

**Antwortverhalten von medullären
Seitenlinienneuronen
auf Wirbelstraßen in laminarer und turbulenter
Strömung**

DISSERTATION

zur

Erlangung des Doktorgrades (Dr. rer. nat.)

der

Mathematisch-Naturwissenschaftlichen Fakultät

der

Rheinischen Friedrich-Wilhelms-Universität Bonn

vorgelegt von

JAN WINKELNKEMPER

aus

Köln

Bonn 2018

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: 16.07.2018
Erscheinungsjahr: 2018

Zusammenfassung

Die mechanosensorische Seitenlinie ermöglicht Fischen Wasserbewegungen und Druckgradienten zu detektieren. Die kleinste funktionelle Einheit der Seitenlinie ist der Neuromast. Auf der Hautoberfläche sitzen Oberflächenneuromasten und Kanalneuromasten befinden sich in den Seitenlinienkanälen. Neuromasten sind aus Haarsinneszellen aufgebaut, die von einer gelartigen Kupula überzogen sind. Die Kupula wird durch die mechanischen Kräfte der Wasserbewegungen verformt, was zu einer Auslenkung der Haarsinneszellen führt. Stationäre Objekte in einer Strömung erzeugen turbulente Verwirbelungen. Bei zylindrischen Objekten erfolgt die Wirbelbildung oft in stabiler und regelmäßiger Abfolge, sie wird dann Kármánsche Wirbelstraße genannt. Charakteristisch ist die Abfolge der Wirbel, die sich abwechselnd von jeder Seite eines umströmten zylindrischen Objektes mit entgegengesetztem Drehsinn ablösen. Die Wirbelinformationen können von Fischen beispielsweise für eine effiziente Lokomotion in einer Strömung, das Aufspüren von Artgenossen, Beute und das Verfolgen hydrodynamischen Spuren genutzt werden. Elektrophysiologische Untersuchungen mit Wirbelstraßen erfolgten bisher meist mit einer möglichst ungestörten und intensiven Stimulation, die durch vergleichsweise nah am Fisch positionierte Zylinder erreicht wurde. Die vorliegende Arbeit hat die Sensitivität von MON Neuronen auf eine Veränderung des Abstands zwischen Fisch und Zylinder in Strömungsrichtung untersucht und gezeigt, dass MON Neurone mit einer Abnahme ihrer Spikerate reagieren können. Die relative Peakamplitude der aufgezeichneten MON Neuron Population fällt mit steigender Zylinderdistanz signifikant ab. Das natürliche Habitat der Fische wird vermutlich fast immer von abiotischen und/oder biotischen Quellen beeinflusst. Fische müssen jedoch zu jeder Zeit in der Lage sein, wichtige Informationen innerhalb eines komplexen Umfeldes herauszufiltern. Aus diesem Grund befasst sich ein weiterer Teil dieser Arbeit mit der Wahrnehmung von hydrodynamischen Reizen in turbulenter Strömung. Es wurde gezeigt, dass MON Neurone auch unter turbulenten Strömungsverhältnissen Informationen einer Wirbelstraße abbilden können.

Inhaltsverzeichnis

Zusammenfassung	3
Inhaltsverzeichnis	4
Abbildungsverzeichnis	6
Abkürzungsverzeichnis	8
1 Einleitung	9
1.1 Das periphere Seitenliniensystem	9
1.2 Das zentrale Seitenliniensystem	11
1.3 Hydrodynamische Wahrnehmung und Verarbeitung	14
1.3.1 Kármánsche Wirbelstraße	14
1.3.2 Nutzen von Wirbelinformationen	15
1.3.3 Physiologische Untersuchungen	15
1.4 Turbulente Strömungen	16
1.4.1 Turbulenzerzeugung und -eigenschaften	17
2 Material & Methoden	19
2.1 Elektrophysiologische Ableitungen von MON-Neuronen	19
2.1.1 Versuchstiere	19
2.1.2 Versuchsvorbereitung und Präparation	19
2.1.3 Versuchsaufbau	20
2.1.4 Elektrophysiologische Ableitungen	22
2.1.5 Stimulation	23
2.1.6 Ablauf der Experimente	25
2.1.7 Lokalisation der Ableitstelle	27
2.1.8 Auswertung	27
2.2 Particle Image Velocimetry (PIV)	30
2.2.1 Aufbau	30
2.2.2 Kalibrierung	31
2.2.3 Berechnungen mit PIV-Daten	32
3 Ergebnisse	35
3.1 Ableitungsorte	35
3.2 Wirbelstraße	36
3.3 Distanz zwischen Fisch und Zylinder	37

3.3.1 PIV	37
3.3.2 Elektrophysiologische Aufnahmen	41
3.4 Turbulente Strömung	55
3.4.1 PIV	55
3.4.2 Elektrophysiologische Aufnahmen	64
4 Diskussion	73
4.1 MON-Neurone	73
4.2 Zylinderdistanz	73
4.2.1 Strömungswahrnehmung	73
4.2.2 Strömungsgeschwindigkeit	74
4.2.3 Spikerate	75
4.2.4 Entladungsmuster	75
4.3 Turbulente Strömung	77
4.3.1 KG und ZG	77
4.3.2 Spikeraten	78
4.3.3 Entladungsmuster	79
4.4 Fazit	80
Literaturverzeichnis	81
Anhang	86
Publikationen	89

Abbildungsverzeichnis

Abb. 1.1: Aufbau und Funktion von Neuromasten.....	10
Abb. 1.2: Anatomischer Aufbau des ZNS und des MON.	12
Abb. 2.1: Experimentelle Bedingungen.....	21
Abb. 2.2: Datenanalyse.....	29
Abb. 2.3: Schematische Darstellung des PIV Setups.	30
Abb. 2.4: Nachbereitung der PIV Aufnahmen	31
Abb. 2.5: Kalibrierung de Strömungsgeschwindigkeit.....	32
Abb. 3.1: Ableitungsorte.....	35
Abb. 3.2: Wirbelstraße.....	36
Abb. 3.3: Vergleich der Strömung ohne und mit Zylinder.....	38
Abb. 3.4: PIV Daten der Wirbelstraße.....	39
Abb. 3.5: Intensitätsverlust der Wirbelstraße bei steigender Zylinderdistanz.	40
Abb. 3.6: Anzahl vollständiger experimenteller Durchgänge und Verteilung der rezeptiven Felder	41
Abb. 3.7: Burstartiges Antwortverhalten einer MON Unit.	42
Abb. 3.8: Spikeraten der MON Neurone	45
Abb. 3.9: Beispiel einer nicht auf die Wirbelstraße reagierenden MON Unit.	48
Abb. 3.10: Beispiel einer auf die Wirbelstraße reagierenden MON Unit...49	
Abb. 3.11: Beispiel einer auf die Wirbelstraße reagierenden MON Unit...50	
Abb. 3.12: Peak Verteilung bei unterschiedlichen Strömungsgeschwindigkeiten.	51
Abb. 3.13: Peakzahl und Peakamplituden der Autokorrelationskurven.	52
Abb. 3.14: Korrelation von neuronalen Daten und PIV.	54
Abb. 3.15: Strömungseigenschaften mit und ohne KG.	56
Abb. 3.16 RMS-Werte des Strömungsfeldes mit und ohne KG.....	57
Abb. 3.17 mittlere Strömungsgeschwindigkeit und RMS-Werte der Strömungsfluktuationen hinter dem ZG.	60
Abb. 3.18 Einfluss des ZG auf die Entstehung einer KVS.....	61
Abb. 3.19 Mittlere Strömungsgeschwindigkeiten (A, C, E) und RMS- Werte (B, D, F) bei Zylinderpräsentation.	62
Abb. 3.20 KVS in laminarer und turbulenter Strömung.....	63
Abb. 3.21: Anzahl vollständiger experimenteller Durchgänge und Verteilung der rezeptiven Felder	64

Abb. 3.22: Spikeraten der MON Neurone.	65
Abb. 3.23: Beispiel einer nicht auf die Wirbelstraße reagierenden MON Unit.	68
Abb. 3.24: Beispiel einer auf die Wirbelstraße reagierenden MON Unit...	69
Abb. 3.25: Beispiel einer auf die Wirbelstraße reagierenden MON Unit...	70
Abb. 3.26: Peak Verteilung bei unterschiedlichen Versuchsbedingungen.	71
Abb. 3.27: Peakzahl und Peakamplituden der Autokorrelationskurven.	72

Abkürzungsverzeichnis

AK	Autokorrelation
ALLN	Anterior Lateral Line Nerve
CCL	Crest Cell Layer
DC	Directed Current
DNp	Deep Neuropil Layer
FFT	Fast Fourier Transform
ISI	Inter-Spike-Intervall
KG	Kreuzgitter
KN	Kanalneuromast
KVS	Kármán Vortex Street, Kármán Vortex Street
ML	Molecular Layer
MON	Medial Octavolateral Nucleus
ON	Oberflächenneuromast
PFA	Paraformaldehyd
PLLN	Posterior Lateral Line Nerve
Re	Reynolds Zahl
RMS	Root Mean Square (Effektivwert)
St	Strouhal Zahl
TI	Turbulenzintensität
TS	Torus Semicircularis
TZ	Transitional Zone
VSD	Vortex Shedding Delay
VSF	Vortex Shedding Frequency
WDF	Wahrscheinlichkeitsdichtefunktion
ZG	Zylindergitter
ZNS	Zentrales Nervensystem

1 Einleitung

Die mechanosensorische Seitenlinie ermöglicht Fischen und einigen aquatisch lebenden Amphibien kleinste Wasserbewegungen und Druckgradienten zu detektieren (Bleckmann, Mogdans, Engelmann, Kröther, & Hanke 2004). Sie ist essentiell für die Wahrnehmung ihrer hydrodynamischen Umwelt und stellt die Grundlage für eine Vielzahl von Verhaltensweisen dar (Bleckmann 1993). Das Seitenliniensystem ermöglicht Fischen das Navigieren und das Aufspüren von Invertebraten und Vertebraten (Vogel & Bleckmann 1997). Darüber hinaus nutzen Fische die Seitenlinie, um Räubern auszuweichen, zur Schwarmbildung und innerartlichen Kommunikation, zur Rheotaxis und um ihre Position in einer Strömung zu halten (Bleckmann 1994; Liao 2007).

1.1 Das periphere Seitenliniensystem

Die kleinste funktionelle Einheit der Seitenlinie ist der Neuromast. Es gibt zwei Typen von Neuromasten: Oberflächenneuromasten (ON), die sich frei auf der Haut von Kopf, Rumpf und Schwanzflosse des Fisches befinden, und Kanalneuromasten (KN), die sich in Seitenlinienkanälen befinden. Obwohl ON und KN unterschiedliche Stimulustypen detektieren, teilen sie eine gemeinsame Basisstruktur (Abb. 1.1). Sie sind aus Haarsinneszellen aufgebaut, die von einer gelartigen Kupula überzogen sind. Die Kupula kann verschiedene Eigenschaften (z.B. Größe, Form oder Festigkeit) je nach Körperregion und/oder Spezies haben (Webb 2014). Während ON aus dutzenden Haarsinneszellen bestehen können, können KN bis zu mehrere tausend Haarsinneszellen haben (Bleckmann et al. 2004). Jede Haarsinneszelle trägt ein einzelnes, apikal liegendes Kinozilium und eine Vielzahl von Stereovilli, die mit größerem Abstand zum Kinozilium kleiner werden (Abb. 1.1). Jeder Neuromast besteht aus zwei entgegengesetzt angeordneten Populationen von Haarsinneszellen, die parallel zu Hauptachse des Neuromasts ausgerichtet sind. Diese Anordnung bewirkt eine bidirektionale Sensitivität eines jeden Neuromasts. ON auf dem Rumpf des Fisches sind meist parallel oder senkrecht zur Längsachse des Fisches ausgerichtet. Somit erfolgt die

Stimulusdetektion vorwiegend entlang der rostro-caudalen Achse des Fisches (Schmitz et al. 2008).

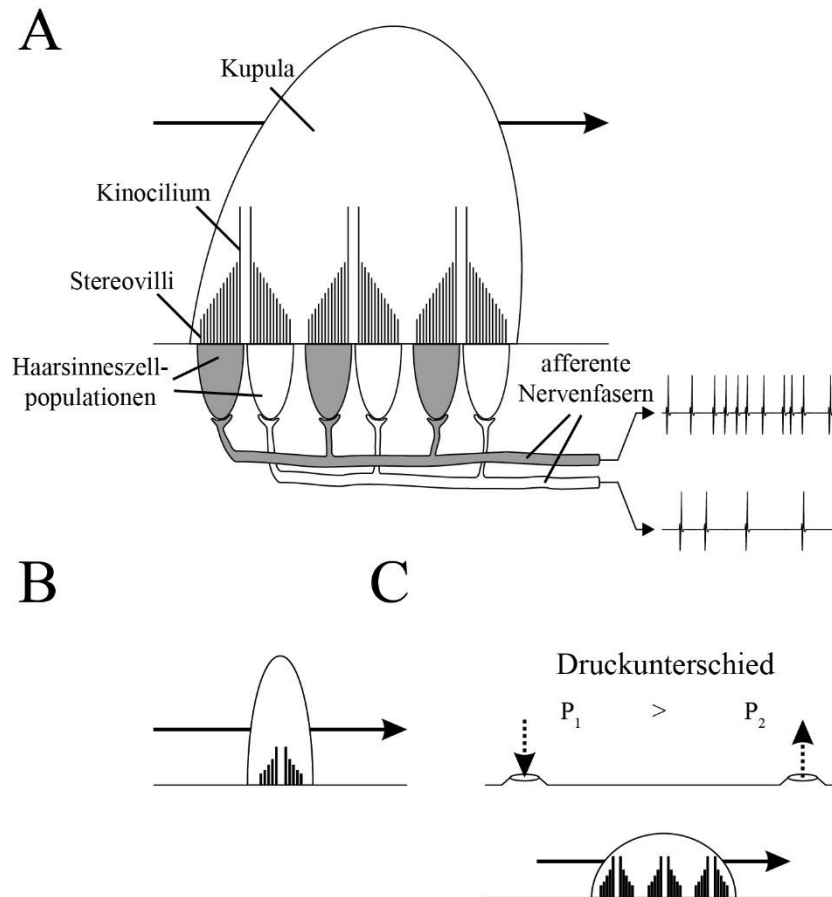


Abb. 1.1: **Aufbau und Funktion von Neuromasten.** **A:** Detailansicht eines ausgelenkten Neuromasten mit zwei entgegengesetzt ausgerichteten Haarsinneszellpopulationen (grau und weiß dargestellt). Eine Auslenkung der Stereovilli in Richtung des Kinociliums bewirkt eine Depolarisation des Rezeptorpotentials (graue Population), eine entgegengesetzte Auslenkung eine Hyperpolarisation (weiße Population). Afferente Nervenfasern leiten die jeweiligen Informationen zum ZNS. **B:** Oberflächenneuromasten sitzen frei auf der Fischeoberfläche und messen die Geschwindigkeitskomponente der Strömung. **C:** Kanalneuromasten reagieren auf die Fluidbewegung innerhalb des Seitenlinienkanal, welche durch einen Druckunterschied zwischen zwei Poren erzeugt wird. Die Fluidbewegung erfolgt in Richtung des geringeren Drucks. Verändert nach Herzog 2016.

Die Haarsinneszellen werden von afferenten und efferenten Nervenfasern innerviert. Erstere innervieren stets einzelne KN, können jedoch mehrere nahe beieinanderliegende ON gleichzeitig innervieren. Innerhalb eines Neuromasten innervieren afferente Nervenfasern nur Haarsinneszellen gleicher Orientierung (Abb. 1.1) (Engelmann et al. 2002). Wasserbewegungen bewirken eine Verformung oder Bewegung der Kupula, die zu einer Auslenkung der Stereovilli führt. Eine Auslenkung in Richtung zum Kinocilium bewirkt eine Depolarisation, eine entgegengesetzte Auslenkung eine Hyperpolarisation des Membranpotentials.

ON und KN messen unterschiedliche Komponenten der Wasserbewegungen. ON nehmen die Wasserbewegungen direkt wahr, da sie sich frei auf der Körperoberfläche des Fisches befinden. Sie antworten proportional zur Geschwindigkeit der Wasserbewegung. Nahe der Oberfläche des Fisches entsteht aufgrund der Viskosität des Wassers eine Grenzschicht, in der das Wasser langsamer fließt als außerhalb der Grenzschicht. Diese Grenzschicht wirkt wie ein Hochpassfilter, der die Antwort auf niederfrequente Stimuli abschwächt (McHenry et al. 2008). Weiterhin entsteht ein Tiefpassfilter durch das Übertragen des Stimulus vom Fluid auf die Kupula des Neuromasten, wobei die mechanischen Eigenschaften der Kupula maßgeblich entscheidend sind (McHenry and van Netten 2007). Zusammengenommen entsteht durch die physikalischen Eigenschaften von Fluid, Fisch und Rezeptor ein Bandpassfilter, der den Arbeitsbereich von ON zwischen >1 Hz und ca. 150 Hz definiert (Bleckmann 2008).

Im Gegensatz zu ON erfolgt die Detektion bei KN indirekt. KN befinden sich in Seitenlinienkanälen, die geschlossene Röhren unterhalb der Fischeoberfläche bilden. Die Verbindung zum umgebenden Wasser besteht aus einzelnen Poren, wobei sich ein KN jeweils zwischen zwei Poren befindet. Der Kanal selbst ist mit einer viskosen Flüssigkeit gefüllt, die sich unabhängig von der Strömungsgeschwindigkeit des umgebenden Wassers bewegt. Jedoch erzeugt eine Beschleunigung des Wassers Druckgradienten zwischen zwei Poren, was eine Bewegung des Kanalfluids in Richtung des geringen Drucks und damit eine Auslenkung der Kupula des KN bewirkt. KN messen also auch Geschwindigkeiten, wobei die Geschwindigkeit des Kanalfluids proportional zur Beschleunigung des umgebenden Wassers ist. Im Gegensatz zu der langen Kupula eines ON ist die Kupula eines KN sehr kurz und verhält sich als schwingender Körper. Die Kombination der hydrodynamischen Eigenschaften der Seitenlinienkanäle und der KN-Kupula fungiert als Tiefpassfilter für Druckgradienten zwischen zwei Kanalporen und bewirkt eine konstante Sensitivität für Wasserbeschleunigungen (van Netten 2006).

1.2 Das zentrale Seitenliniensystem

Primäre afferente Seitenlinienfasern transportieren die sensorischen Informationen der Haarsinneszellen zum zentralen Nervensystem (ZNS). Aufgrund ihrer Antwortereigenschaften können Typ 1 und Typ 2 Fasern unterschieden werden.

Ableitungen am posterioren Seitenliniennerv (PLLN) unter Still- und Fließwasserbedingungen haben gezeigt, dass Typ 1 Afferenzen

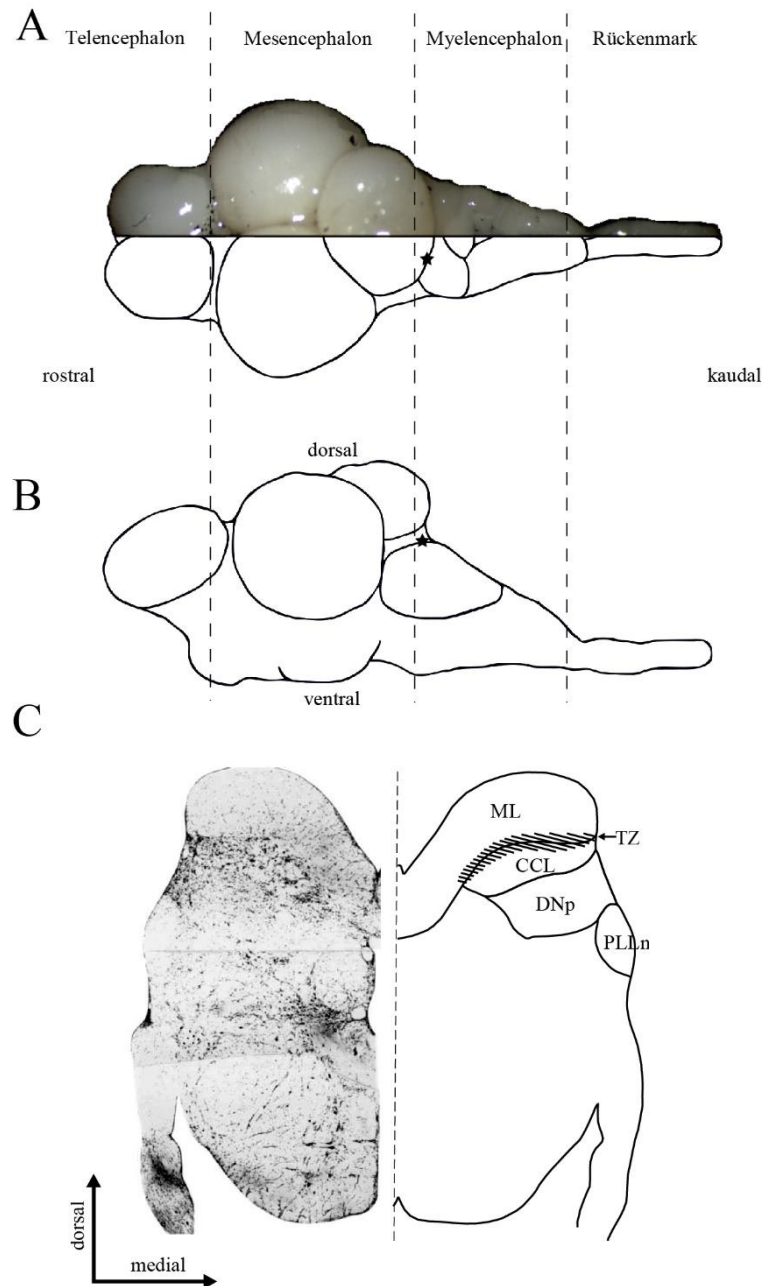


Abb. 1.2: **Anatomischer Aufbau des ZNS und des MON.** Aufsicht (A) und seitliche Ansicht (B) eines Rotfeder Gehirns mit einer Einteilung in Telencephalon, Mesencephalon, Myelencephalon und Rückenmark. Zur Verdeutlichung wurde das Foto in eine schematische Darstellung übertragen. Die Position des MON wird durch die schwarzen Sterne markiert. C: Hirnstamm eines Goldfisches (*C. auratus*). Links: Cresyl-violett gefärbter Querschnitt. Rechts: schematische Darstellung dieses Querschnittes mit Teilgebieten des MON. 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 und Herzog 2016)

ON innervieren, während Typ 2 Afferenzen KN innervieren (Engelmann et al. 2002).

Die Informationen der Seitenlinie werden von mindestens drei einzelnen Seitenliniennerven, die hauptsächlich in die Medulla oblongata projizieren, fortgeleitet: dorsaler und ventraler kopffinnervierender Seitenliniennerv (ALLN) und der rumpffinnervierende Seitenliniennerv (PLLN) des Fischkörpers.

Afferente Nervenfasern der Seitenlinie enden im medialen oktavolateralen Nucleus (MON) der Medulla. Dieser Nucleus stellt die erste Verarbeitungsstation der sensorischen Informationen in der aufsteigenden Seitenlinienbahn dar (Wullimann and Grothe 2013). Der MON liegt in der dorsolateralen Medulla (Abb. 1.2). Nach New et al. (1996) lässt sich der MON in ein tiefes Neuropil (DNp), eine Crestzellschicht (CCL), eine Molekularschicht (ML) und eine Übergangszone (TZ) zwischen CCL und ML einteilen (Abb. 1.2, C). Im DNp findet die Verschaltung der primären Afferenzen auf zentrale Neurone statt, wobei die Soma und Axone der zentralen Neurone überwiegend in der CCL liegen. Die Axone dieser Neurone verlassen den MON und projizieren überwiegend in den kontralateralen Torus semicircularis (TS) und von dort über das Diencephalon in spezialisierte Kerngebiete des Telencephalons.

Im Vergleich zu primären Afferenzen zeigen zentrale Seitenliniennurone im MON eine geringere Spontanaktivität (Coombs, 1998) und ein höheres Maß an Adaptation. Während primäre Seitenlinienafferenzen auf einen Reiz mit einer Erhöhung der Spikerate reagieren (Görner 1963), können MON Neurone auf einen Reiz sowohl mit einer Erhöhung als auch mit einer Verringerung ihrer Spikerate reagieren (Kröther et al. 2002; Künzel et al. 2011). Im Gegensatz zu primären Afferenzen reagieren viele MON Neurone weniger sensitiv auf einen Stimulus, der mit einer vibrierenden Kugel (Dipol Stimulus) erzeugt wurde (Coombs et al. 1998; Künzel et al. 2011).

Es gibt mindestens zwei Typen von MON Neuronen: Strömungssensitive und strömungsinsensitive MON Neurone. Es ist wahrscheinlich, dass erstere von ON innerviert werden (Typ I Fasern), wohingegen letztere von Typ II Fasern innerviert werden, die KN-Informationen übermitteln (Engelmann et al. 2002).

Eine mögliche Funktion des MON ist das Filtern von selbst induziertem hydrodynamischem Rauschen durch eigene Bewegungen oder die Atmung des Fisches (Montgomery and Bodznick 1994; Webb et al. 2008).

1.3 Hydrodynamische Wahrnehmung und Verarbeitung

Für Untersuchungen der Seitenlinie und deren neuronaler Informationsverarbeitung wurden Fische verschiedener Arten in der Vergangenheit größtenteils mit sinusförmigen Wasserbewegungen, die von einer vibrierenden Kugel generiert wurden, oder mit kleinen Objekten, die seitlich am Fisch vorbei bewegt wurden, stimuliert (Reviews: Bleckmann & Mogdans, 2014; Bleckmann, 2008). In der natürlichen Umgebung sind Wirbel ein biologisch relevanter Stimulus, dem sowohl limnophile als auch rheophile Fische ausgesetzt sind.

1.3.1 Kármánsche Wirbelstraße

Wann immer eine Wasserströmung ein stationäres Objekt, wie beispielsweise Steine oder Äste, umströmt, entstehen turbulente Verwirbelungen. Handelt es sich um ein zylindrisches Objekt, entstehen dabei im Allgemeinen vier bestimmte Mikro-Habitate: gleichmäßige Strömung (uniform flow), Bugwelle (bow wake), Zog Region (suction region) und Wirbelstraße (Liao 2007a). Erfolgt die Wirbelbildung in stabiler und regelmäßiger Abfolge, wird die Wirbelstraße Kármánsche Wirbelstraße (KVS) genannt. Die KVS wird durch die Abfolge der Wirbel, die sich abwechselnd von jeder Seite eines umströmten zylindrischen Objektes mit entgegengesetztem Drehsinn ablösen, charakterisiert. Zylinder, die der Länge nach halbiert wurden (D-Zylinder), begünstigen eine scharfe Wirbelablösung (Blevins 1990). Die Wirbelbildung ist außerdem abhängig von der Reynolds Zahl (Re), welche die Strömungseigenschaften, wie zum Beispiel den Wechsel von laminarer zu turbulenter Strömung, beschreibt. Die Reynolds Zahl wird definiert durch die Strömungsgeschwindigkeit, den Rohrdurchmesser und die Dichte und Viskosität des Wassers (siehe Formel 2.1). Bei $Re > 140$ entsteht eine KVS, es lösen sich hinter einem Zylinder abwechselnd Wirbel mit entgegengesetztem Drehsinn ab.

Die Frequenz, mit der sich die Wirbel ablösen, wird Wirbelablösefrequenz (englisch: vortex shedding frequency, VSF) genannt. Die VSF ist eine Funktion der Strouhal Zahl (St), dem Durchmesser des zylindrischen Objektes und der Strömungsgeschwindigkeit (Vogel 1996; siehe Formel 2.2). Die Strouhal Zahl ist abhängig von der Reynolds Zahl und bleibt bei $Re > 150$ nahezu konstant ($St=0,2$; Vogel 1996). Folglich kann die VSF entweder durch Veränderung des Objektdurchmessers oder durch Veränderung der Strömungsgeschwindigkeit variiert werden. Allerdings lässt sich eine Veränderung der

Wellenlänge, die Wirbelgröße und –abstand beschreibt, nur durch Veränderung des Objektdurchmessers erreichen (Liao 2003).

