphologie von *L. idus* weniger stark zur Strömung orientiert. Frühere Arbeiten an *Lepomis cyanellus* zeigen, dass die Neuromasten in frontalen Kanalabschnitten von Wasserpulsen aus frontaler Richtung besonders stark stimuliert wurden (Janssen & Corcoran 1993). Dieser physiologische Befund steht damit in Übereinstimmung mit den morphologischen Untersuchungen an *L. idus*. Das funktionelle Prinzip, bestehend aus einem umströmten Körper mit frontal und orthogonal zur Strömung orientierten Porenöffnungen, erinnert stark an das Prandlerrohr (Abb. 4.15B). Dieses technische Messgerät ermittelt die Strömungsgeschwindigkeit des Mediums anhand des sich am frontal in Strömungsrichtung ausbildenden Staudrucks (P_{St}) im Vergleich zum Referenzdruck des Mediums (P_{Ref}). Diese auffällige Ähnlichkeit des vereinfachten Kopfkanalmodells mit dem Prandlerrohr lässt vermuten, dass sich die Form des Fischkopfes und die Position der Kopfkanalporen zur Bestimmung der Strömungsgeschwindigkeit durch die Druckdifferenz zwischen den rostralen und weiter caudal gelegenen Poren eignen könnte.

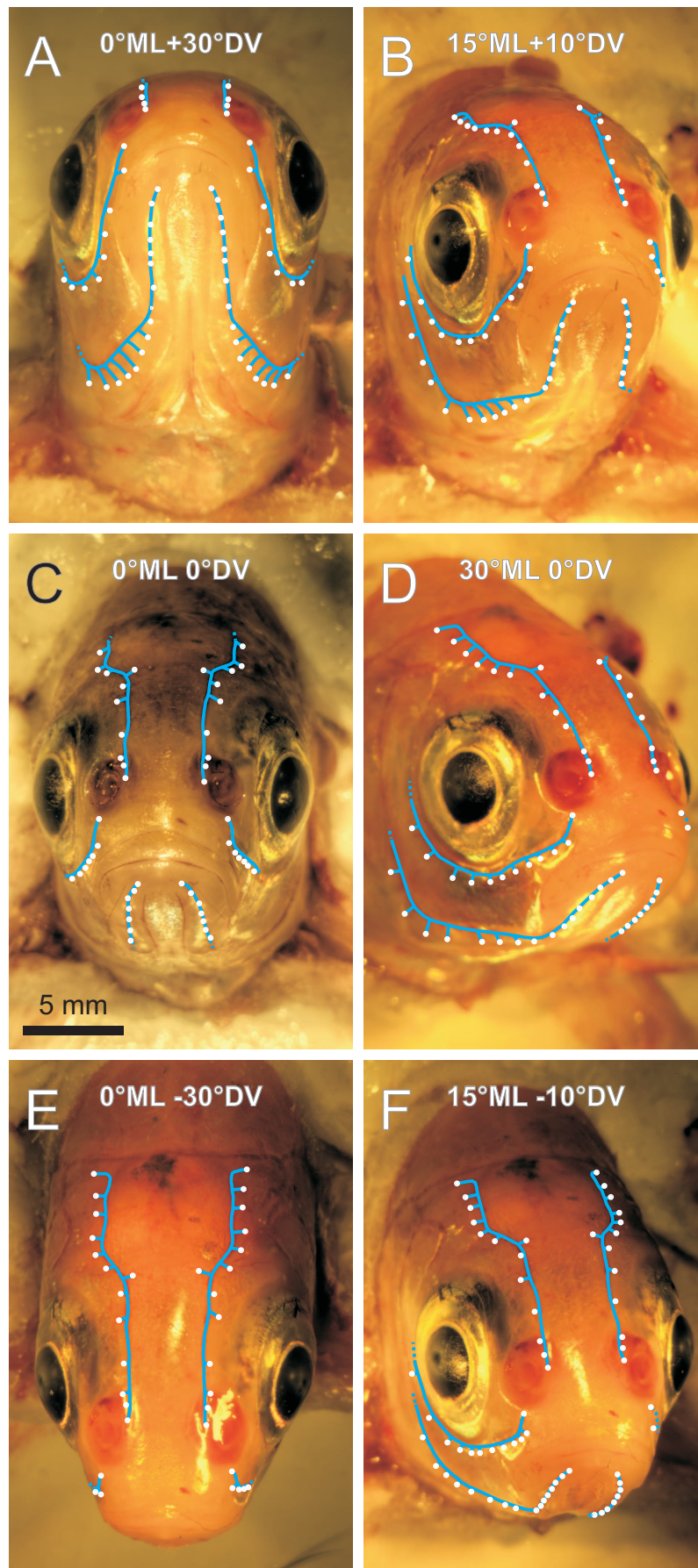


Abbildung 4.14: Visualisierung der Kopfkanäle bei frontaler Ansicht und unterschiedlichen medio-lateralen und dorso-ventralen Kopf-drehwinkeln. Die arteriellen Seitenhinntenkanäle sind blau hervorgehoben, Kanalporen als weißbuntpunkte dargestellt. A: 0° medio-lateral und 30° dorso-ventral gekippt. B: 15° medio-lateral und 10° dorso-ventral gekippt. C: 0° medio-lateral und 0° dorso-ventral gekippt. D: 30° medio-lateral und 0° dorso-ventral gekippt. E: 0° medio-lateral und -30° dorso-ventral gekippt. F: 15° medio-lateral und -10° dorso-ventral gekippt.

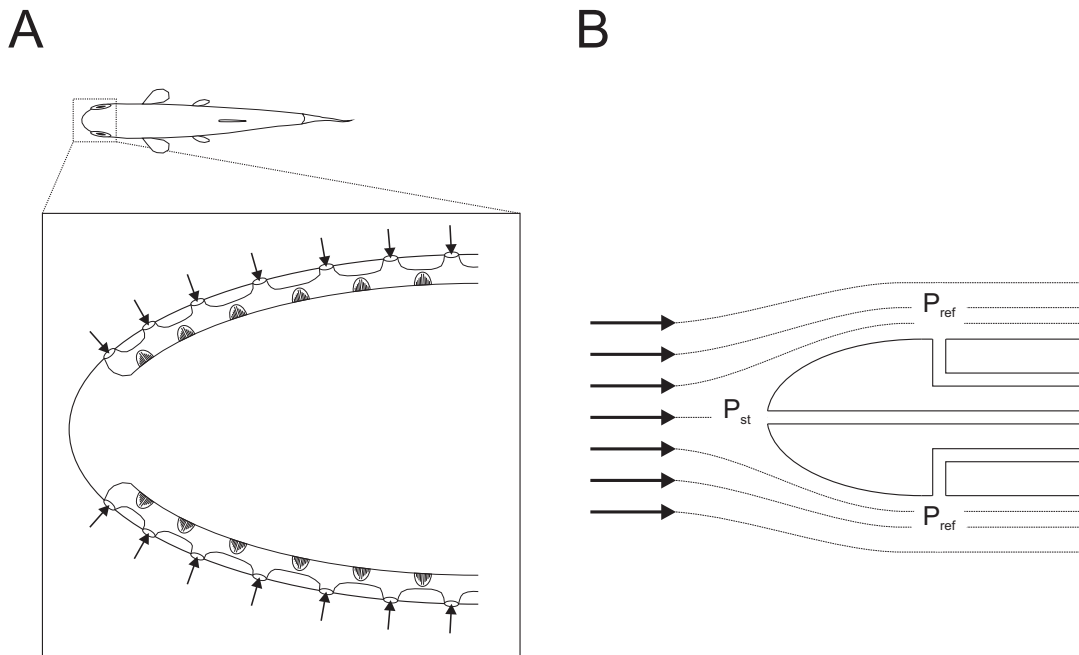


Abbildung 4.15: **Gegenüberstellung des vereinfachten Kopfkanalmodells mit dem Prandlerrohr.** **A:** Die vereinfachte Darstellung der infraorbitalen Kopfkanäle mit Neuromasten und Kanalporen in Draufsicht. Pfeile zeigen die optimale Anströmrichtung der Kanalporen (siehe auch Janssen & Corcoran 1993 für eine zusätzliche auf der Stimulation mit Wasserpulsen beruhende Darstellung der Porenausrichtung des Kopfkanalsystems von *Lepomis cyanellus*). **B:** Prandlerrohr zur Erfassung des proportional zur Strömungsgeschwindigkeit ansteigenden Staudrucks (P_{st}) vor dem Messkörper und des Referenzdrucks im Medium (P_{Ref}) (vereinfachte Darstellung nach Bohl & Elmendorf 2008).

Die Fluidströmung in den Kopfkanälen wurde mit dem vereinfachten Model (Abb. 4.15A) mittels COMSOL Multiphysics (Version 4.3) für unterschiedliche Anströmwinkel simuliert (Abb. 4.16). Alle Simulationen nutzten ein laminares Strömungsmodell mit Wasser als Fluid ohne Fluidstrukturinteraktion mit einem laminaren Einstrom von 10 cm/s von links und einem idealen Ausstrom aus der rechten Seite der jeweiligen Abbildung. Die Simulation wurde am Forschungszentrum caesar gerechnet, wobei ich insbesondere Georg Siebke für die Unterstützung bei der praktischen Simulationsdurchführung danken möchte. Eine Anströmung des vereinfachten Fischkopfmodells aus caudaler Richtung (Abb. 4.16A) verursachte in den Kopfkanälen beider Kopfhälften nur sehr geringe Fluidströmungen, wobei sich ein Strömungsschatten an der rostralen Kopfposition ausbildete. Bei frontaler Anströmung in einem Winkel von 0° bildet sich rostral eine Stauung des Fluides aus (Abb. 4.16B). An diesem Punkt weist das Fluid eine Strömungsgeschwindigkeit von nahezu 0 cm/s auf. In den Kanälen beider Kopfhälften ist eine vergleichbar starke Fluidströmung vorhanden.

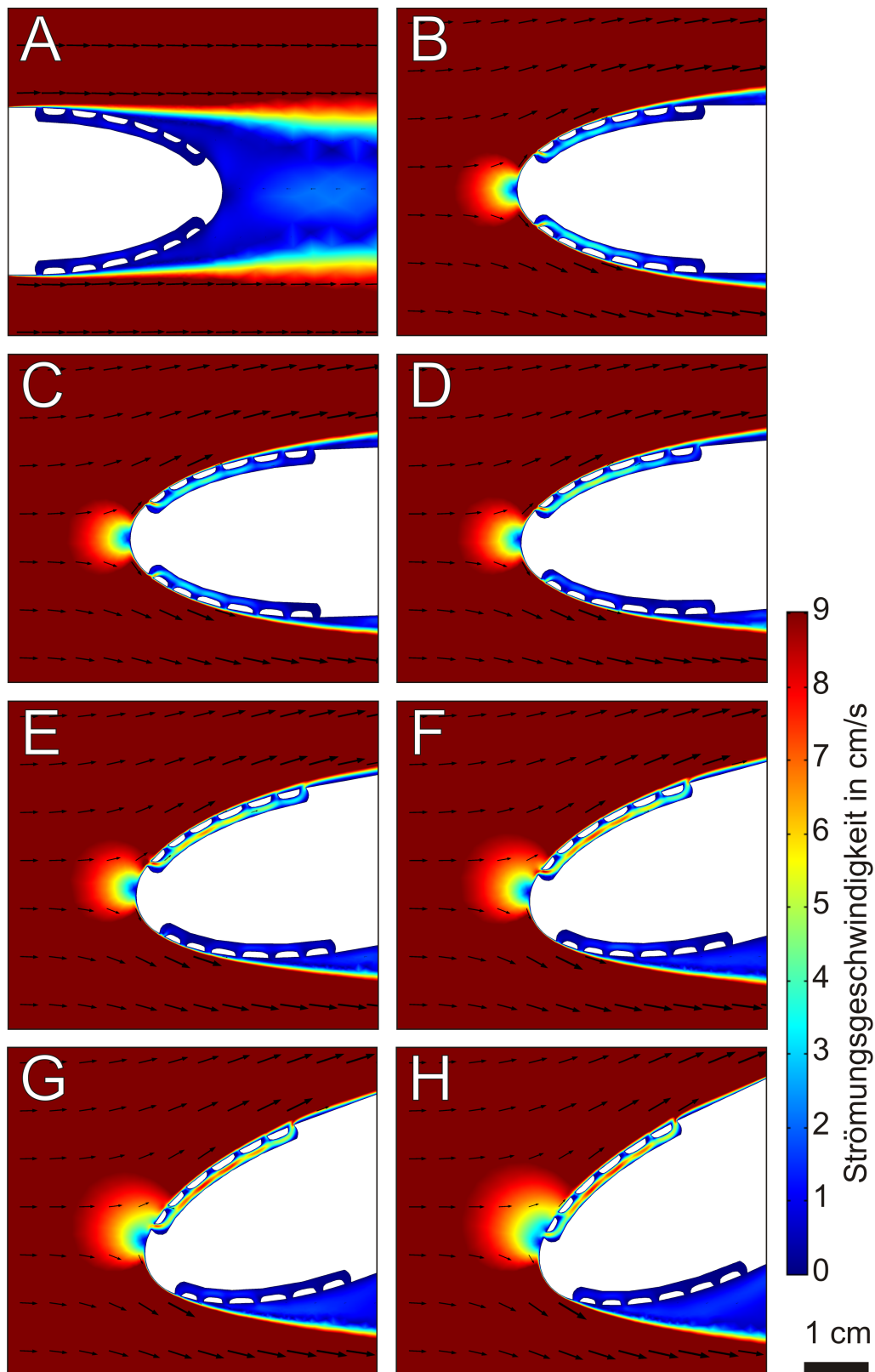


Abbildung 4.16: **Zweidimensionale Simulation der Fluidbewegung in Kopfnähe bei unterschiedlichen Anströmwinkeln.** Laminarer Einstrom jeweils mit 10 cm/s von linker Seite, Ausstrom jeweils rechte Seite. **A:** caudo-rostrale Anströmung, **B bis I:** rostro-caudale Anströmung mit Drehwinkel von 0° in **B**, 2° in **C**, 5° in **D**, 10° in **E**, 15° in **F**, 20° in **G** und 25° in **H**.

Wird der Anströmwinkel von 0° auf bis zu 25° erhöht, so nimmt die Strömungsgeschwindigkeit im Kanal der strömungszugewandten Kopfhälfte zu, während die Strömungsgeschwindigkeit im abgewandten Kanal sinkt (Abb. 4.16 C bis H). Der Anströmwinkel des Fischkopfes kann somit aus dem Vergleich der relativen Stärke der Fluidbewegung innerhalb der Kopfkanäle weitgehend unabhängig von der absoluten Strömungsgeschwindigkeit bestimmt werden.

4.4 Diskussion

Die elektrophysiologischen Ableitungen primärer Afferenzen und MON-Neurone von *Leuciscus idus* und *Carassius auratus* zeigten zumeist eine Erhöhung der Entladungsraten bei Stimulation mit großräumiger Strömung, wobei bei höheren Strömungsgeschwindigkeiten eine stärkere Zunahme der Entladungsraten festgestellt wurde. Der Anstieg der Entladungsraten bezogen auf die Zunahme der Strömungsgeschwindigkeit war jedoch bei hohen Strömungsgeschwindigkeiten schwächer ausgeprägt. Bei den untersuchten MON-Neuronen wurden Unterschiede bezüglich der neuronalen Antworten auf Strömungsreize zwischen den beiden untersuchten Spezies gefunden. Hierbei zeigten Neurone von *L. idus* eine wesentlich stärkere relative Entladungsratenzunahme (SFI), wohingegen bei Neuronen von *C. auratus* eine schwächer ausgeprägte, relative Entladungsratenenerhöhung (SFI) und eine stärkere Variabilität der absoluten Entladungsratenänderung festzustellen war. Bei Betrachtung der neuronalen Antworten aller primären Afferenzen beziehungsweise MON-Neurone, wurden keine wesentlichen Unterschiede zwischen der Stimulation mit rostro-caudaler und caudo-rostraler Strömung hinsichtlich der Entladungsratenänderung, den strömungsgeschwindigkeitsabhängigen Anstiegen und der relativen Entladungsratenänderung (SFI) gefunden. In der vorliegenden Arbeit konnten die meisten abgeleiteten Neuronen aufgrund der Vielzahl der Strömungsreize und den langen Beschleunigungsphasen des Wassers im Versuchstank nicht mit allen Strömungsbedingungen stimuliert werden. Bei den neuronalen Antworten einzelner primärer Afferenzen und MON-Neurone auf rostro-caudale und caudo-rostrale Reizpaare mit gleicher absoluter Strömungsgeschwindigkeit, wurde jedoch bei einer Teilpopulation der primären Afferenzen (ALLN: 22,2% der präsentierten Reizpaare, PLLN: 8,6% der präsentierten Reizpaare) und MON-Neuronen (anterior innerviert: 42,9% der präsentierten Reizpaare, posterior innerviert: 8,7% der präsentierten Reizpaare) eine qualitative Sensitivität für nur eine Strömungsrichtung festgestellt. Auch bei Betrachtung der Richtungssensitivität mittels ungerichteter SDI-Werte wurden eine tendenziell starke Richtungssensiti-

vität bei Fasern beziehungsweise Neuronen beobachtet, welche den Kopfbereich der Versuchstiere innervierten. Die Neuronen, welche den Rumpf des Fisches innervierten, zeigten hingegen im Mittel eine schwächer ausgeprägte Richtungs sensitivität. Zusätzlich wurde eine Verringerung der Richtungsselektivität durch die künstliche Beatmung insbesondere bei den Neuronen festgestellt, welche ohne künstliche Beatmung eine stark ausgeprägte Richtungspräferenz zeigten. Die morphologische Untersuchung des anterioren Seitenlinienkanalsystems zeigte, dass *L. idus* ein komplexes Kopfkanalsystem aufweist. In den rostralen Kanalabschnitten sind die Poren zudem deutlich frontal orientiert, wobei die Poren einen geringeren Durchmesser als das Kanallumen aufweisen und der Porendurchmesser zum Teil von rostral nach caudal zunimmt. Aus der leichten Befüllbarkeit der Kopfkanäle mit unterschiedlichen Färbelösungen und dem Fehlen von abgrenzenden Strukturen im Bereich der Kanalporen kann geschlossen werden, dass die Kopfkanäle von *L. idus* in direkter Verbindung mit dem umgebenden Medium stehen und daher potentiell durchströmt werden können. Die durchgeführten Simulationen zeigten deutlich, dass sich die Kopfkanäle zur Unterscheidung von rostro-caudaler und caudo-rostraler Strömung prinzipiell eignen. Ein nicht exakt frontales Anströmen verursachte unterschiedlich starke Fluidströmungen in den strömungszugewandten und strömungsabgewandten Kopfkanälen. Dieser Unterschied war bereits bei geringen Anströmwinkeln von 5° deutlich ausgeprägt und vergrößerte sich bei zunehmendem Anströmwinkel.

Detektion großräumiger Strömungsreize

Die in der vorliegenden Arbeit beobachtete Entladungsratenzunahme der primären Afferenzen und MON-Neurone bei Stimulation mit großräumiger Wasserströmung im Vergleich zum Stillwasser beziehungsweise sehr geringer Hintergrundströmung wurde bereits in zahlreichen Arbeiten beschrieben (beispielsweise Voigt et al. 2000; Carton & Montgomery 2002; Engelmann et al. 2002; Chagnaud et al. 2008a). Eine stark ausgeprägte Antwort auf großräumige Strömungen wurde in der vorliegenden Arbeit nur bei wenigen abgeleiteten Neuronen gefunden. Hierbei sollte jedoch berücksichtigt werden, dass die Wahrnehmung von großräumigen Strömungsreizen nur eine von vielen Aufgaben darstellt, die das mechanosensitive Seitenliniensystem leistet. Mehrere Arbeiten beschreiben weiterhin eine Variabilität in der Stärke der Entladungsratenzunahme, die auf die Innervierung der Oberflächen- und Kanalneuromasten zurückgeführt wurde (Engelmann et al. 2000, 2002; Carton & Montgomery 2002; Chagnaud 2006). Der unterschiedliche Anteil strömungssensitiver Fasern und MON-Neuronen bei Still-

und Fließwasserfischen (*Carassius auratus* und *Oncorhynchus mykiss*) wurde in früheren Arbeiten auf morphologische Unterschiede in der peripheren Seitenlinienmorphologie der untersuchten Fischarten zurückgeführt, wie beispielsweise die Anzahl der Oberflächenneuromasten (Engelmann et al. 2003). Die in der vorliegenden Arbeit gefundenen Unterschiede können hingegen nur unzureichend mit der Morphologie der peripheren Seitenlinie beider Fischarten begründet werden. Bei MON-Neuronen von *L. idus* wurden im Vergleich zu *C. auratus* stärkere relative Antworten auf Strömungsreize gefunden, obwohl bei *L. idus* im Vergleich zu *C. auratus* die Oberflächenneuromasten im Bereich unterhalb der Rumpfsitenlinie völlig fehlen (Abb. 3.3 auf Seite 99). Da die MON-Neurone in *L. idus* geringere absolute Entladungsratenzunahmen zeigten, kann eine Verlagerung des dynamischen Bereiches auf neuronaler Ebene, möglicherweise im Zusammenspiel mit einer verringerten Neuromastensensitivität (beispielsweise durch eine Reduktion der Neuromastenhöhe oder eine Erhöhung der Neuromastensteifigkeit), angenommen werden, die einer Verschiebung des neuronalen Dynamikbereiches zu höheren Strömungsgeschwindigkeiten dienen könnte. Der Umfang der in der vorliegenden Arbeit abgeleiteten Populationen von 18 und 14 Neuronen ist jedoch für eine abschließende Beurteilung der Strömungswahrnehmung von rheophilen und limnophilen Fischen zu gering.

Kodierung der Strömungsrichtung durch positive und negative Entladungsratenänderung

In der vorliegenden Arbeit wurden in Übereinstimmung mit früheren Studien (Voigt et al. 2000; Chagnaud et al. 2008a,b) bei Stimulation mit großräumigen Strömungsreizen kaum Entladungsratenabnahmen bei den primären Afferenzen festgestellt. Chagnaud et al. (2008a) sprechen den primären Afferenzen deshalb die Fähigkeit zur Kodierung der Strömungsrichtung ab. Hierbei fand jedoch eine alternative Form der Richtungspräferenz, bei welcher die primären Afferenzen nur bei Stimulation mit Strömung aus einer Strömungsrichtung eine Entladungsratenenerhöhung und bei Umkehr der Strömungsrichtung keine Änderung der Ruheentladungsrate zeigen, keine Berücksichtigung. Eine neuere Studie von Liao (2010), die mit lokalen Wasserstößen einzelne Neuromasten von Zebrafischlarven aus beiden Richtungen der Achse größter Empfindlichkeit auslenkte, fand nur eine Erhöhung der Entladungsrate in einer Strömungsrichtung und bei Umkehr der Wasserströmungsrichtung keine (auch keiner negativen) Entladungsratenänderung. Zusätzlich ist der Dynamikbereich der Neuromasten bei der Stimulation mit großräumigen Wasserströmungen zu berücksichtigen. Görner (1963) fand bei

Xenopus laevis, dass Oberflächenneuromasten eine Entladungsratenzunahme für Strömungsgeschwindigkeiten im Bereich von etwa 10 $\mu\text{m/s}$ bis 1,5 mm/s zeigten und darüber hinaus keine weitere Zunahme der Entladungsrate mehr auftrat. Coombs & Janssen (1990) beschreiben anhand von Dipolstimulation ermittelte, vergleichbare Geschwindigkeitsschwellenwerte für Oberflächenneuromasten im Bereich von etwa 30 $\mu\text{m/s}$ für *Cottus bairdi* (mottled sculpin) (Berechnung in Rapo et al. 2009), wohingegen Liao (2010) bei Zebrafischlarven (*Danio rerio*) mittels lokaler Wasserstöße eine Entladungsratenänderung ab Wasserströmungen von 7 mm/s und Entladungsratenzunahmen bis etwa 12 cm/s ermittelte. Insofern ist derzeit unzureichend gesichert, ob die in bisherigen Studien verwendeten Strömungsgeschwindigkeiten im Bereich von 10 cm/s innerhalb des Dynamikbereiches des Seitenliniensystems der Fische, insbesondere dem der Oberflächenneuromasten, lagen.

Ist die Strömungsgeschwindigkeit am Neuromasten oberhalb des Dynamikbereiches, so können auch schwache Fluktuationen eine eigentlich vorhandene Richtungsantwort überschreiben, da die DC-Strömung durch Sättigungseffekte nur unzureichend an der neuronalen Antwort beteiligt ist. Zusätzlich befindet sich die Spontanaktivität, insbesondere bei Oberflächenneuromasten innervierenden Seitenliniennervenfaser, mit ungefähr 25 Hz (Kroese & Schellart 1992) verhältnismäßig weit unten im potentiell von etwa 0 bis 200 Hz reichenden Dynamikbereich der Seitenliniennervenfaser. Bei einer Spontanaktivität der Faser von 25 Hz steht somit einer möglichen Reduktion dieser Ruheaktivität um 25 Hz eine ebenfalls mögliche Erhöhung der neuronalen Aktivität um 175 Hz entgegen (siehe auch Görner 1963), wodurch die Erhöhung potentiell siebenmal stärker als die Verringerung ausfallen kann. Die in der Strömung vorhandenen Mikrofluktuationen, welche einen durch den DC-Anteil der Strömung ausgelenkten Neuromasten vibrieren lassen, könnten erklären, weshalb eine starke Reduktion der Ruheaktivität in den von Chagnaud et al. (2008a) genutzten Strömungsgeschwindigkeitsbereich nicht beobachtet wurde. In der vorliegenden Arbeit wurde bei der posterioren Seitenlinie eine Beschränkung der Richtungssensitivität auf geringe Strömungsgeschwindigkeiten gefunden (siehe Abb. 4.4 auf Seite 124, Abb. 4.6 auf Seite 126, sowie Abb. 4.8 auf Seite 130 und Abb. 4.9 auf Seite 132), wobei die die stärkste Richtungsselektivität bei Strömungsgeschwindigkeiten von 1,8 und 3,6 cm/s auftrat. Dieser Geschwindigkeitsbereich liegt in der Nähe der in Verhaltensversuchen ermittelten Rheotaxisschwellenwerten im Bereich von 0,5 bis 3 cm/s (Montgomery et al. 1997).

Insbesondere bei sehr geringen Strömungsgeschwindigkeiten könnte die künst-

liche Beatmung die Untersuchung der Richtungsselektivität in früheren Studien erschwert haben. In der Studie von Chagnaud et al. (2008a) wurden im Vergleich zur vorliegenden Arbeit und älteren Studien wie Voigt et al. (2000) oder Carton & Montgomery (2002) höhere Strömungsgeschwindigkeiten zur Stimulation genutzt. Hierfür wurde die Begründung angeführt, dass bei niedrigen Geschwindigkeiten keine Änderung der Entladungsrate bei den primären Afferenzen festzustellen war. Zusätzlich wurden keine Unterschiede in den Ruheentladungsraten zwischen den strömungssensitiven und nicht strömungssensitiven Fasern gefunden, wohingegen Kroese & Schellart (1992) deutlich ausgeprägte Unterschiede bezüglich der Spontanraten zwischen den als Kanal- und Oberflächenneuromasten angesprochenen Teilpopulationen der primären Afferenzen ausmachen konnten. Die erhöhten Strömungsgeschwindigkeitsschwellen und die erhöhte Ruheaktivität könnten unter der Berücksichtigung der im Kapitel 2 ausführlich dargelegten Effekte der künstlichen Beatmung durch die zusätzliche Stimulation mit der Beatmungswasserströmung verursacht worden sein (vergleiche beispielsweise Chagnaud et al. 2008a und Liao 2010). Die vorliegende Arbeit zeigt ferner im Kapitel 2, dass insbesondere Neurone mit stark ausgeprägter relativer Strömungsantwort bei abgeschalteter künstlicher Beatmung nur eine geringe Entladungsrate aufweisen und dass insbesondere stark ausgeprägte Richtungspräferenzen durch die künstliche Beatmung beeinträchtigt werden können (Abb. 4.11 auf Seite 135). Es lässt sich daher nicht ausschließen, dass die künstliche Beatmung in früheren Studien die Strömungsrichtungspräferenz der Neuromasten teilweise maskierte.

Einfluss der peripheren Seitenlinie auf die Wahrnehmung großräumiger Strömungen

In den meisten früheren Arbeiten wurde unzureichend zwischen den anterioren und posterioren Anteilen des Seitenliniensystems differenziert und die spezifische Lage sowie Orientierung der Oberflächenneuromasten beziehungsweise einzelner Kanalabschnitte kaum berücksichtigt, was eine Ursache für die in verschiedenen Arbeiten gefundenen Sensitivitätsunterschiede sein könnte (beispielsweise Voigt et al. 2000 gegenüber Chagnaud et al. 2008a,b). Eine sehr starke Richtungspräferenz, die aufgrund des Neuromastenaufbaus zu erwarten wäre, wurde auch in der vorliegenden Arbeit nur bei wenigen abgeleiteten Neuronen beobachtet. Dies könnte auch durch Morphologie der peripheren Seitenlinie bedingt sein. Beispielsweise besitzt *Carassius auratus* auf dem Kopf bis zu 100 Kanalneuromasten (Puzdrowski 1989) und knapp 1000 Oberflächenneuromasten (Schmitz et al. 2008), wobei die Ausrichtung der Oberflächenneuromasten und der Verlauf der

Kopfkanäle hinsichtlich der Achse höchster Sensitivität sehr variabel ist (Schmitz et al. 2008). Nur 20% der cranialen Oberflächenneuromasten sind bei *Carassius auratus* rostro-caudal +/- 15° ausgerichtet. Zusätzlich ist der überwiegende Anteil der Kanalporen orthogonal zur Hauptströmung orientiert und ein hoher Anteil der Kopfkanalabschnitte verläuft dorso-ventral. Die mögliche Innervierung mehrerer gleichartig orientierter Oberflächenneuromasten durch eine primäre Affferenz (Görner 1963), was durch die in Schmitz et al. (2008) beschriebenen räumlichen Cluster gleichartig orientierter Oberflächenneuromasten naheliegt, würde den Anteil der potentiell strömungsrichtungssensitiven ALLN-Fasern, die Oberflächenneuromasten innervieren, weiter verringern. Zusätzlich können die Oberflächenneuromasten aufgrund ihrer exponierten Lage leichter durch die Präparation, das Austrocknen der Haut oder die Montage des Fisches auf dem Halter beschädigt werden. Bei den durch die Subepidermalkanäle geschützten Kanalneuromasten ist dies weniger wahrscheinlich. Der Anteil strömungssensitiver Fasern ist möglicherweise durch die Innervierung sowie das mögliche Abrasieren der Oberflächenneuromasten geringer, als dies aufgrund der in morphologischen Arbeiten ermittelten Oberflächen- und Kanalneuromastenzahlen anzunehmen wäre (beispielsweise 65% bei 10 cm/s in Engelmann et al. 2002 und 78% bei 10 cm/s in Chagnaud 2006).

Innervierung der Haarzellenpopulation durch Seitenliniennervenfasern bei rheophilen Fischarten

In Übereinstimmung mit zahlreichen weiteren Arbeiten beschreibt Görner (1963) eine Innervierung von zwei entgegengesetzt orientierten Haarzellpopulationen eines Neuromasten durch zwei Seitenliniennervenfasern. Innerhalb des PLLN von *Oncorhynchus mykiss* wurden zwei Faserpopulationen beschrieben, welche bei Stimulation mit tieffrequenten Dipolreizen anhand der relativ zum Stimulus um 90° phasenverschobenen neuronalen Antworten unterschieden lassen und daher als Oberflächen- und Kanalneuromasten innervierend angesprochen wurden (Kroese & Schellart 1992; Engelmann et al. 2002, siehe auch Kalmijn 1988). Bei Berücksichtigung der Neuromastmorphologie mit den zwei entgegengesetzt orientierten Haarsinneszellenpopulationen (beispielweise Görner 1963), wären jedoch zusätzlich zu den Populationen mit 90° und 180° Phasenverschiebung zwei weitere Populationen mit 270° und 360° Phasenverschiebung zu erwarten, welche die antagonistisch orientierten Haarzellen innervieren. Diese Populationen sind jedoch in früheren Arbeiten an rheophilen Fischarten nicht beschrieben worden. Insbesondere rheophile Fischarten könnten daher die von der großräumi-

gen, üblicherweise von rostral nach caudal orientierten Hauptströmungsrichtung stark und dauerhaft stimulierten Haarzellenpopulation innerhalb der Rumpfneuroasten nicht als sensorischen Eingang nutzen. Somit ist derzeit nicht abschließend geklärt, ob bei rheophilen Fischarten innerhalb des Rumpfkanalsystems eine PLLN-Faserpopulation für die Kodierung von rostro-caudalen Strömungsrichtung und eine Population zur Kodierung caudo-rostral gerichteter Strömungen existiert oder ob die PLLN-Fasern bei rheophilen Fischen nur durch caudo-rostral gerichtete Auslenkungen stimuliert werden. Eine mögliche Analogie hierzu könnten die Strömungsrezeptoren auf den Flügeln der Fledermäuse darstellen, welche überwiegend nur auf eine Auslenkung entgegen der permanent vorhandenen und verhältnismäßig starken Hauptströmungskomponente reagieren (Sterbing-D'Angelo et al. 2011).

Richtungspräferenz des anterioren Seitenliniensystems

In der vorliegenden Arbeit zeigten die Fasern des ALLN bei 22,2% der präsentierten Strömungsreizpaare ein richtungsabhängiges Antwortverhalten, indem sie nur bei einer Strömungsrichtung eine deutliche Entladungsratenänderung zeigten. Bei anterior innervierten MON-Neuronen ist der Anteil dieser qualitativ richtungsselektiven Antworten auf Strömungsreizpaare mit 42,8% noch höher. Da bei einigen MON komplexe rezeptive Felder vorgefunden werden können (Künzel et al. 2011), ist diese Zuteilung im Vergleich zur anatomisch bedingten Zuordnung bei den primären Afferenzen jedoch etwas unsicherer. Diese, wie die fluidischen Simulationen in der vorliegenden Arbeit nahelegen, auf Abschattungseffekten durch den Fischkopf (siehe Abb. 4.16A) hervorgerufene, Richtungspräferenz ist prinzipiell auch in den Ergebnissen der Studie von Chagnaud et al. (2008a) enthalten. Die Abbildung 4.17 zeigt eine Zusammenfügung der in der Originalarbeit von Chagnaud et al. (2008a) auf zwei Graphen aufgeteilten Antwortmuster von acht ALLN-Fasern bei Stimulation mit rostro-caudaler und caudo-rostraler Strömung mit 6,5 cm/s, 10 cm/s und 13,5 cm/s. Bei den drei mit schwarzen Linien hervorgehobenen Fasern ist zumindest für einige der präsentierten Strömungsrichtungspaare eine klare Richtungspräferenz erkennbar. Zusätzlich deutet der Befund von Przybilla (2012), dass *Oncorhynchus mykiss* auch nach der bilateralen Ausschaltung der posterioren Bestandteile des Seitenliniensystems noch in der Lage ist, in Dunkelheit gegen die weitgehend laminare großräumige Strömung vor dem Zylinder anzuschwimmen, ebenfalls auf eine höhere Bedeutung des anterioren Seitenliniensystems für die Wahrnehmung großräumiger Strömung hin. Ein entsprechendes Experiment mit gezieltem und möglicherweise reversiblen Ausschalten der ante-

rioren Seitenlinie steht bisher noch aus.

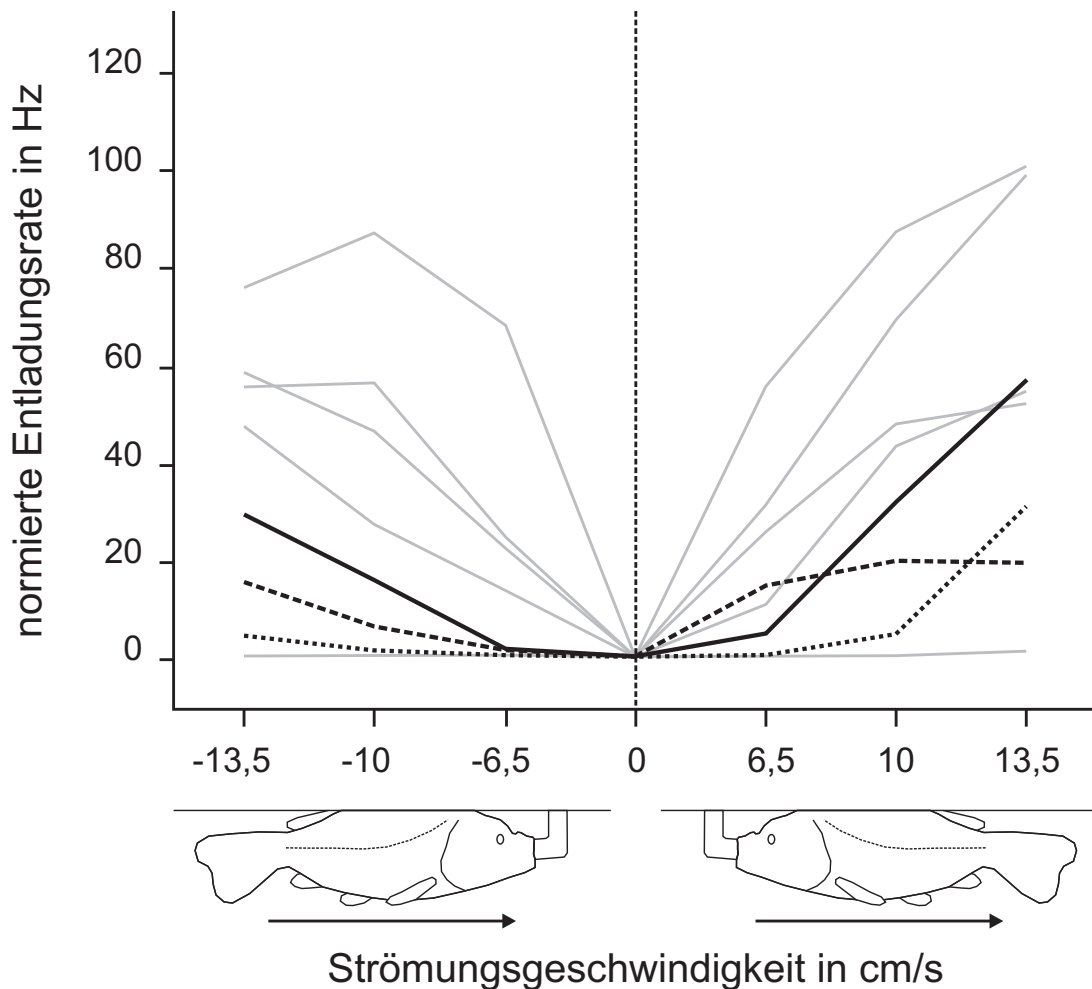


Abbildung 4.17: **Richtungsselektivität anteriorer primärer Afferenzen** aus Chagnaud et al. 2008a. Gezeigt ist eine Zusammenführung der Abbildungen 3a und 3b aus Chagnaud et al. 2008a. Die acht Fasern des ALLN erhöhten im Vergleich zum Stillwasser sowohl bei Stimulation mit rostro-caudaler (rechts) wie auch caudo-rostraler (links) Strömung die Entladungsrates. Fünf Fasern (graue Linien) zeigten hierbei vergleichbare Entladungsratesänderungen bei rostro-caudaler und caudo-rostraler Strömung gleicher absoluter Geschwindigkeit. Bei drei Fasern (schwarze Linien, in der Originalarbeit: gefüllte Kreise, ungefüllte Dreiecke, ungefüllte Rauten) ist jedoch eine Spezifität für die Strömungsrichtung anhand der stärkeren Entladungsratesänderung bei rostro-caudaler Strömung im Vergleich zur caudo-rostralen Strömung mit gleicher absoluter Strömungsgeschwindigkeit zu erkennen. Verändert nach Chagnaud et al. 2008a.

Beteiligung des Kanalsystems an der Wahrnehmung großräumiger Strömungsreize

In vielen früheren Studien wird die Beteiligung der Kanal- und Oberflächenneuromasten an der Wahrnehmung von Strömungsreizen überwiegend dahingehend diskutiert, dass die Oberflächenneuromasten sensitiv für die großräumige Hauptströmungskomponente (bulk flow) sind, wohingegen das Kanalsystem die DC-Komponente der Strömung herausfiltert und somit nur den lokalen AC-Anteil der Fluidbewegung in Porennähe kodiert (Montgomery et al. 1997; Engelmann et al. 2002; Kröther et al. 2004). Die Befunde in Montgomery et al. (1997) basierten hierbei auf der chemischen Ausschaltung der Kanalneuromasten durch Gentamycin, welche in neueren Arbeiten jedoch aufgrund der eventuell nicht sehr selektiven Wirkungsweise dieser Substanz (van Trump et al. 2010) beziehungsweise konzentrationsabhängigen Effekten (Brown et al. 2011) angezweifelt wird. Anhand der fluidischen Modellierung in der vorliegenden Arbeit wurde gezeigt, dass die frontalen Abschnitte des anterioren Kanalsystems prinzipiell zur Wahrnehmung der DC-Komponente der Strömung geeignet sind. Die Krümmung des Fischkopfes führt zu einer stärkeren orthogonalen Orientierung der Poren in weiter caudal gelegenen Kanalabschnitten. Dies bewirkt eine Abnahme der relativen Fluidströmungsgeschwindigkeit im Kanal von rostral nach caudal (Abb. 4.16B). Dadurch werden die Kopfkanalabschnitte unterschiedlich stark durchströmt, wodurch ein großer Strömungsgeschwindigkeitsbereich mittels der Kanalneuromasten abgebildet werden kann. Insbesondere im Vergleich mit den Oberflächenneuromasten kann durch die Form des Fischkopfes und die Unterteilung der Kopfkanäle in einzelne Abschnitte ein sehr großer Dynamikbereich erreicht werden. Das Kopfkanalsystem ermöglicht auch die Detektion des Kopfdrehwinkels zur Hauptströmung, wobei auch die medio-laterale Separation der frontalen Poren der Kopfkanäle optimal hierfür geeignet ist. Wären beispielsweise die frontalen Poren des linken und rechten Infraorbitalkanals in unmittelbarer Nähe angeordnet oder die beiden Infraorbitalkanäle wie der weiter caudal gelegenen Supratemporalkanal direkt verbunden, würden die Unterschiede in der Fluidströmung in den beiden Kanälen bei nicht frontaler Anströmung wesentlich geringer ausfallen, wodurch der Kopfdrehwinkel weniger genau bestimmt werden könnte. Der strömungsgünstig geformte Kopfbereich rheophiler Fischarten wird bei rostro-caudaler Strömungsrichtung weitgehend laminar umströmt (M. Wegener, persönliche Mitteilung), wodurch die von den Oberflächenneuromasten beider Körperpartien zu ermittelnden Geschwindigkeitsunterschiede vermutlich wesentlich geringer als die durch die der Kopfkanäle zu erfassenden Druckunterschiede sind. Das Kopfkanalsystem ist

daher zur Bestimmung des Kopfdrehwinkels potentiell wesentlich besser als die Oberflächenneuromasten geeignet. Die Modellierung der Kopfkanäle in der vorliegenden Arbeit nutzte eine vereinfachte beziehungsweise verallgemeinerte Kopfkanalgeometrie um die prinzipielle Funktionalität zu beschreiben und wurde nur zweidimensional durchgeführt. Ziel zukünftiger Untersuchungen sollte daher die dreidimensionale Erfassung des Kopfkanalsystems verschiedener Fischarten als Grundlage für die detailgetreue dreidimensionale Simulation beziehungsweise die Messung an maßstabgetreuen Modellen (vergleiche Rapo et al. 2009) sein, um die räumlichen Aspekte besser erfassen zu können und Aussagen über die tatsächlich zu erwartende Kanalfluidströmungsamplituden treffen zu können.

Im Rahmen einer von Birgit Klein 2015 durchgeführten und vom Autor der vorliegenden Arbeit betreuten Bachelorarbeit konnte die anteriore Seitenlinie von *L. idus* aus kontrastverstärkten Mikrocomputertomographien sowie mittels Photogrammetrie und 3d-Laserscans erfolgreich dreidimensional rekonstruiert werden und als originalgetreue 3d-Modell für Fluidsimulationen genutzt werden.

Integration von hydrodynamischen Informationen des Oberflächen- und Kanalsystems

Die Wahrnehmung von großräumigen Strömungen mit großem dynamischem Bereich ist, aufgrund der vermutlich stark variablen hydrodynamischen Bedingungen, insbesondere für rheophile Fischarten relevant. Die Hypothese, dass entweder das Oberflächen- oder das Kanalsystem an der Verarbeitung von großräumigen Strömungen aller Ausprägungen beteiligt ist, ist aufgrund der stark unterschiedlichen hydrodynamischen Bedingungen unzumutbar. Es ist zunächst eine Unterscheidung in mehrere Strömungsgeschwindigkeitsbereiche zu treffen, die jedoch in bisherigen Arbeiten kaum durchgeführt wurde. Bei niedrigen Strömungsgeschwindigkeiten im Bereich der Rheotaxisschwelle von ungefähr 0,5 cm/s bis 3 cm/s (Montgomery et al. 1997) ist die Detektion einer großräumigen Strömung und das Erkennen der Hauptströmungsrichtung notwendig, um sich gegen diese Strömung zu orientieren. Hierfür eignen sich vorrangig die rostro-caudal orientierten Oberflächenneuromasten (Montgomery et al. 1997) sowie die Integration der Seitenlinieninformation der beiden Körperseiten (Abschattungseffekte sind in Abbildung 4.16H auf der strömungsabgewandten Körperseite sichtbar). Die in der vorliegenden Arbeit gefundene Verringerung der geschwindigkeitsbezogenen Entladungsratenänderung legt nahe, dass die Oberflächenneuromasten bei stärkeren Strömungsreizen aufgrund von Sättigungseffekten die Hauptströmungsgeschwindigkeit vermutlich nicht mehr ausreichend abbilden können. Zusätzlich wird die

Kodierung der rostro-caudalen Strömungsrichtung durch die Oberflächenneuromasten von dem nun erhöhten Anteil an Mikrofluktuationen erschwert. Möglicherweise können die Verschaltung einzelner Neuromasten in Clustern (Schmitz et al. 2008) und die komplexen, großräumigen rezeptiven Felder auf Ebene des MON (Künzel 2009) beziehungsweise des Mittelhirns (Meyer 2010) dem Einfluss der Mikrofluktuationen bis in den mittleren Strömungsgeschwindigkeitsbereich reduzieren. Über diesen Strömungsgeschwindigkeitsbereich hinaus könnten gleichstromsensitive Kopfkanäle den Arbeitsbereich der Oberflächenkanäle wesentlich erweitern und aufgrund der speziellen Orientierung der Kanalporen auch eine Detektion der rostro-caudalen Strömungsrichtung ermöglichen. Zusätzlich kann der Fisch die Informationen der frontalen Abschnitte des Infraorbital-, Supraorbital- und Mandibularkanals nutzen, um die Orientierung des Kopfes relativ zur Hauptanströmrichtung entlang der dorso-ventralen und medio-lateralen Achse zu kontrollieren und damit möglichst effizient gegen die Strömung anzuschwimmen. Eine Bestimmung der Strömungsgeschwindigkeit über die zeitlich-räumliche Ausbreitung von in der Hauptströmung enthaltenen Fluktuationen (Chagnaud et al. 2008b) könnte bei Strömungsbedingungen mit starken Turbulenzen den Arbeitsbereich des Seitenliniensystems erweitern. Im Bereich sehr geringer Strömungsgeschwindigkeiten und weitgehend laminarer Strömung kann die Bestimmung der Strömungsgeschwindigkeit und -richtung jedoch nicht exklusiv über diesen Mechanismus erklärt werden, da das Verfahren auf in der Hauptströmung enthaltene Fluktuationen oberhalb der Wahrnehmungsschwelle angewiesen ist. Eine Detektion von lokalen AC-Signaturen innerhalb der großräumigen Strömung kann mittels der Neuromasten des Rumpfkanals wie auch die dorso-ventralen Anteile des Kopfkanalsystems auch bei großräumiger Hintergrundströmung erreicht werden (Engelmann et al. 2002).

Die Ansätze bisheriger Arbeiten berücksichtigten jedoch kaum, dass Fische gegen die stärkeren Strömungen anschwimmen müssen, um nicht verdriftet zu werden. Inwiefern diese Schwimmbewegungen die neuronale Verarbeitung von Seitenlinieninformationen möglicherweise beeinträchtigen, ist Gegenstand des folgenden Kapitels.

Kapitel 5

Strömungswahrnehmung und Stimulation der Seitenlinie durch Schwimmbewegungen

5.1 Einleitung

Die meisten elektrophysiologischen Studien zur Wahrnehmung gleichmäßiger, großräumiger Strömungsreize durch das Seitenliniensystem wurden an fixierten, stationären Versuchstieren durchgeführt (beispielsweise Voigt et al. 2000; Carton & Montgomery 2002; Chagnaud et al. 2008b,a; Künzel et al. 2011). Um nicht verdriftet zu werden, müssen mit stärkeren Wasserströmungen konfrontierte Fische jedoch aktiv gegen diese anschwimmen, wobei die Lokomotion mittels Schwimmen ein komplexer und variabel ausgeprägter Vorgang ist (Übersichten beispielsweise in Webb 1994; Colgate & Lynch 2004; Liao 2007). Die in früheren Studien zur Untersuchung der Verarbeitung von großräumigen Wasserströmungen genutzte Versuchsanordnung mit fixierten und passiv überströmten Versuchstieren entspricht daher nicht der natürlichen Situation rheophiler Fischarten, da schwimmende Fische vermutlich nicht wie in den elektrophysiologischen Studien mit einer konstanten relativen Wasserströmung konfrontiert sind. Aufgrund des hohen technischen Aufwands wurden bisher nur vergleichsweise wenige Arbeiten an freischwimmenden Fischen durchgeführt. Eine der wenigen an frei beweglichen Versuchstieren durchgeführten Studien (Palmer et al. 2003) zeigte bei *Opsanus tau* eine deutliche Stimulation des anterioren Seitenliniennervs während einzelner Schwimmbewegungen im Stillwasser. Weitere Studien an fixierten, jedoch zu Schwimmbewegungen fähigen, Versuchstieren zeigen eine Modulation der neuronalen Aktivität primärer Afferenzen von *Scyliorhinus canicula* durch einzelne

Schwimmbewegungen und auch eine an diese Schwimmbewegungen gekoppelte Aktivität des efferenten Seitenliniensystems (Roberts 1972; Roberts & Russell 1972). Aufgrund des Fehlens elektrophysiologischer Ableitungen an frei in Strömung schwimmenden Fischen ist derzeit unklar, inwieweit die Schwimmbewegungen der Fische auch die Wahrnehmung und Verarbeitung der hydrodynamischen Strömungssituation beeinflussen können. Daher ergeben sich die folgenden Fragestellungen:

1. Sind Relativbewegungen entlang der Hauptströmungsrichtung zwischen den in einer Strömung schwimmenden Fischen (*Oncorhynchus mykiss* und *Leuciscus idus*) und der Umgebung vorhanden und wenn ja, wie groß sind die rostro-caudalen Bewegungsamplituden bei *Oncorhynchus mykiss* und *Leuciscus idus*?
2. Bewirken die möglicherweise vorhandenen rostro-caudalen Bewegungen des Fisches, neben der großräumigen Strömung, eine zusätzliche Stimulation des Seitenliniensystems?
3. Inwiefern können die möglicherweise vorhandenen rostro-caudalen Bewegungsamplituden die Wahrnehmung der großräumigen Wasserströmung beeinflussen oder gar die großräumige Strömung maskieren?

5.2 Methoden

5.2.1 Videoanalysen des Schwimmverhaltens

Das Schwimmverhalten von 7 Forellen (*Oncorhynchus mykiss*) wurde in einem großen vertikalen Strömungstank untersucht, wobei quasilaminare Strömungen mit einer Geschwindigkeit von 19 cm/s und 36 cm/s erzeugt wurden (siehe Przybilla et al. 2010 für eine detaillierte Beschreibung des Strömungstanks und des Videosystems). Die Videoaufnahmen (30 fps) wurden im Rahmen eines Verhaltenspraktikums aufgezeichnet und von Nadja Grap zur Verfügung gestellt, wobei die Aufnahmedauer der einzelnen Videos zwischen 243 und 365 s (Mittelwert = 266,1 s; Median = 249,2 s) variierte. Die Position des Fisches wurde anhand der Silhouette des Versuchstieres verfolgt und die Schwimmgeschwindigkeit mit dem Programm VidAna (Version 2.01) analysiert. Hierbei wurde die vertikale und horizontale Bewegungskomponente durch trigonometrische Funktionen aus der Richtungs- und Geschwindigkeitskomponente der vektoriellen Bewegungsbe-

schreibung (Positionsänderung zwischen einzelnen Videobildern) bestimmt (Formel 5.1).

$$\begin{aligned}
 v_x &= \cos w \cdot v \\
 v_y &= \sin w \cdot v \\
 v_x &= \text{horizontale Bewegungskomponente} \\
 v_y &= \text{vertikale Bewegungskomponente} \\
 w &= \text{Bewegungswinkel} \\
 v &= \text{Bewegungsgeschwindigkeit}
 \end{aligned}
 \tag{5.1}$$

Aufgrund der limitierenden optischen Auflösung und des großen, überwachten Versuchsbereichs konnten die Schwimgeschwindigkeiten nur mit einer realen Auflösung von minimal 46,3 mm/s (1,5 mm pro Pixel bei 30 fps) erfasst werden. Kleinere Zwischenstufen wurden entweder durch die Analysesoftware interpoliert (beispielsweise durch die Veränderung der Fischkontur während der Fischbewegung) oder aus der trigonometrischen Berechnung der horizontalen und vertikalen Geschwindigkeitskomponenten (Geschwindigkeit und dem Winkel der Bewegung) bestimmt. Anschließend wurden die Bewegungsdaten in Spike2 (Cambridge Electronic Design) importiert und die Schwimmspuren grafisch dargestellt. Zur Charakterisierung der rostro-caudalen Bewegungsamplituden wurde zuerst der Betrag der rostro-caudalen Schwimgeschwindigkeiten für jeden Videoframe gebildet, diese anschließend dekadisch logarithmiert und als Histogramm für die Strömungsgeschwindigkeit von 19 cm/s und 36 cm/s dargestellt (Microsoft Excel 2010, RExcel, Version 3.2.2, Erich Neuwirth; R system software, Version 2.14.1, The R Foundation; R(D)COM server Version 3.1-2B7, Thomas Baier; Rcommander, Rcmdr, Version 1.8-1, John Fox). Zusätzlich wurden die Beträge der rostro-caudalen Bewegungsgeschwindigkeiten der Versuchstiere bei den Strömungsgeschwindigkeiten von 19 cm/s und 36 cm/s verglichen, um eine mögliche Veränderungen in den Bewegungsgeschwindigkeiten aufgrund der Strömungsgeschwindigkeit festzustellen.

Um auch kleinräumigere rostro-caudale Bewegungen im Schwimmverhalten einer Orfe (*Leuciscus idus*) zu erfassen, wurden die Schwimmversuche in dem, ebenfalls für die elektrophysiologischen Experimente genutzten und bereits beschriebenen, Strömungstank (Abb. 2.2 auf Seite 43) bei künstlicher Beleuchtung mit sichtbarem Licht durchgeführt. Im Vergleich zur Untersuchung des Schwimmverhaltens von *Oncorhynchus mykiss* wurde der Abstand der orthogonal orientierten Kamera (CCIR-Camera, Modell OS-65D, Minitron Enterprise Co.,ltd.) zum

Versuchstank mit circa 10 cm Abstand zur Tankwand möglichst gering gewählt, wobei sich zugunsten der stark verbesserten räumlichen Auflösung jedoch erhöhte optische Verzerrungen und ein kleiner Bildausschnitt ergaben. Die Videoaufnahmen (25 fps) wurden mittels eines in der Mitte des Versuchstanks positionierten Stahllineals kalibriert. Der Bildausschnitt betrug $13,6 \times 10,0 \text{ cm}^2$ bei einer optischen Auflösung von 640×480 Pixel. Durch die gewählte Auflösung und Bildrate konnten auch geringe Schwimmgeschwindigkeiten von bis zu $5,3 \text{ mm/s}$ ($0,2 \text{ mm}$ pro Pixel bei 25 fps) real aufgelöst werden. Innerhalb der mehrstündigen Aufnahmen konnte eine Sequenz mit einer Länge von ungefähr 18 min aufgenommen werden, welche die Schwimmbewegungen des Versuchstieres bei einer Strömungsgeschwindigkeit von $6,5 \text{ cm/s}$ überwiegend zusammenhängend zeigt. Die Position des Fisches wurde anhand der Pupillenposition des Versuchstieres im Programm VidAna (Version 2.01) verfolgt. Zusätzlich wurde mit VidAna die Geschwindigkeit der Schwimmbewegungen analysiert, wie bereits bei den Schwimmversuchen von *Oncorhynchus mykiss* beschrieben. Anschließend wurden die Bewegungsdaten in Spike2 (Cambridge Electronic Design) importiert und weiterverarbeitet. Um das Bildrauschen der Kamera zu unterdrücken, wurden die Bewegungsspuren in Spike2 mit 8 Hz tiefpassgefiltert (smooth filter), wodurch ein Mittelwert der Positionen des Versuchstieres über drei aufeinanderfolgende Einzelbilder gebildet wurde. Um langsame von schnelleren Bewegungen des Versuchstieres zu separieren, wurde die Periodizität der rostro-caudalen Schwimmbewegungen des Versuchstieres mittels FFT-Analyse (Spike2, Cambridge Electronic Design) untersucht und die Schwimmbewegungen in einzelne Frequenzkomponenten zerlegt.

5.2.2 Künstliche Mikrobewegungen

In den elektrophysiologischen Experimenten erfolgte die Stimulation des Seitenliniensystems durch künstlich erzeugte Mikrobewegungen, welche die während des Schwimmens auftretenden, rostro-caudalen Bewegungen simulieren sollten. Hierfür wurde der in Abbildung 5.1 gezeigte Versuchsaufbau genutzt. Eine exzentrisch auf einem Schrittmotor befestigte Scheibe bewegte das Versuchstier samt Fischhalter und Ableitelektrode relativ zum Versuchstank entlang der rostro-caudalen Achse.

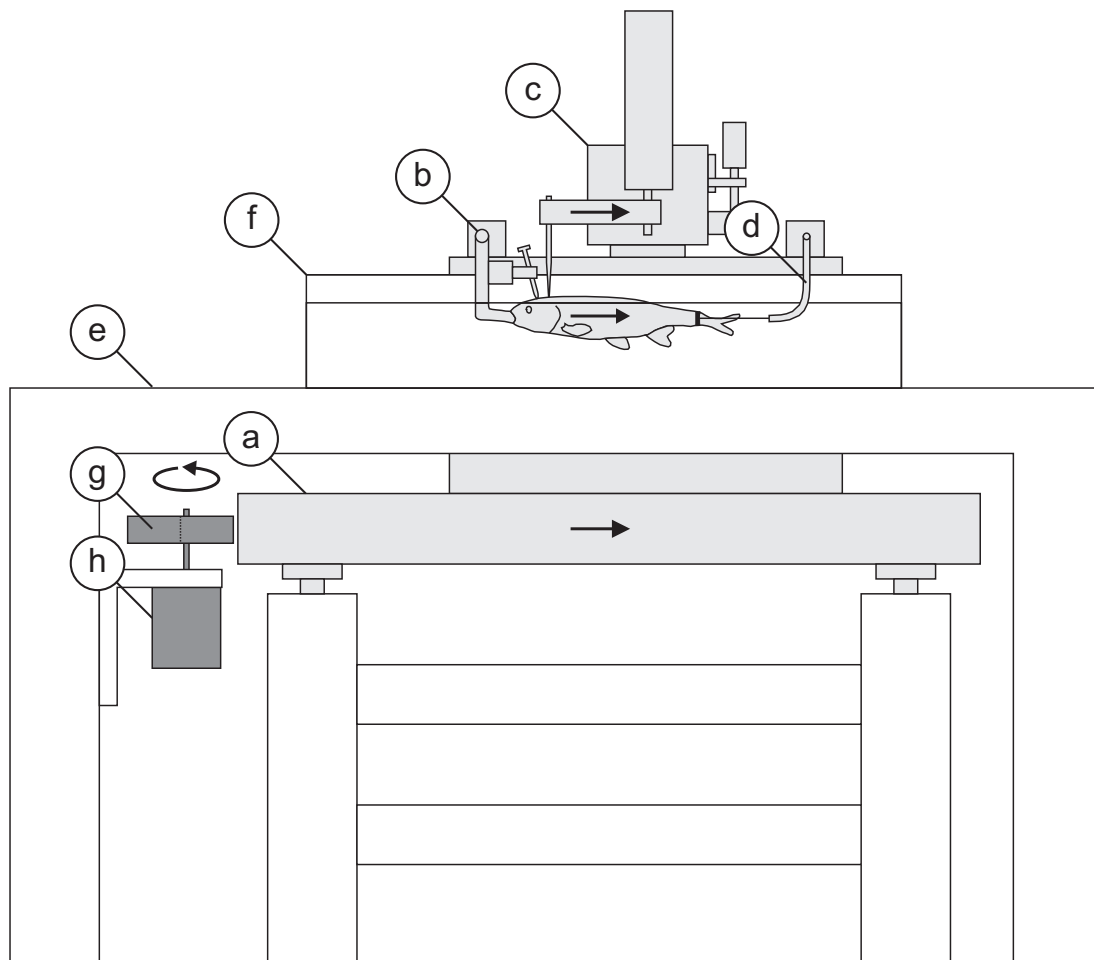


Abbildung 5.1: **Versuchsaufbau zur Generierung künstlicher Mikrobewegungen.** Die Mikrobewegungen wurden durch das Verschieben des schwingungsgedämpften Tisches (a) mittels einer durch einen Schrittmotor (h) angetriebenen exzentrisch gelagerten Scheibe (g) erzeugt. Hierdurch wurden der Fischhalter (b und d) samt Fisch und Ableitelektrode (c) relativ zum auf dem äußeren Gestell (e) montierten Versuchstank (f) bewegt. Aktiv bewegte Teile des Versuchsaufbaus sind mit dunklem Grau gekennzeichnet, wohin gegen die passiv bewegten Teile hellgrau gefüllt sind. Die Pfeile zeigen die Bewegungsrichtung des schwingungsgedämpften Tisches, des Versuchstieres und des Mikromanipulators samt Ableitelektrode während der ersten Hälfte der künstlichen Mikrobewegungen an, wobei die Bewegungsrichtung der zweiten Hälfte der künstlichen Mikrobewegungen entgegengesetzt ist (siehe Abb. 5.2 auf der nächsten Seite).

Die künstlich erzeugten Mikrobewegungen wurden mittels synchron durchgeführter Videoaufnahme (CCIR-Camera, Modell OS-65D, Minitron Enterprise Co., Ltd.) charakterisiert. Dabei wurde die Position der Pupille eines fixierten Versuchstieres relativ zu einem Referenzpunkt im Versuchstank mit VidAna (Version 2.0) verfolgt. Die Videoaufnahmen wurden anschließend in Spike2 (Cambridge Electronic Design) importiert und zur Rauschunterdrückung mit 8 Hz Tiefpassgefiltert. Die mittlere Positions-, Geschwindigkeits- und Beschleunigungsänderung der Pupille des Versuchstieres relativ zum Versuchstank ist im Verlauf von fünf zeitlich überlagerten, künstlichen Mikrobewegungen in Abbildung 5.2 gezeigt. Die

künstlich erzeugten Mikrobewegungen führten entlang der rostro-caudalen Achse zu einem diskreten Positionsmaximum mit einer Verschiebung um 1,0 mm nach caudal (a bei 0,53 s). Es wurde ein Geschwindigkeitsmaximum von 4,3 mm/s (b bei 0,37 s) und ein Geschwindigkeitsminimum von -4,7 mm/s (c bei 0,73 s) festgestellt. Es trat ein erstes Beschleunigungsmaximum von 25,6 mm/s² (d bei 0,26 s), ein Beschleunigungsminimum von -40,2 mm/s² (e bei 0,51 s) und ein zweites Beschleunigungsmaximum von 30,9 mm/s² (f bei 0,87 s) auf. Entlang der vertikalen Achse war hingegen kaum eine Relativbewegung zwischen dem fixierten Versuchstier und dem Versuchstank festzustellen.

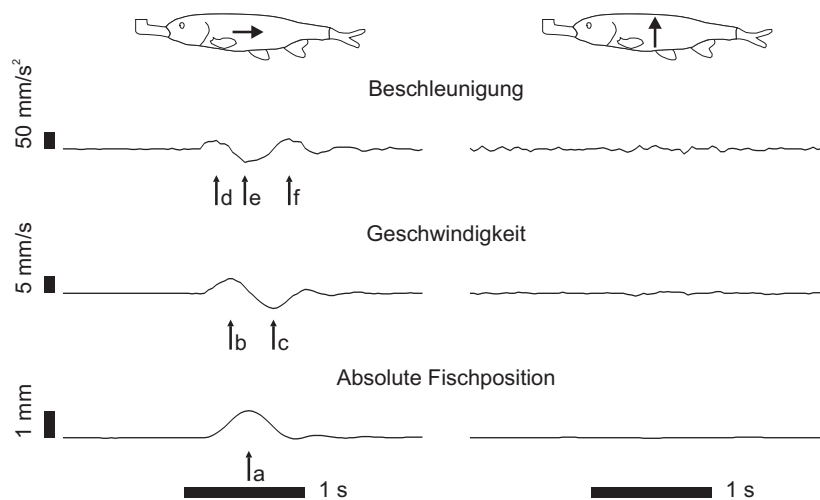


Abbildung 5.2: **Charakterisierung künstlich erzeugter Mikrobewegungen.** Die horizontale (linke Reihe) und vertikale Bewegungskomponente (rechte Reihe) des fixierten Versuchstieres wurde aus synchron zu den künstlichen Mikrobewegungen durchgeführten Videoaufnahmen ermittelt. Jede Kurve stellt den Mittelwert aus 5 Stimulationen dar. Der Anfang des horizontalen Skalierungsbalkens unterhalb der Kurven entspricht dem Stimulationsbeginn. Jeweils von unten nach oben: Absolute Position, Geschwindigkeit und Beschleunigung der Pupille des Versuchstieres relativ zum Versuchstank. Positive Werte entsprechen den Bewegungen nach caudal (links) bzw. dorsal (rechts) und sind in den Versuchstier-Piktogrammen als Pfeile eingezeichnet. Die diskreten Extrema der horizontalen Bewegungskomponente sind mit a - f gekennzeichnet.

5.2.3 Stimulationsprotokoll und Datenanalyse

Die verwendeten elektrophysiologischen Ableitetechniken sind im Abschnitt 2.2.1 beschrieben. Pro Stimulationsdurchlauf wurden jeweils 5 künstliche Mikrobewegungen im Stillwasser, in 6,5 cm/s starker rostro-caudaler Strömung und anschließend erneut im Stillwasser präsentiert (Abb. 5.3A). Die künstliche Beatmung war nur während der Beschleunigungsphasen der großräumigen Strömung, nicht jedoch während der Stimulation mit künstlichen Mikrobewegungen eingeschaltet (für mögliche Auswirkungen der künstlichen Beatmung siehe Kapitel 2). Die wiederholte Präsentation im Stillwasser diente als Kontrolle der Ableitstabilität und

der Reproduzierbarkeit der Ergebnisse. Die Wirkung der künstlichen Mikrobewegungen auf das Entladungsverhalten der MON-Neurone wurde anhand der mittleren Entladungsrate in 2 s langen Zeitfenstern während der Mikrobewegungen und als Referenz in 2 s langen Intervallen zwischen den Mikrobewegungen untersucht (Abb. 5.3B).

