

**Antwortverhalten medullärer  
Seitenlinienneurone von  
rheophilen Fischen auf kármánsche  
Wirbelstraßen**

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

vorgelegt von  
SIMON KRANZ  
aus  
Euskirchen  
Bonn 2019

1. Gutachter: Prof. Dr. Horst Bleckmann

2. Gutachter: PD Dr. Joachim Mogdans

Tag der Promotion: 29.11.2019

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

Erscheinungsjahr:2020

# Inhaltsverzeichnis

Inhaltsverzeichnis	2
Abbildungsverzeichnis	4
Zusammenfassung	6
Mitarbeit	7
1 Einleitung	8
Ziele der Arbeit	17
2 Material und Methoden	18
2.1 Versuchstiere	18
2.2 Präparation	18
2.3 Versuchsaufbau	20
2.4 Erzeugung von Wirbelstrassen	22
2.5 PIV	22
2.6 Elektroden	23
2.7 Ableitung	23
2.8 Unitsuche	24
2.9 Reaktion von MON-Units auf die laterale Verschiebung des Zylinders	26
2.10 Antwortverhalten von MON-Units als Funktion der Zylinderentfernung	27
2.11 Reaktion von MON-Units auf unterschiedliche Drehrichtung der Wirbel	28
2.12 Datenanalyse	29
2.12.1 Elektrophysiologische Ableitung bei simultaner PIV	31
2.13 Histologische Färbungen mit Cresyl-Violett	32
2.14 DASPEI	33
3 Ergebnisse	34
3.1 Histologische Färbungen mit Cresylviolett	34
3.2 Lebendfärbungen mit Daspei	35
3.3 Laterale Verschiebung des Zylinders	38
3.3.1 Laterale Verschiebung des Zylinders, <i>C. nasus</i>	39

3.3.2	Laterale Verschiebung des Zylinders, <i>Oncorhynchus mykiss</i>	42
3.4	Antwortverhalten von MON-Units als Funktion der Zylinderentfernung	45
3.4.1	Kontrolle der VSF mittels PIV	52
3.5	Einfluss der Wirbeldrehrichtung	54
3.5.1	Elektrophysiologische Ableitung des MON bei simultaner PIV	62
3.6	Lokalisation der Ableitstellen	70
4	Diskussion	72
4.1	Histologische Untersuchungen	72
4.1.1	Aufbau der Medulla	72
4.1.2	DASPEI-Färbung	72
4.2	Elektrophysiologische Untersuchungen	73
4.2.1	Laterale Verschiebung des Zylinders	73
4.2.2	Antwortverhalten von MON-Units als Funktion der Zylinderentfernung	73
4.2.3	Wirbeldrehrichtung:	75
4.2.4	Vergleich limnophiler und rheophiler Arten	77
4.3	Fazit	78
	Literaturverzeichnis	79
	Anhang	85
	A Ringer Lösung	85
	B Beschichtung Objektträger	85
	C Cresyl-Violet-Färbeprotokoll	85
	Publikationen	87
	Danksagung	88

## Abbildungsverzeichnis

Abb. 1 Oberflächen- und Kanalneuromasten	11
Abb. 2 Transversalschnitt durch die Medulla von <i>C. auratus</i>	13
Abb. 3: Schematische Zeichnung eines Cyprinidengehirns mit Projektionen der Seitenlinie	14
Abb. 4A: Durch einen Zylinder verursachte Kármánsche Wirbelstraße B: Von einem Fisch verursachte Wirbelstraße	15
Abb. 5: Versuchsaufbau	20
Abb. 6 Arbeitsbereich des Strömungskanals	21
Abb. 7: Lettvin Elektrode	23
Abb. 8: Einzelzelleableitung	25
Abb. 9 Versuchsprotokoll	27
Abb. 10 Zylinderpositionen während der Versuche	28
Abb. 11 Zylinderpositionen zur Reizung der rechten Seitenlinie mit Wirbeln unterschiedlicher Drehrichtung	29
Abb. 12: Datenprozessierung	30
Abb. 13: Beispiel einer PIV-Aufnahme	32
Abb. 14 Transversalschnitt durch die Medulla von <i>C. nasus</i>	35
Abb. 15: Neuromastenverteilung bei der Nase	37
Abb. 16: Neuromastenverteilung bei der Regenbogenforelle	38
Abb. 17: Anzahl der aufgenommenen Durchgänge aller Units	39
Abb. 18: 40 Sekunden einer Einzelableitung von Unit 5	39
Abb. 19: Beispielauswertung für Unit 6	40
Abb. 20: Autokorrelationsmaxima	41
Abb. 21: Anzahl der aufgenommenen Durchgänge aller Units	42
Abb. 22: 40 Sekunden Beispielantwort Unit 1	42
Abb. 23: Beispielauswertung von Durchgang 1, Unit 1	43
Abb. 24: Boxplot Spikerates	44
Abb. 25 Anzahl der durchgeführten Durchgänge aller Units	45
Abb. 26: Beispielantwort von Unit 4 ( <i>C. nasus</i> )	45
Abb. 27: Auswertungen von Unit 4 ( <i>C. nasus</i> )	47
Abb. 28: Korrelationspeaks	48
Abb. 29: Abstand zur berechneten VSF und Amplitude aller Autokorrelationsmaxima aller als reaktiv eingestufte Units	49
Abb. 30: Korrelationskoeffizientenmaxima aller 9 reaktiven Units als Funktion der Zylinderentfernung	50

Abb. 31: A: Zeitdifferenz. B: Zweistichproben-T-Test	51
Abb. 32 Antwortverhalten aller als reaktiv eingestuften Units in Abhängigkeit der Zylinderposition	52
Abb. 33 Vortizität	53
Abb. 34 PIV-Auswertung	54
Abb. 35: Anzahl der aufgenommenen Durchgänge aller Units	54
Abb. 36: PIV-Auswertung der v-Komponente bei Zylinderposition 1	55
Abb. 37: PIV-Auswertung der u-Komponente bei Zylinderposition 1	56
Abb. 38: PIV-Auswertung der v-Komponente bei Zylinderposition 2	56
Abb. 39 PIV-Auswertung der u-Komponente bei Zylinderposition 2	57
Abb. 40: Beispielauswertung Durchgang 2 Unit 2	58
Abb. 41: Korrelationsmaxima	60
Abb. 42: Abstand zur berechneten VSF und Amplitude aller Autokorrelationsmaxima der 9 Units	61
Abb. 43: Zylinderposition 1 v-Komponente und Events	63
Abb. 44: Zylinderposition 1 u-Komponente und Events	64
Abb. 45: Zylinderposition 2 v-Komponente und Events	66
Abb. 46: Zylinderposition 2 u-Komponente und Events	67
Abb. 47: Beispielauswertung, Durchgang 2, Unit 969	
Abb. 48: Ableitorte.	70

## Zusammenfassung

Fische und Amphibien sind mithilfe der mechanosensorischen Seitenlinie in der Lage, Wasserbewegungen und Druckgradienten zu detektieren. Die Detektion dieser Reize erfolgt durch Oberflächenneuromasten auf der Haut der Fische und Kanalneuromasten in den Seitenlinienkanälen. Neuromasten bestehen aus Haarsinneszellen, die von einer gallertartigen Cupula überzogen sind. Wasserbewegungen führen zu einer mechanischen Verformung der Cupula, wodurch die Haarsinneszellen ausgelenkt werden. Die Anzahl der Oberflächen- und Kanalneuromasten variiert je nach Fischart deutlich. Hinter stationären Objekten in Strömungen bilden sich turbulente Verwirbelungen. Bei zylindrischen Objekten erfolgen diese Verwirbellungen regelmäßig und in gegenläufiger Drehrichtung, was als Kármánsche Wirbelstraße bezeichnet wird. Ähnliche Wirbelstraßen, die jedoch seitenverkehrt aufgebaut sind, werden von schwimmenden Fischen erzeugt. Die Wirbelstraßen und die in ihnen enthaltenen Informationen können von Fischen zum energiesparenden Schwimmen in Strömung, zum Aufspüren von Artgenossen und Beute sowie als Warnung vor Räubern benutzt werden. Die wenigen bisherigen elektrophysiologischen Untersuchungen von Fischen, die mit Wirbelstraßen gereizt wurden, konzentrierten sich auf limnophile Arten, die zumeist nur in einem bestimmten Abstand mit Wirbelstraßen gereizt wurden. Die vorliegende Arbeit hat die Empfindlichkeit rheophiler Fischarten auf die Wirbelstraße untersucht. Hierbei wurde die Entfernung des Zylinders zum Fisch sowohl in horizontaler, als auch in vertikaler Richtung variiert. Bei den Untersuchungen wurde gezeigt, dass MON-Units von Nasen mit burstartigen Antworten auf die Reizung mit einer Wirbelstraße reagieren und dass die Wirbelstraßen auch noch bei größeren Zylinderentfernungen zum Fisch neuronal nachgewiesen werden können. Die relative Peakamplitude der untersuchten Units fällt hierbei mit zunehmender Zylinderentfernung signifikant ab. Für die Erkennung von Fischverursachten Wirbelstraßen wurde vermutet, dass MON-Neurone unterschiedlich auf Wirbel verschiedener Drehrichtung reagieren könnten. Dies konnte jedoch nur bei wenigen Units nachgewiesen werden.

## **Mitarbeit**

Die vorliegende Arbeit wurde von einem Bachelor of Science Studenten, der von mir betreut wurde, unterstützt. Clemens Overkott hat im Zuge der Forschungen zur Erlangung seines Bachelors 92 Units aufgenommen. Das Versuchsdesign und die Auswertungsskripte wurden von mir entwickelt. Für die vorliegende Arbeit wurden alle Units erneut ausgewertet und um weitere Ableitungen ergänzt. Das Matlab-Skript zur Bestimmung der Autokorrelationsmaxima wurde in Teilen von Jan Winkelkemper programmiert und von mir angepasst.



# 1 Einleitung

Die Detektion von Strömungen und Bewegungen des umgebenden Mediums ist eine verbreitete Fähigkeit in vielen Tierfamilien und Lebensräumen. Die beteiligten Sinnessysteme weisen dabei eine hohe morphologische Vielfalt auf. Luftströmungen werden von Mechanorezeptoren an Vogelfedern (Brown and Fedde 1993), filiformen Haaren auf den Cerci von Grillen (von Rath 1887; Gnatzy and Schmidt 1971; Bischof 1974) und den Trichobothrien der Spinnen (Barth 1967; Barth 2001) sensorisch erfasst. Die Vibrissen wasserbewohnender Säugetiere wie Seehunde und Wasserspitzmäuse können ebenfalls dafür genutzt werden Wasserbewegungen wahrzunehmen (Dehnhardt et al. 1998; Hanke et al. 2000; Dehnhardt et al. 2001; Catania et al. 2008). Krokodile und Alligatoren können mit Hilfe ihrer integumentalen sensorischen Organe (Integumental sensory organs, ISOs) Oberflächenwellen detektieren (Soares 2002; Grap et al. 2015). Strömungssensoren sind demnach phylogenetisch weit verbreitet und morphologisch sehr divers.

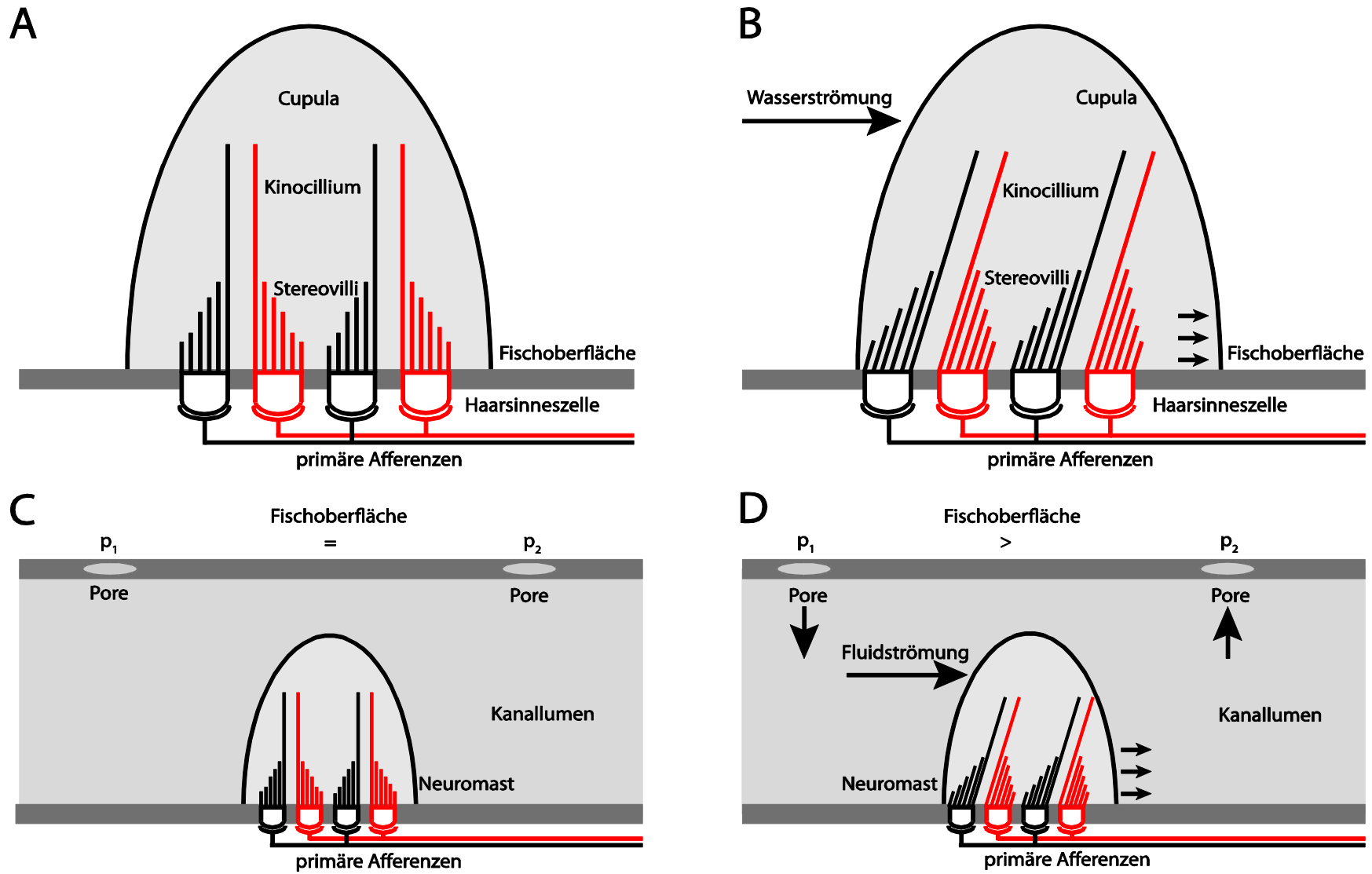
Bei Fischen hat sich ein spezialisiertes Sinnessystem zum Detektieren von Wasserbewegungen herausgebildet: Die Seitenlinie (Dijkgraaf 1952; Dijkgraaf 1962; Review: Bleckmann 2008). Die Seitenlinie ist für alle 33.000 (fishbase.org) bisher entdeckten Fischarten und einige Amphibienarten beschrieben. Die kleinsten sensorischen Einheiten der Seitenlinie sind die Neuromasten. Sie bestehen aus mehreren Dutzend bis einigen Tausend Haarsinneszellen (Bleckmann 1994), die in zwei Gruppen antagonistisch angeordnet sind. Jede Haarsinneszelle hat an ihrem apikalen Ende bis zu 150 Stereovilli und ein randständiges Kinozilium. Die Stereovilli nehmen in ihrer Länge zum Kinozilium hin zu (Hudspeth and Corey 1977). Dies ist im Aufbau vergleichbar mit den Haarsinneszellen im Innenohr der Säugetiere, die jedoch über kein randständiges Kinozilium verfügen. Die Stereovilli sind mit einem großen Protein, dem sogenannten Tip-Link (Rouse and Pickles 1991; Pickles and Corey 1992) miteinander verbunden. Beim Auslenken der Stereovilli in Richtung zum Kinozilium werden mechanisch gesteuerte Ionenkanäle geöffnet und eine Depolarisation erfolgt. Bei Auslenkung des Zilienbündels in die entgegengesetzte Richtung kommt es zum Schließen der Kanäle und damit zu einer Hyperpolarisation (Harris et al. 1970). Haarsinneszellen sind demnach richtungssensitive Mechanosensoren. Beim Seitenliniensystem ragen die Stereovilli und das Kinozilium in eine gelatinöse Cupula (Webb 2014), die die gleiche Dichte wie das Wasser aufweist (Jielof et al. 1952). Adäquat gereizt wird die Seitenlinie von Wasserbewegungen entlang der Cupula eines Neuromasten. Die Cupula wird bereits durch sehr kleine Fluidströme ( $0,03 \text{ mm s}^{-1}$ ; Coombs and Janssen 1990) ausgelenkt und die Stereovilli geschert.

Der Einfluss der Seitenlinie auf eine Vielzahl von Verhaltensweisen wurde in vielen Studien nachgewiesen. Die Seitenlinie hat z.B. eine wichtige Funktion für das Schwarmverhalten (Pitcher 1979; Partridge et al. 1980; Faucher et al. 2010), bei der Beutedetektion (Montgomery and MacDonald 1987; Bleckmann 1988; Pohlmann et al. 2004), beim Vermeiden von Räubern (McHenry et al. 2009), der innerartlichen Kommunikation und bei der hydrodynamischen Kartierung von Lebensräumen (Burt De Perera 2004; Sharma et al. 2009). Eine Funktion der Seitenlinie bei der Rheotaxis wurde ebenfalls gezeigt (Montgomery et al. 1997; Kanter and Coombs 2003), ihre Bedeutung dafür ist aber noch nicht abschließend geklärt (Van Trump and McHenry 2013).