1.3.2 Nutzen von Wirbelinformationen

In einer Strömung zeigen Wirbel die Existenz eines stromaufwärts befindlichen Objektes an (Liao 2007). Ist die Strömungsgeschwindigkeit bekannt, lässt sich über die Wirbelablösefrequenz (VSF) die Größe des die Wirbel erzeugenden Objektes ermitteln (Klein and Bleckmann 2011). Darüber hinaus können rheophile Fische Wirbelinformationen für eine effiziente Lokomotion in einer Strömung nutzen (Liao 2007; Przybilla et al. 2010). Sowohl im Still- als auch im Fließwasser hinterlassen wellenförmig schwimmende Fische stets Wirbel. Diese Wirbel enthalten nicht nur Informationen über die Schlagfrequenz des Fisches, sondern auch über dessen Schwimgeschwindigkeit und Schwimmrichtung (Hanke et al. 2000; Hanke & Bleckmann 2004). Demzufolge können Tiere, die Wirbeln begegnen, die Wirbelinformationen für das Aufspüren von Artgenossen (Breder 1965), Beute (Pohlmann et al. 2004; Dehnhardt et al. 2014) und das Verfolgen hydrodynamischen Spuren nutzen (Dehnhardt et al. 2001; Pohlmann 2004).

1.3.3 Physiologische Untersuchungen

Angesichts der großen Bedeutung von Wirbeln für das Verhalten der Fische wurde begonnen, die Wahrnehmung und Verarbeitung von Wirbeln auch physiologisch zu untersuchen, indem zunächst von primären Afferenzen abgeleitet wurde. Dabei erfolgte die Stimulation entweder durch einen einzelnen Wirbelring (Chagnaud et al. 2006) oder mit Wirbeln, die mit Hilfe eines stromaufwärts angebrachten Zylinders erzeugt wurden (Chagnaud et al. 2007a; Klein et al. 2015). Seitenlinienafferenzen können sowohl auf die Stimulation mit einer Wasserströmung (Voigt et al. 2000), als auch auf Wirbel, die sich mit der Hauptströmung bewegen (Chagnaud et al. 2007a), mit einer erhöhten Spikerate reagieren. Darüber hinaus kodieren sie die Richtung von Wasserbewegungen innerhalb eines Wirbelrings (Chagnaud et al. 2006). Stimuliert man die Seitenlinie mit einer Wirbelstraße, gipfelt die Frequenz der Pulsfolge der Spikes bei der Wirbelablösefrequenz (Chagnaud et al. 2007a).

Im Gegensatz zu primären Afferenzen können MON-Neurone entweder mit einer Erhöhung oder einer Erniedrigung ihrer neuronalen Aktivität auf eine Wasserströmung reagieren (Chagnaud et al., 2008). Viele MON-Neurone reagieren auf die Wirbel, die von einem stromaufwärts vorhandenen Zylinder erzeugt wurden (Klein et al. 2015). In bisherigen Studien wurden Zylinder mit unterschiedlichen Durchmessern verwendet, um Kármánsche Wirbelstraßen zu erzeugen (Klein et al. 2015). Bei konstanter Fließgeschwindigkeit haben KVS, die durch Zylinder mit unterschiedlichem Durchmesser erzeugt wurden, verschiedene VSF. Dies führt zu unterschiedlichen neuronalen Antworten. Darüber hinaus wurde die Position des Zylinders senkrecht zur Strömungsrichtung variiert, um zu untersuchen, ob und wie eine Positionsveränderung die neuronalen Antworten verändert. Sowohl primäre Afferenzen (Chagnaud et al. 2007a) als auch medulläre Seitenlinienneurone (Klein et al. 2015) reagierten besonders stark, wenn der äußeren Rand der Wirbelstraße genau auf die Flanke des Fisches traf.

Alle weiter oben zitierten Arbeiten, die das Antwortverhalten von primären Seitenlinienafferenzen oder MON-Neuronen beschreiben, wurden unter idealisierten Laborbedingungen durchgeführt. Für Fließwasserversuche wurde das Wasser vor und hinter dem Versuchsbereich durch Kollimatoren geleitet, um Turbulenzen auf ein Minimum zu reduzieren (Chagnaud et al. 2007a; Yang et al. 2011; Klein and Bleckmann 2011; Klein et al. 2015). Innerhalb von diesem quasi-laminaren Strömungsfeld befand sich der Zylinder in der Regel vergleichsweise nah vor dem Fisch, sodass eine möglichst ungestörte und intensive Stimulation durch die entstehende Wirbelstraße erfolgen konnte. Die Sensitivität von MON Neuronen auf eine Veränderung des Abstands zwischen Fisch und Zylinder in Strömungsrichtung wurde bislang noch nicht beschrieben und soll daher in dieser Arbeit genauer untersucht werden.

1.4 Turbulente Strömungen

Im natürlichen Habitat der Fische kommen die oben beschriebenen idealisierten Laborbedingungen nicht vor. Das Strömungsfeld wird vermutlich fast immer von abiotischen und/oder biotischen Quellen verändert. Die Fische müssen jedoch zu jeder Zeit in der Lage sein, wichtige Informationen innerhalb eines komplexen Umfeldes

herauszufiltern. Aus diesem Grund befasst sich ein weiterer Teil dieser Arbeit mit der Wahrnehmung von hydrodynamischen Reizen in turbulenter Strömung.

1.4.1 Turbulenzerzeugung und -eigenschaften

Paradoxerweise werden Gitter in Strömungsuntersuchungen sowohl für die Erzeugung als auch für die Reduzierung von Turbulenzen verwendet (Roach 1986). Unabhängig vom gewünschten Effekt entsteht zwangsläufig ein Druckabfall entlang des Gitters, welcher die Effektivität der Installation limitiert. Die Beschreibung dieses Druckabfalls, sowie der stromabwärts-Turbulenzen ist somit besonders wichtig für das zweckmäßige Nutzen des Gitters.

Platziert man ein Gitter in eine gleichgerichtete Strömung, lässt sich der Effekt des Gitters auf die Strömung aufteilen: einen Manipulationseffekt und einen Welleneffekt (Roach 1986). Während durch den Manipulationseffekt Turbulenzen stromaufwärts des Gitters verstärkt oder abgeschwächt werden, erzeugt der Welleneffekt turbulente Energie im stromabwärts liegenden Strömungsfeld. Diese beiden Effekte interagieren in komplexer Weise miteinander und erzeugen ein homogenes und isotropes stromabwärts-Strömungsfeld. Die erzeugte Turbulenzenergie klingt schnell ab, wobei die Größe der Verwirbelungen mit steigender stromabwärts-Distanz zunimmt. Die erzeugte turbulente Energie verhält sich direkt proportional zum Druckabfall über das Gitter (Roach 1986). Roach beschreibt weiterhin einige potentielle Probleme, die bei der Turbulenzerzeugung mit einem Gitter auftreten können, beispielsweise die Gittergröße oder Gittergeometrie, die Entstehung von Grenzschichten am Gitter oder an den Kanalwänden oder die Rauheit der Gitteroberfläche. Die Strömung kann erst nach einer bestimmten Distanz, die abhängig von Maschenweite und Durchmesser ist, als homogen angesehen werden (Roach 1986; Uijtewaal and Jirka 2003).

Eine Alternative zu Gittern mit kreuzförmigen Maschen sind nebeneinander positionierte und vertikal ausgerichtete Zylinder. Diese können in verschiedenen Kombinationen genutzt werden, um ein turbulentes Strömungsfeld zu erzeugen (Uijtewaal & Jirka 2003; Kerr et al. 2016; Stewert et al. 2016). Hinter jedem Zylinder entstehen Wirbelstraßen, die sich weiter stromabwärts miteinander verbinden und großflächige Verwirbelungen bilden können. Dabei ist das Auflösen der Wirbel mehr

vom Zylinderdurchmesser als vom Abstand zwischen den Zylindern abhängig (Uijtewaal & Jirka 2003).

2 Material & Methoden

2.1 Elektrophysiologische Ableitungen von MON-Neuronen

2.1.1 Versuchstiere

Für die Experimente wurden 48 Rotfedern, *Scardinius erythrophthalmus*, mit einer Körperlänge von 6 – 12 cm verwendet. Die Fische wurden bei regionalen Händlern erworben und in 300 l Frischwasseraquarien gehalten (Tag-Nacht-Zyklus 12:12 Stunden). In jedem Aquarium befanden sich eine Versteckmöglichkeit und eine Filterpumpe. Die Fische wurden täglich gefüttert.

2.1.2 Versuchsvorbereitung und Präparation

Eine Rotfeder wurde vorsichtig mit einem großen Becherglas gefangen, um die Seitenlinie vor möglichen Verletzungen durch einen Kescher zu schützen. Der Fisch wurde mit Tricain Methansulfonat (MS-222; c = 2.5 %; V=2.5-4.5ml in 500ml Wasser) betäubt. Durch eine beidseitige Injektion von Pancuroniumbromid (Inresa Arzneimittel GmbH Freiburg; v = 100-250 µl; Verdünnung 1:10) in die lateralen Muskeln kurz unterhalb der Rückenflosse wurde der Fisch immobilisiert. Der Fisch wurde danach mit zwei Schrauben an einem Edelstahl-Fischhalter, welcher ebenfalls für die künstliche Beatmung mit Frischwasser genutzt wurde, befestigt. Die Epidermis des kaudalen Teils des Kopfes wurde mit Bupivacain (Jenapharm mibe GmbH Arzneimittel Brehna; v = 150-250 µl; c = 0.5 %) örtlich betäubt. Der restliche Körper des Fisches wurde mit einem feuchten Tuch bedeckt, um eine Austrocknung zu vermeiden. Es wurde ein kleines Loch in den Schädel gebohrt (Proxon Micromot 50/E), mit einer feinen Schere vergrößert und Fettgewebe entfernt, um den Hirnstamm freizulegen. Das Cerebellum wurde leicht nach rostral verschoben und dort mit einem Stückchen Watte zwischen dem Cerebellum und dem Schädel fixiert. Anschließend wurde ein Gelatine-Schwamm (Gelastyp resorbable haemostatic Gelatine-Schwamm, Ferrosan Medical Devices A/S) genutzt, um die Schädelöffnung vorübergehend zu verschließen. Während der gesamten Präparation wurde frische Ringerlösung (Zusammensetzung nach Hofmann 2010) wiederholt aufgetragen, um das Gehirn feucht und in einem physiologischen Zustand zu

halten. Ein Plastikzylinder (Durchmesser: 12 mm) wurde auf den Schädel geklebt (Pattex Ultra Gel; Henkel), um die Schädelöffnung vor dem Eindringen von Wasser zu schützen und gleichzeitig das vollständige Untertauchen des Fisches während des Experiments zu ermöglichen. Nachdem der Kleber ausgehärtet war, wurde der Gelatine-Schwamm entfernt, ein Faden an der Schwanzflosse des Fisches befestigt und der Fisch in den Versuchsaufbau überführt.

2.1.3 Versuchsaufbau

Ein selbstgebauter ringförmiger Fließwassertank (Abb. 2.1) (Abmessungen: 90 cm x 60 cm) mit einem Arbeitsbereich (Breite = 15 cm, Länge= 45 cm; Höhe = 13 cm) im vorderen Teil wurde für die Versuche benutzt. Der Fließwassertank wurde mit Gummipuffern auf einem Grundgestell befestigt. In der Mitte des Grundgestells befand sich ein luftgefederter Tisch (Technical Manufacturing Corporation TMC Peabody MA USA). Die Wasserströmung wurde mit einem Propeller, der sich auf der gegenüber liegenden Seite des Arbeitsbereichs befand und ebenfalls am Grundgestell befestigt war, erzeugt. Der Motor des Propellers wurde mit einem Netzteil (Votcraft Labornetzgerät TNG 235) gesteuert, welches auch für die künstliche Beatmung des Fisches während des Experiments genutzt wurde. Die Aufnahmeelektrode (Metallelektrode nach Dowben and Rose, 1953) und ein Vorverstärker (DAM80 Probe) wurden auf einem dreiachsigen Mikromanipulator (HS-6 manual, Helmut Saur Laborbedarf) befestigt. Ein chlorierter Silberdraht (Durchmesser 2mm), der in der Nähe des Fisches ins Wasser eintauchte, diente als Referenzelektrode. Der Mikromanipulator und die Haltung des Fisches wurden auf dem luftgefederten Tisch positioniert. Der Fisch wurde 1 – 1,5 cm unterhalb der Wasseroberfläche mit dem Maul entgegen der Strömung im Arbeitsbereich positioniert. Der Arbeitsbereich wurde stromaufwärts und stromabwärts von zwei Kollimatoren begrenzt, um eine vergleichbare Wasserströmung zu erzeugen. Um passive Bewegungen des Fisches durch die Strömung oder die Stimulation zu vermeiden, wurde der Fisch mit einem Faden fest fixiert. Mit Ausnahme des Arbeitsbereichs wurden alle Bereiche des Fließwassertanks mit Plastikplatten und Schwammplatten bedeckt, um Oberflächenwellen zu reduzieren.

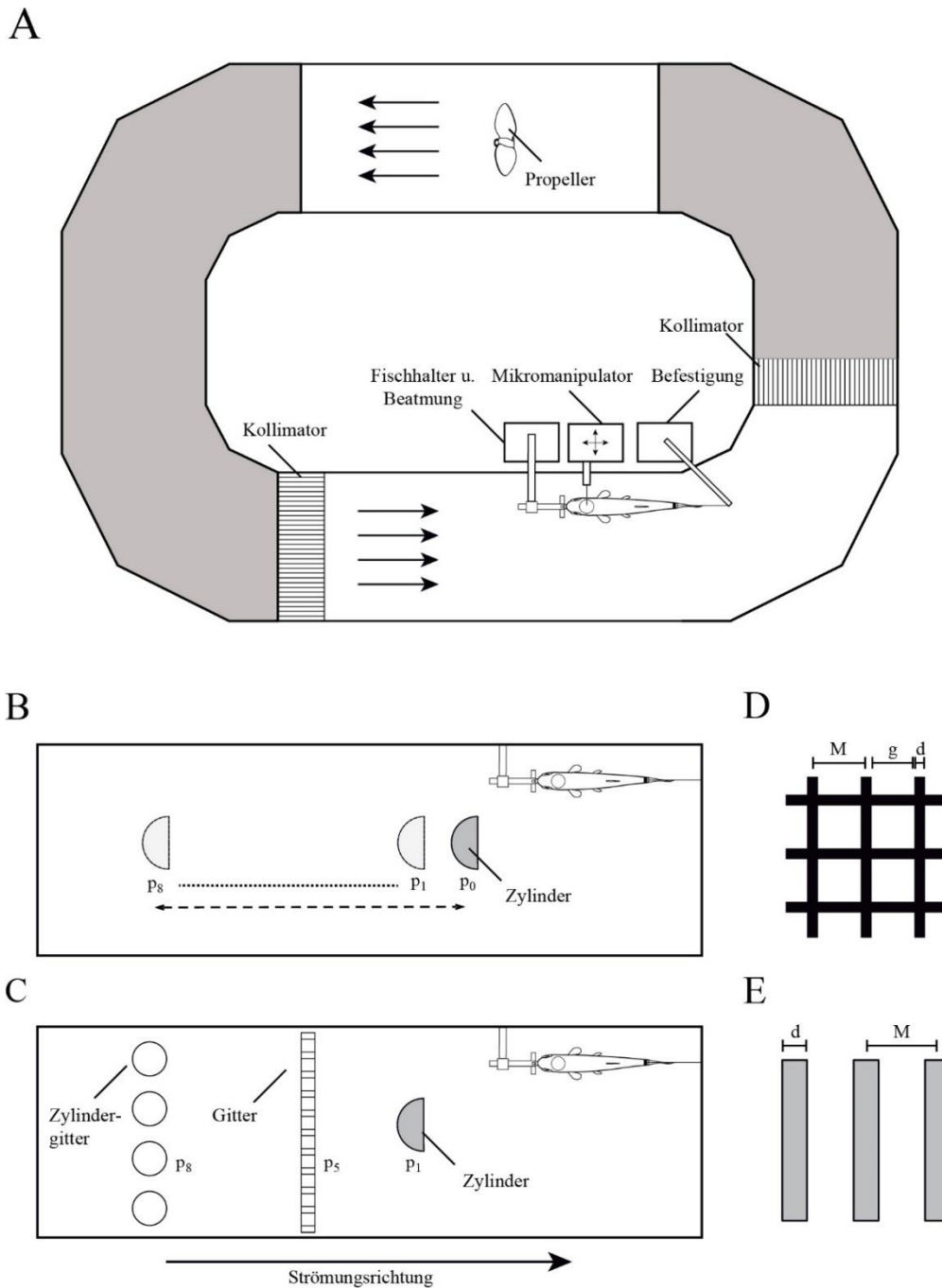


Abb. 2.1: **Experimentelle Bedingungen** **A:** Aufsicht des Rundströmungstanks. Zur Vermeidung von Oberflächenwellen wurde der Großteil des Kanals mit Kunststoffplatten und Filterschwämmen abgedeckt (grau markiert). Der Fisch wurde mit dem Kopf in Richtung der Strömung im Versuchsbereich, der von zwei Kollimatoren zur Generierung laminarer Strömungsverhältnisse eingeschlossen wurde, positioniert. **B:** Aufsicht des Versuchsbereichs der ersten Versuchsreihe, bei der der Zylinder an 9 verschiedenen Positionen präsentiert wurde (minimaler Abstand 10cm, maximaler Abstand 24cm; lateraler Abstand 3cm). **C:** Aufsicht des Versuchsbereichs der zweiten Versuchsreihe. Turbulente Strömungen wurden durch ein Kreuzgitter (**D**, frontale Ansicht; $M=15\text{mm}$, $g=10\text{mm}$, $d=5\text{mm}$,) oder ein Zylindergitter (**E**, frontale Ansicht; $M=35\text{mm}$, $d=16\text{mm}$,), welche jeweils entweder mit 18cm (p_5) oder 24cm (p_8) Abstand zum Fisch positioniert wurden, erzeugt. Verändert nach Herzog 2016.

2.1.4 Elektrophysiologische Ableitungen

Für die elektrophysiologischen Ableitungen von einzelnen MON-Zellen (nachfolgend als Unit bezeichnet) wurden selbst hergestellte metall-gefüllte Mikroelektroden (Dowben and Rose, 1953) mit Widerständen zwischen 0,5 und 1,5 M Ω verwendet (Glas GB150F-8P, Science Products; horizontal Puller P-97, Sutter instruments, Parameter: HEAT = 560, PULL = 5, VEL = 70, TIME = 240, für Ramp = 556). Alle Ableitungen wurden verstärkt (1000x, DAM80), gefiltert (50Hz Kerbfilter), akustisch wiedergegeben, analog-digital gewandelt (CED Power 1401, 10 kHz), mit der Software Spike2 (Version 7.02) aufgenommen und für eine offline Auswertung gespeichert.

Alle Antworten wurden, bezogen auf den Reiz, im ipsilaterale Myelencephalon abgeleitet. Alle Units wurden bei eingeschalteter Wasserströmung auf ihr Antwortverhalten geprüft. Eine Pipette wurde benutzt, um Test-Stimuli zu erzeugen. Die Pipette wurde entweder seitlich am Fisch entlang bewegt oder es wurden mit Hilfe der Pipette schwache, auf den Fisch gerichtete Wasserströme, erzeugt. Die Pipette wurde außerdem dazu benutzt, das rezeptive Feld einer Unit grob zu bestimmen. Units, die nicht auf die Strömung oder die Test-Stimuli reagierten, wurden nicht weiter untersucht. Reagierte eine Unit auf die Test-Stimuli, wurde geprüft, ob die Unit auch das auditorische und/oder vestibuläre Reize (Klopfen an die Wand des Tanks, Klatschen) antwortete. War dies nicht der Fall wurde das Reizprotokoll gestartet.

2.1.5 Stimulation

Strömungsgeschwindigkeit und Kármánsche Wirbelstraße

Kármánsche Wirbelstraßen wurden mit einem D-förmigen Halbzylinder (nachfolgend als Zylinder bezeichnet; Durchmesser 2 cm) erzeugt. Die Wirbelbildung ist abhängig von der Reynolds Zahl (Re), welche die Strömungseigenschaften, wie zum Beispiel den Wechsel von laminarer zu turbulenter Strömung, beschreibt. Die Re wird definiert durch die Strömungsgeschwindigkeit, den Rohrdurchmesser und die Dichte und Viskosität des Wassers (siehe Formel 2.1). Bei $Re > 140$ entsteht eine KVS, es lösen sich hinter einem Zylinder abwechselnd Wirbel mit entgegengesetztem Drehsinn ab. Die Reynolds Zahl kann nach Formel 2.1 berechnet werden.

$$Re = \frac{\rho \times l \times \bar{U}}{\eta} = \frac{l \times \bar{U}}{\nu} \quad (2.1)$$

Re = *Reynolds Zahl*

ρ = *Dichte von Wasser (0.998 kg*m⁻³)*

l = *charakteristische Länge (Trankbreite: 15cm)*

\bar{U} = *mittlere Strömungsgeschwindigkeit*

η = *dyamische Viskosität von Wasser (1.002 Pa*s⁻³)*

ν = *kinematische Viskosität von Wasser (0,0000159 m²/s)*

Die VSF ist eine Funktion der Strouhal-Zahl (St), dem Durchmesser des zylindrischen Objektes und der Strömungsgeschwindigkeit (Vogel 1996;) und wurde nach Formel 2.2 berechnet.

$$VSF = \frac{St \times U_a}{d} \quad (2.2)$$

VSF = *Wirbelablösefrequenz*

St = *Strouhal Zahl (0,2 bei Re > 150)*

U_a = *tatsächliche Strömungsgeschwindigkeit (PIV: 13.5 cm/s)*

d = *Objektdurchmesser (2cm)*

Die Strouhal-Zahl ist abhängig von der Reynolds-Zahl und bleibt bei Reynolds-Zahlen > 150 nahezu konstant ($St=0,2$; Vogel 1996). Folglich kann die VSF entweder durch Veränderung des Objektdurchmessers oder durch Veränderung der Strömungsgeschwindigkeit variiert werden. Die Wellenlänge, die Wirbelgröße und – abstand beschreibt, kann nach Formel 2.3 berechnet werden. Eine Veränderung kann nur durch die Veränderung des Objektdurchmessers erreicht werden (Liao 2003).

$$\lambda = \frac{v}{f} \tag{2.3}$$

λ = Wellenlänge

v = Strömungsgeschwindigkeit

f = Frequenz

Turbulente Strömungen

Für die Erzeugung eines turbulenten Strömungsfeldes wurden ein Kreuzgitter (KG) und ein Zylindergitter (ZG) verwendet (Abb. 2.1, C,D,E). Das KG hatte eine Gittergröße (M) von 15mm, eine Gitterdicke (d) von 5mm und einen Abstand zwischen einzelnen Gitterstreben (g) von 10mm (Abb. 2.1, D). Die Durchlässigkeit des KG lässt sich nach Formel 2.4 berechnen.

$$\beta = \left(1 - \frac{d}{M}\right)^2 \tag{2.4}$$

β = Durchlässigkeit

d = Gitterdicke

M = Gittergröße

Für das ZG wurden vier Zylinder mit einem Durchmesser (d) von 15mm verwendet. Der Abstand zwischen den einzelnen Zylindern (g) betrug 20mm und die Gittergröße (M) 35mm (Abb. 2.1, E). Die Durchlässigkeit des ZG lässt sich nach Formel 2.5 berechnen.

$$\beta = \left(1 - \frac{d}{M}\right) \quad (2.5)$$

β = *Durchlässigkeit*

d = *Gitterdicke*

M = *Gittergröße*

KG und ZG wurden mit einem Abstand von 18cm oder 24cm stromaufwärts zum Fisch positioniert. Wurden KG oder ZG verwendet, betrug die Distanz zwischen Zylinder und Fisch immer 10cm (Abb. 2.1, C).

2.1.6 Ablauf der Experimente

Distanz zwischen Fisch und Zylinder

In diesem Versuch wurde untersucht, ob bzw. wie sich die Antwort einer MON-Unit verändert, wenn die Distanz zwischen Fisch und Zylinder schrittweise vergrößert wird. Der Zylinder wurde stromaufwärts vom Fisch positioniert. Es wurde die seitliche Position (senkrecht zur Strömungsrichtung) gewählt, bei der die stärkste Antwort auftrat (nach Chagnaud 2007; 3 cm ipsilateral). Die seitliche Position des Zylinders wurde während des Reizprotokolls nicht verändert. Es wurden zwei Strömungsgeschwindigkeiten untersucht ($v_1=11,5\text{cm/s}$, $v_2=9,5\text{cm/s}$).

Der Abstand zwischen Zylinder und Fisch (von der Mitte des Zylinders bis zur Spitze des Fischmauls) wurde variiert. Der geringste Abstand betrug 8 cm. Die anderen Abstände betragen 10, 12, 14, 16, 18, 20, 22 und 24 cm. Zusätzlich wurden Versuche ohne Zylinder (Kontrollen) durchgeführt. Während einer experimentellen Wiederholung wurde die Abfolge der 9 Positionen des Zylinders zufälligen gewählt. Außerdem wurde jeweils eine Kontrolle durchgeführt. An jeder Position wurde der Zylinder für 60 s

präsentiert, es wurden maximal 3 experimentelle Wiederholungen durchgeführt. Wenn eine Aufnahme nach Vollendung der dritten experimentellen Wiederholung noch immer stabil war, wurde die Spontanaktivität der Unit für 60 s unter Stillwasserbedingungen aufgenommen.

Turbulente Strömung

In diesem Versuch wurde untersucht, ob eine Wirbelstraße auch in turbulenter Strömung von *S. erythrophthalmus* wahrgenommen werden kann. Dazu wurden sechs verschiedene Versuchsbedingungen präsentiert (Tab. 2.1). Die Präsentation des Zylinders (I, II und III) erfolgte dabei immer 10 cm stromaufwärts und 3 cm seitlich des Fisches. Ein Zylindergitter (ZG) wurde entweder 18cm oder 24cm stromaufwärts vom Fisch positioniert. Eine experimentelle Wiederholung bestand aus der zufälligen Präsentation von jeder Versuchsbedingung für 60 s. Es wurden maximal 5 Wiederholungen durchgeführt. Wenn eine Aufnahme nach 5 Wiederholungen noch stabil war, wurde die Spontanaktivität der Unit für 60 s unter Stillwasserbedingungen aufgenommen.

Tab. 2.1: Auflistung der Versuchsbedingungen und den jeweiligen Distanzen zwischen Fisch und Zylinder, Fisch und ZG und ZG und Zylinder.

	Bedingung	Fisch ↔ Zylinder	Fisch ↔ ZG	ZG ↔ Zylinder
I	Zylinder	10 cm	-	-
II	Zylinder und ZG (p5)	10 cm	18 cm	8 cm
III	Zylinder und ZG (p8)	10 cm	24 cm	14 cm
IV	ZG	-	18 cm	-
V	ZG	-	24 cm	-
VI	kein Zylinder, nur Strömung			

2.1.7 Lokalisation der Ableitstelle

Um zu überprüfen, ob die Spitze der Elektrode während einer Ableitung im richtigen Kerngebiet lag, wurden nach der Aufnahme ausgewählter Units elektrische Läsionen durchgeführt. Hierzu wurde direkt über die Aufnahmeelektrode eine geringe Menge Strom über einen kurzen Zeitraum angelegt (30s +DC / 30s -DC, max. Marker Amplitude DAM 80). Das, die Elektrodenspitze umgebende, Gewebe wurde dadurch geschädigt und diente als Marker für die Elektrodenposition. Nach der Schädigung verweilte die Elektrode für 20 – 30 Minuten an ihrer Position, bevor sie vorsichtig aus dem Hirn gefahren wurde. Sechzig Minuten später wurde der, bis zu diesem Zeitpunkt beatmete, Fisch dekapitiert, das Hirn wurde vorsichtig frei präpariert und für mehrere Tage in 4%iger Paraformaldehyd-Lösung (PFA) fixiert und gelagert. Die 4%ige PFA-Lösung wurde in mehreren Schritten (jeweils ca. 12 Stunden) durch Saccharose-Lösungen (20%; 30%; 40% in Phosphatpuffer) ersetzt, bevor das Hirn am Kryostat geschnitten wurde (Schnittdicke = 25µm). Die Schnitte wurden über Nacht zum Trocknen gelagert, und am nächsten Tag mit einer 0,25%igen Kresyl-violett-Lösung gefärbt (Anhang B).

2.1.8 Auswertung

Nachbearbeitung der Daten

Um sicher zu stellen, dass nur Einzelzellen aufgenommen wurden, mussten sich sowohl die Amplitude als auch die Form der einzelnen Spikes gleichen. Die Spike Intervalle mussten $> 0,001$ s sein. Eine Amplitudenschwelle wurde für jede Unit individuell bestimmt, um die Spikes vom Hintergrundrauschen zu separieren (Abb. 2.2, A). Beim Positionswechsel vom Zylinder während des Versuchs entstehen zwangsläufig Wasserbewegungen, die die Wirbelstraße stören. Aus diesem Grund wurden immer nur die mittleren 40 s von jedem 60 s Teilstück analysiert. Ein selbst geschriebenes Skript für die Software Spike2 wurde benutzt, um die unterschiedlichen Versuchsbedingungen zu separieren und um die Daten (jeweils 40 s Teilstücke) als Matlab Dateien (.m files) für die weitere Analyse zu exportieren.