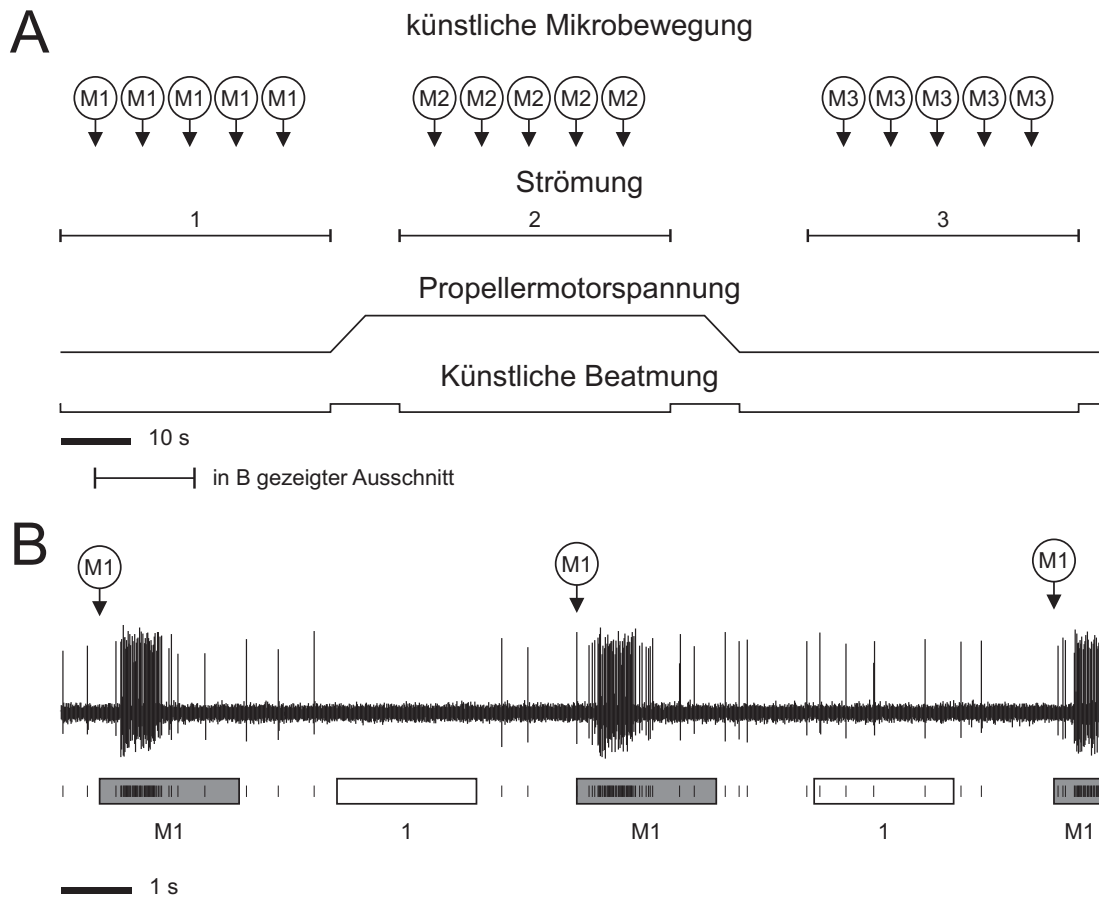


Abbildung 5.3: **Zeitlicher Ablauf der Stimulation mit künstlichen Mikrobewegungen und Datenanalyse.** **A:** Stimulationsablauf mit Mikrobewegungen (oben), großräumiger Wasserströmung (mittlere Spur) und künstlicher Beatmung (unten). Pro Stimulationsdurchlauf wurden jeweils 5 Mikrobewegungen (M1, M2 und M3) im Stillwasser (1), in rostro-caudaler Strömung mit 6,5 cm/s (2) und erneut im Stillwasser (3) präsentiert. Die künstliche Beatmung war während der künstlichen Mikrobewegungen und analysierten Zeitabschnitte der Stillwasser bzw. Strömungsbedingungen abgeschaltet und wurde nur während der Beschleunigungsphasen der großräumigen Wasserströmung angeschaltet. **B:** Ausschnitt aus einer Originalaufnahme (oben) und Analyse des Entladungsmusters (unten, jeder Strich entspricht einem Aktionspotential). Die mittleren Entladungsrate während der 5 Mikrobewegungen (graue Balken, M1) wurde mit den mittleren Entladungsrate ohne Mikrobewegung (weiße Balken, 1) verglichen. Die analysierten Zeitfenster umfassten jeweils 2 s.

Anschließend wurden die Entladungsrate von jeweils fünf 2 s langen Intervallen der Stimulationen mit Stillwasser (1), Mikrobewegung im Stillwasser (M1), Strömung (2), Mikrobewegung in Strömung (M2), Wiederholung Stillwasser (3) und Wiederholung Mikrobewegung im Stillwasser (M3) mittels einfaktorieller

rieller ANOVA analysiert. Hierbei wurde mittels Posthoc-tests für Mehrfachvergleiche (nach Tukey) geprüft, ob jeweils die Entladungsrate der MON-Neurone bei Mikrobewegung im Stillwasser gegenüber der korrespondierenden Ruheentladungsrate im Stillwasser (M1&1), die Entladungsrate der MON-Neuronen bei Mikrobewegung in Strömung gegenüber der Entladungsrate bei Stimulation mit großräumiger Wasserströmung ohne Mikrobewegungen (M2&2) und die Entladungsrate bei großräumiger Strömung im Vergleich mit der Ruheentladungsrate bei der ersten Stillwasserbedingung (2&1, als Indikator für eine Strömungssensitivität der Neurone) unterschiedlich waren. Als Kontrolle der Ableitungsstabilität wurde geprüft, ob sich die Entladungsrate der MON-Neurone bei der Stillwasserwiederholung von der Ruheentladungsrate bei der ersten Stillwasserbedingung (3&1) und die Entladungsrate der wiederholten Mikrobewegungen in Stillwasser von der ersten Mikrobewegung im Stillwasser (M3&M1) unterschied. Konnten mehrere Stimulationsdurchläufe erfolgreich durchgeführt werden, so wurde mittels zweifaktorieller Anova (Faktoren: “Anzahl des Stimulationsdurchlaufs” und “Stimulationsart”) geprüft, ob die mittleren Entladungsraten bei den einzelnen Stimulationsdurchläufen, beispielweise aufgrund von Zeiteffekten, unterschiedlich waren.

Die relative Änderung der mittleren Entladungsraten während der Mikrobewegung in Stillwasser beziehungsweise Strömung im Vergleich mit den jeweiligen mittleren Entladungsraten in Stillwasser beziehungsweise Strömung ohne künstliche Mikrobewegungen wurde anhand des Signed Micromotion Index (SMI) beschrieben (Formel 5.2).

$$SMI = \begin{cases} 100 \cdot \left(1 - \frac{f_{S/F}}{f_M}\right) & \text{für } f_M > f_{S/F} \\ 100 \cdot \left(\frac{f_M}{f_{S/F}} - 1\right) & \text{für } f_M < f_{S/F} \end{cases}$$

$f_{S/F}$ = mittlere Entladungsrate in Stillwasser bzw. Strömung

f_M = mittlere Entladungsrate während künstlicher Mikrobewegungen

(5.2)

Der Signed Micromotion Index (SMI) dient der Beschreibung der relativen Ratenänderung während der künstlichen Mikrobewegung und vergleicht die Entladungsraten während der künstlichen Mikrobewegung in Stillwasser beziehungsweise Strömung mit der Entladungsrate in Stillwasser beziehungsweise Strömung ohne künstliche Mikrobewegung. Die relativen Änderungswerte liegen zwischen -100 und +100. Der Wert 0 zeigt hierbei gleich hohe Entladungsraten bei dem

Referenzwert und der Stimulationsbedingung an, wohingegen ein SMI-Wert von 100 beziehungsweise -100 anzeigt, dass nur bei den künstlichen Mikrobewegungen Entladungen auftraten beziehungsweise nur bei der korrespondierenden Stillwasser- oder Strömungsbedingung Entladungen vorhanden waren. Das relative Änderungsmaß kann nicht bestimmt werden, wenn bei den beiden zu vergleichenden Stimulationen keine Entladungen auftraten.

Neben einer Beeinflussung der Entladungsraten der MON-Neurone durch die künstlichen Mikrobewegungen könnte auch eine Änderung des zeitlichen Entladungsverhaltens während der Mikrobewegungen unter Beibehaltung der durchschnittlichen Entladungsrate auftreten. Um einen derartigen Effekt der künstlichen Mikrobewegungen auf die abgeleiteten Neurone ebenfalls nachweisen zu können, wurden Peristimuluszeithistogramme von 1 s vor (Beginn des Zeitskalierungsbalkens in Abb. 5.2) bis 2 s nach Stimulationsbeginn der Mikrobewegungen angefertigt. Die Verteilung der Entladungsereignisse innerhalb dieses 3 s langen Zeitfensters wurde durch den Synchronitätskoeffizienten R (nach Goldberg & Brown 1969) beschrieben. Hierbei entspricht ein R -Wert von 0 einer im zeitlichen Verlauf völlig gleichmäßigen Verteilung der Entladungen und ein Wert nahe 1 einer starken Häufung der Entladungen zu einem bestimmten Zeitpunkt der künstlichen Mikrobewegung. Zusätzlich wurde mittels Rayleigh-Statistik Z -Wert ($R^2 \cdot N$, N = Summe aller Entladungen, Batschelet 1981) getestet, ob eine zufällige Verteilung der Entladungen innerhalb des gewählten Zeitfensters mit einer Irrtumswahrscheinlichkeit von $p < 0,01$ (Z -Wert $> 4,6$) vorzufinden ist, also die künstlichen Mikrobewegungen im neuronalen Entladungsmuster über zeitliche Modulation innerhalb des untersuchten 3 s langen Intervalls abgebildet werden.

5.3 Ergebnisse

5.3.1 Analyse des Schwimmverhaltens

Schwimmverhalten von *Oncorhynchus mykiss*

Das Schwimmverhalten von *Oncorhynchus mykiss* zeigte ein hohes Maß an Variabilität zwischen den Versuchstieren wie auch im jeweiligen Verlauf der 243 bis 365 s langen Videosequenzen. Die Versuchstiere orientierten sich überwiegend gegen die quasilaminare Strömung mit Geschwindigkeiten von 19 cm/s und 36 cm/s und zeigten somit rheotaktisches Verhalten. Die Fische schwammen in den Versuchen zumeist gegen die vorhandene Strömung an, um nicht verdriftet zu werden. Hierbei bewegten sich die Versuchstiere entweder großräumig innerhalb des Ver-

suchstanks, ließen sich bis zum stromabgelegenen Begrenzungsgitter verdriften und stützten sich mit der Schwanzflosse an diesem ab oder schwammen weitgehend stationär an einer bestimmten Position des Versuchstanks. Die Phasen, in denen *Oncorhynchus mykiss* während des Schwimmens in Strömung weitgehend an einer Position verharrte, sind für die Beantwortung der Fragestellung dieses Kapitels von besonderer Bedeutung, da hier die Wahrnehmung der großräumigen Strömung am Wenigsten durch die zusätzlichen rostro-caudalen Schwimmbewegungen des Fisches überlagert wird. Die Abbildung 5.4A zeigt beispielhaft die Geschwindigkeit und Position einer Forelle (*Oncorhynchus mykiss*) während einer solchen Phase des Schwimmverhaltens. Obwohl sich die horizontale Position des Versuchstieres in dem in Abbildung 5.4B gezeigten Zeitabschnitt nur um etwa 3 cm veränderte, traten dennoch rostro-caudale Bewegungsamplituden im Bereich einiger cm/s auf.

Die Gesamtaufnahmedauer bei Strömungsgeschwindigkeiten von 19 cm/s und 36 cm/s betrug 57,6 min, wovon jedoch 50,6% (Strömungsgeschwindigkeit 19 cm/s) bzw. 45,5% (Strömungsgeschwindigkeit 36 cm/s) von der Analyse des Schwimmverhaltens ausgeschlossen wurden, da sich die Versuchstiere außerhalb des Aufnahmebereichs aufhielten oder Kontakt mit einer Wand oder dem Boden des Strömungstanks hatten. Über alle Versuchstiere variierte der mittlere Betrag der rostro-caudalen Schwimgeschwindigkeiten bei einer Strömungsgeschwindigkeit von 19 cm/s zwischen 28,9 mm/s und 102,0 mm/s und bei einer Strömungsgeschwindigkeit von 36 cm/s zwischen 49,6 mm/s und 87,7 mm/s. Bei einer Strömungsgeschwindigkeit von 19 cm/s wurde für alle Versuchstiere ein mittlerer Betrag der rostro-caudalen Relativgeschwindigkeit zwischen dem Versuchstier und dem Versuchstank von 50,9 mm/s (Median = 27,0 mm/s) ermittelt, wohingegen der mittlere Betrag der rostro-caudalen Schwimgeschwindigkeiten bei einer Strömungsgeschwindigkeit von 36 cm/s im Mittel 64,0 mm/s (Median = 37,8 mm/s) betrug und signifikant erhöht war (Kruskal-Wallis Rangsummentest: Kruskal-Wallis $\chi^2 = 836,9703$ für 1 Freiheitsgrad; p-Wert < 2,2e-16).

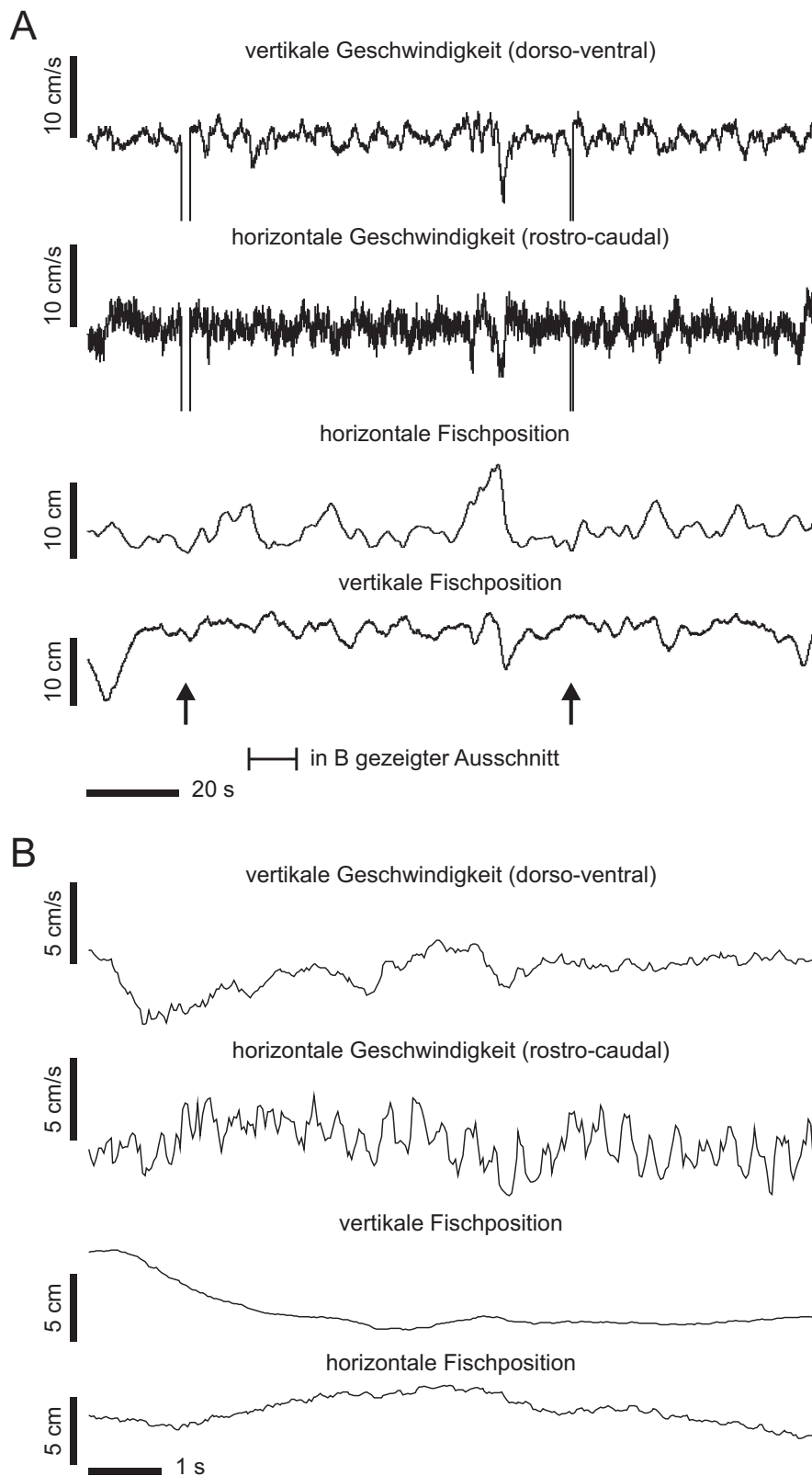


Abbildung 5.4: **Geschwindigkeit und Position von *Oncorhynchus mykiss* in quasistationärer Strömung mit 19 cm/s.** **A:** Fischposition (untere beide Kurven) und Schwimmgeschwindigkeit (obere beide Kurven) über 2,5 min. Pfeile im unteren Bereich zeigen Kontakt des Versuchstieres mit den äußeren Begrenzungen an. **B:** 10 s langer Ausschnitt aus A.

Abbildung 5.5 zeigt die Häufigkeitsverteilung der rostro-caudalen Schwimgeschwindigkeiten der 7 Forellen (*Oncorhynchus mykiss*) bei Strömungsgeschwindigkeiten von 19 cm/s und 36 cm/s in logarithmischer Skalierung. In weit weniger als 10% der Aufnahmezeit wurde für beide Strömungsgeschwindigkeiten eine Relativgeschwindigkeit zwischen dem Versuchstier und dem Versuchstank von weniger als 1 mm/s ermittelt. Dies deutet darauf hin, dass die Versuchstiere kaum stationär auf einer Position verharrten, sondern überwiegend zumindest kleine rostro-caudale Positionsänderungen vorhanden waren. Da unter den genutzten Versuchsbedingungen kleinräumige Bewegungen der Versuchstiere möglicherweise unzureichend optisch aufgelöst werden konnten, wurde ein vergleichbarer Versuch mit erhöhter räumlicher Auflösung mit *Leuciscus idus* durchgeführt.

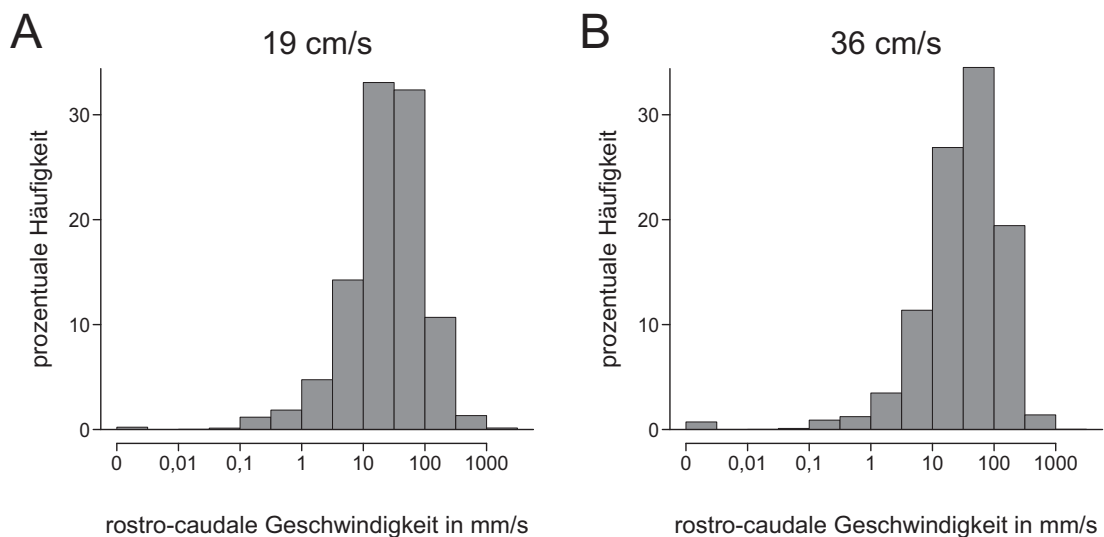


Abbildung 5.5: **Verteilung der rostro-caudalen Schwimgeschwindigkeiten von *Oncorhynchus mykiss* in quasilaminarer Strömung.** **A:** Geschwindigkeit der quasilaminaren Wasserströmung 19 cm/s. **B:** Geschwindigkeit der quasilaminaren Wasserströmung 36 cm/s. Die Schwimgeschwindigkeiten sind in logarithmischer Skalierung als Histogramm für 6 (19 cm/s) bzw. 7 Versuchstiere (36 cm/s) aufgetragen.

Schwimmverhalten von *Leuciscus idus*

Die horizontale und vertikale Position des Versuchstieres (*Leuciscus idus*) über circa 18 min ist in Abbildung 5.6 gezeigt. Das Versuchstier verließ während der Aufnahme teilweise den Bildausschnitt (weiße Balken in Abb. 5.6) oder hatte Kontakt mit dem Boden des Versuchstanks (graue Balken in Abb. 5.6). Es konnten jedoch auch längere Zeitabschnitte aufgezeichnet werden, in denen der Fisch kontinuierlich ohne Boden- oder Grundkontakt in der Strömung schwamm (Abb. 5.6A und B, jeweils im mittleren Bereich). Ein Intervall mit einer Länge von 2 min, in dem der Fisch nahezu auf der Stelle verharrte, wurde hinsichtlich der

rostro-caudalen Position und Schwimgeschwindigkeit genauer untersucht (mit einem Rahmen in Abb. 5.6A gekennzeichnet).

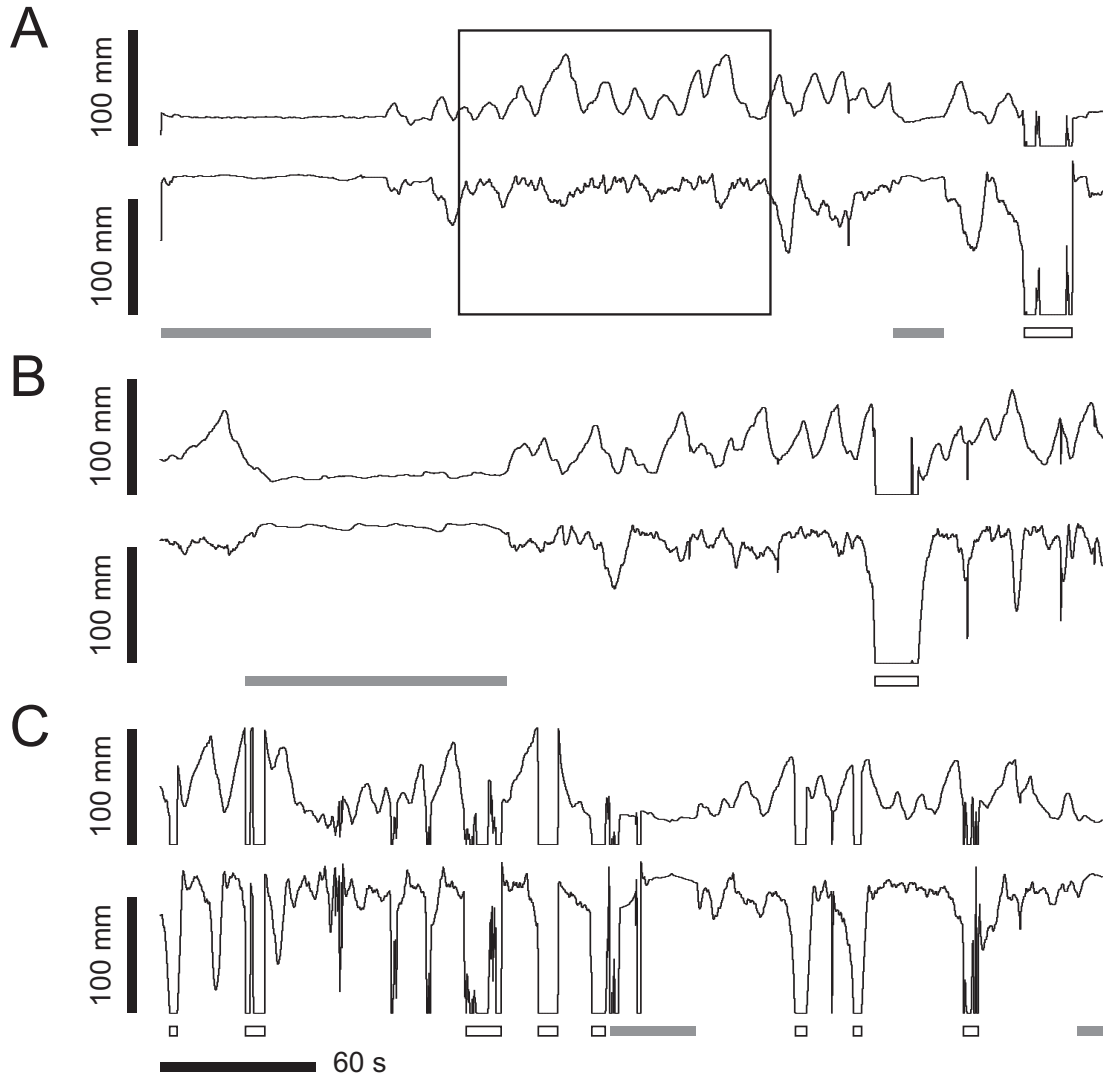


Abbildung 5.6: **Position von *Leuciscus idus* in quasilaminarer Strömung.** A-C: drei sukzessiv aufgenommene Schwimmsequenzen mit einer Gesamtdauer von etwa 18 min mit horizontaler (jeweils untere Spur) und vertikaler (jeweils obere Spur) Fischposition einer Orfe (*Leuciscus idus*) während des Schwimmens in quasilaminarer Strömung von 6,5 cm/s. Während des Schwimmens zeigte der Fisch häufiger Grundkontakt (graue Balken) oder schwamm aus dem gefilmten Bereich (weiße Balken). Das mit dem Rahmen im Versuchsteil A gekennzeichnete Zeitfenster umfasst 2 min Schwimmverhalten bei geringer Änderung der absoluten Position und ohne Grundkontakt und ist in Abbildung 5.7 auf der nächsten Seite detaillierter gezeigt.

Obwohl das Versuchstier im untersuchten Zeitabschnitt von 120 s nur maximal 3 cm rostro-caudale Positionsänderung zeigte, traten innerhalb dieses Zeitintervalls zwischen dem Fisch und dem Versuchstank rostro-caudale Relativgeschwindigkeiten von bis zu 46,5 mm/s auf (untere Spur der Abb. 5.7A).

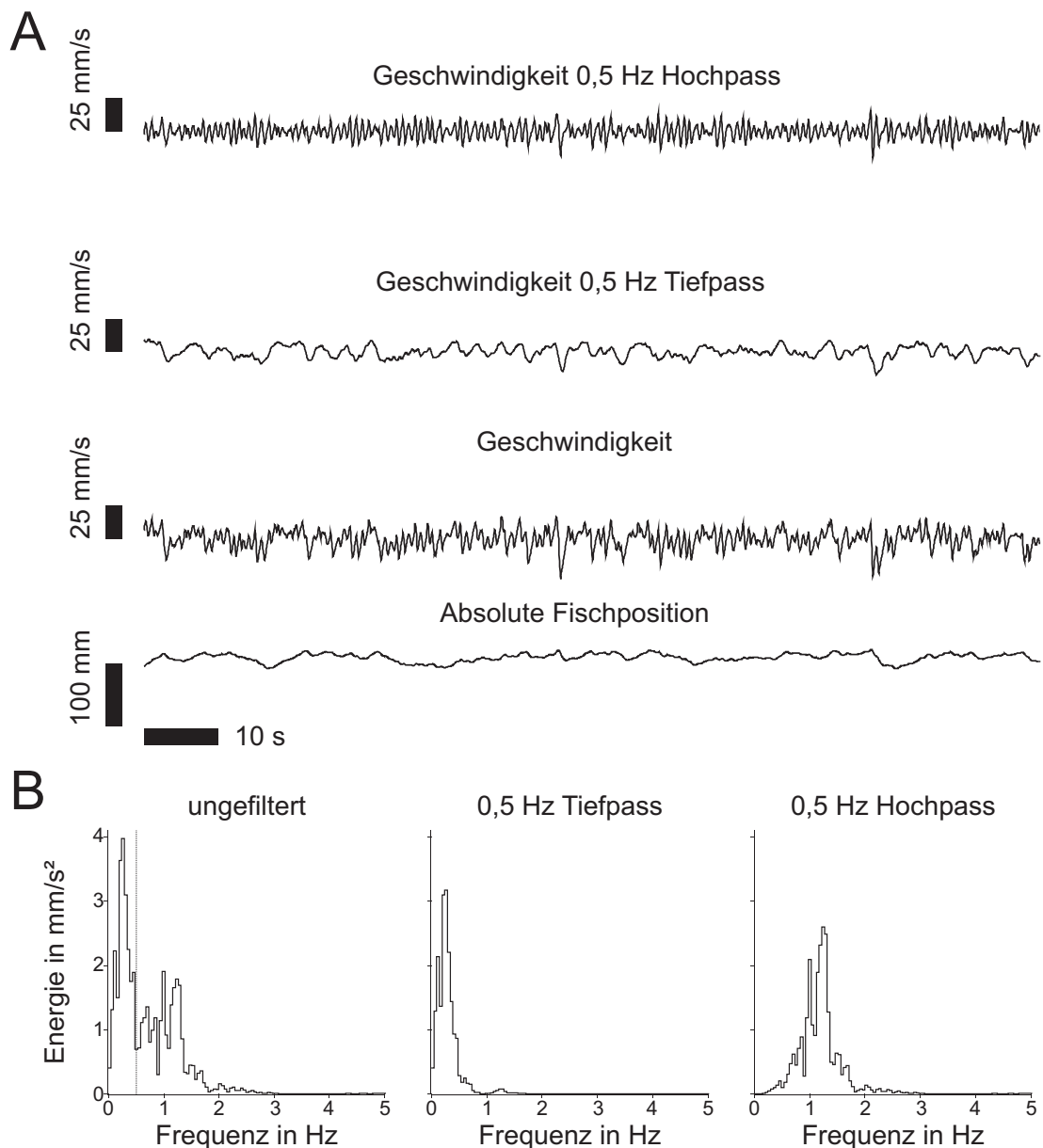


Abbildung 5.7: **Mikrobewegungen eines in der Strömung schwimmenden Versuchstieres (*Leuciscus idus*).** **A:** Bewegung in der rostro-caudalen Achse in einer 120 s langen Sequenz des in Abbildung 5.6 gezeigten Spontanverhaltens mit vergleichsweise konstanter rostro-caudaler Position. Von unten nach oben: absolute Position des Fisches, Geschwindigkeit des Versuchstieres relativ zum Versuchstank, tieffrequenter Anteil der Geschwindigkeitskomponente, hochfrequenter Anteil der Geschwindigkeitskomponente. Alle Kurven sind 8 Hz tiefpassgefiltert, um eine Rauschunterdrückung über 3 Videobilder zu erreichen. Positive Werte entsprechen jeweils einer Bewegung des Versuchstieres nach caudal. **B:** FFT-Analyse der rostro-caudalen Schwimgeschwindigkeiten. Von links nach rechts: ungefilterte Schwimgeschwindigkeit, tiefpassgefilterte und hochpassgefilterte Schwimgeschwindigkeit. Die gepunktete Linie zeigt die zur Separation der langsamen und schnellen Geschwindigkeitskomponente genutzte Frequenz von 0,5 Hz.

Die rostro-caudalen Schwimmbewegungen setzten sich hierbei aus einer langsamen Bewegungskomponente mit einer Frequenz von etwa 0,25 Hz (mittleres

Spektrum in Abb. 5.7B) und einer schnellen Bewegungskomponente von etwa 1 Hz (rechtes Spektrum in Abb. 5.7B) zusammen. In der zweiminütigen Schwimmsequenz des Versuchstieres war die schnelle Bewegungsänderung nahezu kontinuierlich vorhanden und erreichte maximale Spitze-Spitze-Amplituden von 36 mm/s, wobei der über 10 s gemittelte Effektivwert 5,4 mm/s betrug (obere Spur der Abb. 5.7A). Diese kleinen rostro-caudalen Bewegungen mit einer Periode von etwa 1 s sind auch bei geringer Änderung der absoluten Fischposition nachzuweisen und werden im Folgenden als Mikrobewegungen bezeichnet.

5.3.2 Künstliche Mikrobewegungen

In den elektrophysiologischen Experimenten wurden die im Schwimmverhalten beobachteten Mikrobewegungen simuliert, indem die fixierten Versuchstiere passiv entlang der rostro-caudalen Achse bewegt wurden (künstliche Mikrobewegungen) und das Entladungsverhalten der MON-Neurone währenddessen aufgezeichnet wurde. Die künstlichen Mikrobewegungen wurden im Stillwasser und in rostro-caudaler Strömung mit 6,5 cm/s präsentiert. Von den 33 mit künstlichen Mikrobewegungen stimulierten MON-Neuronen konnte bei 16 Neuronen die komplette Stimulation ohne starke Verringerung des Signal-Rausch-Verhältnisses durchgeführt werden. Bei 8 dieser Neuronen konnte das Stimulationsprotokoll mehrfach präsentiert werden. Die Ruheentladungsraten der MON-Neurone betragen im Stillwasser ohne künstliche Beatmung (KB) zwischen 0 Hz und 73,6 Hz (Mittelwert: 18,4 Hz; Median: 7,4 Hz, Tab. 5.1). Bei Stimulation mit rostro-caudaler Wasserströmung mit 6,5 cm/s ohne KB lagen die Entladungsraten zwischen 1,2 Hz und 92,7 Hz (Mittelwert = 28,2 Hz; Median = 25,6 Hz, Tabelle 5.1), wobei 10 von 16 Neuronen eine Zunahme der mittleren Entladungsraten im Vergleich zu der Stillwasserbedingung zeigten. Bei der als Kontrolle für die Ableitungsstabilität durchgeführten, wiederholten Stillwasserbedingung ohne KB (Abb. 5.3) lagen die Entladungsraten zwischen 0 Hz und 72,6 Hz (Mittelwert = 17,7 Hz; Median = 7,9 Hz, Tab. 5.1). Bei 13 von 16 Zellen wurde kein signifikanter Unterschied zwischen den mittleren Entladungsraten der beiden Stillwasserbedingungen festgestellt, wohingegen 3 Neurone eine signifikante Verringerung der mittleren Entladungsraten bei der wiederholten Stillwasserbedingung zeigten (Tab. 5.1). Bei wiederholter Durchführung des Stimulationsprotokolls wurden bei 7 von 8 Neuronen keine signifikanten Unterschiede in den Entladungsraten der einzelnen Stimulationsdurchläufe festgestellt.

Während der künstlichen Mikrobewegungen veränderten die meisten MON-Neurone ihre mittlere Entladungsrate und ihr zeitliches Entladungsmuster. Eine

beispielhafte Ableitung eines MON-Neurons (Neuron 10 in Tab. 5.1) ist in Abbildung 5.8 gezeigt. Die Ableitqualität wurde von der verwendeten Stimulation nicht wesentlich beeinflusst (untere Spur in Abb. 5.8).

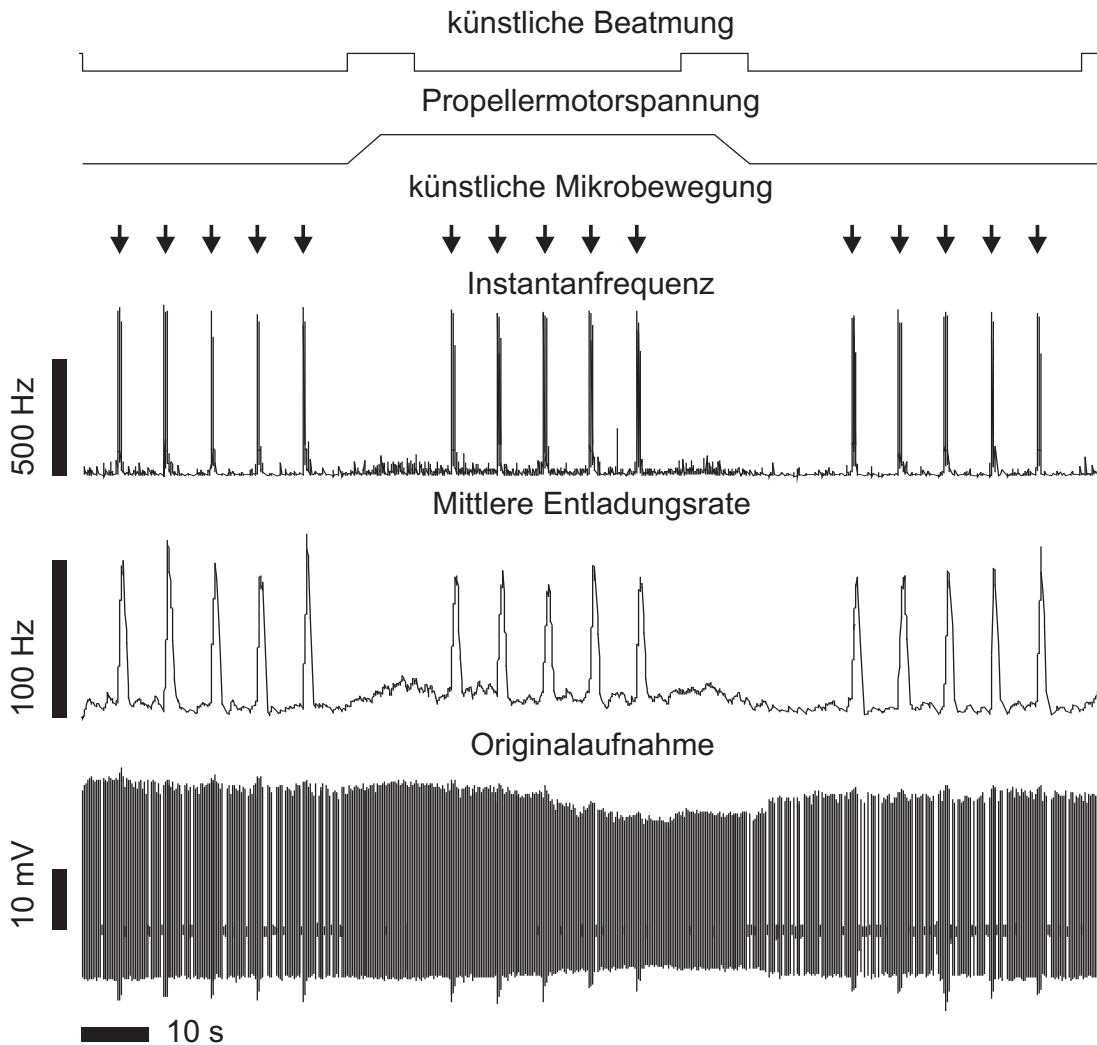


Abbildung 5.8: **Originalaufnahme eines MON-Neurons bei Stimulation mit künstlichen Mikrobewegungen (Neuron 10 in Tabelle 5.1).** Von oben nach unten: künstliche Beatmung, Propellermotorspannung, künstliche Mikrobewegungen (Pfeile) sowie Instantanfrequenz, über 1 s gemittelte Entladungsrate und Originalableitspur. Die künstlichen Mikrobewegungen führten in Stillwasser und Strömung zu einem deutlichen Anstieg der mittleren Entladungsraten und zu höheren Instantanfrequenzen. Im gezeigten Beispiel ist die vergleichsweise schwache Antwort des Neurons auf die rostro-caudale Strömung (Plateau im mittleren Zeitbereich zwischen den künstlichen Mikrobewegungen) zu erkennen.

Die mittlere Entladungsrate dieses MON-Neurons erhöhte sich während der künstlichen Mikrobewegungen im Stillwasser von 6,6 Hz auf 45,9 Hz, wobei zusätzlich im Verlauf der künstlichen Mikrobewegungen sehr hohe Instantanfrequenzen von teilweise über 700 Hz (Inter-Spike-Interval etwa 1,4 ms) auftraten. Bei den künstlichen Mikrobewegungen innerhalb einer rostro-caudalen Strömung

war ebenfalls eine deutliche Erhöhung der mittleren Entladungsrate und das Auftreten sehr hoher Instantanfrequenzen festzustellen, obwohl dieses Neuron bereits eine Erhöhung der mittleren Entladungsrate von 6,6 Hz im Stillwasser auf 15,6 Hz in rostro-caudaler Strömung von 6,5 cm/s ohne Mikrobewegungen zeigte.

Einfluss künstlicher Mikrobewegungen auf die Entladungsraten von MON-Neuronen

Bei künstlichen Mikrobewegungen im Stillwasser nahmen die mittleren Entladungsraten bei 13 der 16 MON-Neuronen zu (Tab. 5.1). Bei Mikrobewegungen in rostro-caudaler Strömung erhöhten 14 der 16 Zellen ihre mittlere Entladungsrate. Bei wiederholter Stimulation mit künstlichen Mikrobewegungen im Stillwasser zeigten 4 der 16 MON-Neuronen eine Verringerung ihre Entladungsrate im Vergleich zur ersten Stimulation mit Mikrobewegungen im Stillwasser, wohingegen 11 der 16 Neuronen keine signifikant unterschiedlichen mittleren Entladungsraten bei der ersten und zweiten Stimulation mit Mikrobewegung im Stillwasser aufwiesen.

Die Neurone K15 und K16 zeigten keine signifikante Änderung der Entladungsrate während der Stimulation mit künstlichen Mikrobewegungen sowie rostro-caudaler Strömung. Da diese beiden Neuronen ebenfalls keine merkliche Antwort auf hydrodynamische Reizung mit Wasserstößen aus einer Pipette und Stimulation mit dem batteriegetriebenen Dipol zeigten, innervierten diese zwei Neurone vermutlich entweder keine funktionsfähigen Neuromasten oder wurden möglicherweise außerhalb des MON (beispielsweise im akustischen Hirnstammkerngebiet des DON) abgeleitet.

Einfluss künstlicher Mikrobewegungen auf das Entladungsmuster der MON-Neurone

Neben dem Anstieg der Entladungsrate wurde bei den abgeleiteten Neuronen zumeist ein zeitlich definiertes Entladungsmuster während der Mikrobewegungen festgestellt. Die Abbildung 5.9 zeigt beispielhaft das Entladungsmuster während der künstlichen Mikrobewegungen eines nicht strömungssensitiven Neurons, eines strömungssensitiven Neurons und der beiden, nicht auf hydrodynamische Stimulation reagierenden, Neurone K15 und K16. Hierbei zeigte das nicht strömungssensitive Neuron hohe Synchronität der neuronalen Entladungen mit den Mikrobewegungen im Stillwasser ($R = 0,84$), Strömung ($R = 0,72$) und bei wiederholter Präsentation im Stillwasser ($R = 0,81$) (Abb. 5.9A).

Tabelle 5.1: Mittlere Entladungsraten der 16 abgeleiteten Neurone in Hz für Stillwasser (1), Mikrobewegung in Stillwasser (M1), Strömung (2), Mikrobewegung in Strömung (M2), Wiederholung Stillwasser (3) und Wiederholung Mikrobewegung in Stillwasser (M3). Die Bezeichnungen entsprechen dem in Abbildung 5.3 gezeigten Stimulationsablauf. Die Symbole in Klammern nach den mittleren Entladungsraten zeigen die Signifikanzniveaus der Einweegeanova an (n.s. = $p > 0,05$; * = $p < 0,05$; ** = $p < 0,01$; *** = $p < 0,001$). Bei Durchführung mehrerer Stimulationsdurchgänge (zweiten Spalte) wurde mittels Zweiveegeanova zusätzlich auf Unterschiede zwischen den Versuchsdurchläufen getestet (Signifikanzniveau in Klammern nach der Anzahl der Stimulationsdurchgänge).

Nr. Neuron	Wiederholung (Stimulusprä- sentationen)	1 Stillwasser1	M1 (M1&1) Mikrobewegung in Stillwasser1 (vs Stillwasser1)	2 (2&1) Strömung (vs Stillwasser)	M2 (M2&2) Mikrobewegung in Strömung (vs Strömung)	3 (3&1) Stillwasser2 (vs Stillwasser1)	M3 (M3&M1) Mikrobewegung in Stillwasser2 (vs Mikrobewegung in Stillwasser1)
1	1	0	34,5 (***)	1,2 (n.s.)	40,6 (***)	0 (n.s.)	38 (n.s.)
2	4 (*)	0,5	35,5 (***)	18,5 (***)	36,7 (***)	0,9 (n.s.)	23,7 (***)
3	1	39,2	69,8 (***)	55,1 (***)	77,4 (***)	26,6 (**)	45,3 (***)
4	1	73,6	116,5 (***)	92,7 (***)	127,4 (***)	72,6 (n.s.)	114,5 (n.s.)
5	3 (n.s.)	8,3	33,1 (***)	37,9 (***)	50,8 (***)	7,9 (n.s.)	33,4 (n.s.)
6	1	35,3	53,0 (***)	53,2 (***)	61,8 (***)	29,5 (*)	49,8 (n.s.)
7	1	2,5	33,3 (***)	26,9 (***)	41,6 (***)	2,5 (n.s.)	34,4 (n.s.)
8	1	2,4	4,4 (n.s.)	1,6 (n.s.)	3,9 (*)	0,8 (n.s.)	3,7 (n.s.)
9	3 (n.s.)	28	44,0 (***)	32,3 (***)	47,8 (***)	25,7 (**)	41,5 (**)
10	2 (n.s.)	6,6	45,9 (***)	15,6 (***)	47,8 (***)	5,0 (n.s.)	41,7 (**)
11	1	31,5	37,5 (***)	31,1 (n.s.)	36,1 (***)	35,7 (n.s.)	35,7 (n.s.)
12	2 (n.s.)	6,3	22,5 (***)	12,2 (***)	25,6 (***)	7,9 (n.s.)	24,1 (n.s.)
13	2 (n.s.)	2,2	33,2 (***)	3,6 (n.s.)	35,0 (***)	2,4 (n.s.)	37,7 (*)
14	4 (n.s.)	1,8	11,7 (***)	6,4 (***)	16,6 (***)	1,6 (n.s.)	12,1 (n.s.)
K15	2 (n.s.)	23,8	24,5 (n.s.)	24,3 (n.s.)	25,0 (n.s.)	23,8 (n.s.)	24,4 (n.s.)
K16	1	32,1	35,9 (n.s.)	37,9 (n.s.)	37,1 (n.s.)	41,1 (n.s.)	42,3 (n.s.)

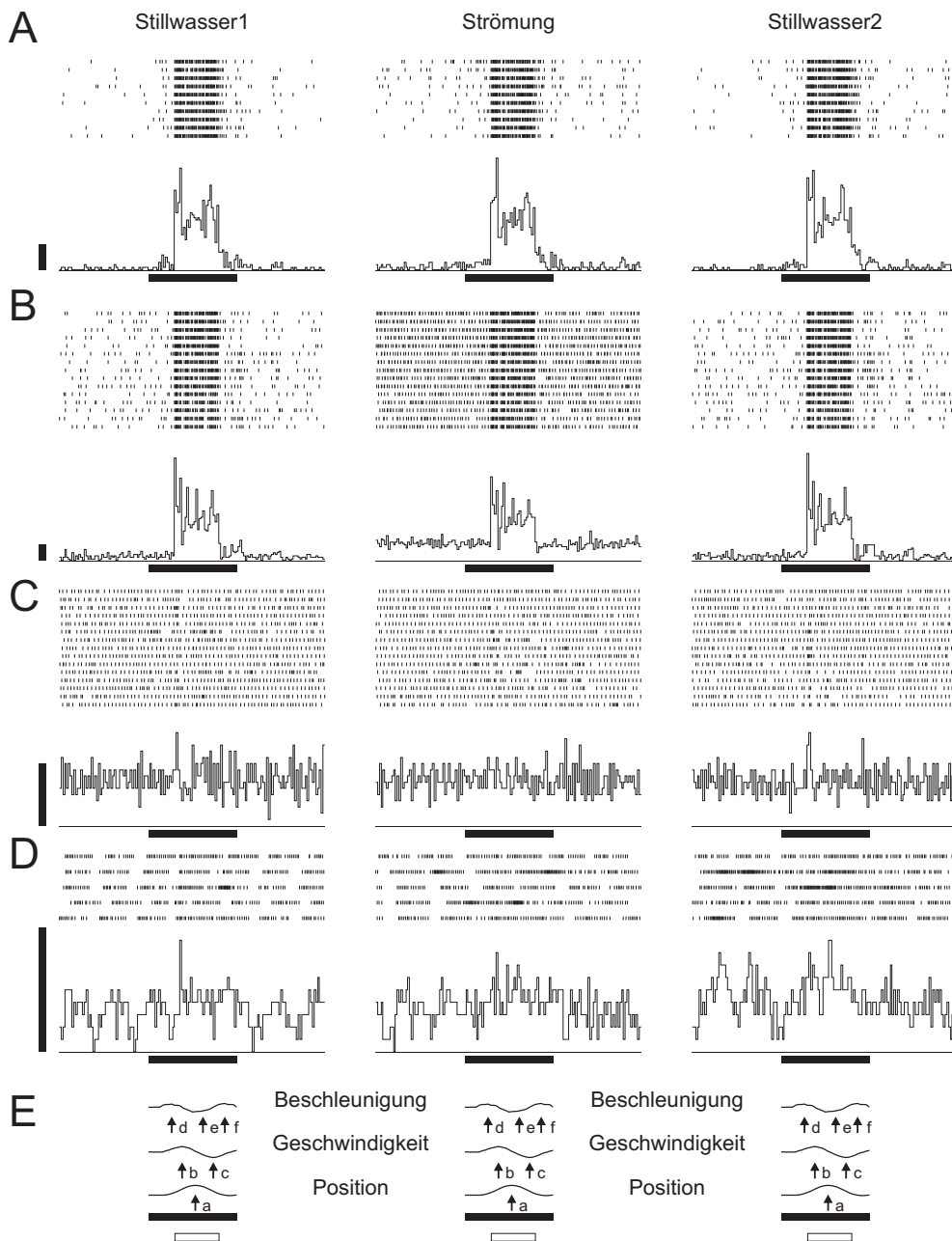


Abbildung 5.9: **Zeitliches Entladungsverhalten von vier MON-Neuronen bei Stimulation mit künstlichen Mikrobewegungen.** **A bis E:** jeweils Rasterplots (oben) und Peristimuluszeithistogramme (unten) für Mikrobewegung in Stillwasser (links), in 6,5 cm/s starker rostro-caudaler Strömung (mitte) und wiederholt im Stillwasser (rechts). Horizontale schwarze Balken entsprechen 1 s, vertikale Balken jeweils 10 Entladungen pro Bin (20 ms). **A:** Nicht strömungssensitives MON-Neuron 13 aus Tabelle 5.1. **B:** Strömungssensitives MON-Neuron 5. **C:** Nicht hydrodynamisches Neuron K15. **D:** Nicht hydrodynamisches Neuron K16. **E:** Aus der Kalibrierung ermittelte Positionsänderung (unten), Geschwindigkeitskomponente (mitte) und Beschleunigungskomponente (oben) während der künstlichen Mikrobewegungen (siehe auch Abb. 5.2 auf Seite 159). Horizontale weiße Balken zeigen die in Abbildung 5.13 auf Seite 179 vergrößert dargestellten Zeitbereiche der Mikrobewegungen.

Die Synchronitätskoeffizienten des strömungssensitiven MON-Neurons waren hingegen bei Mikrobewegungen im Stillwasser ($R = 0,63$ und $R = 0,61$) wesentlich

größer als bei Mikrobewegungen in rostro-caudaler Strömung ($R = 0,20$), wobei die Antworten auf die künstlichen Mikrobewegungen auch in diesem Fall weiterhin im Rasterplot zu erkennen waren (Abb. 5.9B). Das in Abbildung 5.9C gezeigte, nicht auf hydrodynamische Stimulation reagierende, Neuron wies hingegen eine weitgehend zufällige Verteilung der Entladungen im Verlauf der Mikrobewegungen im Stillwasser ($R = 0,01$), in Strömung ($R = 0,02$) und bei wiederholter Präsentation im Stillwasser ($R = 0,01$) auf. Das ebenfalls nicht hydrodynamische Neuron K16 zeigte zwar ein unregelmäßiges zeitliches Muster, welches jedoch nur schwache Übereinstimmung mit den Mikrobewegungen aufwies (Abb. 5.9D, Stillwasser: $R = 0,06$; Strömung: $R = 0,11$; Stillwasserwiederholung $R = 0,07$).

Während der künstlichen Mikrobewegungen im Stillwasser und in Strömung trat bei allen 14 MON-Neuronen, die auf hydrodynamische Reizung reagierten, innerhalb des untersuchten Zeitfensters eine signifikante Unregelmäßigkeit des Entladungsmusters auf. Der Zeitpunkt des mittleren Entladungsmaximums dieser 14 Neurone betrug in dem untersuchten Zeitfenster 295 ms bis 978 ms nach dem Beginn der künstlichen Mikrobewegung (Mittelwert = 531 ms, Tab. 5.1) und somit im Mittel koinzident mit dem Positionsmaximum der künstlichen Mikrobewegung (0,53 s, siehe auch Abb. 5.2). Die Synchronitätskoeffizienten R der 14 auf hydrodynamische Stimulation reagierenden Neurone variierten bei der ersten Stimulation mit künstlichen Mikrobewegungen im Stillwasser zwischen 0,196 und 0,882 (Mittelwert = 0,546; Median = 0,591; Tab. 5.2) und lagen bei wiederholter Stimulation mit Mikrobewegung im Stillwasser zwischen 0,184 und 0,902 (Mittelwert = 0,547; Median = 0,571; Tab. 5.2). Bei künstlichen Mikrobewegungen in rostro-caudaler Wasserströmung variierten die Synchronitätskoeffizienten R zwischen 0,141 und 0,725 (Mittelwert = 0,360; Median = 0,322; Tab. 5.2). Das nicht auf hydrodynamische Stimulation reagierende Neuron K15 wies keine Variation des Entladungsmusters im untersuchten Zeitfenster auf, wohingegen K16 zum Teil eine signifikante Entladungsmusteränderung während der künstlichen Mikrobewegungen zeigte. Hierbei waren jedoch die Synchronitätskoeffizienten R insbesondere bei den Mikrobewegungen im Stillwasser ($R = 0,061$ und $R = 0,072$) wesentlich geringer als der Synchronitätskoeffizient bei Mikrobewegungen in Strömung ($R = 0,114$) und auch deutlich geringer als bei den anderen 14 MON-Neuronen, die eine Entladungsratenerhöhung zeigten. Da bei dem Neuron K16 auch im Stillwasser ohne KB ein rhythmisches Entladungsmuster hörbar war, könnte auch eine zufällige Überlagerung des intrinsischen Rhythmus mit den Zeitpunkten der künstlichen Mikrobewegungen vorliegen (Abb. 5.9D).

Tabelle 5.2: Synchronitätskoeffizienten R der 16 abgeleiteten Neurone für Mikrobewegung in Stillwasser (M1), Mikrobewegung in Strömung (M2) und Wiederholung der Mikrobewegung in Stillwasser (M3) sowie der Zeitpunkt des mittleren Maximums der Entladung relativ zum Beginn der künstlichen Mikrobewegungen (siehe auch Abb. 5.2). Die Bezeichnungen entsprechen dem in Abbildung 5.3 auf Seite 160 gezeigten Stimulationsablauf. Die Symbole in Klammern nach den Synchronitätskoeffizienten R zeigen die Signifikanzniveaus der Rayleigh-Statistik an (n.s. = $p > 0,05$; * = $p < 0,05$; ** = $p < 0,01$; *** = $p < 0,001$).

Nr. Neuron	M1 - Mikrobewegung im Stillwasser1		M2 - Mikrobewegung in Strömung		M3 - Mikrobewegung im Stillwasser2	
	Synchronitäts- koeffizienten R	Zeitpunkt des Entla- dungsmaximums in s	Synchronitäts- koeffizienten R	Zeitpunkt des Entla- dungsmaximums in s	Synchronitäts- koeffizienten R	Zeitpunkt des Entla- dungsmaximums in s
1	0,856 (***)	0,622	0,681 (***)	0,663	0,778 (***)	0,646
2	0,882 (***)	0,591	0,432 (***)	0,483	0,902 (***)	0,558
3	0,321 (***)	0,597	0,180 (***)	0,481	0,333 (***)	0,565
4	0,217 (***)	0,536	0,209 (***)	0,448	0,253 (***)	0,502
5	0,630 (***)	0,550	0,200 (***)	0,491	0,610 (***)	0,563
6	0,238 (***)	0,480	0,141 (***)	0,349	0,245 (***)	0,508
7	0,851 (***)	0,501	0,362 (***)	0,436	0,819 (***)	0,526
8	0,403 (***)	0,511	0,282 (*)	0,978	0,504 (***)	0,551
9	0,294 (***)	0,498	0,254 (***)	0,476	0,318 (***)	0,485
10	0,729 (***)	0,573	0,577 (***)	0,555	0,758 (***)	0,568
11	0,196 (***)	0,295	0,191 (***)	0,297	0,184 (***)	0,300
12	0,563 (***)	0,535	0,424 (***)	0,537	0,550 (***)	0,548
13	0,838 (***)	0,568	0,725 (***)	0,555	0,812 (***)	0,575
14	0,619 (***)	0,583	0,377 (***)	0,603	0,592 (***)	0,605
K15	0,015 (n.s.)	0,441	0,019 (n.s.)	0,365	0,008 (n.s.)	0,906
K16	0,061 (n.s.)	0,626	0,114 (***)	0,514	0,072 (*)	0,308

Mikrobewegungen in Strömung und im Stillwasser

Die relativen Entladungsratenänderungen bei Stimulation mit künstlichen Mikrobewegungen (SMI) und der Synchronitätskoeffizient R sind in Abhängigkeit von der Reizbedingung (Stillwasser, Strömung) für alle 16 Neurone in Abbildung 5.10A und B dargestellt. Die individuellen Antworten der Neurone auf die künstlichen Mikrobewegungen variierten stark bezüglich der relativen Entladungsratenänderung (SMI) und der Synchronitätskoeffizienten R . In der Summe zeigten die Neurone eine deutliche Populationsantwort auf die künstlichen Mikrobewegungen in Form einer relativen Entladungsratenänderung (SMI) und durch die reizgekoppelten Entladungsmuster, ausgedrückt durch den Synchronitätskoeffizienten R (Abb. 5.10C und D). Die relativen Ratenänderungen bei Mikrobewegungen im Stillwasser und in Strömung über die Population aller 16 Neurone unterschieden sich nicht signifikanter voneinander (Einfaktorielle ANOVA: Quadratsumme = 3173; F-Wert = 1,4815 für 2 Freiheitsgrade; p-Wert = 0,2382; Mittelwerte: Stillwasser1 = 57,9; Strömung = 41,2; Stillwasser2 = 58,8). Auch die Synchronitätskoeffizienten R der Mikrobewegungen im Stillwasser und in Strömung waren bei der Population der 16 Neuronen nicht signifikant verschieden (Einfaktorielle ANOVA: Quadratsumme = 0,2724; F-Wert = 1,9135 für 2 Freiheitsgrade; p-Wert = 0,1594; Mittelwerte: Stillwasser1 = 0,30; Strömung = 0,20; Stillwasser2 = 0,29).

Bei ausschließlicher Berücksichtigung der 10 Neurone, welche eine signifikante Entladungsratenänderung bei Stimulation mit Strömung zeigten (Neurone 2 bis 7, 9, 10, 12 und 14 in Tab. 5.1), waren die SMI-Werte bei Mikrobewegungen in Strömung signifikant verringert (Einfaktorielle ANOVA: Quadratsumme = 4769; F-Wert = 4,552 für 2 Freiheitsgrade; p-Wert = 0,0198; Mittelwerte: Stillwasser1 = 65,9; Strömung = 39,4; Stillwasser2 = 66,4; Tukey Kontrast Post-Hoc-Test: p-Wert (Stillwasser1 vs Strömung) = 0,0397; p-Wert (Stillwasser2 vs Strömung) = 0,0351; p-Wert (Stillwasser1 vs Stillwasser2) = 0,9985). Die Synchronitätskoeffizienten R bei den einzelnen Strömungsbedingungen unterschieden sich jedoch nicht signifikant voneinander (Einfaktorielle ANOVA: Quadratsumme = 0,3243; F-Wert = 3,447 für 2 Freiheitsgrade; p-Wert = 0,0464; Mittelwerte: Stillwasser1 = 0,53; Strömung = 0,32; Stillwasser2 = 0,54; Tukey Kontrast Post-Hoc-Test: p-Wert (Stillwasser1 vs Strömung) = 0,0798; p-Wert (Stillwasser2 vs Strömung) = 0,0744; p-Wert (Stillwasser1 vs Stillwasser2) = 0,9993). Somit können diese strömungssensitiven Neurone künstliche Mikrobewegung auch bei vorhandener großräumiger Wasserströmung in ihrem neuronalen Entladungsmuster abbilden.

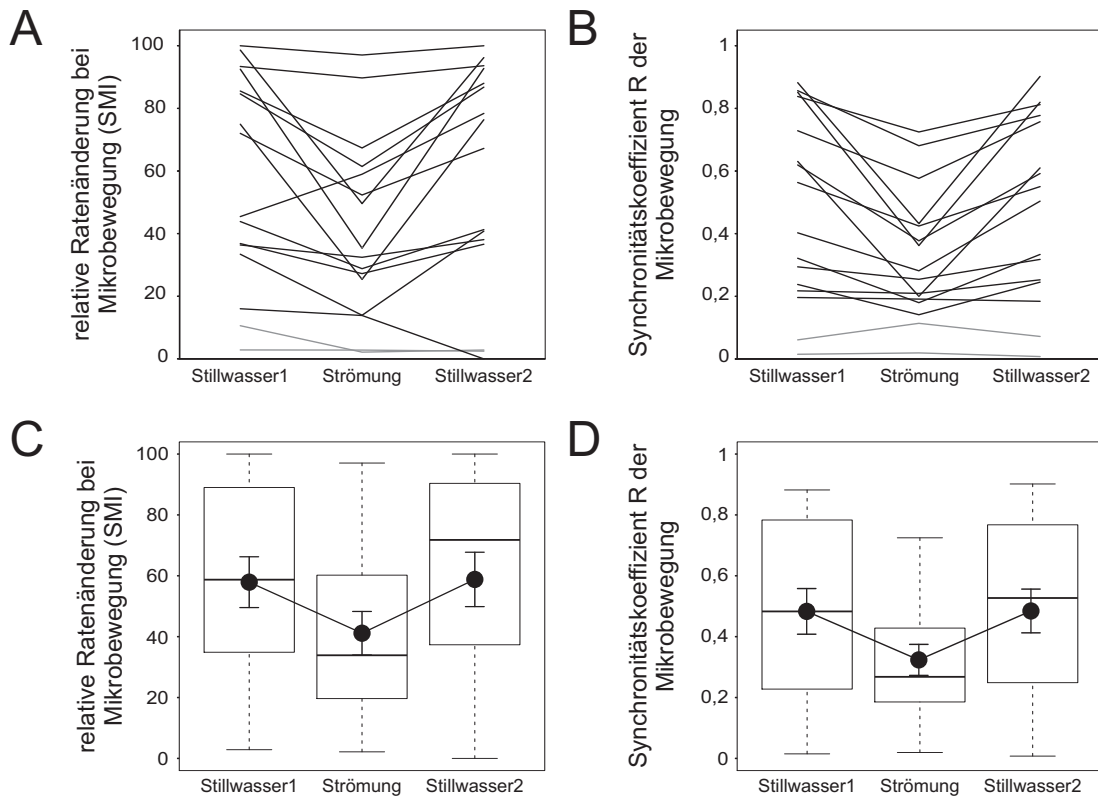


Abbildung 5.10: **Antwort der 16 MON-Neurone auf künstliche Mikrobewegungen im Stillwasser und in rostro-caudaler Strömung.** **A und C:** relative Entladungsratenänderung bei Mikrobewegung (SMI) der Neurone im Stillwasser, in Strömung und im wiederholten Stillwasser. Positive SMI-Werte zeigen eine relative Zunahme der Entladungsrate während der künstlichen Mikrobewegungen verglichen mit der jeweiligen Versuchsbedingung ohne künstliche Mikrobewegung. Bei einem SMI-Wert von 100 sind nur während der künstlichen Mikrobewegungen Entladungen vorhanden, wohingegen bei einem SMI-Wert von 0 keine Unterschiede zwischen den Entladungsraten vorhanden sind. **B und D:** Synchronitätskoeffizienten R der Antworten der Neurone für Mikrobewegungen im Stillwasser, in Strömung und im wiederholten Stillwasser. **A und B:** individuelle Werte der Neurone (K15 und K16 als graue Linien). **C und D:** Boxplot und Mittelwert mit Standardfehler (gefüllte Kreise mit Fehlerbalken) der Werte aller 16 Neurone.

Die Abbildung 5.11A zeigt die Synchronitätskoeffizienten R in Abhängigkeit der relativen Entladungsratenänderung bei künstlichen Mikrobewegungen (SMI). Der Synchronitätskoeffizient R korrelierte mit der relativen Änderung der Entladungsrate (SMI) (Spearman's Rangkorrelation: $S = 612,5$; p -Wert $< 2,2e-16$; $\rho = 0,9667544$). Durch eine stärkere relative Zunahme der mittleren Entladungsraten können künstliche Mikrobewegungen somit zeitlich genauer im Entladungsmuster abgebildet werden.

Die neuronalen Antworten der MON-Neurone auf die künstlichen Mikrobewegungen lassen sich anhand des Synchronitätskoeffizienten R und der relativen Änderung der Entladungsrate (SMI) mittels Clusteranalyse in zwei Hauptantwortgruppen einteilen (Parameter: R & SMI; Methode: Wards; Distanz: eukli-

disch; siehe auch Abschnitt 2.2.5 auf Seite 53), welche in Abbildung 5.11B gezeigt sind. Die Zugehörigkeit der neuronalen Antwort auf die Mikrobewegungen zu einem der beiden Gruppen ist hierbei nicht von der verwendeten Strömungsbedingung abhängig (Stillwasser1, Strömung oder Stillwasser2 & Cluster1 oder Cluster2, Pearson χ^2 -Test: $\chi^2 = 2,1818$ für 2 Freiheitsgrade; p-Wert = 0,3359), d.h. starke Antworten treten beispielsweise nicht bevorzugt bei Mikrobewegungen im Stillwasser auf.

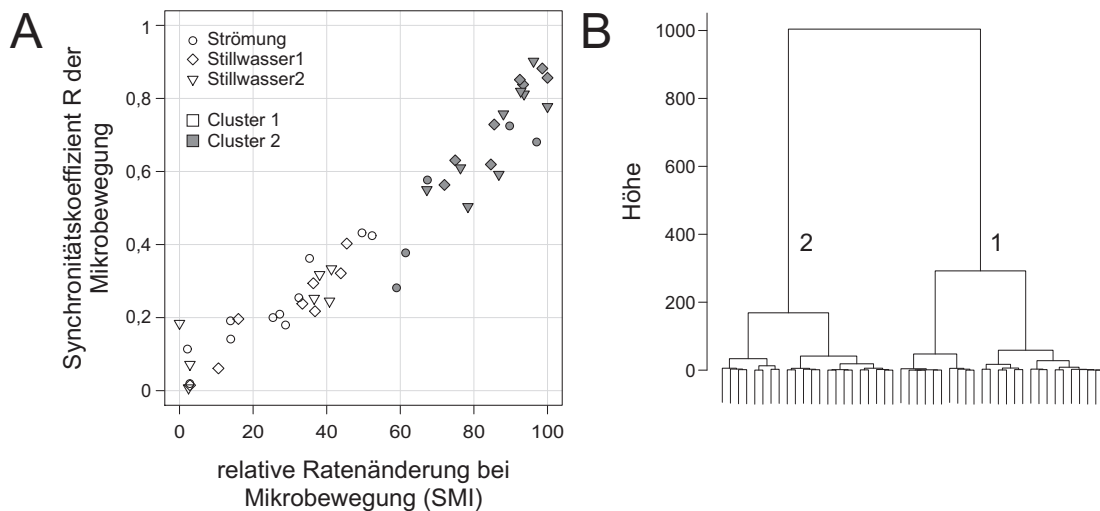


Abbildung 5.11: **Gruppierung der neuronalen Antworten auf die künstlichen Mikrobewegungen anhand relativer Ratenänderung und Synchronitätskoeffizient R.** **A:** relative Ratenänderung während der Mikrobewegung (SMI) gegen Synchronitätskoeffizient R. Positive SMI-Werte zeigen eine relative Zunahme der Entladungsrates während der künstlichen Mikrobewegungen verglichen mit der jeweiligen Versuchsbedingung ohne künstliche Mikrobewegung. Bei einem SMI-Wert von 100 sind nur während der künstlichen Mikrobewegungen Entladungen vorhanden, wohingegen bei einem SMI-Wert von 0 keine Unterschiede zwischen den Entladungsrates vorhanden sind. Die Symbole zeigen die unterschiedlichen Bedingungen Stillwasser1 (Raute), rostro-caudale Strömung (Kreise) und Stillwasser2 (Dreiecke) an. Dem Cluster1 zugeordneten schwachen Antworten auf die Mikrobewegung sind ungefüllt. Grau gefüllte Symbole zeigen die deutlicheren Antworten auf künstliche Mikrobewegungen des Clusters2. **B:** Das Dendrogramm der Clusteranalyse zeigt zwei Hauptcluster.

Neuronale Aktivität der MON-Neurone im zeitlichen Verlauf der künstlichen Mikrobewegungen

Die Abbildung 5.12A zeigt für alle 16 abgeleiteten Neurone die Zeitpunkte der Entladungsmaxima gegenüber der Antwortdauer (in Anlehnung an den mittleren Phasenwinkel bei Dipolstimulation), wobei die mittleren Entladungsmaxima zwischen 0,30 s und 0,98 s (Mittelwert = 0,53 s; Median = 0,54 s) nach Stimulationsbeginn variierten. Bei den hydrodynamisch aktiven Neuronen lagen die Zeitpunkte der mittleren Entladungsmaxima mit 54,8% Häufigkeit zwischen 0,5 und 0,6 s nach dem Stimulationsbeginn (zeitlicher Stimulationsverlauf in Abb.

5.2). Die von diesem Zeitfenster abweichenden neuronalen Antworten zeigten eine größere Antwortdauer und somit eine geringere zeitliche Präzision (kleinerer Synchronitätskoeffizient R) bei der Repräsentation der künstlichen Mikrobewegungen. Die mittlere Antwortdauer aller Neurone variierte zwischen 0,21 s und 0,67 s (Mittelwert = 0,49 s; Median = 0,54 s). Die verwendeten Bedingungen Mikrobewegung in Stillwasser1, Mikrobewegung in Strömung und Mikrobewegung in Stillwasser2 hatten keinen signifikanten Einfluss auf den Zeitpunkt des mittleren Entladungsmaximums (Einfaktorielle ANOVA: Quadratsumme = 0,0074; F-Wert = 0,227 für 2 Freiheitsgrade; p-Wert = 0,798; Mittelwerte: Stillwasser1 = 0,532; Strömung = 0,514; Stillwasser2 = 0,545) und die mittlere Antwortdauer aller abgeleiteten Neurone (Einfaktorielle ANOVA: Quadratsumme = 0,0765; F-Wert = 2,198 für 2 Freiheitsgrade; p-Wert = 0,123; Mittelwerte: Stillwasser1 = 0,463; Strömung = 0,549; Stillwasser2 = 0,465).