Das Seitenlinienorgan der meisten Fische besteht aus Oberflächenneuromasten (ON) und Kanalneuromasten (KN). Oberflächenneuromasten sind auf der Körperoberfläche der Fische angeordnet und stehen über ihre Cupula mit dem den Fisch umgebenden Wasser in direktem Kontakt (Abb. 1 A). Der Durchmesser eines Oberflächenneuromasten beträgt zwischen 20 und 100  $\mu\text{m}$  (Münz 1989; Schmitz et al. 2014). Aufgrund der direkten Auslenkung der Cupula - und damit der Stereovilli der Haarsinneszellen - durch die viskose Ankopplung der umgebenden Wasserteilchen (Abb. 1 B) handelt es sich bei den ONs um Geschwindigkeitssensoren (Kroese and Schellart 1992; Engelmann et al. 2000; Engelmann et al. 2002). Kanalneuromasten liegen in subdermalen Kanälen am Kopf und an der Seite eines Fisches (Abb. 1 C). Seitenlinienkanäle sind mit einer viskosen Flüssigkeit gefüllt und stehen so gut wie immer über Poren mit dem umgebenden Wasser in Kontakt (Dijkgraaf 1952). Flüssigkeitsbewegungen innerhalb der Kanäle werden durch Druckunterschiede an benachbarten Kanalporen verursacht. Bei laminaren Wasserströmen gleicher Geschwindigkeit gibt es keine Druckunterschiede zwischen benachbarten Poren. Kommt es jedoch zu einer Beschleunigung der Wasserteilchen an einer der beteiligten Poren, entsteht ein Druckunterschied zwischen benachbarten Poren und das Kanalfluid beginnt zu fließen (Abb. 1 D). Hierdurch wird die Cupula der Kanalneuromasten verschoben (van Netten and Kroese 1987). KN sind demnach Druckgradienten-Detektoren (Kroese and Schellart 1992; Engelmann et al. 2000; Engelmann et al. 2002). Ihr Durchmesser beträgt zwischen 100 und 700  $\mu\text{m}$ , damit sind sie deutlich größer als ONs (Münz 1989; Schmitz et al. 2014).

Der Aufbau der Seitenlinie zeigt eine hohe morphologische Variabilität. Die Anzahl der Oberflächen- und Kanalneuromasten variiert von Art zu Art, ebenso die Form und Anzahl der Kopf- und Rumpfkkanäle (Vischer 1990; Schmitz et al. 2008a; Beckmann et al. 2010; Webb 2014). Diese Variabilität korreliert nur bedingt mit der phylogenetischen Stellung der Fische (Coombs et al. 1988) und könnte eine Anpassung an unterschiedliche hydrodynamischen Bedingungen in den Lebensräumen der jeweiligen Fischart sein. Fische haben fast alle Gewässer der Erde besiedelt und sind infolgedessen einer Vielzahl unterschiedlicher hydrodynamischer Umgebungen ausgesetzt, an die die unterschiedliche Morphologie der Seitenlinie eine Anpassung darstellen könnte. Limnophile Fische haben

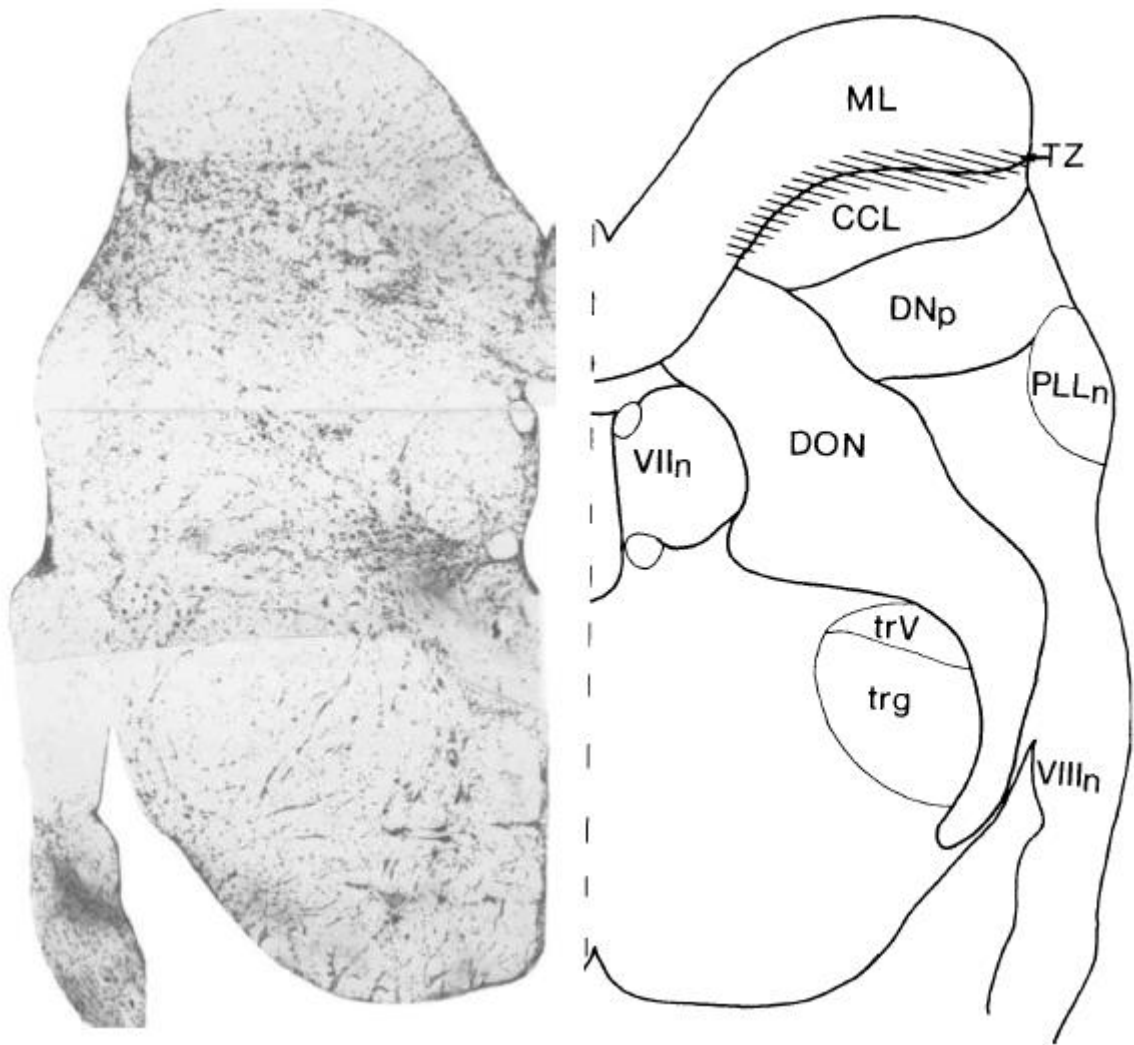
beispielsweise häufig eine große Anzahl von ONs, während rheophile Fische häufig wenige ONs und ein ausgeprägtes Kanalsystem aufweisen (Dijkgraaf 1962; Coombs et al. 1988; Wellenreuther et al. 2010). So hat der im Stillwasser vorkommende Goldfisch, *Carassius auratus*, 200 KNs in den Rumpf- und Kopfkanälen und bis zu 2000 ONs (Schmitz et al. 2008b), die über den gesamten Körper verteilt sind. Im Gegensatz dazu besitzt die rheophile Elritze, *Phoxinus phoxinus*, nur ca. 28 ONs und 127 KNs in den Kopf- und Rumpfkanälen (Schmitz et al. 2014). In einer Studie über 16 entweder im Stillwasser oder im Fließwasser vorkommenden Cypriniden konnte eine solche Gesetzmäßigkeit jedoch nicht bestätigt werden (Beckmann et al. 2010). ONs und KNs werden von separaten primären Afferenzen innerviert. Bei der Weiterleitung der Seitenlinieninformationen ins ZNS bleibt die funktionelle Trennung der Neuromastentypen demnach erhalten. Die Neuromasten auf dem Kopf der Fische werden von dorsalen und ventralen Fasern des anterioren Seitenliniennervs (Anterior Lateral Line Nerve, ALLN) innerviert, Neuromasten auf dem Rumpf von Fasern des posterioren Seitenliniennervs (Posterior Lateral Line Nerve, PLLN). Neuromasten in der Grenzregion zwischen Kopf und Rumpf werden von Fasern des medialen Seitenliniennervs (Medial Lateral Line Nerve, MLLN) innerviert (Puzdrowski 1989).



**Abb. 1 Oberflächen- und Kanalneuromasten** A: Oberflächenneuromast in Ruhe. B: Oberflächenneuromast mit ausgelenkter Cupula. C: Kanalneuromast in Ruhe. D: Kanalneuromast beim Vorliegen einer Druckdifferenz ( $p_1 > p_2$ ) zwischen den Kanalporen. **p = Druck**

Seitenlinienneuromasten können efferent innerviert sein. Die Bedeutung der efferenten Innervierung ist jedoch relativ wenig erforscht, bisher durchgeführte Studien lassen aber vermuten, dass durch die efferente Innervierung die Sensitivität des peripheren Seitenliniensystems beeinflusst werden kann (Russell and Roberts 1974; Späth and Schweickert 1975; Flock and Russell 1976; Tricas and Highstein 1991).

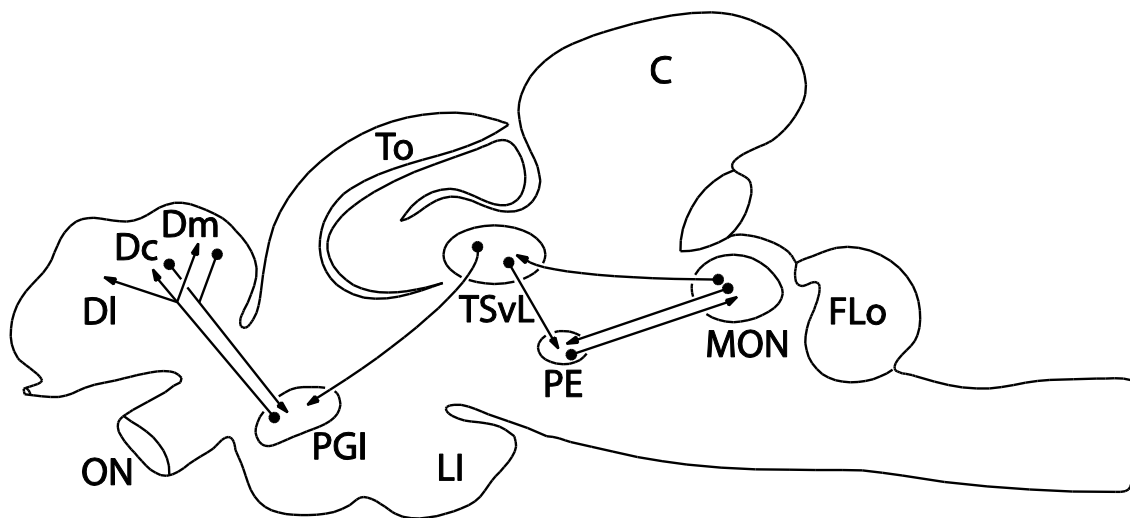
Über die afferenten Fasern des ALLN, MLLN und PLLN werden die hydrodynamischen Informationen ins zentrale Nervensystem (ZNS) geleitet. In der Medulla liegt die erste Verarbeitungsstation für Seitenlinieninformationen, der *Mediale Octavolaterale Nucleus* (MON)(New et al. 1996). Der MON lässt sich in vier Regionen einteilen (New et al. 1996). Die oberste Schicht ist die Molekularschicht (Molecular Layer, ML) oder Crista Cerebellaris (CC), die aus parallel verlaufenden Axonen von aus in der Eminentia granularis und dem Nucleus preeminentialis liegenden Neuronen besteht. Weiterhin kommen in dieser Schicht Interneurone sowie multipolare und körnerzellähnliche Neurone vor. Zusätzlich wurden im MON gliaförmige Zellen beschrieben. Aufgrund dieses Aufbaus sind in der CC bei gefärbten Schnitten kaum Zellkerne nachzuweisen (Abb. 2).



**Abb. 2** Transversalschnitt durch die Medulla von *C. auratus*. Links: Cresylviolett gefärbter Halbschnitt. Rechts: Gespiegelte Zeichnung der links zu erkennenden Regionen. CCL = Crest Cell Layer, DNp = Deep Neuropil, DON = Nucleus descendens, ML = Molekularschicht, PLLn = Posteriorer Seitenliniennerv, trg = sekundärer gustatorischer Trakt, trV = absteigender Trakt des Trigeminus, TZ = Verbindungszone, VIIIn = 7. Hirnnerv, VIIIIn = 8. Hirnnerv (nach New et al 1996)

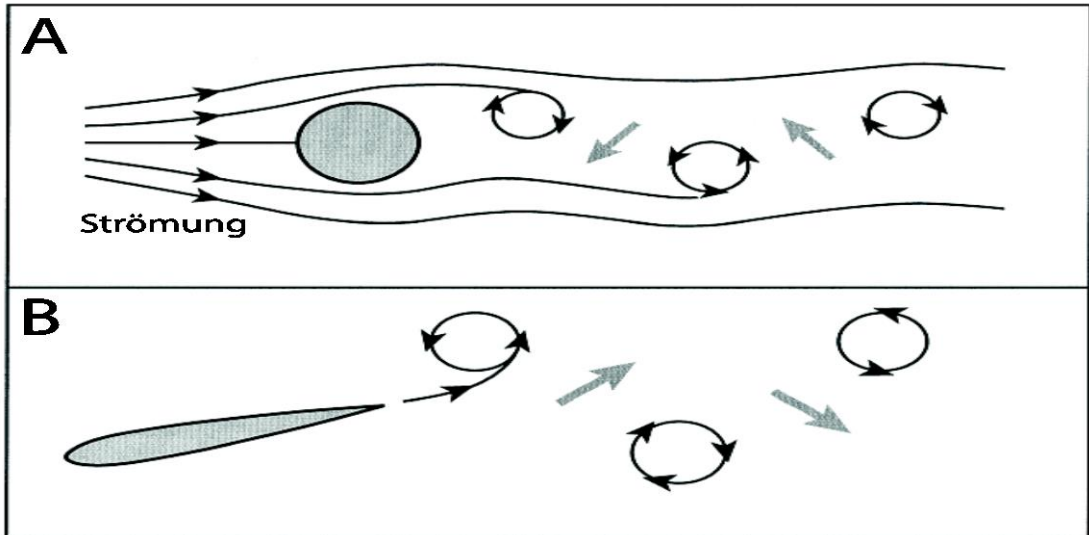
Unter der CC befindet sich eine Verbindungszone (Transitional Zone, TZ), in der parallele Fasern, laterale Interneurone und Sternzellen liegen. Die TZ verbindet die CC mit der Crest Cell Layer (CCL). Die namensgebenden Crest Cells sind multipolare Neurone, die sich in basilare (mit apikalen und basalen Dendriten) und non-basilare (nur apikale Dendriten) Crest Cells unterteilen lassen. Die basilaren Dendriten der basilaren Crest Cells ragen in die nächst tiefere Schicht des MON, das Deep Neuropil (DNp), wo sie Eingänge von primären Afferenzen aus den Seitenliniennerven bekommen (Montgomery and Bodznick 1994; New et al. 1996). Die Crest Zellen fungieren als Projektionsneurone des MON und terminieren bilateral in die lateralen Teile des Torus semicircularis (TS) sowie die tiefen Schichten des optischen Tectums (Tectum Opticum, TO). Weitere Projektionen gehen bilateral in den preementialen Nucleus an der Grenze

zwischen Medulla und Mittelhirn, der ebenfalls Ziel von Projektionen aus dem TS ist. Letzte Verarbeitungsstation ist das dorsale Telencephalon (Abb. 3).



**Abb. 3: Schematische Zeichnung eines Cyprinidengehirns mit Projektionen der Seitenlinie.** C = Cerebellum, Dc, DI, Dm = zentrales, laterales und medianes dorsales Telencephalon, Flo = Faciallappen, LI = unterer Hypothalamuslappen, MON = Medianer octavolateraler nucleus, ON = Olfaktorischer Nerv, PE = preementialer Nucleus, PGI = lateraler preglomerulärer Nucleus, TO = optisches Tectum TsvL = ventrolateraler Nucleus des Torus semicircularis (Nach Wullimann 1998)

In der Natur kommen sowohl biotische als auch abiotische Seitenlinienreize vor. Abiotische Wasserbewegungen entstehen zum Beispiel durch Wind, strömungsexponierte Steine und Wurzeln oder ins Wasser gefallene Blätter oder Äste (Lang 1980; Engelman et al. 2002). Biotische Seitenlinienreize entstehen unter anderem durch Schwimmbewegungen von Fischen und anderen Wasserlebewesen sowie durch Insekten, die auf die Wasseroberfläche gefallen sind (Bleckmann 1994).



**Abb. 4 A:** Durch einen Zylinder verursachte Kármánsche Wirbelstraße **B:** Von einem Fisch verursachte Wirbelstraße.  
**Pfeile:** Bewegungsrichtung der Wasserpartikel (Nach Drucker 2002)

Wirbelstraßen sind ein in natürlichen Habitaten häufig vorkommender hydrodynamischer Reiz. In Fließgewässer bilden sich Wirbelstraßen, wenn Stöcke oder Steine in der Strömung stehen und dadurch Verwirbelungen verursachen. Eine Sonderform der Wirbelstraße stellt die Kármánsche Wirbelstraße dar. Definierte Kármánsche Wirbelstraßen können mit Hilfe von strömungsexponierten Zylindern erzeugt werden. Bei bekanntem Zylinderdurchmesser und bekannter Strömungsgeschwindigkeit kann die Wirbelablösefrequenz nach folgender Formel berechnet werden (Vogel 1996):

$$VSF = \frac{St \times U}{d},$$

wobei VSF für Wirbelablösefrequenz (Vortex Shedding Frequency, VSF), St für die dimensionslose Strouhal-Zahl, U für die Strömungsgeschwindigkeit im Bereich des Zylinders und d für den Zylinderdurchmesser steht. Die Strouhal-Zahl ist abhängig von der ebenfalls dimensionslosen Reynolds-Zahl, die folgendermaßen berechnet werden kann (Vogel 1996):

$$Re = \frac{W \times U_f}{\mu} \cdot \frac{\rho}{\mu}.$$



Wobei  $Re$  für die Reynoldzahl,  $W$  für die Breite des Strömungskanals,  $U_f$  für die Strömungsgeschwindigkeit,  $\mu$  für die Viskosität und  $\rho$  für die Dichte der Flüssigkeit steht. Im Bereich des Zylinders kommt es durch Blockierungseffekte zu einer beschleunigten Strömung (Gesetz von Bernoulli:  $p + \frac{1}{2}\rho \times v^2 = \textit{konstant}$ ), so dass zur Berechnung der tatsächlichen Strömungsgeschwindigkeit im Bereich des Zylinders folgende Formel angewendet wird (Liao et al. 2003a):

$$U = U_f \frac{W}{W-d}$$

Verhaltensbiologische Untersuchungen zeigen, dass Fische mit Hilfe von Kármánschen Wirbelstraßen energieeffizienter schwimmen können (Liao et al. 2003a; Liao 2006; Taguchi and Liao 2011). Bei Forellen wurde eine eigene Schwimmart beschrieben, das sogenannte Kármán gaiting (Liao et al. 2003a). Hierbei nutzen die Forellen die der Hauptströmung entgegengesetzte Rotationsrichtung der Wirbel (vgl. Abb. 4), um energiesparend in der Hauptströmung an einer Stelle zu stehen. Sie zeigen dabei horizontale Bewegungen, die die Einteilung in eine neue Schwimmart rechtfertigen. Mit Hilfe von Elektromyogrammen konnte gezeigt werden, dass beim Kármán-gaiting deutlich weniger Muskelaktivität nötig ist als beim Schwimmen in freier Strömung (Liao et al. 2003b; Liao 2004). Auch der Sauerstoffverbrauch war bei diesem Schwimmverhalten signifikant reduziert (Taguchi and Liao 2011). Weitere Untersuchungen haben ergeben, dass Forellen bei Dunkelheit und ausgeschalteter Seitenlinie nicht in der Lage sind, sich in einer bewegten Wirbelstraße zu positionieren und damit energieeffizient zu schwimmen (Przybilla 2012). Eine Beteiligung der Seitenlinie an der Detektion von Wirbelstraßen ist demnach höchst wahrscheinlich. Elektrophysiologische Untersuchungen am PLLN von Goldfischen ergaben, dass die Wirbelablösefrequenz im Entladungsmuster primärer Seitenlinien-Afferenzen nachweisbar ist (Chagnaud et al. 2007). Hierbei wurden auch Hinweise darauf gefunden, dass die primären Afferenzen die Wirbelstraße am besten abbilden, wenn die Goldfische seitlich versetzt zur Wirbelstraße positioniert sind. Mit Hilfe der Particle Image Velocimetry (PIV) ließ sich die VSF ebenfalls seitlich der Mittellinie einer Wirbelstraße am deutlichsten nachweisen. Versuche mit Rotfedern haben ergeben, dass es im MON Neurone gibt, die bei Reizung mit einer Wirbelstraße burstähnliche Entladungen zeigen. Bei einigen Neuronen änderte sich die Spikerate zusätzlich mit steigendem Zylinderdurchmesser (Klein et al. 2015). Bei einem Neuron konnten Burstabstände mit der Dauer des VSD nachgewiesen werden. Die Antworten medullärer Seitenlinienneurone auf eine Verschiebung des Zylinders in verschiedenen Achsen wurden bisher noch nicht untersucht. Auch über die Reaktion auf Wirbel verschiedener Drehrichtung war bislang nichts bekannt. Kármánsche Wirbelstraßen mit umgekehrter Wirbeldrehrichtung werden von undulierend schwimmenden Fischen erzeugt (Abb. 4B).