Spike-Muster-Analyse

Alle Daten wurden mit einem selbst geschriebenen Matlab Skript (Matlab R2014b, Mathworks) ausgewertet. Die Spikeraten wurden in Spikes pro Sekunde (S/s) für alle Wiederholungen und alle Zylinderpositionen und Versuchsbedingungen berechnet.

Für die Berechnung der Inter-Spike-Intervalle (ISI) wurden die Zeitabstände (d) zwischen den Spikes i und j berechnet mit $d_{ij} = t_j - t_i$ für M Spikes mit $i = 1, 2, \dots, M-1$, $j = i+1, i+2, \dots, M$ und dem Zeitpunkt des Auftretens (t). Mit anderen Worten: Die Zeitabstände wurden nicht nur für zwei aufeinander folgende Spikes berechnet, sondern jeweils für einen Spike (i) und alle darauf folgenden Spikes ($j = i+1, i+2, \dots$) des 40 s Teilstücks. Diese Berechnung wurde für alle (M) Spikes durchgeführt. Die Anzahl der Zeitabstände, die in Zeitintervallen von jeweils 100 Millisekunden auftraten, wurden gezählt und als Funktion des Zeitintervalls aufgetragen.

Die Wahrscheinlichkeitsdichtefunktion (WDF, Matlab `normpdf`) (Standardabweichung = 0,1) wurde verwendet, um für alle (M) Spikes die Wahrscheinlichkeitsdichte an jedem Zeitpunkt des 40 s Teilstücks zu bestimmen. Die zeitliche Auflösung betrug 0,01 s, die Breite der Wahrscheinlichkeitsdichte war 0,01. An Zeitpunkten, an denen kein Spike auftrat, war die Wahrscheinlichkeitsdichte 0. Wenn zwei oder mehr Spikes innerhalb von 0,01 s auftraten, wurde die Wahrscheinlichkeitsdichte aufsummiert (Abb. 2.2, B). Das Resultat dieser Berechnungen ist eine künstliche Wellenform, die das zeitliche Auftreten der Spikes widerspiegelt. Diese Wellenform wurde benutzt, um die Autokorrelation der neuronalen Daten zu berechnen (Abb. 2.2, C). Bei periodischen Auftreten der Spikes ergibt sich eine wellenförmige Kurve, deren Maxima (nachfolgend als Peaks bezeichnet) mit der Wirbelablösefrequenz übereinstimmen. Die ‚findpeaks‘ Funktion von Matlab wurde verwendet, um die Peaks aller Units zu finden (Zeitfenster = 5 s; minimaler Abstand = 0.5 s; minimale Amplitude = 0.1; maximale Anzahl = 5). Die Amplituden der identifizierten Peaks wurden für die jeweilige Versuchsbedingung gegen die Zeit aufgetragen.

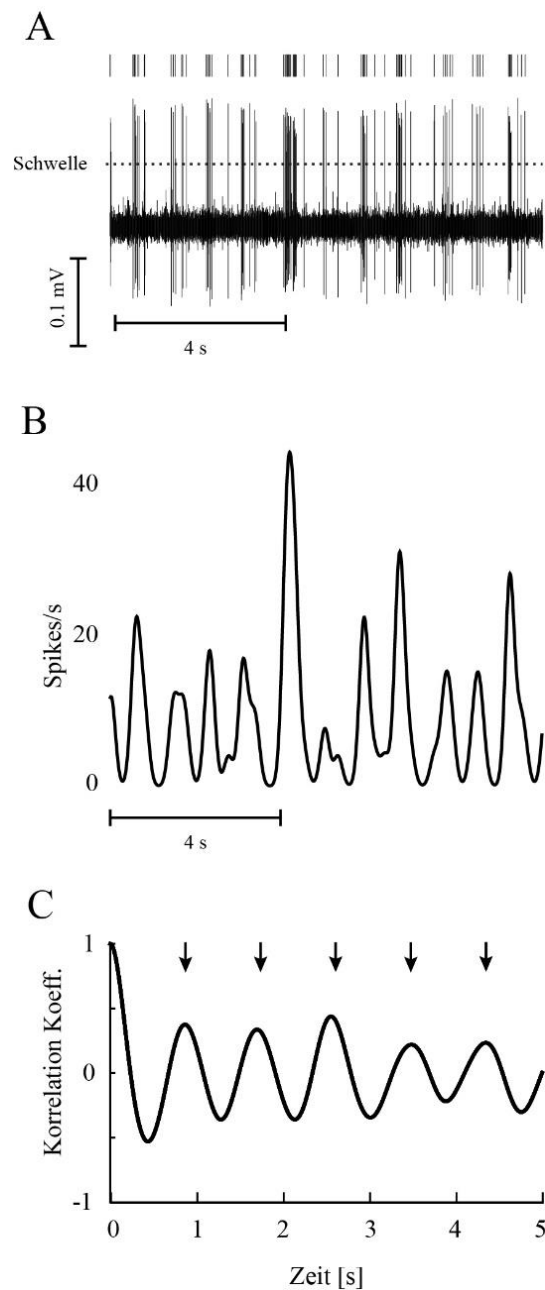


Abb. 2.2: **Datenanalyse.** **A:** Eine MON-Unit reagiert mit einer burstartigen Antwort auf die Stimulation durch einen Zylinder. Alle Spikes, deren Amplitude eine individuell angepasste Schwelle (gestrichelte Linie in **A**) übersteigen, werden in einzelne Events übertragen (oberste Zeile in **A**). **B:** Eine virtuelle Wellenform wird generiert, indem die Wahrscheinlichkeitsdichtefunktion (WDF) für jedes Spikeevent an jedem Zeitpunkt der Aufnahme (zeitliche Auflösung = 0,01s) berechnet wurde. **C:** Diese Wellenform wurde benutzt, um eine Autokorrelationsfunktion der neuronalen Daten zu berechnen. Die schwarzen Pfeile zeigen das errechnete VSD (hier 0,9s) an.

2.2 Particle Image Velocimetry (PIV)

2.2.1 Aufbau

Die Strömungsgeschwindigkeit und die Strömungseigenschaften wurden mit PIV-Aufnahmen charakterisiert. Dazu wurden Schwebepartikel (Durchmesser: $50\mu\text{m}$, 250g Dantec Dynamics Denmark) in einem Becherglas in Wasser gelöst und dem Wasser des Fließtanks hinzugefügt. Eine horizontale Laserschicht (grüner Laser; MGL-III-532-200 mW) auf Höhe des Seitenlinienkanals der Rotfeder (ca. 2 cm unterhalb der Wasseroberfläche) beleuchtete die Schwebepartikel im Wasser. Eine Hochgeschwindigkeitskamera (LaVision HighSpeedStar Manfrotto 410), die unterhalb des Arbeitsbereichs positioniert war (Abb. 2.3, A), wurde mit der Software Photron - Fastcam Viewer (2006 Photron Limited for high speed digital imaging) genutzt, um die Bewegung der Schwebepartikel zu filmen. Das Sichtfeld der Kamera wurde so eingestellt, dass die Position vom Fisch erkennbar war und die gesamte Breite des Arbeitsbereichs (1024×1024 Pixel; 12×12 cm) aufgenommen wurde (Abb. 2.3, B). Es wurde mit 250 Bildern pro Sekunde aufgenommen, bis der Pufferspeicher des Kamerasystems vollständig gefüllt war (8,192 s). Die Videoaufnahmen wurden für die weitere Auswertung in Matlab in Bitmaps konvertiert und gespeichert.

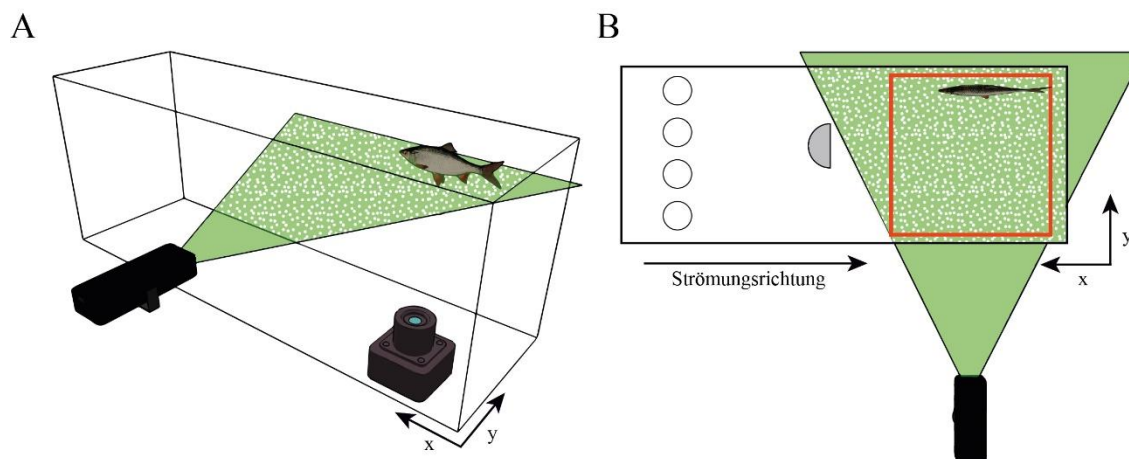


Abb. 2.3: **Schematische Darstellung des PIV Setups.** Eine horizontale grüne Laserschicht (MGL-III-532-200 mW) illuminiert Schwebepartikel in der Strömung. Eine Hochgeschwindigkeitskamera unter dem Versuchsbereich (A) filmt einen Bildausschnitt am hinteren Ende des Versuchsbereichs (rotes Quadrat in B). Die Abbildung ist nicht maßstabsgetreu.

2.2.2 Kalibrierung

Die Auswertung der PIV-Daten wurde mit PIVLab (Thielicke and Stamhuis 2014) in Matlab durchgeführt. Die Bitmaps wurden in PIVLab importiert und mit den, von Thielicke & Stamhuis empfohlenen, Einstellungen aufbereitet (Contrast limited adaptive histogram equalization (CLAHE, window size = 20 px); highpass (filter size = 15 px), intensity capping; Wiener denoise filter (window size = 3))(Abb. 2.4, A und B). Die Hochgeschwindigkeits-Bilddaten wurden mit einer Printplatte (2.54 mm Raster Abstand) kalibriert und die Strömungsvektoren wurden berechnet (Multi pass, Abfrage-Fenster 64 x 64 Pixel zu 32 x 32 Pixel, 50% Überlappung). Potenziell fehlerhafte Vektoren des Vektorfeldes (z.B. extrem große Geschwindigkeiten im Vergleich zu den umliegenden Vektoren) wurden ausgeschlossen. Dazu wurden obere und untere Geschwindigkeitsgrenzen individuell für jede PIV-Aufnahme festgelegt. Zuvor ausgeschlossene Vektoren wurden durch interpolierte Vektoren ersetzt (siehe Thielicke & Stamhuis, 2014). Für weitere Berechnungen wurden die Daten der Strömungsvektoren geglättet (3x3 Pixel smooth)(Abb. 2.4, C).

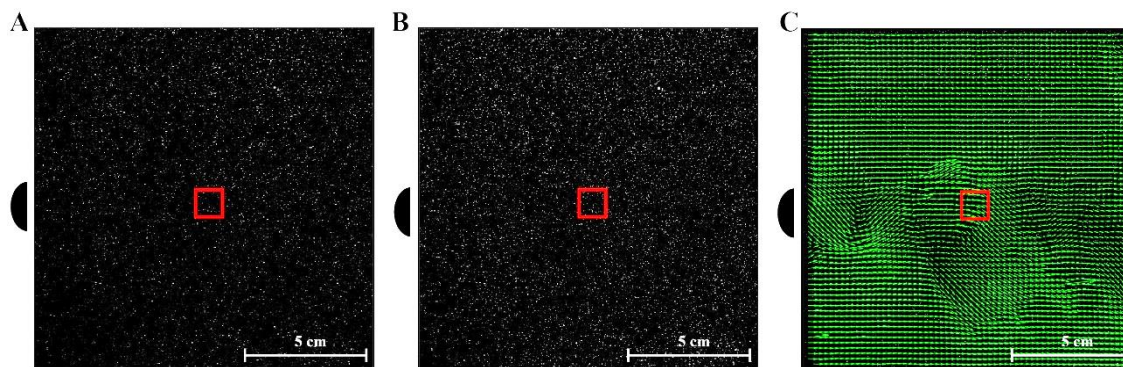


Abb. 2.4: **Nachbereitung der PIV Aufnahmen** Die original Aufnahmen (A) wurden nach Thielicke & Stamhuis (2014) aufbereitet (B) und die Strömungsvektoren (C) wurden berechnet. Das rote Quadrat zeigt das Fenster (5x5 Vektoren) für die Berechnungen der vertikalen Strömungskomponente (V_y) an.

Abbildung 2.5 zeigt die Kalibrierung der Strömungsgeschwindigkeit. Die x -Komponente der Strömungsvektoren wurde für den gesamten Bildausschnitt (siehe Abb. 2.3, B) berechnet und über die Aufnahmedauer gemittelt. Für jede Motorspannung wurden drei Messungen durchgeführt. Für den Großteil der folgenden Versuche wurde Strömungsgeschwindigkeit von ca. 9,5 cm/s genutzt.

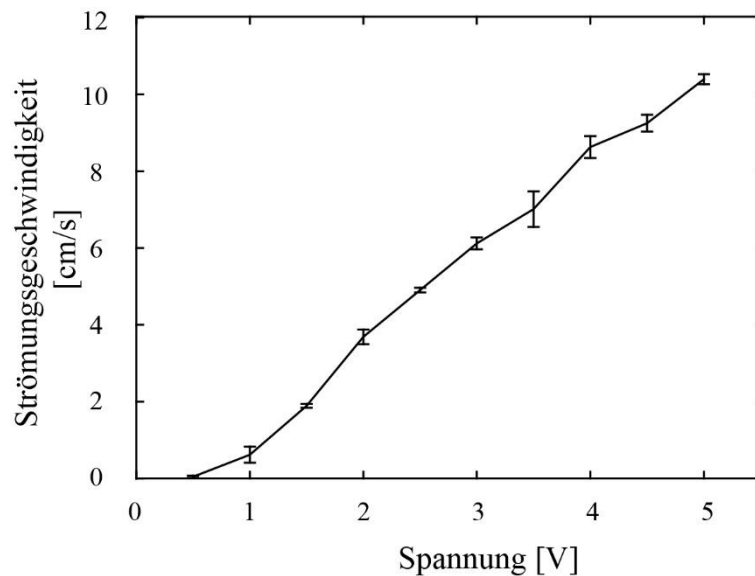


Abb. 2.5: **Kalibrierung de Strömungsgeschwindigkeit.** Die Strömungsgeschwindigkeit in Abhängigkeit der Motorspannung wurde mit PIV ermittelt. Aufgetragen ist die mittlere Strömungsgeschwindigkeit aus 3 Messreihen.

2.2.3 Berechnungen mit PIV-Daten

Für die Charakterisierung des Strömungsfeldes wurde zunächst die mittlere Strömungsgeschwindigkeit (\bar{U}) über die gesamte Dauer der Aufnahme nach Formel 2.6 berechnet.

$$\bar{U} = \sqrt{\bar{U}_x^2 + \bar{U}_y^2} \quad (2.6)$$

\bar{U} = mittlere Strömungsgeschwindigkeit

\bar{U}_x = mittlere Geschwindigkeit der x -Komponente

\bar{U}_y = mittlere Geschwindigkeit der y -Komponente

Der Anteil der Fluktuationen (u_x' und u_y') innerhalb der Strömung ergibt sich aus der Differenz aus der Geschwindigkeit U (aktuelle Geschwindigkeit des Bildes) und der mittleren Geschwindigkeit \bar{U} (Formel 2.7) beispielhaft für x-Komponente).

$$u_x' = U_x - \bar{U}_x \quad (2.7)$$

u_x' = *Fluktuationen der x-Komponente*

U_x = *aktuelle Geschwindigkeit der x-Komponente*

\bar{U}_x = *mittlere Geschwindigkeit der x-Komponente*

Der Effektivwert (Root Mean Square (RMS)) der Fluktuationen beider Strömungskomponenten wurde nach Formel 2.8 berechnet.

$$RMS = \sqrt{\frac{1}{2}u_x'^2 + u_y'^2} \quad (2.8)$$

RMS = *Effektivwert der Strömungsfluktuationen*

u_x' = *Fluktuationen der x-Komponente*

u_y' = *Fluktuationen der y-Komponente*

Aus dem RMS-Wert und der mittleren Strömungsgeschwindigkeit lässt sich die Turbulenz Intensität (TI) bestimmen (Formel 2.9).

$$TI = \frac{RMS}{\bar{U}} \quad (2.9)$$

TI = *Turbulenzintensität*

RMS = *Effektivwert der Strömungsfluktuationen*

\bar{U} = *mittlere Strömungsgeschwindigkeit*

Ein Wirbel kann als ein Gebiet mit vorliegender Vortizität um ein Zentrum beschrieben werden. Definitionsgemäß beschreibt die Vortizität die Tendenz eines Fluidelements zur Eigendrehung um eine Achse. Zur Bestimmung der Vortizität des Vektorfeldes wurde die ‚curl‘-Funktion von Matlab benutzt.

Ein 5x5 Vektoren großes Fenster wurde zentral im Bildausschnitt ausgewählt, sodass es sich in x-Richtung mittig der Flanke des Fisches und in y-Richtung auf Höhe des Zylinders befand (rote Quadrate, Abb. 2.4). Die x-Komponenten und y-Komponenten der Vektoren aus diesem Fenster wurden einzeln betrachtet. Eine schnelle Fourier-Transformation (FFT) und eine Autokorrelation (AK) wurden jeweils über die gesamte Aufnahmedauer berechnet (Matlab, 2014b).

3 Ergebnisse

3.1 Ableitungsorte

Die Ableitorte im MON wurden mit elektrischen Läsionen markiert. 4 von 10 Läsionen waren erfolgreich. Abbildung 3.1 zeigt einen mit Kresylviolett gefärbten Querschnitt (Dicke 25 μm) des Hirnstamms einer Rotfeder mit der Läsion (schwarzer Pfeil) von Unit 35 (Teilkapitel 1 – Distanz zwischen Fisch und Zylinder). Die drei anderen Läsionen sind mit schwarzen Sternen gekennzeichnet.

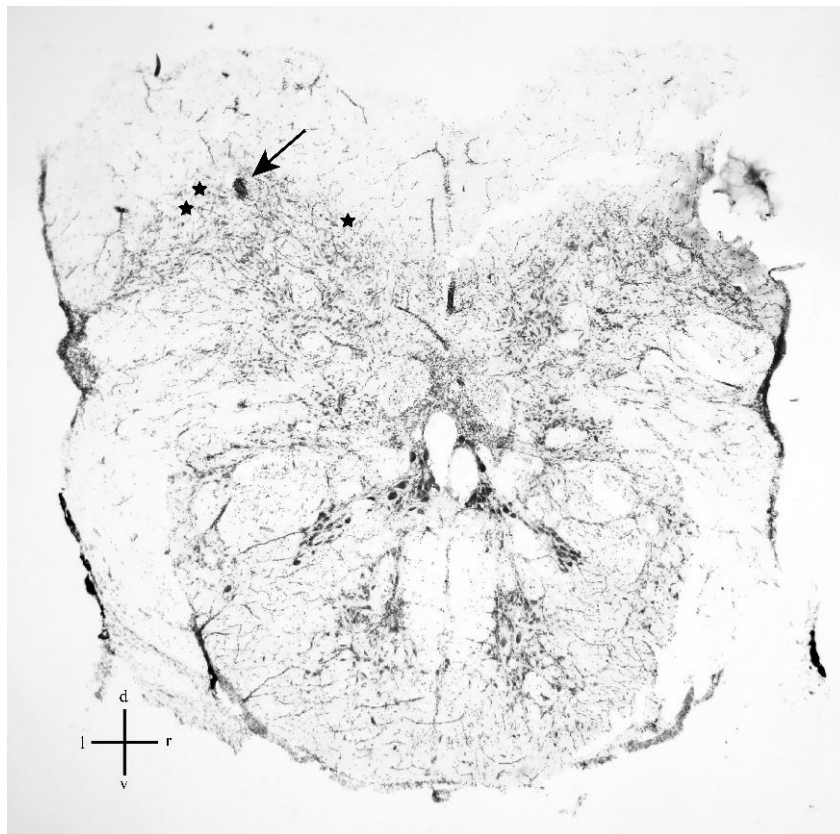


Abb. 3.1: **Ableitungsorte** Cresyl-violett gefärbter Querschnitt des Hirnstamms von *S. erythrophthalmus*. Der Ableitungsort von MON-Unit # 35 wird durch den schwarzen Pfeil gekennzeichnet. Schwarze Sterne markieren die Ableitungsorte von drei weiteren MON-Units.

3.2 Wirbelstraße

Bei Reynolds Zahlen (Re) > 140 entsteht in einer Strömung hinter einem Zylinder eine KVS. In den Versuchen wurden zwei Strömungsgeschwindigkeiten verwendet: 11,5 cm/s und 9,5cm/s. Nach Formel 2.1 ergibt sich bei einer Strömungsgeschwindigkeit von 9,5 cm/s eine Reynolds Zahl von ca. 143 und nach Formel 2.2 eine VSF von 1,1Hz. Bei einer Strömungsgeschwindigkeit von 11,5 cm/s erhält man $Re = 173$ und $VSF = 1,33$ Hz. Die PIV-Aufnahmen dieser Arbeit zeigen, dass stabile Wirbelstraßen auftraten. Die Wellenlänge der Wirbelstraße war 8,6cm (Formel 2.3). Diese entspricht etwa der Größe der Versuchstiere (6-12cm). Abbildung 3.2 zeigt eine KVS in einem Bildausschnitt direkt hinter einem stationären Zylinder in laminarer Strömung (von links nach rechts). Die Orientierung und die Länge der Vektoren des Vektorfeldes geben die Richtung und Geschwindigkeit der Strömung an (die mittlere Strömungsgeschwindigkeit wurde vom Vektorfeld subtrahiert). Hinter dem Zylinder lösen sich abwechselnd von jeder Seite Wirbel mit unterschiedlichem Drehsinn ab. Die Vortizität der Wirbel ist farblich markiert (blau: im Uhrzeigersinn; rot: gegen den Uhrzeigersinn). In orange dargestellte Vektoren wurden interpoliert.

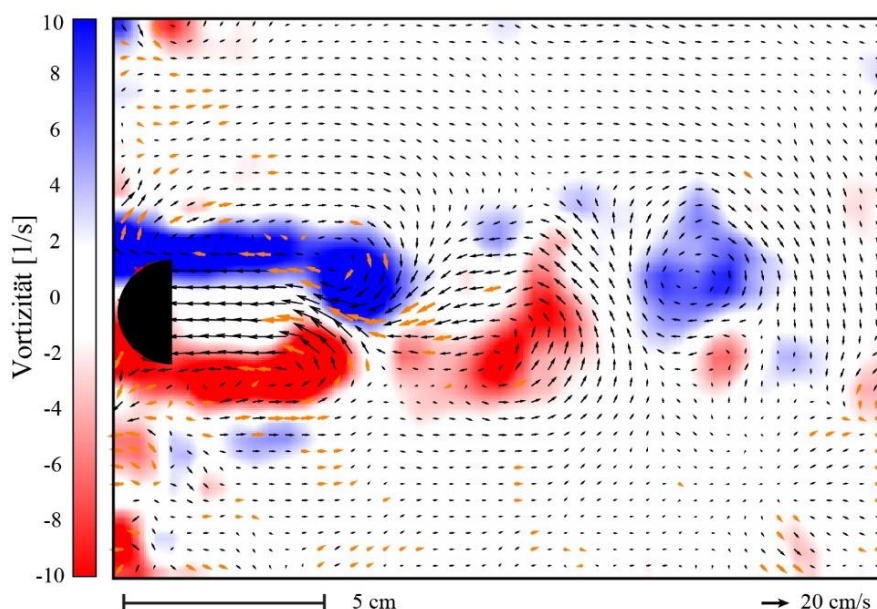


Abb. 3.2: **Wirbelstraße.** Hinter einem D-Zylinder lösen sich abwechselnd Wirbel mit entgegengesetztem Drehsinn ab. Die Vortizität ist farblich im Hintergrund unterlegt. Dem Strömungsfeld wurde die mittlere Strömungsgeschwindigkeit (9,5cm/s) abgezogen. In orange gezeichnete Vektoren wurden interpoliert.

3.3 Distanz zwischen Fisch und Zylinder

3.3.1 PIV

In diesem Versuch wurde die Entfernung zwischen Fisch und Zylinder variiert. Insgesamt wurden 9 Zylinderpositionen (jeweils 2cm Abstand zwischen den Positionen) und eine Kontrolle ohne Zylinder untersucht. Der kleinste Abstand war 8 cm, der größte 24 cm. Abbildung 3.3 zeigt das Strömungsfeld der Kontrolle (Abb. 3.3, A, C und E) und bei der Zylinderposition mit dem geringsten Abstand zum Fisch (8cm, Abb. 3.3, B, D und F). Das Strömungsfeld hinter dem Zylinder unterscheidet sich deutlich von dem der Kontrolle. Im Gegensatz zum Vektorfeld bei Zylinderpräsentation (Abb. 3.3, B), zeigt das Vektorfeld der Kontrolle (Abb. 3.3, A) nahezu parallel angeordnete Vektoren und folglich keine Anzeichen für Drehbewegungen (farblich unterlegt). Dies wird sowohl durch die RMS-Werte (Abb. 3.3, C) als auch durch die Strömungslinien (Abb. 3.3, E) bestätigt. Während die RMS-Werte (Abb. 3.3, D) keine definierten Wirbelstrukturen erkennen lassen, sind diese durch die Vortizität und die Strömungslinien besonders sichtbar (Abb. 3.3, B und F).

Die y-Komponente (V_y) eines zentralen Bildausschnitts (5x5 Vektoren, siehe Abb. 2.4) wurde für alle Zylinderpositionen analysiert. Die Rohdaten (Abb. 3.4, A) zeigen ein wellenförmiges Muster, dessen Amplitude sich mit zunehmender Entfernung des Zylinders verringert. In der Kontrolle gibt es keine periodischen Schwankungen, die Geschwindigkeit von V_y bleibt über die Dauer der Aufnahme in etwa bei Null. Der periodische Verlauf von V_y wird durch die Autokorrelation bestätigt (Abb. 3.4, B). Abbildung 3.4, C zeigt die Frequenzspektren von jeder Zylinderposition und der Kontrolle. Mit Ausnahme der Kontrolle gibt es bei jeder Zylinderposition einen dominanten Peak bei der VSF. Sowohl die Amplitude der Autokorrelation (Abb. 3.5, A) als auch des FFT (Abb. 3.5, B) nehmen mit steigender Entfernung des Zylinders signifikant ab (Abb. 3.5: *gestrichelte rote Linien*: lineare Regressionen; A: $m = -0,03$, $p = 0,00026$, $\text{adj. } R^2 = 0.849$; B: $m = -0,374$, $p = 0,00092$, $\text{adj. } R^2 = 0.784$).