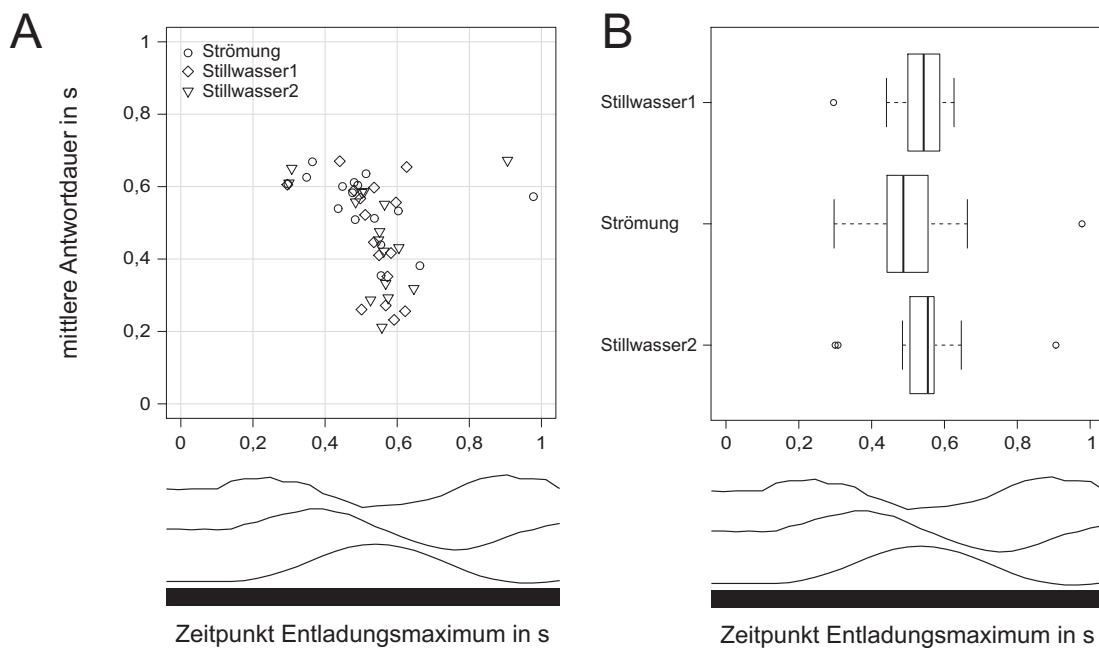


Abbildung 5.12: **Zeitliche Abbildung künstlicher Mikrobewegungen.** **A:** Zeitpunkt des mittleren Entladungsmaximums gegenüber der mittleren Antwortdauer separat für alle Neurone und Stimulationsbedingungen. Die Symbole zeigen die verwendeten Stimulationsbedingungen an (Stillwasser, Strömung und Stillwasser2). **B:** Verteilung der mittleren Entladungsmaxima über alle Neurone. Jeweils darunter: verwendete Stimulation mit Position des Versuchstieres (untere Spur), Geschwindigkeit (mittlere Spur) und Beschleunigung (obere Spur). Der Balken entspricht 1 s.

Die Entladungsmuster innerhalb der Mikrobewegungen im Stillwasser (Stillwasserbedingung1) und in rostro-caudaler Strömung sind für drei bereits in Abbildung 5.9 gezeigte Neurone in Abbildung 5.13 dargestellt. Bei beiden hydrodynamischen Neuronen ist eine zeitlich präzise Entladungssignatur während der

künstlichen Mikrobewegungen anhand vertikaler Linien in den Rasterplots zu erkennen, welche auf synchrone Entladungen über mehrere Mikrobewegungen hinweisen (Abb. 5.13A und B).

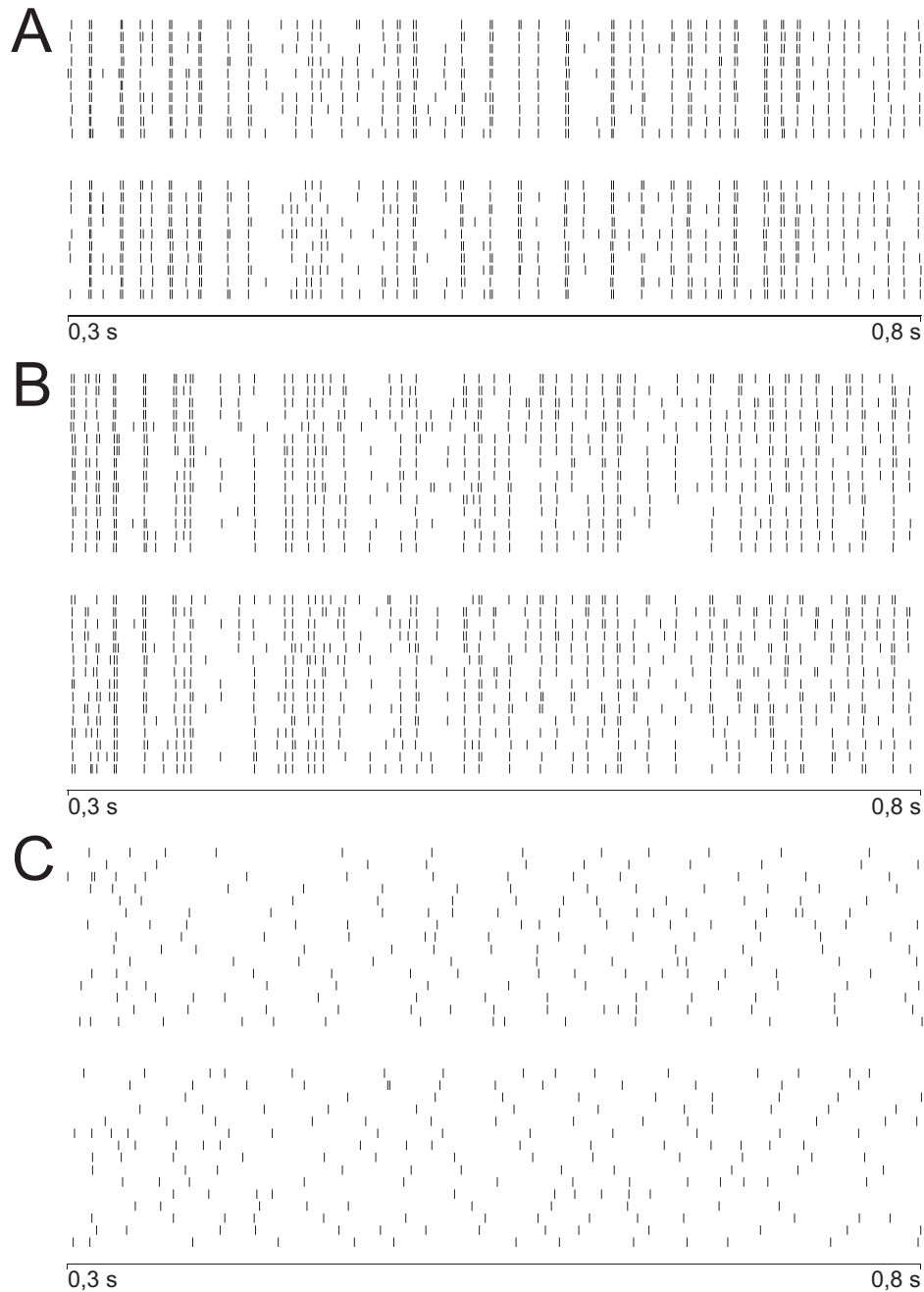


Abbildung 5.13: **Zeitliche Antwortmuster von MON-Neuronen während künstlicher Mikrobewegungen.** **A bis C:** vergrößerte Darstellung der in Abbildung 5.9 gezeigten Rasterplots bei Mikrobewegung im Stillwasser (oben) und in 6,5 cm/s starke rostro-caudaler Strömung (unten). Der dargestellte Zeitbereich ist in Abbildung 5.9D als weißer horizontaler Balken eingezeichnet. **A** zeigt die Antwort des nicht strömungssensitiven MON-Neurons 13 aus Tabelle 5.1. In **B** ist die Antwort des strömungssensitiven MON-Neurons 5 aus Tabelle 5.1 dargestellt. In **C** ist die Antwort des nicht hydrodynamischen Neurons K15 aus Tabelle 5.1 gezeigt.

Dieses Muster repräsentiert vermutlich kleinste Geschwindigkeitsänderungen bzw. Vibrationen, welche durch die Einzelschritte des zum Antrieb genutzten Schrittmotors erzeugt wurden (zeitlicher Abstand der Einzelschritte circa 8 ms). Bei dem nicht hydrodynamischen Neuron ist auch innerhalb der Mikrobewegungen keine vergleichbare Regelmäßigkeit im Entladungsmuster zu erkennen (Abb. 5.13C).

5.4 Diskussion

Im Schwimmverhalten von *Oncorhynchus mykiss* und *Leuciscus idus* wurden sowohl Schwimmphasen mit ausgeprägten Positionsänderungen beobachtet, wie auch stationäre Phasen, in denen der Fisch, großräumig betrachtet, über längere Zeit an einer bestimmten Position verharrte. Selbst in diesen Phasen des relativen Auf-der-Stelle-stehens waren jedoch beständig kleinräumige Bewegungen des Versuchstieres zu detektieren. Diese Mikrobewegungen könnten einen Stimulus für das mechanosensitive Seitenliniensystem darstellen. Daher wurden diese Mikrobewegungen künstlich nachgebildet, wobei die Stimulationsparameter den während der stationären Schwimmphase aufgetretenen mittleren Bewegungsfrequenzen von rund 1 Hz und dem Effektivwert der rostro-caudalen Geschwindigkeitskomponente von etwa 5 mm/s entsprachen. Die in den elektrophysiologischen Ableitungen ermittelten neuronalen Antworten der Hirnstammneurone auf die künstlichen Mikrobewegungen müssten somit einen Eindruck davon vermitteln können, in welcher Größenordnung die im Schwimmverhalten auftretenden Mikrobewegungen die Wahrnehmung der hydrodynamischen Umwelt beeinflussen können.

Während der Stimulation mit den künstlichen Mikrobewegungen im Stillwasser und in Strömung wurde bei 13 von 14 abgeleiteten hydrodynamischen Neuronen eine signifikante Zunahme der Entladungsraten festgestellt und alle 14 hydrodynamisch aktiven Neurone zeigten eine signifikante Häufung der Entladungen in einer bestimmten Stimulationsphase. Bei den Antworten auf künstliche Mikrobewegungen wurden zwischen den einzelnen Neuronen deutliche Unterschiede hinsichtlich der relativen Entladungsratenänderung und der zeitlichen Repräsentation festgestellt. Bei erneuter Stimulation mit künstlichen Mikrobewegungen im Stillwasser konnte bei 9 von 14 hydrodynamischen Neuronen kein signifikanter Unterschied zwischen den Entladungsraten der ersten und wiederholten Mikrobewegung im Stillwasser festgestellt werden. Das nicht hydrodynamisch aktive Neuron K15 zeigte während der künstlichen Mikrobewegungen keine signi-

fikante Ratenänderung. Das nicht hydrodynamisch aktive Neuron K16 zeigte bereits im spontanen Entladungsmuster eine deutlich bemerkbare Rhythmik (Abb. 5.9D). Die teilweise signifikanten Ratenänderungen und die Antwort während einer Stimulationsphase könnten daher auf einer Überlagerung des zellintrinsic Rhythmus mit der verwendeten Stimulation beruhen, was möglicherweise auch erklärt, dass nur bei den Mikrobewegungen in Strömung und wiederholtem Stillwasser signifikante Änderungen des Entladungsverhaltens vorkamen, wohingegen die erste Stimulation mit künstlichen Mikrobewegungen im Stillwasser zu keinen signifikanten Änderungen im Entladungsverhalten führte. Bei 7 der 8 Neurone, bei denen das komplette Stimulationsprotokoll mehrfach durchgeführt werden konnte, wurden keine Unterschiede zwischen den Entladungsraten der verschiedenen Stimulationsdurchgänge gefunden. Dieses Ergebnis und die fehlende Beeinflussung des Neurons K15 während der künstlichen Mikrobewegungen sprechen gegen eine Beeinflussung der neuronalen Aktivität durch die mechanische Interaktion des Neurons mit der Elektrodenspitze. Die mechanische Instabilität der Ableitungen ist jedoch vermutlich dafür verantwortlich, dass nur bei 16 der 33 untersuchten Neuronen stabile Ableitungen mit gutem Signal-Rauschverhältnis durchgeführt werden konnten.

Die künstlichen Mikrobewegungen führten zu einer reproduzierbaren und deutlichen neuronalen Antwort der hydrodynamisch aktiven Hirnstammneurone, wobei die Änderung des Entladungsverhaltens während der künstlichen Mikrobewegungen durch die Stimulation der mechanosensitiven Seitenlinie vermittelt wird. Bei Betrachtung der zeitlichen Antwortmuster der künstlichen Mikrobewegungen konnte der jeweilige Zeitpunkt des Entladungsmaximums nicht genau den Geschwindigkeits- und Beschleunigungsmaxima bzw. -minima der künstlichen Mikrobewegung zugeordnet werden. In den Peristimuluszeithistogrammen der hydrodynamisch aktiven Neurone wurden jedoch deutliche, und über mehrere Stimulationen reproduzierbare, Entladungsmuster innerhalb der neuronalen Antwort auf die künstlichen Mikrobewegung gefunden (Abb. 5.9). Die wahrscheinlichste Ursache dafür ist vermutlich die große Empfindlichkeit des Seitenliniensystems gegenüber selbst kleinsten Wasserbewegungen. Vermutlich wurden diese Muster durch winzige Bewegungssignaturen während der künstlichen Mikrobewegungen verursacht, was die Vermutung nahelegt, dass die mechanosensitive Seitenlinie die Relativbewegungen des Fisches im Wasser vermutlich sogar im Submillimeterbereich auflösen kann.

Die zeitliche Präzision, Intensität und Reproduzierbarkeit der neuronalen Antwortmuster auf künstlichen Mikrobewegungen erinnert stark an die Antwortsi-

gnaturen, welche bei bewegten Objekten gefunden wurden (Wubbels 1991; Engelmann et al. 2003; Mogdans & Bleckmann 1998; Mogdans & Geisen 2009). Wie in der vorliegenden Arbeit wurden auch in diesen Studien, insbesondere im Vergleich mit den großräumigen Strömungsreizen, sehr deutlich ausgeprägte neuronale Antworten beobachtet. Die bewegten Objekte führten ferner zu deutlichen Verhaltensantworten (Vogel & Bleckmann 2001), was auch eine potentielle Verhaltensrelevanz der bewegten Objekte impliziert. In diesem Kontext stellt sich die Frage, ob die bewegten Objekte und die im Schwimmverhalten auftretenden Mikrobewegungen, zumindest auf der Ebene der primären Afferenzen und unteren Ebenen des MON, nicht prinzipiell vergleichbare hydrodynamische Stimuli darstellen. Im Falle der bewegten Objekte wird das den Fisch umgebende Wasser beim Passieren des Objektes kurzzeitig beschleunigt, wohingegen bei der künstlichen Mikrobewegung der Fisch relativ zum umgebenden Wasser beschleunigt wird.

Die Mikrobewegungen im Schwimmverhalten resultieren aus winzigen Unstetigkeiten im Schwimmverhalten und sind daher naheliegender Weise eine permanente Begleiterscheinung eines Lebens in Strömung. Die im Schwimmverhalten vermutlich permanent vorhandenen Mikrobewegungen könnten die Wahrnehmung anderer hydrodynamischer Signale erheblich stören oder zumindest wesentlich beeinflussen. Die neuronalen Antworten der hydrodynamisch aktiven Neurone bei Stimulation mit der 6,5 cm/s starken rostro-caudalen Strömung waren zumeist wesentlich schwächer als die neuronalen Antworten auf die künstlichen Mikrobewegungen. Die Unstetigkeit im Schwimmverhalten bei gegen die Hauptströmung anschwimmenden Fischen überlagert daher vermutlich sowohl die DC-Komponente der Strömung wie auch die in der Hintergrundströmung vorhandene Mikrofluktuationssignatur mit zusätzlichen hydrodynamischen Bewegungssignalen. Diese potentiellen Störungen wirken simultan und großräumig auf die Neuromasten des Fisches, wobei für Neuromasten eines Typs (Kanal- bzw. Oberflächenneuromasten) und einer Ausrichtungsachse ein vergleichbares hydrodynamisches Signal zu erwarten ist. Aufgrund der Nervenimpulslaufzeitkompensation der primären Afferenzen (Schellart & Kroese 2002) treffen die Informationen aus unterschiedlichen Abschnitten des Fisches zeitgleich im Hirnstamm ein. Die bei in Strömung schwimmenden Fischen vermutlich permanent vorhandene Gleichaktstörung wurde hinsichtlich der Verarbeitung hydrodynamischer Strömungssignale in bisherigen Studien zur Wahrnehmung von Wasserströmungen nicht berücksichtigt. Die im hydrodynamischen Messsignal wahrscheinlich enthaltenen Gleichaktstörungen können jedoch die Geschwindigkeitsbestimmung mittels

Kreuzkorrelation deutlich verschlechtern (vergleiche Abb. 7.3A und E im Kapitel 7). Die im Schwimmverhalten der Fische auftretenden Unstetigkeiten könnten die Analyse zeitlich versetzter Signale mittels eines Kreuzkorrelationsmechanismus daher zumindest deutlich beeinträchtigen. Eine mögliche Wahrnehmung der DC-Komponente der Strömung ist aufgrund der starken Stimulation des Seitenliniensystems mit überlagerten, periodisch alternierenden Strömungsrichtungen bei stärkeren Strömungsgeschwindigkeiten ebenfalls beeinträchtigt. Die DC-Komponente der Strömung könnte jedoch zumeist bei einer längeren zeitlichen Integration als mittlere Aktivität abgebildet werden.

In der Strömung schwimmende Fische könnten die Mikrobewegungen jedoch auch gezielt als Informationsquelle zur neuronalen Kontrolle der Schwimmbewegungen nutzen. Bereits in den Anfängen der Seitenlinienforschung wurde die Hypothese aufgestellt, dass aquatische Organismen die Druckänderungen bei dem Zurückdriften in der Strömung messen und durch Anpassung ihres Schwimmverhaltens diese Verdriftung kompensieren (erwähnt in Northcutt 1997). Die Abbildung 5.14 zeigt einen einfachen Mechanismus um die rostro-caudale Position innerhalb der Strömung mit Hilfe von Seitenlinieninformationen zu stabilisieren.

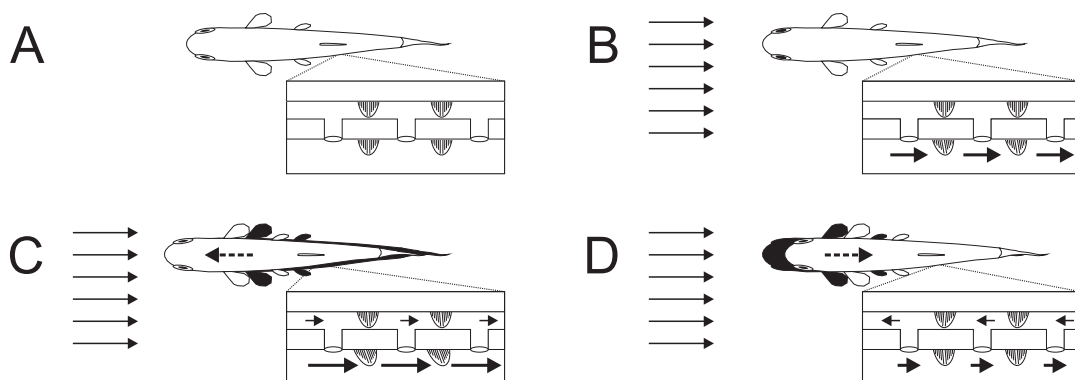


Abbildung 5.14: **Nutzung der Mikrobewegungen zum Beibehalten der absoluten rostro-caudalen Position.** **A bis D:** mögliche Auswirkung von Strömung und Relativbewegung des Fisches auf Oberflächen- und Kanalneuromasten (vergrößert dargestellt). **A:** stationärer Fisch im Stillwasser **B:** stationärer Fisch in Strömung **C:** stromauf schwimmender Fisch **D:** stromab driftender Fisch. Die Strömungsrichtung und -stärke ist mit durchgehenden Pfeilen symbolisiert, die Bewegung des Fisches ist durch gestrichelte Pfeile dargestellt. Die dunkle Fischeilhouette zeigt die vorherige Position an. Die Auslenkung der Cupulae ist zur Verdeutlichung stark überzeichnet.

Im Stillwasser ohne Schwimmbewegung werden die Oberflächen- und Kanalneuromasten nicht stimuliert (Abb. 5.14A). Befindet sich der Fisch in großräumiger Strömung auf einer fixen Position, werden vorrangig die Oberflächenneuromasten ausgelenkt, wohingegen zumindest die Kanalneuromasten des Fischrumpfs nicht gereizt werden (Abb. 5.14B). Beschleunigt der Fisch jedoch während des

Schwimmens und bewegt sich stromauf, so werden die Oberflächenneuromasten im Vergleich zur fixen Position stärker stimuliert, wobei die Beschleunigung des Fisches zusätzlich zur Fluidbewegung im Kanal führt (Abb. 5.14C). Driftet der Fisch nach der Beschleunigungsphase zurück, so verringert sich im Vergleich zur fixen Position die Auslenkung der Oberflächenneuromasten und es tritt eine der Beschleunigungsphase entgegengesetzte Fluidbewegung im Kanal auf (Abb. 5.14D). Diese Phase des Stromabdriftens ist insbesondere durch die beiden entgegengesetzten Auslenkungen der Oberflächen- und Kanalneuromasten außerordentlich charakteristisch und daher vermutlich sehr gut zur Initiierung eines neuen Schwimmzyklus geeignet (Übersicht beispielsweise in Colgate & Lynch 2004).

Ein komplexes Verhalten wie die Schwimmbewegungen werden meist von einer Vielzahl von sensorischen Eingängen beeinflusst. Daher ist die exklusive Beteiligung der Seitenlinie an der Schwimmlokomotion eher unwahrscheinlich. Neben visuellen und taktilen Eingängen (Übersicht in Arnold 1974) könnte auch das vestibuläre System beteiligt sein. Das vestibuläre System scheint für das Schwimmverhalten essentiell zu sein (Dijkgraaf 1933), wobei die mit der Seitenlinie erfassten Beschleunigungen während der Mikrobewegungen vermutlich nicht in vergleichbarem Maße vom vestibulären System abzubilden sind. Die Haarsinneszellen des Sacculus haben ihre höchste Sensitivität in einem Frequenzbereich von 50 bis 400 Hz, sie sind bei sehr tiefen Frequenzen wie sie von den Mikrobewegungen erzeugt werden weniger sensitiv (Cohen & Winn 1967; McKibben & Bass 1999). Die Bogengänge detektieren hingegen Rotationsbewegungen, jedoch nicht die bei den Mikrobewegungen zu erwartenden Linearbeschleunigungen. Das Seitenliniensystem hingegen kann im Vergleich zu den anderen Sinnessystemen auch lineare Beschleunigungen mit relativ niedriger Frequenz bei großer Sensitivität abbilden.

Zukünftige Arbeiten sollten das Schwimmverhalten mit Fokus auf rostro-caudale Bewegungsamplituden im Bereich der Empfindlichkeit der Neuromasten weitergehend untersuchen und den Einfluss der verwendeten Fischart, der Individuengröße, der mittleren Strömungsgeschwindigkeit und des Turbulenzgrades auf die Amplituden der Mikrobewegungen ermitteln. Bisherige Arbeiten gehen von Schwimmgeschwindigkeiten von Null relativ zum Boden aus (Webb 1994), merken jedoch an, dass dieser Zustand schwer zu erreichen und aufrechtzuerhalten ist. Kleinste Submillimeterbewegungen konnten jedoch aufgrund der geringen räumlichen Auflösungen der verwendeten Videosysteme nicht abgebildet werden. Wie die elektrophysiologischen Ableitungen mit künstlichen Mikrobewegungen jedoch gezeigt haben, können diese kleinen Bewegungen des Fisches bereits einen wesentlichen Stimulus für die mechanosensitive Seitenlinie darstellen.

Kapitel 6

Einfluss der Fluktuationismuster auf die Ermittlung der Strömungsgeschwindigkeit

6.1 Einleitung

Bisherige Studien zeigten, dass die Geschwindigkeit strömender Flüssigkeiten anhand der räumlich-zeitlichen Ausbreitung von in der Hauptströmung enthaltenen Fluktuationen bestimmt werden kann (Chagnaud et al. 2008b; Klein & Bleckmann 2011; Venturelli et al. 2012). Hierzu wurden die in der Strömung enthaltenen Fluktuationen (AC-Komponente) an mindestens zwei Messorten erfasst und der zeitliche Versatz der beiden Signalverläufe mittels Kreuzkorrelation bestimmt. Diese Studien nutzten hierbei entweder bereits in der Hauptströmung vorhandene Fluktuationen (Chagnaud et al. 2008b) oder erzeugen eine Kármán'sche Wirbelstraße durch einen in die Strömung eingebrachten Halbzylinder (Klein & Bleckmann 2011; Venturelli et al. 2012). Da in einer möglichen industriellen Anwendung eines bionischen Messverfahrens die Fluktuationen möglicherweise in nahezu laminaren Fluidströmen gezielt erzeugt werden müssen, ergeben sich folgende Fragestellungen:

1. Sind die mittels Kreuzkorrelation ermittelten Signalverzögerungen von den hydrodynamischen Eigenschaften der erzeugten Fluktuationen wie beispielsweise Frequenzzusammensetzung, Signalamplitude oder Regelmäßigkeit des Fluktuationismusters abhängig?
2. Welche hydrodynamischen Vorgänge liegen einer möglichen Beeinflussung des korrelationsbasierten Strömungsmessverfahrens durch die erzeugten Strö-

mungsfelder komplexer Fluktuationenmuster zugrunde?

3. Welche in die Strömung eingebrachten Objekte generieren zur Bestimmung der Geschwindigkeit mittels Kreuzkorrelation besonders geeignete Fluktuationenmuster?
4. Lässt sich das korrelationsbasierte Strömungsmessverfahren und die Bestimmung der Strömungsgeschwindigkeiten über die Ablösefrequenz von Wirbeln von einem in die Strömung verbrachten Objekt (Wirbelstromzähler) kombinieren, um ein genaueres und zuverlässigeres Messverfahren zu entwickeln?

6.2 Methoden

6.2.1 Hydrodynamische Messungen

Die Versuchsreihe wurde in einem horizontalen, zirkularen Strömungstank durchgeführt, wobei der Versuchsbereich 34 cm lang, 15 cm breit und 10 cm hoch mit Wasser gefüllt war. Die gleichmäßige Fluidströmung wurde mit einem DC-Motorgetriebenen Propeller (Aeronaut) und unter- sowie oberhalb des Versuchsbereichs angebrachten Kollimatoren erzeugt. Die verwendeten Strömungsgeschwindigkeiten wurden mittels Particle Image Velocimetry (PIV) (Kamera: Photron Fastcam Ultima APX; Laser: Infrarot 1 W; Partikel: 50 μm Titandioxid) ohne eingebrachte Objekte bestimmt und betragen zwischen 3,1 und 9,9 cm/s. In den Versuchsbereich wurde eine vertikale Montageplatte entlang der Strömungsrichtung eingebracht, um zwei künstliche Kanalneuromasten mit unterschiedlichen Porenplatten auszustatten und in einem Abstand von 1 cm definiert zu befestigen (Abb. 6.1A). Die künstlichen Kanalneuromasten nutzten Fototransistoren zur Detektion der Lamellenauslenkung (Klein 2009, siehe Abb. 8.1 auf Seite 229 und Abb. 8.2 auf Seite 231). Zur gezielten Erzeugung von Fluktuationen im Versuchsbereich wurden ein 1 cm großer Halbzylinder (Konfiguration 1), ein 3 cm großer Halbzylinder (Konfiguration 2 und 3) und ein 2 cm breites Aluminiumblechstück (Konfiguration 4) an vergleichbarer Position (äußere Kante jeweils 4,5 cm stromauf der zentralen der drei Poren mit 1 cm seitlichem Abstand zur Montageplatte) eingebracht (Abb. 6.1). Neben einer Blende mit einzelnen Poren, wurde in der in Abbildung 6.1D gezeigten Konfiguration 3 eine Porenplatte mit jeweils 13 kleineren Poren verwendet.

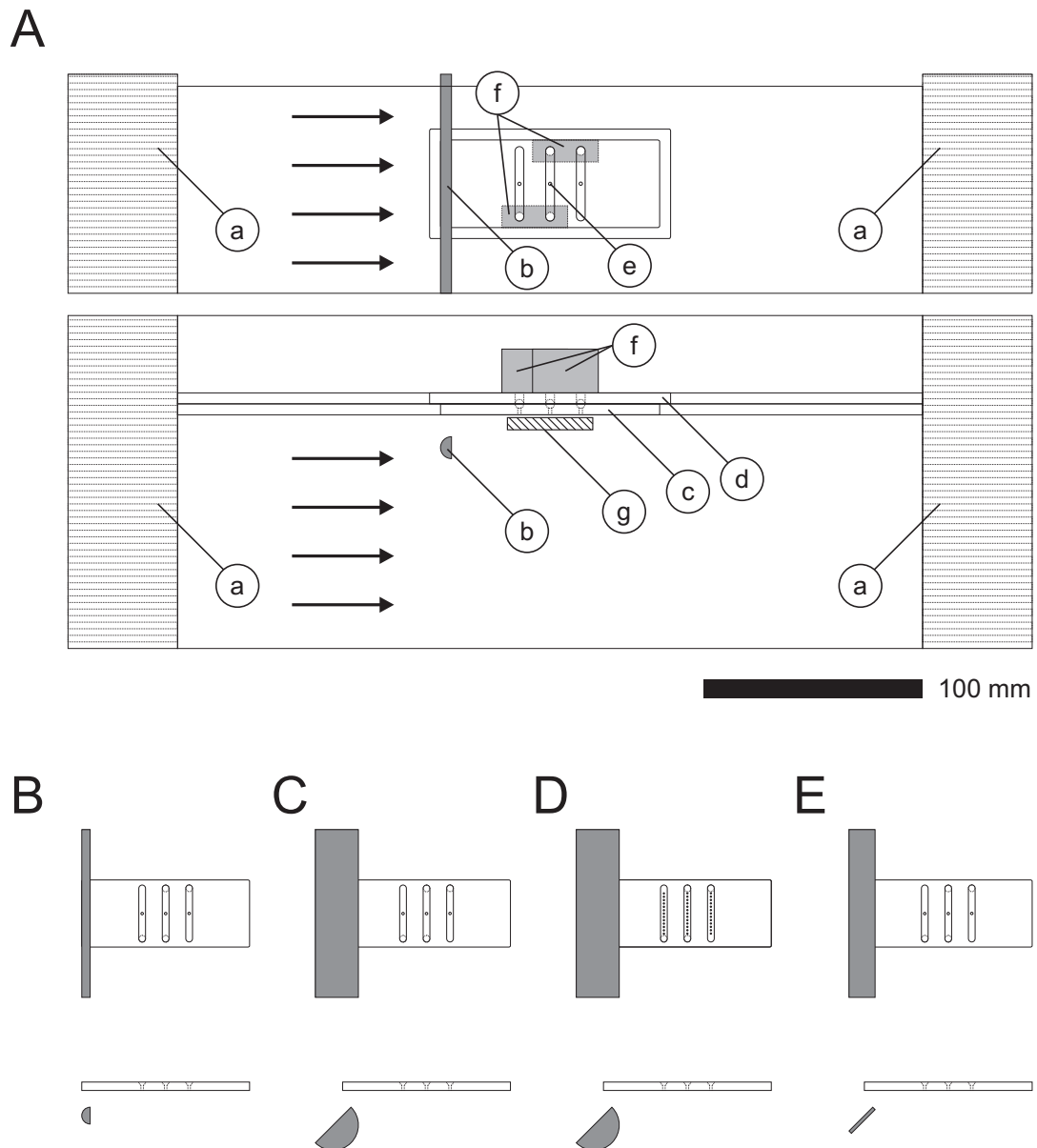


Abbildung 6.1: **Versuchsaufbau zur Erzeugung unterschiedlicher Fluktuationenmuster.** **A:** Versuchstank mit Kollimatoren (a) und in die Strömung eingebrachtem Objekt (b) in Seitenansicht (oben) und Aufsicht (unten). Oberflächenbündige Porenblende (c) und Kanalsystem (d) verbinden die zentralen Poren-Reihen (e) über gleiche Kanallängen mit den beiden künstlichen Kanalneuomasten (f). Die mittlere Strömungsgeschwindigkeit wurde in einem sensornahen Bereich (g) für die verwendeten Konfigurationen mittels COMSOL-Simulation bestimmt (schraffierter Bereich). **B:** Konfiguration 1 mit einporiger Blende und 1 cm Halbzyylinder. **C:** Konfiguration 2 mit einporiger Blende und 45° schrägstehendem 3 cm Halbzyylinder. **D:** Konfiguration 3 mit 13-poriger Blende und 45° schrägstehendem 3 cm Halbzyylinder. **E:** Konfiguration 4 mit einporiger Blende und 45° schrägstehendem Aluminiumblech.

Hierbei sollte untersucht werden, ob sich die mehrporigen Kanäle für die zeitliche Korrelation der hydrodynamischen Fluktuationen besser eignen als einfache Kanäle. Da komplexe Kanäle als örtliche Rauschfilter wirken können (Klein et al. 2013), wurde angenommen, dass sich durch die Verwendung mehrporiger Kanäle

möglicherweise auch die zeitliche Korrelation von hydrodynamischen Signalen verbessern lassen könnte. Die Sensorsignale wurden mit einem A/D-Wandler (Power 1401, Cambridge Electronic Design) digitalisiert (Samplingrate 1 kHz) und zur späteren Analyse mit Spike2 (Cambridge Electronic Design) auf einem PC gespeichert.

Um den DC-Anteil der Sensoren zu entfernen, wurden die Signalverläufe der beiden Sensoren mit 0,1 Hz hochpassgefiltert. Anschließend wurden die Kreuzkorrelationsfunktion (KK) der beiden Sensorsignalverläufe mittels Spike2 berechnet. Für die KK wurde ein Zeitfenster von -0,5 bis +0,5 s gewählt und das Maximum innerhalb dieses Zeitfensters manuell bestimmt. Für die Autokorrelationsfunktion (AK) wurde der Signalverlauf des ersten, stromauf positionierten Sensors genutzt und in einem Zeitfenster von 0 bis +2 s das zweite Maximum der AK manuell bestimmt. Für beide Korrelationen wurde der gesamte aufgenommene Signalverlauf (circa 3,5 min) genutzt, sodass die ermittelten zeitlichen Verzögerungen der KK und AK eine Mittelung über die Gesamtdauer der Signalverläufe darstellen.

6.2.2 Simulation der lokalen Strömungsgeschwindigkeit in Sensornähe

Die Beeinflussung der lokalen Durchschnittsgeschwindigkeit aufgrund der Querschnittsverengung durch die eingebrachten Objekte wurden mittels COMSOL-Simulationsrechnung (Version 4.2, laminare Strömung, Fluid: Wasser) für die verwendeten Versuchsanordnungen und Hauptströmungsgeschwindigkeiten durchgeführt. Hierbei wurde die mittlere Strömungsgeschwindigkeit in Sensornähe ("g" in Abb. 6.1A) für die verwendeten Messkonfigurationen und die genutzten Hauptströmungsgeschwindigkeiten ermittelt.

6.2.3 Künstlich erzeugte Signalformen

Um die Wirkung unterschiedlicher Parameter der hydrodynamischen Fluktuationen auf das bionische Strömungsmessverfahren zu imitieren, wurden mittels Spike2 ("Wavemake"-Skript, Cambridge Electronic Design, www.ced.co.uk/files/Scripts/wavemake.zip) folgende Signalformen erzeugt: weißes Rauschen mit Tiefpassfilterung mit 100 Hz beziehungsweise 400 Hz, Sinussignal mit 13 Hz, Komplexsignale mit unterschiedlichen Anteilen (1:1, 1:3, 3:1) des weißen Rauschens (Tiefpassfilterung von 400 Hz) und dem 13 Hz-Sinus. Um die Ausbreitung von Fluktuationen entlang der Anordnung von zwei Sensoren zu imitieren, wurden jeweils zwei identische künstliche Signalverläufe verwendet und jeweils einer

der Signalverläufe mit einem zeitlichen Versatz von 0,1 s versehen. Anschließend wurden die Kreuzkorrelationsfunktion der beiden Signalverläufe (zeitliche Verzögerung der Fluktuationen) und die Autokorrelation eines Signalverlaufs (Periodizität der sich ablösenden Wirbel) berechnet.

6.3 Ergebnisse

6.3.1 Hydrodynamische Messungen

Abbildung 6.2 zeigt die Ergebnisse der Messung in der Konfiguration 1 (siehe Abb. 6.1B). Die durch KK der beiden Sensorsignale ermittelten Signalverzögerungen korrelierten mit den Referenzströmungsgeschwindigkeiten (Spearman's Rangkorrelation: $S = 38873,17$; p-Wert = $4,198e-16$; $\rho = -0,8666588$) (Abb. 6.2B). Trotz vergleichsweise hoher Kreuzkorrelationskoeffizienten (KKK) zwischen 0,68 und 0,84 (Median = 0,78) wies die Übertragungsfunktion eine Uneindeutigkeit aufgrund gleicher Verzögerungen der beiden Sensorsignalverläufe beispielsweise bei den Referenzgeschwindigkeiten 3 cm/s und 8 cm/s auf (Abb. 6.2C). Die mittels AK bestimmte Periodizität korrelierte mit den verwendeten Referenzströmungsgeschwindigkeiten (Spearman's Rangkorrelation: $S = 41511,06$; p-Wert < $2,2e-16$; $\rho = -0,993328$) (Abb. 6.2D), wobei die Autokorrelationskoeffizienten (AKK) des ersten, stromauf positionierten Sensors zwischen 0,44 und 0,85 (Median = 0,56) betrugen (Abb. 6.2E). Bei höheren Referenzströmungsgeschwindigkeiten traten sowohl bei Sensor 1 (Spearman's Rangkorrelation: $S = 321,3053$; p-Wert = $2,2e-16$; $\rho = 0,9845712$) (Abb. 6.2F) als auch bei Sensor2 (Spearman's Rangkorrelation: $S = 315,7887$; p-Wert < $2,2e-16$; $\rho = 0,9848361$) (Abb. 6.2G) höhere Sensorsignalamplituden auf, wobei Sensor1 im Allgemeinen deutlich größere Signalamplituden aufwies (zweiseitiger, gepaarter Wilcoxon Vorzeichenrangtest mit Kontinuumskorrektur: $V = 1275$; p-Wert = $7,79e-10$; Medianunterschied = $0,2224$ V).

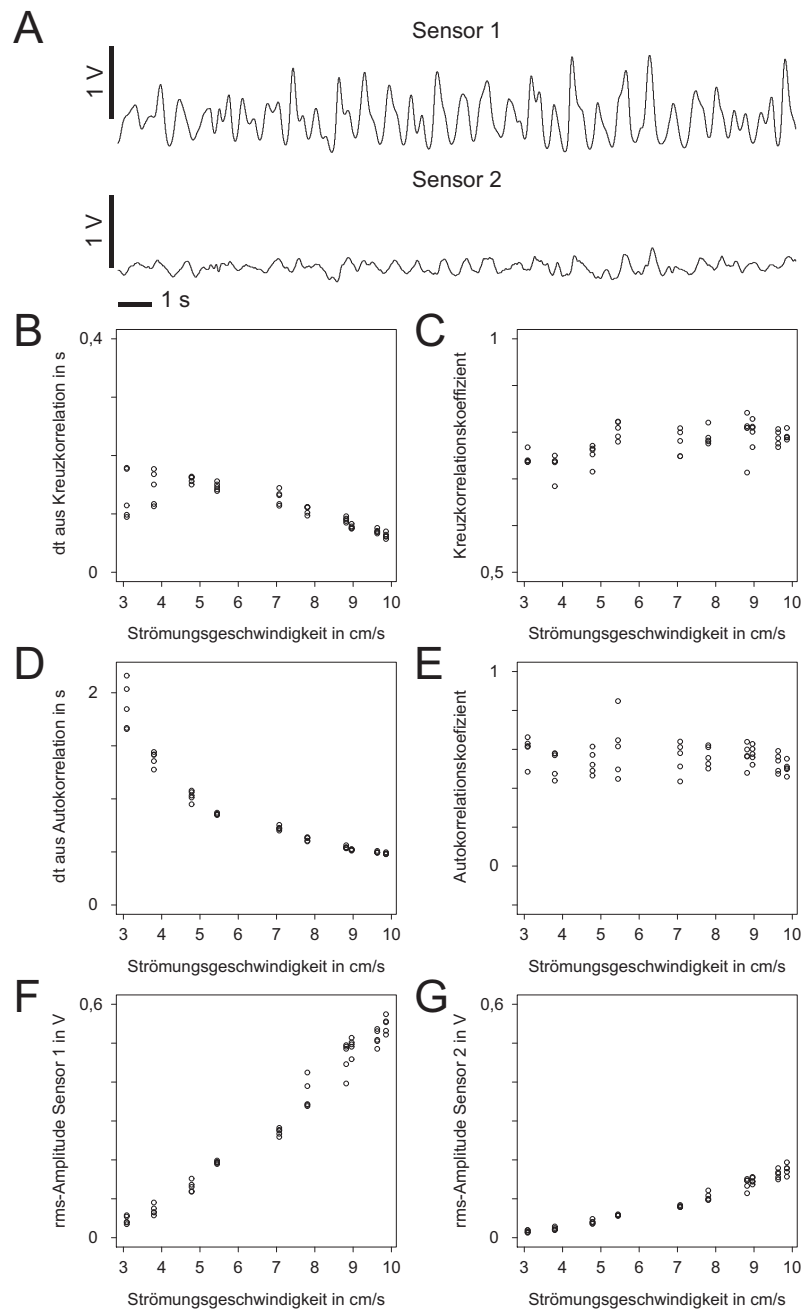


Abbildung 6.2: **Hydrodynamische Parameter aus Konfiguration 1.** **A:** Signalspur der beiden Sensoren bei 7,1 cm/s. **B:** Zeitversatz der Signalverläufe der beiden Sensoren. **C:** Koeffizienten der Kreuzkorrelationen. **D:** Periodizität des ersten Sensors. **E:** Koeffizienten der Autokorrelationen. **F** und **G:** Effektivwerte der Sensorsignale.

In Konfiguration 2 (siehe Abb. 6.1C) korrelierten die mittels KK der beiden Sensoren ermittelten Signalverlaufsverzögerungen mit den verwendeten Referenzströmungsgeschwindigkeiten (Spearman's Rangkorrelation: $S = 41257,26$; p -Wert $< 2,2e-16$; $\rho = -0,9811408$) (Abb. 6.3B), wobei die KKK zwischen 0,68 und 0,81 (Median = 0,73) lagen (Abb. 6.3C). Die mittels AK bestimmte Periodizität des

Signalverlaufs des ersten Sensors korrelierte nicht mit den verwendeten Referenzströmungsgeschwindigkeiten (Spearman's Rangkorrelation: $S = 11245,51$; p-Wert = $0,3341$; $\rho = 0,1508975$) (Abb. 6.3D), wobei auch nur kleine AKK zwischen $-0,17$ und $0,18$ (Median = $0,00$) ermittelt wurden (Abb. 6.3E). Bei höheren Referenzströmungsgeschwindigkeiten traten sowohl bei Sensor1 (Spearman's Rangkorrelation: $S = 4822,974$; p-Wert = $7,296e-11$; $\rho = 0,7684046$) (Abb. 6.3F) als auch bei Sensor2 (Spearman's Rangkorrelation: $S = 723,2401$; p-Wert < $2,2e-16$; $\rho = 0,9652706$) (Abb. 6.3G) höhere Signalamplituden auf, wobei Sensor2 im Allgemeinen leicht höhere Signalamplituden aufwies (zweiseitiger, gepaarter Wilcoxon Vorzeichenrangtest mit Kontinuumskorrektur: $V = 1175$; p-Wert = $2,174e-07$; Medianunterschied = $0,0259$ V).

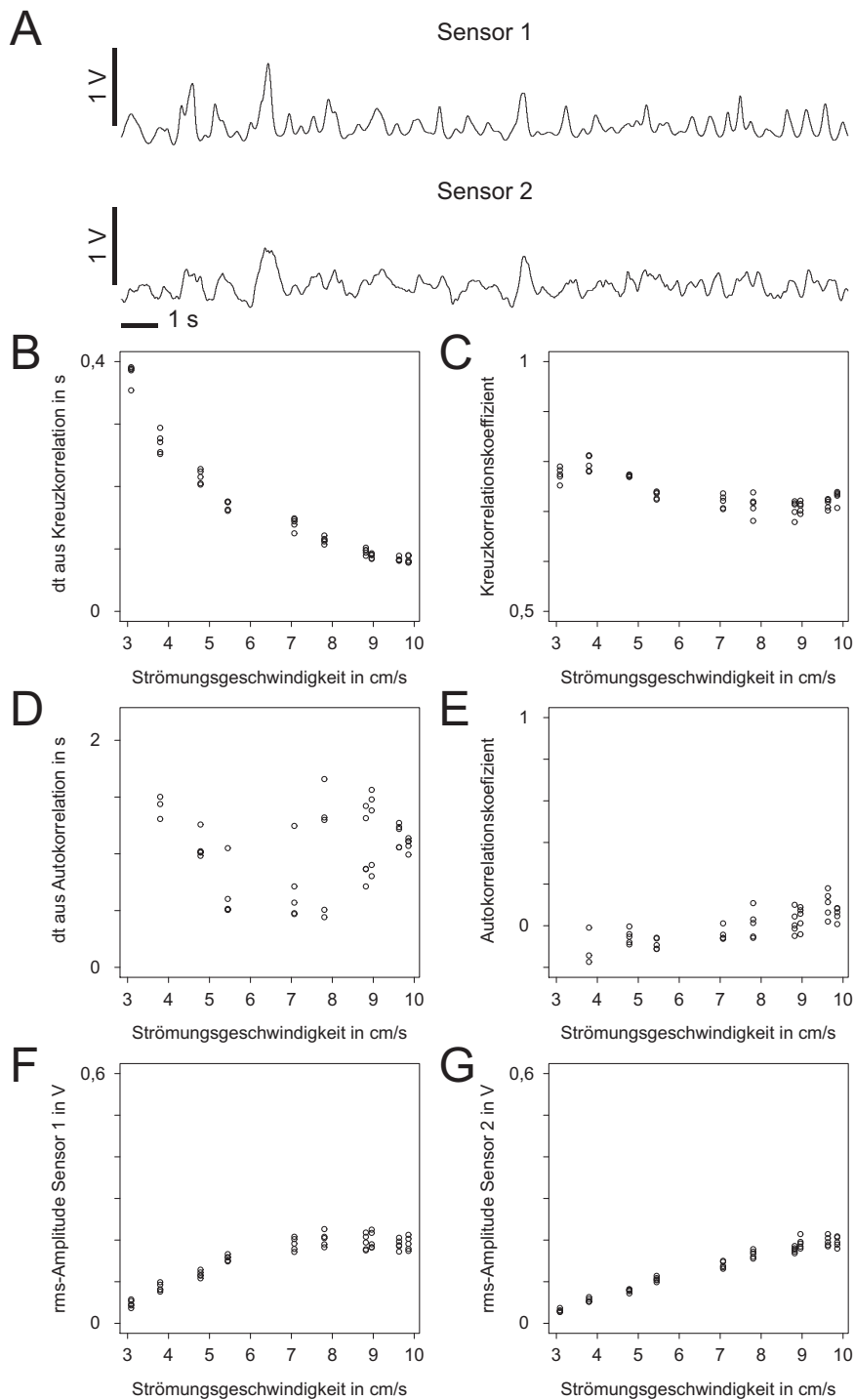


Abbildung 6.3: **Hydrodynamische Parameter aus Konfiguration 2.** **A:** Signalspur der beiden Sensoren bei 7,1 cm/s. **B:** Zeitversatz der Signalverläufe der beiden Sensoren. **C:** Koeffizienten der Kreuzkorrelationen. **D:** Periodizität des ersten Sensors. **E:** Koeffizienten der Autokorrelationen. **F** und **G:** Effektivwert der Sensorsignale.

Die mittels KK ermittelten Verzögerungen der Signalverläufe der beiden Sensoren in Konfiguration 3 (siehe Abb. 6.1D) korrelierten mit den verwendeten Referenzströmungsgeschwindigkeiten (Spearman's Rangkorrelation: $S = 41447,08$;

p-Wert $< 2,2e-16$; $\rho = -0,9902559$) (Abb. 6.4B), wobei KKK zwischen 0,66 und 0,82 (Median = 0,76) ermittelt wurden (Abb. 6.4C).

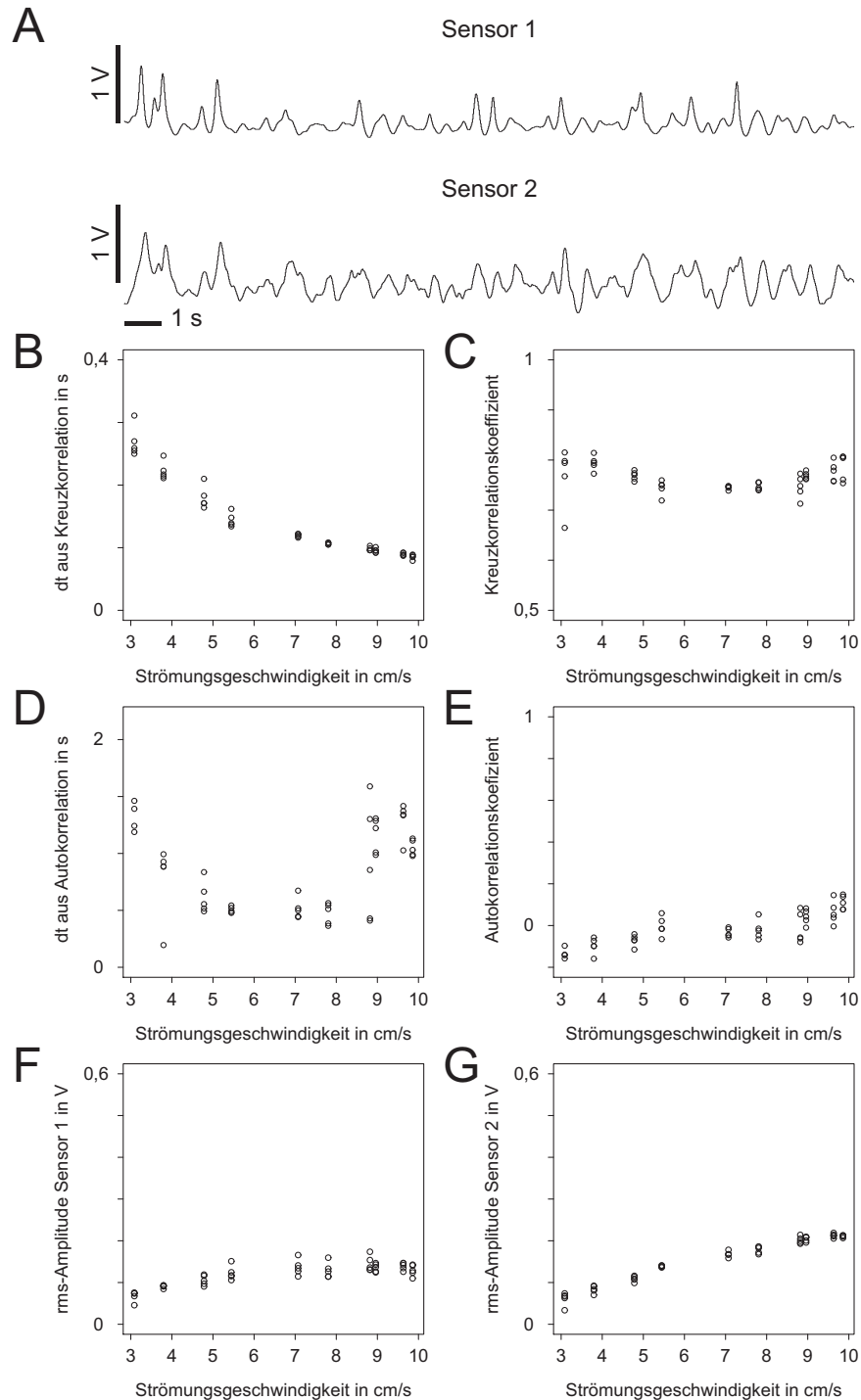


Abbildung 6.4: **Hydrodynamische Parameter aus Konfiguration 3.** **A:** Signalspur der beiden Sensoren bei 7,1 cm/s. **B:** Zeitversatz der Signalverläufe der beiden Sensoren. **C:** Koeffizienten der Kreuzkorrelationen. **D:** Periodizität des ersten Sensors. **E:** Koeffizienten der Autokorrelationen. **F** und **G:** Effektivwert der Sensorsignale.

Die mittels AK bestimmte Periodizität korrelierte nicht mit den verwendeten Referenzströmungsgeschwindigkeiten (Spearman's Rangkorrelation: $S = 14123,39$; p-Wert = 0,05185; $\rho = 0,2794188$) (Abb. 6.4D), wobei die AKK des ersten, stromauf positionierten Sensors im Bereich von -0,16 bis 0,15 (Median = -0,02) lagen (Abb. 6.4E). Bei höheren Referenzströmungsgeschwindigkeiten wiesen Sensor1 (Spearman's Rangkorrelation: $S = 6239,794$; p-Wert = 1,5e-08; $\rho = 0,70037$) (Abb. 6.4F) und Sensor2 (Spearman's Rangkorrelation: $S = 672,9982$; p-Wert < 2,2e-16; $\rho = 0,9676832$) (Abb. 6.4G) höhere Signalamplituden auf, wobei die Signalamplituden von Sensor2 im Allgemeinen etwas höher waren (zweiseitiger, gepaarter Wilcoxon Vorzeichenrangtest mit Kontinuumskorrektur; $V = 107$; p-Wert = 3,117e-07; Medianunterschied = 0,0404 V).

Die mittels KK der beiden Sensoren der Konfiguration 4 (siehe Abb. 6.1E) ermittelten Signalverzögerungen korrelierten mit den verwendeten Referenzströmungsgeschwindigkeiten (Spearman's Rangkorrelation: $S = 41485,37$; p-Wert < 2,2e-16; $\rho = -0,9920948$) (Abb. 6.5B), wobei die KKK zwischen 0,72 und 0,87 (Median = 0,77) betrug (Abb. 6.5C). Die mittels AK bestimmte Periodizität korrelierte ebenfalls mit den verwendeten Referenzströmungsgeschwindigkeiten (Spearman's Rangkorrelation: $S = 28020,58$; p-Wert < 2,2e-16; $\rho = -0,974671$) (Abb. 6.5D) und die AKK des ersten, stromauf positionierten Sensors betrug zwischen 0,07 und 0,35 (Median = 0,19) (Abb. 6.5E). Höhere Referenzströmungsgeschwindigkeiten führten sowohl bei Sensor 1 (Spearman's Rangkorrelation: $S = 5466,07$; p-Wert = 1,002e-09; $\rho = 0,7375237$) (Abb. 6.5F) wie auch bei Sensor2 (Spearman's Rangkorrelation: $S = 622,7564$; p-Wert < 2,2e-16; $\rho = 0,9700957$) (Abb. 6.5G) zu stärkeren Sensorausgangssignalen, welche bei Sensor2 im Vergleich zu Sensor1 höher waren (zweiseitiger, gepaarter Wilcoxon Vorzeichenrangtest mit Kontinuumskorrektur: $V = 9$; p-Wert = 1,342e-09; Medianunterschied = 0,0568 V).

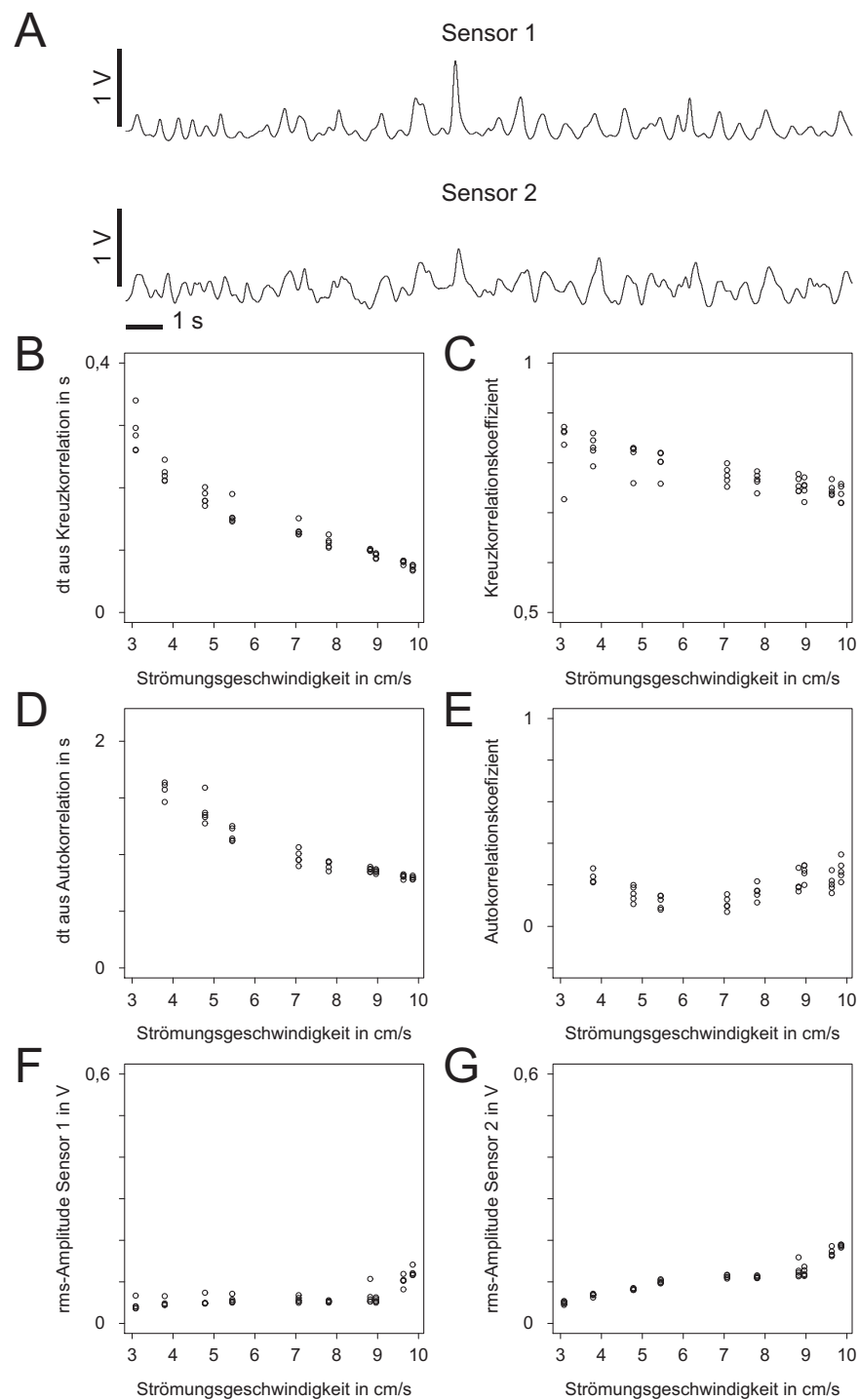


Abbildung 6.5: **Hydrodynamische Parameter aus Konfiguration 4.** **A:** Signalspur der beiden Sensoren bei 7,1 cm/s. **B:** Zeitversatz der Signalverläufe der beiden Sensoren. **C:** Koeffizienten der Kreuzkorrelationen. **D:** Periodizität des ersten Sensors. **E:** Koeffizienten der Autokorrelationen. **F** und **G:** Effektivwert der Sensorsignale.

Die Signalverzögerungen, Periodizität und Effektivwertunterschiede der beiden Sensoren und die mittels COMSOL-Simulation bestimmten mittleren Strömungsgeschwindigkeiten in Sensornähe (“g” in Abb. 6.1A) sind für alle vier Sen-

sorkonfigurationen in Abhängigkeit der Referenzströmungsgeschwindigkeiten in Abbildung 6.6 dargestellt.

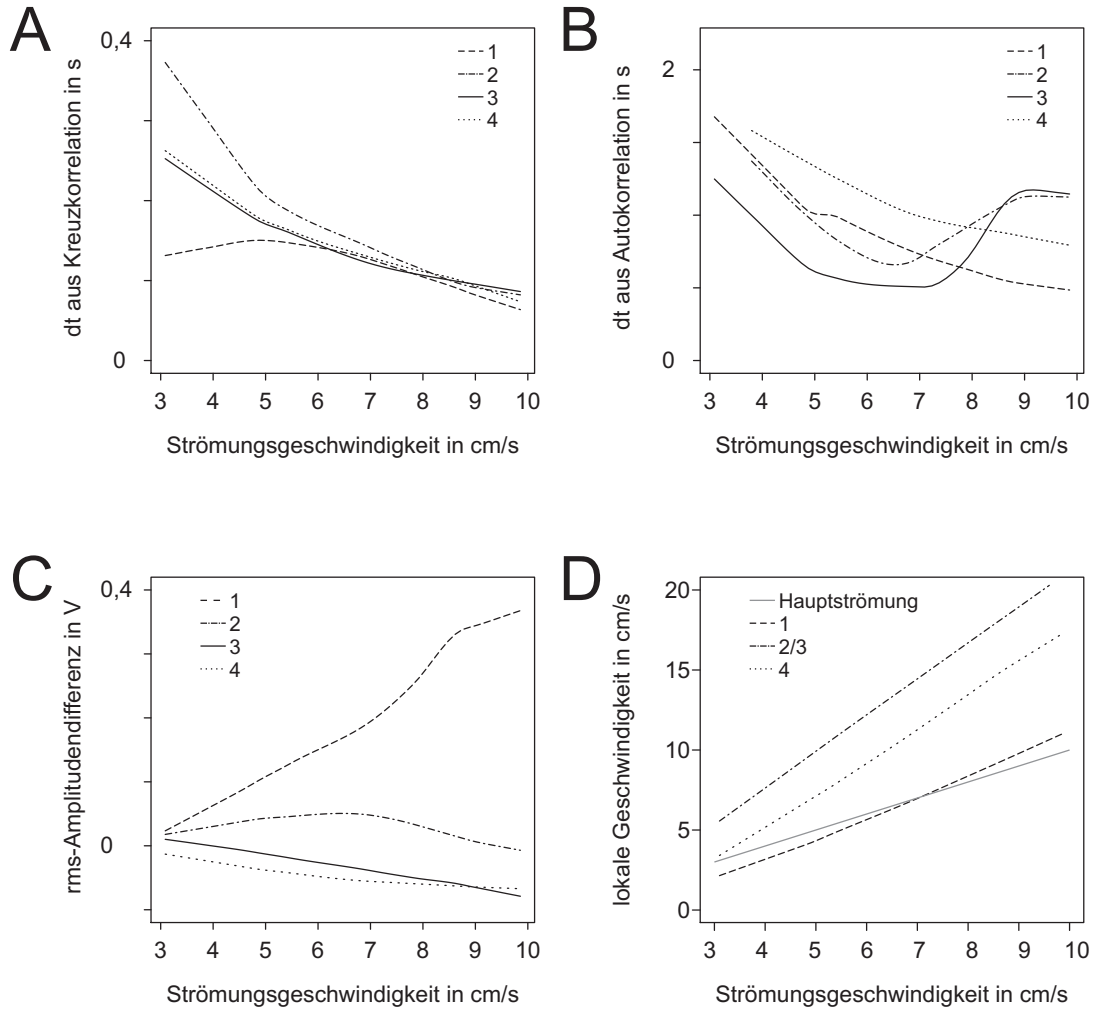


Abbildung 6.6: **Hydrodynamische Parameter aus den vier Konfiguration bei verschiedenen Strömungsgeschwindigkeiten.** **A:** mittlere Zeitverzögerung der Signalverläufe beider Sensoren für die vier Messkonfigurationen. **B:** mittlere Periodizität der Signalverläufe des ersten Sensors für die vier Messkonfigurationen (1-4). **C:** Differenz der Effektivwerte der beiden Sensoren (Sensor1-Sensor2). **D:** mittels COMSOL-Simulation bestimmte mittlere Strömungsgeschwindigkeit in Sensornähe ("g" in Abb. 6.1A) für die verwendeten Messkonfigurationen (1-4) und die verschiedenen Hauptströmungsgeschwindigkeiten.

Bei geringen Strömungsgeschwindigkeiten von 3 bis 6 cm/s unterschieden sich die in den verwendeten Konfigurationen (Ausnahme: Konfigurationen 2 und 3) ermittelten Signalverzögerungen (Abb. 6.6A) deutlich. Die mittels Autokorrelation bestimmte Periodizität wies deutliche Unterschiede zwischen den verwendeten Sensorkonfigurationen über den gesamten verwendeten Strömungsgeschwindigkeitsbereich auf. Die Sensoramplitudenunterschiede waren bei der Konfiguration 1 am stärksten ausgebildet und nahmen mit steigender Referenzströmungs-

geschwindigkeit zu. Die lokale Erhöhung der Strömungsgeschwindigkeit an der Messposition (Abb. 6.6D) skalierte jeweils direkt mit der Referenzströmungsgeschwindigkeit, wobei die Konfiguration 1 die geringste und die Konfigurationen 2 und 3 die stärkste Erhöhung der lokalen Strömungsgeschwindigkeit in Sensornähe aufwies.

Die mit den Konfigurationen 1 bis 4 ermittelten hydrodynamischen Parameter unterschieden sich nahezu im gesamten untersuchten Strömungsgeschwindigkeitsbereich signifikant (Tab. 6.1). Die in die Strömung eingebrachten Objekte beeinflussten somit sowohl die Signalverzögerung zwischen den Sensoren und die Periodizität der Messsignale des ersten Sensors als auch die Effektivwertunterschiede zwischen beiden Sensoren.

Tabelle 6.1: **Unterschiede der in den vier Konfigurationen ermittelten hydrodynamischen Parameter.** Signifikanzniveaus für Zeitversatz der Signalverläufe der beiden Sensoren, Periodizität des Signalverlaufs von Sensor1, Differenz der Effektivwerte (rms) der Signalverläufe beider Sensoren jeweils für unterschiedliche Strömungsgeschwindigkeiten. Tests: jeweils Einwege-Anova ohne post-hoc-Vergleiche, n.s. = $p > 0,05$; * = $p < 0,05$; ** = $p < 0,01$; *** = $p < 0,001$.

Geschwindigkeit	dt Kreuzkorrelation	dt Autokorrelation	rms-Differenz
3,1 cm/s	***	**	***
3,8 cm/s	***	***	***
4,8 cm/s	***	***	***
5,4 cm/s	*	***	***
7,1 cm/s	*	**	***
7,8 cm/s	n.s.	*	***
8,8 cm/s	**	n.s.	***
9,0 cm/s	***	***	***
9,6 cm/s	***	***	***
9,9 cm/s	***	***	***

6.3.2 Kreuz- und Autokorrelationen künstlich erzeugter Signalformen

Die KK der 400 Hz tiefpassgefilterten Rauschsignale zeigte einen eindeutigen Peak bei 0,1 s mit einem KKK von 1 (Abb. 6.7A). In der AK war bei diesem künstlich erzeugten Signal ein Maximum bei 0 s aber kein deutliches zweites Maximum als Indikator für eine Periodizität im Korrelationszeitfenster vorhanden. Die KK der 100 Hz tiefpassgefilterten Rauschsignale zeigte ebenfalls ein deutliches Maximum bei 0,1 s (Abb. 6.7B), im Vergleich zur ersten Simulation war der Peak jedoch breiter.

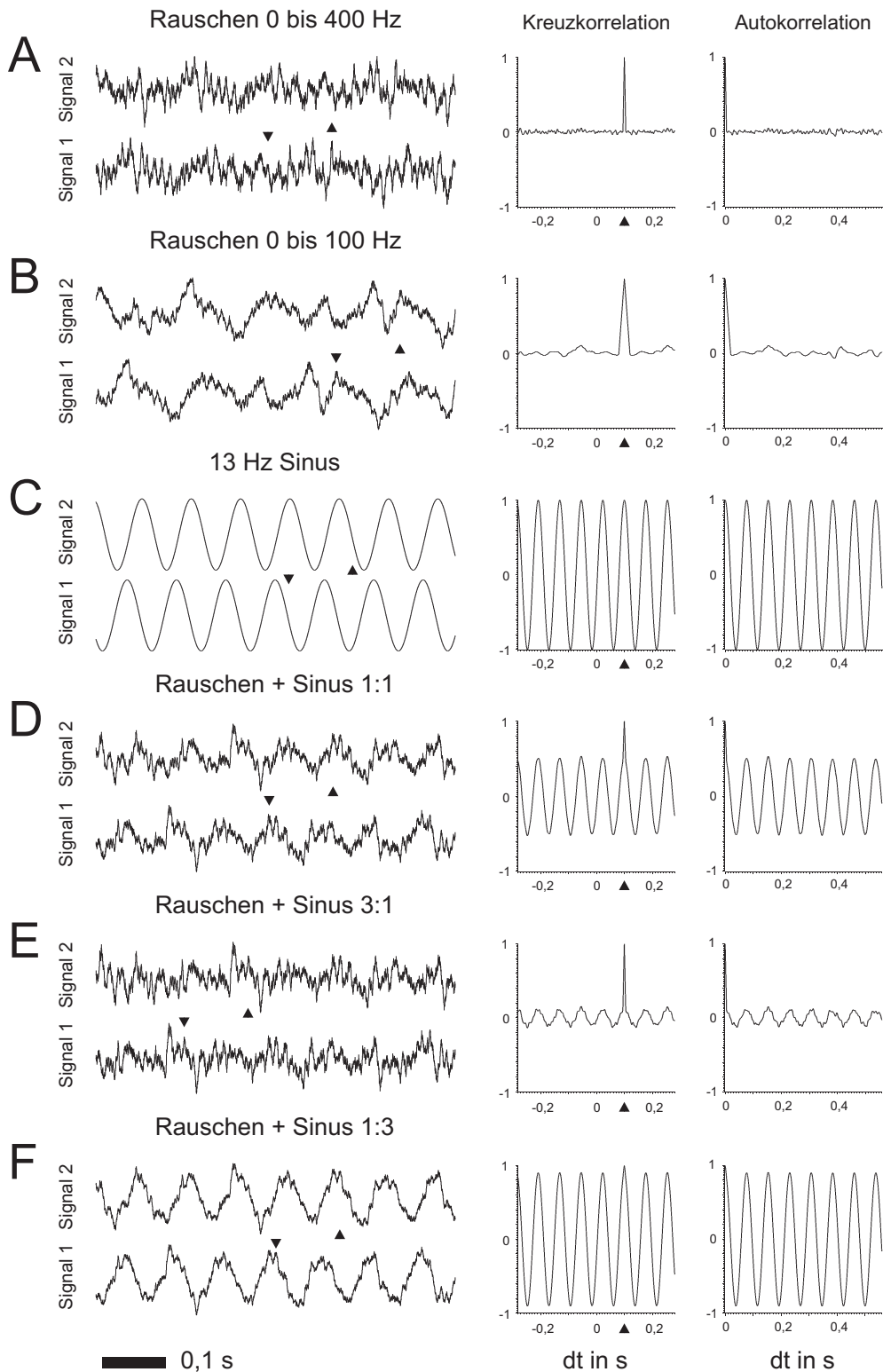


Abbildung 6.7: **Korrelation künstlich erzeugter Signalformen.** Jeweils von links nach rechts: zeitlich verzögerte Signalverläufe, Kreuzkorrelationsfunktion der beiden Signalverläufe, Autokorrelationsfunktion eines Signalverlaufs. **A:** weißes Rauschen bis 400 Hz. **B:** weißes Rauschen bis 100 Hz. **C:** Sinus 13 Hz. **D bis F:** Komplexsignale des weißen Rauschens mit 400-Hz-Tiefpassfilterung und des 13-Hz-Sinus mit einem Anteil von 1:1 in **D**, 1:3 in **E** und 3:1 in **F**. Pfeile zeigen den zeitlichen Versatz in den Signalformen bzw. Kreuzkorrelationen.