Ihre Detektion würde es Fischen ermöglichen, die hydrodynamischen Spuren von Beutetieren und Fressfeinden zu detektieren und zu erkennen. Eine Positionierung in der Wirbelstraße würde damit ebenfalls vereinfacht.

## **Ziele der Arbeit**

In den elektrophysiologischen Untersuchungen dieser Arbeit wurden die Reaktionen von Seitenlinienneuronen im MON von Regenbogenforellen und Nasen auf die Verschiebung von Halbzylindern in verschiedenen Achsen ermittelt. Die Halbzylinder hatten einen Durchmesser von 2 und 3 cm, was sich in vorhergehenden Untersuchungen als geeignete Größe zur Reizung der Seitenlinie erwiesen hat (Chagnaud et al. 2007; Klein et al. 2015). Parallel zu diesen Versuchen wurden regelmäßig PIV-Messungen durchgeführt, um die Strömungsverhältnisse mit den elektrophysiologischen Ergebnissen zu vergleichen. Da außer strömungsexponierten Objekten auch Fische beim Schwimmen Wirbelstraßen verursachen, in denen die Wirbel jedoch eine gegensätzliche Drehrichtung aufweisen, wurde zusätzlich untersucht, ob und wie Wirbel unterschiedlicher Drehrichtung das Antwortverhalten von MON-Neuronen verändern. Parallel wurden ähnliche Experimente mit limnophilen Rotfedern durchgeführt. Durch den Vergleich der Antworten von medullären Seitenlinienunits von rheophilen Nasen und Regenbogenforellen zu limnophilen Rotfedern, sollten artspezifische Gemeinsamkeiten und Unterschiede untersucht werden.

In histologischen Untersuchungen wurde die Medulla der Nase mit Hilfe von Cresylviolett gefärbt und auf auffällige Schichtungen untersucht. Hierbei wurde insbesondere darauf geachtet, ob der Aufbau des MON und der darunter liegenden Kerngebiete in der Medulla dem Aufbau der entsprechenden Kerngebiete im Goldfischgehirn entsprechen (vgl. New et al. 1996). Die Cresylviolett-färbung wurde auch benutzt, um die relative Größe der Crista Cerebellaris als Teil des MONs der Versuchstiere im Vergleich zu anderen Fischarten zu bestimmen. Weiterhin wurde die Verteilung der Oberflächen- und Kanalneuromasten mittels DASPEI-Färbung ((2-(4-(dimethylamino)styryl) -N-Ethylpyridinium Iodid, Thermo Fische Scientific) untersucht.

## 2 Material und Methoden

### 2.1 Versuchstiere

Als Versuchstiere dienten juvenile Nasen (*Chondrosthoma nasus*), die bei lokalen Händlern (Fischfarm Schubert, Wildeshausen, Deutschland und Fischgut Primus, Iserlohn, Deutschland) gekauft wurden. Die Tiere hatten eine Länge von 7,5 - 14 cm und wurden nach dem Kauf mindestens drei Monate bei ca. 18° C Wassertemperatur in 200 l Aquarien gehalten, bevor sie für die Versuche verwendet wurden. Die Fische wurden mit handelsüblichem Fischfutter gefüttert. Für manche Versuche wurden zusätzlich juvenile Regenbogenforellen (*Oncorhynchus mykiss*) verwendet. Diese wurden ebenfalls von einem lokalen Händler erworben (Fischzucht A. Pilgram, Lohmar, Deutschland). Die Regenbogenforellen hatten eine Größe von 10 – 14 cm und wurden in einem 1000 l Aquarium bei einer Wassertemperatur von 10 °C gehalten. Sie wurden ebenfalls mit handelsüblichem Fischfutter gefüttert.

*C. nasus* ist ein rheophiler Süßwasserfisch aus der Familie der Cyprinidae. Er ist in Mittel- und Osteuropa in den Barben- und Äschenregionen der Flüsse weit verbreitet (Kottelat and Freyhof 2007).

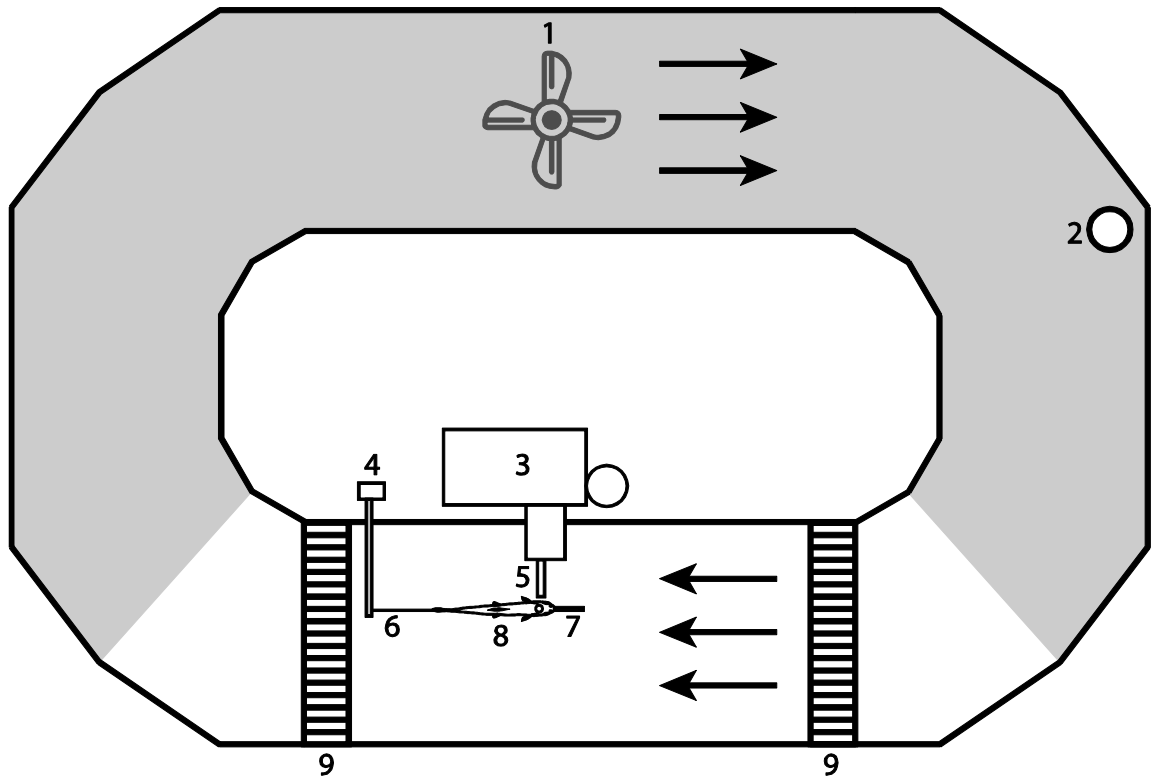
*O. mykiss* entstammt ursprünglich den Ostküstenstaaten der USA, Kanadas und Mexikos (Fuller et al. 2017) und ist mittlerweile durch Besatz auf allen Kontinenten außer der Antarktis verbreitet. *O. mykiss* besiedelt hauptsächlich schnell fließende Gewässer, dieser Fisch ist allerdings auch im Stillwasser und in Seen zu finden.

### 2.2 Präparation

Die Versuchstiere wurden erst am Tag des Versuchs aus ihrem Hälterungsbecken mittels eines Becherglases entnommen. Anschließend wurden sie mit 4-6 ml MS 222 (2,5%, Ethyl-3-Aminobenzoat Methansulfanat Salz, Fluka Analytical), aufgelöst in einem Liter Wasser, betäubt. Nach der Betäubung wurden die Fische mit einem kleinen Gummischlauch (Durchmesser 5mm) und einer Wasserpumpe künstlich beatmet und eine Relaxierung mit Pancuronium (Pancuroniumbromid, Verdünnung 1:10, Organon) vorgenommen. Die Operationsstelle wurde mit Bupivacain (0,25%, mibe GmbH) örtlich betäubt. Nach zehnminütigem Einwirken des Betäubungsmittels wurde die Haut an der Operationsstelle mit einem Skalpell entfernt. Die Schädelkapsel wurde anschließend auf Höhe des Cerebellums mit einem Feinbohrer (Proxon Minimot, Conrad Electronics) geöffnet, um das darunterliegende Gehirn freizulegen. Im Anschluß daran wurde das Cerebellum mit Hilfe einer Pinzette und Watte nach vorne geschoben und mit Watte

fixiert. Hirnwasser sowie Fettgewebe wurden vorsichtig entfernt, so dass die Medulla offen lag. Eventuelle Blutungen wurden mit Hilfe von Gerinnungsmitteln (Gelastypt, Ferrosan Medical Devices) gestillt. Um ein Eindringen von Wasser in die Schädelkapsel zu verhindern, wurde ein Plastikzylinder mit wasserfestem Sekundenkleber (Pattex Ultra Gel) um das Loch in der Schädeldecke geklebt. Nach der Operation wurde der Fisch vorsichtig in den Versuchstank überführt und mit Schrauben auf einem Fischhalter fixiert.

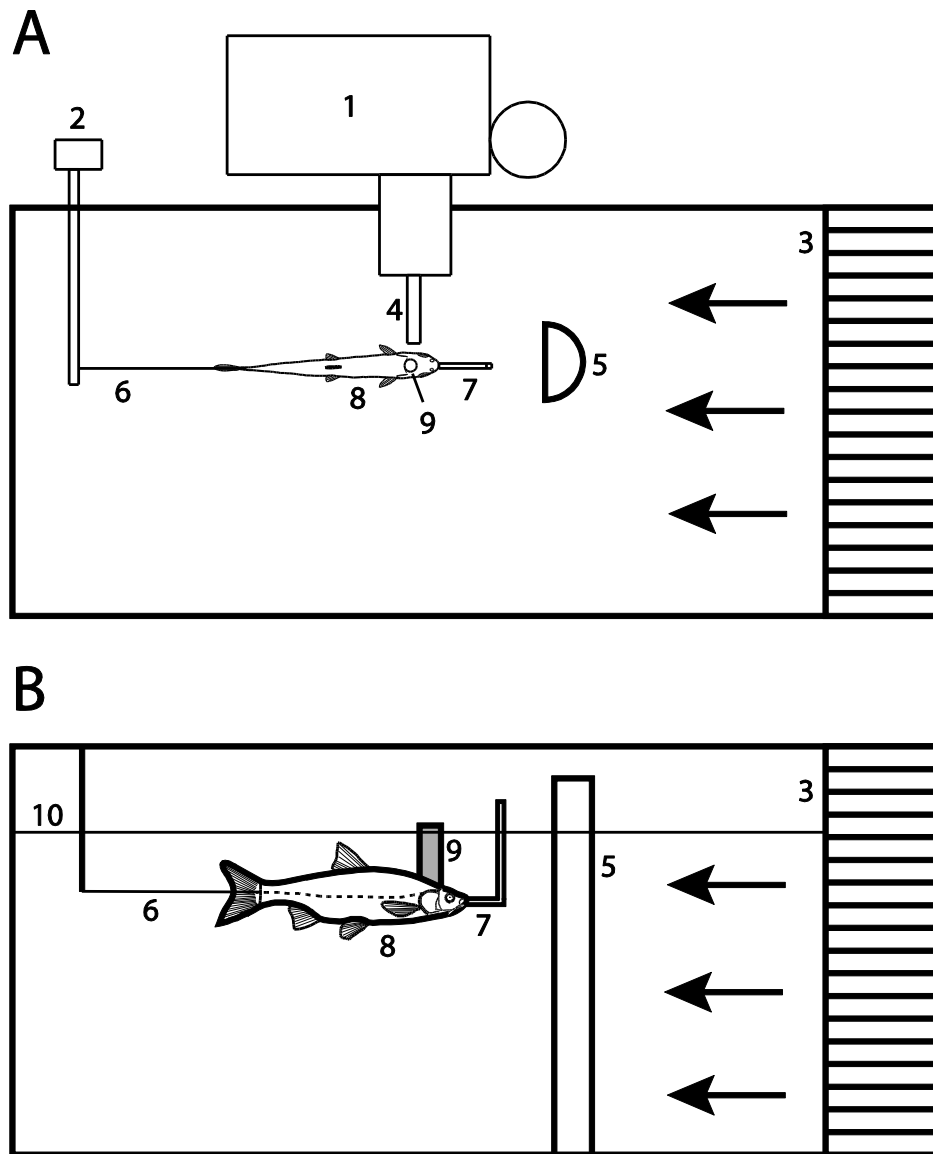
## 2.3 Versuchsaufbau



**Abb. 5: Versuchsaufbau.** 1 = Schiffsschraube, 2 = Überlauf, 3 = Mikromanipulator, 4 = Fadenhalter, 5 = Elektrodenhalter, 6 = Bindfaden, 7 = Fischhalter mit artifizierlicher Beatmung, 8 = Versuchstier, 9 = Kollimator. Die Pfeile geben die Strömungsrichtung an. Grau hinterlegte Flächen waren abgedeckt um die Oberflächenwellen zu minimieren.

Der Versuchsaufbau bestand aus einem selbst gebauten Strömungskanal (äußere Abmessung 60 x 90 cm, Abb. 5) in dem sich ein Arbeitsbereich (Breite 16 cm, Höhe 13 cm, Länge 43 cm, Wasserhöhe 12 cm, Abb. 6) befand. Die Strömung wurde mit einer Schiffsschraube (Schottelantrieb, Aeronaut 100, 8 cm Durchmesser) erzeugt, welche über einen Elektromotor (Faulhaber 21B4) betrieben wurde. Der Elektromotor wurde mit einem Labornetzteil (Votcraft VLP 2403, Conrad Electronics) betrieben. Der Elektromotor war elektrisch isoliert und vibrationsgedämpft mit der Schiffsschraube verbunden. Um eine möglichst laminare Strömung zu gewährleisten, wurde der Arbeitsbereich vorne und hinten von zwei Kollimatoren begrenzt. Die Wasserhöhe wurde mit Hilfe eines Überlaufs auf einem konstanten Niveau gehalten. Der Fisch wurde mittels eines Halters im Arbeitsbereich fixiert und über ein in den Halter integriertes Stahlröhrchen beatmet (100 ml/min). Um passive Bewegungen des Fisches durch die Strömung zu vermeiden, wurde er mit Garn an einem stabilen Draht befestigt und

hinten fixiert. Hierfür wurde der Fisch kurz vor der Schwanzflosse mit einer kleinen Nadel durchstoßen und das Garn eingefädelt. Die Elektrode wurde mit Hilfe eines Mikromanipulators über dem Gehirn platziert. Fischhalter, Mikromanipulator und Draht waren an einem stabilen Aluminium-Block befestigt, welcher rutschfest auf einem schwingungsgedämpften Tisch (TMC) stand.



**Abb. 6 Arbeitsbereich des Strömungskanal.** A: Aufsicht, B: Seitenansicht. 1 = Mikromanipulator, 2 = Fadenhalter, 3 = Kollimator, 4 = Elektrodenhalter, 5 = D-Zylinder, 6 = Bindfaden, 7 = Fischhalter mit künstlicher Beatmung, 8 = Versuchstier, 9 = Hut, 10 = Wasseroberfläche. Die Pfeile geben die Strömungsrichtung an

Die Beatmung erfolgte durch ein höher gelegenes Überlaufgefäß, so dass ein stetiger Atemstrom gewährleistet war. Der Strömungskanal war nichtleitend über ein selbst gebautes Item-gerüst mit den nicht schwingungsgedämpften Teilen des Versuchstischs verbunden. Zur Reizung wurden 2 und 3 cm große Plexiglashalbzyylinder (Feinmechanische Werkstatt, Institut für Zoologie, Bonn; im Folgenden als Zylinder bezeichnet) verwendet, die magnetisch an Schienen befestigt waren und 2-dimensional

verschoben werden konnten. Ein Operationsbinokular (Wild M651, Leica) wurde zur Positionsbestimmung der Ableitelektrode verwendet. Zur Reduzierung von elektrischen Störungen war der Versuchsaufbau geerdet.

## 2.4 Erzeugung von Wirbelstrassen

Zur Erzeugung von Wirbelstraßen wurden Halbzylinder (Durchmesser 2 und 3 cm) verwendet. Sie wurden senkrecht in der Strömung gestellt und hatten eine Länge von 30 cm. Die Strömungsgeschwindigkeit betrug zwischen 9 und 11 cm/s. VSF und VSD wurden sowohl berechnet, als auch mit Hilfe von PIV-Aufnahmen (siehe Kapitel 2.5) bestimmt. Zur Berechnung der VSF wurden die in Kapitel 1 genannten Formeln verwendet.