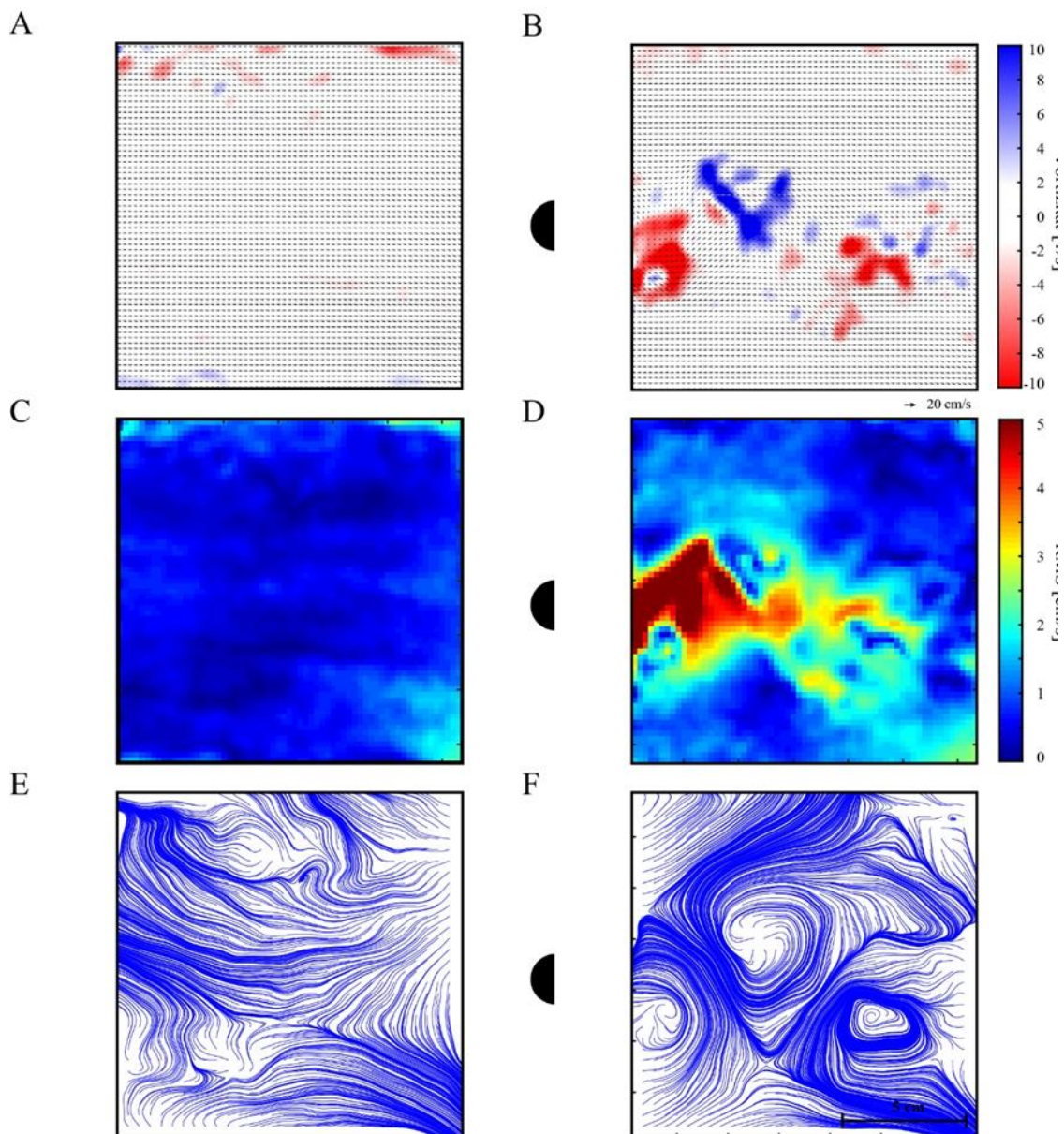


Abb. 3.3: **Vergleich der Strömung ohne und mit Zylinder.** Das Strömungsfeld zeigt bei laminarer Strömung (A, C und E) keine Verwirbelungen. Die Strömungsvektoren in A verlaufen nahezu parallel, die RMS-Werte in B sind gleichmäßig und liegen nahe Null. Der Zylinder (Durchmesser 2cm) erzeugt eine Wirbelstraße (B, D und F). Die Position des Zylinders entspricht dem tatsächlichen Abstand zum Bildausschnitt. Für die Berechnung der Strömungslinien (E, F) wurde die mittlere Strömungsgeschwindigkeit vom Vektorfeld subtrahiert.

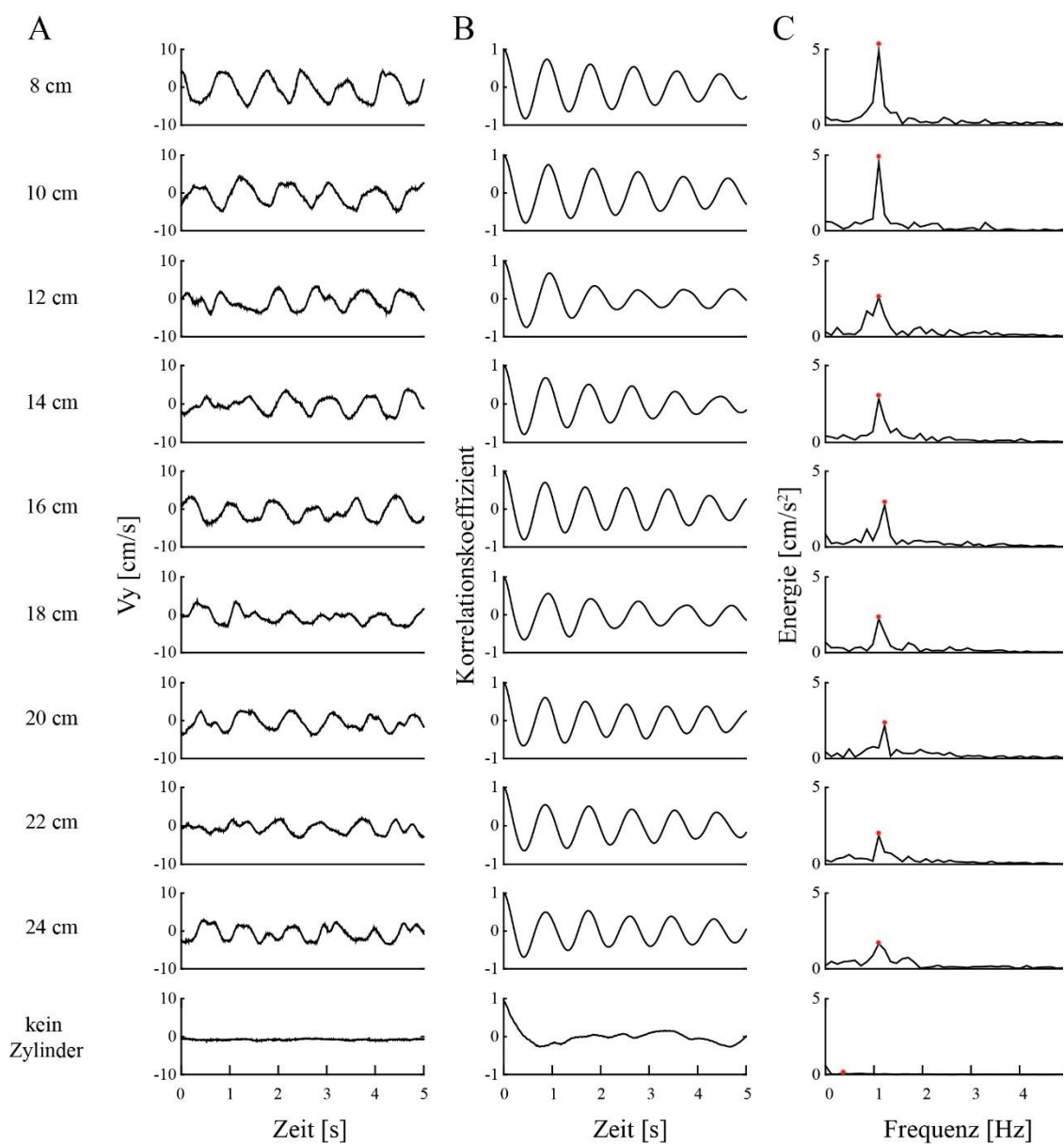


Abb. 3.4: **PIV Daten der Wirbelstraße.** **A:** Verlauf der vertikalen Strömungskomponente (V_y) bei jeder Zylinderdistanz und der Kontrolle. **B:** Autokorrelation von V_y . **C:** FFT von V_y . Bei jeder Zylinderdistanz zeigt das Frequenzspektrum einen dominanten Peak bei der VSF. Die Amplitude der Peaks nimmt mit steigender Zylinderdistanz ab.

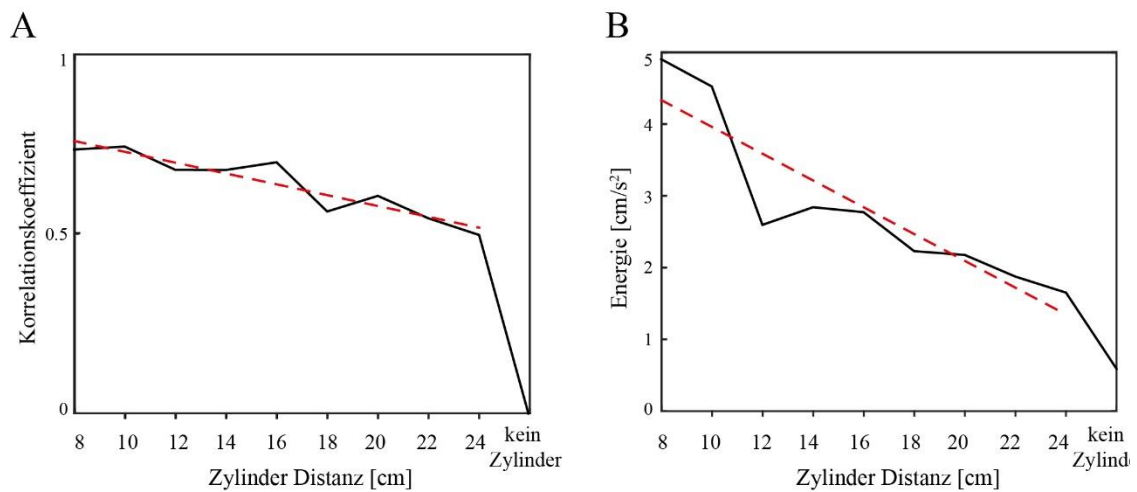


Abb. 3.5: **Intensitätsverlust der Wirbelstraße bei steigender Zylinderdistanz.** Die Amplitude des Korrelationskoeffizienten (**A**, linear reg: $p = 0,00026$; $m = -0,03$; $\text{adj. } R^2 = 0,849$) und der Peakamplitude des FFT (**B**, linear reg: $p = 0,00092$; $m = -0,374$; $\text{adj. } R^2 = 0,784$) von V_y nehmen mit steigender Zylinderdistanz signifikant ab. Die Kontrolle wurde nicht in die Berechnungen der linearen Regressionen miteinbezogen.

3.3.2 Elektrophysiologische Aufnahmen

In dieser Versuchsreihe wurden die Fische zwei Strömungsgeschwindigkeiten ($v_1=11,5\text{cm/s}$, $v_2=9,5\text{cm/s}$) ausgesetzt. Innerhalb des Versuchsbereichs wurde ein Zylinder (2cm Durchmesser) stromaufwärts vom Fisch an 9 verschiedene Positionen gestellt (+ Kontrolle ohne Zylinder, die Reihenfolge war zufällig). Insgesamt wurden für diesen Teil der Arbeit 66 Units von 29 Rotfedern aufgezeichnet. 24 Units konnten nicht für mindestens einen vollständigen experimentellen Durchgang gehalten werden und wurden deshalb von der Auswertung ausgeschlossen. Von den verbleibenden 42 Units konnte bei 22 Units ein Durchgang, bei 15 Units zwei Durchgänge und bei 5 Units drei Durchgänge aufgezeichnet werden (Abb. 3.6, A). Kurz vor Beginn des jeweiligen Reizprotokolls wurden mit einer Pipette grob die rezeptiven Felder der abgeleiteten Neurone bestimmt (Abb. 3.6, B). Das rezeptive Feld der meisten MON-Units (33 von 42 Units, rezeptives Feld 2 bis 6) lag in der Mitte des Fischrumpfes. Nur wenige MON-Units (9 von 42 Units, rezeptives Feld 0, 1, 7, 8, 9, 10) reagierten auf Wasserbewegungen in unmittelbarer Nähe des Kopfes und der Kiemen oder der Schwanzflosse. Es wurden keine Unterschiede im Antwortverhalten der MON-Units in Abhängigkeit der Position des jeweiligen rezeptiven Feldes festgestellt.

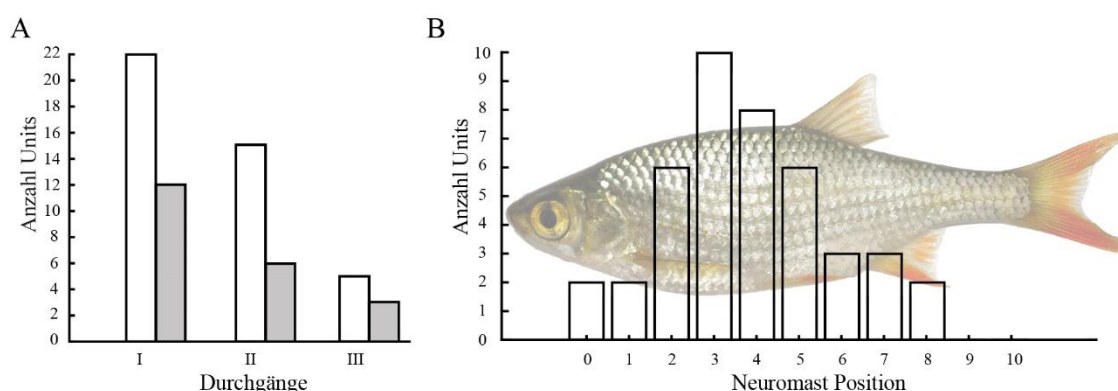


Abb. 3.6: **Anzahl vollständiger experimenteller Durchgänge und Verteilung der rezeptiven Felder**
A: Anzahl der Units mit 1, 2 oder 3 vollständig durchgeführten Durchgängen (weiße Balken: alle Units; graue Balken: auf Wirbelstraße reagierende Units). **B:** Positionen der rezeptiven Felder der abgeleiteten MON-Units.

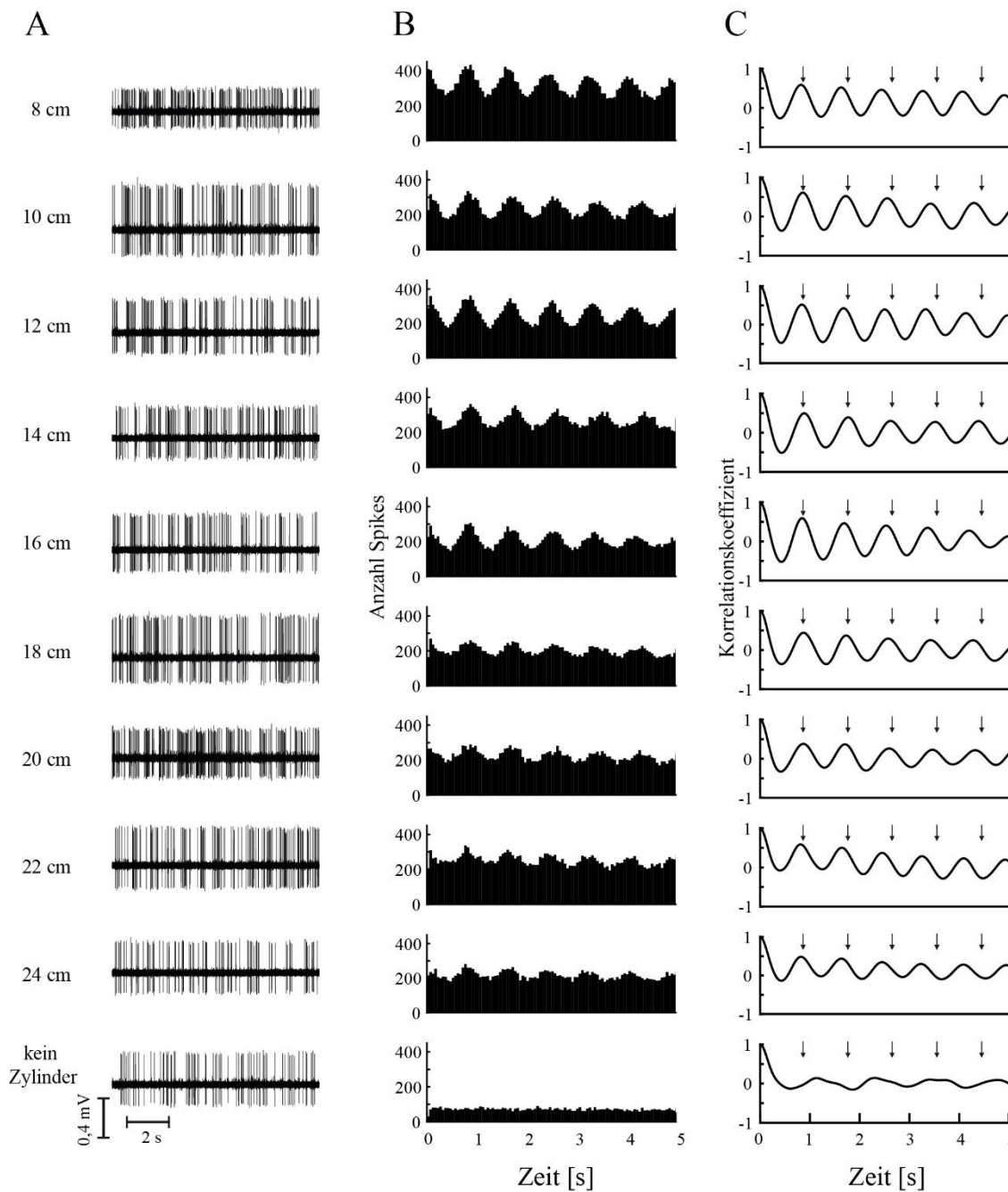


Abb. 3.7: **Burstartiges Antwortverhalten einer MON Unit.** **A:** Originalableitungen von Unit 35 während der Stimulation mit einem Zylinder bei verschiedenen Distanzen zwischen Fisch und Zylinder. Zu erkennen ist das burstartige Antwortverhalten bei allen Distanzen, jedoch nicht in der Kontrolle ohne Zylinder. Die ISI-Histogramme (**B**) und die errechneten Autokorrelationskurven (**C**) zeigen dieses Antwortverhalten in Form eines wellenförmigen Musters, dessen Maxima mit dem VSD (0,9s, schwarze Pfeile) übereinstimmen.

Das Antwortverhalten eines MON-Neurons, welches auf eine Wirbelstraße reagierte, zeigt beispielhaft Abbildung 3.7. Die Rohdaten (Abb. 3.7, A) zeigen ein regelmäßiges Muster, bestehend aus der wechselnden Abfolge von Phasen mit einer hohen Entladungsrate (nachfolgend als Burst bezeichnet) und Phasen mit geringer Entladungsrate. Diese Unit zeigte bei allen Zylinderpositionen eine burstartige Entladung. Nur in der Kontrolle (kein Zylinder, nur Strömung) konnte dieses nicht festgestellt werden. Die ISI-Histogramme (Abb. 3.7, B) und die Autokorrelation (Abb. 3.7, C) bestätigen das burstartige Verhalten in Form eines gleichmäßigen und periodischen Musters, dessen lokale Maxima mit dem Kehrwert der VSF (nachfolgend bezeichnet als Vortex Shedding Delay (VSD)); $VSD_2 = 0,9s$, angezeigt durch schwarze Pfeile) übereinstimmen.

21 von 42 Units reagierten nicht auf die Wirbelstraße und zeigten keine Veränderung der Spikerate oder des Spikemusters, wenn der Zylinder an unterschiedlichen Positionen präsentiert wurde (Abb. 3.9). Diese 21 Units kamen nicht in die weitere Auswertung. Die verbleibenden 21 Units zeigten zwei Typen von Antwortverhalten (Abb. 3.10, 3.11).

3.3.2.1 Spikeraten

Die aufgezeichneten MON-Units, die mit erhöhter Strömungsgeschwindigkeit stimuliert wurden (9 Units; $v_1=11,5cm/s$), zeigten im Mittel eine Aktivität von $9,43 \pm 6,23$ Spikes pro Sekunde bei Stimulation mit einem Zylinder (Kontrolle: $8,75 \pm 6,12$ Spikes pro Sekunde). 12 Units wurden mit langsamerer Strömungsgeschwindigkeit ($v_2=9,5cm/s$) stimuliert und zeigten im Mittel eine Aktivität von $11,41 \pm 7,11$ Spikes pro Sekunde bei Stimulation mit einem Zylinder (Kontrolle: $11,4 \pm 7,78$ Spikes pro Sekunde). Bei Zylinderpräsentation waren die Spikeraten bei schneller und langsamer Strömungsgeschwindigkeit signifikant verschieden (zwei-Stichproben-t-test: $p=0,0475$; Abb. 3.8, A). Quervergleiche zwischen allen Zylinderpositionen zeigten bei beiden Strömungsgeschwindigkeiten keine signifikanten Unterschiede der Spikeraten (Abb. 3.8, B und C). 8 MON-Units reagierten im Vergleich zur Kontrolle ohne Zylinder im Mittel mit einer Erhöhung der Spikerate von $\geq 20\%$. Eine Verringerung der Spikerate im Vergleich zur Kontrolle wurde bei keiner Unit gefunden.

Zwei MON-Units zeigten eine signifikante Abnahme ihrer Spikerate mit steigender Zylinderdistanz (Lineare Regressionen: Unit 22: $m = -0,3$, $p = 0,033$, $\text{adj. } R^2 = 0,43$; Unit 24: $m = -0,25$, $p = 0,021$, $\text{adj. } R^2 = 0,493$). Eine dieser beiden Units (Unit 24) gehört nicht zu den 8 Units, die eine Erhöhung ihrer Spikerate in Gegenwart des Zylinders zeigten. Die restlichen, in der vorliegenden Arbeit aufgezeichneten, MON-Neurone zeigten keine Veränderung der Spikerate als Reaktion auf eine Wirbelstraße in Abhängigkeit von der Zylinderdistanz.

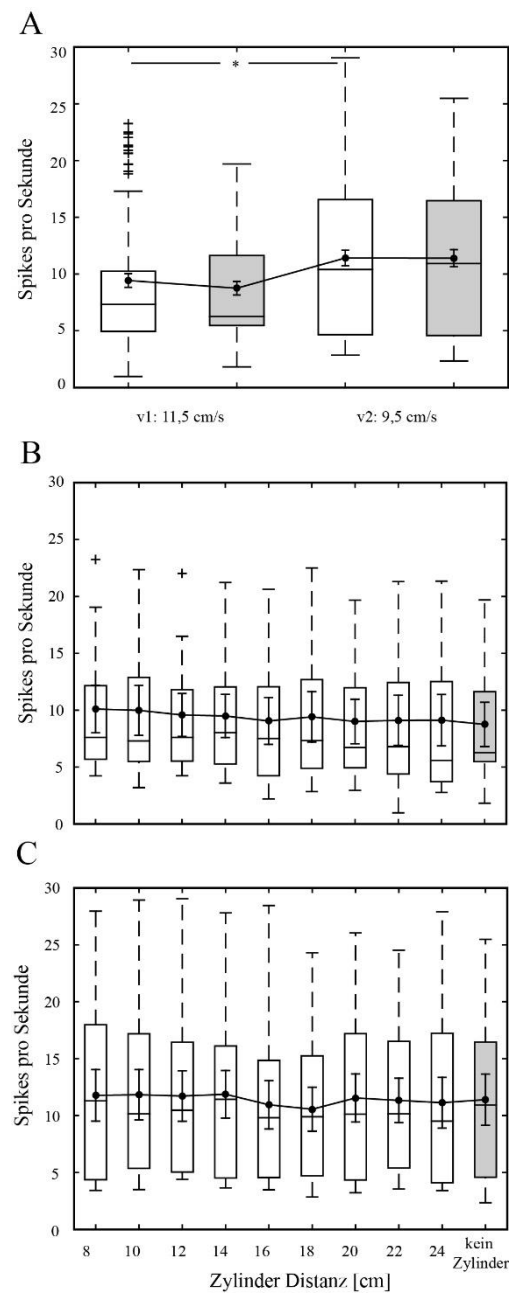


Abb. 3.8: **Spikeraten der MON Neurone** **A**: Boxplots der Spikeraten der MON Units bei unterschiedlichen Strömungsgeschwindigkeiten mit Mittelwert (gefüllte Kreise) und Standardfehler (links: 9 Units, $v_1 = 11,5 \text{ cm/s}$; rechts: 12 Units, $v_2 = 9,5 \text{ cm/s}$) während der Stimulation durch den Zylinder (alle Positionen; Mittelwert $_{v_1} = 9,43 \text{ S/s} \pm 6,23 \text{ S/s}$ und Mittelwert $_{v_2} = 11,41 \text{ S/s} \pm 7,11 \text{ S/s}$) und ohne Zylinder (hellgraue Boxplots: Mittelwert $_{v_1} = 8,75 \text{ S/s} \pm 6,16 \text{ S/s}$ und Mittelwert $_{v_2} = 11,40 \text{ S/s} \pm 7,78 \text{ S/s}$). Bei mehr als einem vollständigem Durchgang einer einzelnen Unit wurde zunächst der Mittelwert für jede Position berechnet. Die Spikeraten der Units während der Zylinderpräsentation bei unterschiedlichen Strömungsgeschwindigkeiten waren signifikant verschieden (zwei-Stichproben-t-test, $p = 0,0475$). **B** und **C**: Boxplots der Spikeraten von MON Units bei hoher Strömungsgeschwindigkeit (9 Units, $v_1 = 11,5 \text{ cm/s}$, **B**) und geringerer Strömungsgeschwindigkeit (12 Units, $v_1 = 9,5 \text{ cm/s}$, **C**) für jede präsentierte Zylinderposition mit Mittelwert (gefüllte Kreise) und Standardfehler. Zwischen einzelnen Positionen wurden keine signifikante Unterschiede der Spikeraten gefunden (zwei-Stichproben-t-test: p-Werte für **B**: zwischen 0,6595 und 0,9958; p-Werte für **C**: zwischen 0,6489 und 0,9858). Hellgraue Boxplots zeigen Spikeraten der MON Units ohne Zylinderstimulation.

3.3.2.2 Entladungsmuster

Jede Unit zeigte bei mindestens einer Zylinderposition ein burstartiges Antwortmuster. 12 der 21 Units (5 Units mit v_1 stimuliert, 7 Units mit v_2 stimuliert) zeigten ein burstartiges Antwortmuster bei allen präsentierten Zylinderpositionen (maximaler Abstand 24 cm, Abb. 3.10). Die restlichen 9 Units zeigten ein burstartiges Antwortmuster nur bei Zylinderabständen < 16 cm (Abb. 3.11). 6 dieser 9 Units (4 Units mit v_1 , 5 Units mit v_2 stimuliert) zeigten die größte Spikerate bei einem Zylinderabstand von 8 cm bis 12 cm.

Abbildung 3.12 zeigt die Verteilung der Peaks der 21 reagierenden Units für jede Zylinderposition für einen Zeitabschnitt von 5 Sekunden. Bei beiden Strömungsgeschwindigkeiten liegen die Peaks bei jeder Zylinderposition nahe der jeweiligen VSF (Abb. 3.12, A: $VSF_1 = \text{ca. } 1,33$ Hz, $VSD_1 = \text{ca. } 0,75$ s; Abb. 3.12, B: $VSF_2 = \text{ca. } 1,1$ Hz, $VSD_2 = \text{ca. } 0,9$ s). Bei der langsameren Strömungsgeschwindigkeit (Abb. 3.12, B) zeigte sich eine größere Streuung der Peaks. In der Kontrolle war die Peakzahl sehr gering (A: 7 Peaks; B: 8 Peaks), die Peaks lagen aber nicht im Bereich der jeweiligen VSF.

Von den 21 reagierenden Units wurden insgesamt 33 Durchgänge aufgenommen (12x 1 Durchgang; 6x 2 Durchgänge; 3x 3 Durchgänge; Abb. 3.6, A: graue Balken). Das ergibt maximal 165 Peaks (jeweils die ersten 5 Peaks) pro Zylinderposition. Die Anzahl der Peaks für die einzelnen Zylinderpositionen zeigt Abbildung 3.13, A.

Bei einem Zylinderabstand von 12 cm wurden 144 Peaks ermittelt (87,27%; Abb. 3.13, A). Die Peakzahl nahm mit steigender Zylinderentfernung (>12 cm) signifikant ab (*gestrichelte rote Linie*: lineare Regression; $m = -7.9$, $p < 0.005$, $\text{adj. } R^2 = 0.722$);).