Die AK wies ebenfalls kein eindeutiges zweites Maximum auf, wobei die Grundlinie im Vergleich zur ersten Simulation größere Amplitudenvariationen zeigte. Die KK der 13 Hz Sinussignale wies periodisch auftretende Maxima gleicher Amplitude im Abstand von 77 ms (Periode des Sinussignals) auf (Abb. 6.7C), wodurch der tatsächliche zeitliche Versatz von 0,1 s nicht eindeutig bestimmbar ist. Die Periodizität des künstlich erzeugten Signals ist ebenfalls in der AK anhand mehrerer Maxima zu erkennen, die einen zeitlichen Abstand von circa 0,077 ms aufwiesen (Periode der 13 Hz Sinusschwingung). Die KK des Komplexsignals aus dem 400 Hz tiefpassgefilterten Rauschen und der 13 Hz Sinusschwingung mit einem Anteil von 1:1 zeigte ein Hauptmaximum bei 0,1 s, wie auch zahlreiche kleinere Nebenmaxima (Abb. 6.7D). Die AK zeigte zahlreiche Maxima, welche auf eine Periodizität des Signals hindeuten, wobei die AKK im Vergleich zur reinen Sinusschwingung geringer waren. Die KK des Komplexsignals mit einem höheren Rauschanteil zeigte im Vergleich zum Komplexsignal mit gleichen Anteilen des Rauschens und des 13 Hz Sinussignals ein deutlicher ausgeprägtes Hauptmaximum bei 0,1 s sowie zahlreiche kleinere Nebenmaxima (Abb. 6.7E), wobei der KKK des Hauptmaximums wesentlich größer ausfiel als der AKK. Die AK wies auch bei dieser Signalform zahlreiche Maxima auf, die auf eine hohe Periodizität hindeuteten, wobei, im Gegensatz zum Komplexsignal mit gleichem Sinus- und Rauschanteil, die AKK geringer ausfielen. Das Komplexsignal mit dem größeren Anteil des 13 Hz Sinus zeigte in der KK ein leicht erhöhtes Hauptmaximum bei 0,1 s, wie auch zahlreiche Nebenmaxima (Abb. 6.7F), wobei der KKK des Hauptmaximums bei diesem Komplexsignal nur geringfügig größer als die Nebenmaxima war. Die AK wies zahlreiche Maxima auf, wobei die AKK zwischen denen des reinen 13 Hz Sinussignals und dem aus gleichen Anteilen des Rauschens und der Sinusschwingung zusammengesetzten Komplexsignals lagen.

6.4 Diskussion

Die hydrodynamische Messreihe mit den künstlichen Kanalneuromasten zeigte, dass es zwischen den Messkonfigurationen deutliche Unterschiede hinsichtlich der Eignung zur Strömungsgeschwindigkeitsbestimmung mittels Kreuz- und/oder Autokorrelation gab. Für die Geschwindigkeitsmessung mittels KK eigneten sich insbesondere die Konfigurationen 2 und 3 (schrägstehender 3 cm-Halbzylinder) sowie 4 (schrägstehendes Aluminiumblech). Bei der Konfiguration 1 (Halbzylinder mit stromauf gerichteter Rundung; vergleichbar mit Klein & Bleckmann 2011) lässt sich hingegen die Referenzgeschwindigkeit für den verwendeten Strömungs-

geschwindigkeitsbereich nicht eindeutig aus den gemessenen Signalverzögerungen beider Sensoren ermitteln. Hierfür verantwortlich sind die bei niedrigen Referenzströmungsgeschwindigkeiten im Bereich von 3 bis 6 cm/s ermittelten Verzögerungen, welche den Messwerten bei höheren Referenzströmungsgeschwindigkeiten oberhalb von 6 cm/s entsprachen. Das Messsystem ließe sich daher nur bei Strömungsgeschwindigkeiten von 3 bis 6 cm/s oder von 6 bis 10 cm/s einsetzen.

Die Konfigurationen 1 und 4 eignete sich besonders gut für die Messung der Strömungsgeschwindigkeit über die Periodizität des Signalverlaufs beziehungsweise Wirbelablösefrequenz, da für beide Konfigurationen eine Korrelation mit der Referenzströmungsgeschwindigkeit besteht. Die Konfigurationen 2 und 3 eigneten sich hingegen nicht zur Bestimmung der Strömungsgeschwindigkeit mittels der Wirbelablösefrequenz, wobei die sehr geringen AKK auf eine geringe Periodizität der gemessenen hydrodynamischen Signale schließen lässt. Demnach wurden in diesen Konfigurationen sehr unregelmäßige Fluktuationen erzeugt.

Die Berechnung von AK und KK der verschiedenen Signalformen zeigte, dass aperiodische, hochfrequente und möglichst ähnliche Signale zu hohen, eindeutigen Maxima in der KK führen. Daher eignet sich die KK potentiell zur Bestimmung der Strömungsgeschwindigkeit besonders gut, wenn die von den Sensoren erfassten hydrodynamischen Fluktuationen vergleichbare Signalformen aufweisen. Periodische Signale hingegen wiesen hohe AKK auf, wobei Signalverzögerung zwischen dem ersten und zweiten Sensor in der KK dieser Signale durch eine Vielzahl gleichgroßer Maxima schlecht bestimmt werden kann. Komplexe Signale mit periodischen und nichtperiodischen Komponenten ließen sich sowohl zur Geschwindigkeitsbestimmung mittel KK wie auch AK nutzen. In Abhängigkeit der jeweiligen Anteile beider Signaltypen war zumeist eines der beiden Messverfahren aufgrund der höheren Eindeutigkeit durch die höheren Korrelationskoeffizienten besser zur Geschwindigkeitsbestimmung geeignet.

Die Konfigurationen 2 und 3 zeigten nur marginale Unterschiede hinsichtlich ihrer Eignung zur Strömungsgeschwindigkeitsbestimmung mittels KK und AK. Um einen Einfluss des Austauschens der Porenblende auszuschließen, wurden die Messungen mit der Konfiguration 2 nach dem Tauschen der Porenblende für die Konfiguration 3 erneut durchgeführt, wobei vergleichbare Messwerte ermittelt wurden. Somit konnte bei den verwendeten Versuchsbedingungen kein deutlicher Einfluss der Anzahl der Kanalporen auf die Bestimmung der Strömungsgeschwindigkeit mittels KK und AK festgestellt werden. Eine mögliche Verbesserung der Messgenauigkeit beispielsweise in Wasserrohrleitungen kann hierdurch jedoch nicht ausgeschlossen werden.

Die optimal zur Ermittlung der Strömungsgeschwindigkeit geeigneten Fluktuationen werden in der Konfiguration 4 erzeugt. Unter Einbeziehung der Ergebnisse aus der Korrelation künstlich erzeugter Signalformen (Abb. 6.7) generiert die Konfiguration 4 vermutlich sowohl aperiodische Komponenten, welche gut für die Strömungsgeschwindigkeitsbestimmung mittels KK geeignet sind, als auch eine periodische Wirbelablösung, wodurch sich die Strömungsgeschwindigkeit mittels AK ermitteln lässt. Somit lässt sich die Bestimmung der Strömungsgeschwindigkeit durch die gezielte Erzeugung geeigneter Fluktuationsmuster wesentlich verbessern.

Die Ergebnisse zeigen, dass die in der Hauptströmung enthaltenen Fluktuationen einen Einfluss auf die ermittelten Strömungsgeschwindigkeiten haben. Die lokale Querschnittsverengung kann nicht als kausale Ursache für die Unterschiede in den ermittelten Signalverzögerungen zwischen beiden Sensoren herangezogen werden, da beispielsweise im Bereich geringer Referenzströmungsgeschwindigkeiten bei der Konfiguration 1 sowohl die geringsten lokalen Strömungsgeschwindigkeiten wie auch die niedrigsten Signalverzögerungen und damit die höchsten errechneten Strömungsgeschwindigkeiten aller Konfigurationen auftraten. Als weitere Ursache für die unterschiedlichen Signalverzögerungen zwischen den beiden Sensoren kommt insbesondere bei der Sensorkonfiguration 1 mit den großen Unterschieden in den rms-Amplituden der beiden Sensoren ein nichtlineares Übertragungsverhalten der künstlichen Kanalneuromasten mit Fototransistor in Frage, die zur einer Verschiebung der Signalphase in Abhängigkeit der Signalamplitude geführt haben könnte. Eine derartige Begrenzung der Übertragungsmöglichkeiten der hydrodynamischen Signaturen in das Sensorausgangssignal wurde jedoch in den Versuchen zumindest im Bereich bis 0,6 V Effektivwert bei den Sensoren nicht festgestellt (siehe Abb. 6.2F).

Da bei verschiedenen Fluktuationsmustern unterschiedliche Signalverzögerungen (und damit auch Strömungsgeschwindigkeiten) ermittelt wurden, könnten bei einem späteren bionischen Messgerät erhebliche Messfehler auftreten, wenn die im strömenden Medium enthaltenen Fluktuationsmuster nicht kontrolliert werden können. Unterschiede im Fluktuationsmuster könnten beispielsweise durch die verwendeten Fluide, die Einbausituation (räumliche Lage, Vorlaufänge), Temperatur und ähnliches verursacht werden. Welchen Einfluss der Abstand der Sensoren sowie deren Position innerhalb der Sensoranordnung auf die Messung der Strömungsgeschwindigkeit mittels Kreuzkorrelation hat und inwieweit sich durch das Herausfiltern bestimmter Frequenzbereiche die Messgenauigkeit verbessern lassen, ist Gegenstand des folgenden Kapitels 7.

Kapitel 7

Optimierung der Kreuzkorrelationsmessung durch Unterdrückung von Störsignalen

7.1 Einleitung

Das bionische Strömungsmessverfahren zur Bestimmung der Strömungsgeschwindigkeit über im Medium enthaltene Fluktuationen wurde bisher ausschließlich in Wasser erprobt (Chagnaud et al. 2008b; Klein 2009; Klein & Bleckmann 2011). Strömende Gase, beispielsweise in Erdgaspipelines oder im Umfeld der chemischen Industrie, sind jedoch von erheblichem wirtschaftlichem Interesse und müssten sich prinzipiell auch zur Messung der Strömungsgeschwindigkeit anhand der in der Strömung enthaltenen Fluktuationen eignen. Inwieweit sich die Fluktuationen bei der Ausbreitung entlang der Sensoranordnung verändern können und welchen Einfluss die räumliche Anordnung der Sensoren auf die Strömungsgeschwindigkeitsmessung mittels Kreuzkorrelation hat, ist bisher ebenfalls unzureichend untersucht worden. In einer möglichen Anwendung werden vermutlich zusätzliche Signalquellen wie Schallwellen in dem zu messenden Medium enthalten sein, welche aufgrund der relativ hohen Ausbreitungsgeschwindigkeit (343 m/s in Luft bei 20 °C und 1484 m/s in Wasser bei 20 °C) nahezu zeitgleich an den Sensoren auftreten (Gleichtaktsignal) und daher das bionische Messverfahren stören könnten. Als weitere Quellen ungewollter Messsignale (Störungen) kommen Vibrationen des Messgerätes und der Leitungen, das Rauschen der elektronischen Bauteile und elektrische Einstreuungen des Stromnetzes beziehungsweise der Stromversorgung der Sensoren in Betracht. Diese müssten sich mit geeigneter zeitlicher Filterung aus dem gemessenen Komplexsignal entfernen lassen, wenn sich die nutzbaren

Fluktuationen von den Störkomponenten hinsichtlich des Frequenzgehaltes unterscheiden. Somit ergeben sich für dieses Kapitel folgende Fragestellungen:

1. Kann das bionische Messverfahren zur Bestimmung der Strömungsgeschwindigkeit anhand in der Strömung enthaltener Fluktuationen auch in Luftströmungen eingesetzt werden?
2. Sind die im biologischen Modell anzutreffenden Kanalneuromasten als Differenzdrucksensoren gegenüber technisch einfacheren Drucksensoren zur Erfassung der Mediumsfluktuationen im Verhältnis zu ebenfalls im Medium enthaltenen Störsignalen besser geeignet?
3. Welchen Einfluss haben der Abstand kreuzkorrelierter Sensoren und die Position dieser Sensorpaare relativ zum Entstehungsort der Fluktuationen auf die Kreuzkorrelation und die daraus ermittelten Strömungsgeschwindigkeiten?
4. Lassen sich störende Fluktuationskomponenten wie beispielsweise Schall durch die Anwendung geeigneter zeitlicher Filter entfernen und verbessert diese zeitliche Filterung die Messgenauigkeit der Strömungsgeschwindigkeit mittels Kreuzkorrelation?

7.2 Methoden

Der Einfluss des Sensorabstandes und der Sensorposition innerhalb der Anordnung wurde mit einer Drucksensoranordnung bestehend aus Mikrofonkapseln untersucht, wobei im Gegensatz zum Kapitel 6 Luftströmungen gemessen wurden. Zur Messung von in Gasströmungen enthaltenen Fluktuationen sind die künstlichen Kanalneuromasten mit den flexiblen Silikonlamellen weniger gut geeignet, da das Fehlen der Dämpfung der Eigenresonanz durch die Kanalflüssigkeit zu einem verzögertem Ausschwingen des Silikonbalkens nach Auslenkung führt. Da jedoch ein starkes Interesse an sensitiven Messverfahren für Gasströmungen im Bereich der Medizintechnik, chemischen Industrie und Gasversorgungsleitungen besteht, wurde ein alternatives und speziell an diese Anforderungen angepasstes Messsystem entwickelt.

7.2.1 Aufbau des Luftströmungssensors

Das Messsystem ist in ein PVC-Rohr (Innendurchmesser 25 mm, Länge 50 mm) eingelassen. Hierfür wurde das Kunststoffrohr längs halbiert und nach dem Boh-

ren der Vertiefungen für die Sensoren wieder zusammenschraubt (Werkstatt des Zoologischen Instituts der Universität Bonn, Abb. 7.1A bis C).

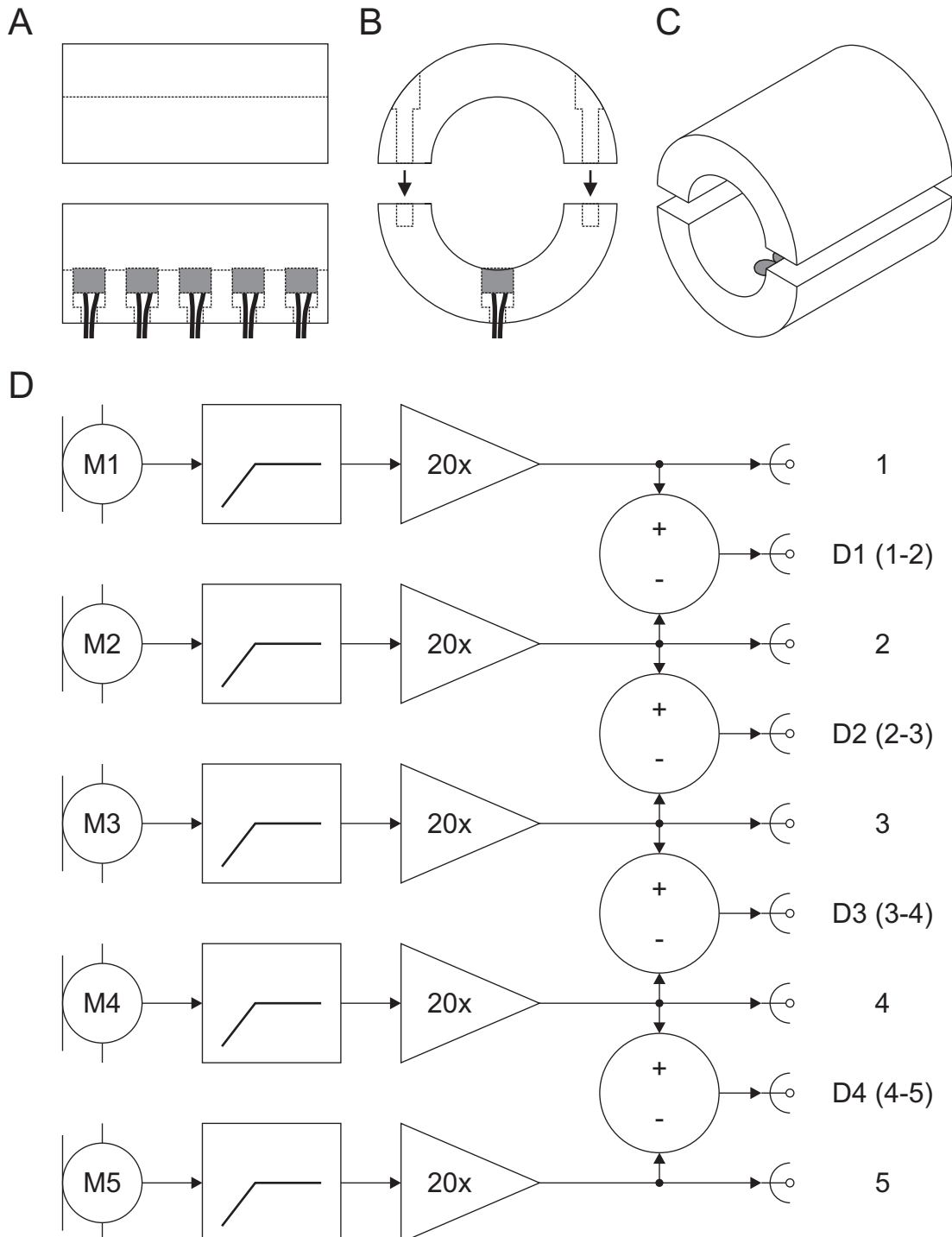


Abbildung 7.1: **Mechanischer und elektrischer Aufbau des Gasströmungssensors.** Das Sensorgehäuse besteht aus einem längshalbierten PVC-Rohr (25 mm Innendurchmesser, 50 mm Länge), in das fünf Einsenkungen für die Mikrofonkapseln eingelassen sind. **A:** Seitenansicht **B:** Querschnitt **C:** isometrische Ansicht. Die Elektromikrofonkapseln sind in grau dargestellt. **D:** Prinzipschaltbild bestehend aus Drucksensor (M1 bis M5), Hochpass, Verstärker, Differenzierung und Ausgangskanälen (D1-D4 sowie 1-5) (von links nach rechts).

Bei diesem Messsystem werden die Druckfluktuationen mit fünf Drucksensoren aufgenommen und die Ausgangssignale benachbarter Drucksensoren elektrisch differenziert, wodurch ein virtueller Differenzdrucksensor entsteht (Abb. 7.1D). Aufgrund hoher Sensitivität, weitreichendem Frequenzgang und geringer Kosten wurden Elektret-Mikrofonkapseln als Drucksensoren verwendet (EMY-63M/P, Quellwiderstand 4,4 k Ω). Die Mikrofonausgangssignale wurden mit einem AC-gekoppelten, nicht-invertierenden Verstärker 20-fach verstärkt (NE5534, 10 μ F Elektrolytkoppelkondensator, Festwiderstand 10 k Ω , Spindeltrimmer 500 Ω). Um die Druckdifferenz zwischen zwei benachbarten Sensoren zu ermitteln, wurden die Ausgangsspannungen der beiden Verstärker anschließend mittels Instrumentenverstärker differenziert (SSM2019BNZ, Verstärkung 1-fach). Das Messsystem wurde mit einer symmetrischen Versorgungsspannung von +/- 15 V gespeist.

7.2.2 Strömungserzeugung und Messkonfiguration

Die Luftströmung wurde mit einem PC-Ventilator mit 120 mm Kantenlänge (Be-Quite BQT T12025LF) erzeugt, mit einem Trichter (PVC-Adapter für 120 mm-Ventilator auf 80 mm Durchmesser) beschleunigt und anschließend durch einen aus Trinkhalmen (Durchmesser 4 mm) gefertigten Kollimator geleitet, wodurch der Strömungsschatten der Ventilatornarbe vermieden werden konnte (Abb. 7.2). Vorversuche zeigten, dass ein direktes Durchströmen der Luftströmung (Kollimator in direktem Kontakt zum Messrohr), vermutlich aufgrund fehlender Strömungsfluktuationen, kein Sensorsignal erzeugte. Auch durch Einbringen eines kleinen Halbzylinders (Durchmesser 8 mm) in die Strömung konnten keine messbaren Fluktuationen erzeugt werden. Daher wurde die Außenkante des Messrohres aus 15 cm Abstand in einem Winkel von 10 bis 15° angeströmt, wodurch sich mutmaßlich Verwirbelungen an dieser Kante ausbildeten, die zu einem Messsignal der Sensoren führten. Als Referenz wurde die Strömungsgeschwindigkeit der Luft beim Verlassen des Messrohres mit einem luftdicht montierten Flügelradanemometer (EA-3000, Europe Supplies Ltd.) bestimmt, dessen Messgenauigkeit laut Herstellerangaben 5% oder +/- eine Dezimalstelle für Strömungsgeschwindigkeiten ab 0,2 m/s betrug. Für die Messungen der Referenzströmungsgeschwindigkeit wurde die Ausgabeeinheit auf Km/h eingestellt und anschließend in m/s umgerechnet, um die Anzeigegenauigkeit von +/- eine Dezimalstelle um einen Faktor von 3,6 zu erhöhen (3,6 km/h = 1 m/s). Durch die Änderung der Versorgungsspannung (3 bis 12 V DC) des Lüfters wurden die Luftströmungsgeschwindigkeiten im Messrohr von circa 0,2 (Abschätzung der Strömungsgeschwindigkeit basierend auf der Umdrehungszahl des Lüfters bei 3 V) bis 1,9 m/s variiert.

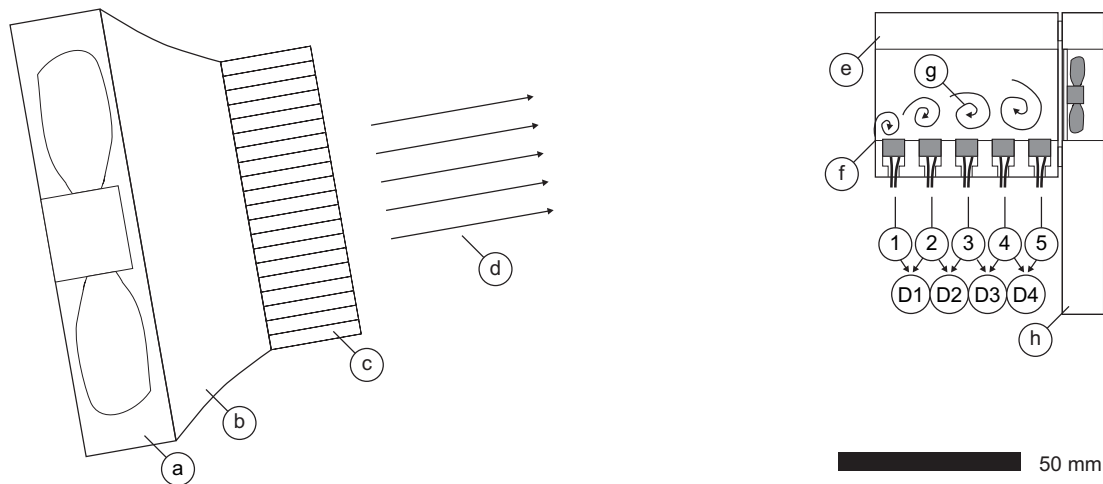


Abbildung 7.2: **Versuchsaufbau zur Erzeugung und Messung der Luftströmung.** Die Luftströmung wurde mit einem PC-Ventilator (a) erzeugt und durch einen Trichter (b) mit Kollimator (c) geleitet, wodurch die generierte Luftströmung (d) weitgehend laminar war. Die Luftströmung wurde aus einer Entfernung von 15 cm in einem Winkel von 10 bis 15° auf das Messrohr (e) geleitet, wobei sich an der Außenkante (f) Verwirbelungen (g) ausbildeten. Die Strömung innerhalb des Messrohres wurde mit 5 Drucksensoren (1-5) und 4 virtuellen Differenzdrucksensoren (D1 bis D4) charakterisiert. Die Strömungsgeschwindigkeit nach dem Passieren des Messrohres wurde mit einem Anemometer (h) erfasst.

7.2.3 Datenanalyse

Die Fluktuationssignale der Luftströmung wurden jeweils 30 s lang mit 5 Drucksensoren und 4 virtuellen Differenzdrucksensoren (aus der elektronischen Differenzierung der Signale benachbarter Drucksensoren) und 2 kHz Abtastfrequenz mit Spike2 (Cambridge Electronic Design) aufgezeichnet und mit selbstgeschriebenen Skripten analysiert. Soweit nicht anders angegeben, wurden alle Signalverläufe mit 0,1 Hz Hochpass und 1000 Hz Tiefpass gefiltert. Anschließend wurden die Kreuzkorrelationsfunktionen (KK) der Signale der ersten vier Drucksensoren (1-4 in Abb. 7.2) und aller virtuellen Differenzdrucksensoren (D1-D4 in Abb. 7.2) für jeweils 2,5 s, 5 s und 10 s lange Zeitabschnitte konstanter Strömungsgeschwindigkeit gebildet. Hierbei wurden die KK aller verfügbaren Sensorpaare (1&2, 1&3, 1&4, 2&3, 2&4, 3&4 sowie D1&D2, D1&D3, D1&D4, D2&D3, D2&D4, D3&D4) für alle Zeitabschnitte (2,5 s, 5 s, 10 s) berechnet. Das jeweilige Maximum wurde in den KK (Δt -Fensters im Bereich von 0 bis 1 s) mittels Spike2-Skript bestimmt, wobei, bedingt durch die Abtastfrequenz, das Inkrement 0,5 ms betrug. Die Koeffizienten des Kreuzkorrelationsmaximums (KKK) dienten als Indikator für die Ähnlichkeit der gemessenen Sensorsignalverläufe. Aus den ermittelten Zeitversätzen und den Sensorabständen wurden die Luftströmungsgeschwindigkeiten V_c und der prozentuale Messfehler der Sensoranordnung (Formel 7.1) errechnet. Teil-

weise wurde mittels KK ein zeitlicher Versatz der Messsignale von 0 ms gefunden, aus welchem gemäß Formel 7.1 keine Strömungsgeschwindigkeit bestimmt werden konnte. Diese Messwerte wurden entweder verworfen und separat als fehlerhafte Messung aufgeführt oder als Luftströmungsgeschwindigkeit die Schallgeschwindigkeit in Luft von 343 m/s angenommen, um einen Malus für die fehlerhafte Messung zu erzeugen.

$$\begin{aligned}
 E_p &= \left| \frac{V_r - V_c}{V_r} \cdot 100\% \right| \\
 V_c &= \frac{\Delta d}{\Delta t} \\
 E_p &= \textit{prozentualer Fehler} \\
 V_r &= \textit{Referenzströmungsgeschwindigkeit} \\
 V_c &= \textit{errechnete Strömungsgeschwindigkeit} \\
 \Delta d &= \textit{Sensorabstand} \\
 \Delta t &= \textit{zeitlicher Abstand aus Kreuzkorrelation}
 \end{aligned} \tag{7.1}$$

Der Einfluss des Sensortyps (Druck und virtueller Differenzdruck), der Zeitabschnittslänge (2,5 s, 5 s, 10 s), des Sensorabstandes (1, 2 oder 3 cm) und der Sensorposition innerhalb der Anordnung (Position 1, 2 oder 3) wurden anhand der Höhe des jeweiligen Maximums der 4536 (21 Korrelationszeitfenster, 2 Sensortypen, 6 Sensorpaare je Sensortyp, 18 Strömungsgeschwindigkeiten), ohne zusätzliche Filterung durchgeführten, Kreuzkorrelationen und der daraus ermittelten prozentualen Messfehler, für alle Lüfterspannungen (3 bis 12 V) bestimmt.

Für die Untersuchungen der Wirkung unterschiedlicher Filter auf die Geschwindigkeitsmessung mittels KK wurden die jeweils über 30 s aufgezeichneten Signalverläufe aller Sensoren in der Druck- beziehungsweise Differenzdruckkonfiguration mit Hochpass, Tiefpass, Bandpass und Bandstopffiltern bearbeitet. Hierfür wurden Filtreckfrequenzen von 0,1 Hz, 25 Hz, 50 Hz, 100 Hz, 200 Hz und 1000 Hz genutzt. Die Signalverläufe der jeweiligen Sensoren wurden mit einem Integrationsfenster von 5 s kreuzkorreliert. Anschließend wurden aus den 27216 KK (6 Korrelationszeitfenster, 2 Sensortypen, 6 Sensorpaare je Sensortyp, 18 Strömungsgeschwindigkeiten, 21 Filtertypen) die KKK und der prozentualen Messfehler (Formel 7.1) für die Sensorpaare (1&2, 1&3, 1&4, 2&3, 2&4, 3&4 und D1&D2, D1&D3, D1&D4, D2&D3, D2&D4, D3&D4) bestimmt. Im Gegensatz zu dem Versuchsteil zur Untersuchung des Sensorabstands und der Sensorposition wurde der Zeitversatz von 0 ms nicht aus der Analyse ausgeschlossen, sondern mit der Ausbreitungsgeschwindigkeit des Schalls in Luft (343 m/s) beaufschlagt. Für jeden Zeitpunkt und jede Lüfterspannung wurde anschließend der Median der

KKK und der prozentualen Messfehler der Sensorpaare bestimmt, wobei die Korrelationen der Sensorpaare 1&4 beziehungsweise D1&D4 aufgrund des überproportional hohen prozentualen Messfehlers nicht berücksichtigt wurden (vergleiche Abb. 7.7). Die Auswirkung von Hochpass, Tiefpass, Bandpass und Bandstoppfiltern wurde anhand der Höhe der KKK und des prozentualen Messfehlers der 4536 Mediane der beiden Sensortypen und Zeitpunkte sowie Strömungsgeschwindigkeiten bestimmt.

7.2.4 Filterwirkung bei künstlich erzeugten Signalformen

Um die Wirkung zeitlicher Filter auf mit Störkomponenten überlagerte Messsignale zu demonstrieren, wurden mittels Spike2 ("Wavemake"-Skript, www.ced.co.uk/files/Scripts/wavemake.zip, Cambridge Electronic Design) künstliche Signalformen erzeugt: weißes Rauschen (Tiefpassfilterung 200 Hz) mit einer Signalverzögerung von 0,1 s zwischen der Wellenform 1 und 2 (identische Signale), ein unkorreliertes Rauschsignal mit einer Bandpassfilterung von 200 und 1000 Hz sowie ein zeitgleich in beiden Signalformen vorhandenes 13 Hz Sinus-signal (Gleichtaktstörung). Die Generierung des mit Störkomponenten überlagerten Messsignals ist in Abbildung 7.3 auf der nächsten Seite gezeigt. Hierbei wurden auf beiden Kanälen identisch vorhandene, um 0,1 s zeitversetzte Nutzrauschen mit einem Frequenzgehalt bis 200 Hz (Abb. 7.3A) jeweils mit unkorreliertem Störrauschen mit einem Frequenzgehalt von 200 Hz bis 1000 Hz (Abb. 7.3B) und sinusförmigen 13 Hz Gleichtaktsignalen (Abb. 7.3C) überlagert, wobei die Signale jeweils mit gleichem Effektivwertanteil in das Mischsignal (Abb. 7.3) eingingen. Die resultierenden Signalverläufe wurden anschließend Tief-, Hoch- und Bandpass erster Ordnung (6 dB/Oktave) gefiltert und die Kreuzkorrelationen der Signalverläufe (Korrelationszeitfenster +/- 0,3 s) auf die Deutlichkeit des die Signalverzögerung von 0,1 s anzeigenden Kreuzkorrelationsmaximums untersucht.

7.3 Ergebnisse

7.3.1 Zeitliche Filterung künstlich erzeugter Signalformen

Das zu gleichen Teilen aus zeitverzögertem identischem Nutzrauschen und dem unkorreliertem Störrauschen zusammengesetzte Komplexsignal führte zu einem kleineren KKK als bei den ungestörten Signalen (Abb. 7.3A), wobei das KK-Maximum weiterhin deutlich ausgeprägt war (Abb. 7.3D). Das korrelationsbasierte Strömungsmessverfahren wird daher durch das zusätzliche unkorrelierte

Rauschsignal vergleichsweise gering beeinträchtigt.

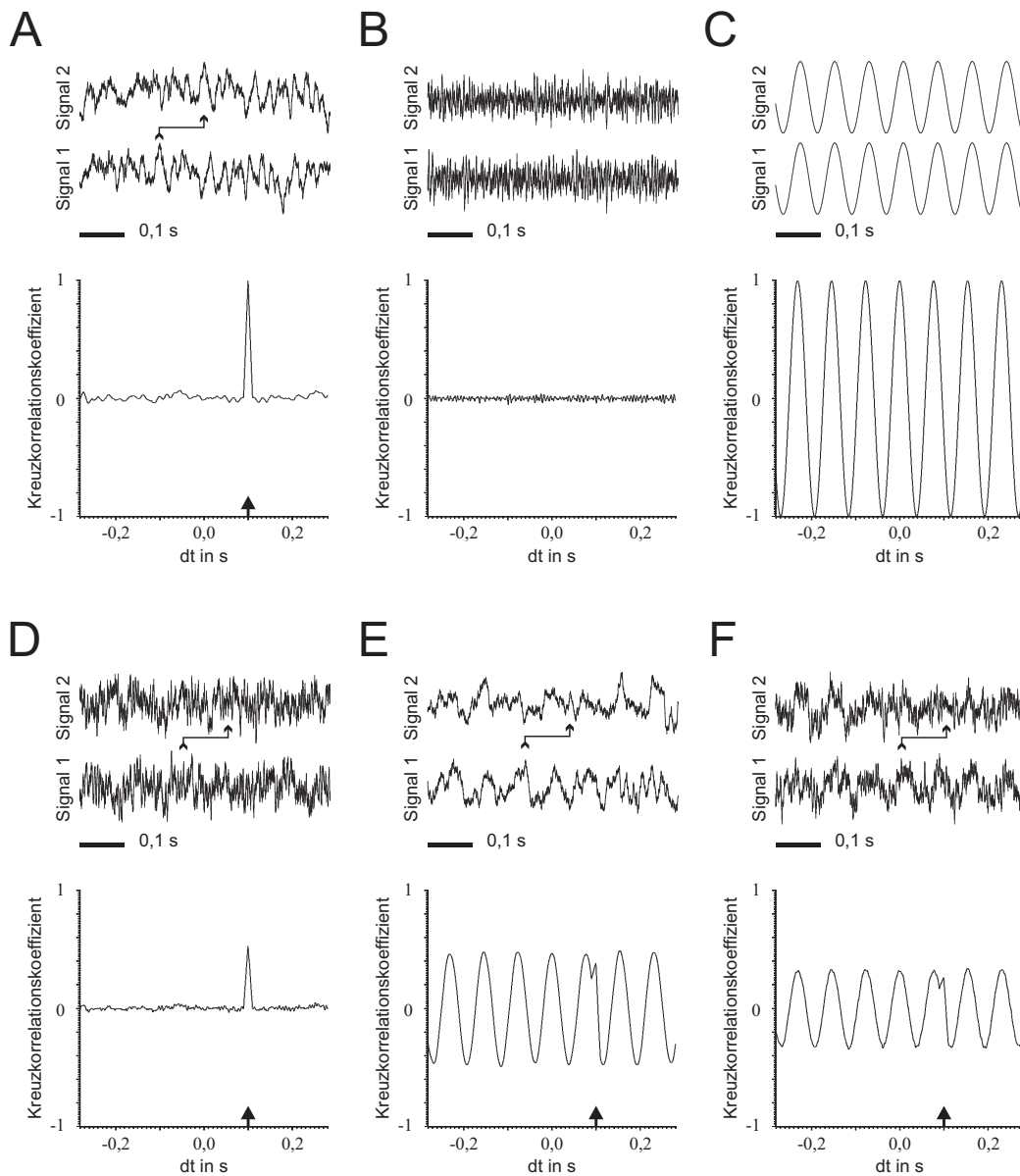


Abbildung 7.3: **Erzeugung der Komplexsignale zur Untersuchung der Auswirkung unterschiedlicher zeitlicher Filter auf die Kreuzkorrelation.** Jeweils oben: Signalverläufe der beiden Kanäle, darunter: Kreuzkorrelation der beiden Kanäle. Pfeile zeigen den erwarteten zeitlichen Versatz an. **A:** Zeitlich verschobene, identische, Rauschsignale mit Frequenzen bis 200 Hz. **B:** Zwei unabhängige Rauschsignale mit Frequenzen zwischen 200 und 1000 Hz. **C:** Gleichtakt-13 Hz-Sinussignal. **D:** Komplexsignal aus A und B im Effektivwert-Verhältnis 1:1. **E:** Komplexsignal aus A und C im Effektivwert-Verhältnis 1:1. **F:** Komplexsignal aus A, B und C im Effektivwert-Verhältnis 1:1:1. Dieses komplexe Signal führt zu einem sehr undeutlichen Kreuzkorrelationsmaximum und ist daher das Ausgangssignal der simulierten Effekte der zeitlichen Signalfilterung auf die Kreuzkorrelation in Abbildung 7.4.

Bei den Komplexsignalen mit Gleichtaktanteil in Abbildung 7.3E hingegen ist das Kreuzkorrelationsmaximum bei 0,1 s, welches die Strömungsgeschwindigkeit anzeigt, nicht mehr deutlich zu erkennen. Dagegen sind zahlreiche Maxima vor-

zufinden, welche auf die hohe Selbstähnlichkeit des verwendeten sinusförmigen Gleichtaktanteils zurückgeführt werden können. Das Vorhandensein einer starken Gleichtaktstörung, wie beispielsweise Vibrationen der Rohrleitung oder hohe Schallanteile, könnte die Funktion des bionischen Messgerätes somit stärker beeinträchtigen als das unkorrelierte Rauschen. Das Komplexsignal in Abbildung 7.3F ist zu gleichen Effektivwert-Anteilen aus den zeitverzögerten, identischen Nutzrauschen, den unkorrelierten Störrauschen und den sinusförmigen 13 Hz Gleichtaktsignalen zusammengesetzt. Bei der Kreuzkorrelation dieser Komplexsignale ist sowohl eine Verringerung der Kreuzkorrelationskoeffizienten wie auch eine Maskierung des eigentlichen Maximums bei 0,1 s durch die hohe Selbstähnlichkeit des Gleichtaktsignals festzustellen. Hierdurch kann das eigentliche Maximum der Kreuzkorrelation, welches den zeitlichen Versatz im Nutzsignal als Indikator für die Geschwindigkeit anzeigt, kaum noch identifiziert werden (Abb. 7.3F, unten), wodurch das bionische Messverfahren in seiner Funktion zumindest stark eingeschränkt wäre.

Die Kreuzkorrelation der beiden in Abbildung 7.3F gezeigten Komplexsignale ohne Filterung ist als Referenz in Abbildung 7.4 in der oberen Zeile und linken Spalte gezeigt. Die Wirkung der zeitlichen Filter auf die Kreuzkorrelation der Komplexsignale wurde anhand der relativen Größe des Nutzsignalkorrelationsmaximums bei 0,1 Hz bestimmt, wobei Hochpassfilter mit 25, 50 und 75 Hz Eckfrequenz und/oder Tiefpassfilter mit 100, 200 und 400 Hz Eckfrequenz genutzt wurden. Die Hochpassfilterung der Komplexsignale führte zu einer mit ansteigender Eckfrequenz stärker werdenden Dämpfung der periodischen Komponente der Kreuzkorrelation, wodurch das Kreuzkorrelationsmaximum bei 0,1 s, insbesondere ab 50 Hz Eckfrequenz, deutlich hervortrat. Die Tiefpassfilterung des Komplexsignals führte mit abnehmender Filtereckfrequenz zu einer generellen Erhöhung der Kreuzkorrelationskoeffizienten, wobei die relative Maskierung des Kreuzkorrelationsmaximums bei 0,1 s zumeist erhalten blieb. Die deutlichste Filterwirkung hatte die Konfiguration aus einem 75 Hz Hochpass und einem 200 Hz Tiefpass, welche in Abbildung 7.4 mit einem Rahmen hervorgehoben ist. Bei dieser Filterkonfiguration konnte der größte Teil der Störkomponenten entfernt werden, ohne das Nutzsignal stark zu beeinträchtigen, wie es beispielsweise bei der Filterkonfiguration aus 75 Hz Hochpass und 100 Hz Tiefpass (Abb. 7.4 unterste Zeile, rechte Spalte) festzustellen war.

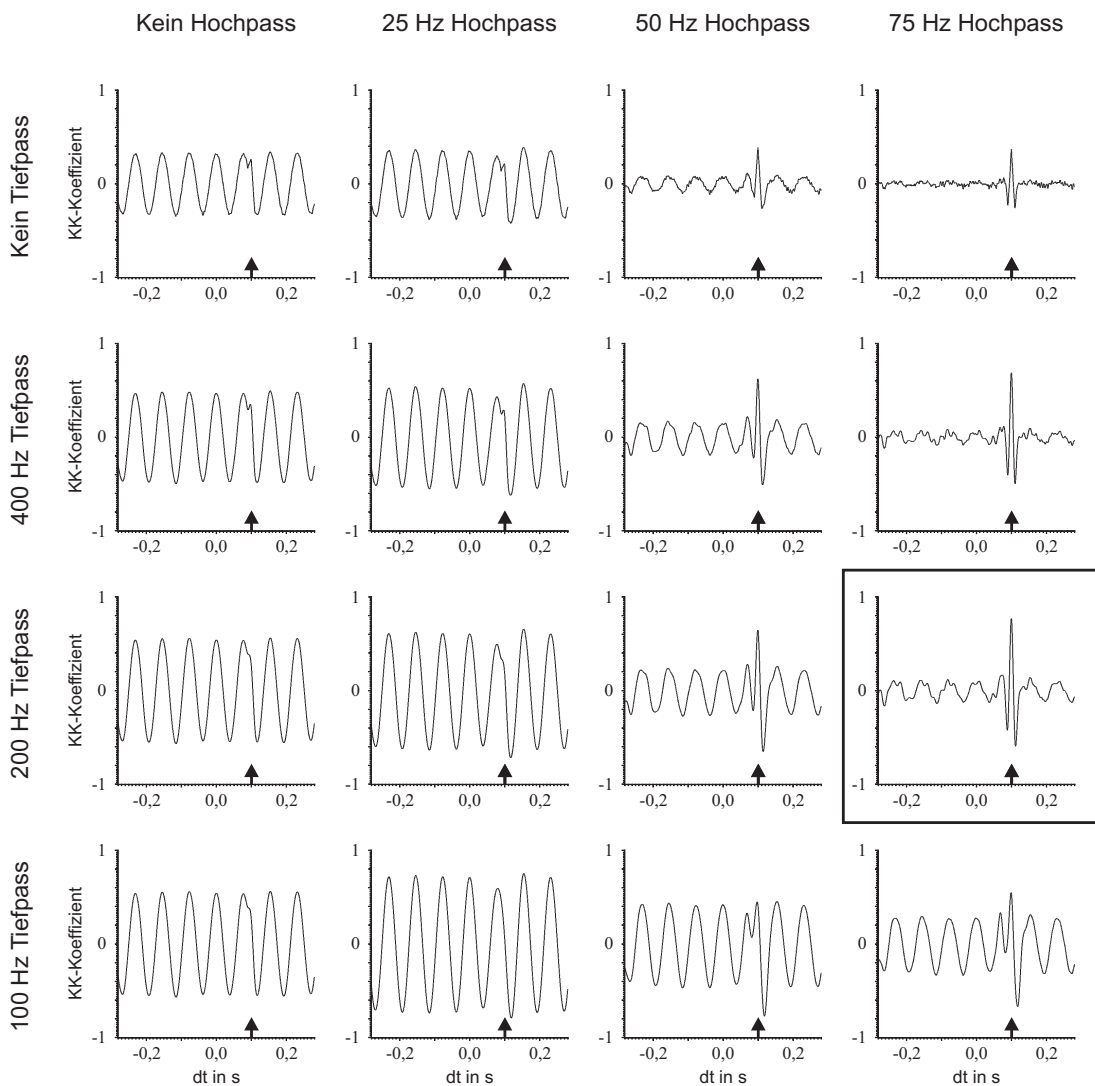


Abbildung 7.4: **Simulierter Einfluss verschiedener zeitlicher Filter auf die Kreuzkorrelation.** Die Kreuzkorrelation der beiden in Abbildung 7.3F gezeigten Komplexsignale ohne Filterung ist oben links gezeigt. Jeweils von links nach rechts: Kreuzkorrelationen ohne Hochpassfilterung der Signalverläufe sowie mit zuvor erfolgter Hochpassfilterung mit 25, 50 und 75 Hz. Jeweils von oben nach unten: Kreuzkorrelationen ohne Tiefpassfilterung der Komplexsignale mit zuvor erfolgter Tiefpassfilterung der Komplexsignale mit 400, 200 und 100 Hz. Für die Kreuzkorrelationen der zweiten bis vierten Spalte und zweiten bis vierten Zeile wurden die Komplexsignale mit den jeweils angegebenen Eckfrequenzen mit einem Bandpass gefiltert. Pfeile zeigen die aufgrund des verwendeten zeitlichen Versatzes der Nutzrauschen zu erwartenden Δt -Werte an. Der Rahmen zeigt das markanteste Kreuzkorrelationsmaximum an, welches für das verwendete Komplexsignal bei der Filterkonfiguration von 75 Hz Hochpass und 200 Hz Tiefpass gefunden wurde.

7.3.2 Einfluss der Differenzierung benachbarter Sensoren und des Messintervalls

Die Koeffizienten des Maximums der Kreuzkorrelation der Messdaten aus allen verwendeten Strömungsgeschwindigkeiten, Zeitabschnittslängen, Sensorabständen

und Sensorpositionen innerhalb der Anordnung waren bei den virtuellen Differenzdrucksensoren höher als bei den Drucksensoren (beidseitiger Wilcoxon Rangsummentest: $W = 2955794$; p -Wert $< 2,2e-16$; Mediane: Drucksensoren = 0,382; Differenzdrucksensoren = 0,459), wobei sich die prozentualen Messfehler dieser beiden Sensortypen nicht signifikant unterschieden (beidseitiger Wilcoxon Rangsummentest: $W = 664741,5$; p -Wert = 0,9598; Mediane: Drucksensoren = 12,0%; Differenzdrucksensoren = 8,9%) (Abb. 7.5).

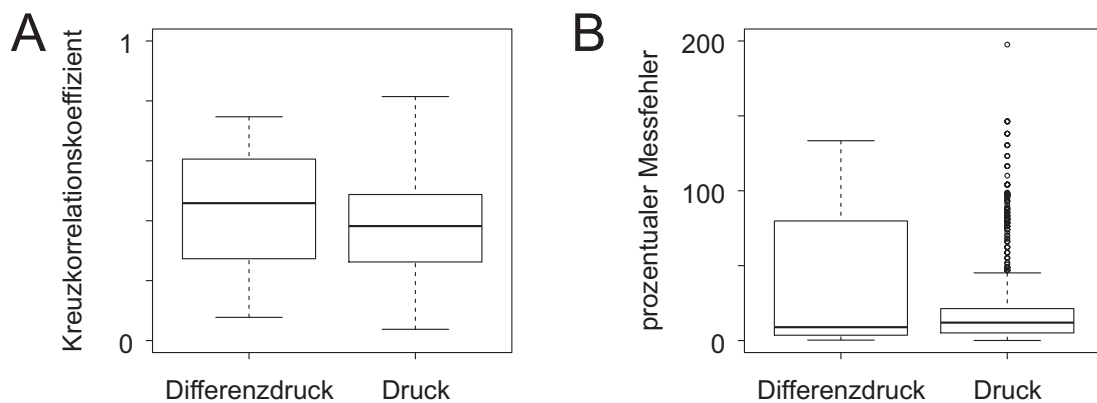


Abbildung 7.5: **Einfluss der Differenzierung benachbarter Sensoren auf die Geschwindigkeitsmessung mittels Kreuzkorrelation.** **A:** Kreuzkorrelationskoeffizienten aller Geschwindigkeiten für virtuelle Differenzdrucksensoren und Drucksensoren. **B:** prozentuale Messfehler aller Geschwindigkeiten für virtuelle Differenzdrucksensoren und Drucksensoren. Die dargestellten Messfehler wurden auf 200% begrenzt, wodurch ebenfalls aufgetretene, größere Messfehler nicht dargestellt sind.

Die Länge des Messintervalls hatte weder bei den Drucksensoren (Kruskal-Wallis Rangsummentest: Kruskal-Wallis $\chi^2 = 1,1815$ für 2 Freiheitsgrade; p -Wert = 0,5539; Mediane: 2,5 s = 0,386; 5 s = 0,378; 10 s = 0,379) noch bei den Differenzdrucksensoren (Kruskal-Wallis Rangsummentest: Kruskal-Wallis $\chi^2 = 3,4042$ für 2 Freiheitsgrade; p -Wert = 0,1823; Mediane: 2,5 s = 0,467; 5 s = 0,455; 10 s = 0,442) einen signifikanten Einfluss auf die Koeffizienten des Kreuzkorrelationsmaximums (Abb. 7.6). Bei den Drucksensoren waren die prozentualen Messfehler bei längeren Messintervallen jedoch leicht verringert (Kruskal-Wallis Rangsummentest: Kruskal-Wallis $\chi^2 = 6,0756$ für 2 Freiheitsgrade; p -Wert = 0,04794; Mediane: 2,5 s = 12,6%; 5 s = 11,5%; 10 s = 11,0%), wohingegen die Messfehler bei den Differenzdrucksensoren nicht signifikant von der Messintervalllänge beeinflusst wurde (Kruskal-Wallis Rangsummentest: Kruskal-Wallis $\chi^2 = 0,0753$ für 2 Freiheitsgrade; p -Wert = 0,9631; Mediane: 2,5 s = 8,9%; 5 s = 8,3%; 10 s = 7,9%).

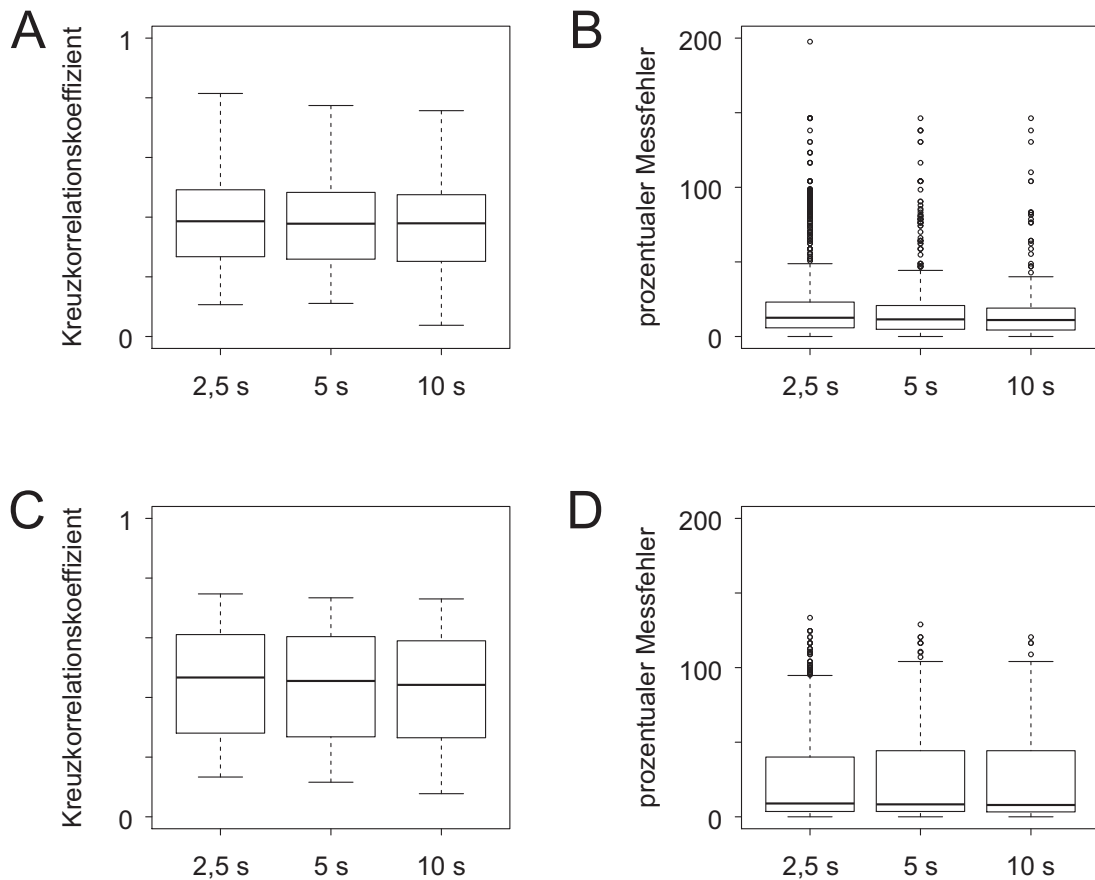


Abbildung 7.6: **Einfluss der Länge des Messintervalls auf die Kreuzkorrelationsmaxima und die prozentualen Messfehler.** **A:** Kreuzkorrelationskoeffizienten der Drucksensoren (1-4). **B:** prozentuale Messfehler der Drucksensoren (1-4). **C:** Kreuzkorrelationskoeffizienten der Differenzdrucksensoren (D1 bis D4). **D:** prozentuale Messfehler der Differenzdrucksensoren (D1 bis D4). Die dargestellten Messfehler wurden auf 200% begrenzt, wodurch ebenfalls aufgetretene, größere Messfehler nicht dargestellt sind.

7.3.3 Einfluss des Sensorabstandes und der Sensorposition auf die Strömungsgeschwindigkeitsbestimmung

In der Drucksensorkonfiguration nahmen mit kleiner werdendem Abstand der Sensoren die Kreuzkorrelationskoeffizienten (Spearman's Rangkorrelation: $S = 3361746746$; p -Wert $< 2,2e-16$; $\rho = -0,7289689$; Kruskal-Wallis Rangsummentest: Kruskal-Wallis $\chi^2 = 1226,042$ für 2 Freiheitsgrade; p -Wert $< 2,2e-16$; Mediane: 1 cm = 0,482; 2 cm = 0,304; 3 cm = 0,232) und die prozentualen Messfehler zu (Spearman's Rangkorrelation: $S = 266626865$; p -Wert = $2,093e-14$; $\rho = -0,2285352$; Kruskal-Wallis Rangsummentest: Kruskal-Wallis $\chi^2 = 190,9225$ für 2 Freiheitsgrade; p -Wert $< 2,2e-16$; Mediane: 1 cm = 15,6%; 2 cm = 6,2%; 3 cm = 15,9%) (Abb. 7.7).

Auch in der Differenzdruckkonfiguration nahmen bei geringer werdendem Ab-

stand der Sensorpaare die Korrelationskoeffizienten zu (Spearman Rangkorrelation: $S = 3617692422$; p-Wert $< 2,2e-16$; $\rho = -0,860604$; Kruskal-Wallis Rangsummentest: Kruskal-Wallis $\chi^2 = 1679,342$ für 2 Freiheitsgrade; p-Wert $< 2,2e-16$; Mediane: 1 cm = 0,606; 2 cm = 0,368; 3 cm = 0,210), die prozentualen Messfehler dagegen ab (Spearman's Rangkorrelation: $S = 190833523$; p-Wert $< 2,2e-16$; $\rho = 0,3631964$; Kruskal-Wallis Rangsummentest: Kruskal-Wallis $\chi^2 = 573,5641$ für 2 Freiheitsgrade; p-Wert $< 2,2e-16$; Mediane: 1 cm = 7,4%; 2 cm = 6,3%; 3 cm = 374,7%).

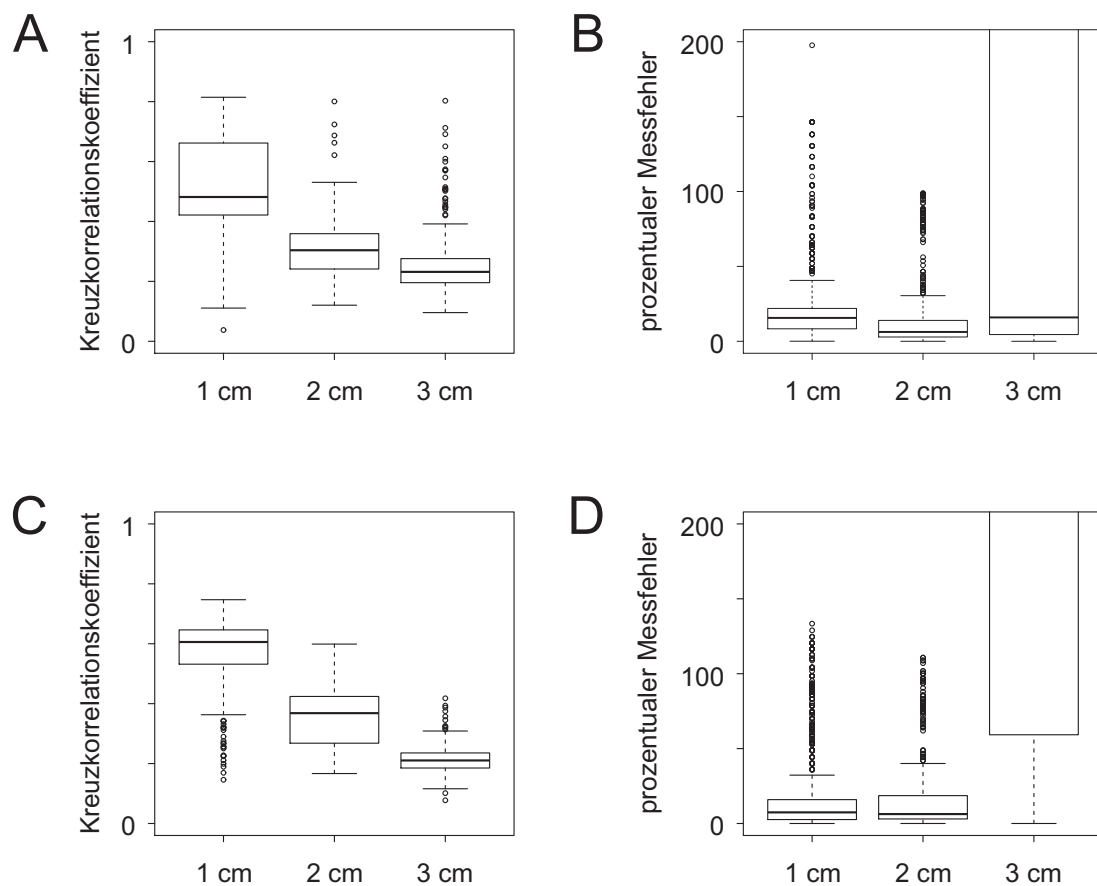


Abbildung 7.7: Einfluss des Abstandes zwischen den beiden zur Kreuzkorrelation genutzten Sensoren auf die Kreuzkorrelationsmaxima und die prozentualen Messfehler. **A:** Kreuzkorrelationskoeffizienten der Drucksensoren (1-4). **B:** prozentuale Messfehler der Drucksensoren (1-4). **C:** Kreuzkorrelationskoeffizienten der Differenzdrucksensoren (D1 bis D4). **D:** prozentuale Messfehler der Differenzdrucksensoren (D1 bis D4). Die dargestellten Messfehler wurden auf 200% begrenzt, wodurch ebenfalls aufgetretene, größere Messfehler nicht dargestellt sind (insbesondere bei 3 cm Sensorabstand).

Die Position benachbarter Sensorpaare innerhalb der Sensoranordnung hat für die Drucksensorkonfiguration einen signifikanten Einfluss auf die ermittelten Koeffizienten der Kreuzkorrelationsmaxima (Kruskal-Wallis Rangsummentest: Kruskal-Wallis $\chi^2 = 1190,86$ für 2 Freiheitsgrade; p-Wert $< 2,2e-16$; Media-

ne: $1\&2 = 0,269$; $2\&3 = 0,400$; $3\&4 = 0,685$) und auf die prozentualen Messfehler (Kruskal-Wallis Rangsummentest: Kruskal-Wallis $\chi^2 = 237,6382$ für 2 Freiheitsgrade; p-Wert $< 2,2e-16$; Mediane: $1\&2 = 15,9\%$; $2\&3 = 7,4\%$; $3\&4 = 17,9\%$), wobei die weiter stromab gelegenen, benachbarten Sensorpaare größere Kreuzkorrelationskoeffizienten (Spearman's Rangkorrelation: $S = 47225968$; p-Wert $< 2,2e-16$; $\rho = 0,8056908$) und vergleichbar große Messfehler (Spearman's Rangkorrelation: $S = 32556816$; p-Wert $= 0,1924$; $\rho = 0,05369318$) aufwiesen (Abb. 7.8).

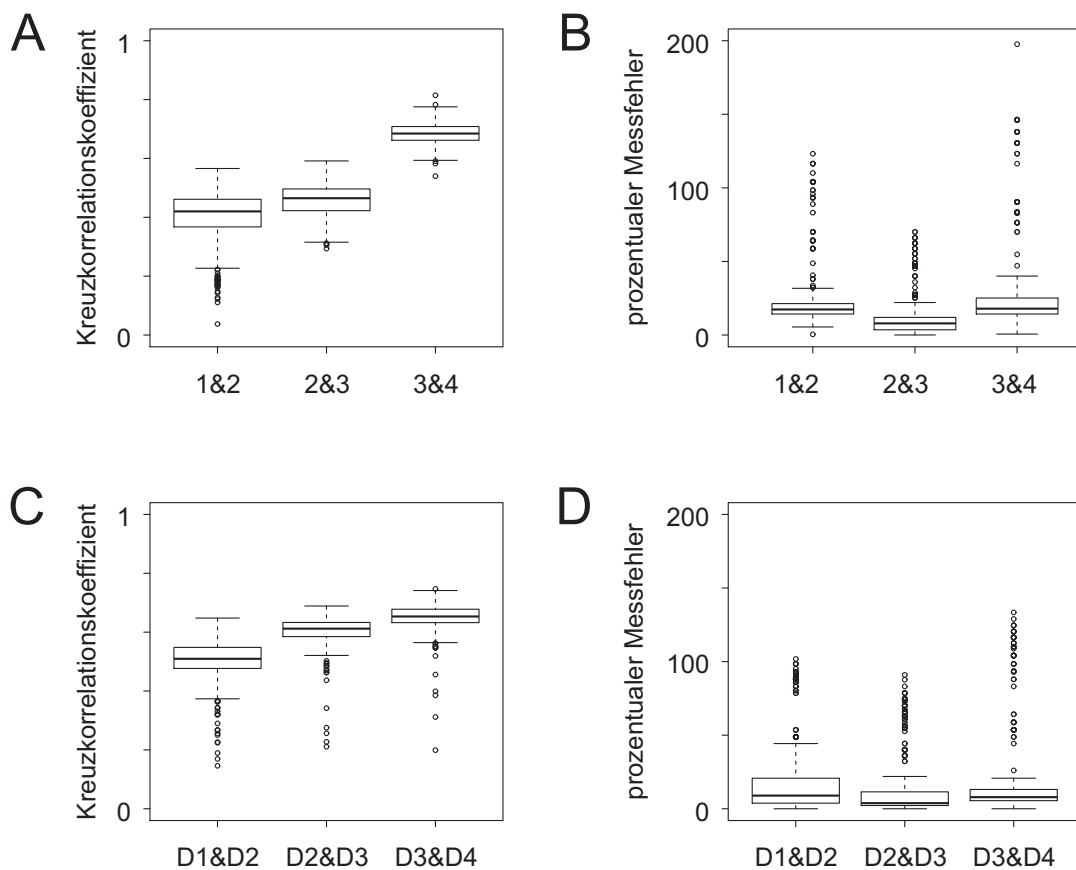


Abbildung 7.8: **Einfluss der Position benachbarter Sensorenpaare innerhalb der Sensoranordnung auf die Kreuzkorrelationsmaxima und die prozentualen Messfehler.** **A:** Kreuzkorrelationskoeffizienten benachbarter Drucksensoren (1&2, 2&3, 3&4). **B:** prozentuale Messfehler benachbarter Drucksensoren (1&2, 2&3, 3&4). **C:** Kreuzkorrelationskoeffizienten benachbarter Differenzdrucksensoren (D1&D2, D2&D3, D3&D4). **D:** prozentuale Messfehler benachbarter Differenzdrucksensoren (D1&D2, D2&D3, D3&D4). Die genannten Sensorpaare entsprechen der in Abbildung 7.2 gezeigten Anordnung. Die dargestellten Messfehler wurden auf 200% begrenzt, wodurch ebenfalls aufgetretene, größere Messfehler nicht dargestellt sind.

Bei den benachbarten Differenzdrucksensoren hatte die Position innerhalb der Messanordnung einen signifikanten Einfluss auf die Korrelationskoeffizienten (Kruskal-Wallis Rangsummentest: Kruskal-Wallis $\chi^2 = 1262,336$ für 2 Freiheitsgrade; p-Wert $< 2,2e-16$; Mediane: $D1\&D2 = 0,275$; $D2\&D3 = 0,513$; $D3\&D4 =$

0,653) und den prozentualen Messfehler (Kruskal-Wallis Rangsummentest: Kruskal-Wallis $\chi^2 = 274,2535$ für 2 Freiheitsgrade; p-Wert $< 2,2e-16$; Mediane: D1&D2 = 15,9%; D2&D3 = 5,3%; D3&D4 = 7,9%). Hierbei waren bei weiter stromab lokalisierten, benachbarten Sensorpaaren die Kreuzkorrelationskoeffizienten größer (Spearman' Rangkorrelation: $S = 50102636$; p-Wert $< 2,2e-16$; $\rho = 0,7938549$) und die Messfehler leicht erhöht (Spearman's Rangkorrelation: $S = 37937891$; p-Wert = 0,02442; $\rho = 0,08965946$).

Der Einfluss der zur Stimulation genutzten Lüfterspannungen, als Indikator für die applizierten Strömungsgeschwindigkeiten, auf die bei der Drucksensorkonfiguration ermittelten Koeffizienten der Kreuzkorrelationsmaxima und die prozentualen Fehler ist in Tabelle 7.1 und Abbildung 7.9 dargestellt.

Tabelle 7.1: **Einfluss der Lüfterspannung auf die Kreuzkorrelation der Drucksensorkonfiguration.** Für die verwendete Lüfterspannung von 3 bis 12 V sind die Mediane der ermittelten Koeffizienten der Kreuzkorrelationsmaxima und die Mediane der prozentualen Messfehler, wie auch der Anteil der Kreuzkorrelationen mit einem Maximum bei einem zeitlichen Versatz von 0 ms angegeben.

Lüfterspannung	KK-Koeffizient	Messfehler	Anteil $\Delta t = 0$
3 V	0,448	48,8%	72,2%
4 V	0,404	83,2%	5,6%
4,5 V	0,357	46,5%	5,6%
5 V	0,392	10,9%	18,3%
5,5 V	0,396	15,9%	2,4%
6 V	0,324	10,6%	8,7%
6,5 V	0,279	7,5%	0%
7 V	0,356	7,9%	7,9%
7,5 V	0,385	7,8%	4,0%
8 V	0,366	6,9%	7,9%
8,5 V	0,392	5,9%	2,4%
9 V	0,382	8,3%	4,0%
9,5 V	0,304	15,1%	18,3%
10 V	0,392	9,6%	4,0%
10,5 V	0,327	10,5%	19,8%
11 V	0,393	9,0%	4,8%
11,5 V	0,336	11,8%	19,0%
12 V	0,446	15,9%	0%

In der Tabelle ist auch der Anteil der Kreuzkorrelationen mit einem Δt von 0 s angegeben. Die an jeweils zwei Drucksensoren gemessenen Signalverläufe wiesen bei 258 von insgesamt 2268 Korrelationen (11,4%) eine zeitliche Verzögerung von 0 ms auf. Insbesondere bei 3 V Lüfterspannung wurde bei über 70% der Kreuzkorrelationen eine zeitliche Verzögerung von 0 ms ermittelt, aus welcher

keine Strömungsgeschwindigkeit errechnet werden kann.