## 2.5 PIV

Um die Strömungseigenschaften und die Turbulenzen zu bestimmen, wurden Particle Image Velocimetry (PIV) Aufnahmen gemacht. Hierfür wurde ein Laser auf Höhe der Seitenlinie angebracht und mittels zweier Zerstreuungslinsen (Brennweite  $F = 3\text{mm}$  und  $F = 10\text{mm}$ ) so eingestellt, dass eine horizontale Laserschicht erzeugt wurde. Zusätzlich wurden  $50\ \mu\text{m}$  große Polyamid-Partikel (PSP-50, Dantec Dynamics) ins Wasser gegeben, die die Laserstrahlen reflektierten. Unterhalb des Strömungskanals wurde eine Highspeed-Kamera (Highspeedstar, LaVision) angebracht mit der die Partikelbewegungen mit 250 Bildern pro Sekunde aufgenommen wurden. Die Einzelbilder der Videos wurden anschließend mit den Programmen DaVis (LaVision) oder Matlab (Version 2014b) PIVlab ausgewertet. Hierbei wurden die Einzelbilder zunächst zu Bildpaaren zusammengefügt. Danach wurden die Bilder gefiltert (CLAHE 20; highpass 15; intensity capping; Wiener 2 denoise filter 3). Es wurden Strömungsvektoren (multi pass, interrogation window  $64 \times 64$  und  $32 \times 32$ , post processing: vector validation) erstellt, welche die Richtung und Geschwindigkeit der Strömung abbildeten. Aus den Strömungsvektoren wurden dann in  $3 \times 3$  Vektoren großen Fenstern die v-Komponenten (Strömung orthogonal zur Hauptströmungsrichtung) und u-Komponenten (Strömung in und entgegen der Hauptströmungsrichtung) ausgelesen. Aus diesen Daten wurden mit einem selbst geschriebenen Matlab Script Autokorrelationen erstellt. An den Maxima der Autokorrelationskurven konnte anschließend die VSD abgelesen werden.

## 2.6 Elektroden

Zum Ableiten der Aktionspotentiale wurden Letvin-Elektroden (Dowben and Rose 1953; Gesteland et al. 1959) verwendet. Hierfür wurden Glas-Kapillaren (GB150-8P, Science Products GmbH) in einem Horizontal-Elektroden-Puller (Model P-97 Flaming/Brown Micropipette Puller, Sutter Instruments; Heat 505, Pull 70, Velocity 80, Time 200) gezogen. Die Spitzen wurden anschließend vorsichtig unter dem Mikroskop an einer Messingstange abgebrochen. Ein Teflonschlauch (PTFE Innendurchmesser 0,8 mm, Wandung 0,25 mm) wurde mit einer geschmolzenen Indium-Legierung (Bi 44,7 %, Pb 22,6 %, In 19,1 %, Sn 8,3 %, Cd 5,3 %) gefüllt. Nach dem Abkühlen und Erstarren der Legierung wurde der Schlauch mit einem Skalpell entfernt und der Indiumstab in eine Glas-Elektrode überführt. Anschließend wurde die Legierung in der Elektrode wieder geschmolzen, so dass die Kapillare bis in die Spitze mit Indiumlegierung gefüllt war. Auf der Rückseite der Elektrode wurde ein Messingdraht (0,5 mm, Conrad Electronic) mit einem angelöteten D-Sub Stecker (Conrad Electronic) eingeschmolzen. Die Spitze der Elektrode wurde in Gold- und Platinlösungen getaucht und unter Einsatz einer Spannung von 0,3V elektrolytisch beschichtet. Der Vorgang wurde so oft wiederholt, bis die Elektrode einen Widerstand von ca. 0,5 – 1,5 MOhm hatte und unter dem Mikroskop eine kleine Kugel an der Spitze der Elektrode sichtbar wurde (Abb. 7). Die Elektrode wurde dann vorsichtig in den Versuchsaufbau überführt und in den Elektrodenhalter eingespannt.



**Abb. 7: Letvin Elektrode** mit einer mit Gold und Platin beschichteten Spitze. Der Durchmesser der Spitze beträgt ca. 2  $\mu\text{m}$

## 2.7 Ableitung

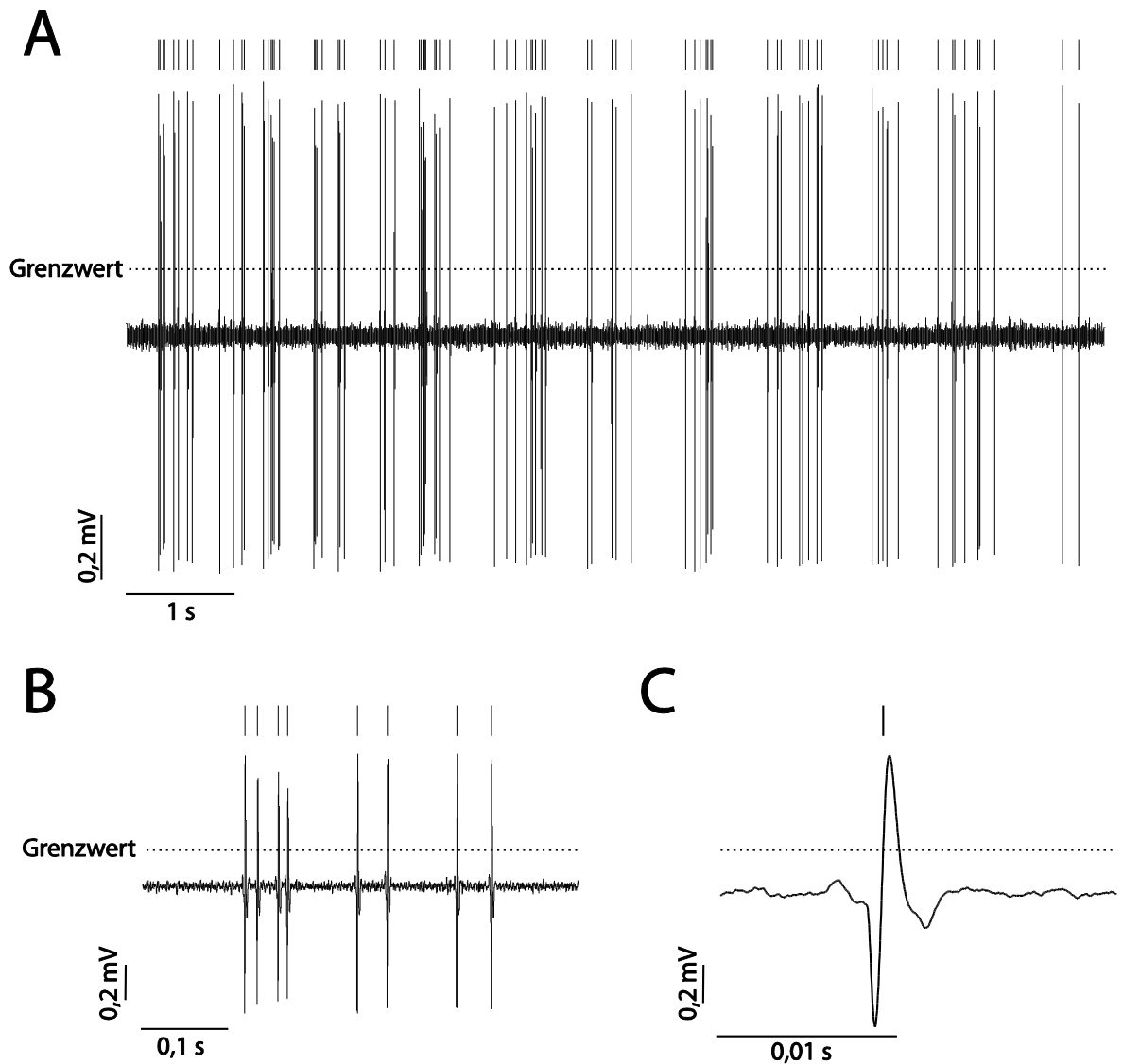
Nachdem die Elektrode mit Hilfe des Operationsbinokulars über der Medulla platziert war, wurde ein Mikrostepper (SMS 87 TC Elektronik) oder ein Mikromanipulator benutzt, um die Elektrode in den MON zu fahren. Als indifferente Elektrode diente ein chlorierter Silberdraht. Ableitelektrode und indifferente Elektrode waren an einem Impedanzwandler (DAM80P, World Precision Instruments) und einem Verstärker (DAM80, World Precision Instruments) angeschlossen, der gleichzeitig als Bandpassfilter (300 Hz bis 3000 Hz) diente. Das verstärkte Signal (x1000) wurde



anschließend mit Hilfe eines HumBugs (Quest Scientific) 50 Hz gefiltert, um Netzstörungen zu minimieren. Anschließend wurde das Signal gesplittet, ein Teil des Signals wurde über einen Akustikverstärker auf Kopfhörer (Sennheiser) oder Boxen geleitet (für eine akustische Kontrolle der Ableitungen), während der andere Teil mittels eines A/D-Wandlers (CED 1401 Power MK II, Cambridge Electronics) auf einen Computer (Dell) übertragen wurde. Die Übertragungsrate betrug 10 - 40 kHz. Das Programm Spike 2 (Version 7, Cambridge Electronics) diente zur Aufnahme und Offline-Analyse.

## **2.8 Unitsuuche**

Nachdem die Elektrodenspitze im vermuteten Bereich des MON positioniert war, wurde mit der Single-Unitsuuche begonnen (Abb. 8 A). Sobald eine Unit gefunden war, wurde durch das vorsichtige Bewegen der Elektrode in allen drei Raumachsen versucht, ein ausreichend gutes Signal-Rausch-Verhältnis zu schaffen (Abb. 9 A-C). Sobald dies erreicht war, wurde die Unit auf hydrodynamische Aktivität getestet.



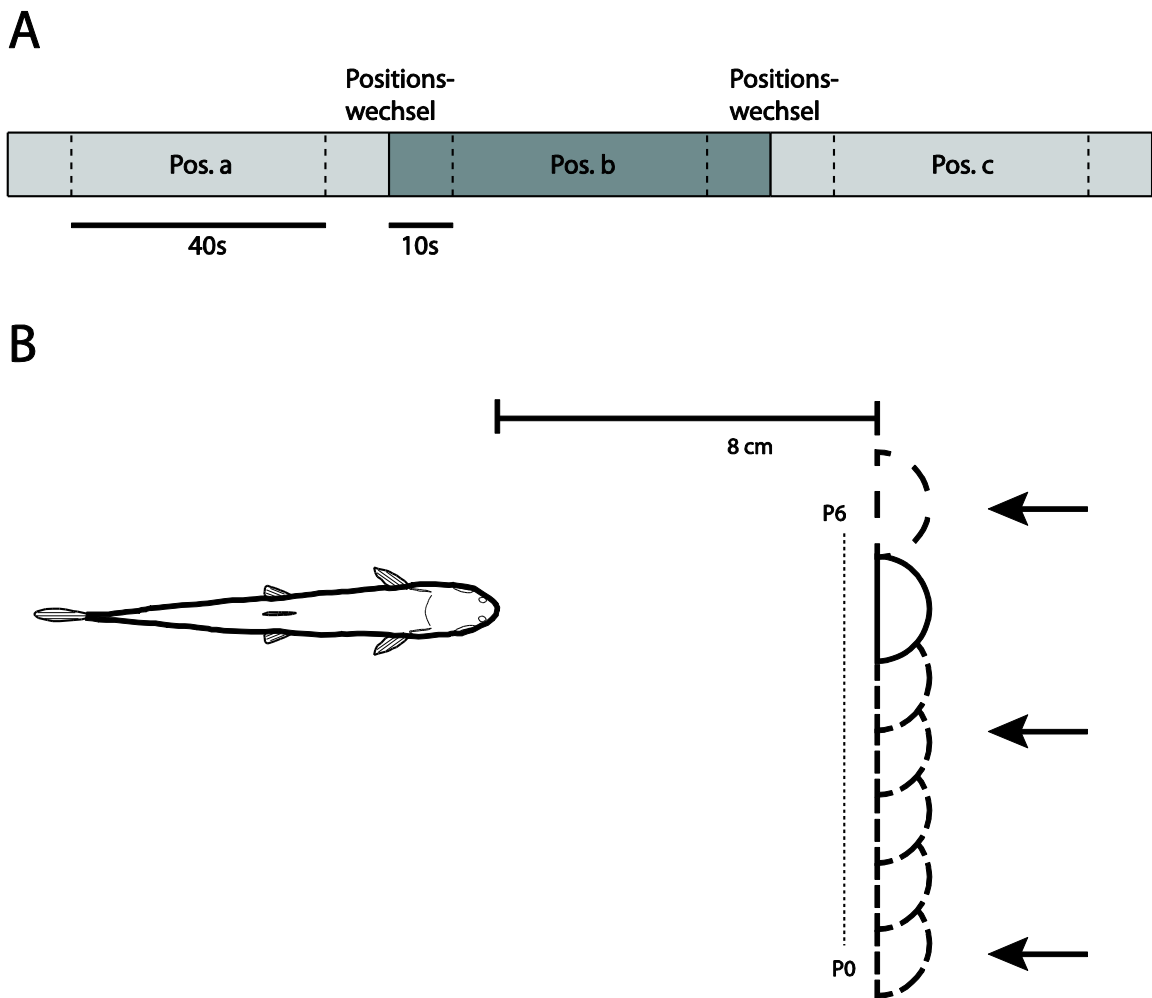
**Abb. 8: Einzelzelleableitung.** A: Originalableitung einer MON-Unit. B: aus A vergrößerter Ausschnitt. C: Einzelner Spike. Die Striche über den Originalspuren zeigen den mit Hilfe des Grenzwerts erzeugten Eventkanal.

Hierzu wurde eine Pipette am Rand des Fisches durch das Wasser bewegt und mit ihr kurze Wasserstöße auf die Fischeoberfläche produziert. Sofern die Unit auf diese Reize antwortete, wurde geprüft, ob sie auch auf akustische (klatschen) oder vestibuläre (leichtes Klopfen an die Wand des Strömungskanals) Reize antwortete. Antwortete die Unit weder auf akustische noch auf vestibuläre Reize, wurde das Versuchsprotokoll gestartet.

## **2.9 Reaktion von MON-Units auf die laterale Verschiebung des Zylinders**

Während der Versuche wurde der Zylinder auf 6 verschiedene Positionen gesetzt (Abb. 9B). Eine Position befand sich (bezogen auf die Ableitseite) auf der contralateralen Seite des Fisches (Position 6), eine Position direkt vor dem Fisch (Position 5) und 5 Positionen lagen auf der ipsilateralen Seite (Positionen 4 bis 0). Ausgehend von Position 5 wurde der Zylinder jeweils um 1 cm senkrecht zur Strömungsrichtung (siehe Abb. 9B.) verschoben. Zusätzlich wurde die Aktivität der jeweiligen Unit ohne die Anwesenheit des Zylinders (Position 7) und ohne Strömung (Position 8) getestet. Die Messungen bei den Zylinderpositionen 0 bis 6 wurden jeweils dreimal wiederholt, die Messungen bei den Zylinderpositionen 7 und 8 nur einmal am Ende des Versuchsprotokolls, vorausgesetzt eine Unit konnte ausreichend lange gehalten werden.

Die Aufnahmezeit pro Position betrug jeweils 60 Sekunden, wobei die 10 Sekunden vor und nach dem Verschieben des Zylinders aufgrund der dabei entstehenden Wasserbewegungen nicht ausgewertet wurden (Abb. 9A).



**Abb. 9 Versuchsprotokoll.** **A** Stimulationsprotokoll. Die gestrichelten Linien zeigen die Schnittpunkte der Aufnahmen an. **B** Zylinderpositionen. Die Pfeile markieren die Strömungsrichtung

Die Versuche wurden sowohl mit juvenilen Nasen als auch mit juvenilen Regenbogenforellen durchgeführt. Für die Versuche mit den Forellen wurde die Wassertemperatur mit Hilfe eines Kühlaggregats auf ca. 12 °C gesenkt.

## 2.10 Antwortverhalten von MON-Units als Funktion der Zylinderentfernung

Sobald eine Unit ausschließlich auf die hydrodynamischen Suchreize reagierte, wurde der 2 cm Halb-Zylinder an der Stelle vor dem Fisch (Entfernung 8 cm) positioniert, die die beste Antwort hervorrief. Anschließend wurde die Entfernung des Zylinders zum Fisch 8 Mal in 2 cm Schritten vergrößert. Zudem wurde die neuronale Aktivität der Unit ohne Zylinder (als Position 9 bezeichnet) gemessen. Jede Zylinderposition wurde mindestens 60 Sekunden beibehalten. Die ersten und letzten 10 Sekunden jeder

Aufnahme wurden nicht ausgewertet, um die beim Verschieben des Zylinders entstehenden Wasserbewegungen nicht in die Auswertung einfließen zu lassen (Abb. 9A). Sofern möglich, wurden drei vollständige Durchläufe mit allen Zylinderpositionen durchgeführt.