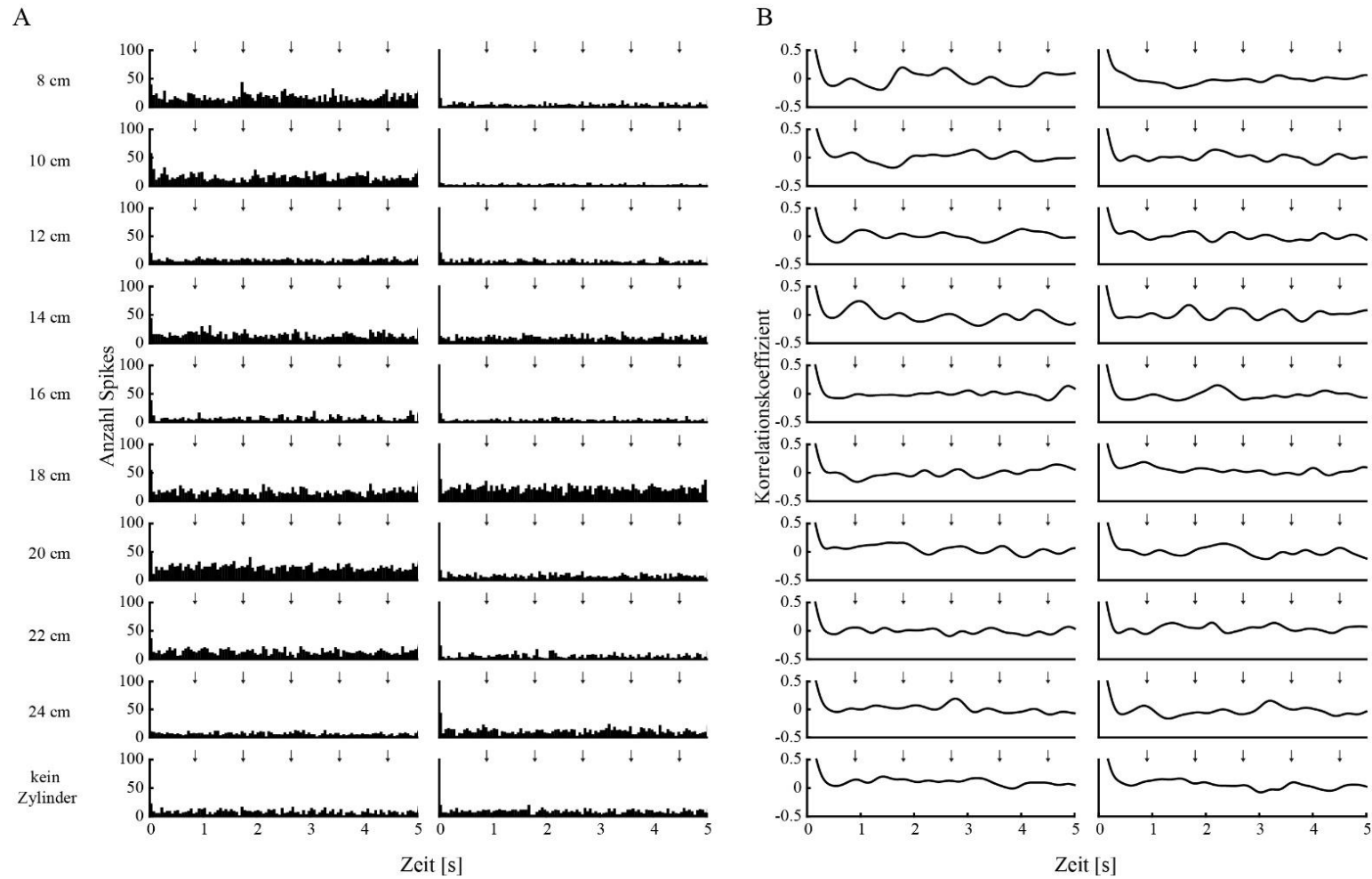


Abb. 3.9: **Beispiel einer nicht auf die Wirbelstraße reagierenden MON Unit.** ISI-Histogramme (A) und Autokorrelationskurven (B) von MON Unit 08 mit jeweils 2 Durchgängen (Spalten). Das VSD ($VSD_2 = 0,9s$) wird durch schwarze Pfeile angezeigt.

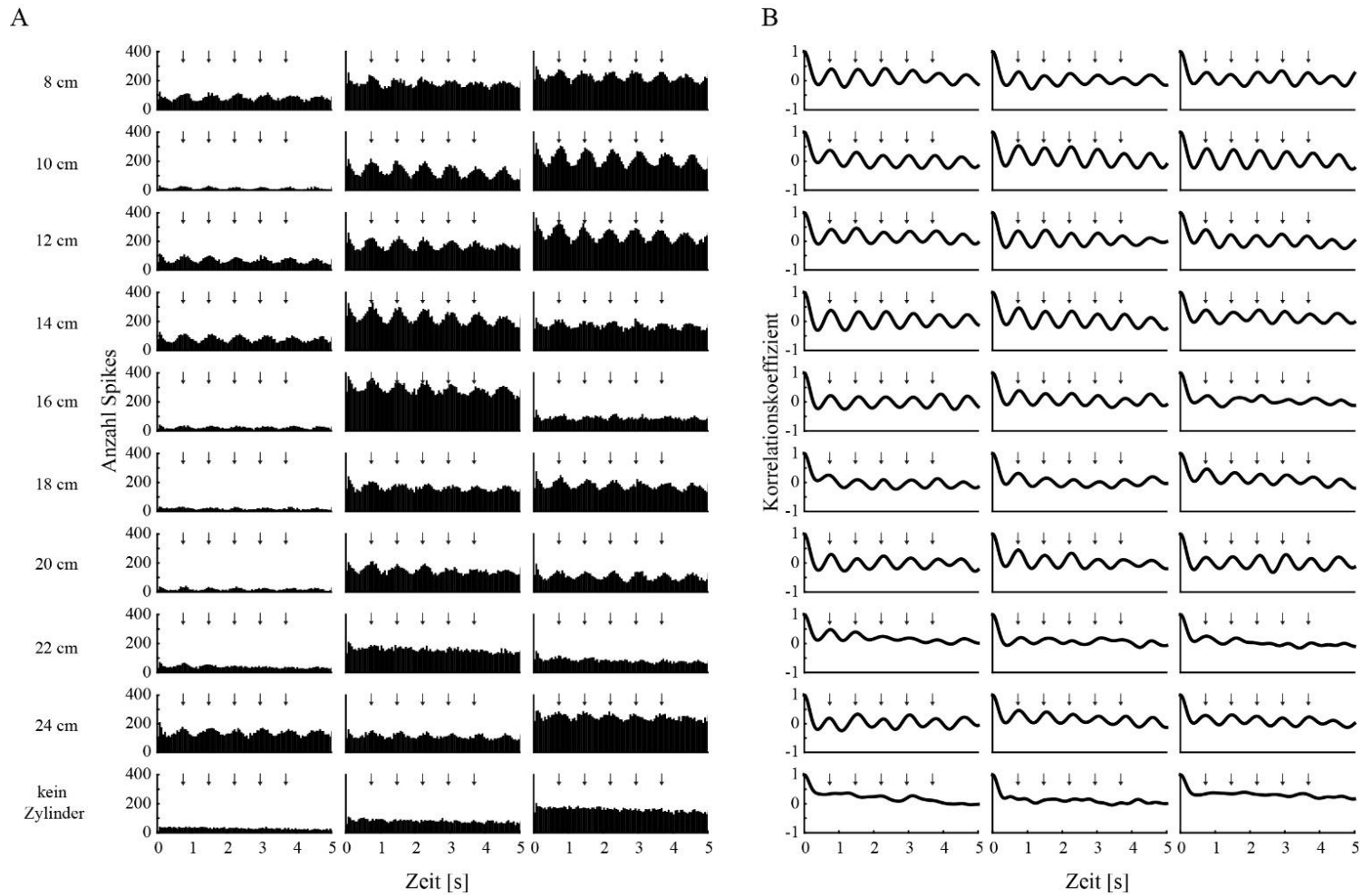


Abb. 3.10: **Beispiel einer auf die Wirbelstraße reagierenden MON Unit.** ISI-Histogramme (A) und Autokorrelationskurven (B) von MON Unit 12 mit jeweils 3 Durchgängen (Spalten). Das VSD ($VSD_1 = 0,75s$) wird durch schwarze Pfeile angezeigt.

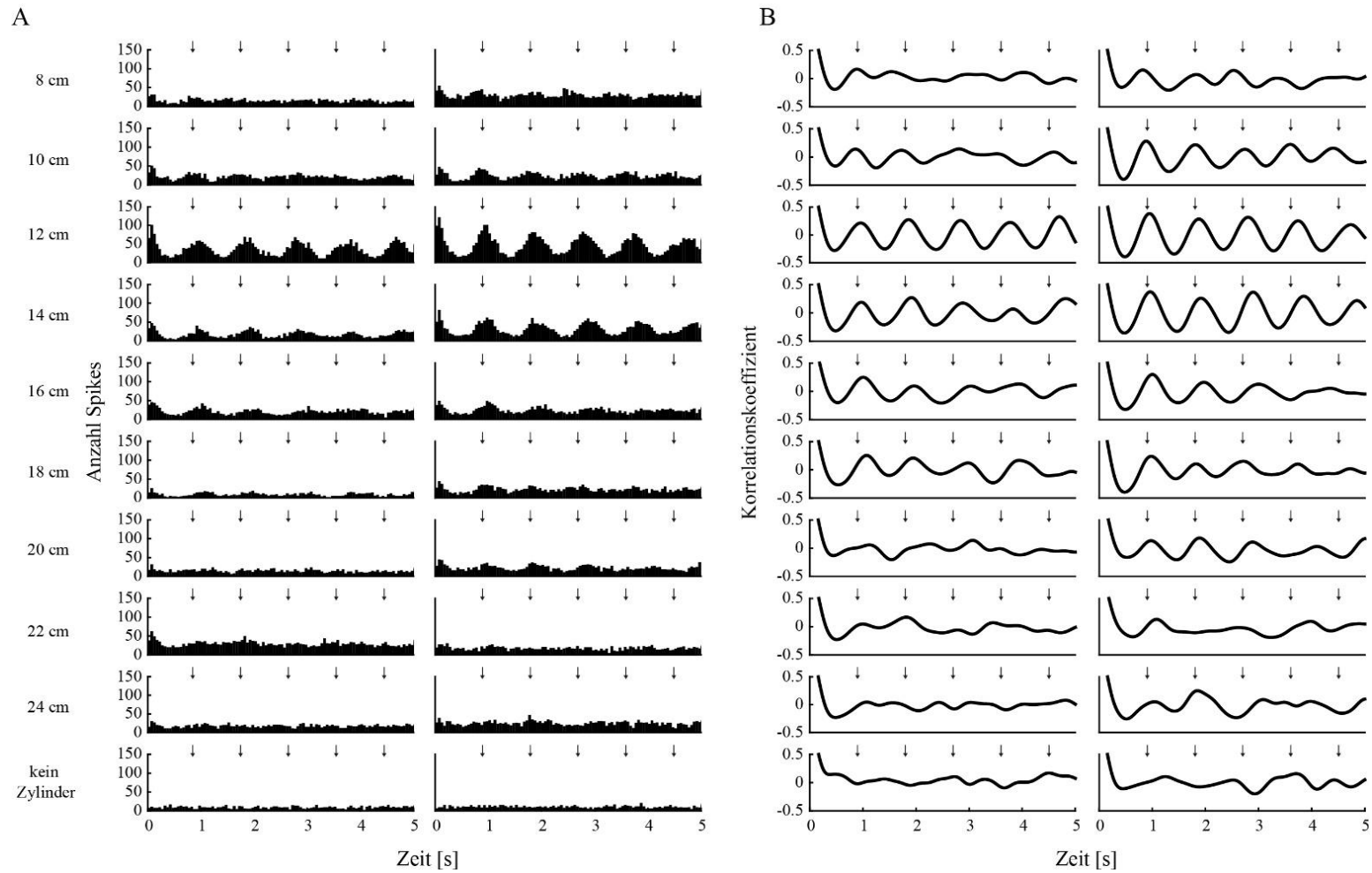


Abb. 3.11: **Beispiel einer auf die Wirbelstraße reagierenden MON Unit.** ISI-Histogramme (A) und Autokorrelationskurven (B) von MON Unit 01 mit jeweils 3 Durchgängen (Spalten). Das VSD ($VSD_2 = 0,9s$) wird durch schwarze Pfeile angezeigt.

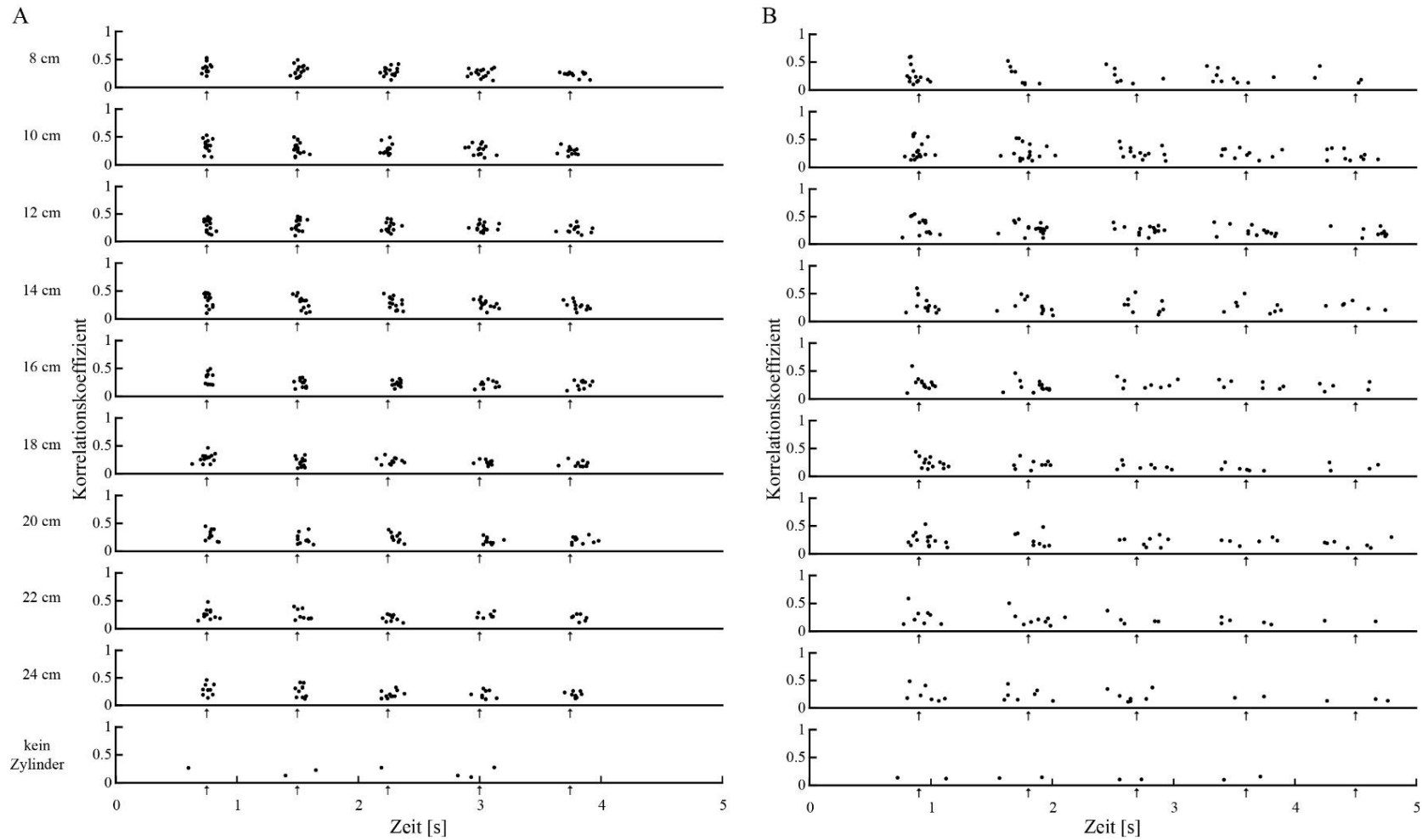


Abb. 3.12: **Peak Verteilung bei unterschiedlichen Strömungsgeschwindigkeiten.** Die Peakamplituden (Korrelationskoeffizienten Werte) wurden gegen die Zeit (Zeitfenster: 5 Sekunden) aufgetragen. **A:** Strömungsgeschwindigkeit: $v_1=11,5\text{cm/s}$; $\text{VSF}_1= \text{ca. } 1,33 \text{ Hz}$, $\text{VSD}_1 = \text{ca. } 0,75\text{s}$ **B:** Strömungsgeschwindigkeit: $v_2=9,5\text{cm/s}$ $\text{VSF}_2 = \text{ca. } 1,1\text{Hz}$, $\text{VSD}_2 = \text{ca. } 0,9\text{s}$). Für beide Geschwindigkeiten liegen die Peaks bei jeder Zylinderposition nahe des jeweiligen VSD.

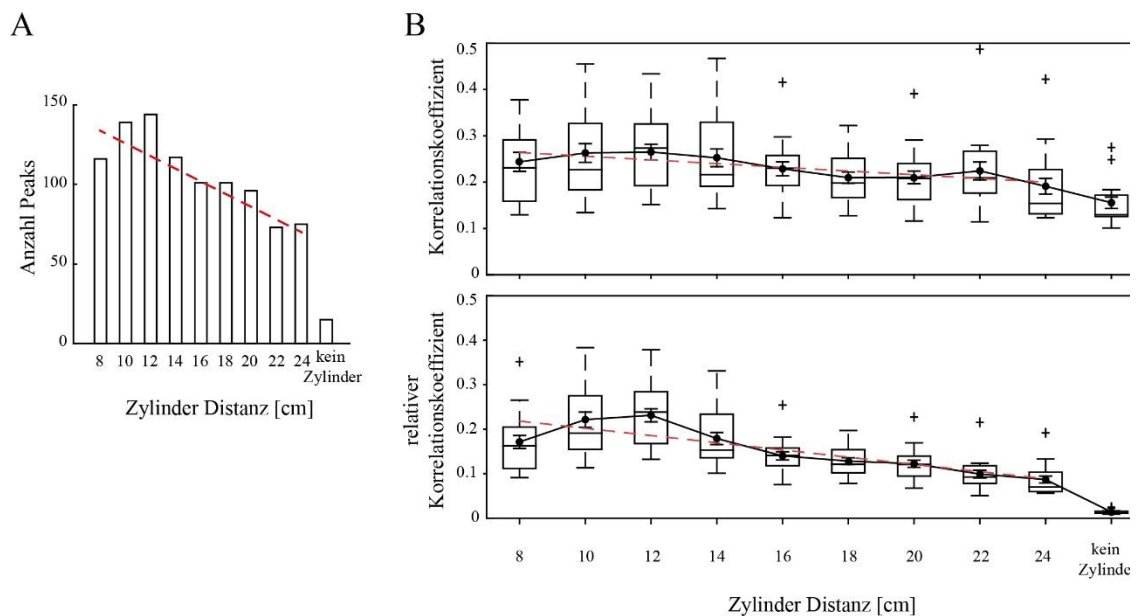


Abb. 3.13: **Peakzahl und Peakamplituden der Autokorrelationskurven.** **A:** Die Peakzahl nimmt signifikant mit steigender Zylinderdistanz ab (gestrichelte rote Linie: lineare Regression; $m = -7.9$, $p < 0.005$, $\text{adj. } R^2 = 0.722$) Maximal mögliche Peakzahl: 165. **B:** Boxplot der Amplitude der Korrelationskoeffizienten (Peakamplituden) mit Mittelwert (gefüllte Kreise) und Standardfehler. Die Peakamplitude fällt mit steigender Zylinderdistanz signifikant ab (lineare Regression: *gestrichelte rote Linie*; $m = -0,008$, $p < 0.0039$, $\text{adj. } R^2 = 0,679$). **C:** Boxplot der relativen Amplitude der Korrelationskoeffizienten (Peakamplituden) mit Mittelwert (gefüllte Kreise) und Standardfehler. Die relative Peakamplitude fällt mit steigender Zylinderdistanz signifikant ab (lineare Regression: *gestrichelte rote Linie*; $m = -0,016$, $p < 0.0022$, $\text{adj. } R^2 = 0,724$)

Abbildung 3.13, B zeigt den Verlauf der mittleren Peakamplitude (schwarze Linie mit gefüllten Kreisen und Standardfehler: Abb. 3.13, B oben) sowie der mittleren Peakamplitude in Abhängigkeit von der maximal möglichen Peakzahl (relative mittlere Peakamplitude: schwarze Linie mit gefüllten Kreisen und Standardfehler: Abb. 3.13, B unten) mit steigender Zylinderdistanz. Die mittlere Peakamplitude nahm mit steigender Zylinderdistanz signifikant ab (Abb. 3.13, B oben; lineare Regression: gestrichelte rote Linie; $m = -0.008$, $p < 0.0039$, $\text{adj. } R^2 = 0.679$). Die relative Peakamplitude fällt mit steigender Zylinderdistanz signifikant ab (Abb. 3.13, B unten: lineare Regression: gestrichelte rote Linie; $m = -0,016$, $p < 0.0022$, $\text{adj. } R^2 = 0,724$).

3.3.2.3 Neuronale Daten und PIV

Um die Strömung mit den neuronalen Daten zu vergleichen, wurden simultan zu den elektrophysiologischen Ableitungen PIV-Aufnahmen durchgeführt. Die V_y -Komponente der Strömungsvektoren wurde in einem Fenster (5x5 Vektoren) nah am Fisch (Abb. 3.14, A) berechnet. Das Fenster befand sich mittig vom Fisch, dort wo zu Beginn des Versuchs das rezeptive Feld der MON-Unit bestimmt wurde. Abbildung 3.14, B zeigt den Verlauf der Geschwindigkeit von V_y zusammen mit den Spike-Events der neuronalen Daten. Ein Burst tritt jeweils bei negativer Geschwindigkeit von V_y auf. Die Überlagerung der Korrelation der Spikes mit der Geschwindigkeit von V_y (Abb. 3.14, C) verdeutlicht die synchrone Aktivität der MON-Unit mit negativer Strömungsgeschwindigkeit.

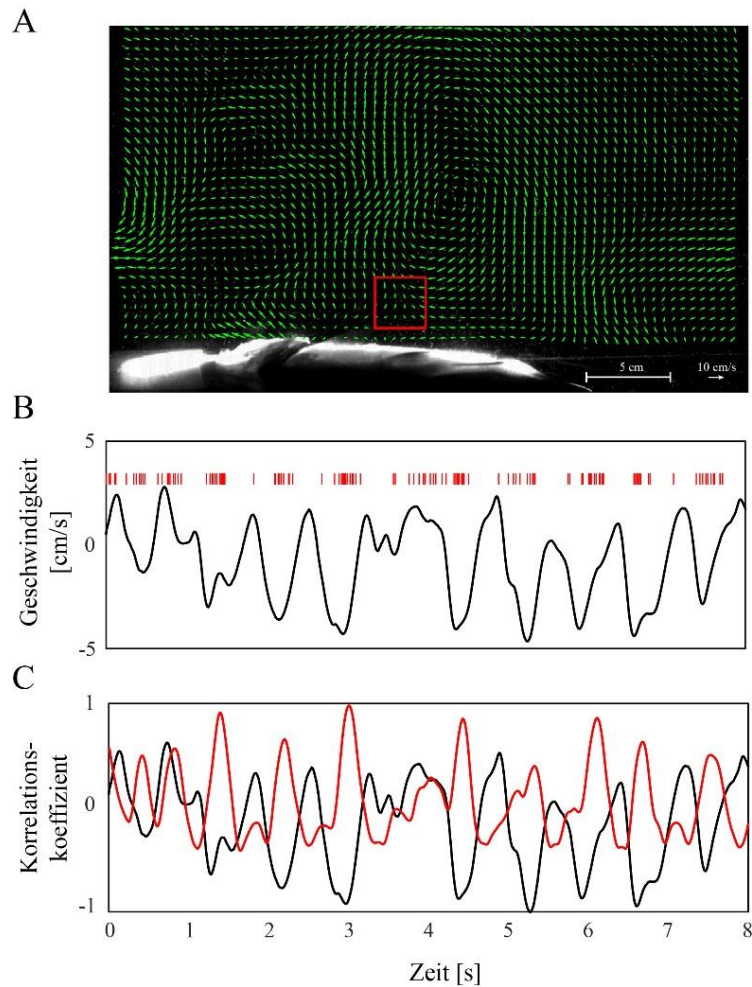


Abb. 3.14: **Korrelation von neuronalen Daten und PIV.** **A:** Strömungsfeld in der Nähe des Fisches. Die Strömung verlief von links nach rechts. Für die Darstellung des Vektorfelds wurde von allen Werten die mittlere Strömungsgeschwindigkeit subtrahiert. Ein Wirbel mit Drehsinn im Uhrzeigersinn ist in der Mitte des Bildes zu erkennen. **B:** Verlauf der Geschwindigkeit der V_y -Komponente der Strömungsvektoren innerhalb des markierten Fensters in **A**. Spikes der neuronalen Daten sind als Events (rot) mit eingezeichnet. **C:** Die Korrelation der neuronalen Daten (rot) und normierter Geschwindigkeitsverlauf von V_y (schwarz) zeigt eine synchrone Aktivität der MON-Unit mit negativer Strömungsgeschwindigkeit.

3.4 Turbulente Strömung

Im diesem Versuchsteil wurde der Einfluss von turbulenter Strömung auf die Stimulation der Seitenlinie mit Wirbelstraßen untersucht. Für die Erzeugung turbulenter Strömungen wurden zwei verschiedene Gitter genutzt.

3.4.1 PIV

3.4.1.1 Kreuzgitter (KG)

In einer ersten Versuchsreihe wurde ein KG für die Turbulenzerzeugung verwendet (Abb. 2.1, C und D). Die Streben des Gitters waren eckig und hatten eine Kantenlänge (d) von 10mm, der Abstand zwischen den Streben (g) betrug 10mm, die Maschenweite (M) war 15mm. Nach Formel 2.4 beträgt die Durchlässigkeit des KG ca. 45%. Drei verschiedene Strömungsgeschwindigkeiten wurden verwendet: 1cm/s, 7,5cm/s und 11,5cm/s. Ein Vergleich der Strömungsfelder ohne KG und mit KG ist in den Abbildungen 3.15 und 3.16 gezeigt. Das Strömungsvektorfeld mit farblich unterlegter Vortizität (Abb. 3.15) ist an jeweils einem Zeitpunkt der Aufnahme ($\cong 1$ frame) gezeigt, die RMS-Werte (Abb. 3.16) wurden über die Aufnahmedauer gemittelt. Bei einer sehr langsamen Strömungsgeschwindigkeit von 1cm/s (Abb. 3.15 und 3.16, A und B) gibt es keinen Unterschied zwischen den Strömungsfeldern mit oder ohne KG in der Strömung. Bei Strömungsgeschwindigkeiten von 7,5cm/s (Abb. 3.15 und 3.16, C und D) und 11,5cm/s (Abb. 3.15 und 3.16, E und F) verhalten sich die Strömungsfelder ähnlich. Im direkten Nachlauf des KG entstehen Verwirbelungen. Bei beiden Strömungsgeschwindigkeiten lösen sich diese nach ca. 4cm abrupt auf und im weiteren Nachlauf bestehen keine Verwirbelungen mehr. Aufgrund des weiter oben beschriebenen abrupten Auflösens der Verwirbelungen im Nachlauf des KG, wurde das KG nicht für weitere Experimente verwendet.

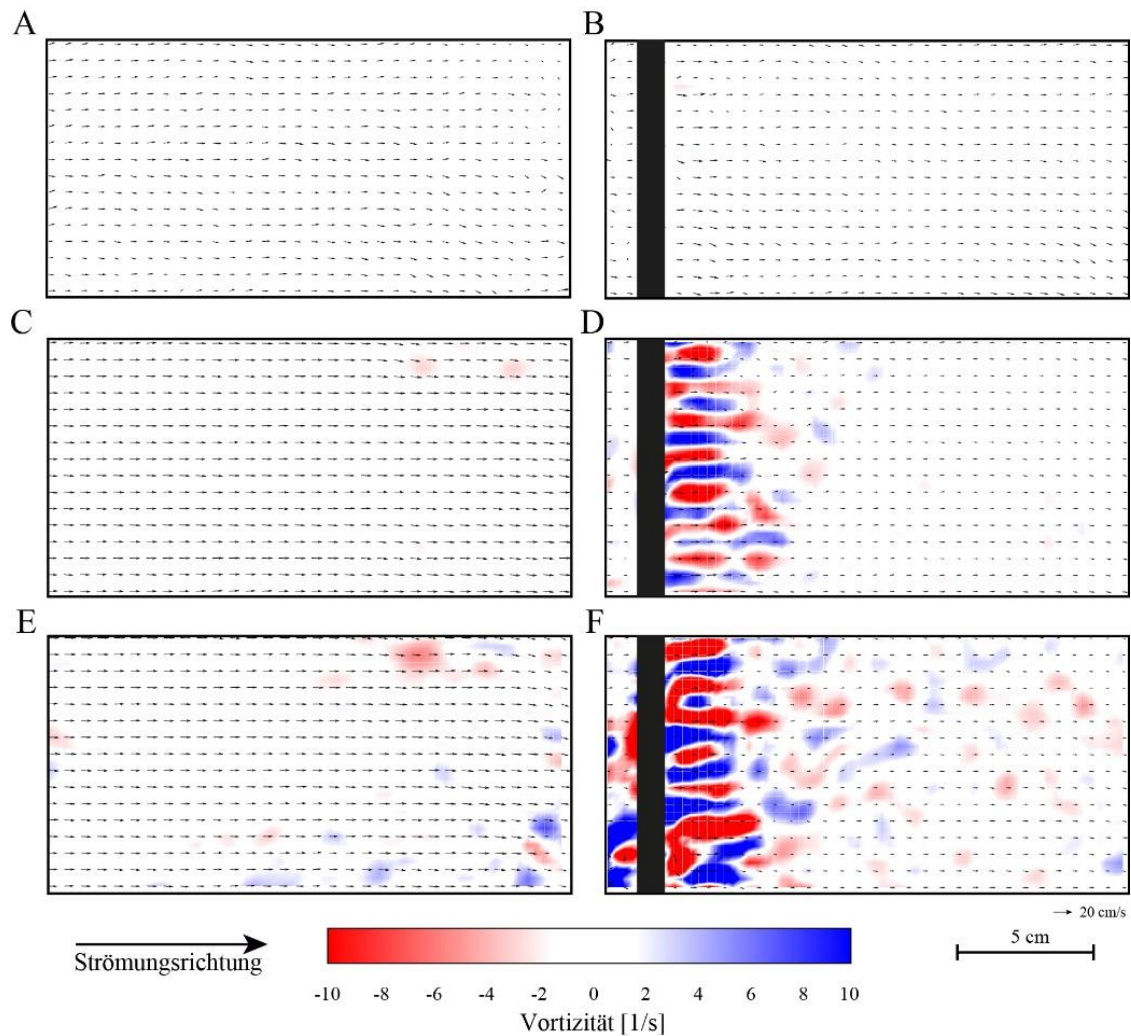


Abb. 3.15: **Strömungseigenschaften mit und ohne KG.** Die Vektoren zeigen den Betrag und die Richtung der Strömung in den jeweiligen Bereichen an. Die Vortizität ist farblich unterlegt. Es wurden drei verschiedene Strömungsgeschwindigkeiten verwendet: 1cm/s (**A,B**); 7,5cm/s (**C,D**) und 11,5cm/s (**E,F**). Hinter dem KG entstehen Verwirbelungen bei höheren Strömungsgeschwindigkeiten. Diese lösen sich nach ca. 4cm auf. Im weiteren Nachlauf des KG bestehen keine Verwirbelungen mehr.