Bei der Drucksensorkonfiguration wurden signifikante Unterschiede der Kreuzkorrelationskoeffizienten bei den genutzten Strömungsgeschwindigkeiten festgestellt (Kruskal-Wallis Rangsummentest: Kruskal-Wallis $\chi^2 = 92,8479$ für 17 Freiheitsgrade; p-Wert = $1,846e-12$; Mediane in Tabelle 7.1), wobei jedoch kein systematischer Effekt der Lüfterspannung auf die Kreuzkorrelationskoeffizienten vorhanden war (Spearman's Rangkorrelation: $S = 2004440042$; p-Wert = $0,1413$; $\rho = -0,03089695$). Bei niedrigeren Lüfterspannungen nahmen die prozentualen Messfehler jedoch deutlich zu (Kruskal-Wallis Rangsummentest: Kruskal-Wallis $\chi^2 = 649,9529$ für 17 Freiheitsgrade; p-Wert $< 2,2e-16$; Mediane in Tabelle 7.1; Spearman's Rangkorrelation: $S = 287878197$; p-Wert $< 2,2e-16$; $\rho = -0,3264549$).

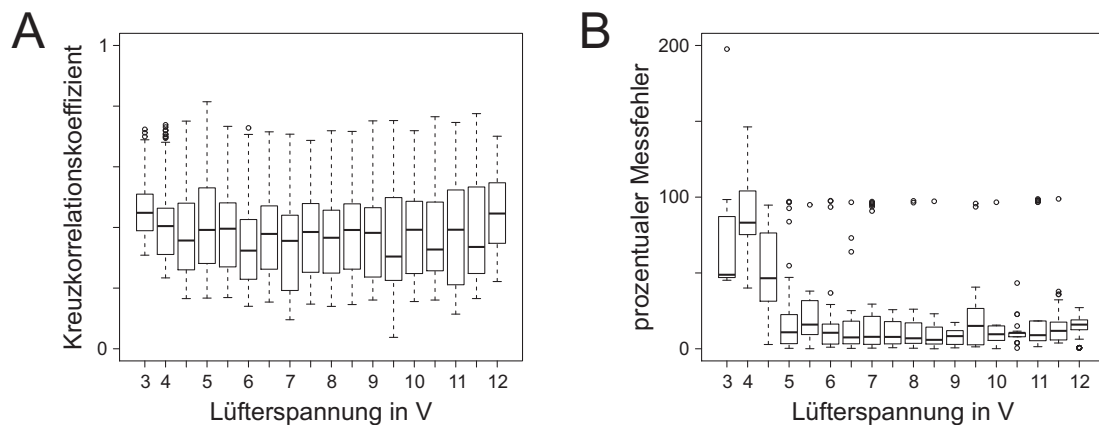


Abbildung 7.9: **Einfluss der Lüfterspannung auf die mittels Drucksensoren bestimmten Kreuzkorrelationsmaxima und die prozentualen Messfehler.** **A:** Kreuzkorrelationskoeffizient der Drucksensoren (1-4). **B:** prozentuale Messfehler der Drucksensoren (1-4). Die dargestellten Messfehler wurden auf 200% begrenzt, wodurch ebenfalls aufgetretene, größere Messfehler nicht dargestellt sind.

Der Einfluss der zur Stimulation der Differenzdrucksensorkonfiguration genutzten Lüfterspannungen auf die ermittelten Koeffizienten der Kreuzkorrelationsmaxima und die prozentualen Fehler ist in Abbildung 7.10 und Tabelle 7.2 dargestellt. In der Tabelle ist zusätzlich der Anteil der Kreuzkorrelationen mit einem Δt von 0 s angegeben. Bei den Differenzdrucksensoren wurde nur bei 57 von 2268 Korrelationen (2,5%) eine zeitliche Verzögerung der Signalverläufe von 0 ms ermittelt (Tab. 7.2). Gegenüber der Drucksensorkonfiguration ist der Anteil von Kreuzkorrelationen mit einer zeitlichen Verzögerung von 0 ms bei den Differenzdrucksensoren somit wesentlich geringer (2,5% gegenüber 11,4% bei den Drucksensoren).

Tabelle 7.2: **Einfluss der Lüfterspannung auf die Kreuzkorrelation der Differenzdrucksensoren.** Für die verwendete Lüfterspannung von 3 bis 12 V sind die Mediane der ermittelten Koeffizienten der Kreuzkorrelationsmaxima und die Mediane der prozentualen Messfehler, wie auch der Anteil der Kreuzkorrelationen mit einem Maximum bei einem zeitlichen Versatz von 0 ms angegeben.

Lüfterspannung	KK-Koeffizient	Messfehler	Anteil $\Delta t = 0$
3 V	0,439	93,6%	4,0%
4 V	0,514	83,2%	0,8%
4,5 V	0,483	44,3%	1,6%
5 V	0,423	8,9%	8,7%
5,5 V	0,517	15,9%	1,6%
6 V	0,443	5,7%	10,3%
6,5 V	0,469	3,3%	2,4%
7 V	0,449	7,5%	4,8%
7,5 V	0,458	5,7%	0,8%
8 V	0,455	3,6%	2,4%
8,5 V	0,462	4,0%	2,4%
9 V	0,464	6,1%	1,6%
9,5 V	0,439	5,5%	0%
10 V	0,467	5,5%	0%
10,5 V	0,428	7,9%	0,8%
11 V	0,478	5,3%	0,8%
11,5 V	0,478	8,0%	0,8%
12 V	0,474	19,0%	1,6%

Die Strömungsgeschwindigkeit beeinflusste bei den Differenzdrucksensoren nicht die Kreuzkorrelationskoeffizienten (Kruskal-Wallis Rangsummentest: Kruskal-Wallis $\chi^2 = 25,9446$ für 17 Freiheitsgrade; p-Wert = 0,07548; Mediane in Tabelle 7.2; Spearman's Rangkorrelation: S = 1944828103; p-Wert = 0,991; $\rho = -0,0002381286$). Die prozentualen Messfehler waren jedoch bei niedrigeren Lüfterspannungen systematisch größer (Kruskal-Wallis Rangsummentest: Kruskal-Wallis $\chi^2 = 774,3431$ für 17 Freiheitsgrade; p-Wert = 2,2e-16; Mediane in Tabelle 7.2; Spearman's Rangkorrelation: S = 384671586; p-Wert < 2,2e-16; $\rho = -0,2836332$).

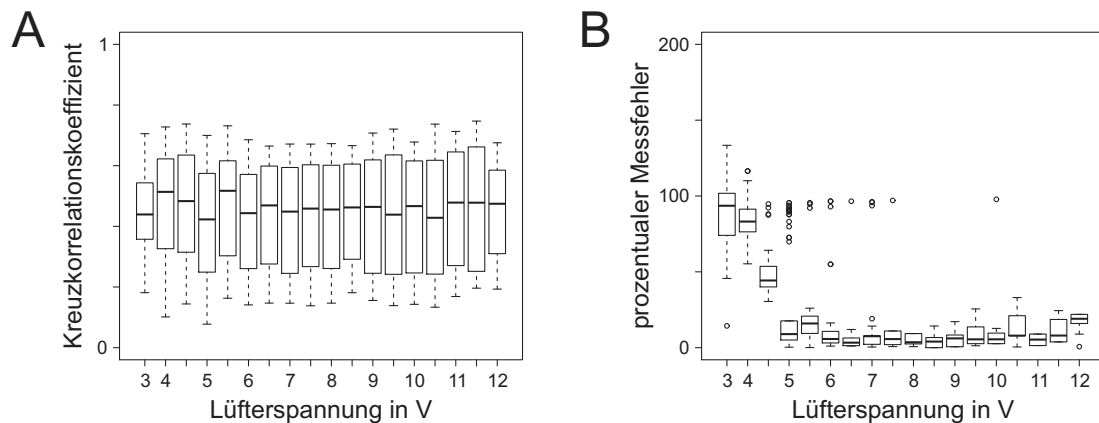


Abbildung 7.10: **Einfluss der Lüfterspannung auf die mittels virtueller Differenzdrucksensoren bestimmten Kreuzkorrelationsmaxima und prozentualen Messfehler. A:** Kreuzkorrelationskoeffizient der Differenzdrucksensoren (D1-D4). **B:** prozentualer Messfehler der Differenzdrucksensoren (D1-D4). Die dargestellten Messfehler wurden auf 200% begrenzt, wodurch ebenfalls aufgetretene, größere Messfehler nicht dargestellt sind.

7.3.4 Auswirkung zeitlicher Filter auf die Geschwindigkeitsmessung mittels Kreuzkorrelation

Die Fluktuationssignale wurden mittels Hochpass, Tiefpass, Bandpass und Bandstop unterschiedlicher Eckfrequenzen gefiltert. Bei der Drucksensorkonfiguration führten Tiefpassfilter mit geringeren Eckfrequenz zu kleineren Kreuzkorrelationskoeffizienten (Spearman's Rangkorrelation: $S = 12349375$; p-Wert $< 2,2e-16$; $\rho = 0,5294385$) und erhöhten den prozentualen Messfehler (Spearman's Rangkorrelation: $S = 40308053$; p-Wert $< 2,2e-16$; $\rho = -0,5359012$) (Abb. 7.11). Hochpassfilter mit größerer Eckfrequenz (insbesondere 100 Hz und 200 Hz), führten zu geringeren Kreuzkorrelationskoeffizienten (Spearman's Rangkorrelation: $S = 29936510$; p-Wert = $0,001044$; $\rho = -0,1407031$) und höheren prozentualen Messfehlern (Spearman's Rangkorrelation: p-Wert = $3,336e-07$; $\rho = 0,2174848$) als die ursprünglichen Signalverläufe. Somit verringerte eine stärkere Filterung der Signalverläufe sowohl beim Hoch- wie auch Tiefpass die Kreuzkorrelationskoeffizienten und erhöhte die prozentualen Messfehler.

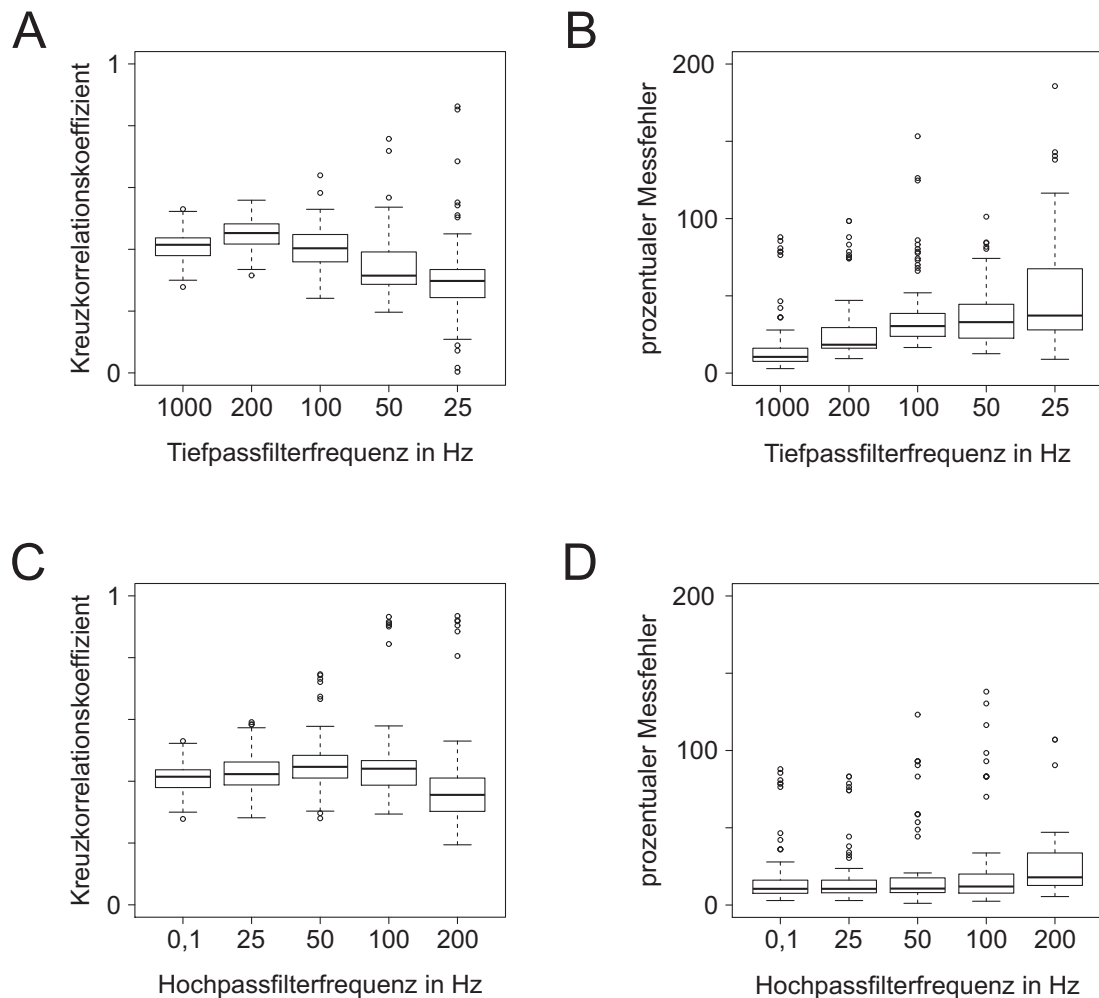


Abbildung 7.11: **Auswirkung von Hoch- und Tiefpassfilterung auf Kreuzkorrelation der Drucksensorkonfiguration.** **A:** Kreuzkorrelationskoeffizienten bei Tiefpassfilterung. **B:** prozentualer Messfehler bei Tiefpassfilterung. **C:** Kreuzkorrelationskoeffizienten bei Hochpassfilterung. **D:** prozentualer Messfehler bei Hochpassfilterung. Die dargestellten Messfehler wurden auf 200% begrenzt, wodurch ebenfalls aufgetretene, größere Messfehler nicht dargestellt sind.

Die Auswirkung unterschiedlicher Hoch- und Tiefpassfilterkombinationen auf die Kreuzkorrelationskoeffizienten und prozentualen Messfehler der Druckkonfiguration sind in Tabelle 7.3 dargestellt. Die verschiedenen Filterkombinationen führten zu Unterschieden in den Kreuzkorrelationskoeffizienten (Kruskal-Wallis Rangsummentest: Kruskal-Wallis $\chi^2 = 783,0486$ für 20 Freiheitsgrade; p-Wert $< 2,2e-16$) und prozentualen Messfehlern (Kruskal-Wallis Rangsummentest: Kruskal-Wallis $\chi^2 = 625,2404$ für 20 Freiheitsgrade; p-Wert $< 2,2e-16$). Die ursprüngliche Minimalfilterung aus 0,1 Hz Hochpass und 1000 Hz Tiefpass hatte hierbei die geringsten prozentualen Messfehler (Median = 10,5%), wobei hier nicht die größten Kreuzkorrelationskoeffizienten auftraten. Die Höhe der Kreuzkorrelationskoeffizienten wurde durch die Hoch- und Tiefpassfiltereckfrequenzen sowie deren Wechselspiel beeinflusst (zweifaktorielle Anova; Hochpasseckfrequenz: Quadrat-

summe = 3,3779 für 4 Freiheitsgrade; F-Wert = 117,428; p-Wert < 2,2e-16. Tiefpasseckfrequenz: Quadratsumme = 1,4982 für 4 Freiheitsgrade; F-Wert = 52,084; p-Wert < 2,2e-16. Interaktion: Quadratsumme = 0,9329 für 12 Freiheitsgrade; F-Wert = 10,810; p-Wert < 2,2e-16; Residuen = 16,1592 bei 2247 Freiheitsgraden), wobei die höchsten Kreuzkorrelationskoeffizienten bei Bandpassfilterung der Signalverläufe mit 50 und 200 Hz erreicht wurden (Median = 0,516). Die Größe der prozentualen Messfehler wurde ebenfalls von den Eckfrequenzen der Hoch- und Tiefpässe, nicht jedoch deren Interaktion beeinflusst (zweifaktorielle Anova; Hochpasseckfrequenz: Quadratsumme = 4,6211e+10 für 4 Freiheitsgrade; F-Wert = 9,3655; p-Wert = 1,662e-07; Tiefpasseckfrequenz: Quadratsumme = 3,0275e+10 für 4 Freiheitsgrade; F-Wert = 6,1357; p-Wert = 6,577e-05; Interaktion: Quadratsumme = 5,8108e+09 für 12 Freiheitsgrade; F-Wert = 0,3926; p-Wert = 0,9668. Residuen = 2,7718e+12 bei 2247 Freiheitsgraden).

Tabelle 7.3: Mediane und Mittelwerte der Kreuzkorrelationskoeffizienten und prozentualen Messfehler für alle Geschwindigkeiten der Drucksensoren.

Hochpass	Tiefpass	Median KKK	MW KKK	Median Fehler	MW Fehler
0,1 Hz	1000 Hz	0,415	0,409	10,5%	11352,2%
0,1 Hz	200 Hz	0,453	0,448	18,4%	1943,5%
0,1 Hz	100 Hz	0,403	0,402	30,4%	40,2%
0,1 Hz	50 Hz	0,315	0,342	33,0%	48,7%
0,1 Hz	25 Hz	0,298	0,300	37,2%	58,6%
100 Hz	1000 Hz	0,441	0,456	12,0%	12490,2%
100 Hz	200 Hz	0,507	0,523	15,2%	11357,1%
100 Hz	50 Hz	0,480	0,473	14,6%	11356,2%
100 Hz	25 Hz	0,471	0,471	11,6%	11355,0%
200 Hz	1000 Hz	0,356	0,380	17,9%	20421,2%
200 Hz	100 Hz	0,411	0,421	13,8%	11357,2%
200 Hz	50 Hz	0,418	0,421	12,9%	11357,6%
200 Hz	25 Hz	0,409	0,417	14,2%	11359,3%
25 Hz	1000 Hz	0,423	0,425	10,5%	11351,9%
25 Hz	200 Hz	0,473	0,465	18,4%	365,9%
25 Hz	100 Hz	0,435	0,431	34,4%	64,5%
25 Hz	50 Hz	0,387	0,391	31,2%	36,8%
50 Hz	1000 Hz	0,447	0,455	10,6%	11354,0%
50 Hz	200 Hz	0,516	0,516	18,3%	3010,0%
50 Hz	100 Hz	0,484	0,483	25,5%	480,5%
50 Hz	25 Hz	0,471	0,465	21,0%	299,8%

Tiefpassfilter mit geringerer Eckfrequenz führten auch bei der Differenzdrucksensorkonfiguration zu geringeren Kreuzkorrelationskoeffizienten (Spearman's Rangkorrelation: $S = 6257137$; p-Wert < 2,2e-16; $\rho = 0,7615776$) und größeren pro-

zentualen Messfehlern (Spearman's Rangkorrelation: $S = 46260868$; p-Wert $< 2,2e-16$; $\rho = -0,7627277$) als die ursprünglichen Signalverläufe (Abb. 7.12). Bei Hochpassfilterung mit größerer Eckfrequenz waren höhere prozentuale Messfehler (Spearman's Rangkorrelation: $S = 16586136$; p-Wert $< 2,2e-16$; $\rho = 0,3680006$) als bei den ursprünglichen Signalverläufen festzustellen, wohingegen keine systematische Beeinflussung (langsamer Anstieg bis 100 Hz und Abfall bei 200 Hz) der Kreuzkorrelationskoeffizienten durch unterschiedliche Hochpassfiltereckfrequenzen auftrat (Spearman's Rangkorrelation: $S = 24987544$; p-Wert = $0,2668$; $\rho = 0,04787265$).

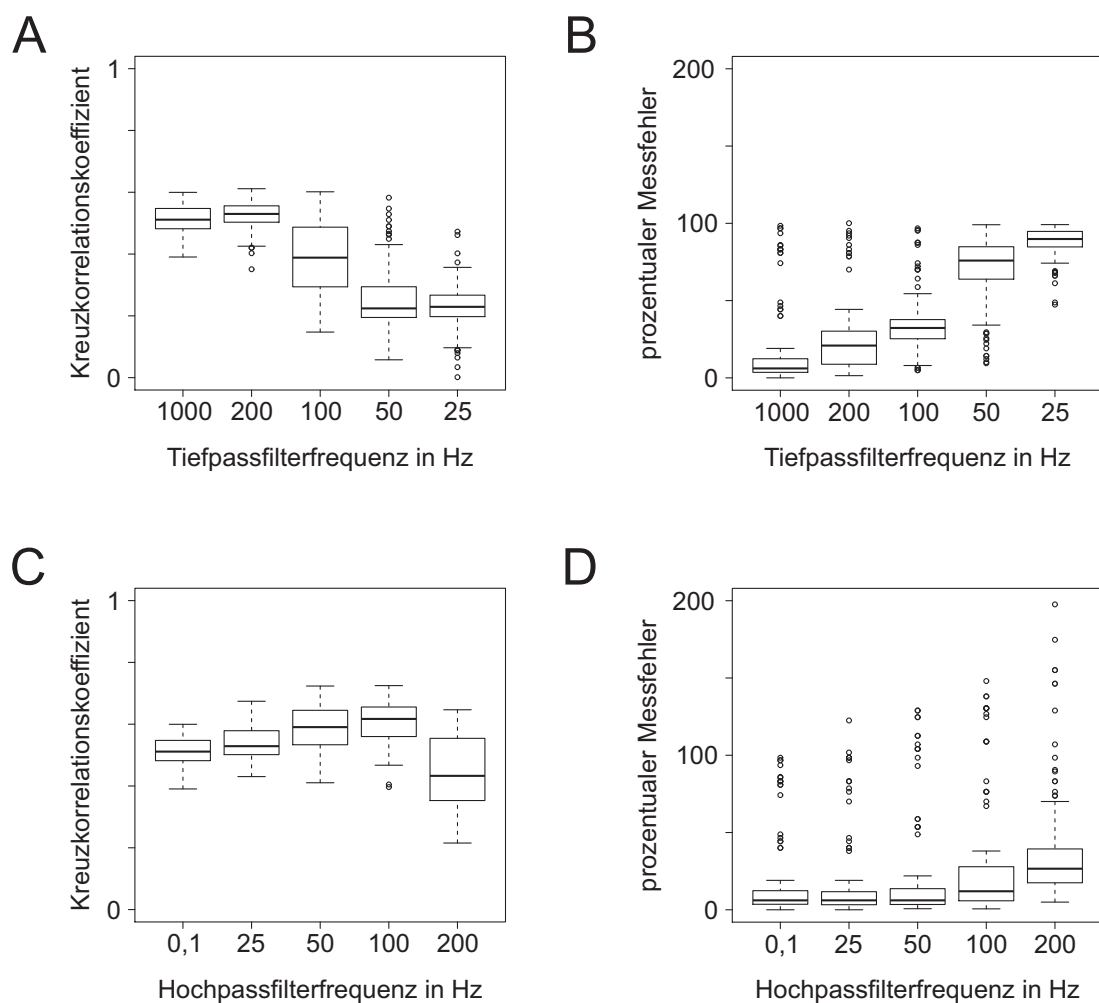


Abbildung 7.12: **Auswirkung von Hoch- und Tiefpassfilterung auf Kreuzkorrelation der Differenzdrucksensorkonfiguration.** **A:** Kreuzkorrelationskoeffizienten bei Tiefpassfilterung. **B:** prozentuale Messfehler bei Tiefpassfilterung. **C:** Kreuzkorrelationskoeffizienten bei Hochpassfilterung. **D:** prozentuale Messfehler bei Hochpassfilterung. Die dargestellten Messfehler wurden auf 200% begrenzt, wodurch ebenfalls aufgetretene, größere Messfehler nicht dargestellt sind.

Die Auswirkung unterschiedlicher Hoch- und Tiefpassfilterkombinationen auf

die Kreuzkorrelationskoeffizienten und prozentualen Messfehler der Differenzdruckkonfiguration sind in Tabelle 7.4 dargestellt.

Tabelle 7.4: **Mediane und Mittelwerte der Kreuzkorrelationskoeffizienten und prozentualen Messfehler für alle Geschwindigkeiten der Differenzdrucksensoren.**

Hochpass	Tiefpass	Median KKK	MW KKK	Median Fehler	MW Fehler
0,1 Hz	1000 Hz	0,511	0,511	6,1%	17,4%
0,1 Hz	200 Hz	0,530	0,526	20,9%	25,5%
0,1 Hz	100 Hz	0,388	0,385	32,3%	35,7%
0,1 Hz	50 Hz	0,224	0,259	75,9%	69,6%
0,1 Hz	25 Hz	0,229	0,228	89,8%	87,8%
100 Hz	1000 Hz	0,617	0,605	12,0%	28,4%
100 Hz	200 Hz	0,710	0,695	15,6%	27,9%
100 Hz	50 Hz	0,650	0,652	10,7%	23,7%
100 Hz	25 Hz	0,654	0,642	10,7%	24,0%
200 Hz	1000 Hz	0,433	0,451	26,6%	44,5%
200 Hz	100 Hz	0,581	0,583	15,6%	25,9%
200 Hz	50 Hz	0,579	0,580	14,3%	26,1%
200 Hz	25 Hz	0,571	0,556	14,3%	27,8%
25 Hz	1000 Hz	0,529	0,540	6,1%	17,7%
25 Hz	200 Hz	0,560	0,567	20,9%	25,7%
25 Hz	100 Hz	0,462	0,476	33,6%	38,5%
25 Hz	50 Hz	0,344	0,392	29,7%	42,2%
50 Hz	1000 Hz	0,591	0,584	6,1%	21,3%
50 Hz	200 Hz	0,668	0,666	20,9%	29,4%
50 Hz	100 Hz	0,587	0,595	25,7%	34,1%
50 Hz	25 Hz	0,572	0,584	20,9%	27,6%

Die verschiedenen Filterkombinationen führten zu Unterschieden in den Kreuzkorrelationskoeffizienten (Kruskal-Wallis Rangsummentest: Kruskal-Wallis $\chi^2 = 1422,543$ für 20 Freiheitsgrade; p-Wert $< 2,2e-16$) und den prozentualen Messfehlern (Kruskal-Wallis Rangsummentest: Kruskal-Wallis $\chi^2 = 684,2317$ für 20 Freiheitsgrade; p-Wert $< 2,2e-16$). Die Höhe der Kreuzkorrelationskoeffizienten wurde dabei durch die Hoch- und Tiefpassfiltereckfrequenzen sowie deren Wechselspiel beeinflusst (zweifaktorielle Anova; Hochpasseckfrequenz: Quadratsumme = 20,8696 für 4 Freiheitsgrade; F-Wert = 864,78; p-Wert $< 2,2e-16$. Tiefpasseckfrequenz: Quadratsumme = 4,8231 für 4 Freiheitsgrade; F-Wert = 199,86; p-Wert $< 2,2e-16$. Interaktion: Quadratsumme = 7,5874 für 12 Freiheitsgrade; F-Wert = 104,80; p-Wert $< 2,2e-16$. Residuen = 13,5566 bei 2247 Freiheitsgraden). Die größten Kreuzkorrelationskoeffizienten traten bei Bandpassfilterung der Signalverläufe mit 100 und 200 Hz (Median = 0,71; Mittelwert = 0,695) auf.

Die Größe der prozentualen Messfehler wurde ebenfalls von den Eckfrequenzen

der Hoch- und Tiefpässe, sowie deren Interaktion beeinflusst (zweifaktorielle Anova; Hochpasseckfrequenz: Quadratsumme = 141884 für 4 Freiheitsgrade; F-Wert = 33,599; p-Wert < 2,2e-16; Tiefpasseckfrequenz: Quadratsumme = 96104 für 4 Freiheitsgrade; F-Wert = 22,758; p-Wert < 2,2e-16; Interaktion: Quadratsumme = 374685 für 12 Freiheitsgrade; F-Wert = 29,576; p-Wert < 2,2e-16; Residuen = 2372185 bei 2247 Freiheitsgraden), wobei die geringsten prozentualen Messfehler in der ursprünglichen Minimalfilterung aus 0,1 Hz Hochpass und 1000 Hz Tiefpass sowie 25 Hz oder 50 Hz Hochpass und 1000 Hz Tiefpass (Median = 6,1%) auftraten.

7.4 Diskussion

Die Ergebnisse zeigen, dass Kreuzkorrelationen der Differenzdrucksensoren im Vergleich zu KKs der Drucksensoren höhere Kreuzkorrelationskoeffizienten aufwiesen, es jedoch keine deutlichen Unterschiede bezüglich der Mediane aller prozentualen Messfehler gibt. Die Länge des für die Kreuzkorrelation genutzten Zeitintervalls beeinflusste die Kreuzkorrelationskoeffizienten und den prozentualen Messfehler kaum, wobei ein leichter Effekt der Messintervalllänge auf den prozentualen Messfehler der Drucksensoranordnung festgestellt wurde. Bei der verwendeten Versuchsanordnung und den Luftströmungsfluktuationen scheint sich auch das kürzeste untersuchte Zeitintervall von 2,5 s noch zur Geschwindigkeitsbestimmung mittels Kreuzkorrelation zu eignen.

Einen deutlichen Einfluss hatte jedoch sowohl in der Druck- wie auch der Differenzdruckanordnung der Abstand der jeweils zur Kreuzkorrelation genutzten Sensoren. Hierbei hatten Korrelationspaare aus benachbarten Sensoren (1 cm Abstand) wesentlich höhere Kreuzkorrelationskoeffizienten und auch geringere prozentuale Messfehler als Sensorpaare mit 3 cm Abstand. Hierbei ist die Veränderung der Fluktuationen während der Passage entlang der Sensoranordnung die wahrscheinlichste Ursache für die Verringerung der Kreuzkorrelationskoeffizienten, wobei die zusätzlich erhöhten Messfehler der Verschlechterung des Verhältnisses zwischen Nutz- und Störsignalen zuzuschreiben sind (vergleiche Abb. 7.3). Auch die Position innerhalb der Sensoranordnung hatte einen wesentlichen Einfluss auf die Geschwindigkeitsbestimmung mittels Kreuzkorrelation. Bei jeweils benachbarten Sensoren zeigten die innerhalb der Sensoranordnung weiter stromab gelegenen Sensorpaare höhere Kreuzkorrelationskoeffizienten als die Sensorpaare, die am Anfang der Anordnung lokalisiert waren. Nah am Entstehungsort der Fluktuationen (mutmaßlich die Kante der Messanordnung, Abb. 7.2) lokalisierte

Sensorpaare nehmen stärkere Fluktuationen wahr, die sich im Verlauf der Ausbreitung der Fluktuationen entlang der Sensoranordnung verändern. Vermutlich zerfallen diese Fluktuationen zeitlich-räumlich ungleichmäßig, wodurch die Änderungen der gemessenen Signale zwischen den ersten beiden Sensoren stärker ausfielen als zwischen den letzten beiden Sensoren, die von der Luft überströmt werden.

Die geringsten prozentualen Messfehler wurden jedoch bei den mittleren Sensorpaaren gefunden, wobei ebenfalls festzustellen war, dass die höchsten prozentualen Messfehler bei niedrigen Lüfterspannungen von 3 bis 4,5 V (Referenzströmungsgeschwindigkeit 0,17 m/s bis 0,42 m/s) auftraten. Auch der Anteil der Korrelationen mit einem zeitlichen Versatz der Signale von 0 ms hier mit bis zu 72% besonders hoch. Möglicherweise ist das Fehlen von Verwirbelungen in der Luftströmung bei den geringen Strömungsgeschwindigkeiten die Ursache für diese Messfehler. Es konnte nicht geklärt werden, ob nicht die begrenzte allgemeine Messgenauigkeit des Anemometers sowie der erhöhten Fehler bei den geringen Strömungsgeschwindigkeiten (vermutlich in der Größenordnung von 10%) die Ursache für die zumeist hohen Abweichungen war.

Die Filterung der Signalverläufe schien bei der verwendeten Versuchsanordnung keinen positiven Effekt zu haben. Entgegen den, mittels künstlich erzeugter Signalformen gezeigten, Effekten, schienen die zeitlichen Filter zwar bei bestimmten Filterfrequenzen die Kreuzkorrelationskoeffizienten deutlich zu erhöhen, jedoch verschlechterte sich hierbei überwiegend der Median der Messfehler. Die zeitliche Filterung reichte demnach in der gewählten Versuchsanordnung nicht aus, um die Gleichtaktstörungen (beispielsweise durch Schallwellen) zu entfernen, wohingegen die Differenzdruckanordnung diesbezüglich der Drucksensoranordnung überlegen ist. Die Bildung der Gesamtantwort der Sensoranordnungen durch die Berechnung des Median aller Sensorpaare (mit Ausnahme des Sensorpaares mit 3 cm Abstand) für jeden Zeitpunkt führte auch bei den kaum gefilterten (Bandpass aus 0,1 Hz und 1000 Hz) Signalverläufen zu einer wesentlichen Verbesserung bezüglich des prozentualen Messfehlers (Drucksensoren 10,5% gegenüber 12,0% sowie Differenzdrucksensoren 6,1% gegenüber 8,9%). Die Verwendung des Medians konnte vermutlich die vereinzelt aufgetretenen Extremwerte wirkungsvoll entfernen, wodurch die prozentualen Messfehler verringert werden konnten.

Sensoranordnungen zur Messung der Strömungsgeschwindigkeit mittels Kreuzkorrelation sollten daher aus Differenzdrucksensoren bestehen, die einen möglichst geringen Sensorabstand aufweisen. Der Abstand der Sensoranordnung zum Entstehungsort der Fluktuationen muss so gewählt werden, dass die vorhandenen

Fluktuationen erfasst werden können, diese sich jedoch während der Passage der Sensoranordnung nicht zu stark verändern. Vorteilhaft ist die Bildung einer Gesamtantwort der Messanordnung zu jedem Messzeitpunkt, beispielsweise in Form des Median der Korrelationen aller Sensoren. Hierdurch können die von einzelnen Sensorpaaren ermittelten Extremwerte wirkungsvoll entfernt werden. Daher ist hinsichtlich der Zuverlässigkeit des Messsystems eine möglichst große Anzahl von Sensoren von Vorteil, wobei in praktischer Anwendung einer sehr hohen Anzahl an Sensoren die erhöhten Kosten entgegenstehen dürften. Die Verwendung zeitlicher Filter scheint das Messergebnis nicht wesentlich zu verbessern, wobei unter bestimmten Bedingungen die Reduktion der Sensorbandbreite, beispielsweise bei monofrequenten und kontinuierlichen Vibrationen im Umfeld einer industriellen Anwendung, durchaus vorteilhaft werden könnte.

Das folgende Kapitel widmet sich der Anwendung der bionischen Sensoren in industrienahen Messaufgaben.

Kapitel 8

Evaluation bionischer Messverfahren und Sensoren in technischen Anwendungen

8.1 Einleitung

Dieses Kapitel wurde auszugsweise in zwei Publikationen veröffentlicht (Herzog et al. 2015a,b). In den Kapiteln 6 und 7 wurden die grundsätzlichen Auswirkungen unterschiedlicher Fluktuationenmuster und Sensoranordnungen auf die Bestimmung der Strömungsgeschwindigkeit mittels räumlich-zeitlicher Strömungsmuster betrachtet. Dieses Kapitel beschreibt die praktische Anwendbarkeit der bionischen Strömungsmessgeräte zur Ermittlung von Durchflussraten in Rohrleitungen. Nach der Durchführung eines Vorversuches mit einer makroskopischen Sensoranordnung, wurde eine Versuchsreihe in industrienaher Anwendung in dem Messstand des BIONA-Projektpartners Hydrometer GmbH durchgeführt, um das korrelationsbasierte Strömungsmessverfahren mit den in Kooperation mit dem Forschungszentrum caesar hergestellten mikrosystemtechnologischen Kanalneuromasten zu erproben. Neben der Bypass-Konfiguration, in welcher der künstliche Kanalneuromast im Wesentlichen die AC-Komponente der Strömung detektiert, könnte der Sensorkanal beispielsweise zur Messung kleinster Flüssigkeitsmengen auch direkt vom Fluid durchströmt werden. Es ergeben sich für dieses Kapitel folgende Fragestellungen:

1. Kann das korrelationsbasierte Messverfahren auch in geschlossenen Rohrleitungen die Fluidströmungsgeschwindigkeit bestimmen und inwieweit unterscheiden sich die Messbedingungen in geschlossenen Rohrleitungen von denen im offenen Strömungstank (siehe Kapitel 6)?

2. Lässt sich der bionische Strömungssensor auch im direkten Durchfluss zur Bestimmung geringer Durchflussraten im Sensorkanal, beispielsweise zur Messung und Überwachung von Strömungen in mikrofluidischen Systemen, einsetzen?
3. Ist das bionische Messverfahren wirtschaftlich sinnvoll in industrielle Strömungsmessaufgaben zu überführen beziehungsweise welche Herausforderungen stehen dem derzeit entgegen?

8.2 Methoden

8.2.1 Optimierung des optischen Auslesevorgangs und elektronische Messwerterfassung

Die Abbildung 8.1 zeigt unterschiedliche, zur Detektion der Lamellenbewegung genutzte, optische Ausleseverfahren. Für die optische Auswertung können prinzipiell eine Reihe von optischen Detektoren genutzt werden, die jeweils ihre Vor- und Nachteile haben. Optische Detektoren wie beispielsweise PSDs (Positionsempfindliche Dioden) oder auch CCD-Chips (beispielsweise verwendet in Digitalkameras) können die Position des von der Lamellenspitze austretenden Lichtpunktes bestimmen. Diese Verfahren haben den Vorteil, dass sie die Position präzise, direkt und über einen großen Auslenkungsbereich (großer Dynamikbereich des Strömungssensors) kodieren. Nachteilig bei den positionsempfindlichen Detektoren ist, dass die Auswertung der Messsignale sehr viel aufwendiger ist als bei den intensitätsbasierten Verfahren. Weiterhin eignen sich die positionsbasierten Ausleseverfahren weniger gut zur Detektion der zu erwartenden kleinen Auslenkungen der Mikrosystemtechnologisch hergestellten Lamellen. Der Grund hierfür ist, dass die Positionssensoren entweder eine minimale Pixelraasterung (CCD) oder große, ungenutzte Sensorflächen (PSD) aufweisen.

Die Strömungssensoren der ersten Generation (Klein 2009; Klein & Bleckmann 2011) nutzten für die Auswertung einen Fototransistor, der die Auslenkung der Lamelle anhand der Intensitätsänderung kodierte. Der Vorteil dieses Verfahrens besteht darin, dass kleine Verbiegungen der Lamelle zu einer starken Änderung des Messsignals führen können (Lawineneffekt) und damit auch sehr schwache Lichtintensitäten detektiert werden können. Nachteilig bei diesem Verfahren ist, dass kleine Änderungen der äußeren Parameter wie beispielsweise Temperatur, Lichtabgabe der LED sowie Brummen und Rauschen das gemessene Signal direkt beeinflussen. Weiterhin ist das Messverfahren aufgrund der kleinen Sensorfläche

nur für kleine Lamellenauslenkungen geeignet, was den Dynamikbereich des Sensors einschränkt.

Alternativ zu der Messung der Lichtintensität an einem Punkt (Fototransistor), messen Differential- und Mehrquadrantendioden die Lichtintensitäten an mindestens zwei Stellen über mehrere, räumlich verteilte und direkt angrenzende Fotodioden. Hierbei kann die hohe Sensitivität für kleine Auslenkungen mit hoher Dynamik und weitgehender Störungsfreiheit kombiniert werden. Durch Differenzierung der einzelnen Diodenflächensignale kann das von der Lamellenverbiegung verursachte Gegentakt-Messsignal gegenüber den synchron von den Dioden detektierten Störsignalen (Gleichtaktstörung) verstärkt werden. Somit kann das Signal-Rausch-Verhältnis erheblich verbessert werden, wobei ein ähnlicher Mechanismus auch bei dem biologischen Vorbild vermutet wird, da jeder Neuromast zwei entgegengesetzt orientierte Haarzellpopulationen aufweist.

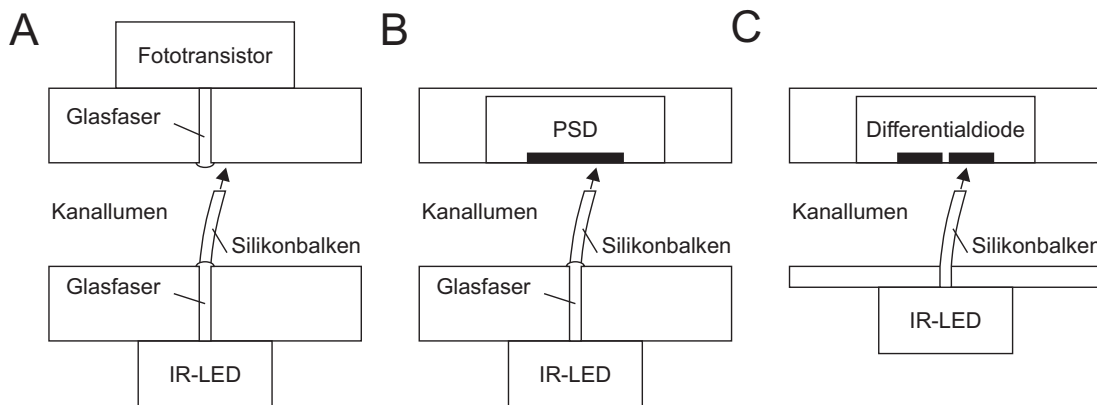


Abbildung 8.1: **Ausleseverfahren zur Detektion der Lamellenbewegung.** **A:** Verwendung eines Fototransistors. **B:** positionsempfindliche Fotodiode (PSD) **C:** Differentialfotodiode. Verändert nach Herzog et al. 2015b.

Die in den unterschiedlichen Messreihen verwendeten, und im Verlauf der Sensorentwicklung optimierten, Auswerteschaltungen sind in Abbildung 8.2 dargestellt. Die im Kapitel 6 genutzten, handgefertigten künstlichen Kanalneuromasten nutzten zum Auslesen der Lamellenauslenkung einen Fototransistor (T1), dessen Fotostrom von einem nachfolgenden Transistor (T2) weiter verstärkt wurde (Abb. 8.2A, siehe auch Klein 2009). Der so verstärkte Fotostrom wurde durch den Spannungsabfall über den Widerstand R2 und nachfolgender Hochpassfilterung (C2) in eine proportionale Ausgangsspannung (U_A) überführt. Insbesondere die Umgebungstemperatur und Störungen der Versorgungsspannungen (U_D und U_V) wirken bei dieser Ausleseelektronik jedoch direkt auf die gemessene Ausgangsspannung ein. Für das Auslesen der Lamellenauslenkung der makroskopischen Sensoren mittels positionsempfindlicher Fotodiode (PSD), wurden die Fotospannungen

der beiden richtungssensitiven Ausgänge der positionsabhängigen Fotodiode differenziert (Diff) und anschließend AC-gekoppelt (AC-V) verstärkt (Abb. 8.2B, siehe auch Klein 2012). Durch die Verwendung integrierter Schaltkreise (IC) mit zusätzlicher elektronischer Regelung der internen Stromversorgung, kann zumindest eine Beeinflussung der gemessenen Ausgangsspannung durch die Störung der Versorgungsspannung dieser Bauelemente verhindert werden. Störungen der Versorgungsspannung (U_D) der Infrarotleuchtdioden (IR-LED) werden jedoch weiterhin direkt in das Messsignal eingekoppelt. Dieses Auswerteverfahren wurde für die durchgeführte Vorstudie zur Geschwindigkeitsbestimmung in Rohrleitungen verwendet. Die für die geringen Auslenkungen der mikrosystemtechnologischen Sensoren notwendige hohe Präzision wurde durch den Schaltkreis in Abbildung 8.2C erreicht. Zusätzlich stellten die Messungen bei direkter Durchströmung erhöhte Anforderungen an die Gleichspannungsstabilität der Auswerteelektronik. Im Gegensatz zu den beiden zuvor beschriebenen Schaltungen, verarbeitet der Schaltkreis in Abbildung 8.2C nicht die Fotospannungen, sondern nutzt die Fotostrome einer Differentialdiode (DD, BPX48, OSRAM Opto Semiconductors) als Messsignal, welche in einem weitgehend linearen Zusammenhang mit der detektierten Lichtintensität stehen. Die Fotostrome wurden mittels je einem Transimpedanzverstärker (I/U, LF356, Texas Instruments mit Feedbackwiderstand 1 M Ω mit parallel geschaltetem 22 pF Kondensator) in eine zum Fotostrom proportionale Spannung überführt. Die Transimpedanzverstärker wurden über eine kleine Kupferkühlschiene thermisch gekoppelt, um die Wärmeabgabe an die Umgebung zu verbessern und für alle ICs eine möglichst ähnliche thermische Umgebung zu gewährleisten. Die temperaturabhängigen Veränderungen der Bauteilparameter sollten hierdurch möglichst gleichmäßig auf allen Verstärkerkanälen auftreten und durch die anschließende Differenzierung egalisiert werden können. Die Differenzierung wurde mittels eines Instrumentenverstärkers (Diff, INA128, Texas Instruments) durchgeführt. Bei der Differenzierung erfolgte zusätzlich eine variable Verstärkung der differenzierten Signale. Da der Schaltkreis für eine Messung der kleinen Sensorauslenkungen trotz erheblicher Verstärkung ausreichend driftstabil war, konnte auf eine AC-Kopplung verzichtet werden. Der ursprünglich zur Ansteuerung der IR-LED verwendete Widerstand (R1 in Abb. 8.2A und B) wurde durch eine präzise Steuerung ersetzt. Die emittierte Leistung der IR-LED wird daher über eine Stromquelle (I_D mittels LM317 Texas Instruments auf etwa 1 mA eingestellt) geregelt, welche eine direktere Kontrolle der Illumination der Sensorlamelle und eine Unabhängigkeit von Störungen der Versorgungsspannung bietet.

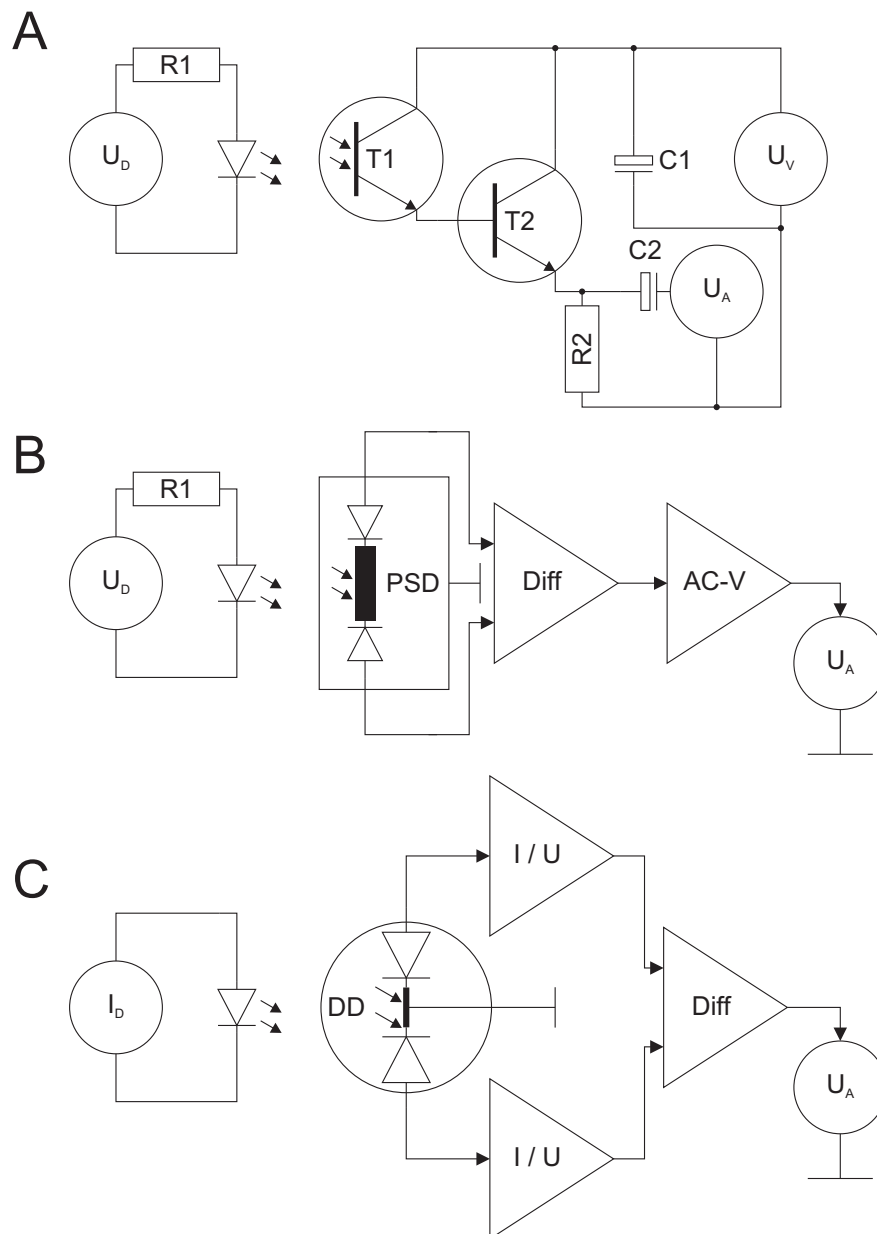


Abbildung 8.2: **Entwicklung der zur Detektion der Lamellenverbiegung genutzten Ausleseelektronik.** **A:** Ausleseverfahren mittels Fototransistor. **B:** Ausleseverfahren mittels Positionsempfindlicher Fotodiode. **C:** Ausleseverfahren mittels Differentialfotodiode. Verändert nach Herzog et al. 2015b.

Die Herstellung des bionischen Strömungssensors mittels mikrosystemtechnischer Verfahrenstechnik wurde im Rahmen einer 3,5-jährigen Zusammenarbeit im Rahmen eines BIONA-Verbundvorhabens von den Mitarbeitern der Projektgruppe Mikrosystemtechnologie des Forschungszentrums caesar entwickelt. Dieser Prozessablauf ist daher nicht Gegenstand der vorliegenden Arbeit und wird nur zur Vollständigkeit in Abbildung 8.3 grob schematisch gezeigt.

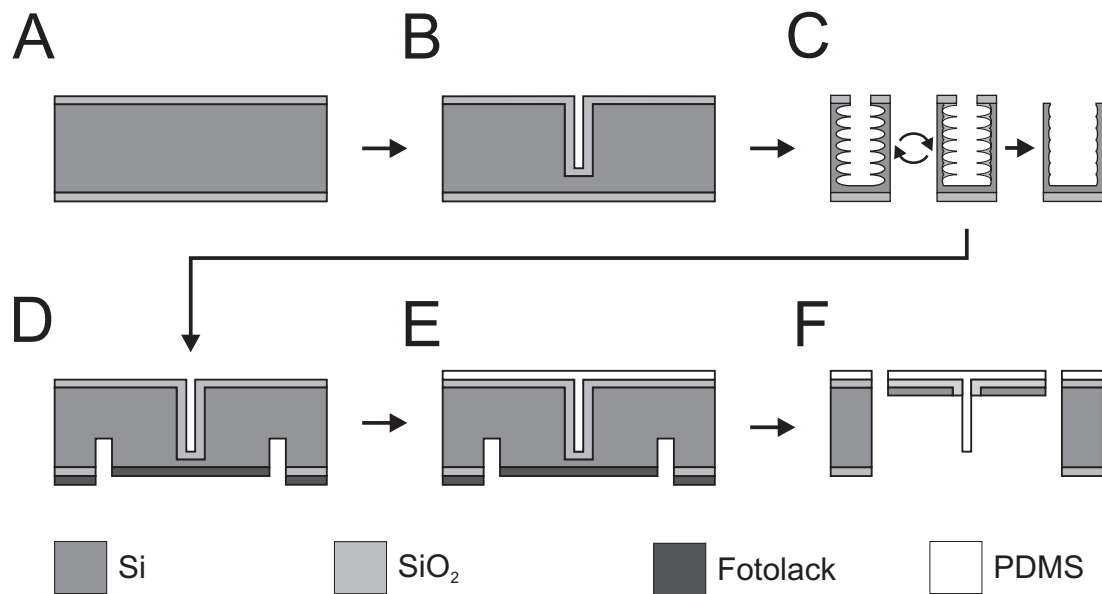


Abbildung 8.3: **Mikrosystemtechnologische Herstellung des bionischen Strömungssensors.** **A:** thermische Oxidation des Silizium (Si)-Trägersubstrats. **B:** Trockenätzen der 900 μm tiefen Lamellenkavitäten. **C:** Glättungsprozess der Seitenwände mittels Oxidations- und mehreren Ätzyklen. **D:** Trockenätzen der hydraulischen Anschlüsse. **E:** Mikrogießen des Silikons (PDMS). **F:** Trockenätzen der Kanalstruktur und nasschemisches Entfernen der schützenden Oxidschicht zur Freistellung der Silikonlamelle. Graustufen zeigen die verwendeten Materialien. Verändert nach Herzog et al. 2015a.

Die Integration des Mikrosystemtechnologisch hergestellten Sensorchips in das Sensorgehäuse ist in Abbildung 8.4 gezeigt. Das Sensorgehäuse ist zweigeteilt und besteht aus einem Aluminiumteilstück, welches die hydraulischen Anschlüsse zum Rohrstück und die Infrarot-LED beinhaltet, und einer Platine mit Ausleseelektronik.

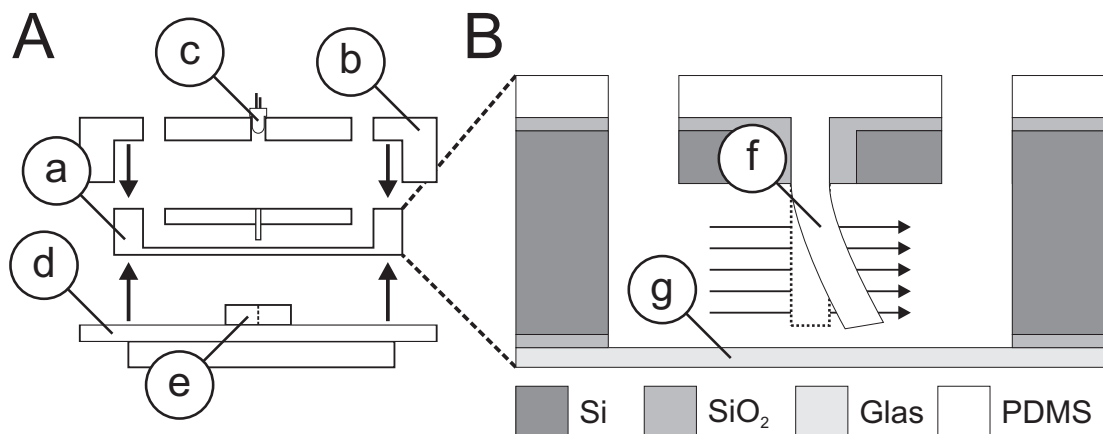


Abbildung 8.4: **Integration der mikrosystemtechnologisch hergestellten Strömungssensoren und der Ausleseelektronik in einem gemeinsamen Gehäuse.** **A:** Messeinheit bestehend aus Siliziumchip mit der lichtleitenden Lamelle (a), Sensorgehäuse mit hydraulischen Anschlüssen (b), Infrarot-LED (c), Platine (d) mit optischem Detektor (e). **B:** vergrößerte schematische Darstellung des Siliziumchips mit ausgelenkter Silikonlamelle (f) und dünner Glasabdeckung (g). Verändert nach Herzog et al. 2015a,b.

8.2.2 Frequenzcharakterisierung der Strömungssensoren

Der Frequenzgang (frequenzspezifische Ausgangsspannung) der manuell gefertigten Strömungssensoren wurde mit einer vibrierenden Kugel (Durchmesser 10 mm) im Frequenzbereich von 10 bis 80 Hz mit gleicher maximaler Geschwindigkeit von 45 cm/s (Spitze-Spitze-Auslenkung zwischen 900 und 7200 μm) charakterisiert. Das Auslesen der Sensorlamelle erfolgte abweichend zum Kapitel 6 mit einer positionsempfindlichen Fotodiode (PSD), wobei die verwendete Verstärkerelektronik weitgehend der in Abbildung 8.2C gezeigten Variante entsprach. Die vibrierende Kugel war auf der Achse mittig zwischen den Poren positioniert und 1, 2 oder 3 cm von der Vorderkante/Porenöffnungen des Sensors entfernt. Die aufgezeichneten Sensorsignale wurden mit 0,1 Hz hochpassgefiltert und anschließend der Effektivwert des Signals über 1 s berechnet. Anschließend wurde der Mittelwert der jeweils 1 s langen Messintervalle über 90 s bei konstanter Dipolschwingungsamplitude gebildet. Der Frequenzgang des mikrosystemtechnologischen Sensorchips mit zwei Lamellen ($250 \times 25 \mu\text{m}^2$) und drei Poren (vergleiche Abb. 8.21B) wurde abweichend mit einer vibrierenden Kugel (Durchmesser 18 mm) in einem Abstand von 3 mm im Frequenzbereich von 10 bis 60 Hz charakterisiert, wobei synchron die Auslenkung des Kugelhalters oberhalb des Wasserspiegels mit dem kapazitiven Wegaufnehmer (4810, LOT-Oriel) erfasst wurde (siehe Abb. 9.3 auf Seite 266 im Kapitel 9). Aufgrund des begrenzten Messbereiches des kapazitiven Wegaufnehmers und der großen notwendigen Auslenkungen mussten die Dipolamplituden aus der Kalibrierung mit 20 dB gedämpfter Amplitude interpoliert werden. Auf eine üblicherweise durchgeführte Angleichung der Dipolamplituden auf geschwindigkeits- bzw. auslenkungsgleichheit wurde aufgrund der hohen verwendeten Auslenkungen verzichtet, um das Stimulationssystem nicht zu überlasten. Als Bezugspunkt ist daher die jeweilige Spitze-Spitze-Auslenkung angegeben (gestrichelte Linie in Abb. 8.5B).

Die Charakterisierung der Frequenzantwort der makroskopischen und mikrosystemtechnologischen Sensoren ergab ein frequenzabhängiges Antwortverhalten beider Sensortypen (Abb. 8.5). Die handgefertigten, makroskopischen Sensoren zeigten bei Dipolreizen mit gleicher maximaler Geschwindigkeit, entgegen dem Verhalten natürlicher Kanalneuromasten (siehe Abb. 2.18 auf Seite 67), ein Tiefpassverhalten mit einem maximalen Sensorsignal bei 10 Hz und einen Abfall der Effektivwert-Signalamplituden bei höheren Frequenzen (Abb. 8.5A). Bei Frequenzen oberhalb von 50 Hz nahm die Sensorantwort stark ab. Die Sensoramplituden verringerten sich erwartungsgemäß bei größerer Entfernung der vibrierenden Kugel vom Sensor (siehe auch Bleckmann 1994; Klein & Bleckmann 2011). Die hand-

gefertigten Sensoren konnten die vibrierende Kugel noch in einem Abstand von 3 cm bei unterschiedlichen Frequenzen detektieren (graue Kurve in Abb. 8.5A).

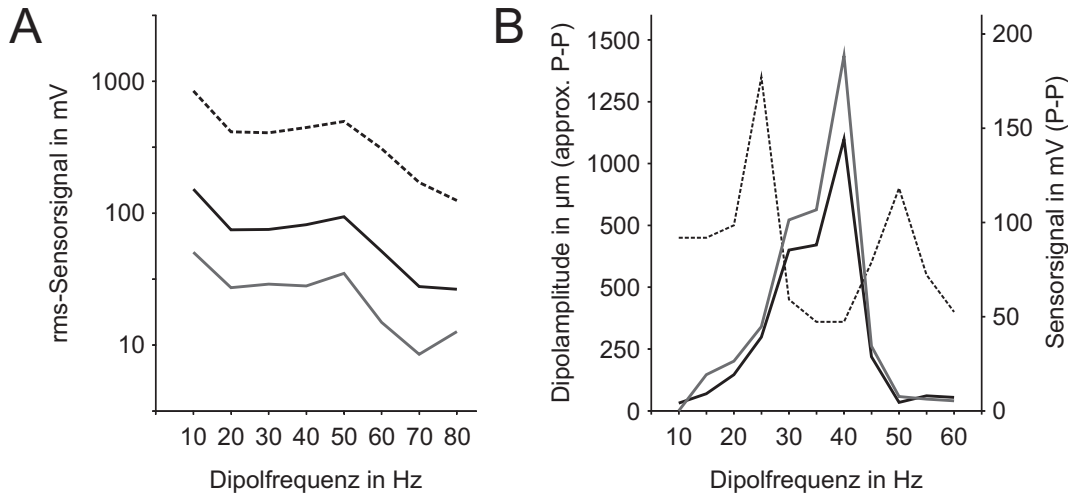


Abbildung 8.5: **Frequenzgangcharakterisierung der künstlichen Strömungssensoren mittels vibrierender Kugel.** **A:** Effektivwert-Amplituden eines handgefertigten Sensors in logarithmischer Skalierung bei Stimulation mit Dipolfrequenzen von 10 bis 80 Hz und bei Kugelfentfernungen von 1 cm (gestrichelte Linie), 2 cm (schwarze durchgehende Linie) und 3 cm (graue Linie) vom Sensor. Die Dipolgeschwindigkeit betrug jeweils 45 cm/s **B:** Spitze-Spitze-Amplituden eines mikrosystemtechnologisch gefertigten Sensors mit zwei Lamellen bei unterschiedlichen Dipolfrequenzen von 10 bis 60 Hz. Gestrichelte Linie: interpolierte Spitze-Spitze-Dipolauslenkung (linke Ordinate), die Kalibrierung erfolgte bei einer Amplitude von -20 dB mittels kapazitivem Wegaufnehmer (4810, LOT-Oriel). Grau und schwarze durchgezogene Linie: Spitze-Spitze-Sensorsignale (rechte Ordinate) zweier in einen gemeinsamen Siliziumchip integrierter Sensorlamellen.

Das Spitze-Spitze-Ausgangssignal eines mikrosystemtechnologisch gefertigten Sensors mit zwei Lamellen bei Stimulation mit Dipolfrequenzen von 10 bis 60 Hz in 5 Hz-Schritten ist in Abbildung 8.5B gezeigt. Die Übertragungsfunktionen der beiden Lamellen des Siliziumchips sind weitgehend ähnlich, was die Reproduzierbarkeit mikrosystemtechnologischer Fertigungstechniken demonstriert. Eine Lamelle scheint eine geringfügig höhere Sensitivität aufzuweisen (graue Linie in Abb. 8.5B). Der Effekt könnte jedoch auch in einer etwas dezentralen Kugelpositionierung begründet sein. Die Sensorausgangssignale nahmen von 10 Hz bis 40 Hz stark zu und anschließend von 40 bis 50 Hz wieder stark ab. Die stärkste Sensorantwort wurde bei 40 Hz festgestellt, wobei bei dieser Frequenz die geringste Auslenkung des Dipols festzustellen war. Als vermutliche Ursache für diesen Widerspruch ist eine stärkere Kugelbewegung quer zur eigentlichen Stimulationsachse anzunehmen. Dieser vermehrt bei großen Dipolkugeln auftretende Effekt ist im Kapitel 9 ausführlich beschrieben. Dort wird eine mögliche Lösung dieses Problems mittels aktiver Sensorik im Inneren der Dipolkugel vorgeschlagen. Die absolute Sensitivität des mikrosystemtechnologischen Sensors war im gezeigten

Experiment verhältnismäßig gering und konnte im Verlauf des Projektes durch eine Optimierung des mikrosystemtechnologischen Prozesses durch die Mitarbeiter des Forschungszentrums caesar und die Anpassung der Ausseelektronik um einige Magnituden verbessert werden (Frequenzantwort eines späteren Prototyps in Herzog et al. 2015a).

8.2.3 Durchflussratenbestimmung in Rohrleitungen (Vorstudie)

Die Abbildung 8.6A zeigt den verwendeten Versuchsaufbau zur Bestimmung der Durchflussrate in Rohrleitungen. Es wurde eine Sensoranordnung bestehend aus acht künstlichen Kanalneuromasten (optisches Ausleseverfahren mittels PSD, Sensorabstand 5,08 mm, siehe auch Klein 2012) an ein Rohrstück (Innendurchmesser 18 mm) angeflanscht. Die Durchströmung des Messgerätes wurde mittels Tauchpumpe (SHURflo 380, Modell 355-020-00) erzeugt und durch Variation der Versorgungsspannung der Pumpe reguliert. Die Durchflussraten wurden durch dreimaliges Ermitteln der zur Füllung eines Messgefäßes (Volumen 2 l) benötigten Zeit bestimmt. Die ermittelten Durchflussraten von 260 bis 797 l/h skalierten im Bereich von 3 bis 12 V linear mit der Versorgungsspannung der Pumpe ($y = 60,417x + 64,814$; $R^2 = 0,9935$). Für Versorgungsspannungen von 1 V und 2 V wurden die Durchflussraten aufgrund unzureichender Messgenauigkeit aus dieser Übertragungsfunktion interpoliert. Aus den so ermittelten Durchflussraten wurde die Strömungsgeschwindigkeit im Rohr (Formel 8.1) errechnet.

$$v = \frac{Q}{A}$$

$$v = \text{Strömungsgeschwindigkeit} \quad (8.1)$$

$$Q = \text{Durchflussrate}$$

$$A = \text{Rohrquerschnitt}$$

Die erwartete Signalverzögerung zwischen den einzelnen Sensoren lässt sich anhand der Strömungsgeschwindigkeit im Rohr und dem bekannten Sensorabstand gemäß Formel 8.2 vorhersagen.

$$\Delta t = \frac{d}{v}$$

$$\Delta t = \text{erwartete Signalverzögerung} \quad (8.2)$$

$$v = \text{Strömungsgeschwindigkeit}$$

$$d = \text{Sensorabstand}$$

Bei vier Sensoren (S4 bis S7) der Messanordnung konnten zeitlich verzögerte, einander ähnliche Fluktuationismuster aufgezeichnet werden. Eine beispielhafte Sequenz der Signalverläufe über drei Sekunden ist in Abbildung 8.6B gezeigt, wobei die Durchflussrate 672 l/h betrug (Rohrströmungsgeschwindigkeit = 73 cm/s).

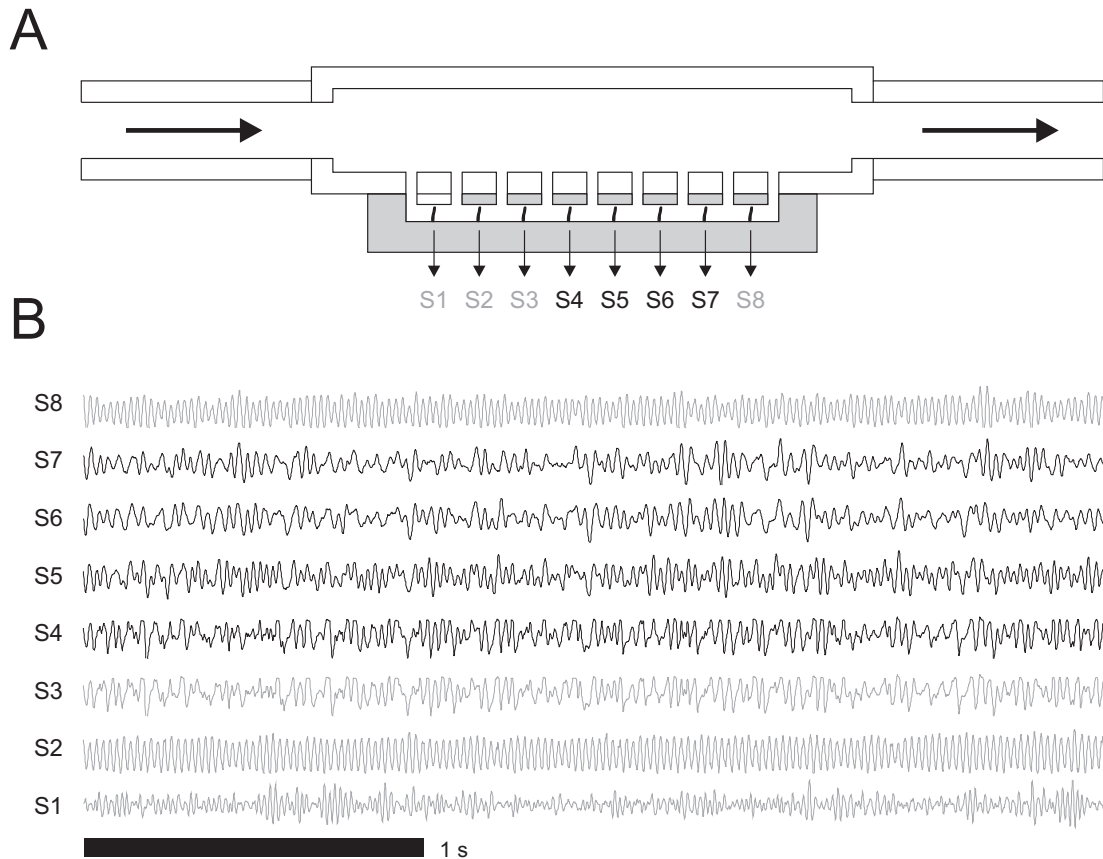


Abbildung 8.6: **Ermittlung von Durchflussraten in einer Rohrleitung (Vorstudie).** **A:** Messaufbau mit Rohrstück und Sensoranordnung (grau gefüllt) mit acht Sensoren (S1 bis S8). Die Sensoranordnung steht über neun kleine Poren (Breite 2 mm, Höhe 4 mm) mit dem Fluid in Verbindung. Die Pfeile zeigen die mittels Tauchpumpe erzeugte Durchströmung des Messrohres an. **B:** Signalverläufe der künstlichen Kanalneuromasten bei einer Durchflussrate von 672 l/h. Die schwarz gefärbten Signalverläufe der vier Sensoren S4 bis S7 zeigten verhältnismäßig ähnliche und bei verschiedenen Sensoren zeitverzögert auftretende Fluktuationssignaturen. Die grau gefärbten Signalverläufe der Sensoren S1, S2, S3 und S8 wurden aufgrund ihrer Signalform bei der Auswertung nicht berücksichtigt. Aus Herzog et al. 2015b.