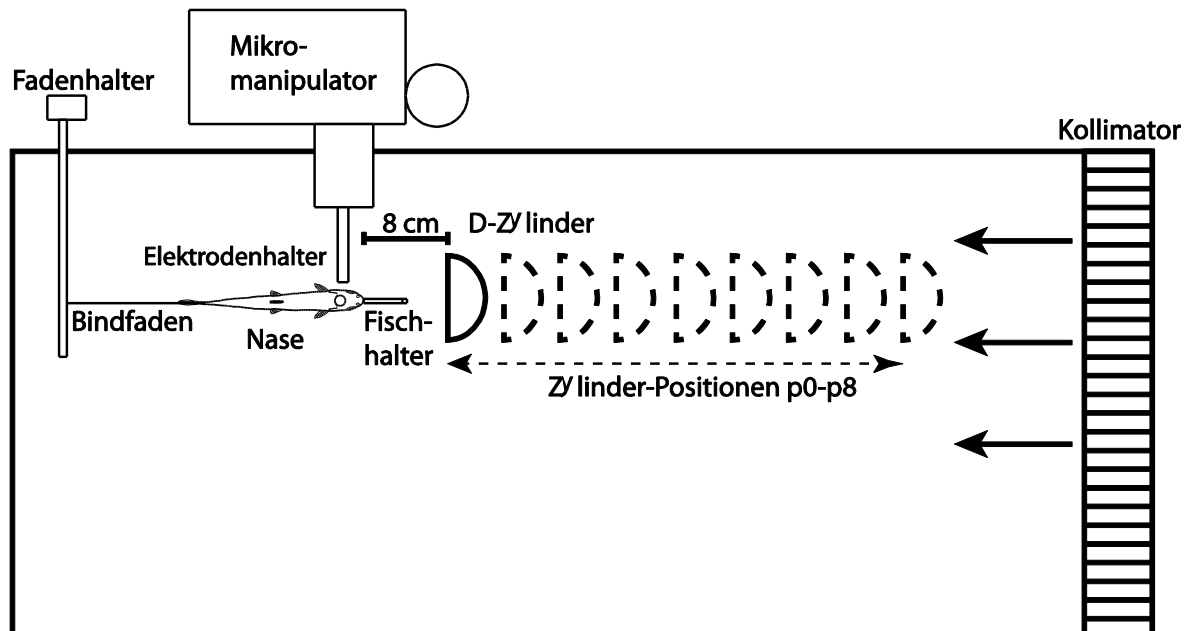


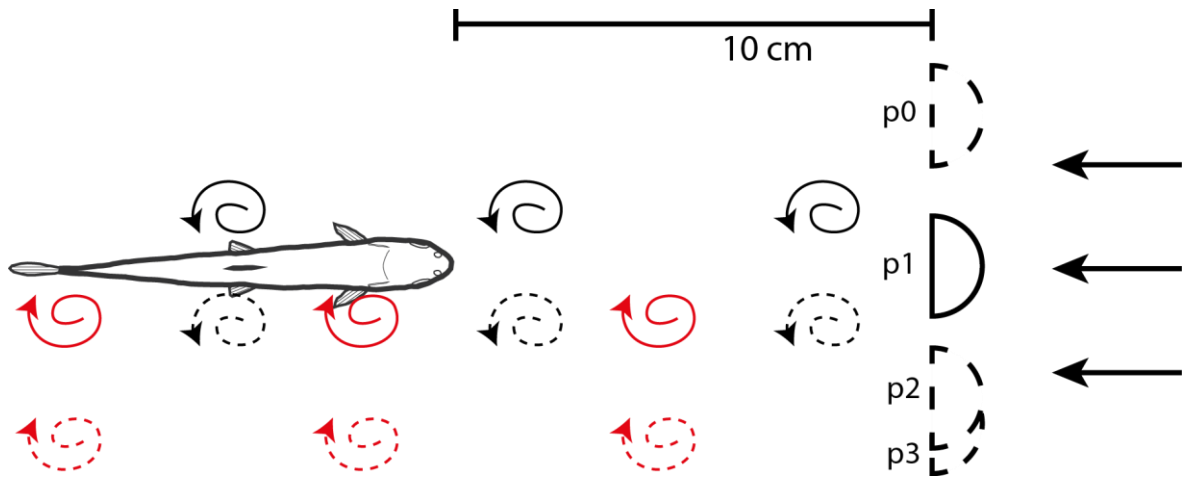
Abb. 10 Zylinderpositionen während der Versuche. Die Pfeile markieren die Strömungsrichtung.

Zur Verifizierung des Ableitorts wurden Läsionen mit Hilfe der Ableitelektrode durchgeführt. Hierfür wurde am Verstärker die Marker-Amplitude auf „Maximum“ gestellt und jeweils 20-30 Sekunden mit DC+ und DC- läsioniert. Anschließend wurde die Elektrode 15 Minuten an Ort und Stelle belassen. Danach wurde die Elektrode aus dem Gehirn entfernt und der Fisch 15 Minuten später getötet. Die weiteren Schritte wurden wie in Kapitel 2.13 dargestellt durchgeführt.

## 2.11 Reaktion von MON-Units auf unterschiedliche Drehrichtung der

### Wirbel

Wirbel mit gegenläufiger Drehrichtung wurden ebenfalls mit Hilfe eines Halbzylinders (Durchmesser 2 cm) erzeugt. Hierfür wurde der Zylinder in 10 cm Abstand vor dem Versuchstier in 4 verschiedenen Positionen postiert (Abb. 11).



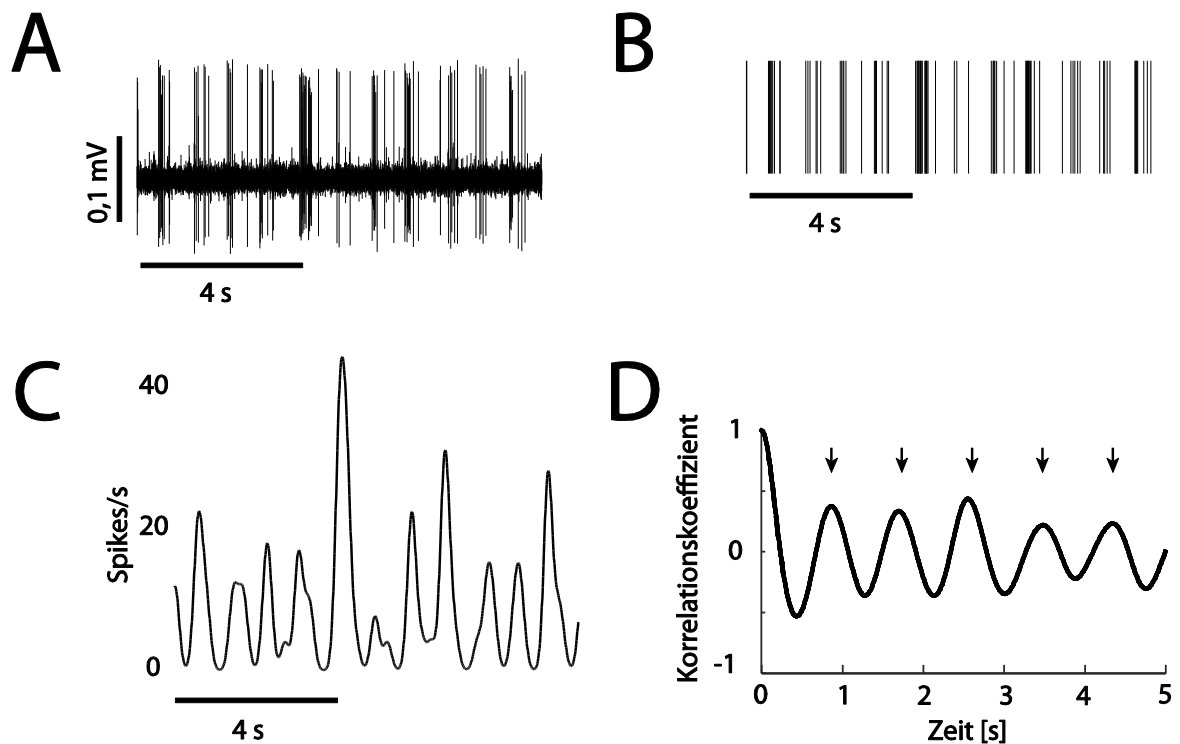
**Abb. 11** Zylinderpositionen zur Reizung der rechten Seitenlinie mit Wirbeln unterschiedlicher Drehrichtung. **Schwarze Wirbel:** Drehung gegen den Uhrzeigersinn. **Rote Wirbel:** Drehung im Uhrzeigersinn. **Durchgezogene Linien:** an Zylinderposition 1 entstehende Wirbelstraße. **Gestrichelte Linien:** An Zylinderposition 2 entstehende Wirbelstraße. Die Pfeile markieren die Strömungsrichtung

Bei der Zylinderposition P1 wurde der Halb-Zylinder in 10cm Entfernung frontal vor dem Fisch positioniert. Da die Versuche unter Strömung durchgeführt wurden entstanden hierdurch Wirbel, die im Uhrzeigersinn auf die rechte Seite des Fisches trafen (vgl. Abb. 4). Bei Position P2 wurde der Zylinder 2,5 cm seitlich verschoben, so dass die rechte Flanke des Fisches mit Wirbeln in gegenläufiger Richtung gereizt wurde. Bei Position P3 wurde der Zylinder noch 0,5 cm weiter verschoben, um trotz der an unterschiedlichen Stellen unterschiedlichen Breite des Fisches und eventueller Positionierungsungenauigkeit des Zylinders sicher zu stellen, dass auch gegenläufige Wirbel auf die Seite des Fisches trafen. Bei der Position P0 wurde der Zylinder 2,5 cm auf der entgegengesetzten Seite des Fisches positioniert, so dass die rechte Flanke des Fisches nicht von einer Wirbelstraße gereizt wurde. Die Position P0 diente als Kontrolle mit Zylinder. Bei Position P4 wurde der Zylinder entfernt und die neuronale Aktivität der Unit in laminarer Strömung aufgezeichnet. Jede Zylinderposition wurde für 60 Sekunden gehalten, bis zu 5 Versuchsdurchläufe wurden durchgeführt (Abb. 9A). Zur Verifizierung des Ableitorts wurden Läsionen wie in Kapitel 2.10 beschrieben durchgeführt. Es wurden zwei Strömungsgeschwindigkeiten (9,6 cm/s und 7,5 cm/s) verwendet. Diese führten zu einer VSF von ca. 1,1 bzw. 0,9 Hz.

## 2.12 Datenanalyse

Aufgenommen und ausgewertet wurden nur Ableitungen mit einem Signal-Rausch-Verhältnis, dass es erlaubte, die Spikes vom Hintergrundrauschen eindeutig zu trennen (Abb. 8 A-C). Um die Spikes vom Hintergrundrauschen zu separieren wurde zunächst in Spike2 ein horizontaler Cursor eingefügt, der als Grenzwert diente (Abb. 8 A-C). Dadurch konnten alle Spikes, deren Amplituden über diesem Grenzwert lagen, in einen Event-

Kanal überführt werden (Abb. 12 B). Aus dem Eventkanal wurden mit Hilfe eines selbst geschriebenen Spike2-Skriptes die 40 Sekunden langen Stücke exportiert, die die Grundlage für die weitere Analyse darstellten. Mit Hilfe eines selbst geschriebenen Matlab-Skriptes wurden diese Eventkanäle zunächst in virtuelle Waveform-Kanäle umgewandelt (Abb. 12 C).



**Abb. 12: Datenprozessierung.** **A:** Originalableitung eines MON-Neurons. **B** Aus der Originalableitung extrahierter Eventkanal. **C:** Aus dem Eventkanal erzeugter virtueller Waveform-Kanal **D:** Aus der virtuellen Waveform erzeugte Autokorrelation. Die Pfeile in D zeigen die berechnete VSD.

Die virtuellen Kanäle wurden durch eine Wahrscheinlichkeitsdichtefunktion (probability density function) erstellt (Matlab 2014b; time =40 s; resolution = 0.01; with of pdf = 0.01; n = 4000). Mit Hilfe dieser Funktion konnte die Wahrscheinlichkeit der Anwesenheit eines Spikes zu jedem Zeitpunkt der Aufnahme dargestellt werden (Abb. 12 C). Der virtuelle Waveform-Kanal diente als Basis für die Autokorrelation (Zeitfenster 0-5 Sekunden, Abb. 12 D). Die Autokorrelationskurven wurden auf lokale Maxima und Minima untersucht. Die Koordinaten der Maxima und Minima wurden extrahiert (Amplitude  $\geq 0,1$ , relative Peak Prominence  $\geq 0,1$ ) und die ersten 5 Maxima wurden zum Vergleich mit der berechneten VSD benutzt. Eine Unit wurde als reaktiv definiert, wenn sie folgende Kriterien erfüllte: Anzahl und Amplitude der Maxima (für mindestens eine Zylinderposition musste die Zahl der Maxima in der neuronalen Antwort  $\geq 3$  sein, die Durchschnittsamplitude dieser Maxima musste  $\geq 0,2$  sein, die Spikerate der Unit musste  $\leq 30$  Spikes/s sein und die Spikeratenvarianz musste  $\leq 20$  sein). Zusätzlich

wurden Units von der Auswertung ausgeschlossen, bei denen 3 Maxima in der Kontrolle (ohne Zylinder und/oder wenn sich der Zylinder auf der contralateralen Seite befand) vorhanden waren. Die Wirbelablösefrequenz (VSD) wurde mittels Autokorrelation der  $V_y$ -Komponenten der PIV-Daten ermittelt. Zusätzlich wurde die VSD durch Umkehrung der VSF berechnet.

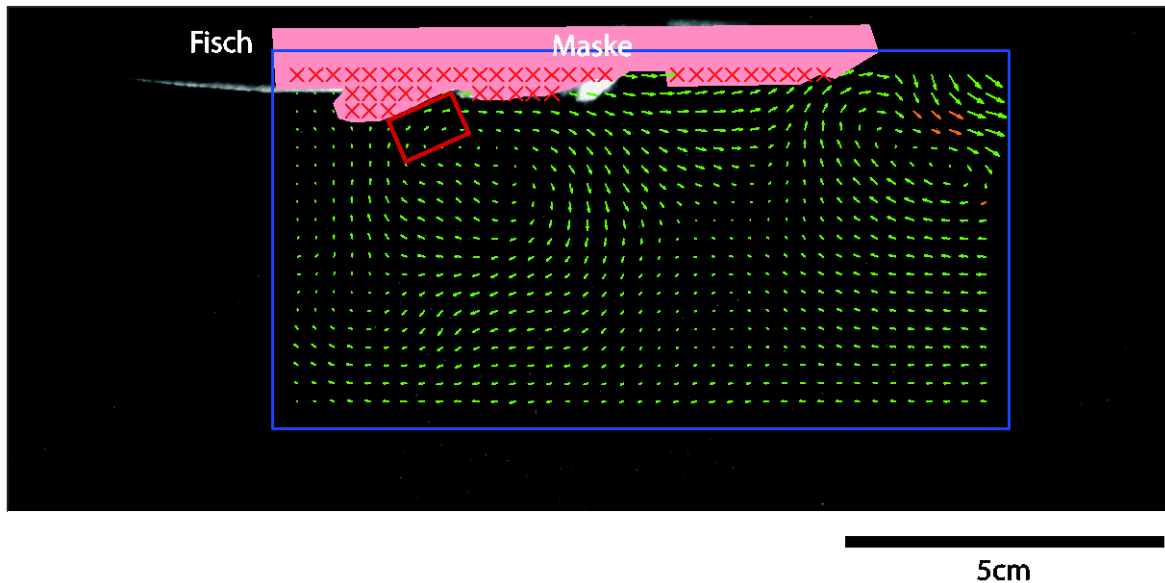
Für alle Units wurden rechnerisch die zeitlichen Abstände jedes einzelnen Spikes zu allen anderen Spikes bestimmt und als Histogramm aufgetragen (zeitliche Auflösung 0,05s). Mit dieser Methode konnten Bursts und damit auch Burstfrequenzen (zeitliche Abstand der Bursts) sichtbar gemacht werden. Zum Erkennen von Multi-Unit-Ableitungen wurden die Abstände der Spikes zum jeweils nächsten Spike berechnet (Inter Spike Time Interval, ISTI). Traten Spikes innerhalb der absoluten Refraktärzeit auf, wurden diese Ableitungen als Multi-Unit Ableitungen klassifiziert und von der Analyse ausgenommen.

Darüber hinaus wurden die Eventkanäle der hydrodynamischen Units mit einer schnellen Fourier-Transformation (fast-fourier-transform, FFT) in ihre Frequenzspektren zerlegt. Dadurch konnten dominante Frequenzen in den Antworten der Units identifiziert und mit der VSF verglichen werden

### **2.12.1 Elektrophysiologische Ableitung bei simultaner PIV**

Mit Hilfe des Programms Spike2 wurden die Hochgeschwindigkeitskamera-Aufnahmen mit den elektrophysiologischen Aufnahmen synchronisiert. Hierfür wurde über einen der digitalen Ausgänge des CED-Systems ein Triggerimpuls an das Steuerungsmodul der Hochgeschwindigkeitskamera gegeben, wodurch mit Hilfe des Computerprogramms PFV (Photron Fastcam Viewer, Version 3.0) die Aufnahme gestartet wurde. Gleichzeitig wurde mit dem Laser und den reflektierenden PIV-Partikeln eine Laserschicht auf Höhe der Seitenlinie des Fisches produziert. Mit der MATLAB-Erweiterung PIVlab wurden die Hochgeschwindigkeitskamera-Aufnahmen, wie in Kapitel 2.5 dargestellt, ausgewertet. Anschließend wurden die durchschnittlichen  $V_y$ - und  $V_u$ -Komponenten an der ungefähren Position des rezeptiven Feldes des abgeleiteten Neuromasten exportiert (Abb. 13).





**Abb. 13: Beispiel einer PIV-Aufnahme. Blaues Rechteck:** Region, in der die Strömungsvektoren berechnet wurden (Region of Interest; ROI). **Blassrot:** Fisch und Fischhalter (Alle Vektoren in diesem Bereich wurden von der Auswertung ausgenommen). **Rotes Rechteck:** Exportregion. Die Vektoren codieren die Geschwindigkeit (durch ihre Länge) und die Richtung (durch ihre Richtung) der Wasserbewegungen.

Die Strömungsgeschwindigkeiten der  $V_y$ - und  $V_x$ -Komponente wurde dann in das Programm Matlab exportiert. Parallel dazu wurde der Eventkanal, der wie in Kapitel 2.12 beschrieben aus den Originaldaten erzeugt wurde, ebenfalls in das Programm Matlab exportiert. Die Strömungsgeschwindigkeiten und die Events wurden geglättet (smooth, 20, 'loess'; smooth, 100, 'loess'), normiert und aufgetragen. Die beiden Kurven wurden dann verglichen.

## 2.13 Histologische Färbungen mit Cresyl-Violett

Zur Darstellung der Zellkerne und zur Identifikation von Läsionen wurde die Cresylviolett-Färbung benutzt. Folgender Verlauf wurde eingehalten:

**Fixierung:** Der Fisch wurde dekapitiert und die Schädelkapsel mit einem Feinbohrer geöffnet. Anschließend wurde der Kopf für mindestens 3 Tage in 4 %igem Paraformaldehyd fixiert. Danach wurde das Gehirn vorsichtig mit Hilfe eines Präparationsbestecks aus dem Schädel entnommen und erneut für 3 Tage in 4 %igem Paraformaldehyd fixiert.

**Schneiden:** Die Hirnschnitte wurden mit einem Kryotom angefertigt. Hierfür wurden die Gehirne für mindestens 24 h in eine 30 %ige Saccharoselösung eingelegt. Anschließend wurden die Gehirne in Embedding-Matrix (M1 Embedding Matrix, Thermo Scientific) überführt und eingefroren. Die Gehirne wurden dann mit einem Skalpell zugeschnitten und auf einem Stempel festgefroren. Anschließend wurde die Medulla in 25  $\mu\text{m}$  dicke

Schnitte geschnitten, die Schnitte wurden auf mit Gelatine beschichteten Objektträgern (Rezept: siehe Anhang) aufgezogen.

**Färbung:** Die Schnitte wurden einen Tag angetrocknet und anschließend über eine Färbereihe (Rezept siehe Anhang) mit dem Farbstoff Kresylviolett gefärbt. Anschließend konnten die Läsionen unter dem Mikroskop lokalisiert werden.