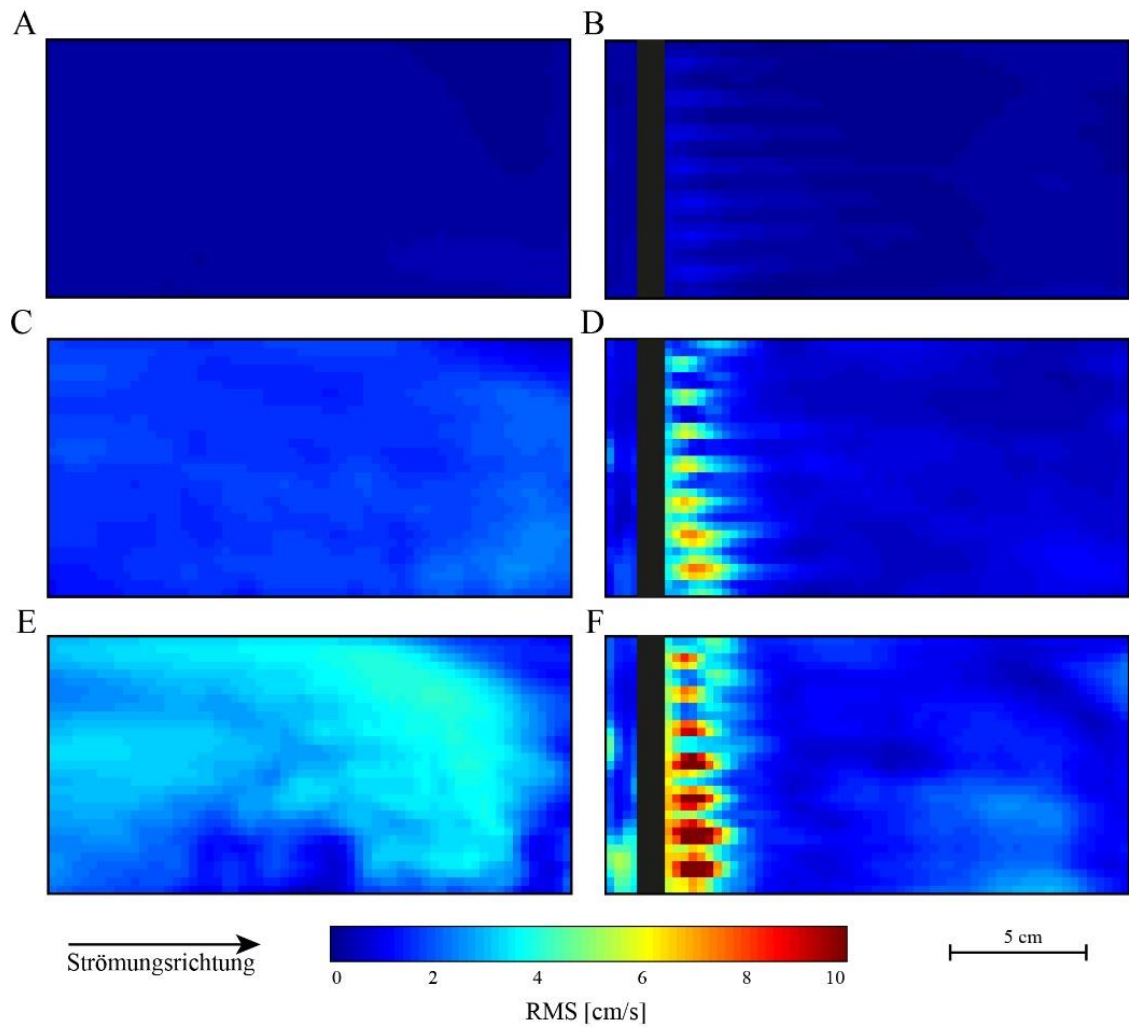


Abb. 3.16 **RMS-Werte des Strömungsfeldes mit und ohne KG.** Gezeigt sind die RMS-Werte, gemittelt über die Aufnahmedauer. Es wurden drei verschiedene Strömungsgeschwindigkeiten verwendet: 1cm/s (**A,B**); 7,5cm/s (**C,D**) und 11,5cm/s (**E,F**). Hinter dem KG entstehen Verwirbelungen bei höheren Strömungsgeschwindigkeiten. Diese lösen sich nach ca. 4cm auf. Im weiteren Nachlauf des KG bestehen keine Verwirbelungen mehr.

3.4.1.2 Zylindergitter (ZG)

In dieser Versuchsreihe wurde ein ZG für die Turbulenzerzeugung verwendet (Abb. 2.1, C und E). Dieses bestand aus vier nebeneinander angeordneten Zylindern mit einem Durchmesser (d) von 16mm. Der Abstand zwischen den Zylindern (M) betrug 35mm. Nach Formel 2.5 beträgt die Durchlässigkeit des ZG ca. 57%. Abbildung 3.17 zeigt die mittlere Strömungsgeschwindigkeit (Abb. 3.17, A und C) und die RMS-Werte der Strömungsfluktuationen (Abb. 3.17, B und D) hinter dem ZG mit einer Distanz zum Fisch von 18cm (Abb. 3.17, A und B) und 24cm (Abb. 3.17, C und D). Die höchsten mittleren Strömungsgeschwindigkeiten traten zwischen den Zylindern des ZG und neben dem Zylinder auf. Im Totwassergebiet hinter jedem Zylinder des ZG und in der Bug-Welle (bow wake) vor dem Stimulus-Zylinder war die mittlere Strömungsgeschwindigkeit am geringsten (Abb. 3.17, A und C). Die Strömungsfluktuationen (Abb. 3.17, B und D) waren bei geringen mittleren Strömungsgeschwindigkeit maximal.

Abbildung 3.18 zeigt beispielhaft den Einfluss des ZG auf die Entstehung einer KVS. Gezeigt sind die mittleren Strömungsvektoren mit farblich unterlegter Vortizität an jeweils einem Zeitpunkt ($\cong 1$ frame) der PIV Aufnahmen. Ohne ZG verlaufen die Strömungsvektoren nahezu parallel, das Strömungsfeld weist keine Turbulenzen auf und eine KVS wird gebildet (Abb. 3.18 A und B). Stromabwärts des ZG entstehen hinter jedem Zylinder des ZG einzelne Wirbelstraßen (Abb. 3.18 C und E). Diese verbinden sich ca. 5cm stromabwärts zu großräumigen Verwirbelungen. Beim Abstand von 8cm zwischen ZG und Zylinder (Abb. 3.18 C und D) wird die Ausbildung der KVS vollständig maskiert. Bei 14cm Abstand zwischen ZG und Zylinder (Abb. 3.18 E und F) ist die KVS nur teilweise maskiert.

Abbildung 3.19 zeigt die mittleren Strömungsgeschwindigkeiten (A, C, E) und RMS-Werte (B, D, F) bei Zylinderpräsentation in laminarer (oben), stark turbulenter (Mitte) und schwach turbulenter Strömung (unten). Im Bereich hinter dem Zylinder waren die mittleren Strömungsgeschwindigkeiten am geringsten und neben dem Zylinder am höchsten. Die RMS-Werte waren hinter dem Zylinder am größten und neben dem Zylinder am geringsten. Im Vergleich zu laminarer Strömung (B) verbreitert sich der Bereich erhöhter RMS-Werte hinter dem Zylinder in turbulenter Strömung. Gleichzeitig verkürzt sich dieser Bereich in Strömungsrichtung (D und F), wohingegen sich der Bereich mit verlangsamten mittleren Strömungsgeschwindigkeiten hinter dem Zylinder stromabwärts verlängert (C und E).

Die Richtungskomponenten der Strömungsvektoren wurden für ein zentrales Fenster (5x5 Vektoren, siehe Abb. 2.4) berechnet. Abbildung 3.20 zeigt in der ersten Spalte den Verlauf der Rohdaten der Geschwindigkeitskomponente senkrecht zur Strömungsrichtung (V_y). Die Autokorrelation von V_y (zweite Spalte) zeigt bei Zylinderpräsentation das charakteristische wellenförmige Muster der KVS. Die Frequenzspektren (dritte Spalte) bestätigen die Peakfrequenz der KVS von 1,1 Hz in laminarer Strömung. Bei stark turbulenter Strömung (zweite Zeile) wurde kein dominanter Frequenzpeak gefunden. Bei schwach turbulenter Strömung (dritte Zeile) nimmt die Stärke der KVS um 37,05% ab. Die Peakfrequenz hat sich von 1,1Hz auf 0,9Hz verschoben. In den Versuchen ohne Zylinder wurde kein dominanter Frequenzpeak im Bereich der VSF gefunden.

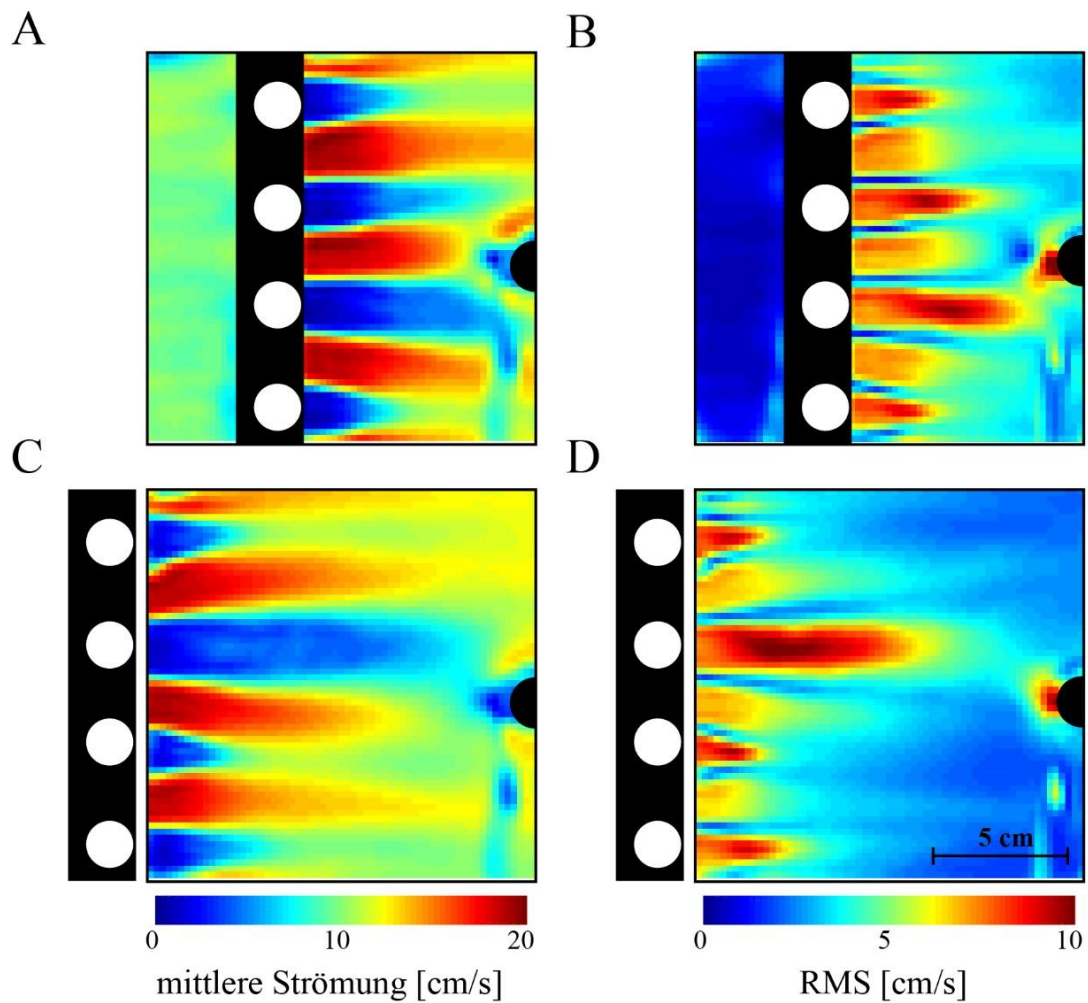


Abb. 3.17 **mittlere Strömungsgeschwindigkeit und RMS-Werte der Strömungsfuktuationen hinter dem ZG.** Gezeigt ist der Bereich hinter dem ZG mit einer Distanz zum Fisch von 18cm (**A** und **B**) und 24cm (**C** und **D**). Die höchsten mittleren Strömungsgeschwindigkeiten traten zwischen den Zylindern des ZG und neben dem Zylinder auf. Im Totwassergebiet hinter jedem Zylinder des ZG und in der Bug-Welle (bow wake) vor dem Stimulus-Zylinder war die mittlere Strömungsgeschwindigkeit am geringsten Die Strömungsfuktuationen waren bei geringen mittleren Strömungsgeschwindigkeit maximal.

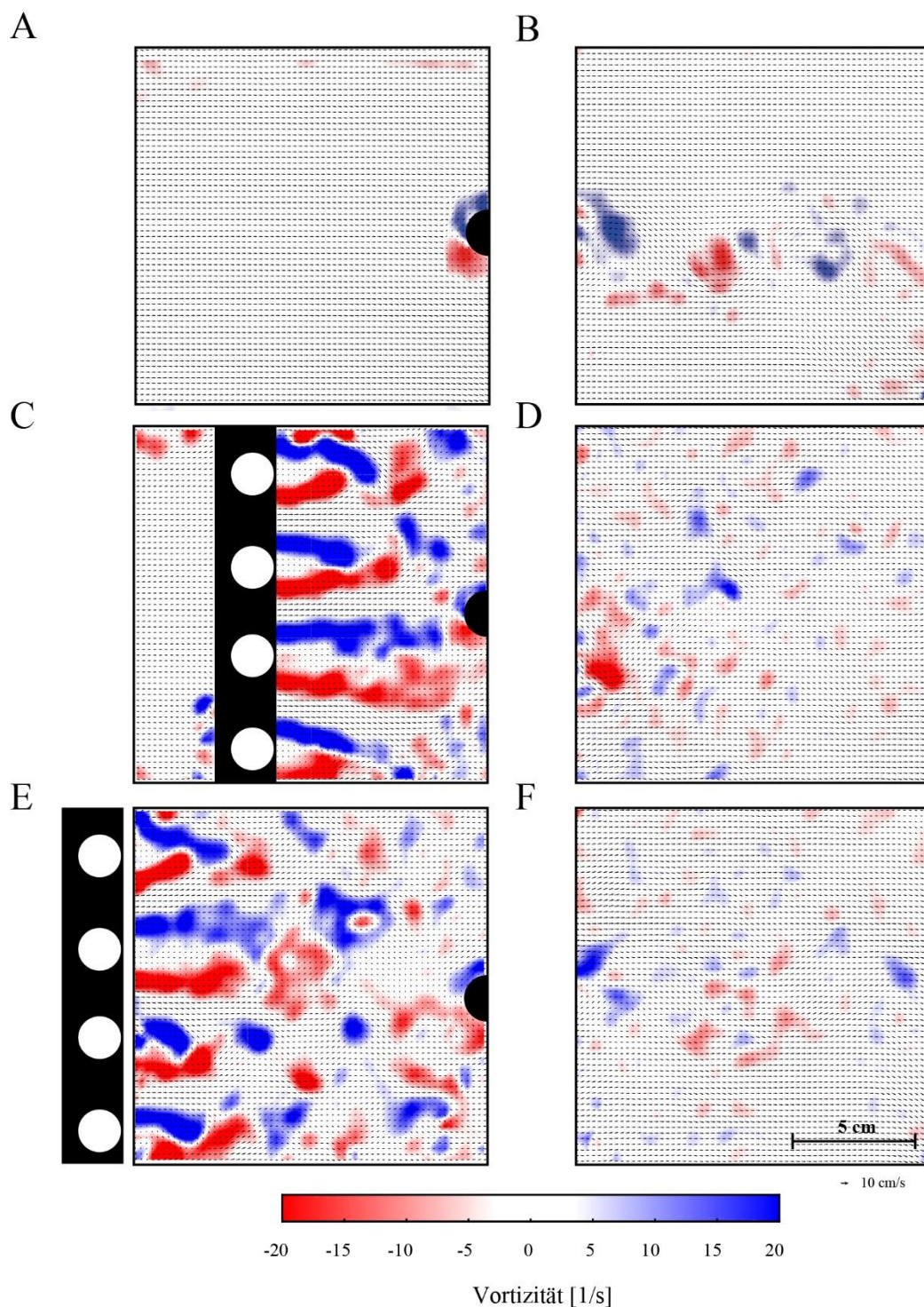


Abb. 3.18 Einfluss des ZG auf die Entstehung einer KVS. Gezeigt sind die Strömungsvektoren mit farblich unterlegter Vortizität an jeweils einem Zeitpunkt ($\cong 1$ frame) der PIV Aufnahmen im Bereich vor dem Zylinder (A,C,E) und hinter dem Zylinder (B,D,E) **A und B:** Ohne ZG verlaufen die Strömungsvektoren parallel, das Strömungsfeld weist keine Turbulenzen auf und eine KVS wird gebildet. **C und E:** Stromabwärts des ZG entstehen hinter jedem Zylinder des ZG einzelne Wirbelstraßen, welche sich ca. 5cm stromabwärts zu großräumigen Verwirbelungen verbinden. Beim Abstand von 8cm zwischen ZG und Zylinder (C und D) wird die Ausbildung der KVS vollständig maskiert. Bei 14cm Abstand zwischen ZG und Zylinder (E und F) ist die KVS nur teilweise maskiert.

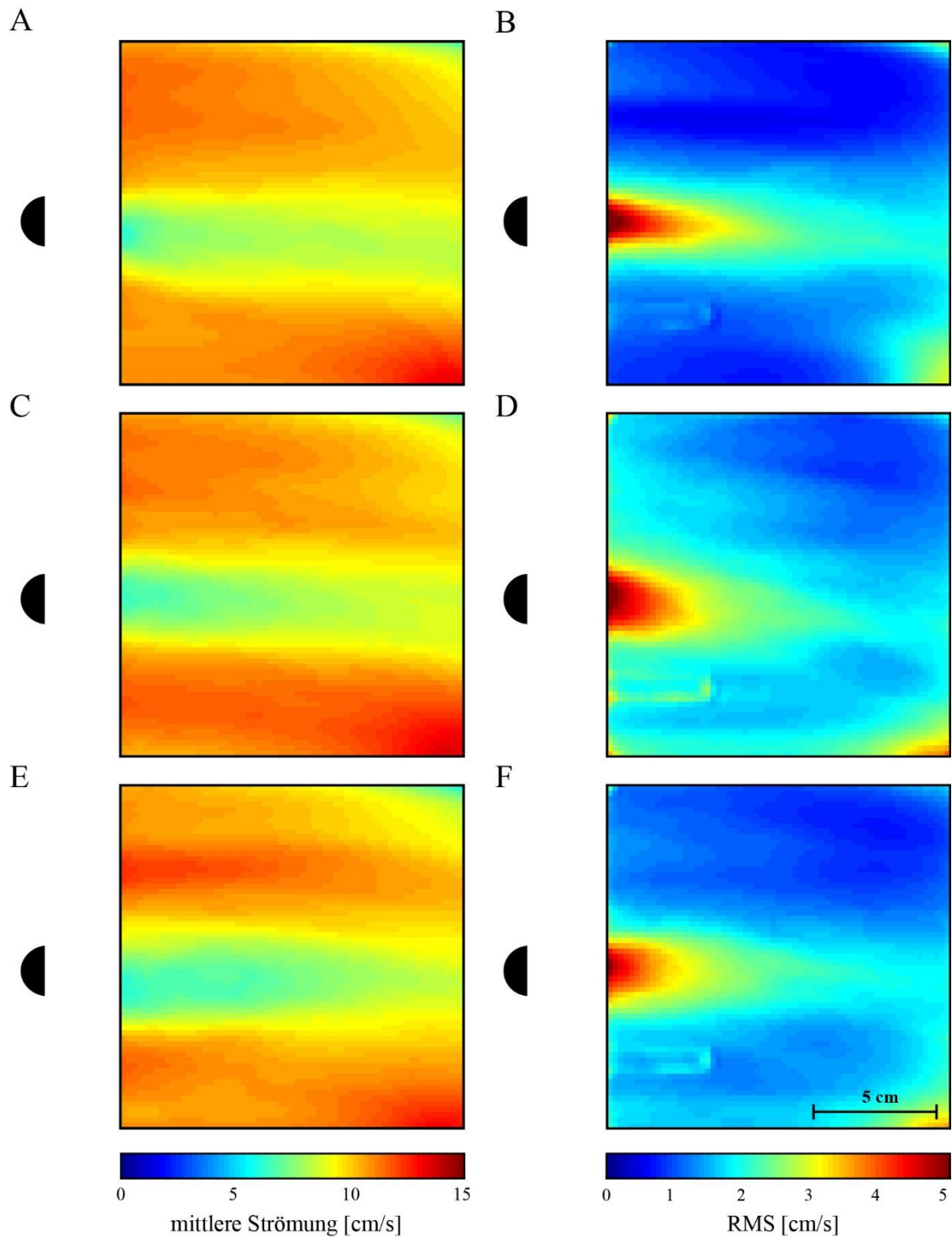


Abb. 3.19 **Mittlere Strömungsgeschwindigkeiten (A, C, E) und RMS-Werte (B, D, F) bei Zylinderpräsentation.** Die Strömung war laminarer (A und B), stark turbulente (C und D) oder schwach turbulenter (E und F). Im Bereich hinter dem Zylinder waren die mittleren Strömungsgeschwindigkeiten am geringsten und neben dem Zylinder am höchsten. Die RMS-Werte waren hinter dem Zylinder am größten und neben dem Zylinder am geringsten.

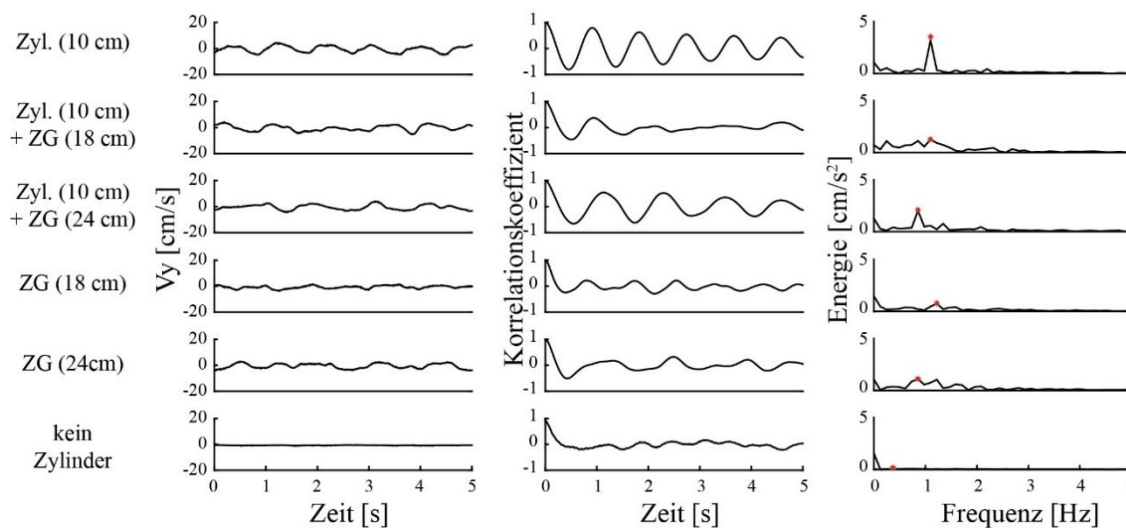


Abb. 3.20 **KVS in laminarer und turbulenter Strömung.** Die erste Spalte zeigt den Verlauf der Rohdaten der Geschwindigkeitskomponente senkrecht zur Strömungsrichtung (V_y). Die Autokorrelation von V_y (zweite Spalte) zeigt bei Zylinderpräsentation das charakteristische wellenförmige Muster der KVS. Die Frequenzspektren (dritte Spalte) bestätigen die Peakfrequenz der KVS von 1,1 Hz in laminarer Strömung. Bei stark turbulenter Strömung (zweite Zeile) wurde kein dominanter Frequenzpeak gefunden, bei schwach turbulenter Strömung (dritte Zeile) nimmt die Stärke der KVS ab. In den Versuchen ohne Zylinder (Zeile 4,5 und 6) wurde kein dominanter Frequenzpeak im Bereich der VSF gefunden.

3.4.2 Elektrophysiologische Aufnahmen

In dieser Versuchsreihe wurden 6 verschiedene Versuchsbedingungen (laminare und turbulente Strömungen) untersucht (siehe Tab. 2.1). Der Zylinderabstand betrug 10cm, der Zylinder befand sich in dieser Entfernung 3cm seitlich vom Fisch. Mit Hilfe eines Zylindergitters (Abb. 2.1, C und E) wurde ein turbulentes Strömungsfeld erzeugt. Das Zylindergitter wurde während der Versuche in den Abständen 18cm und 24cm stromaufwärts zum Fisch positioniert.

In den Versuchen mit turbulenter Strömung wurden 38 Units von 10 Rotfedern aufgezeichnet. 7 Units konnten nicht über einen experimentellen Durchgang gehalten werden und kamen deshalb nicht in die Auswertung. Von den verbliebenen 31 Units gelangen bei 20 Units ein oder zwei vollständige Durchgänge. Von 11 Units konnten drei oder mehr Durchgänge aufgezeichnet werden (Abb. 3.21, A). Beim Großteil der MON Units (27 von 38 Units) lagen die rezeptiven Felder in der Mitte des Fischrumpfes (rezeptive Felder 2 bis 6). Nur wenige MON-Units (7 von 38 Units, rezeptive Felder 0, 1, 7, 8, 9, 10) reagierten auf einen Suchreiz in unmittelbarer Nähe des Kopfes und der Kiemen oder der Schwanzflosse (Abb. 3.21, B). Unterschiede im Antwortverhalten der MON-Units in Abhängigkeit von der Position des rezeptiven Feldes wurden nicht gefunden.

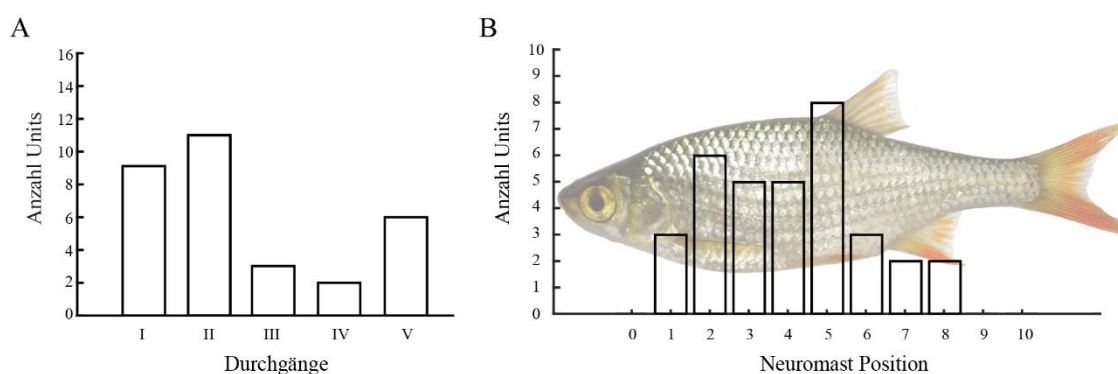


Abb. 3.21: **Anzahl vollständiger experimenteller Durchgänge und Verteilung der rezeptiven Felder**
A: Anzahl der Units mit 1, 2 oder 3 vollständig durchgeführten Durchgängen (weiße Balken: alle Units; graue Balken: auf Wirbelstraße reagierende Units). **B:** Positionen der rezeptiven Felder der abgeleiteten MON-Units.