Die Sensorsignale wurden mit 0,1 Hz Hochpass und 1000 Hz Tiefpass gefiltert. Zur Bestimmung der Durchflussraten wurden die Kreuzkorrelationsfunktionen für 10 s lange Messungen von je zwei Sensoren im Zeitfenster von -1 s bis +1 s berechnet. In den Kreuzkorrelationsfunktionen wurde mit einem Spike2-Skript das Maximum, sein Zeitversatz und der entsprechende Kreuzkorrelationskoeffizient bestimmt. Aus der ermittelten Signalverzögerung (Δt) der Sensorpaare I (S5&S4, Abstand 5,08 mm), II (S6&S4, Abstand 10,16 mm), III (S6&S5, Abstand 5,08 mm), IV (S7&S4, Abstand 15,24 mm), V (S7&S5, Abstand 10,16 mm) und

VI (S7&S6, Abstand 5,08 mm) wurde unter Einbeziehung des jeweiligen Sensorabstandes (d) die Strömungsgeschwindigkeit im Messrohr errechnet (Formel 8.3).

$$\begin{aligned}
 v &= \frac{d}{\Delta t} \\
 \Delta t &= \text{erwartete Signalverzögerung} \\
 v &= \text{Strömungsgeschwindigkeit} \\
 d &= \text{Sensorabstand}
 \end{aligned}
 \tag{8.3}$$

Aus den so ermittelten Rohrströmungsgeschwindigkeiten wurde über den Rohrquerschnitt ($A = 254,5 \text{ mm}^2$) die Durchflussrate berechnet (Formel 8.4).

$$\begin{aligned}
 Q &= v * A \\
 Q &= \text{Durchflussrate} \\
 v &= \text{Strömungsgeschwindigkeit} \\
 A &= \text{Rohrquerschnitt}
 \end{aligned}
 \tag{8.4}$$

Um einen Skalierungsfaktor der mittels Kreuzkorrelation bestimmten Durchflussraten zu erhalten, wurden die errechneten Durchflussraten durch die zuvor ermittelten Referenzdurchflüsse dividiert. Ein Skalierungsfaktor von 1 zeigt an, dass die errechneten Werte exakt mit der Referenz übereinstimmen. Skalierungsfaktoren zwischen 0 und 1 zeigen eine Unterschätzung, und Skalierungsfaktoren größer 1 eine Überschätzung der tatsächlichen Durchflussrate durch das bionische Messgerät an.

8.2.4 Durchflussratenbestimmung in Rohrleitungen (Firma Hydrometer)

Die Erprobung des korrelationsbasierten bionischen Durchflussmessgerätes erfolgte bei dem Industriepartner des BIONA-Projektes Hydrometer. Es wurde ein mit der Vorstudie vergleichbarer Versuchsaufbau gewählt (Abb. 8.7). Für die Durchströmung des Messrohres wurde ein auf dem Dach der Firma positioniertes Reservoir genutzt und die Volumenströme mittels geeichtem Durchflussregler eingestellt. Die Durchflussraten betragen 500 l/h, 756 l/h, 1010 l/h, 1536 l/h, 1950 l/h, 2550 l/h, 3054 l/h und mit zusätzlicher Pumpe 4066 l/h. Zusätzlich wurde als Referenzwert für sehr geringe Strömungsgeschwindigkeiten eine Durchflussrate von 50 l/h verwendet. Bei der Erprobung wurden ausschließlich die vom Forschungs-

zentrum caesar gefertigten mikrosystemtechnologischen Sensorchips (drei Chips mit je einer Lamelle und Verengung im Bereich der Sensorlamelle und einem Sensorabstand von 40 mm) verwendet, da die in der Vorstudie verwendete Sensoranordnung durch die im Versuchstand der Firma Hydrometer aufgetretenen hohen statischen Drücke stark beschädigt wurde und daher nicht zur Messung verwendet werden konnte. Die Auswertung der Messungen entspricht dem Vorgehen in der Vorstudie (Abschnitt 8.2.3). Für die industrienahere Messreihe wurden zeitgleich unterschiedliche Lamellendimensionen verwendet, wobei die Breite der Lamellen jeweils 250 μm betrug und die Sensorlamellen eine Stärke von 50 μm (Sensor 1), 35 μm (Sensor 2) und 25 μm (Sensor 3) aufwiesen.

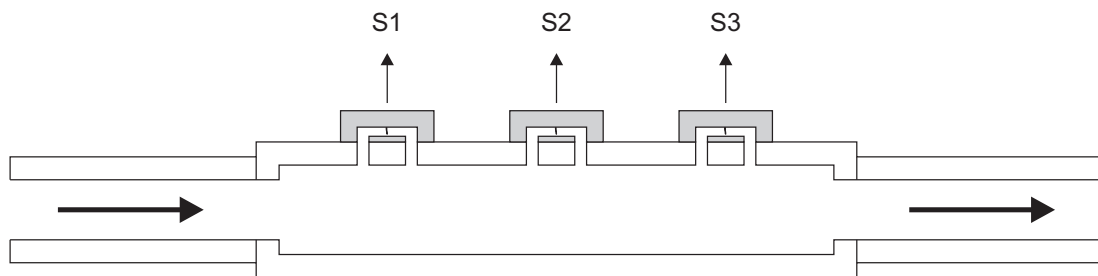


Abbildung 8.7: **Versuchsaufbau zur Erprobung der mikrosystemtechnologisch hergestellten Strömungssensoren in industrienaher Anwendung.** Messaufbau mit Rohrstück und Sensorchips (grau gefüllt, S1 bis S3) mit einem Abstand von jeweils 40 mm zwischen benachbarten Sensoren. Die Sensorchips stehen über je zwei kleine Poren mit dem Fluid in Verbindung. Die Pfeile zeigen die mittels Prüfstand der Firma Hydrometer erzeugte Durchströmung des Messrohres an. Die Sensorlamellen sind jeweils ungefähr 600 μm hoch, 250 μm breit und 50 μm (Sensor 1), 35 μm (Sensor 2) und 25 μm (Sensor 3) stark.

8.2.5 Bestimmung der Kanalströmungsgeschwindigkeit bei direktem Durchströmen der künstlichen Kanalneuromasten

Eine mikrofluidische Strömung wurde mit Hilfe einer Mikrodosierpumpe erzeugt, welche mit druckfestem Schlauchmaterial mit dem Sensorgehäuse verbunden wurde (Abb. 8.8). Es wurde ein mikrosystemtechnologischer Chip mit einer Lamelle (250*25 μm^2) und einer Verengung des Kanals im Bereich der Lamelle (siehe Klein 2012) verwendet. Die Ausleseelektronik des Sensorsignals wurde DC-gekoppelt unter Verwendung einer Differentialfotodiode mit Sensorvorstufen und separater Nachverstärkung aufgebaut. Im Gegensatz zur korrelationsbasierten Bestimmung der Strömungsgeschwindigkeit durch die Korrelation der räumlich-zeitlichen Druckschwankungen im Messmedium, werden in dieser Anwendung erhöhte Anforderungen an die Ausleseelektronik gestellt. Als wesentlicher Unterschied müssen die Sensorausgangssignale ein stabiles Bezugspotential aufweisen

und dürften auch längerfristig keine zufälligen langsamen Veränderungen der absoluten Sensorspannungen (Drift) zeigen. Dieses wurde durch die Verwendung einer präzisen elektronischen Regelung des LED-Stroms, die Verwendung einer Differentialdiode zur Erfassung des Lichtpunktes und spezialisierter integrierter Schaltkreise, einer präzisen Spannungsversorgung sowie einer thermischen Kopplung der Bauelemente der Vorstufe erreicht. Die Sensorsignale wurden mit 200 Hz aufgezeichnet, mit 10 Hz tiefpassgefiltert und die zeitliche Auflösung für die Analyse auf 1 Hz reduziert (down-sampling). Bei dem Langzeitdrifttest wurden die Signale mit 0,1 Hz tiefpassgefiltert um die langsamen Änderungen des Messsignals besser erfassen zu können.

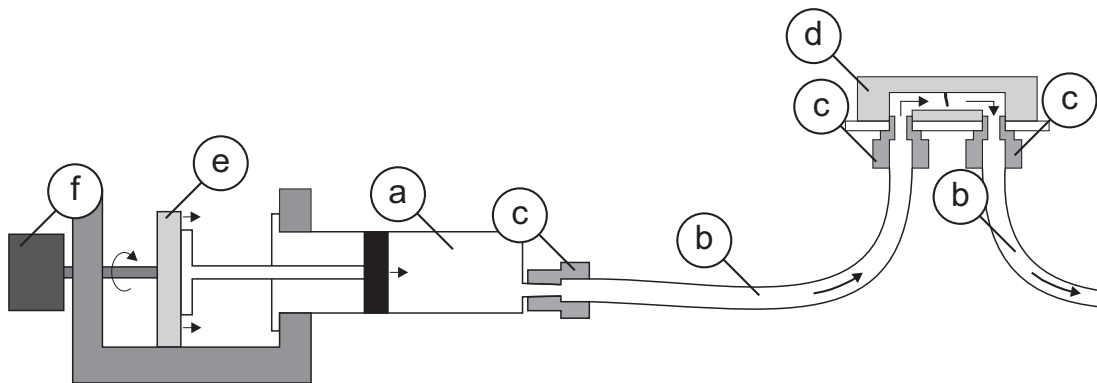


Abbildung 8.8: **Versuchsaufbau zur direkten Durchströmung des Sensorkanals.** Das Fluid in der Spritze (a) wurde mit druckfesten Schläuchen (b) unter Verwendung von Verbindungsstücken (c) durch den Sensor (d) geleitet. Der Spritzenkolben wurde durch einen fahrbaren Schlitten (e) bewegt, der von einem Schrittmotor (e) angetrieben wurde.

8.3 Ergebnisse

8.3.1 Vorstudie zur Durchflussratenbestimmung in Rohrleitungen

Die Signalverläufe der beiden Sensoren S6 und S7 zeigten bei Durchströmung des Rohres eine hohe Ähnlichkeit im Amplitudenverlauf mit einer zeitlichen Verzögerung (Abb. 8.9A bis D). Der zeitliche Abstand zwischen den aufgezeichneten Signalverläufen variierte teilweise und entsprach insbesondere bei den niedrigeren Volumenströmen (Abb. 8.9C und D) nicht den anhand der Referenzdurchflussraten errechneten Verzögerungen. Die hier gezeigten Kreuzkorrelationsfunktionen basieren auf jeweils 10 s langen Messintervallen und weisen zumindest bei den drei höheren Volumenströmen ein eindeutiges Maximum auf (Abb. 8.9 F bis I).

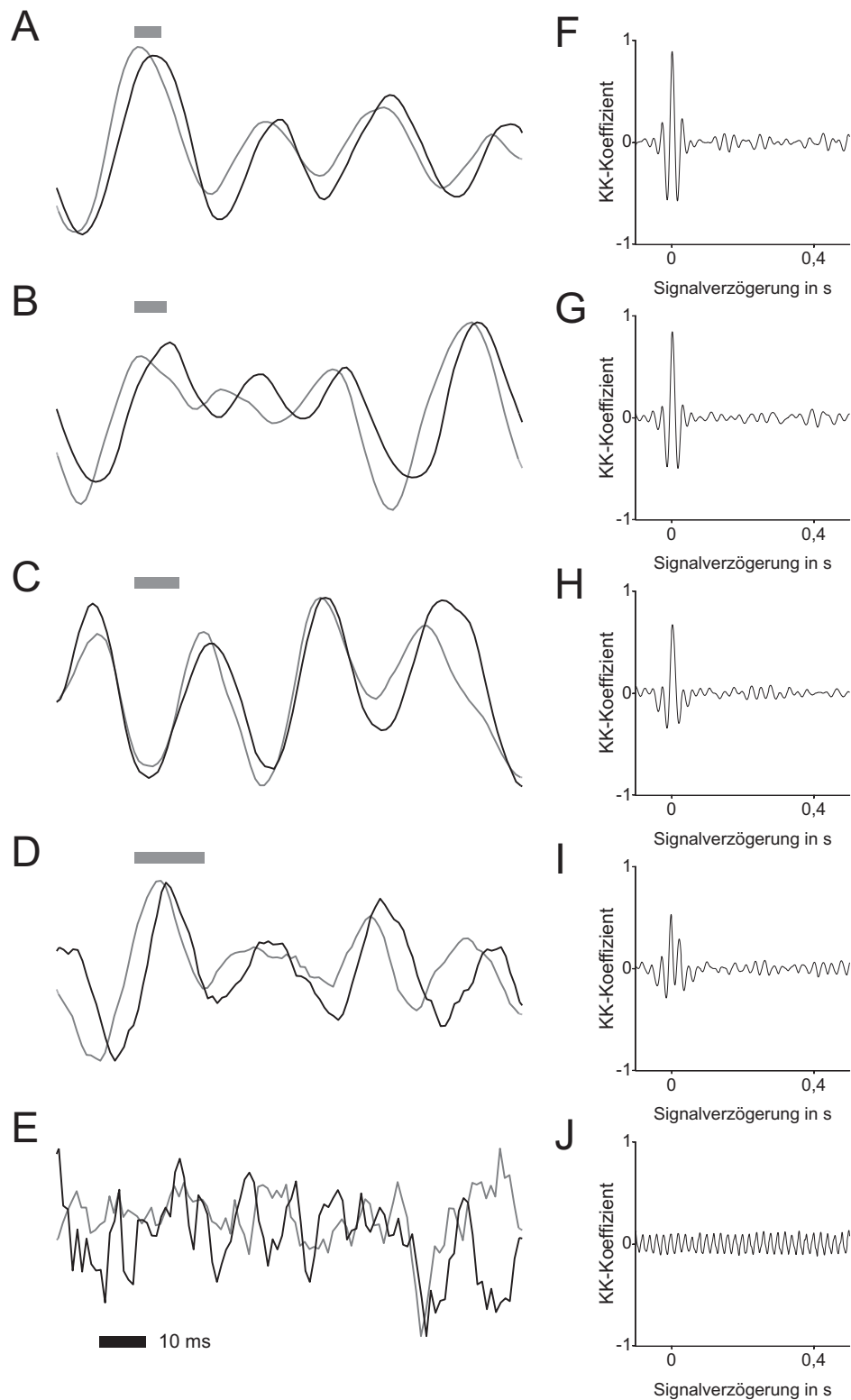


Abbildung 8.9: **Zeitlich verzögerte Signale in Rohrleitungen.** **A bis E:** beispielhafte Signalverläufe über 100 ms der beiden benachbarten Sensoren S6 (graue Kurve) und S7 (schwarze Kurve) für unterschiedliche Durchflussraten. **A:** 797 l/h **B:** 672 l/h **C:** 485 l/h **D:** 308 l/h **E:** kein Durchfluss. Graue Balken zeigen die aufgrund der Referenzdurchflussraten zu erwartenden Signalverzögerungen. Die Signalamplituden sind zur optimalen Darstellung des zeitlichen Verlaufs maximiert. **F bis J:** Kreuzkorrelationsfunktionen beider Sensoren aus A bis E für ein je 10 s langes Intervall. Aus Herzog et al. 2015b.

Ohne Durchströmung des Messrohres waren die beiden Signalverläufe nicht vorhersagbar und die Kreuzkorrelationsfunktion zeigt kein eindeutiges Hauptmaximum (Abb. 8.9 E und J). Die aus den Korrelationen aller vier Sensoren ermittelten standardisierten Signalverzögerungen sind für die Durchflussraten von 308, 485, 672 und 797 l/h in Abbildung 8.10 gezeigt.

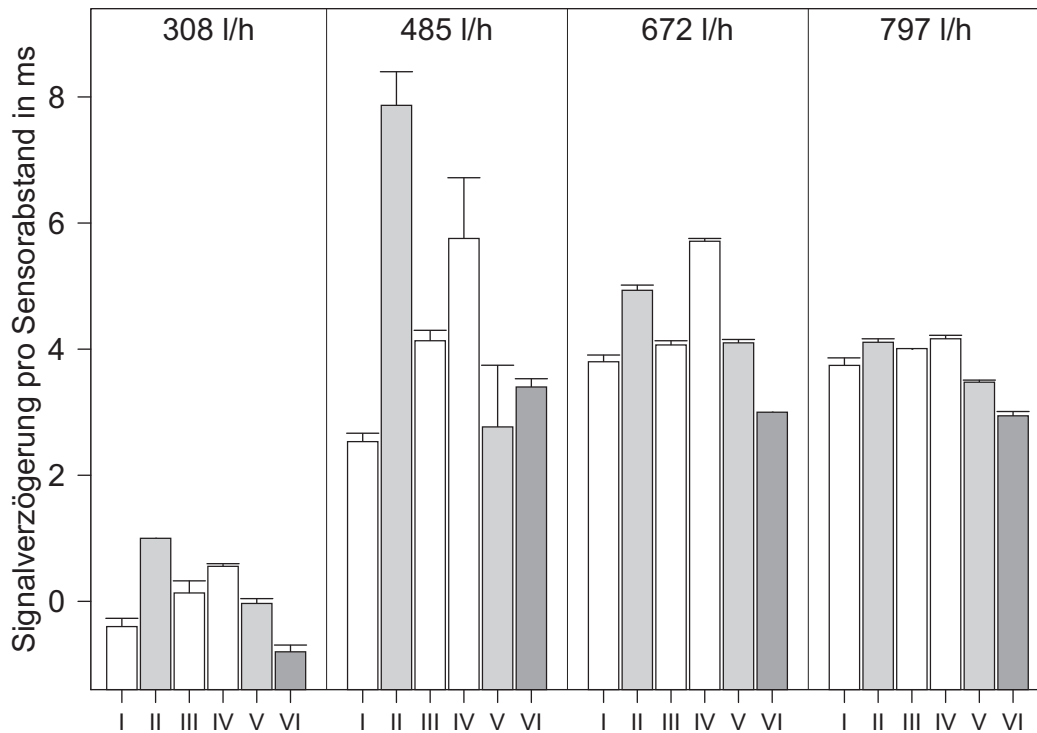


Abbildung 8.10: **Mittels vier künstlicher Kanalneuromasten bei vier Durchflussraten ermittelte Signalverzögerungen.** Die Verzögerungen wurden für 15 Intervalle von je 10 s Länge mittels Kreuzkorrelation der Signalverläufe von je zwei Sensoren bestimmt und als Mittelwert mit Standardfehler dargestellt. Die römischen Zahlen geben die verwendeten Sensorkombinationen an: I=S5&S4; II=S6&S4; III=S6&S5; IV=S7&S4; V=S7&S5; VI=S7&S6. Die zeitliche Verzögerung ist auf den einfachen Sensorabstand von 5,08 mm bezogen, d.h. die ermittelten Verzögerungen wurden bei nicht benachbarten Sensorkombinationen durch 2 (II & V, hellgraue Balken) bzw. 3 (IV, dunkelgraue Balken) geteilt. Aufgrund der Referenzdurchflussraten wurden zwischen benachbarten Sensoren Signalverzögerungen 15,1 ms (308 l/h), 9,6 ms (485 l/h), 6,9 ms (672 l/h) und 5,8 ms (797 l/h) erwartet.

Die Signalverzögerung wurde auf den einfachen Sensorabstand (5.08 mm) bezogen, um die Vergleichbarkeit bei unterschiedlichen Sensorabständen zu gewährleisten. Bei diesen normierten Signalverzögerungen wurden signifikante Unterschiede zwischen den zur Kreuzkorrelation genutzten Sensorpaaren und zwischen den Referenzdurchflussraten gefunden (Homogenität der Varianzen mittels Bartlett-Test: "Sensorpaar" p-Wert = 2,807e-05; "Durchflussrate" p-Wert < 2,2e-16; Zweifache-Anova Faktor "Sensorpaar": Quadratsumme = 0,00026743 für 5 Freiheitsgrade; F-Wert = 36,309; p-Wert < 2,2e-16; Faktor "Durchfluss-

rate”: Quadratsumme = 0,00113594 für 3 Freiheitsgrade; F-Wert = 257,042; p-Wert < 2,2e-16; Interaktion “Sensorpaar” & “Durchflussrate”: Quadratsumme = 0,00016287 für 15 Freiheitsgrade; F-Wert = 7,371; p-Wert = 4,083e-14; Kruskal-Wallis Rangsummentest für “Sensorpaar” (aufgrund der fehlenden Varianzhomogenität): Kruskal-Wallis $\chi^2 = 68,3125$ für 5 Freiheitsgrade; p-Wert = 2,3e-13; Mediane der normierten Signalverzögerung: I = 3 ms; II = 4,5 ms; III = 4 ms; IV = 4,3 ms; V = 3,5 ms; VI = 3 ms. Kruskal-Wallis Rangsummentest für “Durchflussrate” (aufgrund der fehlenden Varianzhomogenität): Kruskal-Wallis $\chi^2 = 194,5843$ für 3 Freiheitsgrade; p-Wert < 2,2e-16; Mediane der normierten Signalverzögerung: 308 l/h = 0 ms, 485 l/h = 4 ms 672 l/h = 4 ms 797 l/h = 4 ms). Insbesondere bei der Referenzdurchflussrate von 308 l/h wurden sehr geringe Signalverzögerungen festgestellt, obwohl hier die geringste Rohrströmungsgeschwindigkeit auftrat und daher die größte Signalverzögerung zu erwarten gewesen wäre.

Die aus den Signalverzögerungen der vier Sensoren errechneten Durchflussraten waren teilweise erheblich zu groß oder negativ. Um eine Verfälschung der Messdaten des bionischen Messgerätes durch diese Ausreißer und fehlerhaften Korrelationen zu vermeiden, wurden errechnete Durchflussraten außerhalb des Bereichs zwischen 0 bis 2000 l/h aus dem Datensatz entfernt. Bei Referenzdurchflussraten kleiner als 400 l/h war der Anteil der aus dem Datensatz entfernten Extremwerte insgesamt mit 46,7% bis 66,7% vergleichsweise hoch (Tab. 8.1), wohingegen bei Referenzdurchflussraten größer als 500 l/h keine derartigen Extremwerte auftraten.

Tabelle 8.1: Anteil der errechneten Durchflussraten außerhalb des Bereiches von 0 bis 2000 l/h für unterschiedliche Sensorabstände (d).

Durchflussrate	d = 5,1 mm	d = 10,2 mm	d = 15,2 mm	Alle Abstände
(124 l/h)	56%	40%	33%	46,7%
(184 l/h)	100%	50%	0%	66,7%
260 l/h	100%	47%	0%	65,6%
308 l/h	89%	43%	0%	58,9%
358 l/h	69%	43%	0%	48,9%
424 l/h	7%	50%	0%	20,0%
485 l/h	0%	20%	0%	6,7%
537 l/h	0%	0%	0%	0%
595 l/h	0%	0%	0%	0%
672 l/h	0%	0%	0%	0%
739 l/h	0%	0%	0%	0%
797 l/h	0%	0%	0%	0%
Gesamt	35,4%	24,7%	2,8%	26,4%

Der Anteil der Extremwerte war mit 35,4% bei einfachem Sensorabstand am größten, bei zweifachem Sensorabstand mit 24,7% deutlich geringer und bei dreifachem Sensorabstand waren nur 2,8% der errechneten Durchflussraten außerhalb des Bereichs von 0 bis 2000 l/h.

Die skalierten Durchflussraten (errechnete Durchflussrate/jeweilige Referenzdurchflussrate) sind unter Ausschluss der Extremwerte in Abbildung 8.11 gezeigt. Die errechneten Durchflussraten waren überwiegend größer als die Referenzdurchflussraten und entsprachen im Mittel dem 1,23-fachen (Sensorabstand 15,24 mm) bis 2,04-fachen (Sensorabstand 5,08 mm) der Referenzdurchflussraten. Die Stärke der Überschätzung der tatsächlichen Durchflussraten unterscheidet sich zwischen den unterschiedlichen Abständen der zur Korrelation genutzten Sensoren (Kruskal-Wallis Rangsummentest: Kruskal-Wallis $\chi^2 = 242,9543$; für 2 Freiheitsgrade; p-Wert $< 2,2e-16$; Mediane: 5,08 mm = 1,955; 10,16 mm = 1,422; 15,24 mm = 1,209), wobei größere Überschätzungen bei geringerem Sensorabstand auftraten (Spearman's Rangkorrelation: $S = 53504351$; p-Wert $< 2,2e-16$; $\rho = -0,6453476$).

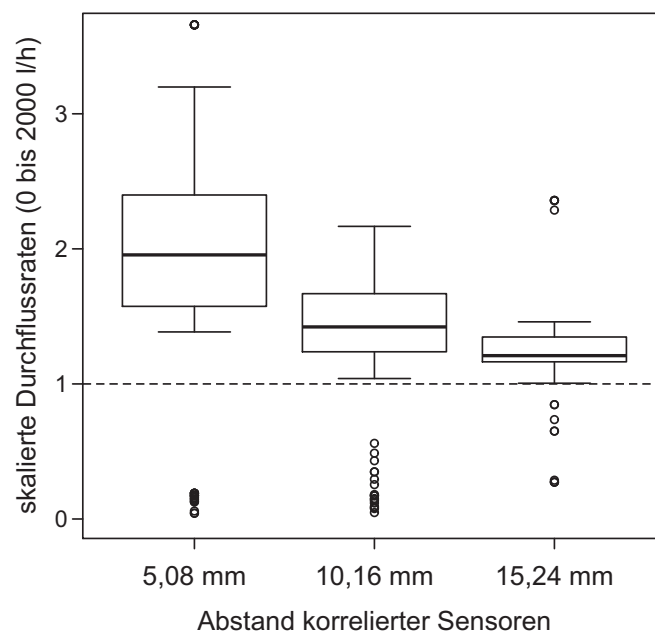


Abbildung 8.11: **Skalierte Durchflussraten für unterschiedliche Abstände der zur Kreuzkorrelation genutzten Sensoren.** Die errechneten Durchflussraten sind als Verhältnis zur jeweiligen Referenzdurchflussrate (124 bis 797 l/h) angegeben. Die gestrichelte Linie zeigt an, dass die errechneten Durchflussraten den Referenzdurchflussraten entsprechen. Für die Darstellung wurden nur ermittelte Durchflussraten im Bereich von 0 bis 2000 l/h verwendet.

Die errechneten Durchflussraten sind für die drei Sensorabstände von 5,08 mm, 10,16 mm und 15,24 mm in Abbildung 8.12 dargestellt. Extremwerte außerhalb des Bereichs von 0 bis 2000 l/h sind in dieser Darstellung nicht enthalten. Wurde die jeweilige Durchflussrate aus der Signalverzögerung zwischen Sensoren mit

10,16 mm und 15,24 mm Abstand errechnet, so war bei Referenzdurchflussraten größer als 400 l/h ein stetiger Anstieg der errechneten Durchflussraten mit zunehmenden Referenzdurchflussraten festzustellen. Im Gegensatz hierzu waren die errechneten Durchflussraten bei Verwendung benachbarter Sensoren mit 5,08 mm Abstand weitgehend konstant und meist wesentlich zu hoch. Die Kreuzkorrelationen von Sensorpaaren mit 5,08 mm Abstand können daher in der verwendeten Sensoranordnung nicht zur Ermittlung der Durchflussraten genutzt werden.

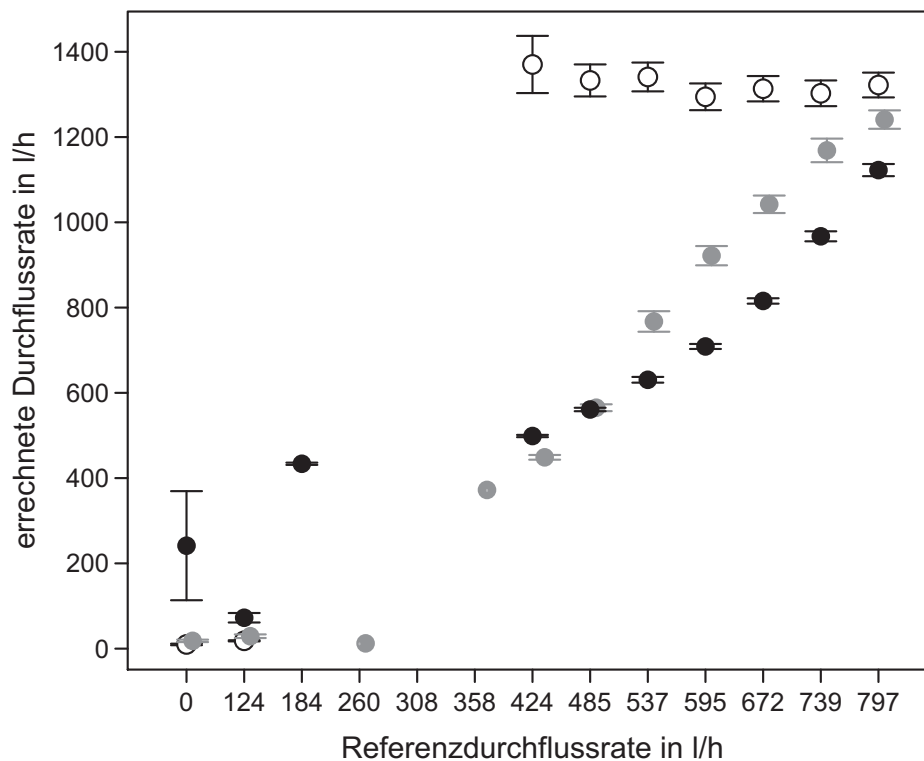


Abbildung 8.12: **Errechnete Durchflussraten bei unterschiedlichen Sensorabständen für Referenzdurchflussraten von 0 bis 797 l/h.** Dargestellt sind Mittelwerte mit Standardfehler. Errechnete Werte außerhalb des Bereichs von 0 bis 2000 l/h wurden aus der Darstellung entfernt. Ungefüllte Kreise: 5,08 mm Abstand, grau gefüllte Kreise: 10,16 mm Abstand, schwarz gefüllte Kreise: 15,24 mm Abstand. Die Referenzdurchflussraten sind in dieser Darstellung nicht linear skaliert. Aus Herzog et al. 2015b.

Abbildung 8.13 zeigt die durch das bionische Messgerät ermittelten Durchflussraten für Referenzdurchflussraten von 400 bis 800 l/h. Errechnete Durchflussraten außerhalb des Bereichs von 0 bis 2000 l/h sowie die aus den Signalverzögerungen der benachbarten Sensoren (Abstand 5,08 mm) bestimmten Durchflussraten wurden in der Darstellung ausgeschlossen. Es wurde ein linearer Zusammenhang zwischen den errechneten Durchflussraten und den Referenzdurchflussraten im Bereich von 400 bis 800 l/h festgestellt ($y = 1.936 x - 329.87$; Residuen Standardfehler = 125,6 für 255 Freiheitsgrade; multiples $R^2 = 0,7603$; F-Wert 808,8

für 1 und 255 Freiheitsgrade; p-Wert $< 2,2e-16$). Jedoch waren alle errechneten Durchflussraten größer als die tatsächlichen Referenzdurchflussraten, wobei einzelne errechnete Durchflussraten nahezu doppelt so hoch wie die tatsächlichen Referenzwerte ausfielen.

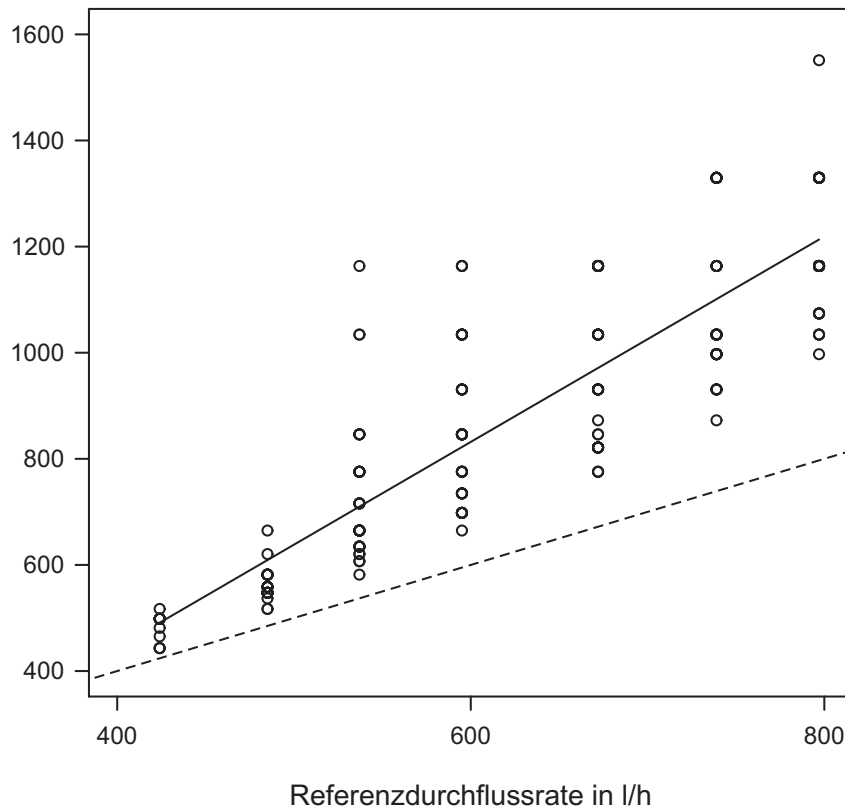


Abbildung 8.13: **Durchflussratenbestimmung durch das bionische Strömungsmessgerät.** Die anhand der Zeitverzögerung zwischen den Sensoren mit 10,16 und 15,24 mm Abstand errechneten Durchflussraten sind gegenüber der Referenzdurchflussrate aufgetragen. Die durchgezogene Linie zeigt die lineare Regression ($y = 1.936 x - 329.87$, $R^2 = 0,7603$) der Messwerte für Referenzdurchflussraten von 400 bis 800 l/h unter Ausschluss der Extremwerte. Die gestrichelte Linie zeigt an, wenn die errechneten Durchflussraten mit den tatsächlichen Referenzdurchflüssen übereinstimmen.

8.3.2 Mikrosystemtechnologische Strömungssensoren in industrienahe Anwendung

Beispielhafte Signalverläufe über 200 ms der verwendeten mikrosystemtechnologischen Sensoren sind in Abbildung 8.14 gezeigt. Die Signalverläufe der Sensoren zeigten bei Durchströmung des Rohres mit Durchflussraten größer als 2000 l/h ähnliche, aber zeitlich verzögerte Amplitudenverläufe zwischen den einzelnen Sensoren (Abb. 8.14A und B).

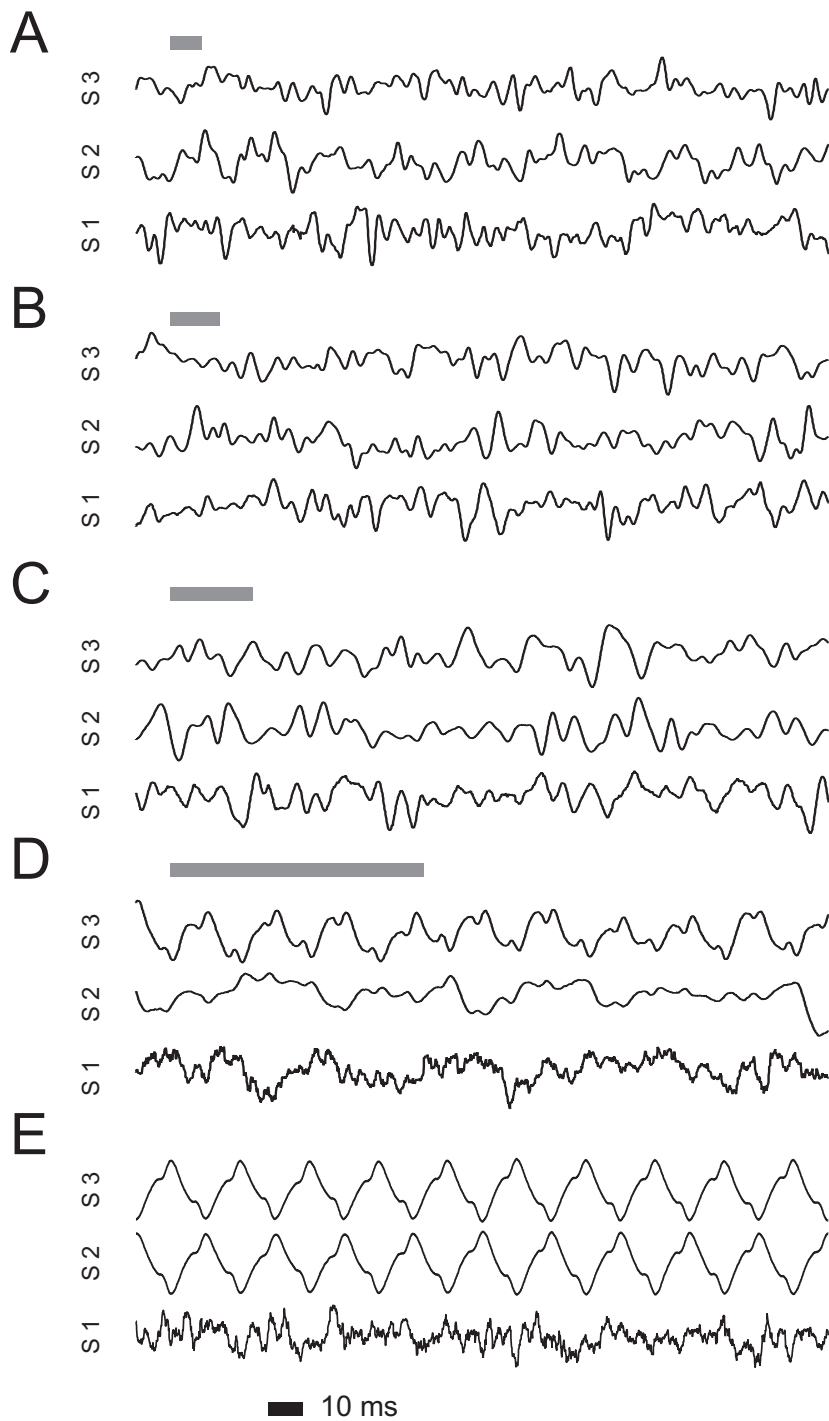


Abbildung 8.14: **Signalverläufe der mikrosystemtechnologischen Sensoren im Messstand der Firma Hydrometer.** A bis E: beispielhafte Signalverläufe der drei mikrosystemtechnologisch hergestellten Sensoren (S1, S2, S3) für unterschiedliche Durchflussraten. A: 4066 l/h B: 2550 l/h C: 1536 l/h D: 500 l/h E: 50 l/h. Graue Balken zeigen die aufgrund der Referenzdurchflussraten zu erwartenden Signalverzögerungen zwischen den benachbarten Sensoren der Messanordnung. Die Signalamplituden sind zur optimalen Darstellung des zeitlichen Verlaufs maximiert. Aus Herzog et al. 2015b.

Bei niedrigen Durchflussraten waren die Signalamplituden gering, die Signalverläufe stark periodisch und die zeitlichen Verzögerungen zwischen den Sensor-

signalen kaum erkennbar (Abb. 8.14D und E). Beispielhafte Kreuzkorrelationsfunktionen der drei Sensoren über jeweils 10 s Messintervall und unterschiedliche Durchflussraten sind in Abbildung 8.15 dargestellt.

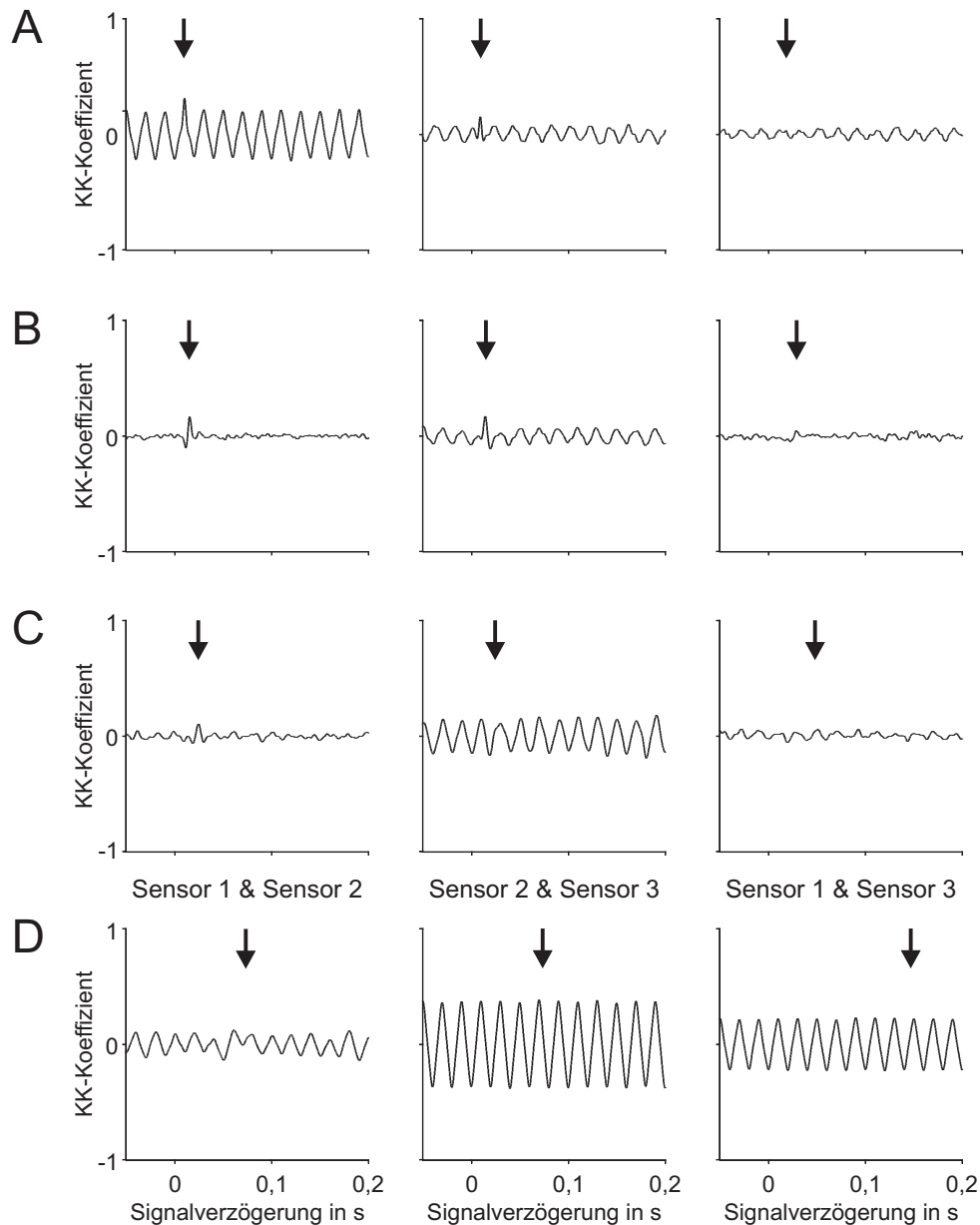


Abbildung 8.15: **Kreuzkorrelationsfunktionen der Mikrosystemtechnologischen Sensoren.** Kreuzkorrelationsfunktionen von jeweils zwei der drei Sensoren für unterschiedliche Durchflussraten basierend auf 10 s langen Messintervallen. Die Pfeile zeigen die aufgrund der Referenzdurchflussraten jeweils zu erwartenden Signalverzögerungen. **A:** 4066 l/h **B:** 2550 l/h **C:** 1536 l/h **D:** 500 l/h. Aus Herzog et al. 2015b.

Die Kreuzkorrelationsfunktionen zeigten schwach ausgeprägte Kreuzkorrelationsmaxima, die insbesondere bei kleinen Durchflussraten von periodischen Komponenten überlagert wurden. Der Median der Kreuzkorrelationskoeffizienten be-

trug für Durchflussraten von 500 l/h bis 4066 l/h zwischen 0,0652 (Sensoren 1 & 3) und 0,1855 (Sensoren 2 & 3). Waren die Korrelationsmaxima zu erkennen, so traten diese jedoch in der Nähe der erwartenden Signalverzögerung auf (Pfeile in Abb. 8.15).

Zum Teil waren die errechneten Durchflussraten auch bei den mikrosystem-technologisch hergestellten Sensoren erheblich zu groß oder negativ. Um eine Beeinflussung durch diese Ausreißer und fehlerhaften Korrelationen zu vermeiden, wurden die errechneten Durchflussraten außerhalb des Bereichs zwischen 0 bis 10000 l/h aus dem Datensatz entfernt. Der Anteil der aus dem Datensatz entfernten Extremwerte war geringer als bei der Vorstudie und betrug insgesamt 18% (Tab. 8.2). Die aus den Signalverläufen der Sensoren 1 und 3 errechneten Durchflussraten lagen für alle Referenzdurchflussraten zu 35% außerhalb des Bereichs von 0 bis 10000 l/h. Zusätzlich wurden bei Referenzdurchflussraten unterhalb von 1000 l/h auch bei Korrelation benachbarter Sensoren (Sensoren 1&2; Sensoren 2&3) besonders häufig Durchflussraten außerhalb des Bereichs von 0 bis 10000 l/h bestimmt.

Tabelle 8.2: Anteil der errechneten Durchflussraten außerhalb des Bereiches von 0 bis 10000 l/h für unterschiedliche Sensorpaare.

Durchflussrate	S1 & S2	S2 & S3	S1 & S3	alle Sensorpaare
500 l/h	45%	10%	35%	30%
756 l/h	46%	4%	50%	33%
1010 l/h	0%	8%	38%	15%
1536 l/h	0%	32%	36%	23%
1950 l/h	0%	0%	25%	8%
2550 l/h	0%	0%	22%	7%
3054 l/h	0%	0%	28%	9%
4066 l/h	0%	6%	47%	18%
Gesamt	12%	8%	35%	18%

Die aus der Kreuzkorrelation benachbarter Sensoren (Abstand = 40 mm) errechneten Durchflussraten skalieren deutlich mit den jeweiligen Referenzdurchflussraten (Abb. 8.16). Bei Verwendung der Signalverläufe der Sensoren 2 und 3 stimmte der Median der ermittelten Durchflussraten nahezu mit den Referenzdurchflussraten überein (Mittelwert = 0,885; Standardabweichung = 0,339; Median = 1,005; erstes Quartil = 0,975; drittes Quartil = 1,038), wohingegen der Median der aus den Sensoren 1 und 2 ermittelten Durchflussraten geringfügig unter den Referenzdurchflussraten lag (Mittelwert = 0,836; Standardabweichung = 0,301; Median = 0,925; erstes Quartil = 0,901; drittes Quartil = 0,978). Die

aus der Korrelation der beiden Sensoren mit einem Abstand von 80 mm ermittelten Durchflussraten waren überwiegend zu gering und streuten stark (Mittelwert = 0,569; Standardabweichung = 1,813; Median = 0,142; erstes Quartil = 0,066; drittes Quartil = 0,742). Die zur Ermittlung der Durchflussraten genutzten Sensorpaare unterschieden sich bezüglich der Skalierung der errechneten und der tatsächlichen Durchflussraten (Kruskal-Wallis Rangsummentest: Kruskal-Wallis $\chi^2 = 131,3789$ für 2 Freiheitsgrade; p-Wert < 2,2e-16).

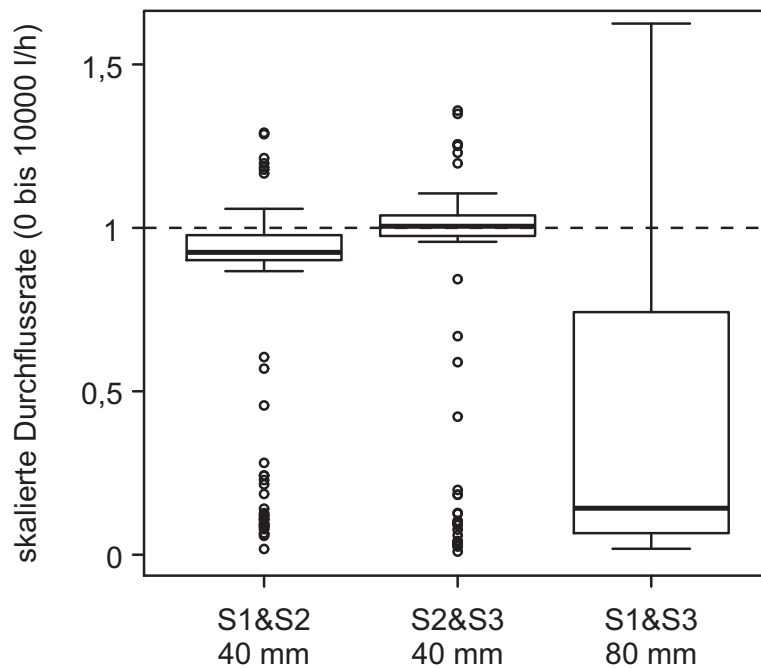


Abbildung 8.16: **Skalierte Durchflussraten für unterschiedliche zur Kreuzkorrelation genutzte mikrosystemtechnologische Sensorpaare.** Die errechneten Durchflussraten sind als Verhältnis zur jeweiligen Referenzdurchflussrate (500 bis 4066 l/h) angegeben. Die gestrichelte Linie zeigt an, dass die errechneten Durchflussraten den Referenzdurchflussraten entsprechen. Für die Darstellung wurden nur ermittelte Durchflussraten im Bereich von 0 bis 10000 l/h verwendet.

Die errechneten Durchflussraten sind für die drei Sensorpaare 1&2, 2&3 und 1&3 in Abbildung 8.17 dargestellt (Extremwerte außerhalb des Bereichs von 0 bis 10000 l/h wurden in dieser Darstellung nicht berücksichtigt). Wurde die jeweilige Durchflussrate aus der Signalverzögerung zwischen Sensoren mit 40 mm Abstand (Sensoren 1&2 und Sensoren 2&3) errechnet, so stiegen die errechneten Durchflussraten mit zunehmenden Referenzdurchflussraten größer als 1010 l/h nahezu linear an. Bei den errechneten Durchflussraten bei Verwendung des Sensorpaares 1&3 war ein derartiger Zusammenhang nicht erkennbar. Die Kreuzkorrelationen des Sensorpaares 1&3 können daher nicht zur Ermittlung der Durchflussraten genutzt werden.

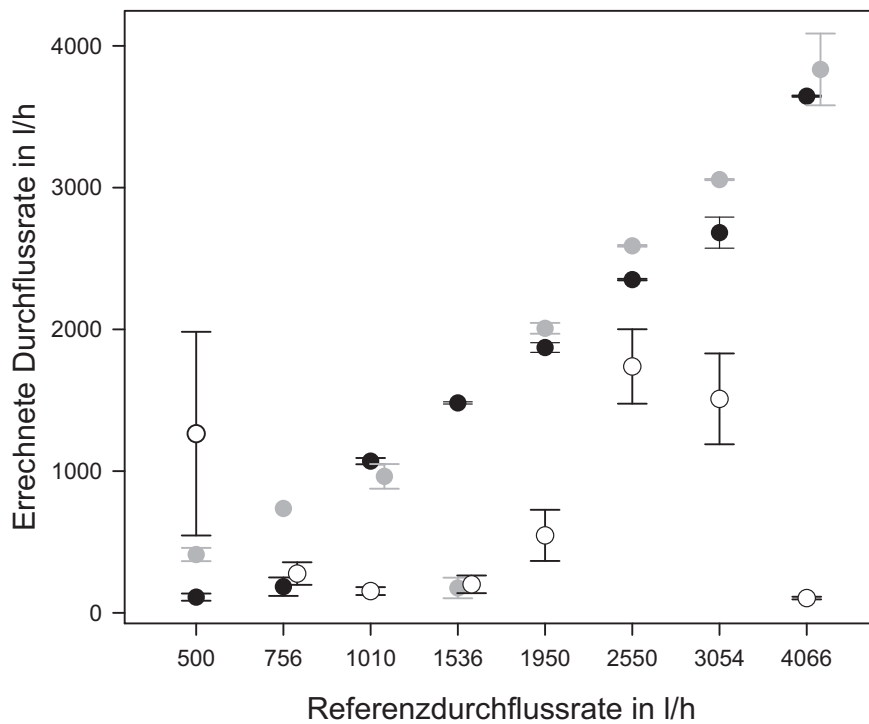


Abbildung 8.17: **Errechnete Durchflussraten bei unterschiedlichen mikrotechnologischen Sensorpaaren für Referenzdurchflussraten von 500 bis 4066 l/h.** Dargestellt sind Mittelwerte mit Standardfehlern. Errechnete Werte außerhalb des Bereichs von 0 bis 10000 l/h wurden aus der Darstellung entfernt. Schwarz gefüllte Kreise: Sensor 1&2, grau gefüllte Kreise: Sensor 2&3, ungefüllte Kreise: Sensor 1&3. Die Referenzdurchflussraten sind in dieser Darstellung nicht linear skaliert. Aus Herzog et al. 2015b.

Die Abbildung 8.18 zeigt die durch das mikrosystemtechnologische Messgerät ermittelten Durchflussraten für Referenzdurchflussraten von 500 bis 4066 l/h. Errechnete Durchflussraten außerhalb des Bereichs von 0 bis 10000 l/h sowie die aus den Signalverzögerungen der Sensoren 1&3 (Abstand 80 mm) bestimmten Durchflussraten wurden in der Darstellung ausgeschlossen. Es wurde ein linearer Zusammenhang zwischen den errechneten Durchflussraten und den Referenzdurchflussraten gefunden (Residuen Standardfehler = 443,9 für 334 Freiheitsgrade; multiples $R^2 = 0,8529$; F-Wert 1936 für 1 und 334 Freiheitsgrade; p-Wert $< 2,2e-16$). Die lineare Regression der errechneten Durchflussraten liegt unterhalb der Referenzgeraden und zeigt damit eine Unterschätzung der tatsächlichen Referenzwerte an, die vermutlich durch einzelne, stark abweichende, Korrelationsfunktionen verursacht wird (Datenpunkte im unteren Abschnitt der Abb. 8.18).

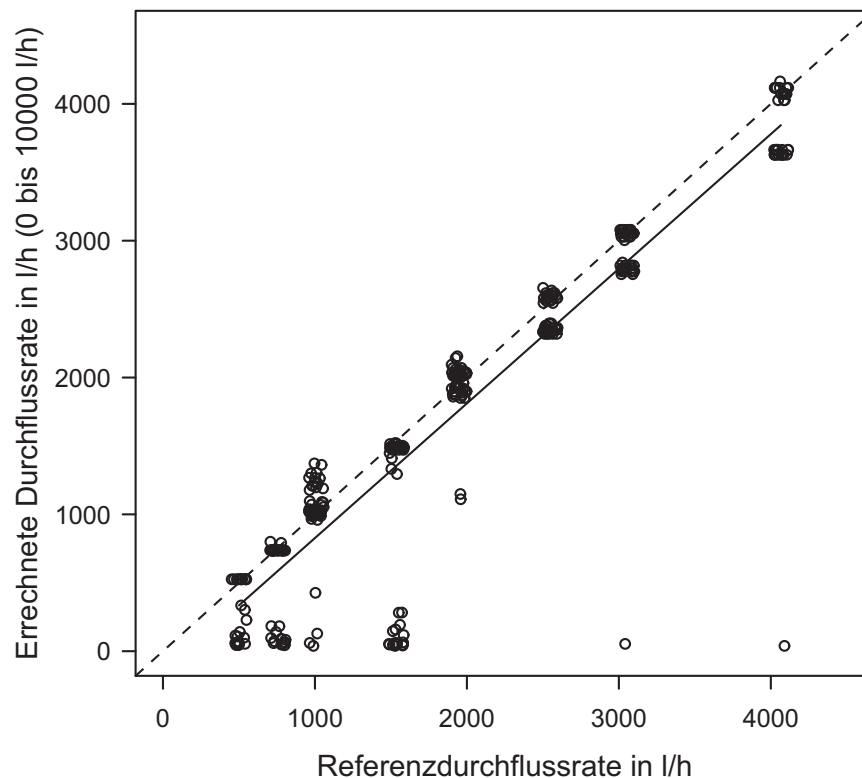


Abbildung 8.18: **Durchflussratenbestimmung durch das mikrosystemtechnologische Strömungsmessgerät.** Die anhand der Zeitverzögerung zwischen den Sensoren mit 40 mm Abstand errechneten Durchflussraten sind gegenüber der Referenzdurchflussrate aufgetragen. Die durchgezogene Linie zeigt die lineare Regression der Messwerte für Referenzdurchflussraten von 500 bis 4066 l/h unter Ausschluss der Extremwerte ($y = 0.98x - 157,2$). Die gestrichelte Linie zeigt an, wenn die errechneten Durchflussraten mit den tatsächlichen Referenzdurchflüssen übereinstimmen.

8.3.3 Bestimmung der Durchflussrate bei direktem Durchströmen des Sensorkanals

Die direkte Durchströmung des mikrosystemtechnologischen Sensors mit Leitungswasser bei Raumtemperatur führte bei Durchflussraten im Bereich von 100 bis 2500 $\mu\text{l}/\text{min}$ zu einem erkennbaren Sensorsignal. Eine beispielhafte Sensorantwort bei einer Durchflussrate von 2000 $\mu\text{l}/\text{min}$ ist in Abbildung 8.19A gezeigt. Nach dem Einschalten der Mikrodosierpumpe war zuerst ein schneller Anstieg des Messsignals zu verzeichnen, welcher vermutlich die durch die Mikrodosierpumpe verursachte Druckwelle repräsentiert. Nach etwa 10 s wurde eine weitgehend konstante Sensorausgangsspannung erreicht. Nach dem Ausschalten der Mikrodosierpumpe fiel das Sensorsignal langsam ab. Dieser langsame Abfall des Messsignals wurde vermutlich durch den Druckabbau in den mikrofluidischen Leitungen verursacht.

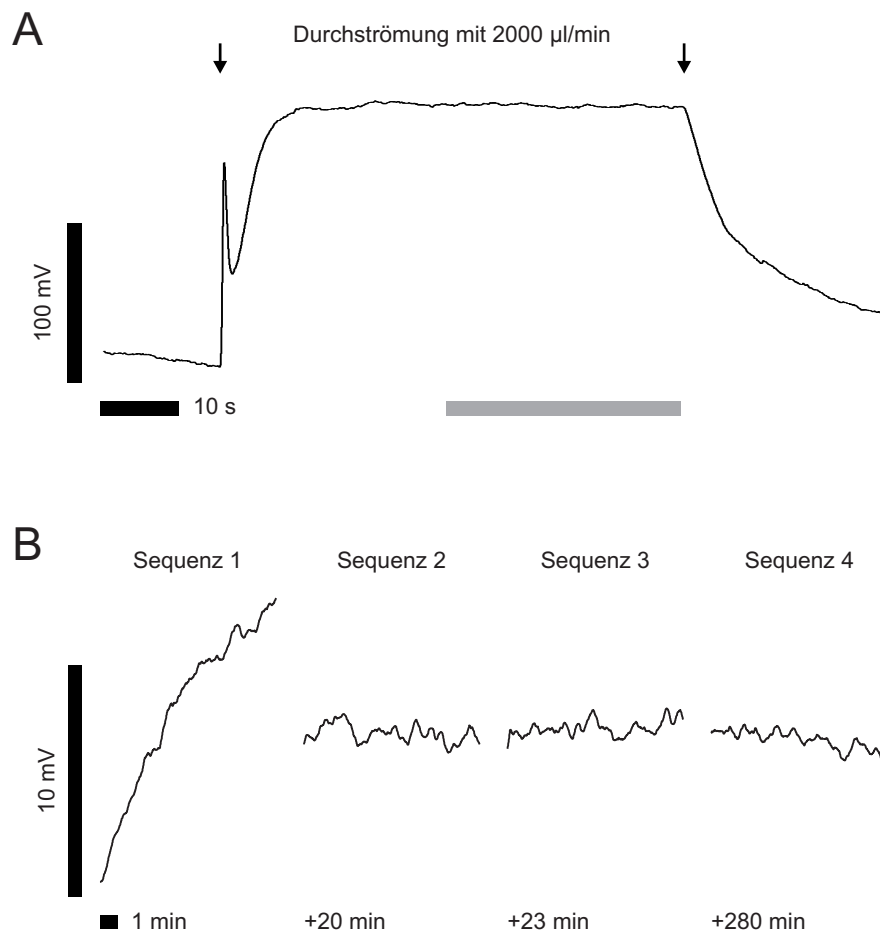


Abbildung 8.19: **Sensorsignale bei direktem Durchströmen des mikrosystemtechnologischen Strömungssensors.** **A:** Sensorantwort auf eine Durchströmung des Kanals mit 2 ml/min. Die Pfeile zeigen das An- und Abschalten der Mikrodosierpumpe an. Der graue Balken markiert das zur Analyse genutzte Messintervall von 30 s. **B:** Ermittlung des Langzeitdriftverhaltens des Sensors über insgesamt etwa 6 h. Hierbei wurden 4 jeweils 10 min langen Sequenzen ohne Durchströmung des Sensors aufgezeichnet, wobei die einzelnen Sequenzen einen zeitlichen Abstand von 20 min, 23 min und über 4,5 h hatten.

Um die Durchflussraten anhand der DC-Strömung im Kanal des mikrosystemtechnologischen Sensors zuverlässig bestimmen zu können, muss das Sensorsignal bei fehlender Durchströmung weitgehend konstant bleiben und darf sich ausschließlich bei der Durchströmung des Sensors ändern. Daher wurde in einem Langzeittest mit einer Gesamtdauer von über 6 h die zeitliche Stabilität der Messwerte ermittelt. Direkt nach dem Einschalten des Messsystems (Sequenz 1 in Abb. 8.19B) waren stärkere Änderungen des Messsignals festzustellen (maximale Abweichung vom Mittelwert der Sequenz -4,79 mV bzw. +7,95 mV). Ab der zweiten Messung insgesamt 30 min nach dem Einschalten wurden hingegen nur geringe Schwankungen des Sensorsignals festgestellt (maximale Abweichungen vom Mittelwert der jeweiligen Sequenzen -1,19 bzw. +1,35 mV in Sequenz 3). Über die gesamte Versuchszeit (Sequenzen 1 bis 4 zusammenfasst) betrug die Standardabweichung

der Sensorsignale ohne Durchfluss 1,84 mV, d.h. deutlich größere Sensorsignale können als zuverlässige Messwerte angesehen werden.

Der mikrosystemtechnologische Durchflusssensor wurde mit Durchflussraten von 100, 200, 500, 700, 1000, 1300, 1500, 2000 und 2500 $\mu\text{l}/\text{min}$ getestet und das Sensorsignal der letzten 30 s der jeweiligen Stimulationen analysiert (grauer Balken in Abb. 8.19A). Die Sensorantwort (Sensorsignal bei Durchströmung abzüglich des Sensorsignals kurz vor Beginn der Stimulation) nahm mit größeren Durchflussraten zu (Spearman's Rangkorrelation: $S = 163066,9$; $p\text{-Wert} < 2,2e-16$; $\rho = 0,9671575$). Dieser Anstieg der Sensorantwort war bei Durchflussraten größer als 1000 $\mu\text{l}/\text{min}$ deutlich reduziert (Abb. 8.20), d.h. die Durchflussrate war außerhalb des linearen Sensorarbeitsbereiches.

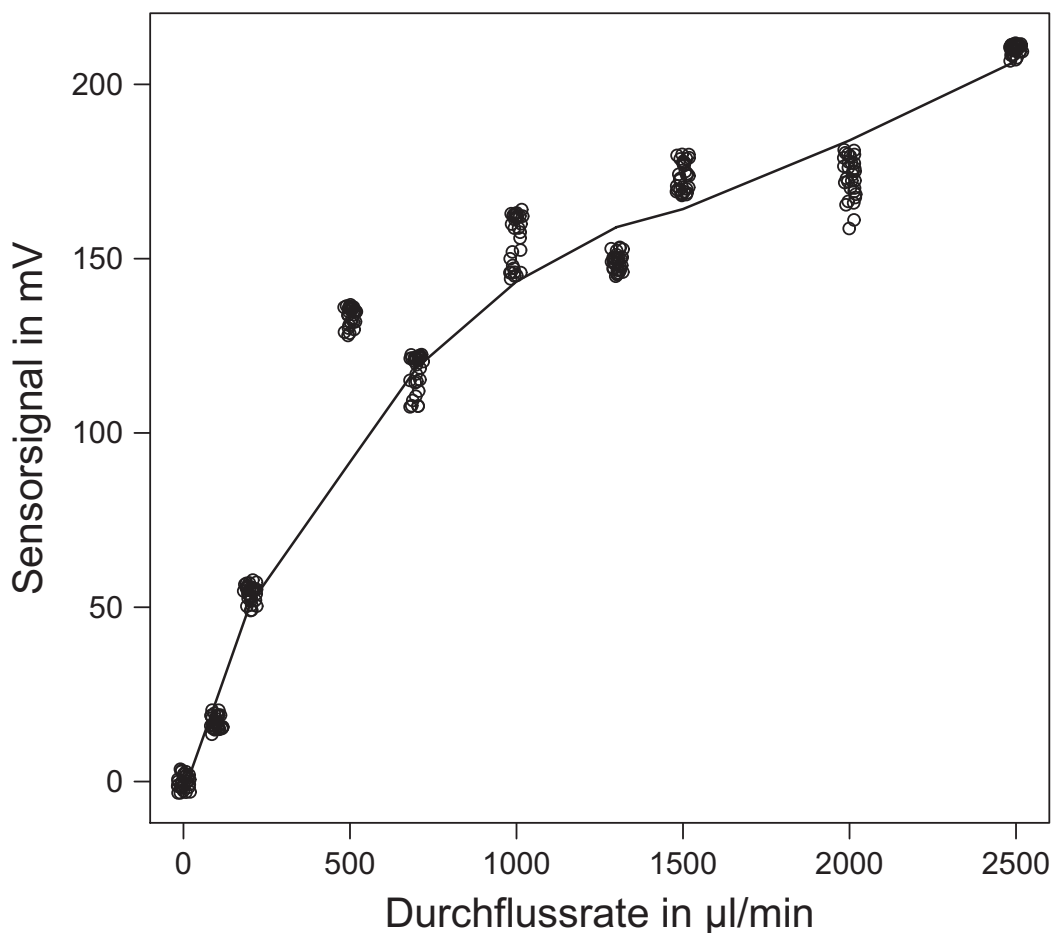


Abbildung 8.20: **Bestimmung mikrofluidischer Durchflussraten bei direktem Durchströmen.** Änderung der Ausgangsspannung des mikrotechnologischen Sensors für Durchflussraten von 100 bis 2500 $\mu\text{l}/\text{min}$. Die Linie zeigt den gleitenden Durchschnitt der Messwerte bei verschiedenen Durchflussraten (jeweils 30 s Messintervall).

Im Vergleich zu dem Referenzwert ohne Durchfluss wurde bei den Sensorsignalen aller genutzten Durchflussraten eine signifikante Änderung festgestellt (ein-

faktorielle Anova: Quadratsumme = 1,4102 für 9 Freiheitsgrade; F-Wert = 9819; p-Wert < 2e-16; Tukey Kontrast Post-Hoc-Tests: Durchfluss gegen Vergleichswert 0 $\mu\text{l}/\text{min}$: alle $p < 0,001$). Daher konnte die Durchströmung des Sensorkanals bereits ab Durchflussraten von 100 $\mu\text{l}/\text{min}$ zuverlässig detektiert werden. Das hierbei gemessene mittlere Sensorsignal ist mit 16,8 mV zudem wesentlich größer als die im Langzeittest ohne Durchfluss ermittelten zufälligen Signaländerungen (Abb. 8.19B).

8.4 Diskussion

Die Erprobung der bionischen Messgeräte in praxisorientierten Anwendungen konnte grundsätzlich erfolgreich durchgeführt werden. Sowohl mit den makroskopischen wie auch mit den mikrosystemtechnologischen Strömungssensoren konnten räumlich-zeitlich verzögerte Signale in Rohrleitungen aufgezeichnet werden. Die daraus errechneten Durchflussraten skalierten prinzipiell mit den Referenzwerten, wobei innerhalb bestimmter Messbereiche zum Teil eine hohe Übereinstimmung zwischen den errechneten Durchflussraten und den Referenzwerten erreicht wurde. Zusätzlich konnte gezeigt werden, dass künstliche Kanalneuromasten bei direkter Durchströmung des Kanals mit dem zu messenden Fluid auch zur Detektion von sehr geringen Durchflussraten, beispielweise im Anwendungsgebiet der Mikrofluidik, geeignet sind.