## 2.14 DASPEI

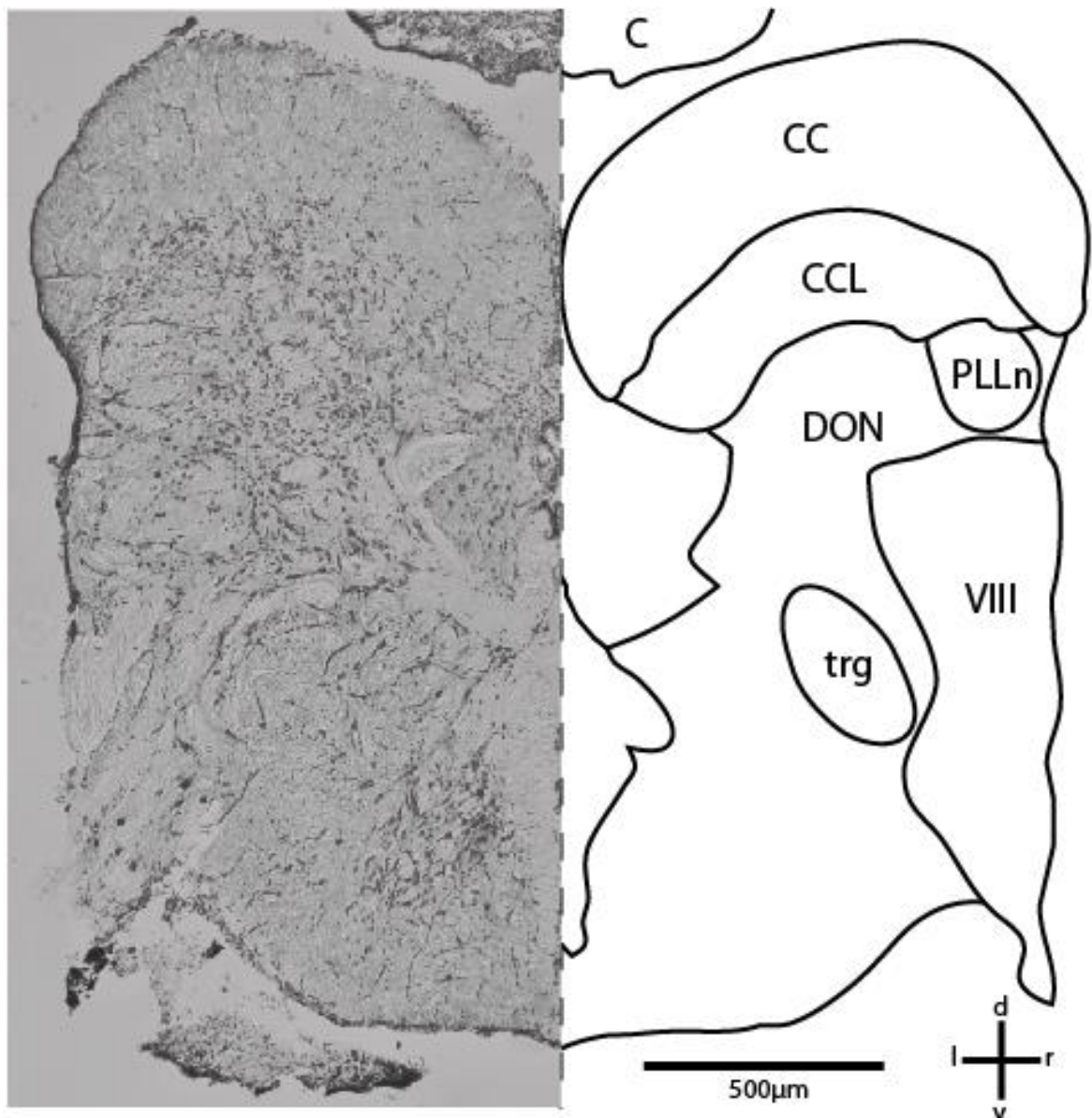
Bei der DASPEI-Lebendfärbung wurden eine juvenile Nase für 30 Minuten und 4 juvenile Forellen für 20 Minuten in eine DASPEI-Lösung ( $c = 0,1 \frac{mmol}{L}$ ) gesetzt. Die Nase hatte eine Länge von 8 cm, die Regenbogenforellen waren 10, 12, 12,5 und 13 cm lang. Im Anschluss wurden die Fische mit einer Überdosis MS222 getötet. Unter einem Fluoreszenzmikroskop (Olympus SZX12) wurden die Verteilung und die Anzahl der Oberflächen- und Kanalneuromasten ermittelt. DASPEI färbt die Mitochondrien lebender Zellen an und eignet sich dadurch zur Sichtbarmachung von Haarsinneszellen (Whitfield et al. 1996). Die Verteilung der Oberflächenneuromasten wurde mit Hilfe des Computerprogramms Adobe Illustrator (CS 5) visualisiert.

### 3 Ergebnisse

Im Nachfolgenden werden zunächst die Ergebnisse der histologischen Untersuchungen an *C. nasus* und *O. mykiss* vorgestellt. Im Anschluss folgen die Ergebnisse der elektrophysiologischen Untersuchungen, die im MON von *O. mykiss* und *C. nasus* mit extrazellulären Einzelzelleitungen erzielt wurden.

#### 3.1 Histologische Färbungen mit Cresylviolett

Das Gehirn einer juvenilen Nase (Länge 10 cm) wurde entfernt und in 4%igem Formaldehyd fixiert. Anschließend wurde das Gehirn in 30%iger Saccharoselösung eingelegt und 25µm große Schnitte der Medulla mit dem Kryotom angefertigt (siehe Kapitel 2.13). Die Zellkerne der Neurone wurden in einer Färbereihe mit Cresylviolett gefärbt. Abb. 14 zeigt einen mit Cresylviolett angefärbten Transversalschnitt der Medulla in Höhe des MON. Im oberen Bereich ist die Crista Cerebellaris oder Molekularschicht zu erkennen. Die Crista Cerebellaris ist hauptsächlich durch die geringe Anzahl gefärbter Zellkerne von den darunterliegenden Schichten unterscheidbar. Unter dieser schließt sich die Crestzellschicht an. Hier sind mehr und größere Strukturen gefärbt als in den Umgebenden Schichten. Zwischen den beiden liegt die Verbindungszone, welche jedoch aufgrund ihrer geringen Dicke im vorliegenden Transversalschnitt nicht genau lokalisiert werden konnte. Zu erkennen sind ebenfalls der posteriore Seitenliniennerv und der achte Hirnnerv. Vom Cerebellum ist aufgrund des gewählten Bildausschnitts nur der untere Teil zu erkennen. Verglichen mit den von Newt et al. (1996) durchgeführten Transversalschnitten der Medulla von *C. auratus* (Abb. 2) zeigt sich bei *C. nasus* ein sehr ähnliches Bild. Mit Ausnahme des Deep Neuropil waren alle Bereiche des MON erkennbar.



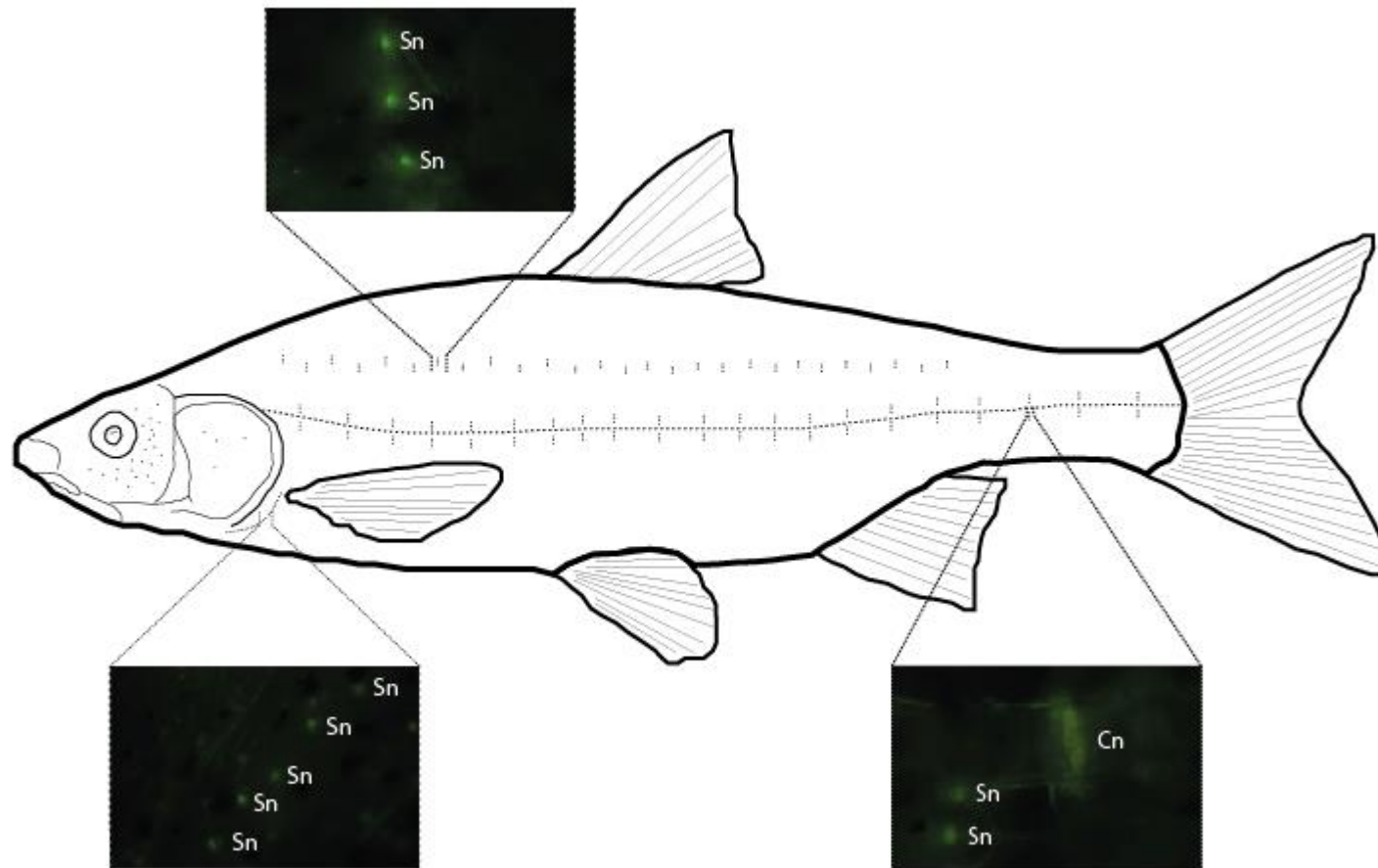
**Abb. 14** Transversalschnitt durch die Medulla von *C. nasus*. Links: Cresylviolett gefärbter Halbschnitt. Rechts: Gespiegelte Zeichnung der links zu erkennenden Regionen. C = Cerebellum, CC = Crista cerebellaris, CCL = Crest Cell Layer, PLLn = posterior lateral line nerve, DON=Nucleus descendens, trg = sekundärer gustatorischer Trakt, VIII = 8. Hirnnerv, d=dorsal, l=links, r = rechts, v = ventral

### 3.2 Lebendfärbungen mit Daspei

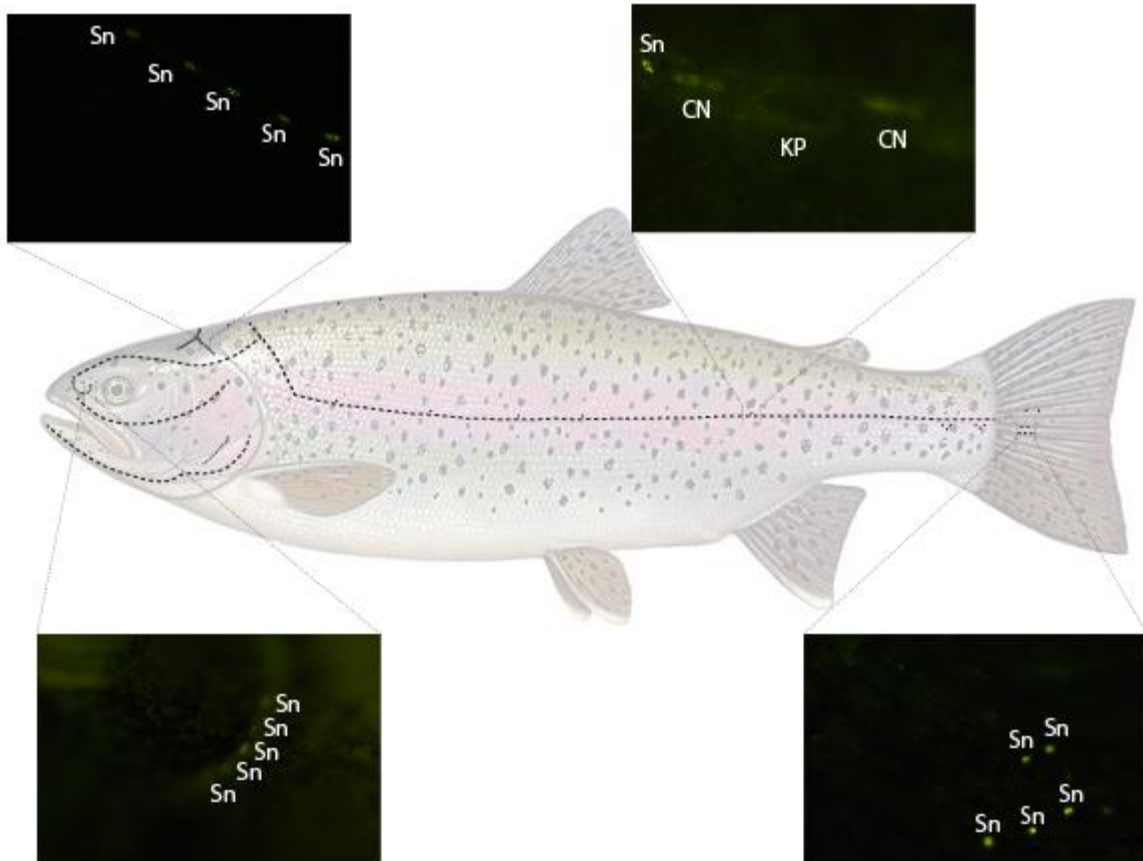
Bei vier juvenilen Regenbogenforellen und einer juvenilen Nase wurden Daspei-Lebendfärbungen durchgeführt. Die Nase wurde dazu 30 Minuten und die Regenbogenforellen für 20 Minuten in eine Daspei-Lösung ( $c = 0,1 \frac{mmol}{L}$ ) gesetzt. Anschließend wurden die Neuromasten unter einem Fluoreszenz-Mikroskop fotografiert, um ihre Verteilung und Zahl festzuhalten. Bei der Nase wurden hierbei 245 ONs auf einer Körperseite. Auf dem Kopf vor den Kiemen waren 25 ONs, um die

Seitenlinie herum 125 und zwischen dem Rumpfseitenlinienkanal und dem Rücken 90. Im Rumpfseitenlinienkanal wurden 90 KN gezählt (Abb. 15). Bei den Kopfkanälen gelang keine Färbung.

Bei den 4 Regenbogenforellen wurden 67 - 92 ONs auf einer Körperseite des Fisches gefunden. Davon lagen 51 – 79 im Kopfbereich. Dort befanden sich die ONs vor allem in drei Bereichen: um die Nasenlöcher herum, auf dem Operculum und im Gebiet der Parietale (Abb. 16). 5 – 6 ON lagen zwischen Kopf und Rückenflosse, 2 – 7 ON wurden am Rumpfseitenlinienkanal gefunden und 3 – 7 ON waren auf der Schwanzflosse (Abb. 16). Bei einer Regenbogenforelle wurden 122 KN im Rumpfseitenlinienkanal gezählt.



**Abb. 15: Neuromastenverteilung bei der Nase.** SN = Oberflächenneuromast, CN = Kanalneuromast. Punkte symbolisieren Oberflächenneuromasten, die gestrichelte Linie folgt dem Seitenlinien-Rumpfkanal.



**Abb. 16: Neuromastenverteilung bei der Regenbogenforelle.** Sn = Oberflächenneuromast, CN = Kanalneuromast, KP = Kanalpore. Punkte symbolisieren Oberflächenneuromasten, die gestrichelte Linie die Seitenlinienkanäle

### 3.3 Laterale Verschiebung des Zylinders

Im Rahmen dieses Versuchsteils wurden 17 hydrodynamisch aktive MON-Units von 9 Forellen und 64 hydrodynamisch aktive Units von 29 Nasen abgeleitet.

### 3.3.1 Laterale Verschiebung des Zylinders, *C. nasus*

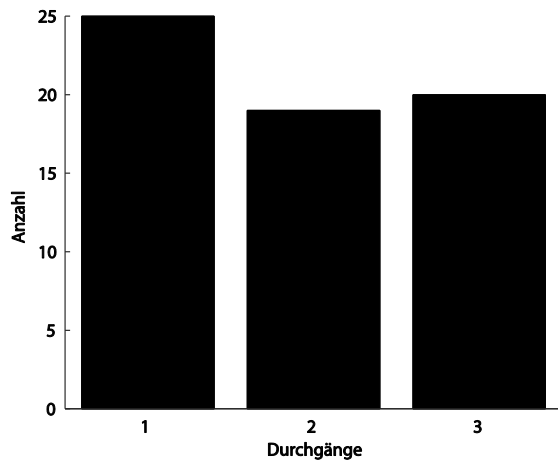


Abb. 17: Anzahl der aufgenommenen Durchgänge aller Units

Von den 64 hydrodynamisch aktiven Units können unterschiedlich viele Durchgänge aufgenommen werden. Von 25 Units wurde jeweils ein Versuchsdurchgang, von 19 Units jeweils zwei und von 20 Units jeweils drei Versuchsdurchgänge aufgenommen (Abb. 17). Alle Units wurden wie in Kapitel 2.12 beschrieben auf hydrodynamische Aktivität getestet und wie in Kapitel 2.7 beschrieben abgeleitet. Das Versuchsprotokoll wurde wie in Kapitel 2.9 beschrieben durchgeführt.

Einige Units zeigten ein burstartiges Antwortverhalten (für ein Beispiel siehe Abb. 18).