15 Units reagierten nicht auf die Wirbelstraße, zeigten also bei keiner Versuchsbedingung eine Veränderung der Spikerate oder des Antwortmusters (für ein Beispiel siehe Abbildung 3.23). Da diese Units nicht auf die Wirbelstraße reagierten, kamen sie nicht in die weitere Auswertung.

3.4.2.1 Spikeraten

Abbildung 3.22 zeigt einen Boxplot der Spikeraten der verbliebenen 16 MON-Units. Die 16 Units zeigten im Mittel eine Aktivität von $14,24 \pm 2,28$ Spikes pro Sekunde bei laminarer Strömung (Kontrolle, grauer Boxplot) und von $14,29 \pm 2,19$ Spikes pro Sekunde gemittelt über die übrigen fünf Versuchsbedingungen. Es bestanden keine Unterschiede der Spikeraten bei unterschiedlichen Versuchsbedingungen.

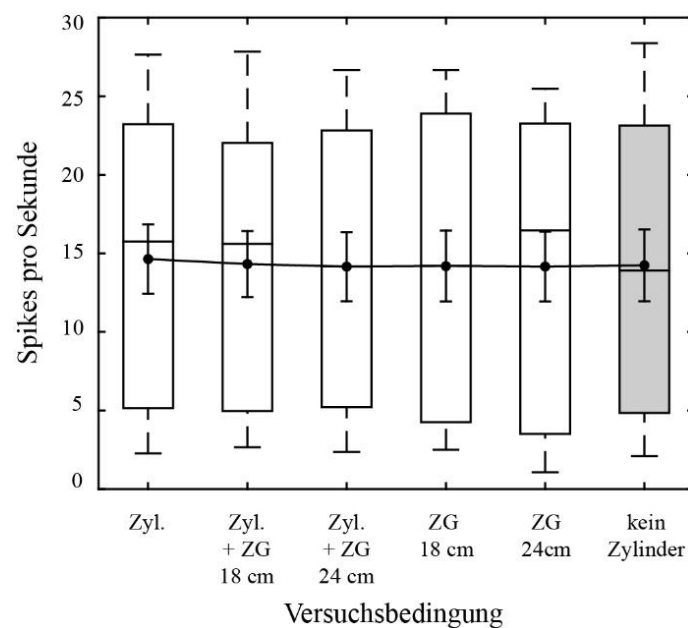


Abb. 3.22: **Spikeraten der MON Neurone.** Boxplot der Spikeraten der MON Units bei unterschiedlichen Versuchsbedingungen mit Mittelwert (gefüllte Kreise) und Standardfehler. Bei mehr als einem vollständigem Durchgang einer einzelnen Unit wurde zunächst der Mittelwert für jede Position berechnet. Es wurden keine Unterschiede der Spikeraten bei unterschiedlichen Versuchsbedingungen festgestellt.

3.4.2.2 Entladungsmuster

Die reagierenden 16 Units zeigten ein burstartiges Entladungsmuster, wenn der Zylinder in laminarer Strömung präsentiert wurde (Abb. 3.24, 3.25). In turbulenter Strömung (Zyl+ZG_{18 cm} und Zyl+ZG_{24 cm}) antworteten 8 dieser 16 Units nicht mehr auf die Wirbelstraße (Abb. 3.24). Die anderen 8 Units reagierten auch dann auf die Wirbelstraße, wenn diese in turbulenter Strömung präsentiert wurde (Abb. 3.25, Zyl+ZG_{18 cm} und Zyl+ZG_{24 cm}). Bei 7 dieser 8 Units maskierte die stark turbulente Strömung (Zyl+ZG_{18 cm}) die Wirbelstraße, sodass keine Antwort erkennbar war. Die Peakzahl bei stark turbulenter Strömung (Zyl+ZG_{18 cm}; 30 Peaks) ähnelt der Peakzahl aus der Kontrolle (kein Zylinder; 22 Peaks; Abb. 3.26, A). Bei schwach turbulenter Strömung (Zyl+ZG_{24 cm}) reagierten diese 8 Units mit burstartigen Entladungen (Abb. 3.25). Unit 11 zeigte bei stark turbulenter Strömung noch eine schwache Antwort auf die Wirbelstraße (Abb. 3.25).

Die Peakzahl nahm im Vergleich zur Zylinderpräsentation in laminarer Strömung unter allen Versuchsbedingungen stark ab (Abb. 3.27, A). In laminarer Strömung wurden 202 Peaks gefunden. Bei stark turbulenter Strömung (ZG 18cm) und bei Stimulation ohne Zylinder (nur ZG 18cm und 24cm, nur Strömung) nahm die Peakzahl stark ab (22 bis 30 Peaks). Bei schwach turbulenter Strömung (ZG 24cm) wurden ca. doppelt so viele Peaks (58) gefunden werden.

Abbildung 3.26 zeigt die Verteilung der Peaks für jede Versuchsbedingung in einem Zeitabschnitt von 5 Sekunden. Bei Präsentation des Zylinders in laminarer Strömung lagen alle Peaks (202 Peaks) in der Nähe der berechneten VSF (1,2 Hz). In stark turbulenter Strömung sowie bei den Kontrollen wurden deutlich weniger Peaks (22 bis 30 Peaks) gefunden (Abb. 3.26, 3.27). Die Streuung des zeitlichen Auftretens dieser Peaks war größer.

Abbildung 3.27, B zeigt die mittlere Peakamplitude (schwarze Linie mit gefüllten Kreisen und Standardfehler: Abb. 3.27, B oben) sowie die mittlere Peakamplitude in Abhängigkeit der maximal möglichen Peakzahl (relative mittlere Peakamplitude: schwarze Linie mit gefüllten Kreisen und Standardfehler: Abb. 3.27, B unten) für alle

Versuchsbedingungen. Die mittlere Peakamplitude bei laminarer Strömung mit Zylinder ($0,195 \pm 0,024$) unterscheidet sich signifikant von der mittleren Peakamplitude der

Kontrolle bei schwach turbulenter Strömung ($ZG_{24\text{ cm}}$: $0,016 \pm 0,0142$; zwei-Stichproben-t-test: p-Wert = $0,0375$). Die relative mittlere Peakamplitude bei laminarer Strömung mit Zylinder ($0,175 \pm 0,022$) unterschied sich hoch signifikant von allen anderen Versuchsbedingungen (zwei-Stichproben-t-test: p-Wert $< 0,0001$). Die relative mittlere Peakamplitude bei schwach-turbulenter Strömung mit Zylinder (Zylinder+ $ZG_{24\text{ cm}}$; $0,037 \pm 0,0027$) unterscheidet sich höchst signifikant von den bei allen anderen Versuchsbedingungen ermittelten Peakamplituden (zwei-Stichproben-t-test: p-Werte zwischen $0,0031$ (Vergleich mit stark turbulenter Strömung) und weniger als $0,0001$).

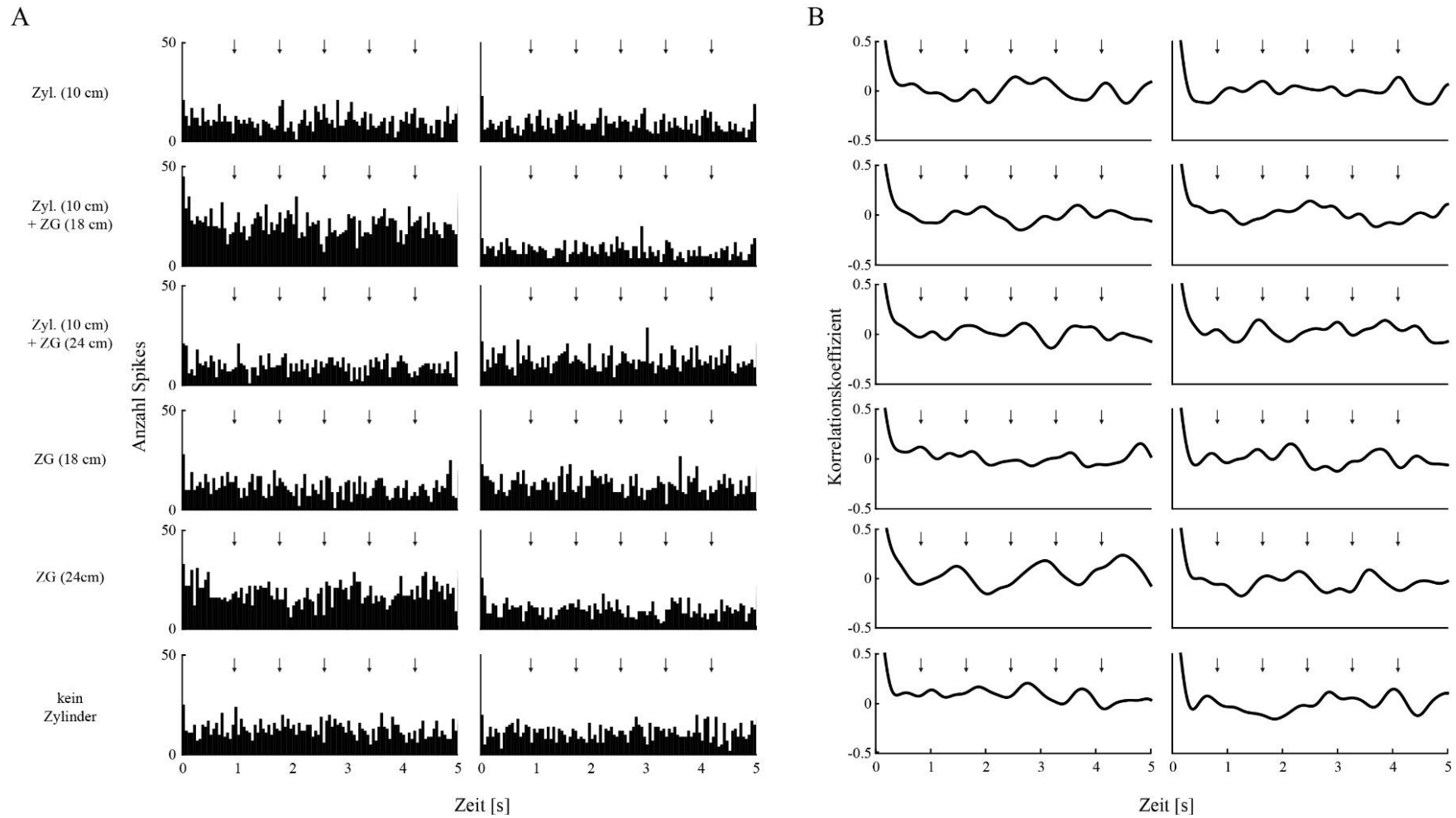


Abb. 3.23: **Beispiel einer nicht auf die Wirbelstraße reagierenden MON Unit.** ISI-Histogramme (A) und Autokorrelationskurven (B) von MON Unit 14 mit jeweils 2 Durchgängen (Spalten). Das VSD ($VSD_2 = 0,9s$) wird durch schwarze Pfeile angezeigt.

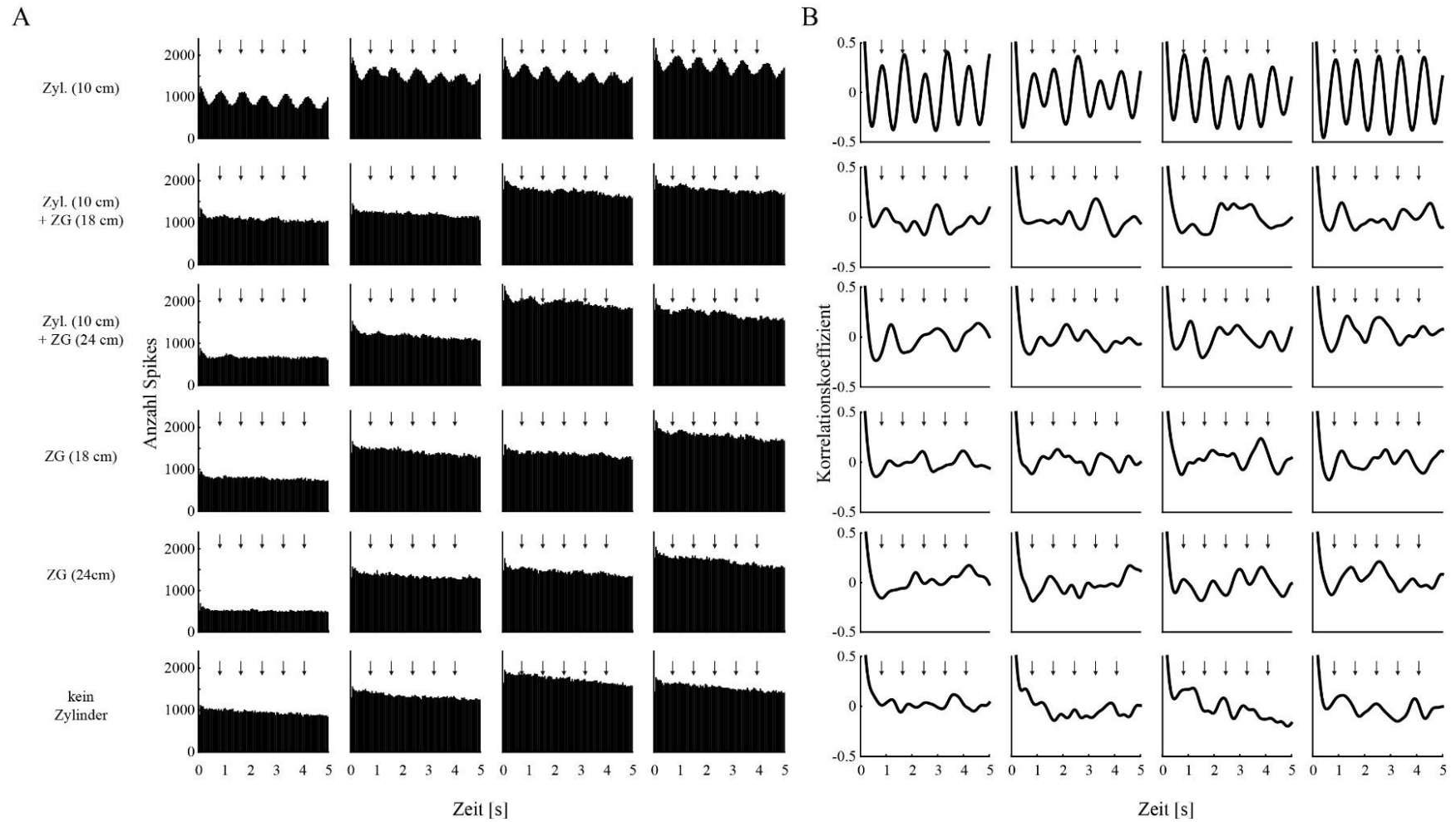


Abb. 3.24: **Beispiel einer auf die Wirbelstraße reagierenden MON Unit.** ISI-Histogramme (A) und Autokorrelationskurven (B) von MON Unit 05 mit jeweils 4 Durchgängen (Spalten). Das VSD ($VSD_1 = 0,75s$) wird durch schwarze Pfeile angezeigt.

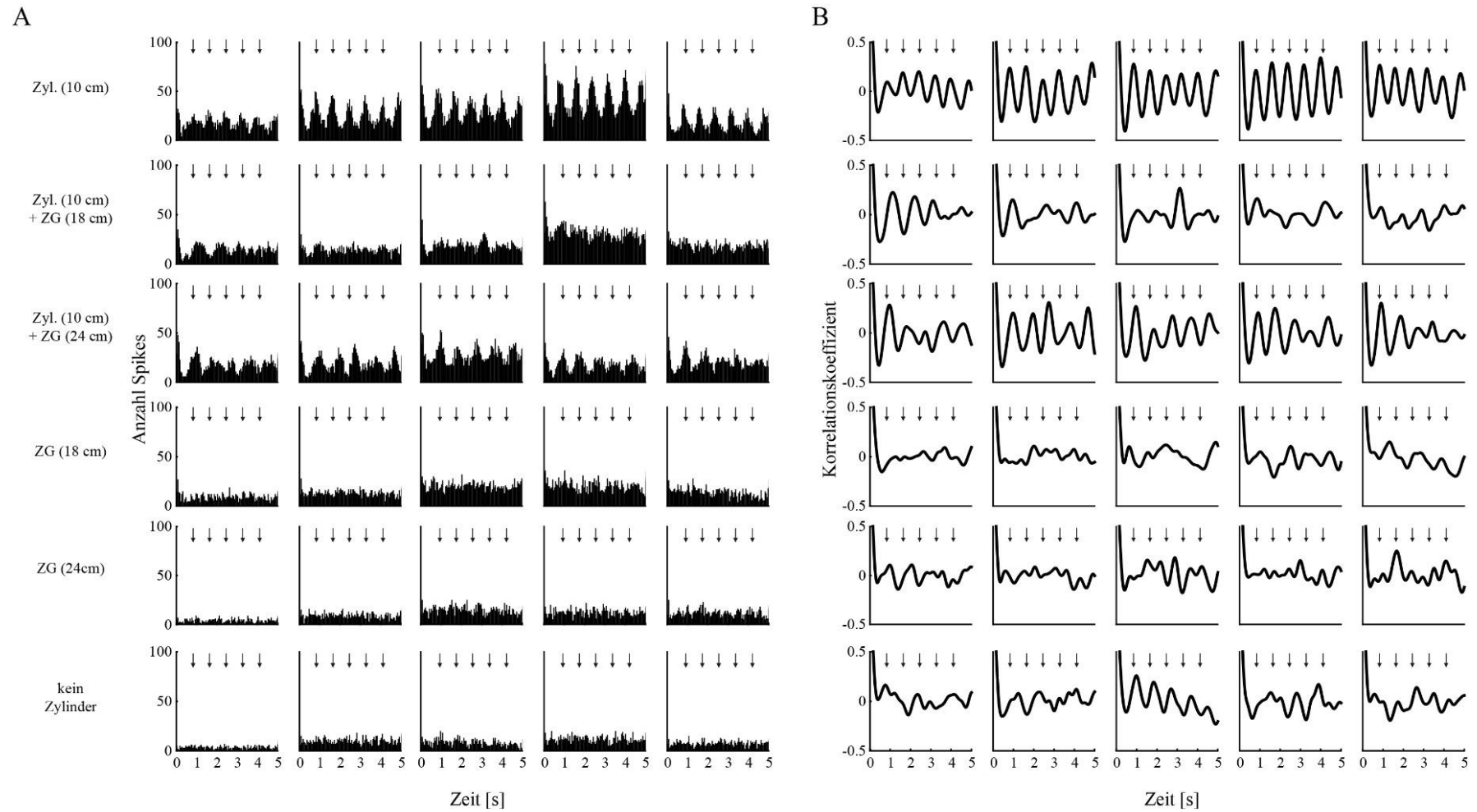


Abb. 3.25: **Beispiel einer auf die Wirbelstraße reagierenden MON Unit.** ISI-Histogramme (A) und Autokorrelationskurven (B) von MON Unit 20 mit jeweils 5 Durchgängen (Spalten). Das VSD ($VSD_1 = 0,75s$) wird durch schwarze Pfeile angezeigt.

A

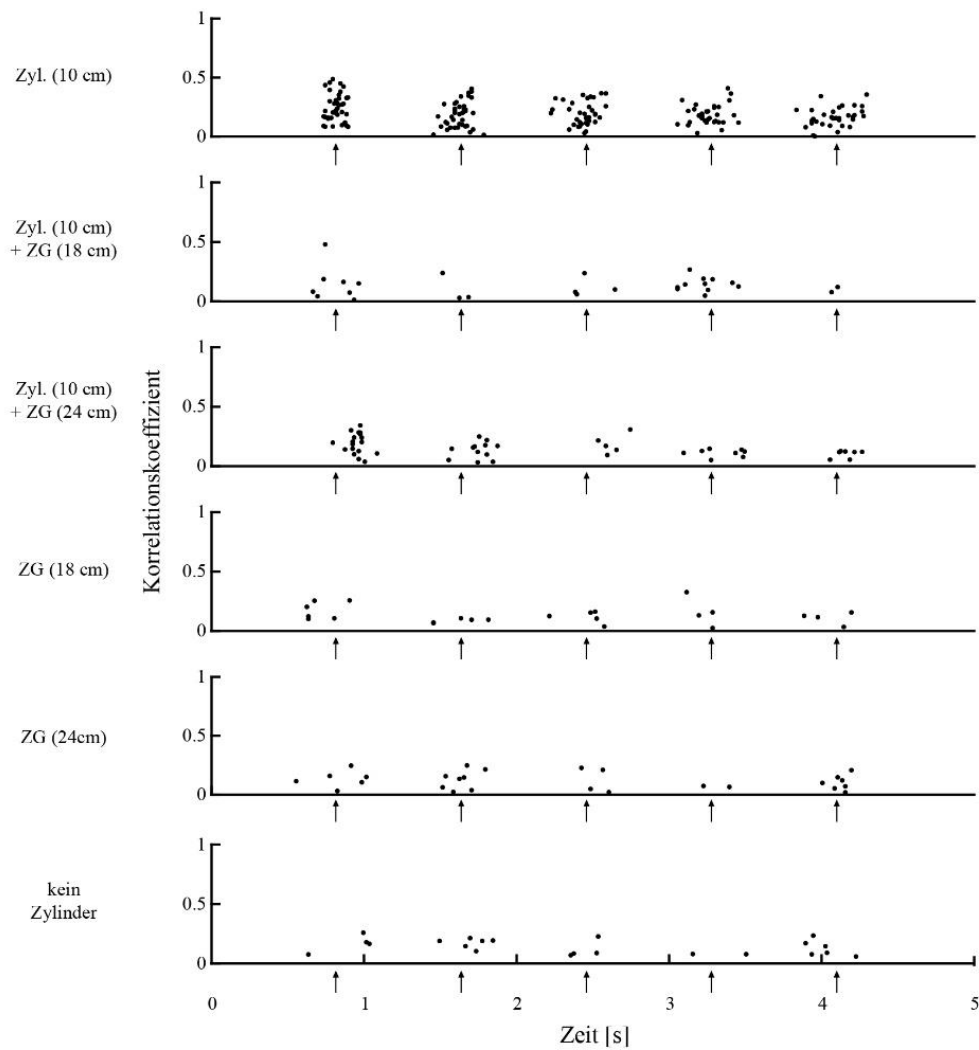


Abb. 3.26: **Peak Verteilung bei unterschiedlichen Versuchsbedingungen.** Die Peakamplituden (Korrelationskoeffizienten Werte) sind gegen die Zeit (Zeitfenster: 5 Sekunden) aufgetragen. Strömungsgeschwindigkeit: $v_1=11,5\text{cm/s}$; $VSF_1=\text{ca. } 1,33\text{ Hz}$, $VSD_1 = \text{ca. } 0,75\text{s}$.

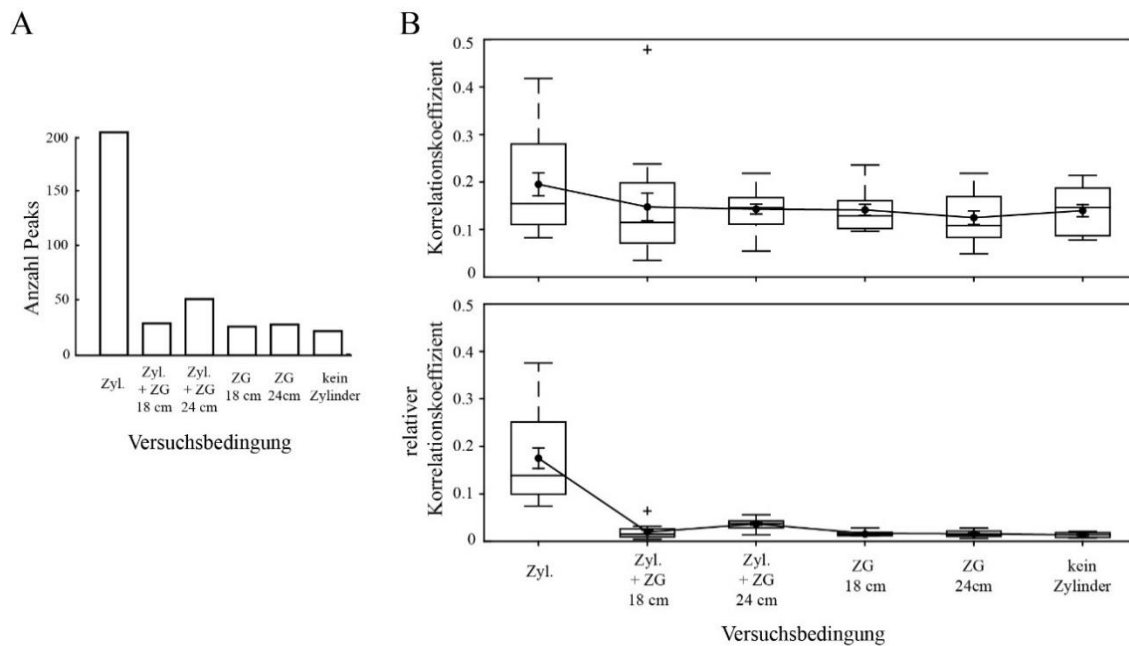


Abb. 3.27: **Peakzahl und Peakamplituden der Autokorrelationskurven.** **A:** Peakanzahl bei verschiedenen Versuchsbedingungen. Maximal mögliche Peakanzahl: 225. **B:** Boxplot der Amplitude der Korrelationskoeffizienten (Peakamplituden) mit Mittelwert (gefüllte Kreise) und Standardfehler. **C:** Boxplot der relativen Amplitude der Korrelationskoeffizienten (Peakamplituden) mit Mittelwert (gefüllte Kreise) und Standardfehler. Die relative mittlere Peakamplitude bei laminarer Strömung mit Zylinder ($0,175 \pm 0,022$) ist höchst signifikant von allen anderen Versuchsbedingungen verschieden (zwei-Stichproben-t-test: p-Wert $< 0,0001$). Die relative mittlere Peakamplitude bei schwach turbulenter Strömung mit Zylinder (Zylinder+ZG_{24cm}; $0,037 \pm 0,0027$) ist höchst signifikant von allen anderen Versuchsbedingungen verschieden (zwei-Stichproben-t-test: p-Werte zwischen 0,0031 (Vergleich mit stark turbulenter Strömung) und weniger als 0,0001).

4 Diskussion

4.1 MON-Neurone

In der vorliegenden Arbeit wurden ausschließlich Zellen aus dem MON abgeleitet. Der MON stellt die erste Verarbeitungsstation in der aufsteigenden Seitenlinienbahn dar (Wullimann and Grothe 2013) und gliedert sich nach New et al. (1996) in verschiedene Schichten und Zelltypen (siehe 1.2; Abb. 1.2). Die Crestzellschicht (CCL) beinhaltet den Großteil der Axone und Somata der zentralen Neurone. Aus diesem Grund ist die Wahrscheinlichkeit in dieser Schicht des MON abzuleiten erhöht. In der vorliegenden Arbeit lagen alle vier Läsionen im dorsalen Teil der CCL (Abb. 3.1). Die Spikeraten der zugehörigen MON-Units (Unit 12, 13, 35, 38) lagen im Mittel zwischen 4,1 (Unit 35) und 8,16 (Unit 38) Spikes pro Sekunde. Die mittlere Aktivität der anderen 42 aufgezeichneten MON-Units (Teilkapitel 3.3) war mit 10,25 Spikes pro Sekunde etwas höher. Grundsätzlich glichen sich die reagierenden MON-Units sowohl in ihrer Spikerate als auch in ihrer Antwortfrequenz. Daher ist es wahrscheinlich, dass die meisten Neurone in der dorsalen CCL abgeleitet wurden.