Bestimmung der Durchflussraten über räumlich-zeitliche Fluktuationenmuster

Bei der Vorstudie zur Durchflussratenbestimmung in Rohrleitungen mit den makroskopischen Strömungssensoren wurde festgestellt, dass sich die Fluktuationssignale benachbarter Sensoren aufgrund von unrealistisch hohen errechneten Durchflussraten nicht zur Ermittlung der Strömungsgeschwindigkeit mittels Kreuzkorrelation eignen und ein minimaler Sensorabstand nicht zu höheren Ähnlichkeiten und geringeren Messfehlern führt. Dies steht im direkten Widerspruch zu den Ergebnissen der im Kapitel 7 verwendeten Messanordnung mit Mikrofonkapseln. Im Unterschied zu den mechanisch autonomen Mikrofonkapseln wurde in der Vorstudie zur Durchflussratenbestimmung in Rohrleitungen jedoch eine Anordnung mit makroskopischen Strömungssensoren gewählt, bei dem sich acht Sensoren in einem gemeinsamen Kanal befinden und sich je zwei benachbarte Sensoren hydrodynamisch eine gemeinsame Pore teilen (Abb. 8.21B). Dieser bionische Strömungssensor entspricht damit dem Grundbauplan der meisten nicht komplex

verzweigten Rumpfkanäle des biologischen Vorbilds. Die im Versuch beobachteten extrem kurzen Signalverzögerungen zwischen den benachbarten Sensoren sind vermutlich auf ein mechanisches Übersprechen (hydrodynamische Kopplung der Lamellenauslenkung) der einzelnen Kanalneuromasten aufgrund des gemeinsamen Hauptkanals zurückzuführen. Der Hauptkanal (rechteckiger Querschnitt $5 \times 6 \text{ mm}^2$) verbindet über seine Gesamtlänge von 48 mm alle acht Sensorbalken miteinander und weist den 3,75-fachen Querschnitt der rechteckigen Kanalporen (Querschnitt $2 \times 4 \text{ mm}^2$, Länge 8 mm) auf. Dadurch können sich die in der Strömung enthaltenen Druckschwankungen über den gemeinsamen Hauptkanal auf benachbarte Sensoren übertragen, obwohl die Fluktuationen in der Rohrleitung noch nicht bis zu der eigentlich dem Sensor zugeordneten Kanalpore gelangt sind. Je weiter die korrelierten Sensoren voneinander entfernt sind, umso stärker nähern sich, vermutlich aufgrund des geringeren mechanischen Übersprechens, die aus der Sensorsignalverzögerung ermittelten Volumenströme den tatsächlichen Referenzwerten an.

Um diese negative Beeinflussung der Messungen durch mechanisches Übersprechen über den gemeinsamen Hauptkanal zu vermeiden, bieten sich zwei Lösungsstrategien an: die Verwendung unabhängiger Kanalneuromasten (Abb. 8.21A) oder die Unterteilung des gemeinsamen Hauptkanals in einzelne Abschnitte, die jeweils nur einen Sensor enthalten (Abb. 8.21C). Die Verwendung unabhängiger Kanalneuromasten hat den Vorteil, dass die einzelnen Sensoren unabhängig voneinander die jeweils an den beiden Kanalporen anliegenden Druckunterschiede abbilden können, wobei sich die funktionellen Sensorabstände jedoch vergrößern und die Ähnlichkeit der Sensorsignale verringert sein kann (siehe Kapitel 7). Die Vorteile der geringen Beeinflussung der Sensoren untereinander und die geringen funktionellen Abstände benachbarter Sensoren können durch die Unterteilung des gemeinsamen Hauptkanals erreicht werden (Abb. 8.21C). Für zukünftige Anwendungen künstlicher Kanalsysteme mit einer Vielzahl von Kanalneuromasten beispielsweise im Bereich der Strömungsgeschwindigkeitsermittlung in Rohrleitungen sollte daher diese Konfiguration verwendet werden. Eine *Finite Elemente Modellierung* zur Untersuchung der Fluidströmungen innerhalb unterschiedlicher Kanalsysteme und weitere mögliche Optimierungsansätze zur Vermeidung der mechanischen Kopplung einzelner künstlicher Kanalneuromasten sind in Herzog et al. 2015b beschrieben.

Das mechanische Übersprechen der einzelnen mikrosystemtechnologisch hergestellten Strömungssensoren konnte durch die Verwendung von drei unabhängigen Sensorchips (entsprechend der Abb. 8.21A) vermieden werden.

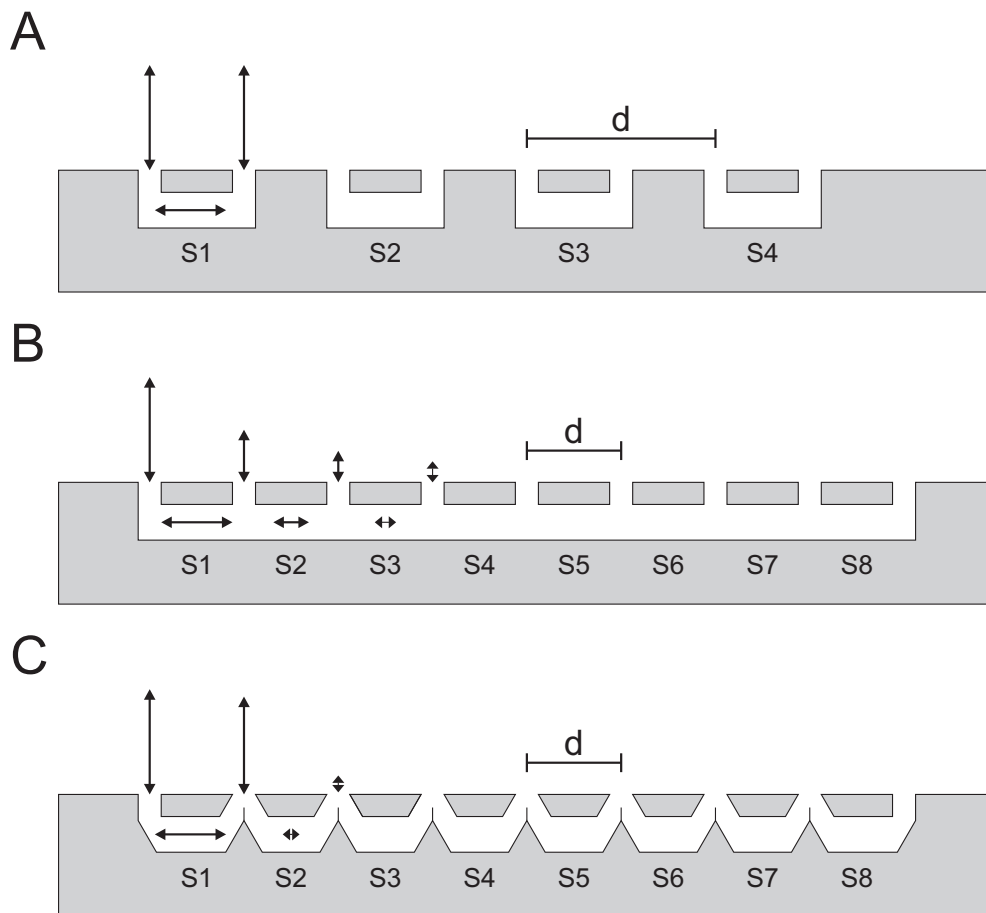


Abbildung 8.21: **Mechanisches Übersprechen innerhalb der Sensoranordnung.** **A:** unabhängige Kanalneuromasten (S1 bis S4) mit Kanalabschnitten und -poren. **B:** Kanalneuromasten (S1 bis S8) mit gemeinsamen Poren und durchgehendem Hauptkanal. **C:** Kanalneuromasten (S1 bis S8) mit gemeinsamen Poren und getrennten Kanalabschnitten. Die Pfeile zeigen Druckeinwirkung auf die Kanalporen bzw. Fluidbewegung im Kanal an. Der funktionelle hydrodynamische Sensorabstand ist mit "d" gekennzeichnet.

Als nachteilig erwies sich hierbei jedoch der verhältnismäßig große Sensorabstand, der zu geringen Kreuzkorrelationskoeffizienten führte (vergleiche Abb. 8.15 gegenüber Abb. 8.9 F bis J, siehe auch Kapitel 7). Hierdurch wurde die Erfassung des Maximums in den Kreuzkorrelationsfunktionen erschwert. Bei der Erprobung der mikrosystemtechnologischen Sensoren wurden unterschiedliche Lamellendicken verwendet, da vor der Erprobung in industrienaher Anwendung noch nicht klar war, welche Empfindlichkeit die Strömungssensoren aufweisen müssen, um die Fluktuationen in Wasserrohrleitungen optimal abbilden zu können. Für die Ermittlung der Strömungsgeschwindigkeit über räumlich-zeitliche Fluktuationenmuster ist die Verwendung unterschiedlicher Sensorchips jedoch prinzipiell nachteilig, da die Sensoren in diesem Fall unterschiedliche Sensorsignale generieren, auch wenn die Fluktuationen zeitlich verzögert völlig identisch an den Sensoren anlagen (siehe auch Abb. 6.7 auf Seite 198). Gleichartige Lamellen führen vermut-

lich zu zuverlässigeren Kreuzkorrelationsfunktionen. Da die Sensorlamellendicken entlang des Messrohres abnehmen, ist die mechanische Ähnlichkeit der einzelnen Sensoren und der Sensorabstand möglicherweise gekoppelt, wodurch sich der Einfluss dieser beiden Faktoren nicht auftrennen lässt. Die Möglichkeiten der mikrosystemtechnologischen Herstellungsverfahren wurden in der vorliegenden Studie hinsichtlich der systemischen Integration mehrerer gleichartiger Lamellen in einem mikrofluidischen Kanalsystem nach Abbildung 8.21C noch nicht vollständig ausgenutzt.

DC-Durchströmung des Sensorkanals durch Druckabfall längs der Rohrleitung

Während der Erprobung des mikrosystemtechnologischen Messgerätes wurde insbesondere bei Anlegen von hohen Durchflussraten eine Verschiebung der Sensorgrundlinie beobachtet (Abb. 8.22). Zu Beginn der Durchströmung wurden die Lamellen vermutlich durch den Druckabfall längs der Rohrleitungen und die daraus resultierende DC-Strömung im Kanal ausgelenkt. Durch die dauerhafte Auslenkung der Sensorlamellen befinden sich diese nicht mehr in der Ruheposition mittig über dem optischen Detektor, wodurch sich die Sensitivität für Strömungsfluktuationen verschlechtern könnte. Weiterhin können Fremdkörper mit der DC-Kanalströmung in den Sensor gelangen. Die Durchströmung aufgrund des Druckabfalls entlang des Messrohres ließe sich durch einen Abschluss der Sensorporen mit einer Membran vermeiden, welche die in der Strömung enthaltenen Druckfluktuationen passieren lässt. Die Membran stellt einen mechanischen Widerstand dar und könnte zu einer Verringerung der Sensitivität des Sensors für Mikrofluktuationen führen. Außerdem könnte sich die mechanische Güte des Sensors insbesondere im Bereich der Lamellenresonanzfrequenz erhöhen, wodurch die zeitgetreue Abbildung der Fluktuationen innerhalb der Rohrleitung verschlechtert würde.

Während eine DC-Strömung im Sensorkanal bei der Ermittlung der Strömungsgeschwindigkeit über die Ausbreitung räumlich-zeitlicher Fluktuationenmuster problematisch sein kann, lässt sich die kontinuierliche Lamellenauslenkung zur Ermittlung des Druckabfalls entlang des Messrohres gezielt nutzen. Da der Druckabfall mit der Strömungsgeschwindigkeit des Mediums in der Rohrleitung skaliert, könnte dieser Effekt den Messbereich des bionischen Strömungssensors bei hohen Strömungsgeschwindigkeiten erweitern. Ein vergleichbarer Mechanismus konnte in der vorliegenden Arbeit beim anterioren Kanalsystem des biologischen Vorbilds identifiziert werden (siehe Kapitel 4).

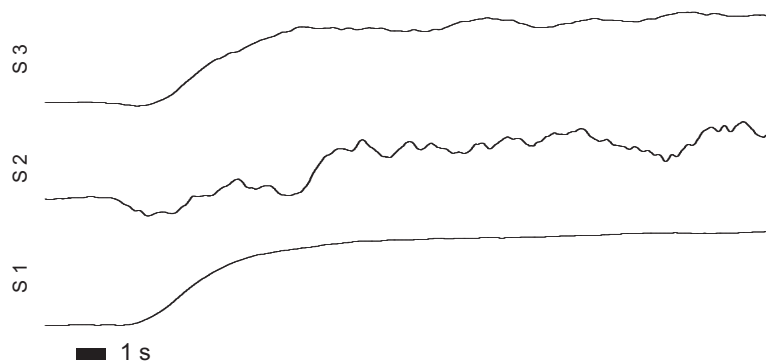


Abbildung 8.22: **DC-Durchströmung im Messstand von Hydrometer bei einer Durchflussrate von 4066 l/h.** Die Sensorsignale zeigen bei Anlegen der hohen Durchflussraten eine Verschiebung des Sensorgrundpotentials (base line), welche bis zum Abschalten des Durchflusses erhalten blieb.

Direkte Durchströmung des Sensorkanals

Die direkte Durchströmung des Sensors, beispielsweise in einer mikrofluidischen Anwendung (siehe Abb. 8.8), ermöglicht die Detektion geringer Durchflussraten ab ungefähr 50 $\mu\text{l}/\text{min}$ (interpoliert aus Abb. 8.20). Damit liegt die Detektionsschwelle des bionischen Durchflusssensors deutlich höher als bei kommerziellen mikrofluidischen Messsystemen (beispielsweise Mitos Flow Rate Sensor 3200100 des Herstellers Dolomite, Messbereich 70 - 1500 nl/min). Bei Durchflussraten größer als 500 $\mu\text{l}/\text{min}$ waren zusätzlich Sättigungseffekte des Sensors zu erkennen, welche vermutlich auf die in den Sensorchip integrierte Engstelle (siehe Klein 2012) zurückzuführen sind. Bei größeren Durchflussraten verlässt die Silikonlamelle vermutlich den zentralen Bereich des Sensors, wodurch sich der Kanalquerschnitt deutlich verändert. Die Auslenkung der Lamelle skaliert dadurch nicht mehr direkt mit der Durchflussrate, da die lokale Strömungsgeschwindigkeit durch den erweiterten Kanal abnimmt. Die verwendeten Durchflussraten konnten, mit Ausnahme von 1500 $\mu\text{l}/\text{min}$ gegenüber 2000 ml/min , voneinander unterschieden werden (Post-hoc-tests: Tukey Kontrast; $p < 0,001$), wobei insbesondere im Messbereich oberhalb von 500 $\mu\text{l}/\text{min}$ der direkte Zusammenhang zwischen einzelnen Durchflussraten und dem Sensorausgangssignal nicht gegeben war (siehe Abb. 8.20). Wie bei allen DC-basierten Messverfahren ist die Stabilität der Grundlinie (base line) über lange Zeiträume für die Funktion des Messgerätes essentiell. Der durchgeführte Langzeitdrifttest zeigte, dass das Sensorsignal direkt nach dem Einschalten deutliche Schwankungen aufweist, die Messwerte sich aber nach einiger Zeit stabilisieren. Bisher liegen jedoch noch keine Erfahrungen mit dem Messsystem in industrierelevanten Zeiträumen vor, welche die Messwertkonstanz über Monate oder Jahre untersucht haben. Neben einer Alterung des Lamellenmateri-

als, welche zu einer dauerhaften Verformung der Lamelle und damit einer Änderung der Grundausslenkung selbiger führen könnte, stellt die Auswerteelektronik einen wesentlichen Faktor für die Langzeitkonstanz der Messwerte dar. Um eine elektronische Driftstabilität zu erhalten, eignen sich einige bereits seit längerem in industriellen Anwendungen etablierte Strategien. Die Verringerung der Versorgungsspannung bei gleichzeitiger Reduktion des Ruhestroms der Auswerteelektronik (Ultra-low voltage, low quiescent current ICs) verhindern eine aktive Erwärmung der elektronischen Baugruppen (die vermutliche Hauptursache für den starken Drift nach dem Einschalten der Elektronik in Abb. 8.19B). Eine thermische Kopplung der Baugruppen könnte das thermische Driften für alle Bestandteile der Auswerteelektronik vereinheitlichen, wobei die driftbedingten Signalveränderungen durch Differenzierung zweier Ausgangskanäle egalisiert werden könnten. Zusätzlich ließen sich spezielle, nahezu driftfreie, Chopper-Verstärker einsetzen. Diese Schaltkreise modulieren eine Trägerfrequenz höherer Frequenz mit den analogen Eingangssignalen, die nach der Verstärkung in analoge Ausgangsspannungen überführt werden. Bei langfristigen Drifterscheinungen könnte weiterhin eine Servoschaltung der Stabilisierung des DC-Grundpotentials zum Einsatz kommen. Bei dieser Schaltung wird ein Integrator in den negativen Rückkopplungszweig des Verstärkers eingesetzt. Das akkumulierte DC-Driftsignal wird anschließend als entgegengesetztes Korrektursignal auf den negativen Verstärkereingang zurückgeführt, wodurch sich der Verstärker praktisch selbst korrigiert. Nachteilig ist hierbei jedoch die Festlegung auf eine bestimmte Zeitkonstante des Integrators, welche wesentlich größer als die relevanten Messzeiträume sein muss.

Wirtschaftliche Anwendbarkeit

Im Vergleich zu den meisten bereits auf dem Markt etablierten Durchflussmessgeräten (Abschnitt 1.4 auf Seite 27), sind die korrelationsbasierten Messverfahren in der Durchführung aufwendiger und damit potentiell kostenintensiver. Aufgrund des Messprinzips besteht die Notwendigkeit mindestens zwei, besser jedoch wesentlich mehr Sensoren einzusetzen, welche sowohl in der Fertigung als auch im Unterhalt wesentliche Kosten verursachen können. Zusätzlich werden bei der Ermittlung der Strömungsgeschwindigkeit über die räumlich-zeitliche Ausbreitung von Fluktuationenmustern, aufgrund der unterschiedlichen Anforderungen hinsichtlich der Samplingrate und der Aufnahmedauer im unteren und oberen Ende des Messbereichs, teilweise erhebliche Datenmengen erzeugt, welche aufgezeichnet, gespeichert und verarbeitet werden müssen. Bei geringen Strömungsgeschwindigkeiten sollte das Messintervall mindestens die doppelte Länge

der maximal zu erwartenden Signalverzögerung aufweisen, wohingegen bei hohen Strömungsgeschwindigkeiten der zeitliche Abstand zwischen den einzelnen Messwerten (Samplingintervall) höchstens ein Zehntel der minimal zu erwartenden Signalverzögerung zwischen den Sensoren haben sollte. Konventionelle Durchflussmessgeräte besitzen überwiegend einen Messbereich von 1:100 bis über 1:1000. Soll das korrelationsbasierte Messverfahren beispielsweise Strömungsgeschwindigkeiten zwischen 1 cm/s und 10 m/s messen können, so muss bei einem Sensorabstand von 1 cm die Aufnahmedauer mindestens 2 s und die Samplingrate 10 kHz betragen. Anschließend müssen die je 20.000 Datenpunkte der einzelnen Sensoren mit beispielsweise 16 bit Auflösung korreliert werden, um die Signalverzögerung zu erhalten. Als mögliche Lösungen zur Reduktion des Rechenaufwandes und damit der Kosten für die Kreuzkorrelation kommt einerseits eine dynamische Anpassung des Messzeitfensters und der Samplingrate in Betracht. Hierdurch kann jedoch eine weitere Fehlerquelle entstehen, falls diese beiden Parameter nicht zur anliegenden Strömungsgeschwindigkeit passen sollten. Alternativ wäre auch eine Verwendung von Signalverzögerungsschaltungen und Koinzidenzdetektoren, ähnlich der Delaylines der medialen oberen Olive der Hörbahn bei Säugetieren (Jeffress Modell), durch Implementierung in FPGA-Technologie denkbar.

Weiterhin ist das auf Druckfluktuationen basierende Messgerät auf eine zumindest leicht turbulente Strömung angewiesen. Turbulente Strömungen werden jedoch bei der Konzeption von Rohrleitungen in Industrieanlagen und Versorgungssystemen prinzipiell vermieden, da diese die Transportverluste erhöhen und zur Vibration der Leitungen beziehungsweise Schallemissionen führen können. Der wirtschaftliche Geschwindigkeitsbereich für die in der vorliegenden Arbeit beschriebene Erprobung im industriellen Umfeld liegt für den gewählten Rohrdurchmesser je nach Mediumviskosität zwischen 0,45 m/s und 1,2 m/s (Grafik auf Seite 463 in Bohl & Elmendorf 2008). Die in der Erprobung des Messgerätes anliegenden Strömungsgeschwindigkeiten variierten zwischen 0,55 m/s (500 l/h) und 4,44 m/s (4066 l/h). Somit waren die Strömungsgeschwindigkeiten im Versuchsstand ab 1010 l/h oberhalb des wirtschaftlichen Strömungsgeschwindigkeitsbereiches. Für eine ökonomisch sinnvolle Umsetzung eines bionischen Messgerätes mit künstlichen Kanalneuromasten müsste die Empfindlichkeit der einzelnen Sensoren erhöht werden, um auch schwache Verwirbelungen im unteren Messbereich detektieren zu können. Zusätzliche Fluktuationen könnten prinzipiell gezielt erzeugt werden (vergleiche Kapitel 6), um diese für die Ermittlung der Strömungsgeschwindigkeit zu nutzen. Da die bionischen Strömungssensoren sehr sensitiv auf die in strömenden Fluiden enthaltenen Fluktuationen reagieren, könnten diese

sehr gut zur Detektion und Beschreibung des Turbulenzgrades von in Rohrleitungen transportierten Flüssigkeiten und Gasen genutzt werden. Hierdurch können potentielle Transportverluste durch Reibungseffekte oder die Beschädigung angeschlossener Geräte in Industrieanlagen durch Druckstöße in Rohrssystemen vermieden werden.

Auch in anderen Anwendungen im Umfeld der Mikrofluidik oder Lab-on-a-chip-Systemen können die bionischen Strömungssensoren aufgrund ihrer Vorteile wie geringer Baugröße und hoher Sensitivität im direkten Durchfluss vermutlich sinnvoll zur Detektion und Messung kleinster Fluidströme eingesetzt werden. Kommerziellen thermischen Messsystemen sind die künstlichen Kanalneuromasten zwar derzeit noch hinsichtlich ihrer Empfindlichkeit unterlegen, vermeiden jedoch eine Wärmeabgabe an das zu messende Medium. Diese Fluiderwärmung ist insbesondere in den Lab-on-a-chip-Systemen aufgrund der potentiellen Veränderung chemischer Reaktionen und Beschädigung biologischer Substrate nachteilig. Die weitergehende Entwicklung der bionischen Strömungssensoren sollte auf eine weitere Steigerung der Sensitivität, der verbesserten Driftstabilität und Reduktion der Sensorbaugruppengröße (Sensorchip mit Gehäuse und Auslese-/Auswerteelektronik) gerichtet sein. Die Dimensionen kommerziell erhältlicher optischer Detektoren und die derzeit geringe Integration der elektronischen Auswerteschaltungen schränken momentan eine optimale Integration einer großen Anzahl von Sensoren auf kleiner Fläche ein. Eine weitere Miniaturisierung der Baugruppe durch die Entwicklung optischer Detektoren mit angepasster, verkleinerter aktiver Fläche und die Integration der zur Zeit verwendeten Elektronikplatinen in ein einziges Gehäuse beziehungsweise die Kombination der Sensorlamelle und der elektronischen Komponenten in ein gemeinsames Produktionsverfahren sind potentielle Wege, um die künstlichen Kanalneuromasten zur Marktreife zu bringen.

Kapitel 9

Echtzeitverfolgung der Bewegung vibrierender Kugeln durch den Smarten Mechanischen Dipol

9.1 Einleitung

Teile dieses Kapitels wurden zur Veröffentlichung beim “Journal of Experimental Biology“ eingereicht (Herzog et al. 2016, in Begutachtung). Mechanische Dipolreize werden seit Langem zur Charakterisierung von biologischen und technischen Sensoren verwendet (Übersichten in Coombs 2001; Bleckmann 2008). Im Gegensatz zu komplexeren Signalen lassen sich die von einem mechanischen Dipol erzeugten sinusförmigen Signale verhältnismäßig einfach mathematisch erfassen (Kalmijn 1988). Für gewöhnlich werden die Dipolfelder durch kleine, entlang einer Achse vibrierende Kugeln erzeugt, die von einem piezo-dimorphen oder elektrodynamischen Schwingerreger angetrieben werden. Die sinusförmige Bewegung der Kugel erzeugt hierbei entgegengesetzte, alternierende Flüssigkeitsbewegungen wie auch Druckunterschiede entlang der Bewegungsachse der Kugel. Mit diesen definierten, zeitlich alternierenden Druckfeldern können biologische und bionische Sensorsysteme standardisiert untersucht werden (beispielsweise Coombs et al. 1996; Yang et al. 2006; Klein & Bleckmann 2011). Doch die Beschreibung des Stimulus insbesondere hinsichtlich Amplitude, Frequenz, Phasenwinkel und Schwingungsrichtung der Kugel ist, aufgrund komplexer möglicher Interaktionen durch mehrere gekoppelter Feder-Masse-Systeme, nicht trivial. Für gewöhnlich ist eine Reihe hochpreisiger Präzisionsmessgeräte nötig, um eine einmalige Kalibrierung des Versuchsapparates durchzuführen. Hinzu kommt, dass diese Kalibrierung für alle Frequenzen und Amplituden separat durchzuführen ist. Deshalb sollte ein

preiswertes Messgerät entwickelt werden, welches die Bewegung der vibrierenden Kugel in allen drei Achsen in Echtzeit erfassen kann: der Smarte Mechanische Dipol.

9.2 Methoden

9.2.1 Konstruktion des Smarten Mechanischen Dipols

Für die Erfassung der Kugelbeschleunigung wurde ein Miniatur-Accelerometer mit den Abmessungen $4 \times 4 \times 1,5$ mm verwendet. Dieses elektronische Bauelement des Herstellers Analog Devices kann die Beschleunigung in drei Achsen im Bereich von ± 3 G (etwa $29,4 \text{ m/s}^2$) messen und an den drei Analogausgängen als Spannungswerte bereitstellen. Der Schaltkreis des Typs ADXL330 (Abb. 9.1) wurde gemäß Datenblatt des Herstellers (http://www.analog.com/static/imported-files/data_sheets/ADXL330.pdf) auf einer Universalplatine aufgebaut. Die Platine wurde zu einer 8 mm durchmessenden Scheibe geschliffen und verfügte über quadratische Lötunkte mit Durchkontaktierung im Abstand von 1,27 mm. Das Accelerometer wurde mit der Unterseite nach oben zeigend auf die Platine geklebt. Die vier Kondensatoren wurden bei Verwendung der Lötunkte auf die Platine gelötet. Allen drei Ausgängen wurde zur Rauschminimierung ein 10 nF Kondensator parallel geschaltet, wodurch sich die Ausgangsbandbreite auf etwa 500 Hz reduzierte. Die Versorgungsspannung wurde mit einem 100 nF Kondensator stabilisiert. Alle Verbindungen auf der Platine wurden mit isoliertem Kupferdraht (0,15 mm Durchmesser) hergestellt. Die drei Ausgänge, die Versorgungsspannung, wie auch der Selbsttesteingang wurden mit einer zusätzlichen, oberhalb des Versuchstanks montierten Versorgungsplatine verbunden. Die Verbindungen wurden mittels Lack-isolierten Kupferdrahts hergestellt und verliefen im Inneren eines Karbonröhrchens, an dem die Kugel montiert war. Flexible Kabel (isolierte Kupferlitze $0,14 \text{ mm}^2$) wurden für die Verbindung zwischen dem Dipolhalter und der Versorgungsplatine verwendet, um die Bewegung des Schwingerregers nicht zu beeinträchtigen und Kabelbruch zu vermeiden. Auf der Versorgungsplatine wurden zwei Alkaline-Batterien befestigt, um den Schaltkreis mit 3 V Gleichspannung zu versorgen. Da die Amplitude der Ausgangssignale sowohl von der Beschleunigung als auch von der Batteriespannung abhängt, muss der Ladungszustand der Batterien regelmäßig überprüft werden oder die Batterien durch ein geregeltes Netzteil ersetzt werden. Über drei BNC Anschlüsse wurde der Kontakt des Miniatur-Accelerometers zu dem A/D-Wandler hergestellt. Zwei Schalter ermöglichen die Abschaltung sowie den Funktionstest des Smarten Mechanischen

Dipols. Nach der Bestückung und Verkabelung wurde die Platine durch zwei Schichten Polyurethan versiegelt.

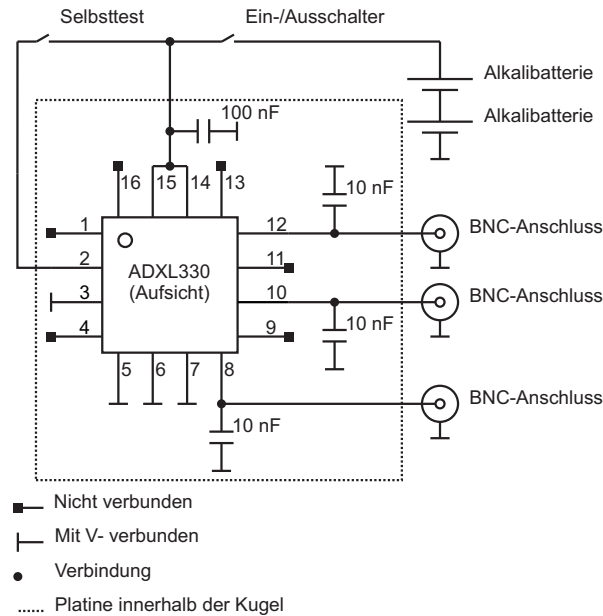


Abbildung 9.1: **Schaltplan des Smarten Mechanischen Dipols.** Der elektrische Schaltkreis wurde gemäß Datenblatt des Accelerometer-Herstellers (Analog Devices) auf einer runden Universalplatine (Durchmesser 8 mm) aufgebaut und im Inneren der vibrierenden Kugel befestigt. Die größeren Bauteile wie Schalter, Batterien und BNC-Anschlüsse wurden auf einer separaten Platine außerhalb des Versuchstanks montiert.

Die runde Platine mit dem Miniatur-Accelerometer wurde im Inneren einer Kugel angebracht. Bei dem verwendeten Prototyp wurde diese Kugel aus zwei Halbkugeln mit Zentralbohrungen (Knauber) zusammengesetzt. In jede der beiden Halbkugelninnenseiten wurde eine 8 mm große zentrale Bohrung 3 mm tief gesetzt (Abb. 9.2). In eine der beiden Halbkugeln wurde die Platine mit dem Miniatur-Accelerometer eingeklebt, sodass die Unterseite des Miniatur-Accelerometers zum Mittelpunkt der späteren Kugel orientiert war. Das Karbonröhrchen wurde durch die Zentralbohrung der anderen Halbkugel gesteckt, orthogonal zum Kugeläquator ausgerichtet und mittels Epoxidklebers fixiert. Nach dem Trocknen der Polyurethanversiegelung der Platine wurden die lackisolierten Kupferdrähte durch das Karbonröhren gefädelt und die beiden Kugelhälften mit Epoxidkleber verbunden. Die Masse der Kugel inklusive der Platine, jedoch ohne Kabel und Dichtmasse, betrug etwa 2 g. Die finale Positionierung des Miniatur-Accelerometers relativ zur Schwingerregerachse wurde mittels der vom Miniatur-Accelerometer gemessenen Gravitation durchgeführt. Danach wurde das Karbonröhrchen mittels Epoxidkleber am Acrylhalter befestigt und dadurch das Miniatur-Accelerometer dauerhaft in seiner Lage relativ zur Schwingerregerachse

fixiert.

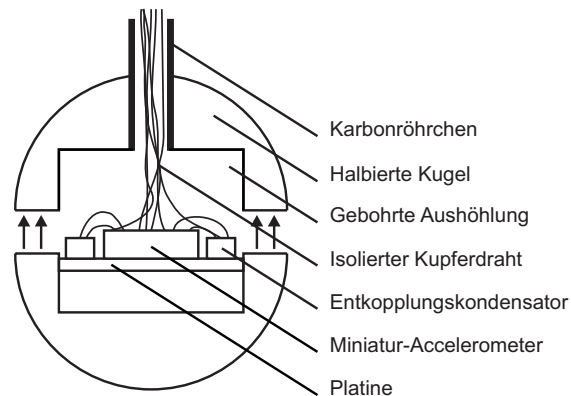


Abbildung 9.2: **Mechanische Konstruktion des Smarten Mechanischen Dipols.** Die Platine mit dem Miniatur-Accelerometer wurde in einer Aushöhlung der Halbkugel montiert. Die beiden Kugelhälften wurden bündig verklebt. Die isolierten Kupferdrähte wurden im Inneren des Karbonröhrchens nach außen geführt.

9.2.2 Messanordnung

Der Smarte Mechanische Dipol war an einem Schwingerreger (4810, Brüel & Kjær instruments) befestigt, welcher von einem Leistungsverstärker (PA25E, Ling dynamic systems) angetrieben wurde. Hierzu wurde ein Acrylhalter am Zapfen des Schwingerregers befestigt, der das Karbonröhrchen (120 mm lang, 2 mm Außendurchmesser, 1 mm Innendurchmesser) mit der Kugel (14 mm Durchmesser) trug. Der Abstand zwischen dem Schwingerregerzapfen und dem Kugelmittelpunkt betrug 177 mm. Die Kugel wurde 38 mm tief in das Wasser des Versuchstanks eingetaucht, wobei der Karbonstab und damit auch die Kugel mit dem Accelerometer in einem Winkel von 45° quer zum Befestigungszapfen orientiert waren (Details in Abb. 9.3).

Um die Funktion des Smarten Mechanischen Dipols zu testen, wurde ein frequenzmoduliertes Signal (Sweep) von 10 Hz bis 100 Hz mit 60 s Dauer und konstanter Ausgangsspannung verwendet. Zusätzlich wurden monofrequente Signale (10, 20, 30, 40, 50, 60, 70, 80, 90 und 100 Hz) mit einer jeweiligen Dauer von 340 ms (inklusive jeweils 20 ms Anstiegs- und Abfallflanken) verwendet. Um die vom Smarten Mechanischen Dipol gemessenen Werte zu überprüfen, wurden neben dem Ausgangssignal des D/A-Wandlers (Power 1401, Cambridge Electronic Design) synchron Referenzwerte mit präzisen Messgeräten aufgezeichnet. Die Auslenkung des Kugelhalters wurde mit einem kapazitiven Wegaufnehmer (4810, LOT-Oriel) gemessen. Zusätzlich wurden die von der Kugel in 1 cm Abstand in Bewegungsachse erzeugten Druckfelder mit einem Hydrofon (8103, Brüel & Kjær instruments und charge amplifier 2635, Brüel & Kjær instruments) gemessen. Die

Messdaten wurden mit einem A/D-Wandler (Power 1401, Cambridge Electronic Design) und Spike2 Software (Cambridge Electronic Design) aufgezeichnet. Die Messsignale wurden hochpassgefiltert, wobei die Signale des Hydrofons aufgrund von starken Schwankungen mit 2 Hz und die restlichen Kanäle mit 0,1 Hz gefiltert wurden.

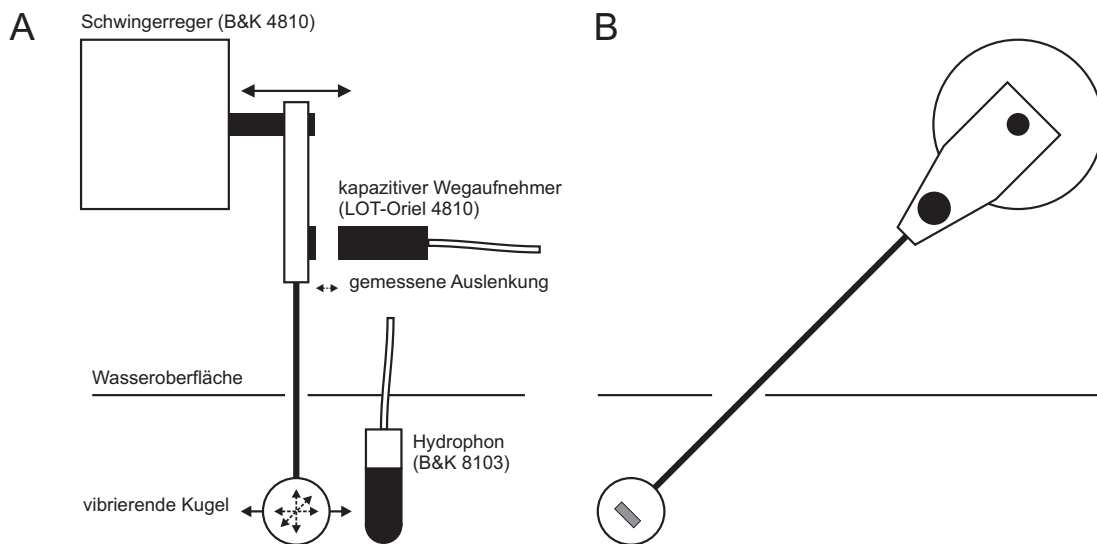


Abbildung 9.3: Testbedingungen für die Erprobung des Smarten Mechanischen Dipols mit kapazitivem Wegaufnehmer und Hydrofon. **A:** Seitenansicht parallel zur Schwingerregerachse. Durchgehende Pfeile zeigen Bewegungen an, die gestrichelten Pfeile in der Kugel zeigen die drei Sensitivitätsachsen des Miniaturaccelerometers. **B:** Ansicht von vorne, quer zur Achse des Schwingerregers. Das Karbonröhrchen des Smarten Mechanischen Dipols beschreibt zur Wasseroberfläche einen Winkel von 45° .

9.3 Ergebnisse

Die Evaluation mit dem frequenzmodulierten Signal zeigte, dass bei niedrigen Frequenzen bis etwa 20 Hz (Zeitpunkt a in Abb. 9.4A und B) die gemessene Auslenkung nahezu konstant war und der produzierte Druck mit ansteigender Frequenz zunahm. Die Accelerometerausgangsspannung in Bewegungsachse erhöhte sich in gleichem Maße wie das Hydrofonsignal, wobei die beiden anderen Accelerometerausgänge nur ein sehr kleines Ausgangssignal erzeugten. Bei diesen niedrigen Frequenzen waren die Signale des D/A-Ausgangs, des Wegaufnehmers, des Hydrofons wie auch die Accelerometerausgangsspannung (als Indikator für die Kugelbeschleunigung) in Bewegungsachse in gleicher Phase (Zeitpunkt a in Abb. 9.4B). Zwischen 22 und 37 Hz (Zeitpunkte b bis e in Abb. 9.4A und B) hingegen zeigten sich abweichende Kugelbewegungen. Die gemessene Auslenkung stieg zwischen 22 und 25 Hz (Zeitpunkte b bis c in Abb. 9.4A und B) an, nahm danach ab und blieb zwischen 31 und 100 Hz vergleichsweise konstant. Der Anstieg der

Auslenkung bei 25 Hz (Zeitpunkt c in Abb. 9.4A und B) korrelierte mit einem Anstieg des Drucks wie auch des Accelerometersignals in Bewegungsrichtung der Kugel. Im Gegensatz zur gemessenen Auslenkung nahmen der Druck und die Beschleunigung in Bewegungsachse erst ab 31 Hz (Zeitpunkt d in Abb. 9.4A und B) ab. Zusätzlich wurde ein Anstieg im Ausgangssignal der vertikalen Accelerometerachse bei 25 Hz (Zeitpunkt c in Abb. 9.4A und B) festgestellt. Bei 31 Hz war die Kugelbeschleunigung in Querachse sogar stärker als die Beschleunigung längs der Schwingungsachse.

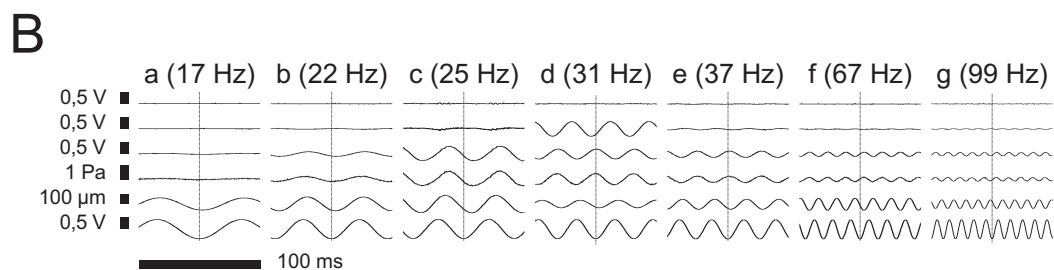
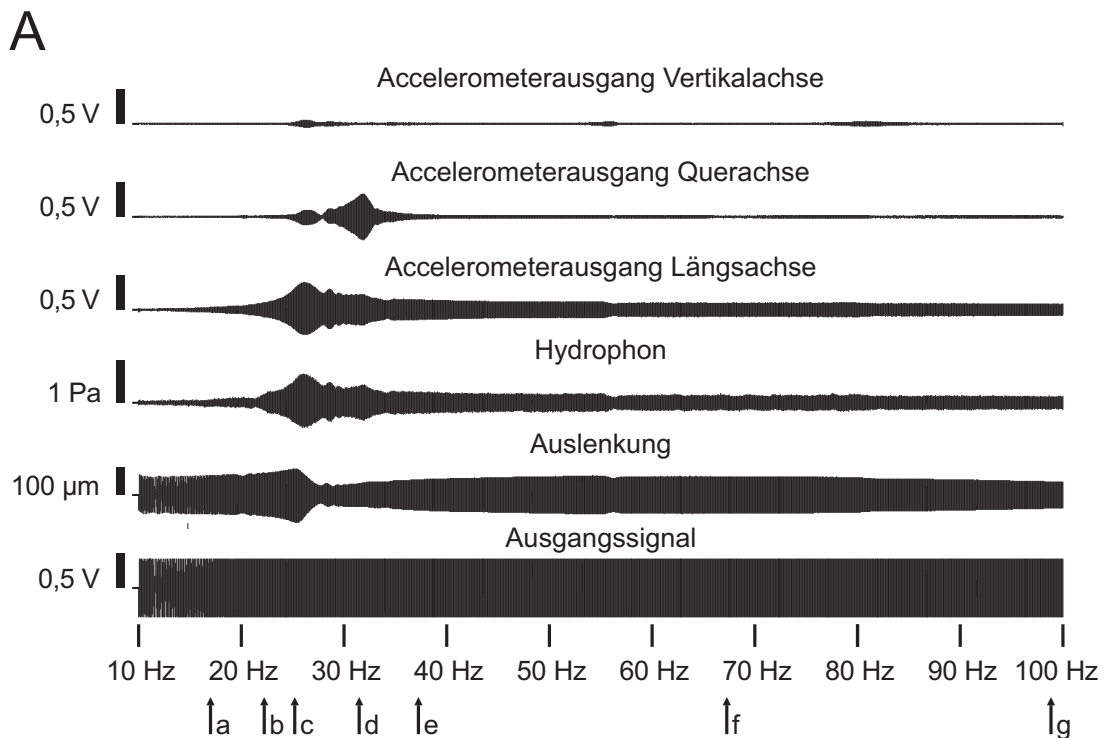


Abbildung 9.4: **Überprüfung des Smarten Mechanischen Dipols mit einem frequenzmoduliertem Signal.** **A:** Von unten nach oben: Ausgangssignal des D/A-Wandlers, gemessene Auslenkung des Kugelhalters, Wasserdruckänderung sowie Beschleunigung der Dipolkugel längs, quer und vertikal zur Schwingerregerachse im Verlauf von 30 s. Die aufgenommenen Spuren sind hochpassgefiltert (0,1 Hz sowie 2 Hz für das Hydrofon). **B:** vergrößerte Darstellung charakteristischer Zeitpunkte, welche in A mit Kleinbuchstaben gekennzeichnet sind. Die Reihenfolgen und Skalierungsbalken der Signalamplituden entsprechen der in A gewählten Darstellung.

Obwohl die gemessenen Amplituden aller Kanäle oberhalb von 40 Hz relativ konstant waren, änderte sich der Phasenbezug zwischen der Auslenkung, dem Wasserdruck und der Beschleunigung entlang der Schwingerregerachse (Zeitpunkte e bis g in Abb. 9.4B).

Bei der Verwendung monofrequenter Dipolreize wurde bei Frequenzen von 20 bis 40 Hz eine zeitliche Verzögerung der Signalwiedergabe festgestellt, wodurch die Dipolkugel nach dem Abschalten des Steuersignals weiterschwingt (Abb. 9.5).

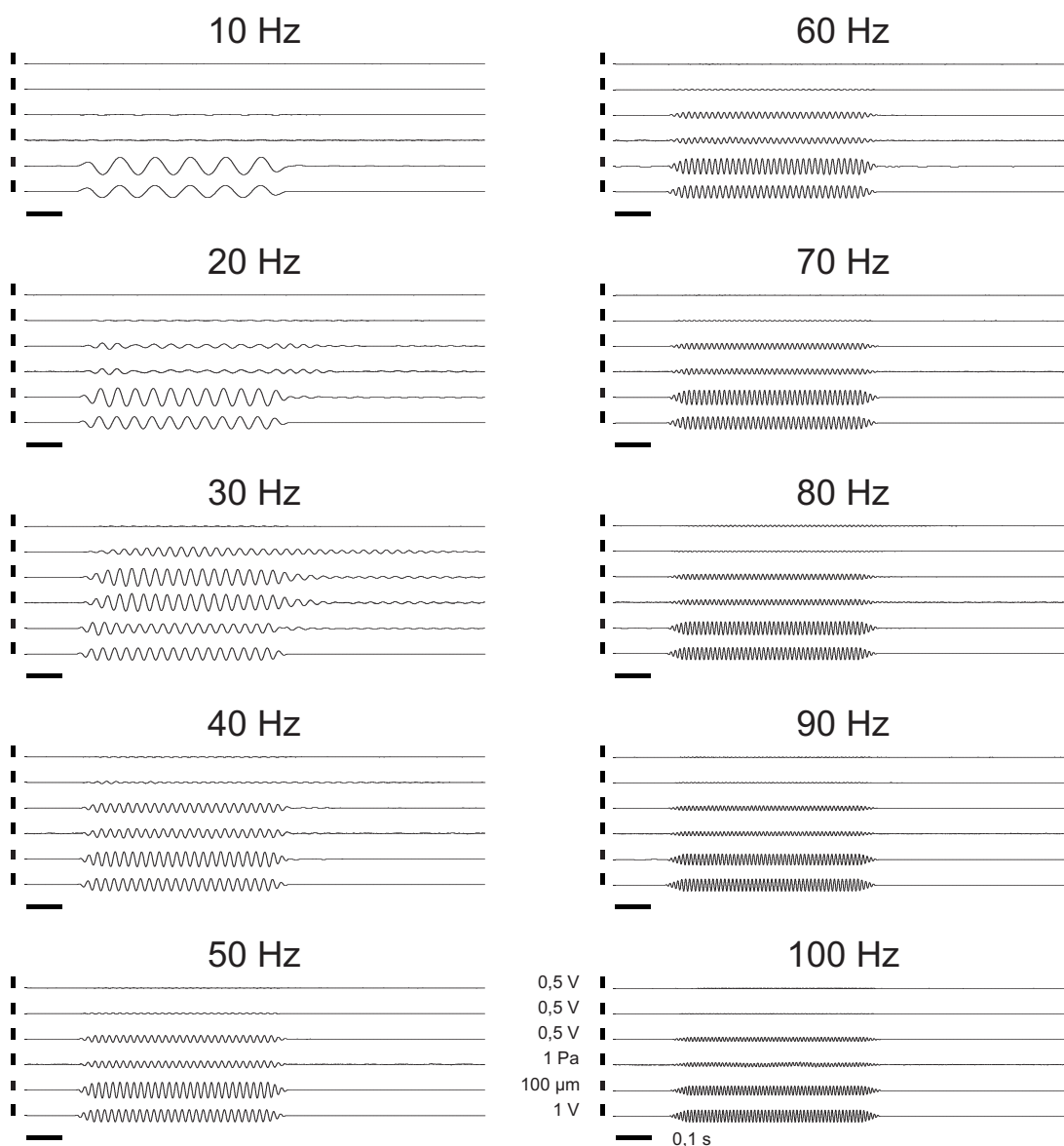


Abbildung 9.5: Überprüfung des Smarten Mechanischen Dipols mit konstanten Sinusreizen. Von unten nach oben: Ausgangssignal des D/A-Wandlers (Balken entspricht 1 V), gemessene Auslenkung des Kugelhalters (Balken entspricht 100 μm), Wasserdruckänderung (Balken entspricht 1 Pa) sowie Beschleunigungsausgang des Miniatur-Accelerometers längs, quer und vertikal zur Schwingerregerachse (Balken entspricht 0,5 V). Die aufgenommenen Spuren sind hochpassgefiltert (0,1 Hz sowie 2 Hz für das Hydrofon).

Dieser Frequenzbereich korreliert mit den bei der Verwendung des frequenzmodulierten Signals (Abb. 9.4, Zeitpunkte b bis e) festgestellten Besonderheiten bezüglich der Signalamplituden. Hierbei wurden bei den Hydrofonsignalen wie auch bei der Beschleunigung entlang der Schwingungsrichtung bei niedrigen Frequenzen zwischen 20 und 40 Hz ein verzögertes Ausschwingen der Kugel festgestellt, d.h. die Kugelbewegung dauerte auch nach Ende des Ausgangssignals des D/A-Wandlers an. Dieser Effekt konnte bei der Messung der Auslenkung des Kugelhalters nicht erfasst werden. Zusätzlich wurde bei diesen Frequenzen erneut eine Kugelbewegung quer zur Schwingerregerachse festgestellt. Innerhalb des 20 Hz Dipolreizes wurde zusätzlich eine Amplitudenmodulation im gemessenen Drucksignal, wie auch in der Kugellängsbeschleunigung festgestellt. Bei den Dipolreizen von 60 bis 100 Hz hingegen verringerte sich das Drucksignal, wie auch die Kugelbeschleunigung kurz nach dem Ende des D/A-Signals.

9.4 Diskussion

Der Smarte Mechanische Dipol liefert in Echtzeit Informationen über die dreidimensionale Bewegung der vibrierenden Kugel. Bei bekannter Kugelgröße und gegebener Frequenz kann die gemessene Beschleunigung mittels des Dipolfeld beschreibender Formeln in Druck, Geschwindigkeit oder Auslenkung der Kugel umgerechnet werden (beispielsweise Čurčić-Blake & van Netten 2006). Die mit dem Miniatur-Accelerometer gemessene Beschleunigung in Schwingerregerachse war bezüglich Amplitudenverlauf und Phase in direktem Verhältnis zu dem mit einem Hydrofon gemessenen Druck, der den adäquaten Stimulus für Druck- und Differenzdrucksensoren darstellt. Die schräge Einbaulage des Smarten Mechanischen Dipols hatte Einfluss auf die gemessene Gravitation (DC-Anteil) der Vertikal- und Querachse des Miniaturaccelerometers. Da dieser DC Anteil bei der Analyse durch einen 0,1 Hz Hochpassfilter entfernt wurde, ist eine Beeinflussung der gemessenen Beschleunigungswerte bestenfalls durch eine einseitige Begrenzung der Beschleunigung zu erwarten, die jedoch nicht zu beobachten war. Die komplexe Interaktion des Schwingerregers mit dem Stab und der Kugel führte zu Resonanzeffekten, welche in der verwendeten Versuchsanordnung zwischen 20 und 40 Hz auftraten. Diese konnten mit dem Smarten Mechanischen Dipol identifiziert und beschrieben werden. Es konnte gezeigt werden, dass sich die Hauptschwingachse in bestimmten Frequenzbereichen verschieben kann, sodass die Kugel quer zur Schwingerregerachse oszilliert (Abb. 9.4 Zeitpunkte b bis d). Eine Kompensation der verringerten Schwingungsamplitude in der Längsachse würde die Querschwin-

gung weiter verstärken und wäre daher kontraproduktiv. Um derartige Probleme bei der Generierung von Dipolsignalen zu vermeiden, sollten die Frequenzbereiche mit starken Resonanzeffekten möglichst vermieden und stattdessen der Frequenzbereich unterhalb wie auch oberhalb der Resonanzfrequenz genutzt werden. Für kleine vibrierende Kugeln bietet sich aufgrund der höheren Resonanzfrequenz der Bereich unterhalb der Resonanzfrequenz an, wohingegen bei größeren vibrierenden Kugeln das Nutzen des Frequenzbereichs oberhalb der relativ niedrigen Resonanzfrequenz vorteilhaft erscheint. Zusätzlich ist es mit dem Smarten Mechanischen Dipol möglich, die Signale elektrophysiologischer Ableitungen wie auch die Ausgangssignale technischer Sensoren direkt mit den Beschleunigungswerten der verwendeten Stimulation in Relation zu setzen. Insbesondere bei Stimulation mit komplexen Signalen wie amplituden- und frequenzmodulierten Signalen oder Rauschen ist die Echtzeitüberwachung der Kugelbewegungen enorm hilfreich. Der Smarte Mechanische Dipol ermöglicht die Nutzung großer vibrierender Kugeln zur Stimulation von biologischen oder auch technischen Sensoren. Damit ließe sich der Einfluss der Dipoldimension auf die neuronale Verarbeitung von großräumigen hydrodynamischen Ereignissen untersuchen. Da größere vibrierende Kugeln stärkere Druckfelder erzeugen können, würden große vibrierende Kugeln auch die Frequenz-Charakterisierung von technischen Prototypen mit (noch) geringer Sensitivität ermöglichen (siehe Abb. 8.5 auf Seite 234 im Kapitel 8). Die hierbei zu erwartenden Resonanzeffekte können durch die Beschleunigungsmessung präzise abgebildet werden. Die Bedeutung dieser Information wurde in einer Vorstudie mit größeren vibrierenden Kugeln festgestellt. Das in Abbildung 9.5 beschriebene verzögerte Ausschwingen der Kugel wurde auch in elektrophysiologischen Ableitungen beobachtet, wobei diese anhand der Messwerte des Smarten Mechanischen Dipols als Stimulationsartefakt anzusehen sind. Der Smarte Mechanische Dipol kann nicht nur für die Messung, sondern auch für die direkte Kontrolle der Kugelbewegung eingesetzt werden. Hierbei wäre der Smarte Mechanische Dipol sensorischer Bestandteil eines Closed-Loop-Regelkreises, der mittels dreidimensionaler Kompensationsaktuatoren die Kugelbewegung in Echtzeit dem erwünschten Resultat anpasst (siehe auch Chen & Liaw 1999; Bohnenberger et al. 1983). Der Lohn dieses erheblichen technischen Aufwandes wäre eine präzise Kugelbewegung, die nahezu frei von Resonanzeffekten über einen großen Frequenzbereich beliebige Dipolfelder produzieren könnte. Der Smarte Mechanische Dipol kann hinsichtlich der Kugelgröße an die jeweiligen Anforderungen angepasst werden, wobei, bedingt durch die Dimensionen des Miniatur-Accelerometers, die Kugel einen minimalen Durchmesser von 8 mm aufweisen muss.

Kapitel 10

Allgemeine Diskussion der vorliegenden Arbeit

10.1 Zusammenfassung der Ergebnisse

In der vorliegenden Arbeit konnte gezeigt werden, dass die in den bisherigen elektrophysiologischen Arbeiten zur Physiologie der mechanischen Seitenlinie zumeist verwendete künstliche Beatmung (KB) eine teilweise deutliche Modulation der neuronalen Aktivität von primären Afferenzen und MON-Neuronen hervorruft. Diese Beeinflussung der neuronalen Aktivität ist im Stillwasser besonders stark ausgeprägt und kann zu einer erheblich erhöhten Ruheaktivität und einem weniger regelmäßigen Entladungsmuster führen. Der Einfluss der KB ist zwar während einer Stimulation mit großräumiger Wasserströmung oder mechanischen Dipolfeldern geringer ausgeprägt, da die neuronale Antwort jedoch zumeist anhand der Änderung der Ruheaktivität der Neurone beschrieben wird, kann die beobachtete neuronale Antwort bei vorhandener KB verringert sein. Da stark strömungssensitive primäre Afferenzen und MON-Neurone ebenfalls stark auf die KB reagierten, kann die eigentlich wesentlich stärkere Strömungsantwort dieser Nervenzellen durch die KB maskiert werden. Die meisten bisherigen Studien haben daher vermutlich sowohl die Sensitivität der mechanosensitiven Seitenlinie wie auch deren Selektivität auf bestimmte Reize unterschätzt. Die kontinuierlich in der Nähe der Fiscoberfläche vorhandene, gerichtete Wasserströmung der KB kann weiterhin die Strömungsrichtungssensitivität des Seitenliniensystems beeinträchtigen. In der vorliegenden Arbeit wurden, entgegen den Ergebnissen früherer Arbeiten, bei abgeschalteter KB strömungsrichtungssensitive primäre Afferenzen und MON-Neurone gefunden, welche die Strömungsrichtung direkt in ihrer Entladungsrate kodieren können. Hierbei wurde bei Fasern des ALLN und anterior

innervierten MON-Neuronen eine stärkere rostro-caudale Strömungsrichtungspräferenz gefunden, welche, gestützt durch fluidische Simulationen und morphologische Untersuchungen, auf Abschattungseffekte der Strömung durch den Fischkörper sowie eine Durchströmung der kranialen Seitenlinienkanäle zurückzuführen ist. Die Wahrnehmung großräumiger Strömungsreize wird in der natürlichen Situation vermutlich durch die Atemwasserströmung und die Schwimmbewegung der Fische beeinflusst. Morphologische und verhaltensbiologische Ergebnisse der vorliegenden Arbeit zeigten, dass Fische unterschiedliche Strategien anwenden können, um eine Stimulation insbesondere der posterioren Seitenlinie durch die Atemwasserströmung zu vermeiden. Hierbei kann der Atemwasserstrom vom Körper weggelenkt werden, es kann die Anzahl der Neuromasten in den von der Atemwasserströmung betroffenen Bereichen reduziert werden und das Atemmuster kann längere Pausen enthalten, in denen die hydrodynamische Umwelt ohne Beeinflussung der mechanosensitiven Seitenlinie durch die Atemwasserströmung wahrgenommen werden kann. Die Schwimmbewegungen überlagern jedoch prinzipiell die Wahrnehmung großräumiger Strömungen zumindest, wenn die Fische bei höheren Strömungsgeschwindigkeiten gegen diese anschwimmen müssen. Die in den elektrophysiologischen Arbeiten verwendeten künstlichen Mikrobewegungen stellten hierbei grundsätzlich einen im Vergleich zur Hintergrundströmung starken Stimulus dar.

Die Ergebnisse des bionischen Teils der vorliegenden Arbeit zeigten, dass der ebenfalls bei den Fischen vermutete Mechanismus, die Strömungsgeschwindigkeit aufgrund der räumlich-zeitlichen Ausbreitung von Strömungsfluktuationen zu bestimmen, von einer Reihe von hydrodynamischen und mechanischen Faktoren beeinflusst werden kann und, entgegen der ursprünglichen Arbeitshypothese, nicht zwangsläufig zur zuverlässigen Bestimmung der Geschwindigkeit des strömenden Fluides nutzbar ist. Mittels unterschiedlicher Sensoranordnungen konnten jedoch mögliche Ursachen für die unzuverlässigen Messungen und somit weiterführende Lösungsansätze zur Verbesserung der Messgenauigkeit ermittelt werden. Zusätzlich wurde als alternative Möglichkeit zur Bestimmung kleinster Strömungsgeschwindigkeiten eine direkte Durchströmung der Sensorkanäle erfolgreich erprobt.

10.2 Intrinsische Heterogenität der Seitenlinie

Die vielfach zumindest indirekt anzutreffende Ansicht, die mechanosensitive Seitenlinie sei ein homogenes Sinnessystem, dessen Prinzipien mittels ganzheitlicher Verallgemeinerung zu erfassen sei, ist in Anbetracht der rein morphologischen He-

terogenität der peripheren Seitenlinienrezeptoren einem funktionellen Verständnis dieser Sinnesmodalität nicht zuträglich. Insbesondere bei hydrodynamischen Signalen, welche die Komplexität eines lokalen Dipolfeldes übersteigen, ist von mindestens sieben funktionell verschiedenen Subsinnessystemen der mechanosensitiven Seitenlinie auszugehen: dem überwiegend rostro-caudal orientierten posterioren Kanalsystem, den dorso-ventral sowie rostro-caudal orientierten Rumpfoberflächenneuromasten, den rostro-caudal sowie dorso-ventral orientierten Kranialkanalabschnitten und den rostro-caudal sowie dorso-ventral orientierten anterioren Oberflächenneuromasten. Während beim Studium der peripheren Seitenlinie zumindest die experimentelle Unterscheidung zwischen anteriorem und posteriorem Seitenliniensystem durch die getrennte Innervierung durch den ALLN und den PLLN faktisch erzwungen wird, beinhalten zentralnervöse Studien sowohl Neurone, welche periphere Eingänge von auf dem Rumpf der Versuchstiere lokalisierten Neuromasten beziehen, als auch solche mit kranialen Eingängen.

Aus diesem Grund wurde in der vorliegenden Arbeit die Position des/der Neuromasten zumindest grob lokalisiert, wodurch beispielsweise gezeigt werden konnte, dass die anteriore Seitenlinie eine besondere Bedeutung für die Strömungswahrnehmung hat. Die ebenfalls relevante, räumliche Neuromastorientierung könnte in zukünftige Studien anhand der neuronalen Antwort auf rostro-caudale sowie dorso-ventral orientierte mechanische Dipolfelder oder auf lokale, unterschiedlich orientierte Wasserstöße entlang der Fischeoberfläche beziehungsweise in Richtung einzelner Kanalporen bestimmt werden (vergleiche beispielsweise Janssen & Corcoran 1993). Damit könnten wichtige Informationen über die Neuromastorientierung und die zugehörigen funktionellen Eigenschaften auf die Verarbeitung komplexer hydrodynamischer Signale gewonnen werden. Neuere Ansätze (beispielsweise Liao 2010) nutzten die methodischen Möglichkeiten der Patch-Clamp-Technik, um die Neuromastposition und Orientierung während der physiologischen Studien sehr genau zu bestimmen, können jedoch deren funktionelle Bedeutung, beispielsweise im Kontext der Verarbeitung hochkomplexer hydrodynamischer Signale, aufgrund der experimentellen Gegebenheiten der in-vitro-Untersuchung nicht erfassen.

In der vorliegenden Arbeit wurden bei derselben Nervenfasern bzw. demselben MON-Neuron möglichst viele unterschiedliche Stimulationsprotokolle durchgeführt. Dabei konnte beispielsweise gezeigt werden, dass insbesondere stark strömungssensitive Neurone ebenfalls von der durch die künstliche Beatmung hervorgerufenen Wasserströmung stimuliert wurden. Somit ist davon auszugehen, dass die Ergebnisse insbesondere bei Studien im Bereich der Strömungswahrnehmung

stark durch die künstliche Beatmung beeinflusst wurden und die Kapazität der mechanosensitiven Seitenlinie hinsichtlich der Strömungswahrnehmung in bisherigen Studien vermutlich unterschätzt wurde.

Durch die Präsentation von Dipolreizen unterschiedlicher Frequenz konnte, aufbauend auf den Erkenntnissen früherer Arbeiten (beispielsweise Kroese & Schellart 1992; Engelmann et al. 2002), bei einem Teil der primären Afferenzen zwischen Oberflächen- und Kanalneuromastennervierenden Fasern unterschieden werden und somit beispielsweise ein Zusammenhang zwischen der Sensitivität für die künstliche Beatmung und dem innervierten Neuromastentyp hergestellt werden. Die Unterscheidung zwischen Oberflächen- und Kanalneuromasten wird jedoch verhältnismäßig stark durch die verwendeten Dipolamplituden bestimmt, wobei die beiden präsentierten Intensitäten in der vorliegenden Arbeit nur einen Unterschied von etwa 6,6 dB aufwiesen. Vergleichbare Ansätze in zukünftigen Studien sollten einen größeren Amplitudenbereich im Bereich von 20 bis 40 dB präsentieren, um auch Intensitäten knapp über der Antwortschwelle einzuschließen.

Bei der Präsentation einer Vielzahl von Stimulationsprotokollen bei einem Neuron ergeben sich jedoch drei Unzulänglichkeiten, von denen auch die vorliegende Arbeit betroffen ist: Erstens schränkt die Präsentation vieler Protokolle aufgrund der limitierenden Versuchszeit die Absicherung eines Protokolls über wiederholte Stimuluspräsentation ein. Aufgrund der nur gelegentlich vorhandenen wiederholten Stimuluspräsentationen wurde daher in den Kapiteln 2 und 4 vorrangig über die gesamte Population der abgeleiteten Nervenfasern und MON-Neurone getestet, wobei hier nur gleichmäßig auf die meisten abgeleiteten Neurone wirkende Effekte nachzuweisen sind. Die bereits beschriebene Heterogenität der mechanosensitiven Seitenlinie verhinderte in diesem Zusammenhang möglicherweise den Nachweis einer Beeinflussung weniger Neuronen oder die statistische Absicherung von Effekten, welche innerhalb der Neuronenpopulation entgegengesetzte Wirkung zeigten, wie beispielsweise bei inhibitorischen und exitatorischen MON-Neuronen. Zweitens führt eine große Anzahl von Stimulationsprotokollen mit höherer Wahrscheinlichkeit zu unvollständigen Datensätzen, wobei nicht alle Neurone mit allen Bedingungen getestet werden konnten. Diese unvollständigen Datensätze haben insbesondere die Analyse der Strömungsantworten im Kapitel 4 erschwert. Die hierbei verwendeten acht unterschiedlichen Strömungsgeschwindigkeiten bzw. Strömungsrichtungen und Stillwasser mit möglichst konstanten Strömungsbedingungen führten zu einer erheblichen Stimulationsdauer von insgesamt knapp 15 Minuten zuzüglich längerer Pausen, damit sich die Wasserbewegung

im Versuchstank nach den Strömungsreizen wieder abschwächen konnten. Daher konnten die Antworten desselben Neurons auf unterschiedliche Strömungsreize nur exemplarisch gezeigt werden und die allgemeine Verarbeitung von Strömungsreizen durch die abgeleiteten Nervenzellen musste auf Populationsniveau betrachtet werden. Da Strömungsreize im Vergleich zu Dipolreizen für die Beschleunigung und insbesondere das Abbremsen des Wassers im Strömungstank mehr Versuchszeit in Anspruch nehmen, bietet sich die Reduktion der Anzahl unterschiedlicher Strömungsreize oder die Verwendung von amplitudenmodulierten bzw. stetig in der Geschwindigkeit zunehmenden Strömungsreizen an. Wie die vorliegende Arbeit jedoch gezeigt hat, ist bei der Wahrnehmung von Strömungsreizen die absolute Strömungsgeschwindigkeit insbesondere bei der Richtungsselektivität zum Teil ein erheblicher Faktor, wodurch bei einer Reduktion der Anzahl der verwendeten Strömungsgeschwindigkeiten diese geschwindigkeitsabhängigen Effekte möglicherweise nicht untersucht werden. Die Verwendung kontinuierlich steigender Strömungsgeschwindigkeiten (beispielsweise Künzel 2009; Hofmann 2010) ermöglicht zwar die Präsentation vieler unterschiedlicher Strömungsgeschwindigkeiten in verhältnismäßig kurzer Zeit, birgt jedoch einerseits das Risiko einer Stimulation der Seitenlinie durch die Beschleunigung des Wassers bei zu steilen Rampen. Andererseits können sich die unterschiedlichen Strömungsgeschwindigkeiten beispielsweise aufgrund von Adaptationseffekten gegenseitig beeinflussen. Um das Wasser im Versuchstank in kurzer Zeit auf eine konstante Strömungsgeschwindigkeit beschleunigen und danach schnell auf Stillwasserbedingungen abzubremesen, müsste die bewegte Wassermenge von etwa 40 l in der vorliegenden Arbeit erheblich reduziert werden. Hierfür könnten zukünftige Arbeiten entweder mit lokalen Wasserströmungen arbeiten, welche mittels kleiner Pumpen bzw. Pipetten nur lokal in Fischnähe erzeugt werden (vergleiche beispielsweise Görner 1963; Liao 2010) oder einen Ansatz wählen, bei welchem der Fisch auf einer Unterlage fixiert ist und das Wasser nur auf einer Seite des Fisches bewegt wird (vergleiche Kroese & Schellart 1992). Weiterhin könnte eine Abtrennung des Versuchsbereichs mit dem montierten Versuchstier und des eigentlichen Strömungstanks über verstellbare Lamellen genutzt werden. Dabei würde das Wasser im zirkulären Strömungstank konstant mit hoher Geschwindigkeit bewegt werden und die gewünschte Strömungsgeschwindigkeit durch graduelles Öffnen und Schließen der Lamellen, beispielsweise mittels Servomotor, eingestellt werden, wodurch die Strömungsgeschwindigkeit im Versuchsbereich verhältnismäßig schnell verändert werden könnte.

Drittens kann eine Anhäufung von nicht korrigierten Mehrfachvergleichen bei

den statistischen Analysen auftreten, wenn unterschiedliche, abhängige Bedingungen gegeneinander getestet werden. Da bei den großen, und teilweise unvollständigen, Datensätzen die neuronale Antwort einerseits als Änderung der Ruheentladungsrate in Stillwasser ausgedrückt wird und andererseits die Antwort auf unterschiedliche Stimulationen miteinander verglichen werden, sind die Entladungsratenänderungen nicht unabhängig und die Wahrscheinlichkeit dafür, dass ein statistischer Test fälschlicherweise einen Unterschied findet, steigt an. In der vorliegenden Arbeit wurden in den Kapiteln 2 und 4 insgesamt knapp vierzig statistische Tests durchgeführt, wodurch die Wahrscheinlichkeit für einen statistisch signifikanten Unterschied nach Bonferoni-Korrektur auf $p = 0,00125$ (statt $p = 0,05$ bei einmaliger Testung) fällt. Unterschiede mit einem p -Wert größer als 0,001 sind somit möglicherweise unzureichend abgesichert, wobei die tatsächliche Auswirkung verdeckter Mehrfachvergleiche auf die gefundenen Unterschiede aufgrund der Vielzahl von unterschiedlichen statistischen Verfahren kaum abzuschätzen sein dürfte.

Auf zentralnervöser Verarbeitungsebene nehmen die Komplexität und die Uneinheitlichkeit des Seitenliniensystems vermutlich weiter zu. So sind neben dem überwiegend als exitatorisch beschriebenen Antwortverhalten primärer Afferenzen MON-Neurone mit inhibitorischen Antworten und auffallend komplexen rezeptiven Feldern beschrieben, welche auf eine weitergehende Verarbeitung der hydrodynamischen Informationen hindeuten und die Variabilität der neuronalen Antworten weiter steigern (Künzel 2009; Künzel et al. 2011; Coombs et al. 1998). Spätestens bei den multimodalen Neuronen des *Torus semicircularis* ist damit eine Vielschichtigkeit der zentralen Seitenlinie erreicht, die ein Verständnis der zugrunde liegenden Verarbeitung wesentlich erschwert (Hofmann 2010; Meyer 2010).