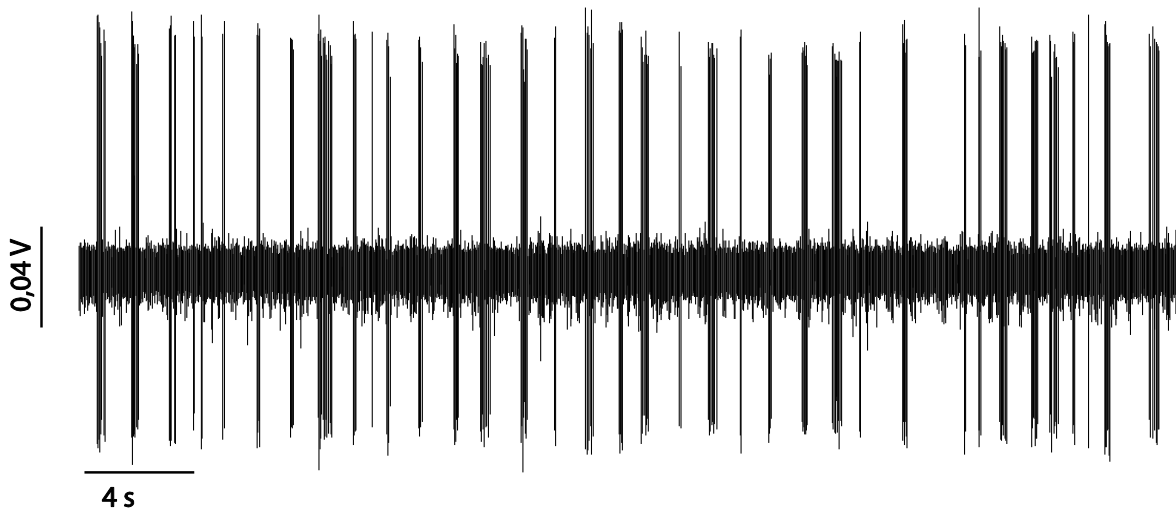
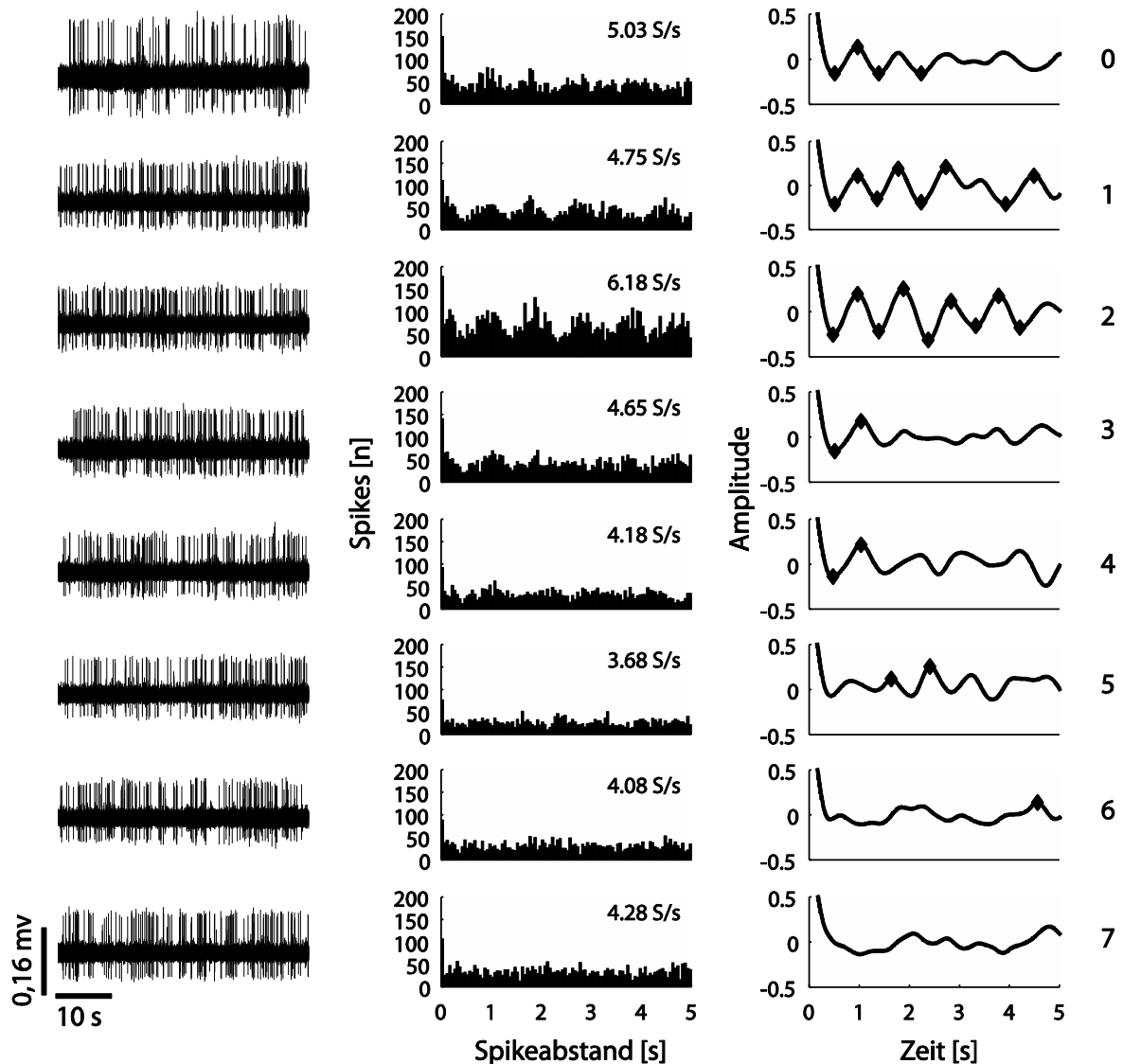


Abb. 18: 40 Sekunden einer Einzelableitung von Unit 5 (*C. nasus*), Zylinderposition 2.

Eine Beispielauswertung von Unit 6 ist in Abb. 19 dargestellt. Abb. 19 A zeigt die Originalspuren aller Zylinderpositionen in Durchgang 1. Die Unit wies ein burstartiges Antwortverhalten auf, das Signal-Rausch-Verhältnis blieb während der Aufnahme konstant. In Abb. 19 B sind die SIHs aufgetragen. Bei Zylinderposition 1 und 2 entsprach die

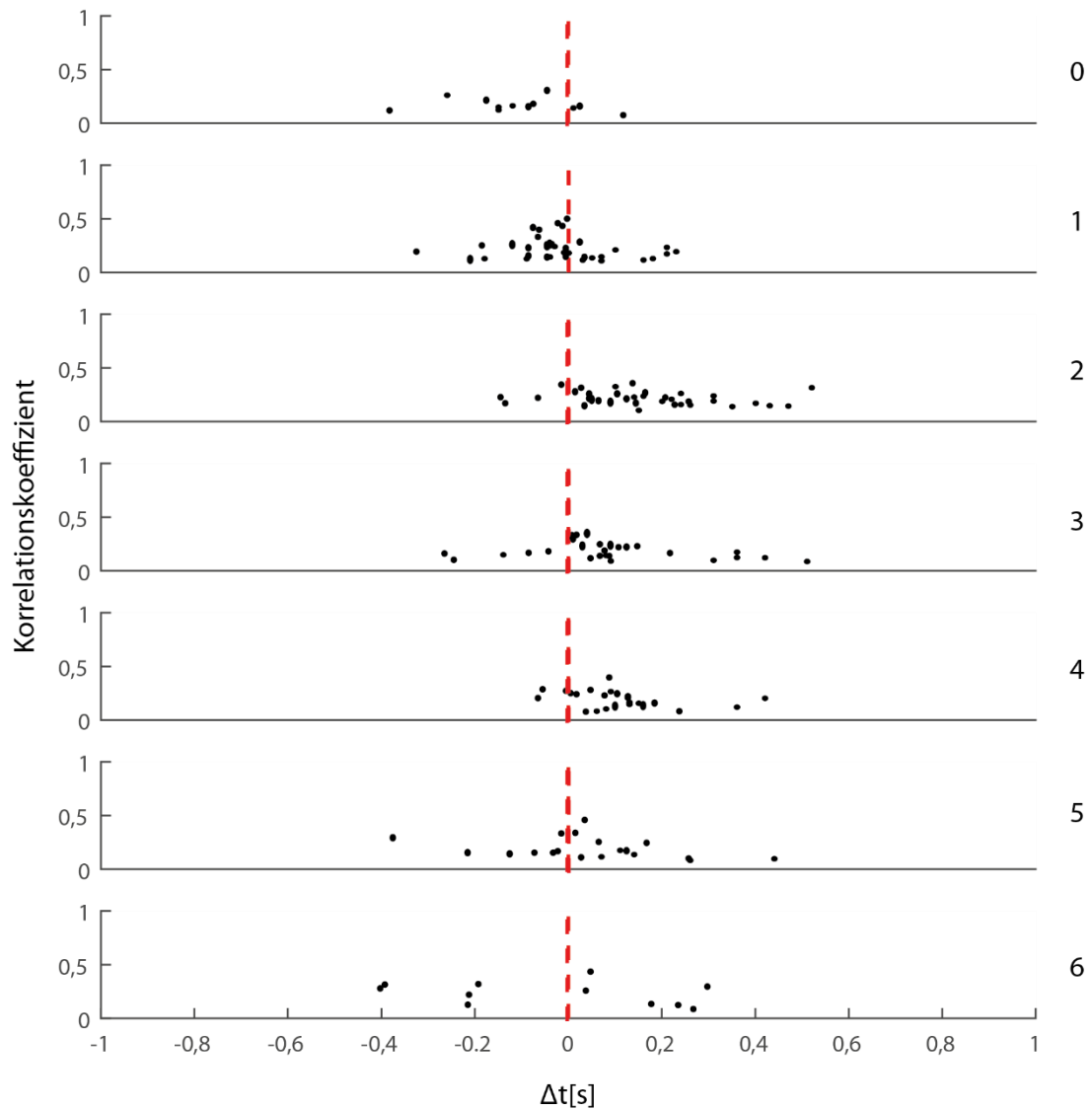


Burstfrequenz dem berechneten VSD von 0,93 Sekunden. Die Spikerate schwankte zwischen 3,58 (Position 5) und 6,18 (Position 2) Spikes/s.



**Abb. 19: Beispielauswertung für Unit 6 (*C. nasus*).** Links: Originalspuren. Mitte: SIHs mit Spikeraten in Spikes/Sekunde. Rechts: Autokorrelationskoeffizienten. Die Rauten markieren Maxima und Minima. 0-7: Zylinderpositionen

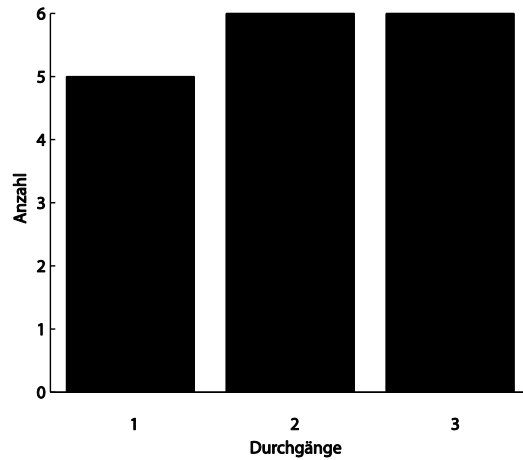
Die Autokorrelationskurven in Abb. 19 C zeigen ein periodisches Kurvenprofil bei Zylinderposition 1 und 2. Die Maxima und Minima der Autokorrelationskurve weisen einen Abstand im Bereich des berechneten VSD von 0,93s auf. Bei den anderen Zylinderpositionen sowie bei dem Versuch ohne Zylinder (Position 7) war eine periodische Autokorrelationskurve nicht zu erkennen.



**Abb. 20:** Autokorrelationsmaxima aller 8 Units, die nach den in Kapitel 2.12 vorgestellten Bedingungen als reaktiv eingestuft wurden. **0-6:** Zylinderpositionen

Abb. 20 zeigt den zeitlichen Abstand der ersten 4 Autokorrelationsmaxima aller 8 als reaktiv klassifizierten Units. Bei den Zylinderpositionen 1, 3, 4 und 5 erkennt man Clusterungen in der Nähe der berechneten VSF. Bei Zylinderposition 2 sind ebenfalls viele Maxima zu erkennen, die sich jedoch großflächiger verteilen. Bei den Zylinderpositionen 0 und 6 sind nur vereinzelte Korrelationsmaxima zu erkennen, die aber nicht in der Nähe der berechneten VSF liegen.

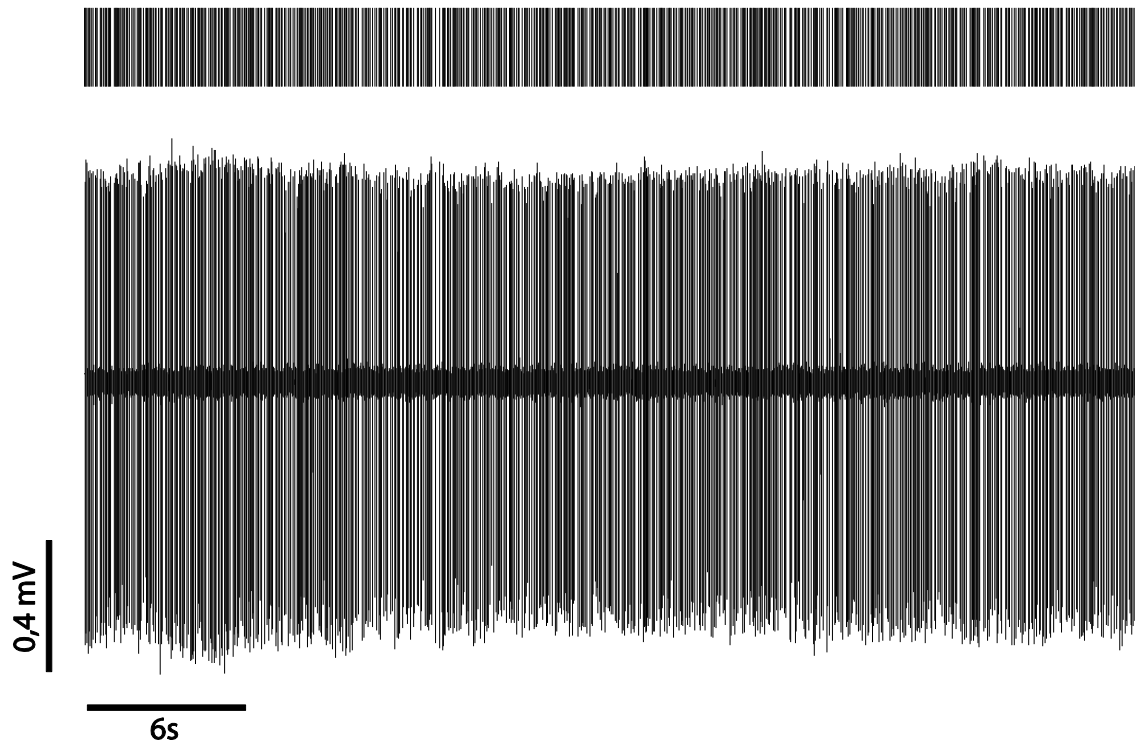
### 3.3.2 Laterale Verschiebung des Zylinders, *Oncorhynchus mykiss*



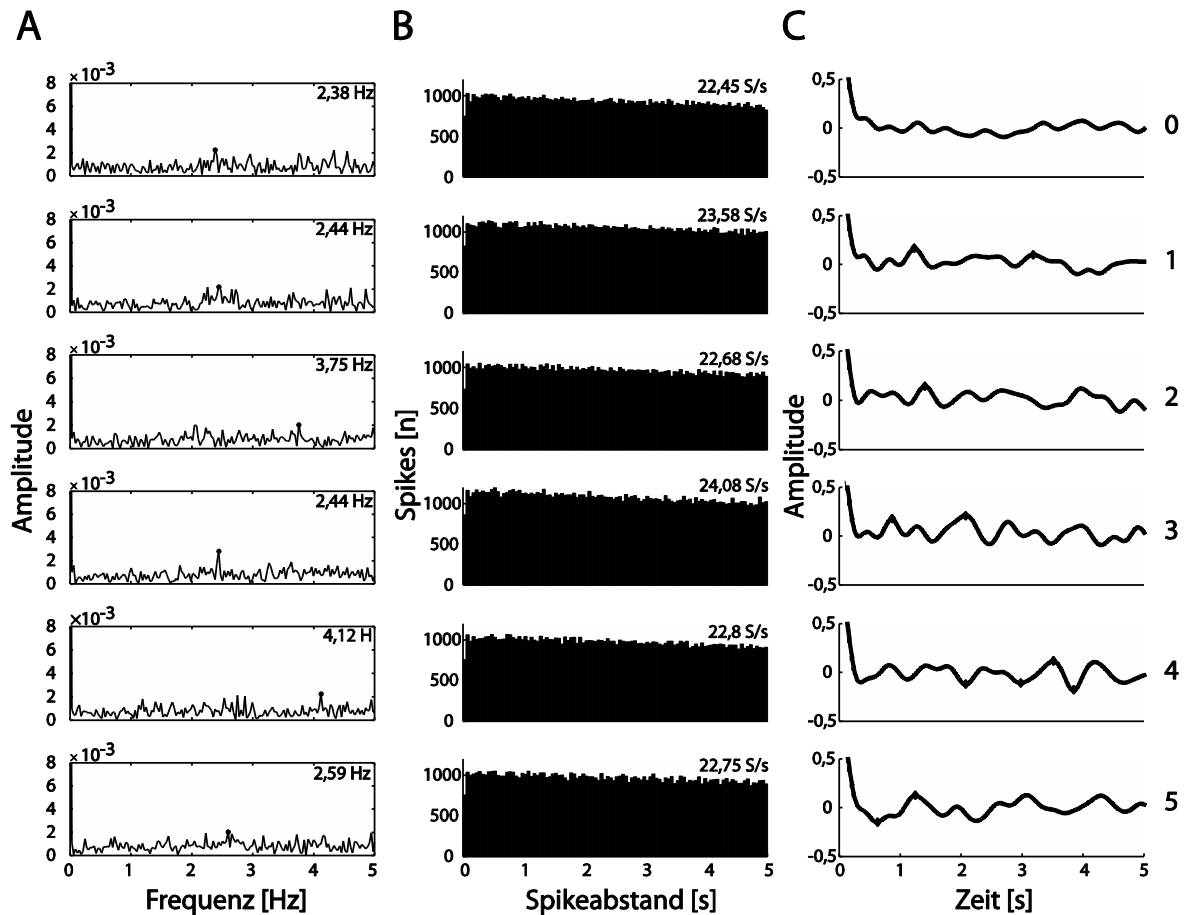
Es wurden 17 Units von 9 Forellen ausgewertet. Von 5 units wurde ein Durchgang, von 6 Units jeweils zwei Durchgänge und von weiteren 6 Units jeweils drei Durchgänge aufgenommen (Abb. 21). Keine Unit zeigte ein burstendes Antwortverhalten, wie es zuvor bei den Nasen beobachtet worden war (Kapitel 3.3.1). In Abb. 22 sind 40 Sekunden der Originalantwort von Unit 1 (Zylinderposition 3) aufgetragen. Die Unit zeigt eine sehr gleichmäßige Entladungsrate. Die Spikerate betrug durchschnittlich 21,8 Spikes pro Sekunde. Bei den anderen Zylinderpositionen zeigte die Unit ein ähnliches

**Abb. 21:** Anzahl der aufgenommenen Durchgänge aller Units

Entladungsverhalten.