4.2 Zylinderdistanz

4.2.1 Strömungswahrnehmung

Mehrere Studien haben gezeigt, dass bei großräumiger Strömung sowohl primäre Afferenzen als auch MON-Neurone eine im Vergleich zum Stillwasser erhöhte Aktivität zeigen (beispielsweise Voigt et al. 2000; Carton and Montgomery 2002; Engelmann et al. 2002; Chagnaud et al. 2008a; Herzog 2016). Die Aktivitätserhöhung kann variieren und lässt sich möglicherweise mit Eingängen von Oberflächen- oder Kanalneuromasten begründen (Engelmann et al. 2000, 2002; Carton and Montgomery 2002; Chagnaud et al. 2006). Üblicherweise werden Fische bei elektrophysiologischen Experimenten mit Frischwasser, welches durch die Kiemen geleitet wird, künstlich beatmet (siehe 2.1.2). Der dadurch entstehende Wasserfluss entlang der Fischkörpers kann zu einer Erhöhung

der neuronalen Aktivität beziehungsweise zu einer Maskierung der neuronalen Antwort führen (Herzog 2016,). Die Stimulation der Seitenlinie erfolgte in dieser Arbeit mit einem komplexen Reiz in Form einer Kármánschen Wirbelstraße, für deren Ausbildung eine großräumige Wasserströmung erforderlich ist. Sowohl die Konstruktion als auch die manuelle Steuerung des strömungserzeugenden Propellers erzeugten bei einer Veränderung der Strömungsgeschwindigkeit starke Unregelmäßigkeiten und Oberflächenwellen. Dies erhöhte die Wahrscheinlichkeit, eine Ableitung bei Veränderung oder Abschaltung der Strömung zu verlieren. Daher wurden die elektrophysiologischen Ableitungen der MON-Neurone von *Scardinius erythrophthalmus* ausschließlich bei großräumiger Strömung durchgeführt. Die potentielle Maskierung neuronaler Antworten durch eine großräumige Wasserströmung oder die künstliche Beatmung der Fische ist in den weiter oben genannten Arbeiten ausführlich beschrieben. Eine schwache Maskierung ändert nichts am grundsätzlichen Antwortmuster der MON-Neurone, dennoch wird die Stärke der neuronalen Antwort mit hoher Wahrscheinlichkeit abgeschwächt. In dieser Arbeit reagierten 31 von 73 Units (49,32%) auf den präsentierten Stimulus. Diese hohe Antwortrate spricht dafür, dass nur wenige (oder keine) Units aufgrund der Maskierung durch die Strömung verloren bzw. nicht gefunden wurden.

4.2.2 Strömungsgeschwindigkeit

Es wurden zwei Strömungsgeschwindigkeiten für die Stimulation der Seitenlinie verwendet. MON-Units, die mit erhöhter Strömungsgeschwindigkeit stimuliert wurden (9 Units; $v_1=11,5\text{cm/s}$), zeigten im Mittel eine Aktivität von $9,43 \pm 6,23$ Spikes pro Sekunde bei Stimulation mit einem Zylinder (Kontrolle: $8,75 \pm 6,12$ Spikes pro Sekunde). 12 Units wurden mit geringerer Strömungsgeschwindigkeit ($v_2=9,5\text{cm/s}$) stimuliert, sie zeigten im Mittel eine Entladungsrate von $11,41 \pm 7,11$ Spikes pro Sekunde bei Stimulation mit einem Zylinder (Kontrolle: $11,4 \pm 7,78$ Spikes pro Sekunde). Nur bei Zylinderpräsentation waren die Spikeraten der MON-Units, die mit hoher Strömungsgeschwindigkeit stimuliert wurden, signifikant niedriger (zwei-Stichproben-t-test: $p=0,0475$; siehe Abb. 3.8, A), als die Spikeraten der Units, die mit langsamer Strömungsgeschwindigkeit stimuliert wurden. Weitere Abhängigkeiten der Strömungsgeschwindigkeit wurden nicht festgestellt.

4.2.3 Spikerate

MON-Units antworten sowohl mit einer Erhöhung als auch mit einer Verringerung der Spikerate während der Stimulation mit einem Zylinder (Klein et al. 2015). In der vorliegenden Arbeit reagierten 8 MON-Units im Vergleich zur Kontrolle im Mittel mit einer Erhöhung der Spikerate von $\geq 20\%$ auf die Wirbelstraße. Eine Verringerung der Spikerate im Vergleich zur Kontrolle wurde bei keiner Unit gefunden. Im Gegensatz zu den in dieser Arbeit abgeleiteten MON-Units wurden keine primären Afferenzen gefunden, die mit einer signifikanten Zu- oder Abnahme ihrer Spikerate auf eine Wirbelstraße reagierten (Chagnaud et al. 2007a). In der vorliegenden Arbeit zeigten zwei MON-Units eine signifikante Abnahme ihrer Spikerate mit steigender Zylinderdistanz. Eine dieser beiden Units (Unit 24) zeigte keine Erhöhung der Spikerate in Gegenwart des Zylinders. Die Spikerate von Unit 24 war bei Zylinderdistanzen $> 16\text{cm}$ sogar geringer als in der Kontrolle. Die restlichen MON-Neurone zeigten keine Abhängigkeit der Spikerate von der Zylinderdistanz. MON-Unit 12 (Abb. 3.10) zeigte eine Zunahme der Spikerate mit jedem experimentellen Durchgang. Dies kann auf einen erhöhten physiologischen Stress des Neurons hindeuten. Bei Stimulation mit einer Wirbelstraße zeigten 21 von 42 Units ein burstartiges Entladungsmuster (Abb. 3.7, A). Die mittleren Spikeraten blieben dennoch unverändert.

4.2.4 Entladungsmuster

Im Gegensatz zu den Spikeraten bestanden teilweise deutliche Unterschiede in der zeitlichen Antwort der MON-Units. Jede Unit zeigte bei mindestens einer Zylinderposition ein burstartiges Entladungsmuster. 12 der 21 Units (5 Units mit v_1 stimuliert, 7 Units mit v_2 stimuliert) zeigten ein burstartiges Entladungsmuster bei allen Zylinderpositionen (maximaler Zylinderabstand 24 cm, Abb. 3.10). Die restlichen 9 Units zeigten ein burstartiges Entladungsmuster nur bei Zylinderpositionen $< 16\text{cm}$ (Abb. 3.11). Primäre afferente Nervenfasern leiten die sensorischen Informationen der Haarsinneszellen zum zentralen Nervensystem. Hierbei können Typ 1 und Typ 2 Fasern unterschieden werden. Ableitungen vom PLLN unter Still- und Fließwasserbedingungen haben gezeigt, dass Typ 1 Afferenzen ON innervieren, während Typ 2 Afferenzen KN innervieren (Engelmann et al. 2002). MON-Units erhalten folglich Eingänge von ON, KN oder von beiden Neuromastentypen. KN haben

eine geringere Strömungssensitivität als ON und reagieren auch bei Hintergrundströmung noch deutlich auf einen Dipolstimulus (Engelmann et al. 2002). Die in der vorliegenden Arbeit aufgezeichneten MON-Units, die noch bei maximaler Zylinderdistanz ein burstartiges Entladungsmuster zeigten, erhalten wahrscheinlich Eingänge vom Kanalsystem. Die anderen MON-Units erhielten möglicherweise Eingänge von ON.

Mit Hilfe von PIV Aufnahmen wurde die Intensität der KVS bestimmt (Abb.3.4, C). Sie war maximal bei der geringsten Zylinderdistanz (8cm) und nahm mit steigender Zylinderdistanz signifikant ab (Abb. 3.5). Aus den neuronalen Daten wurden 144 von 165 Peaks (87,27%) bei einer Zylinderdistanz von 12cm gefunden (Abb. 3.13, A). Sowohl Peakzahl als auch relative Peakamplitude nahmen mit steigender Zylinderdistanz (>12cm) signifikant ab (Abb. 3.13, B). Hierfür gibt es zwei Erklärungen: Einerseits erhielt ein Teil der MON-Units, wie weiter oben beschrieben, Eingänge von ON und ein anderer Teil von KN. In den neuronalen Daten der MON-Units mit ON Eingängen (z.B. Abb. 3.11) wurden bei größeren Zylinderdistanzen folglich nur wenige Peaks gefunden. Andererseits führte die bei steigender Zylinderdistanz geringer werdende Intensität der KVS auch bei den MON-Units mit ON Eingängen zu einer Abnahme der Peakzahl und der relativen Peakamplitude. Obwohl die Intensität der KVS jeweils größer war (Abb. 3.4, C), waren es bei einem Zylinderabstand von 8cm nur 116 Peaks (70,31%) und bei 10cm 139 Peaks (84,24). Die Wirbelablösung und die vollständige Wirbelausbildung finden im Nachlauf des Zylinders statt. Das abwechselnde Aufeinanderfolgen von Wirbeln unterschiedlichen Drehsinns (vollständig ausgebildete Wirbelstraße) ist die Grundlage für das Detektieren der Peaks in den neuronalen Daten. In der vorliegenden Arbeit war die Wirbelstraße erst nach 10 bis 12cm vollständig ausgebildet (Abb.3.2). Aus diesem Grund wurden bei geringeren Zylinderdistanzen weniger Peaks gefunden. In den Kontrollen wurden nur wenige Peaks gefunden (15 Peaks $\hat{=}$ 9,09%). Diese waren in keinem Fall auf burstartige Entladungsmuster zurückzuführen.

4.3 Turbulente Strömung

4.3.1 KG und ZG

Die Turbulenzbildung stromabwärts eines Gitters erfolgt zunächst ungleichmäßig. Kurz hinter dem Gitter entsteht ein Bereich, der stark durch die direkten Blockierungseffekte der Gitterstreben geprägt ist, eine homogen-turbulente Strömung entsteht erst mit größerem Abstand zum Gitter (Roach 1986). In den KG-Versuchen der vorliegenden Arbeit erstreckte sich dieser Bereich bis etwa 3cm bis 4cm stromabwärts des Gitters (Abb. 3.15 und 3.16). Darauf folgt allerdings kein homogen-turbulenter Bereich. Während einige Studien den Abfall der turbulenten Energie als linear beschreiben (beispielsweise Roach 1986; Uijttewaal and Jirka 2003), erfolgt in der vorliegenden Arbeit ein abrupter Abfall der Energie etwa 4cm stromabwärts vom Gitter. Roach (1986) nennt einige Faktoren, die bei der Turbulenzerzeugung mit einem Gitter zu drastischen Veränderungen führen können: z.B. die Gittergröße oder Gittergeometrie, die Entstehung von Grenzschichten am Gitter oder an den Kanalwänden oder die Rauheit der Gitteroberfläche. Ein weiterer Faktor kann die Durchlässigkeit des Gitters sein. Ist diese zu gering ($< 50\%$), kann dies zu Instabilitäten in der Strömung führen. Nach Formel 2.4 beträgt die Durchlässigkeit des KG der vorliegenden Arbeit 45%, möglicherweise eine Ursache für das abrupte Abbrechen der Turbulenzen. Gitter können in Strömungsuntersuchungen sowohl für die Erzeugung als auch für die Reduzierung von Turbulenzen verwendet (Roach 1986). Etwa 5cm stromabwärts des KG sind die RMS-Werte bei einer Strömungsgeschwindigkeit von 11,5cm/s (Abb. 3.16 **Fehler! Verweisquelle konnte nicht gefunden werden.**, F) im Mittel geringer als die RMS-Werte der Kontrolle (Abb. 3.16, E). Ursache hierfür kann einer der zahlreichen weiter oben beschriebenen potentiellen Faktoren sein.

Nachdem sich das KG als ungeeignet für die weiteren Versuche herausgestellt hat, wurde ein ZG für die Erzeugung turbulenter Strömung genutzt. Aufgrund der vertikalen Ausrichtung der Zylinder erfolgt die Bildung der Turbulenzen besonders in der x-y-Ebene. Verwirbelungen in z-Richtung werden somit reduziert, dennoch bleibt ein komplexes 3D-System der Wirbelstrukturen bestehen, indem horizontal ausgerichtete Wirbel nicht unabhängig voneinander bestehen können (Fincham et al. 1996).

Die turbulente Strömung kann erst nach einer bestimmten Distanz, die von der Maschenweite und dem Durchmesser des ZG abhängt, als homogen angesehen werden (Roach 1986; Uijtewaal and Jirka 2003). Die Distanz zwischen Fisch und Stimulationszylinder wurde folglich so gewählt, dass die Distanz groß genug damit sich die Wirbelstraße vollständig ausbilden konnte. Andererseits war auch der Abstand zum Zylindergitter (Distanz zum Fisch) ausreichend, damit der Zylinder nicht im direkten Nachlauf des ZG war.

4.3.2 Spikeraten

In der vorliegenden Arbeit reagierten 3 MON-Units im Vergleich zur Kontrolle im Mittel mit einer Erhöhung der Spikerate von mindestens 20% auf die Wirbelstraße. Zwei dieser Units zeigten eine Spikeratenerhöhung im Vergleich zur Kontrolle bei allen Versuchsbedingungen mit Ausnahme von Versuchsbedingung V (ZG-Distanz 24cm). Die größte Spikeratenerhöhung war jeweils bei Stimulation mit Zylinder in laminarer Strömung. Die Wirbelstraße wurde durch die turbulente Strömung maskiert, sodass die Spikeratenerhöhung im Vergleich zur Stimulation mit Zylinder in laminarer Strömung abgeschwächt wurde. Die anderen 13 MON-Units zeigten im Vergleich zur Kontrolle weder eine Veränderung der Spikerate bei Stimulation mit einer Wirbelstraße noch in turbulenter Strömung (mit oder ohne Zylinder). Unit 05 zeigte eine Zunahme der Spikerate mit jedem experimentellen Durchgang. Dies kann auf einen erhöhten physiologischen Stress des Neurons hindeuten. Eine Verringerung der Spikerate im Vergleich zur Kontrolle wurde bei keiner Unit gefunden.

4.3.3 Entladungsmuster

16 von 31 MON-Units reagierten auf die Stimulation mit einem Zylinder in laminarer Strömung mit einem burstartigen Entladungsmuster. In turbulenter Strömung (Zyl+ZG_{18 cm} und Zyl+ZG_{24 cm}) zeigten 8 dieser 16 Units keine Antwort mehr auf die Wirbelstraße (Abb. 3.24). Die anderen 8 Units reagierten bei schwach turbulenter Strömung (Zyl+ZG_{24 cm}) noch immer mit burstartigen Entladungen (Abb. 3.25). MON-Units erhalten, wie schon weiter oben beschrieben, Eingänge von ON, weniger strömungssensitiven KN oder von beiden Neuromastentypen. Die 8 MON-Units, die auch bei turbulenter Strömung ein burstartiges Entladungsmuster zeigten, erhielten wahrscheinlich Eingänge vom Kanalsystem. Die anderen MON-Units erhielten möglicherweise Eingänge von ON. Nur eine Unit (Unit 11) zeigte bei stark turbulenter Strömung noch eine schwache Antwort auf die Wirbelstraße (Abb. 3.25).

Abbildung 3.26 zeigt die Verteilung der Peaks für jede Versuchsbedingung in einem Zeitabschnitt von 5 Sekunden. Bei Präsentation des Zylinders in laminarer Strömung lagen alle Peaks nahe der berechneten VSF (1,2 Hz). Durch das Zylindergitter verlangsamte sich die Strömung im Umfeld des Zylinders. Folglich verringerte sich die VSF von 1,2 Hz auf 1,1 Hz. Diese Verringerung der VSF spiegelt sich auch in den neuronalen Antworten bei Zylinderpräsentation in schwach turbulenter Strömung wieder.

Die Peakzahl nahm im Vergleich zur Zylinderpräsentation in laminarer Strömung unter allen anderen Versuchsbedingungen stark ab (Abb. 3.27, A). In den Kontrollen wurden nur 22 Peaks gefunden. Diese waren in keinem Fall auf burstartige Entladungsmuster zurückzuführen und wurden zufällig gefunden. Auch zufällig detektierte Peaks können eine ähnliche Amplitude haben, wie Peaks die aus einer Antwort auf die Zylinderpräsentation entstehen. Ein Vergleich der Mittelwerte ist also wenig aussagekräftig. Setzt man die Peakamplitude ins Verhältnis mit der Peakzahl der jeweiligen Versuchsbedingung, gibt die relative Peakamplitude einen besseren Vergleich (Abb. 3.27).

Bei Zylinderpräsentation in laminarer Strömung ($0,175 \pm 0,022$) unterschied sich die relative Peakamplitude höchst signifikant von allen anderen Versuchsbedingungen (zwei-Stichproben-t-test: p-Wert $< 0,0001$). Bei Zylinderpräsentation in schwach turbulenter Strömung (Zylinder+ZG_{24cm}; $0,037 \pm 0,0027$) unterschied sie sich signifikant von allen anderen Versuchsbedingungen (zwei-Stichproben-t-test: p-Werte zwischen $0,0031$ (Vergleich mit Zylinderpräsentation in stark turbulenter Strömung) und weniger als $0,0001$).

4.4 Fazit

In dieser Arbeit wurden die Antworten von medullären Seitenliniennuronen auf Wirbelstraßen in laminarer und turbulenter Strömung untersucht. Es wurde gezeigt, dass MON-Units in laminarer Strömung mit einer Abnahme der Spikerate auf eine steigende Zylinderdistanz reagieren können und dass die Intensität der Antworten von MON-Units bei steigender Zylinderdistanz abnimmt. Es wurden zwei verschiedene Antworttypen identifiziert, welche sich möglicherweise mit der mit der Innervierung der MON Neurone durch ON oder KN begründen lassen. Es wurde gezeigt, dass MON Neurone auch unter turbulenten Strömungsverhältnissen Informationen einer Wirbelstraße abbilden können. Für eine bessere Vergleichbarkeit sollten in Zukunft weitere elektrophysiologische Untersuchungen an verschiedenen Spezies und weiteren Kerngebieten durchgeführt werden.

Literaturverzeichnis

- Bleckmann H (1993) role of lateral line in fish behavior. In: T. J. Pitcher, Behavior of teleost fish. pp 201–245
- Bleckmann H (1994) Reception of hydrodynamic stimuli in aquatic and semiaquatic animals. In: W Rathmayer (ed) Progress in Zoology, Vol. 41. Gustav Fischer, Stuttgart
- Bleckmann H (2008) Peripheral and central processing of lateral line information. *J Comp Physiol A Neuroethol Sens Neural Behav Physiol* 194:145–58 . doi: 10.1007/s00359-007-0282-2
- Bleckmann H, Mogdans J (2014) Neuronal basis of source localization and the processing of bulk water flow with the lateral line. In: Flow sensing in air and water Behavioral, neural and engineering principles of operation. Springer, Berlin, Heidelberg, pp 371–398
- Bleckmann H, Mogdans J, Engelmann J, et al (2004) Wie Fische Wasser fühlen: Das Seitenliniensystem. *Biol unserer Zeit* 34:358–365 . doi: 10.1002/biuz.200410266
- Blevins R (1990) Flow-induced vibration. Van Nostrand Reinhold
- Carton AG, Montgomery JC (2002) Responses of lateral line receptors to water flow in the Antarctic notothenioid, *Trematomus bernacchii*. *Polar Biol* 25:789–793
- Chagnaud BP, Bleckmann H, Engelmann J (2006) Neural responses of goldfish lateral line afferents to vortex motions. *J Exp Biol* 209:327–42 . doi: 10.1242/jeb.01982
- Chagnaud BP, Bleckmann H, Hofmann MH (2007a) Kármán vortex street detection by the lateral line. *J Comp Physiol A Neuroethol Sensory, Neural, Behav Physiol* 193:753–763 . doi: 10.1007/s00359-007-0230-1
- Chagnaud BP, Bleckmann H, Hofmann MH (2008a) Lateral line nerve fibers do not code bulk water flow direction in turbulent flow. *Zoology* 111:204–217 . doi: 10.1016/j.zool.2007.07.009

- Chagnaud BP, Bleckmann H, Hofmann MH (2007b) Kármán vortex street detection by the lateral line. *J Comp Physiol A Neuroethol Sens Neural Behav Physiol* 193:753–63 . doi: 10.1007/s00359-007-0230-1
- Chagnaud BP, Brücker C, Hofmann MH, Bleckmann H (2008b) Measuring flow velocity and flow direction by spatial and temporal analysis of flow fluctuations. *J Neurosci* 28:4479–87 . doi: 10.1523/JNEUROSCI.4959-07.2008
- Coombs S, Mogdans J, Halstead M, Montgomery J (1998) Transformation of peripheral inputs by the first-order lateral line brainstem nucleus. *J Comp Physiol A* 182:609–626
- Dehnhardt G, Mauck B, Hanke W, Bleckmann H (2001) Hydrodynamic trail-following in harbor seals (*Phoca vitulina*). *Science* 293:102–4 . doi: 10.1126/science.1060514
- Engelmann J, Hanke W, Bleckmann H (2002) Lateral line reception in still- and running water. *J Comp Physiol A Neuroethol Sens Neural Behav Physiol* 188:513–26 . doi: 10.1007/s00359-002-0326-6
- Engelmann J, Hanke W, Mogdans J, Bleckmann H (2000) Neurobiology: Hydrodynamic stimuli and the fish lateral line. *Nature* 408:51–52
- Fincham AM, Maxworthy T, Spedding GR (1996) Energy dissipation and vortex structure in freely decaying, stratified grid turbulence. *Dyn Atmos Ocean* 23:155–169 . doi: [http://dx.doi.org/10.1016/0377-0265\(95\)00415-7](http://dx.doi.org/10.1016/0377-0265(95)00415-7)
- Görner P (1963) Untersuchungen zur Morphologie und Elektrophysiologie des Seitenlinienorgans vom Krallenfrosch (*Xenopus laevis* Daudin). *J Comp Physiol* 47:316–338
- Hanke W, Bleckmann H (2004) The hydrodynamic trails of *Lepomis gibbosus* (Centrarchidae), *Colomesus psittacus* (Tetraodontidae) and *Thysochromis ansorgii* (Cichlidae) investigated with scanning particle image velocimetry. *J Exp Biol* 207:1585–1596 . doi: 10.1242/jeb.00922
- Hanke W, Brücker C, Bleckmann H (2000) The ageing of the low-frequency water disturbances caused by swimming goldfish and its possible relevance to prey detection. *J Exp Biol* 203:1193–200

- Herzog H (2016) Entwicklung bionischer Strömungsmessverfahren basierend auf Untersuchungen des Seitenliniensystems der Fische
- Hofmann V (2010) Responses of midbrain lateral line units in the torus semicircularis of the goldfish, *carassius auratus*, to bulk water flow. Rheinische Friedrich-Wilhelms-Universität Bonn
- Kerr JR, Manes C, Kemp PS (2016) Assessing hydrodynamic space use of brown trout, *Salmo trutta*, in a complex flow environment: a return to first principles. *J Exp Biol* 219:187–197 . doi: 10.1242/jeb.134775
- Klein A, Bleckmann H (2011) Determination of object position, vortex shedding frequency and flow velocity using artificial lateral line canals. *Beilstein J Nanotechnol* 2:276–83 . doi: 10.3762/bjnano.2.32
- Klein A, Winkelkemper J, Dylida E, Bleckmann H (2015) Medullary lateral line units of rudd, *Scardinius erythrophthalmus*, are sensitive to Kármán vortex streets. *J Comp Physiol A* 201:691–703 . doi: 10.1007/s00359-015-1016-5
- Kröther S, Mogdans J, Bleckmann H (2002) Brainstem lateral line responses to sinusoidal wave stimuli in still and running water. *J Exp Biol* 205:1471–84
- Künzel S, Mogdans J, Bleckmann H (2011) Responses of brainstem lateral line units to different stimulus source locations and vibration directions. *J Comp Physiol A* 197:773–787
- Liao JC (2007a) A review of fish swimming mechanics and behaviour in altered flows. *Philos Trans R Soc Lond B Biol Sci* 362:1973–93 . doi: 10.1098/rstb.2007.2082
- Liao JC (2003) The Karman gait: novel body kinematics of rainbow trout swimming in a vortex street. *J Exp Biol* 206:1059–1073 . doi: 10.1242/jeb.00209
- Liao JC (2007b) A review of fish swimming mechanics and behaviour in altered flows. *Philos Trans R Soc Lond B Biol Sci* 362:1973–1993 . doi: 10.1098/rstb.2007.2082
- McHenry MJ, Strother J a, van Netten SM (2008) Mechanical filtering by the boundary layer and fluid-structure interaction in the superficial neuromast of the fish lateral line system. *J Comp Physiol A Neuroethol Sens Neural Behav Physiol* 194:795–810 . doi: 10.1007/s00359-008-0350-2

- McHenry MJ, van Netten SM (2007) The flexural stiffness of superficial neuromasts in the zebrafish (*Danio rerio*) lateral line. *J Exp Biol* 210:4244–53 . doi: 10.1242/jeb.009290
- Montgomery J, Bodznick D (1994) An adaptive filter that cancels self-induced noise in the electrosensory and lateral line mechanosensory systems of fish. *Neurosci Lett* 174:145–148
- Pohlmann K, Atema J, Breithaupt T (2004) The importance of the lateral line in nocturnal predation of piscivorous catfish. *J Exp Biol* 207:2971–8 . doi: 10.1242/jeb.01129
- Przybilla A, Kunze S, Rudert A, et al (2010) Entraining in trout: a behavioural and hydrodynamic analysis. *J Exp Biol* 213:2976–86 . doi: 10.1242/jeb.041632
- Roach PE (1986) The generation of nearly isotropic turbulence by means of grids. 82–92
- Schmitz A, Bleckmann H, Mogdans J (2008) Organization of the superficial neuromast system in goldfish, *Carassius auratus*. *J Morphol* 269:751–61 . doi: 10.1002/jmor.10621
- Stewart WJ, Tian F, Akanyeti O, et al (2016) Refuging rainbow trout selectively exploit flows behind tandem cylinders. *J Exp Biol* 0–5 . doi: doi:10.1242/jeb.140475
- Thielicke W, Stamhuis EJ (2014) PIVlab – Towards User-friendly, Affordable and Accurate Digital Particle Image Velocimetry in MATLAB. *J Open Res Softw* 2:e30 . doi: 10.5334/jors.bl
- Uijttewaal WSJ, Jirka GH (2003) Grid turbulence in shallow flows. *J Fluid Mech* 489:325–344 . doi: 10.1017/S0022112003005020
- van Netten SM (2006) Hydrodynamic detection by cupulae in a lateral line canal: functional relations between physics and physiology. *Biol Cybern* 94:67–85 . doi: 10.1007/s00422-005-0032-x
- Vogel D, Bleckmann H (1997) Surface wave discrimination in the topminnow *Aplocheilichthys lineatus*. *J Comp Physiol* 671–681
- Vogel S (1996) *Life in Moving Fluids: The physical biology of flow*. In: Princeton University Press. New Jersey

- Voigt R, Carton a G, Montgomery JC (2000) Responses of anterior lateral line afferent neurones to water flow. *J Exp Biol* 203:2495–2502
- Webb JF (2014) Lateral line morphology and development and implications for the ontogeny of flow sensing in fishes. In: H B, J M, S C (eds) *Flow sensing in air and water Behavioral, neural and engineering principles of operation*. Springer, Berlin, Heidelberg, pp 247–270
- Webb JF, Montgomery J, Mogdans J (2008) Bioacoustics and the lateral line system of fishes. In: Webb JF, Fay RR, Popper AN (eds) *Fish Bioacoustics*, 1st edn. Springer, New York, pp 145–182
- Wullmann MF, Grothe B (2013) The central nervous organization of the lateral line system. In: Coombs S, Bleckmann H (eds) *The mechanosensory lateral line*. Springer, New York
- Yang Y, Klein A, Bleckmann H, Liu C (2011) Artificial lateral line canal for hydrodynamic detection. *Appl Phys Lett* 99:23701 . doi: 10.1063/1.3610470

Anhang

A. Ringer Lösung

Ringer Lösung	1000 ml
Destilliertes Wasser	700 ml
NaCl	5,902 g
KCl	0,261 g
NaHCO ₃	2,100 g
TRIS-Puffer	0,121g
MgSO ₄	0,296 g
CaCl ₂	0,277 g

B. Cresyl-Violet-Färbe Protokoll

1	Ethanol 70%	1 min	
2	Ethanol 80%	1 min	
3	Ethanol 96%	1 min	
4	Isopropanol 100% I	1 min	
5	Isopropanol 100% II	1 min	
6	Isopropanol 100% III	1 min	
7	Xylol I	3 min	
8	Xylol II	3 min	
9	Xylol III	3 min	
10	Isopropanol 100% III	1 min	
11	Ethanol 96%	1 min	
12	Ethanol 80%	1 min	
13	Ethanol 70%	1 min	
14	Aqua bidest. I	10 min	
15	Cresyl violet (0.2 %)	5-7 min	
16	Aqua bidest. I	5-10 sec	
17	Aqua bidest. II	0.5 – 1 min	
18	Ethanol 70%	}	auf Sicht entfärben
19	Ethanol 80% + 2 Tropfen acetic acid		
20	Ethanol 96%		

21	Isopropanol 100% I	5 min
22	Isopropanol 100% II	5 min
23	Isopropanol 100% III	5 min
24	Xylol I	5 min
25	Xylol II	5 min
26	Xylol III	5 min
27	Eindeckeln Roth Histokit II	

Publikationen

1. Medullary lateral line units of the rudd, *Scardinius erythrophthalmus*, and the nase, *Chondrostoma nasus*, encode the distance to an upstream object.
J. Winkelnkemper, S. Kranz and H. Bleckmann (*Journal of Comparative Physiology A*)
2017
2. Medullary lateral line neurons of rudd, *Scardinius erythrophthalmus*, are sensitive to Kármán vortex streets.
A. Klein, J. Winkelnkemper, E. Dylida and H. Bleckmann (*Journal of Comparative Physiology A*) **2015**