10.3 Adäquate Stimulation der mechanosensitiven Seitenlinie

Während beispielsweise bei Arbeiten am akustischen System von Landwirbeltieren die Frage nach der adäquaten Stimulation mit "zeitabhängige Luftdruckänderungen" verhältnismäßig einfach zu beantworten ist und eher über die Signalart (Sinus, Klick, Rauschen, Musik, Sprache, ...) und die Präsentationsform (monaural, binaural, dichotisch oder Freifeld) diskutiert wird (Übersichten beispielsweise in Wever 1949; Gulick et al. 1989; Stapells & Oates 1997; Hood 1999), fällt es bei der mechanosensitiven Seitenlinie wesentlich schwerer die relevante Stimu-

lation zu definieren. Neben der bereits diskutierten Heterogenität der peripheren mechanosensitiven Seitenlinie, welche sowohl zu einer Sensitivität gegenüber Fluidbewegung wie auch Druckgradienten im umgebenden Medium führt, fehlen, von vereinzelt Arbeiten abgesehen, bisher belastbare Erkenntnisse über die tatsächlich in der natürlichen Umgebung vorhandenen hydrodynamischen Signaturen und deren Auswirkungen auf bestimmte Verhaltensweisen, Individuen oder ganze Fischpopulationen. Im Vergleich zur akustischen Umwelt von Singvögeln (beispielsweise Sockman & Salvante 2008; Terleph et al. 2008; Huet des Aunay et al. 2014; Polak 2014) wissen wir derzeit leider kaum etwas über die natürliche hydrodynamische Umwelt unterschiedlicher Fischarten unter Berücksichtigung derer Lebensweise. Ein Grund hierfür dürfte in der Komplexität der Fluidbewegung in natürlicher Umgebung liegen. Um diese vollständig erfassen zu können, müsste die hydrodynamische Umwelt in Fischnähe über die Lebensspanne mehrerer Individuen beispielsweise mittels PIV verfolgt werden. Im Vergleich zu den tragbaren und kostengünstigen Messsystemen zur Erfassung der akustischen Umwelt ist dies ein sehr zeit- und kostenintensives Verfahren, das in dieser Form vermutlich nicht durchzuführen ist. Somit ist die anteilige Bedeutung unterschiedlicher hydrodynamischer Reize wie lokale Dipolfelder, DC-Strömungen, Oberflächenwellen, Schwimmspuren anderer Fische, bewegte Objekte, Kármán'sche Wirbelstraßen, stark turbulente Strömungen, oder auch die Stimulation durch Atemwasserströmungen und Schwimmbewegungen für einzelne Fischarten und bestimmte Lebensabschnitte unzureichend erforscht. Erschwerend kommt hinzu, dass eine Vielzahl dieser Reize in einer natürlichen Umgebung gleichzeitig auftreten können und somit neue, komplexere hydrodynamische Umgebungen erzeugt werden. Daher stellt sich die Frage, inwieweit diese Komplexreize durch das Seitenliniensystem in Grundbestandteile zerlegt werden können (vergleiche auditive Szenenanalyse beispielsweise Brown & Cooke 1994; Sussman 2005; Fay 2008; Bee 2014; Deike et al. 2014, Übersicht in Lewicki et al. 2014).

Grundsätzliche Verarbeitungsprinzipien lassen sich in elektrophysiologischen Studien durch einfache und gut definierte Stimuli wie beispielsweise Dipolfelder untersuchen, wobei hier jedoch die Gefahr besteht, dass diese einfachen Stimuli auf höheren Verarbeitungsebenen des Seitenliniensystems nur gering repräsentiert sind, da sie möglicherweise im Lebensumfeld der Fische nur eine geringe Bedeutung haben. Einige bisherige Arbeiten nutzten bereits komplexere bzw. imitierten mögliche natürlichen Reize und beschrieben neuronale Antworten auf unterschiedlichen Verarbeitungsebenen der mechanosensitiven Seitenlinie (beispielsweise Wirbelringe: Chagnaud et al. 2006; Fransch et al. 2009, großräumige

Strömung: Baker & Montgomery 1999a,b; Voigt et al. 2000; Carton & Montgomery 2002; Kanter & Coombs 2003; Künzel 2009; Chagnaud et al. 2008a; Hofmann 2010; Suli et al. 2012, Kármán'sche Wirbelstraße: Bleckmann et al. 2012b; Klein 2012, Oberflächenwellen: Hoin-Radkovsky et al. (1984); Bleckmann (1985, 1988); Bleckmann et al. (1989); Vogel & Bleckmann (1997); bewegte Objekte: Wubbels (1991); Mogdans & Bleckmann (1998); Mogdans & Geisen (2009); Engelmann et al. (2003), weitere Übersichten in Dijkgraaf 1933, 1962; Montgomery et al. 1995; Bleckmann 1994; Bleckmann et al. 2004; Bleckmann 2008; Bleckmann & Zelick 2009). Hierbei ist jedoch eine mögliche Antwort eines Neurons nicht direkt mit einer Relevanz im natürlichen Umfeld der Fische gleichzusetzen. Dies lässt sich bis zu einer vollständigen Aufklärung der internen Verschaltung der peripheren und zentralen Seitenlinie nur auf der Verhaltensebene betrachten. Dabei finden viele Studien jedoch nur eine nachweisbare Beteiligung der mechanosensitiven Seitenlinie, wohingegen es kaum gelingt, eine exklusive Beteiligung der Seitenlinie an einer bestimmten Verhaltensweise nachzuweisen. Dies steht in Konflikt zu dem hohen Aufwand dieses Sinnessystems mit teilweise hunderten Neuromasten auf dem Fischkörper und einer komplexen zentralnervösen multimodalen Integration.

Die vorliegende Arbeit versucht einige potentiell im natürlichen Verhalten anzutreffende Situationen wie beispielsweise Schwimmbewegungen (Kapitel 5) in den elektrophysiologischen Untersuchungen nachzubilden. Aufgrund der nur sporadisch vorhandenen Arbeiten an freischwimmenden Fischen (beispielsweise Roberts 1972; Tricas & Highstein 1991; Palmer et al. 2003; Weiss et al. 2006) oder umfangreichen Untersuchungen im Freiland sind die Ergebnisse der künstlichen Mikrobewegungen jedoch ebenfalls nicht direkt auf die natürliche Umwelt der Fische übertragbar. Zukünftige Arbeiten sollten daher insbesondere die natürliche Umwelt verschiedener Fischarten untersuchen und so einen Eindruck davon vermitteln, welche Fluidbewegungsamplituden, Druckgradienten, Strömungsmuster und Frequenzbereiche in natürlichen Habitaten, beispielsweise von freiwasserbewohnenden oder grundnah lebenden Fischarten, vorkommen.

10.4 Bionische Übertragung

Der eigentliche Transfer des biologischen Funktionsprinzips in eine technische Umsetzung wurde bereits in der Arbeit von Chagnaud et al. (2008b) vollzogen, wobei die Autoren zeigten, dass die Strömungsgeschwindigkeit und -richtung anhand mit der Strömung transportierter Fluktuationen bestimmt werden kann. Dieses Funktionsprinzip in seiner universellen Einfachheit ist jedoch be-

reits Jahre zuvor in einigen spezialisierten Anwendungsfeldern bekannt gewesen und zur Bestimmung der Durchflussmengen genutzt worden (beispielsweise Inada & Sugimoto 1989; Veneruso & Huang 1999; Jakkula et al. 2000; Ramamurthy & Dabak 2014, siehe Abschnitt 1.4). Später zeigten Klein & Bleckmann (2011), dass auch aus der mit einer Anordnung von künstlichen Kanalneuromasten gemessenen Druckkomponente der Fluktuationen die Strömungsgeschwindigkeit bestimmt werden kann.

Die vorliegende Arbeit beschäftigt sich daher mit der praktischen Umsetzung des korrelationsbasierten Messverfahrens zur Strömungsgeschwindigkeitsbestimmung in Rohrleitungen über die räumlich-zeitliche Ausbreitung von Strömungsmustern. Dabei wurde jeweils eine Vielzahl von künstlichen Kanalneuromasten zur Messung des im Medium vorhandenen AC-Anteils der Druckunterschiede genutzt. Die künstlichen Kanalneuromasten stellen im funktionellen Sinne Differenzdrucksensoren dar, welche aufgrund ihrer Konstruktion auch starke Druckstimuli ohne sichtbare Beschädigung tolerieren können, jedoch auch eine deutlich frequenzabhängige Übertragungskennlinie haben. Die künstlichen Kanalneuromasten wurden innerhalb der vorliegenden Arbeit nicht entwickelt (siehe Klein 2009), jedoch hinsichtlich des Auslesevorgangs maßgeblich optimiert und in Zusammenarbeit mit dem Forschungszentrum caesar von den Mitarbeitern der Mikrosystemtechnologie miniaturisiert. Hierbei ist jedoch anzumerken, dass diese Miniaturisierung zwar zu einer Verkleinerung der sensorischen Lamellenstruktur in den Submillimeterbereich führte, die Gesamtgröße des Sensors jedoch nicht wesentlich reduziert wurde. Grund hierfür war die aufgrund der stark reduzierten mechanischen Sensitivität und damit einhergehenden schwächeren Messsignale wesentlich aufwändigere Ausleseelektronik. Daher ist als wesentlicher Vorteil die gesteigerte Bandbreite des Sensors und die prinzipielle Reproduzierbarkeit der Sensoren zu nennen. In diesem Zusammenhang stellte sich die Frage, ob nicht auch kommerzielle Differenzdrucksensoren zur Detektion von Differenzdrucksignaturen in Fluiden geeignet sind. Die Abbildung 10.1 zeigt die mit einem kommerziellem piezo-resistiven Differenzdrucksensor durchgeführte Messung der im Kapitel 2 genutzten Dipolsignaturen bei 3 mm Kugelabstand zum Sensor.

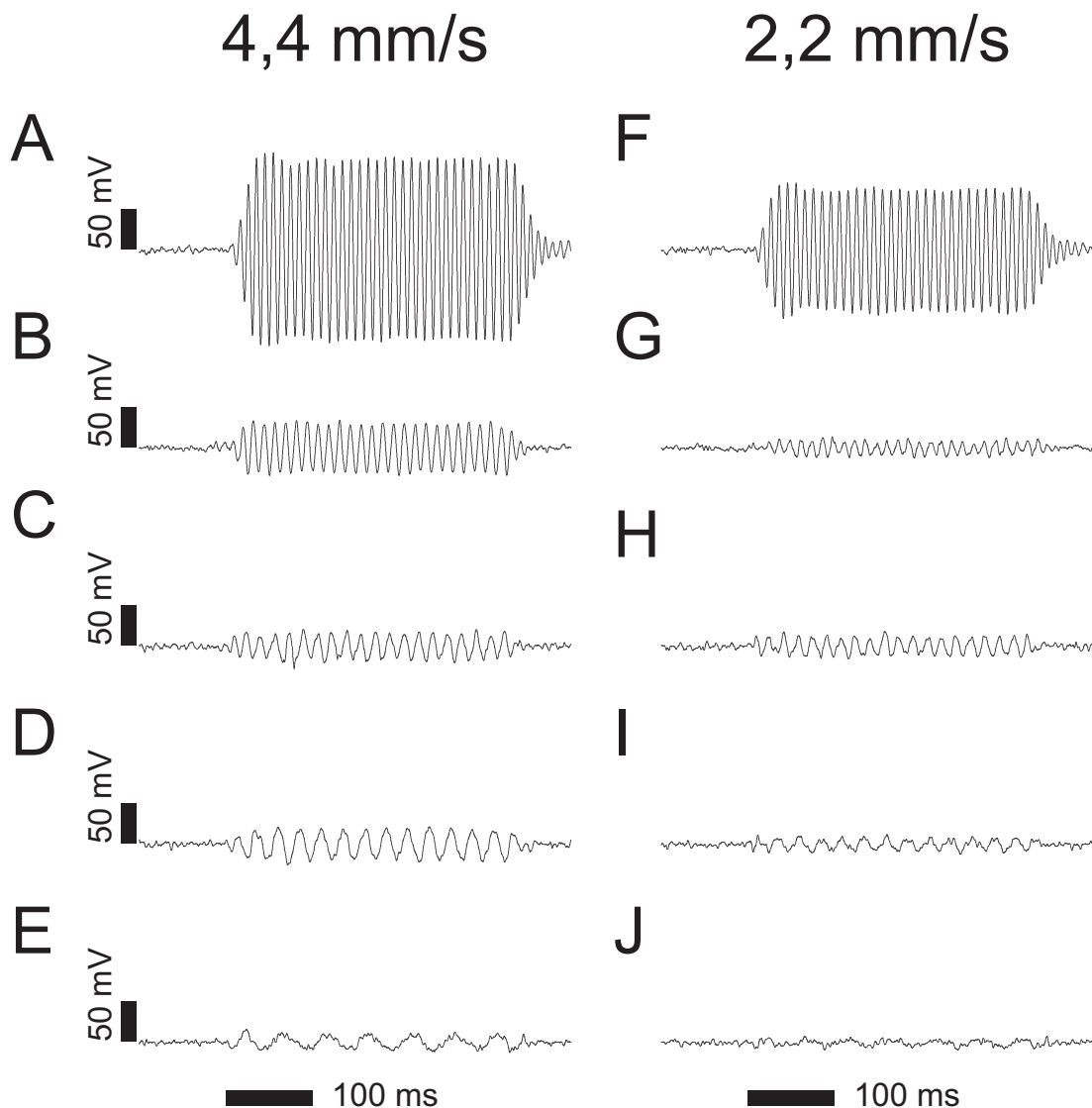


Abbildung 10.1: Sensorausgangssignal eines kommerziell erhältlichen Differenzdrucksensors (Honeywell 26PC01-SMT) bei Stimulation mit vibrierender Kugel. Es wurden die auch in den elektrophysiologischen Untersuchungen verwendeten mechanischen Dipolstimuli präsentiert (siehe auch Abb. 2.4 im Kapitel 2). **A bis E**: Kugelgeschwindigkeit 4,7 mm/s. **F bis J**: Kugelgeschwindigkeit 2,2 mm/s. **Jeweils von oben nach unten**: Dipolfrequenzen von 100 Hz (**A & F**); 80 Hz (**B & G**); 60 Hz (**C & H**); 40 Hz (**D & I**) und 20 Hz (**E & J**). Gezeigt ist jeweils das bandpassgefilterte (1 bis 1000 Hz) und über fünf Dipolreize gemittelte Sensorsignal.

Die Empfindlichkeit und insbesondere das frequenzspezifische Übertragungsverhalten dieses kommerziellen Sensorsystems (Honeywell 26PC01-SMT, Abmessung $6,1 \times 7,1 \times 7,9 \text{ mm}^3$, ausgelesen mit dem Instrumentenverstärker-IC INA128U, Platinenabmessung $23 \times 8,5 \text{ mm}^2$) ähnelt im Wesentlichen dem biologischen Vorbild (vergleiche Abb. 2.19 im Kapitel 2). Die kommerziellen Differenzdrucksensoren waren jedoch nur schlecht zu entlüften und gegenüber zu hohem Druck sehr empfindlich, sodass nur mit einem der drei gefüllten kommerziellen Senso-

ren auch Messsignale erhalten werden konnten. Die eigentliche Herausforderung ist die Entwicklung bionischer Strömungssensoren, welche auf den Oberflächenneuromasten beruhen. Trotz zahlreicher dahin gerichteter Ansätze wurde dieses Vorhaben bezüglich mechanischer Stabilität, Sensitivität und elektronischer Auslesbarkeit bisher unzureichend umgesetzt (siehe auch Abschnitt 1.5).

Im Verlauf der Untersuchung des korrelationsbasierten Strömungsmessverfahrens traten einige Schwierigkeiten auf, die einer Anwendung dieses Messverfahrens in technischer Anwendung möglicherweise entgegenstehen könnten. Dazu gehören unter anderem die Beeinflussung der Messungen durch die hydrodynamischen Eigenschaften der Fluktuationenmuster, die Sensitivität gegenüber Störungen wie beispielsweise im Medium vorhandene Schallwellen, die vergleichsweise hohen Herstellungskosten durch eine hohe Anzahl von Sensoren und auch der Energieaufwand bei dem Auslesen der Sensoren sowie bei der Durchführung der Kreuzkorrelation.

Aufgrund dieser Unzulänglichkeiten stellt sich die Frage, wie das natürliche Vorbild den Herausforderungen von hydrodynamischen Gleichtaktsignalen durch Schwimmbewegungen (Kapitel 5), sich entlang der Fischeoberfläche verändernden Fluktuationenmustern oder Atemwasserströmungssignaturen begegnen kann. Diese nicht zur Ermittlung der Strömungsgeschwindigkeit anhand der räumlich-zeitlichen Ausbreitung von mit der Strömung transportierten Fluktuationenmustern nutzbare, zusätzliche Stimulation müsste ein in Strömung schwimmender Fisch trotz teilweise wesentlich stärkeren Signalintensitäten (Kapitel 5) aus den Seitenlinieninformationen herausfiltern. Prinzipiell ist die Detektion der Anströmrichtung im Bereich schwacher Strömungsgeschwindigkeiten ausreichend, um eine Richtungswahl zu treffen und sich in die Strömung zu orientieren (Rheotaxis). Wie die vorliegende Arbeit zeigt, kann diese Fähigkeit durch die anterioren, und bei geringen Strömungsgeschwindigkeiten auch die posterioren, Anteile der primären Afferenzen und MON-Neurone vermittelt werden. Wenn der Fisch sich bereits in der Strömung befindet und gegen diese anschwimmt, muss er vorrangig mit ungefähr passender Eigengeschwindigkeit gegen diese anschwimmen, um nicht abzudriften. Ein möglicher Mechanismus hierfür wird in Kapitel 5 diskutiert. Weitere relevante Verhaltensweisen wie beispielsweise die Bevorzugung strömungsberuhigter Bereiche ließen sich auch anhand des Energiebedarfs beim Schwimmen vermitteln. Grundsätzlich benötigt ein Fisch somit vermutlich keine Kenntnis der absoluten Strömungsgeschwindigkeit in einem technischen Sinne.

Literaturverzeichnis

- Ali, R. (2008). Response of the Medial Octavolateral Nucleus (MON) in the Goldfish, *Carassius auratus*, to constant-amplitude and amplitude-modulated water wave stimuli. Dissertation, Mathematisch-Naturwissenschaftliche Fakultät der Rheinischen Friedrich-Wilhelms-Universität Bonn. 90
- Ali, R., Joachim Mogdans, & Bleckmann, H. (2010). Responses of Medullary Lateral Line Units of the Goldfish, *Carassius auratus*, to Amplitude-Modulated Sinusoidal Wave Stimuli. *International Journal of Zoology*, 2010, 1–14. 90
- Amemiya, S. (1987). Correlation detection type ultrasound blood flowmeter. US Patent 4,693,319. 31
- Arnold, G. P. (1974). Rheotropism in fishes. *Biological Reviews*, 49, 515–576. 27, 184
- Asadnia, M., Kottapalli, A. G. P., Shen, Z., Miao, J., & Triantafyllou, M. (2013). Flexible and surface-mountable piezoelectric sensor arrays for underwater sensing in marine vehicles. *Sensors Journal, IEEE*, 13(10), 3918–3925. 33
- Bacher, J., Pöge, A., & Wenzig, K. (2010). Clusteranalyse: Anwendungsorientierte Einführung in die Klassifikationsverfahren. Oldenbourg Verlag München. 53
- Bainbridge, R. (1960). Speed and stamina in three fish. *Journal of Experimental Biology*, 37(1), 129–153. 104
- Baker, C. F. & Montgomery, J. C. (1999a). Lateral line mediated rheotaxis in the Antarctic Fish *Pagothenia borchgrevinki*. *Polar Biology*, 21, 305–309. 23, 278
- Baker, C. F. & Montgomery, J. C. (1999b). The sensory basis of rheotaxis in the blind Mexican cave fish, *Astyanax fasciatus*. *Journal of Comparative Physiology A*, 184, 519–527. 23, 278

- Ballintijn, C. M. (1972). Efficiency, mechanics and motor control of fish respiration. *Respiration Physiology*, 14, 125–141. 93, 103
- Ballintijn, C. M. (1985). Neural representation of a behavioural pattern: fish respiration. *Netherlands Journal of Zoology*, 35, 168–208. 93
- Bamford, O. S. (1974). Respiratory neurones in rainbow trout (*Salmo gairdneri*). *Comparative Biochemistry and Physiology*, 48A,, 77–83. 93
- Batschelet, E. (1981). The Rayleigh test, circular statistics in biology. 52, 162
- Bauknight, R., Strelhoff, D., & Honrubia, V. (1976). Effective stimulus for the *Xenopus laevis* lateral-line hair-cell system. *Laryngoscope*, 86, 1836–1844. 21
- Beckmann, M., Erős, T., Schmitz, A., & Bleckmann, H. (2010). Number and Distribution of Superficial Neuromasts in Twelve Common European Cypriniform Fishes and Their Relationship to Habitat Occurrence. *International Review of Hydrobiology*, 95(3), 273–284. 20, 105
- Bee, M. A. (2014). Treefrogs as animal models for research on auditory scene analysis and the cocktail party problem. *International Journal of Psychophysiology*, In press(0), In press. 277
- Blaxter, J. H. S. & Fuimann, L. A. (1989). Function of free neuromasts of marine teleost larvae. In S. Coombs, P. Görner, & H. Münz (Eds.), *The Mechanosensory Lateral Line: Neurobiology and Evolution* (pp. 481–499). Springer New York. 20
- Bleckmann, H. (1985). Perception of Water Surface Waves: How Surface Waves Are Used for Prey Identification, Prey Localization, and Intraspecific Communication. In H. Autrum, D. Ottoson, E. R. Perl, R. F. Schmidt, H. Shimazu, & W. D. Willis (Eds.), *Progress in Sensory Physiology*, volume 5 of *Progress in Sensory Physiology* (pp. 147–166). Springer Berlin Heidelberg. 278
- Bleckmann, H. (1988). Prey Identification and Prey Localization in Surface-feeding Fish and Fishing Spiders. In J. Atema, R. R. Fay, A. N. Popper, & W. N. Tavolga (Eds.), *Sensory Biology of Aquatic Animals* (pp. 619–641). Springer New York. 278
- Bleckmann, H. (1994). Reception of Hydrodynamic Stimuli in Aquatic and Semiaquatic Animals, volume 41 of *Progress in Zoology*. Gustav Fischer Verlag, Stuttgart, Jena, New York. 21, 26, 233, 278

- Bleckmann, H. (2008). Peripheral and central processing of lateral line information. *Journal of Comparative Physiology A*, 194, 145–158. 20, 23, 26, 262, 278
- Bleckmann, H., Bullock, T., & Jørgensen, J. (1987). The lateral line mechanoreceptive mesencephalic, diencephalic, and telencephalic regions in the thornback ray, *Platyrrhinoidis triseriata* (Elasmobranchii). *Journal of Comparative Physiology A*, 161, 67–84. 25
- Bleckmann, H., Klein, A., & Meyer, G. (2012a). Nature as a model for technical sensors. In *Frontiers in Sensing* (pp. 3–18). Springer Wien. 32
- Bleckmann, H., Mogdans, J., Engelmann, J., Kröther, S., & Hanke, W. (2004). Das Seitenliniensystem: wie Fische Wasser fühlen. *Biologie in unserer Zeit*, 34(6), 358–365. 22, 26, 278
- Bleckmann, H., Przybilla, A., Klein, A., Schmitz, A., Kunze, S., & Brücker, C. (2012b). Station Holding of Trout: Behavior, Physiology and Hydrodynamics. In C. Tropea & H. Bleckmann (Eds.), *Nature-Inspired Fluid Mechanics*, volume 119 of *Notes on Numerical Fluid Mechanics and Multidisciplinary Design* (pp. 161–177). Springer Berlin/Heidelberg. 20, 278
- Bleckmann, H., Tittel, G., & Blübaum-Gronau, E. (1989). The Lateral Line System of Surface-Feeding Fish: Anatomy, Physiology, and Behavior. In S. Coombs, P. Görner, & H. Münz (Eds.), *The Mechanosensory Lateral Line: Neurobiology and Evolution* (pp. 501–526). Springer New York. 278
- Bleckmann, H. & Zelick, R. (2009). Lateral line system of fish. *Integrative Zoology*, 4, 13–25. 278
- Bodznick, D., Montgomery, J. C., & Carey, M. (1999). Adaptive mechanisms in the elasmobranch hindbrain. *Journal of Experimental Biology*, 202, 1357–1364. 26
- Bogue, R. (2009). Inspired by nature: developments in biomimetic sensors. *Sensor Review*, 29(2), 107–111. 32
- Bohl, W. & Elmendorf, W. (2008). Technische Strömungslehre. Vogel, Würzburg. 27, 141, 260
- Bohnenberger, J., Seyfarth, E.-A., & Barth, F. G. (1983). A versatile feedback controller for electro-mechanical stimulation devices. *Journal of neuroscience methods*, 9(4), 335–341. 270

- Brücker, C., Bauer, D., & Chaves, H. (2007). Dynamic response of micro-pillar sensors measuring fluctuating wall-shear-stress. *Experiments in Fluids*, 42, 737–749. 27, 34
- Brücker, C., Spatz, J., & Schröder, W. (2005). Feasability study of wall shear stress imaging using microstructured surfaces with flexible micropillars. *Experiments in Fluids*, 39, 464–474. 27, 34
- Brown, A. D., Mussen, T. D., Sisneros, J. A., & Coffin, A. B. (2011). Reevaluating the use of aminoglycoside antibiotics in behavioral studies of the lateral line. *Hearing Research*, 272, 1–4. 24, 151
- Brown, G. J. & Cooke, M. (1994). Computational auditory scene analysis. *Computer Speech & Language*, 8(4), 297–336. 277
- Burleson, M. L. (2009). Sensory innervation of the Gills: O₂-sensitive chemoreceptors and mechanoreceptors. *Acta Histochemica*, 111, 196–206. 93
- Burleson, M. L. & Milsom, W. K. (1993). Sensory receptors in the first gill arch of rainbow trout. *Respiration Physiology*, 93, 97–110. 93
- Burleson, M. L. & Smith, R. L. (2001). Central nervous control of gill filament muscles in channel catfish. *Respiration Physiology*, 126, 103–112. 93
- Burleson, M. L., Soard, J. D., & Elikan, L. P. (2001). Branchial mechanoreceptor activity during spontaneous ventilation in channel catfish. *Comparative Biochemistry and Physiology*, 128, 129–136. 108
- Carton, A. G. & Montgomery, J. C. (2002). Responses of lateral line receptors to water flow in the Antarctic notothenioid, *Trematomus bernacchii*. *Polar Biology*, 25, 789–793. 26, 109, 111, 144, 147, 154, 278
- Chagnaud, B. P. (2006). Electrophysiological investigations of the anterior and posterior lateral line nerve of the Goldfish, *Carassius auratus*, to running water and oscillatory stimuli. Dissertation, Mathematisch-Naturwissenschaftliche Fakultät der Rheinischen Friedrich-Wilhelms-Universität Bonn. 144, 148
- Chagnaud, B. P., Bleckmann, H., & Engelmann, J. (2006). Neural responses of Goldfish lateral line afferents to vortex motions. *Journal of Experimental Biology*, 209, 327–342. 42, 277
- Chagnaud, B. P., Bleckmann, H., & Hofmann, M. H. (2008a). Lateral line nerve fibers do not code bulk water flow direction in turbulent flow. *Zoology*, 111,

- 204–217. 14, 26, 27, 42, 109, 110, 111, 123, 144, 145, 146, 147, 149, 150, 154, 278
- Chagnaud, B. P., Brücker, C., Hofmann, M. H., & Bleckmann, H. (2008b). Measuring Flow Velocity and Flow Direction by Spatial and Temporal Analysis of Flow Fluctuations. *Journal of Neuroscience*, 28(17), 4479–4487. 27, 31, 42, 86, 109, 145, 147, 153, 154, 185, 202, 278
- Chen, N., Tucker, C., Engel, J. M., Yang, Y., Pandya, S., & Liu, C. (2007). Design and Characterization of Artificial Haircell Sensor for Flow Sensing With Ultrahigh Velocity and Angular Sensitivity. *Journal of Microelectromechanical Systems*, 16(5), 999–1014. 33
- Chen, T.-H. & Liaw, C.-M. (1999). Vibration acceleration control of an inverter-fed electrodynamic shaker. *Mechatronics, IEEE/ASME Transactions on*, 4(1), 60–70. 270
- Class, B. & Münz, H. (1996). Analysis of surface waves direction by the lateral line system of *Xenopus*: Source localization before and after inactivation of different parts of the lateral line. *Journal of Comparative Physiology A*, 178, 253–268. 21
- Class, B., Münz, H., & Görner, P. (1993). Reaction to surface waves by *Xenopus laevis* Daudin. Are sensory systems other than the lateral line involved? *Journal of Comparative Physiology A*, 172, 759–765. 21
- Cohen, M. J. & Winn, H. E. (1967). Electrophysiological Observations on Hearing and Sound Production in the Fish, *Porichthys notatus*. *Journal of Experimental Biology*, 165, 355–370. 184
- Colgate, J. E. & Lynch, K. M. (2004). Mechanics and Control of Swimming: A Review. *IEEE Journal of Oceanic Engineering*, 29, 660–673. 20, 154, 184
- Coombs, S. (2001). Smart Skins: Information Processing by Lateral Line Flow Sensors. *Autonomous Robots*, 11, 255–261. 20, 262
- Coombs, S., Braun, C. B., & Donovan, B. (2001). The orienting response of Lake Michigan mottled sculpin is mediated by canal neuromasts. *Journal of Experimental Biology*, 204, 337–348. 23
- Coombs, S., Hastings, M., & Finneran, J. (1996). Modeling and measuring lateral line excitation patterns to changing dipole source locations. *Journal of Comparative Physiology A*, 178, 359–371. 262

- Coombs, S. & Janssen, J. (1990). Behavioral and neurophysiological assessment of lateral line sensitivity in the mottled sculpin, *Cottus bairdi*. *Journal of Comparative Physiology A*, 167, 557–567. 146
- Coombs, S., Janssen, J., & Webb, J. (1988). Diversity of lateral line systems: Evolutionary and functional considerations. In J. Atema, R. R. Fay, A. N. Popper, & W. N. Tavolga (Eds.), *Sensory Biology of Aquatic Animals*. (pp. 553–593). Springer, New York. 24, 136, 137
- Coombs, S., Mogdans, J., Halstead, M., & Montgomery, J. (1998). Transformation of peripheral inputs by the first-order lateral line brainstem nucleus. *Journal of Comparative Physiology A*, 182, 609–626. 25, 86, 90, 276
- Cormack, R. M. (1971). A Review of Classification. *Journal of the Royal Statistical Society A*, 134(3), 321–367. 53
- Ćurčić-Blake, B. & van Netten, S. M. (2006). Source location encoding in the fish lateral line canal. *Journal of Experimental Biology*, 209, 1548–1559. 269
- de Perera, T. B. (2004). Fish can encode order in their spatial map. *Proceedings of the Royal Society of London Series B*, 271, 2131–2134. 20
- Deike, S., Denham, S. L., & Sussman, E. (2014). Probing auditory scene analysis. *Frontiers in Neuroscience*, 8(2), 293–206. 277
- Dijkgraaf, S. (1933). Untersuchungen über die Funktion der Seitenlinienorgane an Fischen. *Zeitschrift für Physiologie*, 20, 162–214. 20, 27, 184, 278
- Dijkgraaf, S. (1962). The functioning and significance of the lateral-line organs. *Biological Reviews*, 38(1), 51–105. 20, 27, 278
- Dijkstra, M., van Baar, J. J., Wiegerink, R. J., Lammerink, T. S. J., de Boer, J. H., & Krijnen, G. J. M. (2005). Artificial sensory hairs based on the flow sensitive receptor hairs of crickets. *Journal of Micromechanics and Microengineering*, 15, 132–138. 32
- Dill, L. M. (1974). The Escape Response of the Zebra Danio (*Brachydanio rerio*) I. The Stimulus for Escape. *Animal Behaviour*, 22, 711–722. 20
- Engelmann, J. (1999). Antworten medullärer Seitenlinienneurone frei atmender Goldfische, *Carassius auratus*, auf künstliche und natürliche hydrodynamische Reize. Diplomarbeit, Mathematisch-Naturwissenschaftliche Fakultät der Rheinischen Friedrich-Wilhelms-Universität Bonn. 94, 103

- Engelmann, J. (2002). Einfluß von Fließwasser auf die mechanosensorische Seitenlinie des Goldfischs, *Carassius auratus*, und der Regenbogenforelle, *Oncorhynchus mykiss*. Dissertation, Mathematisch-Naturwissenschaftliche Fakultät der Rheinischen Friedrich-Wilhelms-Universität Bonn. 99, 106
- Engelmann, J. & Bleckmann, H. (2004). Coding of lateral line stimuli in the goldfish midbrain in still and running water. *Zoology*, 107, 135–151. 42, 87, 88
- Engelmann, J., Hanke, W., & Bleckmann, H. (2002). Lateral line reception in still and running water. *Journal of Comparative Physiology A*, 188, 513–526. 23, 27, 42, 109, 144, 148, 151, 153, 274
- Engelmann, J., Hanke, W., Mogdans, J., & Bleckmann, H. (2000). Hydrodynamic stimuli and the fish lateral line. *Nature*, 408, 51–52. 23, 144
- Engelmann, J., Kröther, S., Bleckmann, H., & Mogdans, J. (2003). Effects of Running Water on Lateral Line Responses to Moving Objects. *Brain Behavior and Evolution*, 61, 195–212. 145, 182, 278
- Faber, D. S., Fetcho, J. R., & Korn, H. (1989). Neuronal Networks Underlying the Escape Response in Goldfish: General Implications for Motor Control. *Annals of the New York Academy of Sciences*, 563, 11–33. 20
- Fan, Z., Chen, J., Zou, J., Bullen, D., Liu, C., & Delcomyn, F. (2002). Design and fabrication of artificial lateral line flow sensors. *Journal of Micromechanics and Microengineering*, 12, 655–661. 33
- Faucherre, A., Pujol-Martí, J., Kawakami, K., & López-Schier, H. (2009). Afferent Neurons of the Zebrafish Lateral Line Are Strict Selectors of Hair-Cell Orientation. *PLoS ONE*, 4(2), e4477. 21
- Fay, R. R. (2008). Auditory scene analysis. *Bioacoustics*, 17(1-3), 106–109. 277
- Flock, Å. (1965). Electronmicroscopic and electrophysiological studies on the lateral line canal organ. *Acta Otolaryngol*, 199, 1–90. 21
- Flock, Å. (1971). 8 The Lateral Line Organ Mechanoreceptors. In W. Hoar & D. Randall (Eds.), *Sensory Systems and Electric Organs*, volume 5 of *Fish Physiology* (pp. 241–263). Academic Press. 21
- Flock, Å. & Russell, I. (1976). Inhibition by efferent nerve fibres: action on hair cells and afferent synaptic transmission in the lateral line canal organ of the burbot *Lota lota*. *Journal of Physiology (Cambridge, England)*, 257, 45–62. 21

- Franosch, J.-M. P., Hagedorn, H. J. A., Goulet, J., Engelmann, J., & van Hemmen, J. L. (2009). Wake Tracking and the Detection of Vortex Rings by the Canal Lateral Line of Fish. *Physical Review Letters*, 103, 78–102. 277
- Franosch, J.-M. P., Sobotka, M. C., Elepfandt, A., & van Hemmen, J. L. (2003). Minimal Model of Prey Localization through the Lateral-Line System. *Physical Review Letters*, 91(15), 158101. 20
- Frings, M. (2011). Characterization of primary afferent fibres in the posterior lateral line nerve of goldfish, *Carassius auratus*. Diplomarbeit, Mathematisch-Naturwissenschaftliche Fakultät der Rheinischen Friedrich-Wilhelms-Universität Bonn. 52
- Fukuhara, S. (2002). Ultraschall-Strömungsmesser - Ultrasonic flow meter. DE Patent 10,206,134. 31
- Goldberg, J. M. & Brown, P. B. (1969). Response of Binaural Neurons of Dog Superior Olivary Complex to Dichotic Tonal Stimuli - Some Physiological Mechanisms of Sound Localization. *Journal of Neurophysiology*, 32, 613–636. 52, 162
- Goulet, J., Engelmann, J., Chagnaud, B. P., Franosch, J.-M. P., Suttner, M. D., & van Hemmen, J. L. (2008). Object localization through the lateral line system of fish: theory and experiment. *Journal of Comparative Physiology A*, 194, 1–17. 33
- Görner, P. (1963). Untersuchungen zur Morphologie und Elektrophysiologie des Seitenlinienorgans vom Krallenfrosch (*Xenopus Laevis* Daudin). *Zeitschrift für vergleichende Physiologie*, 47, 316–338. 21, 23, 145, 146, 148, 275
- Große, S. & Schröder, W. (2009). The Micro-Pillar Shear-Stress Sensor MPS for Turbulent Flow. *Sensors*, 9, 2222–2251. 34
- Große, S., Schröder, W., & Brücker, C. (2006). Nano-newton drag sensor based on flexible micro-pillars. *Measurement Science and Technology*, 17, 2689–2697. 34
- Gulick, W. L., Gescheider, G. A., & Frisina, R. D. (1989). Hearing: Physiological acoustics, neural coding, and psychoacoustics. New York, NY, US: Oxford University Press, New York. 276

- Hahn, G. (1960). Ferntastsinn und Strömungssinn beim augenlosen Höhlenfisch *Anoptichthys Jordani*. Hubbs und Innes im Vergleich zu einigen Teleosteen. *Naturwissenschaften*, 47, 611. 27
- Hama, K. & Yamada, Y. (1977). Fine Structure of the Ordinary Lateral Line Organ II. The Lateral Line Canal Organ of Spotted Shark, *Mustelus manazo*. *Cell and Tissue Research*, 176, 23–36. 21
- Hama, K. M. (1965). Some observations on the fine structure of the lateral line organ of the Japanese sea eel *Lyncozymba nystromi*. *The Journal of Cell Biology*, 24, 193–210. 21
- Hartung, J. & Elpelt, B. (1984). Multivariate Statistik. Lehr- und Handbuch der angewandten Statistik. Oldenbourg Verlag München. 53
- Hassan, E.-S. (1989). Hydrodynamic imaging of the surroundings by the lateral line of the blind cave fish *Anoptichthys jordani*. In S. Coombs, P. Görner, & H. Münz (Eds.), *The Mechanosensory Lateral Line: Neurobiology and Evolution* (pp. 217–227). Springer New York. 20
- Heath, A. G. (1972). A Critical Comparison of Methods for Measuring Fish Respiratory Movements. *Water Research*, 6, 1–7. 96
- Heath, A. G. (1973). Ventilatory Responses of Teleost Fish to Exercise and Thermal Stress. *American Zoologist*, 13, 491–503. 93
- Herzog, H., Klein, A. T., Bleckmann, H., Holik, P., Schmitz, S., Siebke, G., Tätzner, S., Lacher, M., & Steltenkamp, S. (2015a). μ -biomimetic flow sensors – introducing light-guiding PDMS structures into MEMS. *Bioinspiration & Biomimetics*, 10(3), 036001. 227, 232, 235
- Herzog, H., Mogdans, J., & Bleckmann, H. (2014). Lateral line perception and breathing-induced water motions (Abstract). In M. Lambertz, K. Grommes, & S. F. Perry (Eds.), *Abstracts of the Third International Congress of Respiratory Science*: Verlag Franzbecker, Hildesheim. 93
- Herzog, H., Mogdans, J., & Bleckmann, H. (2016). A Smart Mechanical Dipole for the measurement of sphere motion in behavioural and neurophysiological experiments. *Journal of Experimental Biology*, XX, XXX–XXX. 262

- Herzog, H., Steltenkamp, S., Klein, A., Tätzner, S., Schulze, E., & Bleckmann, H. (2015b). Micro-Machined Flow Sensors Mimicking Lateral Line Canal Neuroasts. *Micromachines*, 6(8), 1189–1212. 227, 229, 231, 232, 236, 240, 244, 246, 247, 250, 255
- Hofmann, V. (2010). Responses of midbrain lateral line units in the torus semicircularis of the goldfish, *Carassius auratus*, to bulk water flow. Diplomarbeit, Mathematisch-Naturwissenschaftliche Fakultät der Rheinischen Friedrich-Wilhelms-Universität Bonn. 26, 42, 110, 275, 276, 278
- Hoin-Radkovsky, I., Bleckmann, H., & Schwartz, E. (1984). Determination of source distance in the surface-feeding fish *Pantodon buchholzi* Pantodontidae. *Animal Behaviour*, 32(3), 840–851. 278
- Hood, L. J. (1999). A Review of Objective Methods of Evaluating Auditory Neural Pathways. *The Laryngoscope*, 109(11), 1745–1748. 276
- Härdle, W. K. & Simar, L. (2012). Applied Multivariate Statistical Analysis. Springer Berlin, third edition. 53
- Hudspeth, A. J. (1983). Mechanoelectrical transduction by hair cells in the acousticolateralis sensory system. *Annual Review of Neuroscience*, 6, 187–215. 21
- Hudspeth, A. J. & Corey, D. P. (1977). Sensitivity, polarity, and conductance change in the response of vertebrate hair cells to controlled mechanical stimuli. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 74, 2407–2411. 21
- Huet des Aunay, G., Slabbekoorn, H., Nagle, L., Passas, F., Nicolas, P., & Draganoiu, T. I. (2014). Urban noise undermines female sexual preferences for low-frequency songs in domestic canaries. *Animal Behaviour*, 87(0), 67–75. 277
- Hughes, G. M. (1970). A Comparative Approach to Fish Respiration. *Experientia*, 26(2), 113–224. 93
- Inada, Y. & Sugimoto, K. (1989). Cross correlation flowmeter. US Patent 4,841,780. 31, 279
- Izadi, N., de Boer, M., Berenschot, J., Wiegerink, R., Lammerink, T., Jansen, H., Mogdans, J., & Krijnen, G. (2009). Fabrication of dense flow sensor arrays on flexible membranes. In *Solid-State Sensors, Actuators and Microsystems Conference, 2009. TRANSDUCERS 2009. International* (pp. 1075–1078). 33

- Jakkula, P., Luostarinen, K., & Tahkola, E. (2000). Method of measuring flow, and flow meter. US Patent 6,009,760. 31, 279
- Janssen, J. & Corcoran, J. (1993). Lateral line stimuli can override vision to determine sunfish strike trajectory. *Journal of Experimental Biology*, 176, 299–305. 139, 141, 273
- Jones, J. R. E. (1952). The Reactions of Fish to Water of Low Oxygen Concentration. *Journal of Experimental Biology*, 29(3), 403–415. 93
- Kalmijn, A. (1988). *Sensory Biology of Aquatic Animals*, chapter Hydrodynamic and acoustic field detection, (pp. 151–186). Springer, New York. 22, 23, 148, 262
- Kanter, M. J. & Coombs, S. (2003). Rheotaxis and prey detection in uniform currents by Lake Michigan mottled sculpin (*Cottus bairdi*). *Journal of Experimental Biology*, 206, 59–70. 20, 23, 278
- Kirsch, J. A., Hofmann, M. H., Mogdans, J., & Bleckmann, H. (2002). Responses of diencephalic neurons to sensory stimulation in the goldfish, *Carassius auratus*. *Brain Research Bulletin*, 57, 419–421. 26
- Klein, A. T. (2009). Examination of artificial lateral line systems. Diplomarbeit, Mathematisch-Naturwissenschaftliche Fakultät der Rheinischen Friedrich-Wilhelms-Universität Bonn. 186, 202, 228, 229, 279
- Klein, A. T. (2012). Vortex sensing and energy expenditure of fish exposed to unsteady flow and biomimetic transfer of noise filter and signal amplification techniques. Dissertation, Mathematisch-Naturwissenschaftliche Fakultät der Rheinischen Friedrich-Wilhelms-Universität Bonn. 230, 235, 238, 258, 278
- Klein, A. T. & Bleckmann, H. (2011). Determination of object position, vortex shedding frequency and flow velocity using artificial lateral line canals. *Beilstein Journal of Nanotechnology*, 2, 276–283. 32, 34, 185, 199, 202, 228, 233, 262, 279
- Klein, A. T., Münz, H., & Bleckmann, H. (2013). The functional significance of lateral line canal morphology on the trunk of the marine teleost *Xiphister atropurpureus* (Stichaeidae). *Journal of Comparative Physiology A*, 199(9), 735–749. 24, 187
- Künzel, S. (2009). Characterisation of Brainstem Lateral Line Neurons in Goldfish, *Carassius auratus*: Frequency Selectivity, Spatial Excitation Patterns and

- Flow Sensitivity. Dissertation, Mathematisch-Naturwissenschaftliche Fakultät der Rheinischen Friedrich-Wilhelms-Universität Bonn. 42, 90, 110, 153, 275, 276, 278
- Künzel, S., Bleckmann, H., & Mogdans, J. (2011). Responses of brainstem lateral line units to different stimulus source locations and vibration directions. *Journal of Comparative Physiology A*, 197, 773–787. 25, 149, 154, 276
- Krijnen, G. J. M., Dijkstra, M., van Baar, J. J., Shankar, S. S., Kuipers, W. J., de Boer, R. J. H., Altpeter, D., Lammerink, T. S. J., & Wiegerink, R. (2006). MEMS based hair flow-sensors as model systems for acoustic perception studies. *Nanotechnology*, 17, 84–89. 32
- Kroese, A. & van Netten, S. (1989). Sensory Transduction in lateral line hair cells. In S. Coombs, P. Görner, & H. Münz (Eds.), *The Mechanosensory Lateral Line: Neurobiology and Evolution* (pp. 265–284). Springer New York. 21
- Kroese, A. B. A. & Schellart, N. A. M. (1992). Velocity- and Acceleration-Sensitive Units in the Trunk Lateral Line of the Trout. *Journal of Neurophysiology*, 68, 2212–2221. 21, 23, 87, 88, 92, 146, 147, 148, 274, 275
- Kröther, S., Bleckmann, H., & Mogdans, J. (2004). Effects of running water on brainstem lateral line responses in trout, *Oncorhynchus mykiss*, to sinusoidal wave stimuli. *Journal of Comparative Physiology A*, 190, 437–448. 111, 151
- Kröther, S., Mogdans, J., & Bleckmann, H. (2002). Brainstem lateral line responses to sinusoidal wave stimuli in still and running water. *Journal of Experimental Biology*, 205, 1471–1484. 25
- Laming, P. R. & Savage, G. E. (1980). Physiological Changes Observed in the Goldfish (*Carassius auratus*) during Behavioral Arousal and Fright. *Behavioral and Neural Biology*, 29, 255–275. 93
- Lewicki, M. S., Olshausen, B. A., Surlykke, A., & Moss, C. F. (2014). Scene analysis in the natural environment. *Frontiers in Psychology*, 5(2), 199–220. 277
- Liao, J. C. (2006). The role of the lateral line and vision on body kinematics and hydrodynamic preference of rainbow trout in turbulent flow. *Journal of Experimental Biology*, 209, 4077–4090. 20

- Liao, J. C. (2007). A review of fish swimming mechanics and behaviour in altered flows. *Philosophical Transactions of the Royal Society of London, Series B: Biological Sciences*, 362, 1973–1993. 20, 154
- Liao, J. C. (2010). Organization and physiology of posterior lateral line afferent neurons in larval zebrafish. *Biology Letters*, 6, 402–405. 25, 145, 146, 147, 273, 275
- Liao, J. C., Beal, D. N., Lauder, G. V., & Triantafyllou, M. S. (2003). The Kármán gait: novel body kinematics of trout swimming in a vortex street. *Journal of Experimental Biology*, 206, 1059–1073. 20
- Liao, J. C. & Haehnel, M. (2012). Physiology of afferent neurons in the larval zebrafish provides a functional framework for lateral line somatotopy. *Journal of Neurophysiology*, 107(10), 2615–2623. 25
- Lien, V. & Vollmer, F. (2007). Microfluidic flow rate detection based on integrated optical fiber cantilever. *Lab on a Chip*, 7, 1352–1356. 34
- Liu, C. (2007). Micromachined biomimetic artificial haircell sensors. *Bioinspiration & Biomimetics*, 2(4), S162–S169. 33
- Liu, C., Engel, J., & Chen, J. (2010). Artificial Lateral Line. US patent 7,644,624 B2. 34
- Liu, C., Engel, J., Chen, J., Chen, N., Pandya, S., Yang, Y., Tucker, C., Coombs, S., Humphrey, J., & Bleckmann, H. (2006). Polymer Micro- and Nano-scale Fabrication Technology Development for Bioinspired Sensing. In *Nano/Micro Engineered and Molecular Systems, 2006. NEMS '06. 1st IEEE International Conference on* (pp. 1470–1473). 33
- Lyon, E. P. (1904). On rheotropism. I. Rheotropism in fish. *American Journal of Physiology*, 12, 149–161. 27
- Margit, B., Joerg, R., & Frank, S. (1999). Ultrasound flowmeter which functions according to the delay correlation method. WO Patent App. PCT/EP1999/002,208. 31
- Maruska, K. P. & Tricas, T. C. (1998). Morphology of the Mechanosensory Lateral Line System in the Atlantic Stingray, *Dasyatis sabina*: The Mechanotactile Hypothesis. *Journal of Morphology*, 238, 1–22. 108

- Maruska, K. P. & Tricas, T. C. (2004). Test of the mechanotactile hypothesis: neuromast morphology and response dynamics of mechanosensory lateral line primary afferents in the stingray. *Journal of Experimental Biology*, 207, 3463–3476. 108
- McConney, M. E., Chen, N., Lu, D., Hu, H. A., Coombs, S., Liu, C., & Tsukruk, V. V. (2009). Biologically inspired design of hydrogel-capped hair sensors for enhanced underwater flow detection. *Soft Matter*, 5, 292–295. 33
- McHenry, J. M., Michel, K., Stewart, W., & Müller, U. K. (2010). Disrupted flow sensing impairs hydrodynamic performance and increases the metabolic cost of swimming in the yellowtail kingfish, *Seriola lalandi*. *Journal of Experimental Biology*, 215, 3944–3954. 27
- McHenry, M. J., Strother, J. A., & van Netten, S. M. (2008). Mechanical filtering by the boundary layer and fluid-structure interaction in the superficial neuromast of the fish lateral line system. *Journal of Comparative Physiology A*, 194, 795–810. 21
- McKibben, J. R. & Bass, A. H. (1999). Peripheral encoding of behaviorally relevant acoustic signals in a vocal Fish: single tones. *Journal of Comparative Physiology A*, 184, 563–576. 184
- Meyer, G. (2010). Spatial sensitivity of midbrain lateral line units of the goldfish, *Carassius auratus*. Dissertation, Mathematisch-Naturwissenschaftliche Fakultät der Rheinischen Friedrich-Wilhelms-Universität Bonn. 26, 153, 276
- Müller, C. (2007). Antworten primärer Afferenzen im Seitenliniensystem des Goldfisches auf Dipolreize. Diplomarbeit, Mathematisch-Naturwissenschaftliche Fakultät der Rheinischen Friedrich-Wilhelms-Universität Bonn. 36, 52
- Münz, H. (1979). Morphology and Innervation of the Lateral Line System in *Sarotherodon Niloticus* L. (Cichlidae, Teleostei). *Zoomorphologie*, 93, 73–86. 20, 23
- Münz, H. (1985). Single unit activity in the peripheral lateral line system of the cichlid fish *Sarotherodon niloticus* L. *Journal of Comparative Physiology A*, 157, 555–568. 23

- Münz, H. (1989). Functional organisation of the lateral line periphery. In S. Coombs, Görner, & H. P., Münz (Eds.), *The Mechanosensory Lateral Line: Neurobiology and Evolution* (pp. 17–78). Springer, New York. 21
- Münz, H. & Claas, B. (1983). The functional organisation of neuromasts in the lateral line system of a cichlid fish. In J.-P. Ewert, R. R. Capranica, & D. J. Ingle (Eds.), *Advance in vertebrate neuroethology*, volume 56 of *NATO Advance Science Institutes Series* (pp. 301–307). Springer US. 87
- Mogdans, J. & Bleckmann, H. (1998). Responses of the goldfish trunk lateral line to moving objects. *Journal of Comparative Physiology A*, 182, 659–676. 86, 182, 278
- Mogdans, J. & Bleckmann, H. (1999). Peripheral lateral line responses to amplitude-modulated sinusoidal wave stimuli. *Journal of Comparative Physiology A*, 185, 173–180. 21
- Mogdans, J. & Geisen, S. (2009). Responses of the goldfish head lateral line to moving objects. *Journal of Comparative Physiology A*, 195, 151–165. 86, 182, 278
- Mogdans, J. & Kröther, S. (2001). Brainstem lateral line responses to sinusoidal wave stimuli in the goldfish, *Carassius auratus*. *Zoology*, 104, 153–166. 25
- Montgomery, J., Bodznick, D., & Halstead, M. (1996). Hindbrain signal processing in the lateral line system of the dwarf scorpionfish *scopeana papillosus*. *Journal of Experimental Biology*, 199, 893–899. 26, 94
- Montgomery, J., Carton, G., Voigt, R., Baker, C., & Diebel, C. (2000). Sensory processing of water currents by fishes. *Philosophical Transactions of the Royal Society of London, Series B: Biological Sciences*, 355, 1325–1327. 27
- Montgomery, J., Coombs, S., & Halstead, M. (1995). Biology of the mechanosensory lateral line in fishes. *Reviews in Fish Biology and Fisheries*, 5, 399–416. 278
- Montgomery, J., Macdonald, J., & Housley, G. (1988). Lateral line function in an antarctic fish related to the signals produced by planktonic prey. *Journal of Comparative Physiology A*, 163(6), 827–833. 87
- Montgomery, J. C., Baker, C. F., & Carton, A. G. (1997). The lateral line can mediate rheotaxis in fish. *Nature*, 389, 960–963. 20, 23, 24, 146, 151, 152

- Montgomery, J. C. & Bodznick, D. (1994). An adaptive filter that cancels self-induced noise in the electrosensory and lateral line mechanosensory systems of fish. *Neuroscience Letters*, 174, 145–148. 26, 94, 104, 107
- New, J. G., Coombs, S., McCormick, C. A., & Oshel, P. E. (1996). Cytoarchitecture of the Medial Octavolateralis Nucleus in the Goldfish, *Carassius auratus*. *Journal of Comparative Neurology*, 366, 534–546. 24, 25
- New, J. G., Fewkes, L. A., & Khan, A. N. (2001). Strike feeding behavior in the muskellunge, *Esox masquinongy*: contributions of the lateral line and visual sensory systems. *Journal of Experimental Biology*, 204, 1207–1221. 20
- New, J. G. & Northcutt, R. G. (1984). Central Projections of the Lateral Line Nerves in the Shovelnose Sturgeon. *Journal of Comparative Neurology*, 225, 129–140. 25
- Northcutt, R. G. (1997). Swimming against the current. *Nature*, 389, 915–916. 183
- Oakley, B. & Schafer, R. (1978). Experimental neurobiology: a laboratory manual. University of Michigan Press (Ann Arbor). 38
- Palmer, L. M., Giuffrida, B. A., & Mensinger, A. F. (2003). Neural Recordings From the Lateral Line in Free-Swimming Toadfish, *Opsanus tau*. *Biological Bulletin*, 205, 216–218. 94, 154, 278
- Palmer, L. M. & Mensinger, A. F. (2004). Effect of the Anesthetic Tricaine (MS-222) on Nerve Activity in the Anterior Lateral Line of the Oyster Toadfish, *Opsanus tau*. *Journal of Neurophysiology*, 92, 1034–1041. 37, 38
- Partridge, B. L. & Pitcher, T. J. (1980). The Sensory Basis of Fish Schools: Relative Roles of Lateral Line and Vision. *Journal of Comparative Physiology A*, 135, 315–325. 20
- Peleshanko, S., Julian, M. D., Ornatska, M., McConney, M. E., LeMieux, M. C., Chen, N., Tucker, C., Yang, Y., Liu, C., Humphrey, J. A. C., & Tsukruk, V. V. (2007). Hydrogel-Encapsulated Microfabricated Haircells Mimicking Fish Cupula Neuromast. *Advanced Materials*, 19, 2903–2909. 33
- Pitcher, T. (1979). Sensory information and the organization of behaviour in a shoaling cyprinid fish. *Animal Behaviour*, 27, 126–149. 20

- Plachta, D. T. T., Hanke, W., & Bleckmann, H. (2003). A hydrodynamic topographic map in the midbrain of goldfish *Carassius auratus*. *Journal of Experimental Biology*, 206, 3479–3486. 25
- Polak, M. (2014). Relationship between traffic noise levels and song perch height in a common passerine bird. *Transportation Research Part D: Transport and Environment*, 30, 72–75. 277
- Przybilla, A., Kunze, S., Rudert, A., Bleckmann, H., & Brücker, C. (2010). Ent-raining in trout: a behavioural and hydrodynamic analysis. *Journal of Experimental Biology*, 213, 2976–2986. 97, 155
- Przybilla, A. M. (2012). The swimming behaviour of Rainbow trout, *Oncorhynchus mykiss*, in turbulent water flow. Dissertation, Mathematisch-Naturwissenschaftliche Fakultät der Rheinischen Friedrich-Wilhelms-Universität Bonn. 149
- Puzdrowski, R. L. (1989). Peripheral Distribution and Central Projections of the Lateral-Line Nerves in Goldfish, *Carassius auratus* (Part 2 of 2). *Brain Behavior and Evolution*, 34, 121–131. 147
- Qualtieri, A., Rizzi, F., Todaro, M., Passaseo, A., Cingolani, R., & Vittorio, M. D. (2011). Stress-driven AlN cantilever-based flow sensor for fish lateral line system. *Microelectronic Engineering*, 88, 2376–2378. 33
- Ramamurthy, V. & Dabak, A. (2014). Flow meter. US Patent App. 13/928,562. 31, 279
- Randall, D. J. & Shelton, G. (1963). The effects of changes in environmental gas concentrations on the breathing and heart rate of a teleost fish. *Comparative Biochemistry and Physiology*, 9, 229–239. 93
- Rapo, M. A., Jiang, H., Grosenbaugh, M. A., & Coombs, S. (2009). Using computational fluid dynamics to calculate the stimulus to the lateral line of a fish in still water. *Journal of Experimental Biology*, 212, 1494–1505. 146, 152
- Reid, S. G., Sundin, L., & Milsom, W. K. (2005). The Cardiorespiratory System in Tropical Fishes: Structure, Function, and Control. In A. L. Val, V. M. F. de Almeida-Val, & D. J. Randall (Eds.), *The Physiology of Tropical Fishes*, volume 21 of *Fish Physiology* (pp. 225–275). Academic Press. 93

- Requarth, T. & Sawtell, N. B. (2011). Neural mechanisms for filtering self-generated sensory signals in cerebellum-like circuits. *Current Opinion in Neurobiology*, 21, 602–608. 26
- Roberts, B. & Ballintijn, C. (1988). Sensory interaction with central 'generators' during respiration in the dogfish. *Journal of Comparative Physiology A*, 162, 695–704. 93
- Roberts, B. L. (1972). Activity of lateral-line sense organs in swimming dogfish. *Journal of Experimental Biology*, 56, 105–118. 155, 278
- Roberts, B. L. & Russell, I. J. (1972). The activity of lateral-line efferent neurones in stationary and swimming dogfish. *Journal of Experimental Biology*, 57, 435–448. 155
- Russell, I. (1976). Central Inhibition of Lateral Line Input in the Medulla of the Goldfish by Neurones which Control Active Body Movements. *Journal of Comparative Physiology*, 111, 335–358. 22
- Russell, I. J. (1966). The orientation of fishes to low frequency sound source and the role of the lateral line system. Masterarbeit, The University of British Columbia, Department of zoology. 107
- Russell, I. J. (1971). The role of the lateral-line efferent system in *Xenopus laevis*. *Journal of Experimental Biology*, 54, 621–641. 22
- Russell, I. J. & Roberts, B. L. (1972). Inhibition of spontaneous lateral-line activity by efferent nerve stimulation. *Journal of Experimental Biology*, 57, 77–82. 22
- Russell, I. J. & Roberts, B. L. (1974). Active Reduction of Lateral-Line Sensitivity in Swimming Dogfish. *Journal of Comparative Physiology*, 94, 7–15. 22
- Satou, M., Takeuchi, H.-A., Nishii, J., Tanabe, M., Kitamura, S., Okumoto, N., & Iwata, M. (1994). Behavioral and electrophysiological evidences that the lateral line is involved in the inter-sexual vibrational communication of the hime salmon (landlocked red salmon, *Oncorhynchus nerka*). *Journal of Comparative Physiology A*, 174, 539–549. 20
- Schellart, N. & Kroese, A. (2002). Conduction velocity compensation for afferent fiber length in the trunk lateral line of the trout. *Journal of Comparative Physiology A*, 188(7), 561–576. 24, 182

- Schmitz, A., Bleckmann, H., & Mogdans, J. (2008). Organization of the Superficial Neuromast System in Goldfish, *Carassius auratus*. *Journal of Morphology*, 269, 751–761. 20, 99, 147, 148, 153
- Schmitz, A., Bleckmann, H., & Mogdans, J. (2014). The Lateral Line Receptor Array of Cyprinids From Different Habitats. *Journal of Morphology*, 275, 357–370. 89, 99
- Sheen, S. & Raptis, A. (1986). Acoustic cross-correlation flowmeter for solid-gas flow. US Patent 4,598,593. 31
- Sockman, K. W. & Salvante, K. G. (2008). The Integration of Song Environment by Catecholaminergic Systems Innervating the Auditory Telencephalon of Adult Female European Starlings. *Developmental Neurobiology*, 68(5), 656–668. 277
- Späth, M. & Schweickert, W. (1975). Lateral-line Efferents to Mechanical and Visual Stimuli. *Naturwissenschaften*, 62, 579–580. 21
- Späth, M. & Schweickert, W. (1977). The Effect of Metacaine (MS-222) on the Activity of the Efferent and Afferent Nerves in the Teleost Lateral-Line System. *Naunyn-Schmiedeberg's Archives of Pharmacology*, 297, 9–16. 37, 38, 92
- Stapells, D. & Oates, P. (1997). Estimation of the Pure-Tone Audiogram by the Auditory Brainstem Response: A Review. *Audiology and Neurotology*, 2(5), 257–280. 276
- Sterbing-D'Angelo, S., Chadha, M., Chiu, C., Falk, B., Xian, W., Barcelo, J., Zook, J. M., & Moss, C. F. (2011). Bat wing sensors support flight control. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 108, 11291–11296. 149
- Su, Y., Evans, A. G. R., Brunnschweiler, A., & Ensell, G. (2002). Characterization of a highly sensitive ultra-thin piezoresistive silicon cantilever probe and its application in gas flow velocity sensing. *Journal of Micromechanics and Microengineering*, 12, 780–785. 33
- Suli, A., Watson, G. M., Rubel, E. W., & Raible, D. W. (2012). Rheotaxis in Larval Zebrafish Is Mediated by Lateral Line Mechanosensory Hair Cells. *PLoS ONE*, 7(2), e29727. 278
- Sussman, E. S. (2005). Integration and segregation in auditory scene analysis. *Journal of the Acoustical Society of America*, 117(3), 1285–1298. 277

- Sutterlin, A. M. & Waddy, S. (1975). Possible Role of the Posterior Lateral Line in Obstacle Entrainment by Brook Trout (*Salvelinus fontinalis*). *Journal of the Fisheries Research Board of Canada*, 32(12), 2441–2446. 27
- Terleph, T. A., Lu, K., & Vicario, D. S. (2008). Response Properties of the Auditory Telencephalon in Songbirds Change with Recent Experience and Season. *PLoS ONE*, 3(8), e2854. 277
- Teyke, T. (1985). Collision with and avoidance of obstacles by blind cave fish *Anoptichthys jordani*. *Journal of Comparative Physiology A*, 157, 837–843. 20
- Teyke, T. (1988). Flow field, swimming velocity and boundary layer: parameters which affect the stimulus for the lateral line organ in blind fish. *Journal of Comparative Physiology A*, 163, 53–61. 20
- Trapani, J. G. & Nicolson, T. (2011). Mechanism of Spontaneous Activity in Afferent Neurons of the Zebrafish Lateral-Line Organ. *Journal of Neuroscience*, 31(5), 1614–1623. 21
- Tricas, T. C. & Highstein, S. M. (1991). Action of the octavolateralis efferent system upon the lateral line of free-swimming toadfish, *Opsanus tau*. *Journal of Comparative Physiology A*, 169, 25–37. 22, 94, 278
- van Netten, S. M. (2006). Hydrodynamic detection by cupulae in a lateral line canal: functional relations between physics and physiology. *Biological Cybernetics*, 94, 67–85. 21
- van Trump, W. J., Coombs, S., Duncan, K., & McHenry, M. J. (2010). Gentamicin is ototoxic to all hair cells in the fish lateral line system. *Hearing Research*, 261, 42–50. 24, 151
- van Trump, W. J. & McHenry, M. J. (2013). The Lateral Line System is Not Necessary for Rheotaxis in the Mexican Blind Cavefish (*Astyanax fasciatus*). In *When Predators Attack: Sensing Motion in Predator-Prey Interactions* (pp. 1–11). 24
- Veneruso, A. & Huang, S. (1999). Cross correlation fluid flow meter. US Patent 5,948,995. 31, 279
- Venturelli, R., Akanyeti, O., Visentin, F., Ježov, J., Chambers, L. D., Toming, G., Brown, J., Kruusmaa, M., Megill, W. M., & Fiorini, P. (2012). Hydrodynamic pressure sensing with an artificial lateral line in steady and unsteady flows. *Bioinspiration & Biomimetics*, 7, 036004–036016. 185

- Vogel, D. & Bleckmann, H. (1997). Water wave discrimination in the surface-feeding fish *Aplocheilichthys lineatus*. *Journal of Comparative Physiology A*, 180(6), 671–681. 278
- Vogel, D. & Bleckmann, H. (2001). Behavioral discrimination of water motions caused by moving objects. *Journal of Comparative Physiology A*, 186, 1107–1117. 182
- Voigt, R., Carton, A. G., & Montgomery, J. C. (2000). Responses of anterior lateral line afferent neurones to water flow. *Journal of Experimental Biology*, 203, 2495–2502. 20, 26, 92, 109, 144, 145, 147, 154, 278
- von Campenhausen, C., Riess, I., & Weissert, R. (1981). Detection of stationary objects in the blind cave fish *Anoptichthys jordani* (Characidae). *Journal of Comparative Physiology A*, 143, 369–374. 20
- Wagner, H. & Takahashi, T. (1992). Influence of temporal cues on acoustic motion-direction sensitivity of auditory neurons in the owl. *Journal of Neurophysiology*, 68, 2063–2076. 51, 112
- Ward, J. H. (1963). Hierarchical Grouping to Optimize an Objective Function. *Journal of the American Statistical Association*, 58, 236–244. 53
- Weatherleys, A. H., Rogers, C., Pincock, D. G., & Patch, J. R. (1982). Oxygen consumption of active rainbow trout, *Salmo gairdneri* Richardson, derived from electromyograms obtained by radiotelemetry. *Journal of Fish Biology*, 20, 479–489. 93
- Webb, J. F. (2013). Morphological Diversity, Development, and Evolution of the Mechanosensory Lateral Line System. In *Handbook of Auditory Research*, Springer Handbook of Auditory Research (pp. 1–56). Springer New York. 22
- Webb, P. W. (1994). The biology of fish swimming. In L. Maddock, Q. Bone, & J. M. V. Rayner (Eds.), *Mechanics and Physiology of animal swimming* (pp. 45–62). Cambridge University Press. 154, 184
- Weiss, S. A., Zottoli, S. J., Do, S. C., Faber, D. S., & Preuss, T. (2006). Correlation of C-start behaviors with neural activity recorded from the hindbrain in free-swimming goldfish (*Carassius auratus*). *Journal of Experimental Biology*, 209, 4788–4801. 278
- Wever, E. G. (1949). *Theory of hearing*. Oxford, England: Wiley. 276

- Wubbels, R. (1992). Afferent response of a head canal neuromast of the ruff (*Acerina cernua*) lateral line. *Comparative Biochemistry and Physiology Part A: Physiology*, 102(1), 19–26. 87
- Wubbels, R. J. (1991). Phase reversal in the lateral line of the ruff (*Acerina Cernua.*) as cue for directional sensitivity. *Comparative Biochemistry and Physiology*, 100A(3), 571–573. 182, 278
- Wubbels, R. J., Kroese, A., & Duifhuis, H. (1990). Afferent bursting activity of ruff lateral line induced by background noise stimulation. *Journal of Comparative Physiology A*, 166, 585–588. 91
- Yan, G.-H., Chen, Z.-F., & Sun, J.-C. (2009). Using a linear array to estimate the velocity of underwater moving targets. *Journal of Marine Science and Application*, 8, 343–347. 20
- Yang, Y., Chen, J., Engel, J., Pandya, S., Chen, N., Tucker, C., Coombs, S., Jones, D. L., & Liu, C. (2006). Distant touch hydrodynamic imaging with an artificial lateral line. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 103(50), 18891–18895. 20, 33, 34, 262
- Yang, Y., Nguyen, N., Chen, N., Lockwood, M., Tucker, C., Hu, H., Bleckmann, H., Liu, C., & Jones, D. L. (2010). Artificial lateral line with biomimetic neuromasts to emulate fish sensing. *Bioinspiration & Biomimetics*, 5, 1–9. 33
- Zhou, Z. & Liu, Z. (2008). Biomimetic Cilia Based on MEMS Technology. *Journal of Bionic Engineering*, 5, 358–365. 32