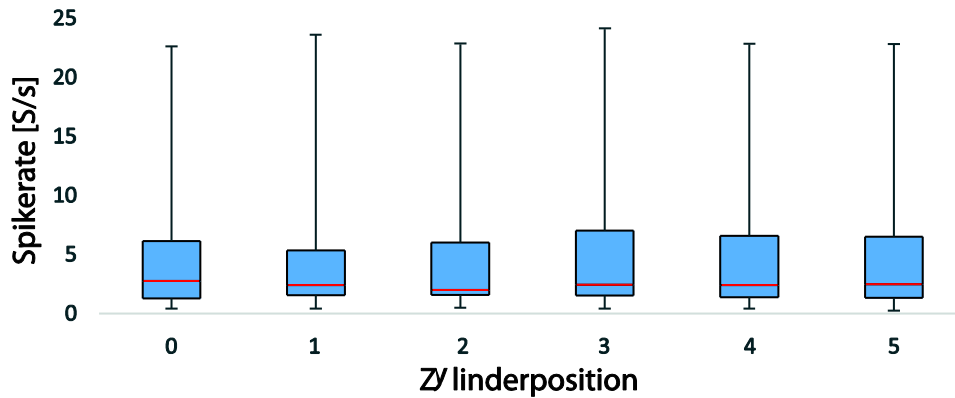


**Abb. 22:** 40 Sekunden Beispielantwort Unit 1 (*O. mykiss*) Position 3. Oben: Aus der Originalspur generierter Eventkanal. Unten: Originalspur



**Abb. 23: Beispielauswertung von Durchgang 1, Unit 1 (*O. mykiss*).** A: Frequenzspektrum der FFT, jeweils mit maximaler Amplitude (jeweils oben rechts). B: SIHs mit Spikerate in Spikes/s. C: Autokorrelationskurven. 0-5: Zylinderpositionen

Abb. 23 zeigt die Beispielauswertung einer MON-Unit der Regenbogenforelle. Abb. 23 A zeigt das mit Hilfe der FFT aus dem Eventkanal berechnete Frequenzspektrum. Es gibt keine prominenten Maxima in der Nähe der berechneten VSF (1,15 Hz). Auch die SIHs (Abb. 23 B) zeigen keine periodischen Clusterungen, die auf ein burstartiges Antwortverhalten der Unit hinweisen würden. Die Spikerate lag zwischen 22,45 und 24,08 Spike/s. Bei den in Abb. 23 C gezeigten Autokorrelationskurven sind ebenfalls keine periodische Wiederholung zu erkennen.



**Abb. 24: Boxplot Spikerates.** Spikeraten aller 17 Units der Regenbogenforelle für die Zylinderpositionen 1 bis 5

Abb. 24 zeigt für alle abgeleiteten Units die Boxplots der Spikeraten für die Zylinderpositionen 0 bis 5. Zwischen den verschiedenen Zylinderpositionen gibt es keine signifikanten Unterschiede in den Spikeraten (einfaktorielle Anova; Faktor: Zylinderposition, abhängige Variable: Spikerate, Post-Hoc-Test: Bonferroni) ( $p \leq 0,05$ ). Für jede einzelne Unit wurde ebenfalls eine einfaktorielle Anova (Faktor: Zylinderposition, abhängige Variable: Spikerate, Post-Hoc-Test: Bonferroni) durchgeführt. In keinem Fall hatte die Zylinderposition einen signifikanten Einfluss ( $p > 0,05$ ) auf die Entladungsraten. Die Entladungsraten im Kontrollversuch (ohne Zylinder) unterschieden sich nicht von den Entladungsraten in den Zylinderversuchen.

### 3.4 Antwortverhalten von MON-Units als Funktion der Zylinderentfernung

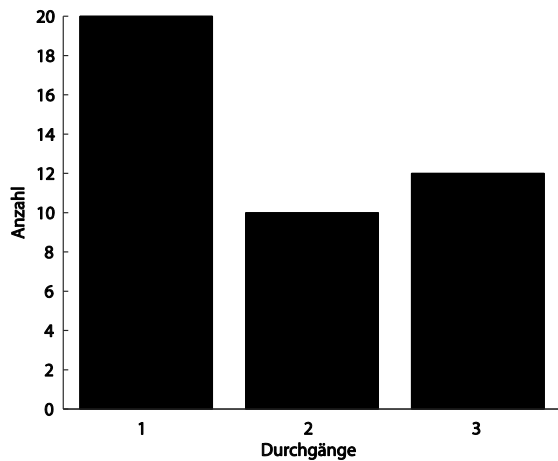


Abb. 25 Anzahl der durchgeführten Durchgänge aller Units

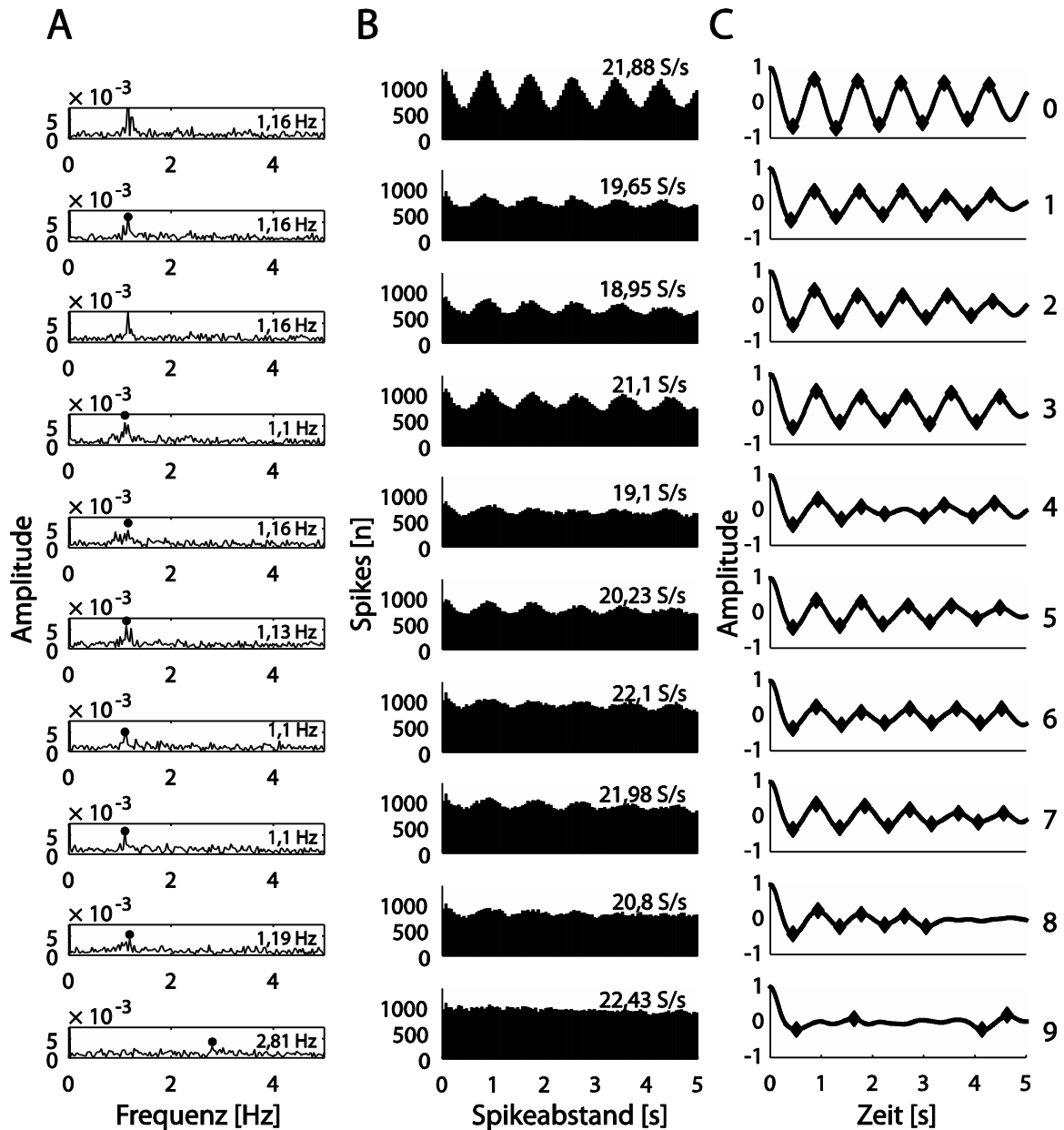
Insgesamt wurden 42 Units von 23 Nasen aufgenommen. 12 Units wurden für jeweils 3 Versuchsdurchgänge, 10 Units für jeweils 2 Versuchsdurchgänge und 20 Units für jeweils 1 Versuchsdurchgang aufgenommen (Abb. 25). Um die Ableitposition im MON zu verifizieren, wurde eine elektrolytische Läsion durchgeführt. Diese wurde anschließend durch die Herstellung von Schnittreihen im Kryotom (Schnittdicke 25  $\mu\text{m}$ ) und durch Färbung der Schnittreihen mit Cresylviolett lokalisiert.

Einige der untersuchten Units reagierten mit einem burstähnlichen Entladung auf die Wirbelstraße (vgl. Abb. 26).



Abb. 26: Beispielantwort von Unit 4 (*C. nasus*). Der Zylinder war auf Position 1. Unten: Originalspur. Oben: Aus der Originalspur generierter Eventkanal.

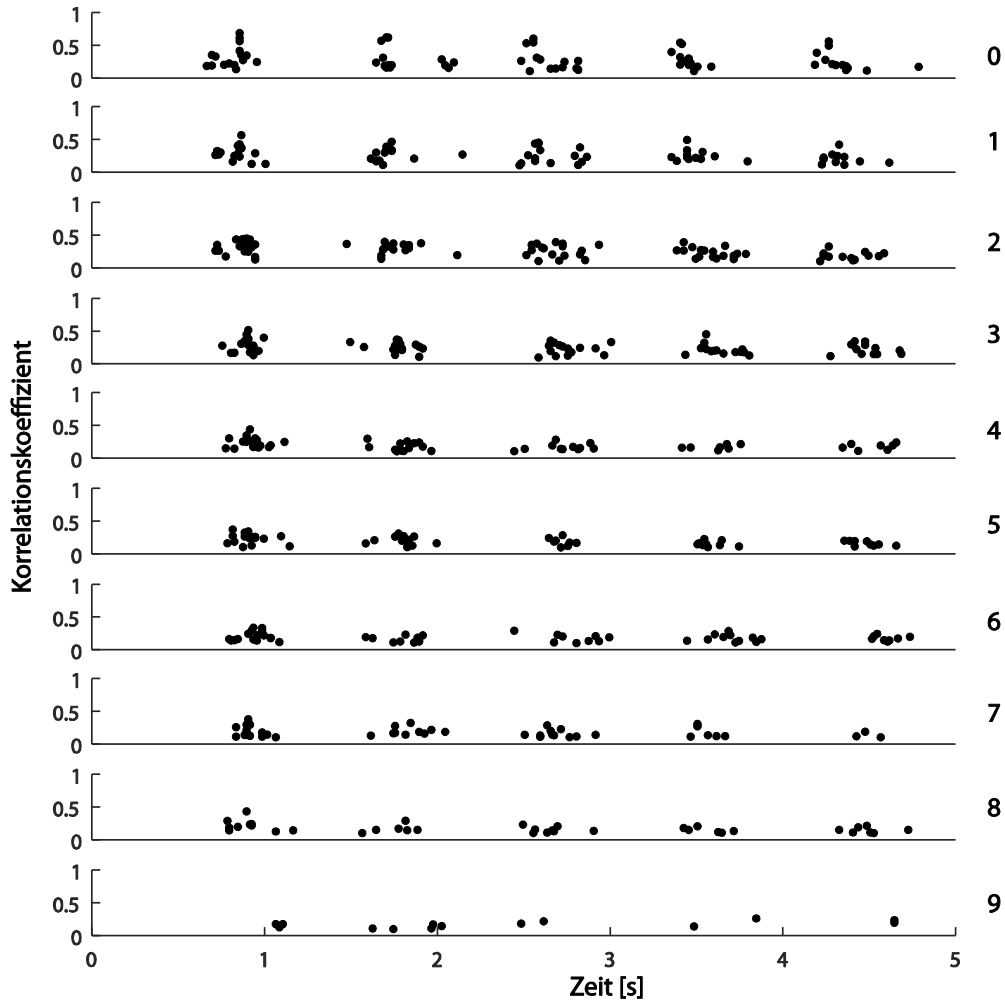
Abb. 27 zeigt beispielhaft die Auswertung von Unit 4. Aus Platzgründen wurde nur der zweite von drei Durchgängen aufgetragen, die anderen Durchgänge zeigten vergleichbare Resultate. Für jede Zylinderposition sind drei verschiedene Auswertungsmethoden durchgeführt worden. Abb. 27 A zeigt die Ergebnisse der FFT, welche für alle Zylinderpositionen einen maximalen Frequenzpeak im Bereich 1,10 bis 1,19 Hz zeigt. Dies entspricht der gemessenen VSF von 1,09 bis 1,18 Hz (vgl. Kapitel 3.4.1). Bei dem Kontrollversuch (ohne Zylinder) war kein prominenter Peak erkennbar. In Abb. 27 B sind die Abstände der Spikes zueinander aufgetragen. Durch das burstähnliche Verhalten ergab sich eine periodische Häufung der Abstände, welche der VSD entsprachen. Die Spikerate variierte hierbei nur leicht zwischen 18,95 und 22,43 Spikes/s. Die Autokorrelationskurven schwächten sich mit steigendem Zylinderabstand deutlich ab, die Periodizität war jedoch auch bei maximalen Zylinderabstand (24cm, Pos8) noch zu erkennen. Ohne Zylinder war keine Periodizität sichtbar.



**Abb. 27: Auswertungen von Unit 4 (*C. nasus*).** A: FFT. Schwarzer Punkt: Frequenz mit der Maximalamplitude. B: Abstände aller Spikes zueinander. Die mittlere Spikerate ist jeweils angegeben. C: Autokorrelationskurven. Die Rauten markieren die mit dem Matlab-Skript (vgl. Kapitel 2.12) identifizierten Maxima und Minima.

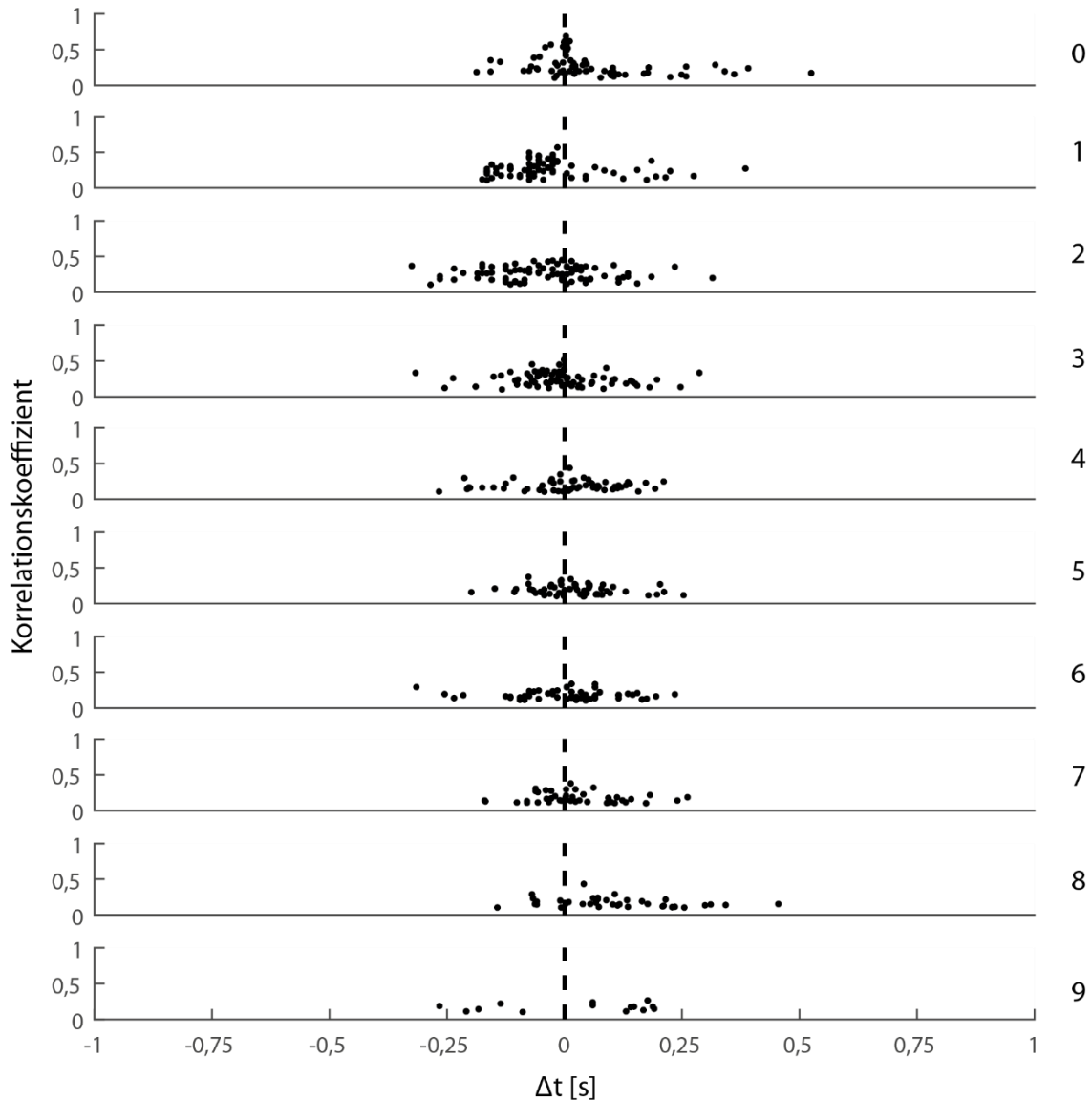
Alle 42 Units wurden mit Hilfe einer Autokorrelation in „reaktiv“ und „nicht reaktiv“ eingeteilt. Die Einteilung erfolgte automatisiert wie in Kapitel 2.12 dargestellt. 9 der 42 aufgenommenen Units (21%) wurden nach den in Kapitel 2.12 festgelegten Kriterien als reaktiv eingestuft.





**Abb. 28: Korrelationspeaks.** Gesammelte Korrelationsmaxima aller 9 Units, die nach den in Kapitel 2.12 vorgestellten Bedingungen als reaktiv eingestuft wurden. 0-9: Zylinderpositionen

Abb. 28 zeigt die Maxima der Autokorrelation aller reaktiven Units. Die Höhe der Autokorrelationskoeffizienten nahm mit zunehmender Entfernung des Zylinders ab. Die Maxima clusterten in der Nähe der berechneten VSD. Mit zunehmender Entfernung des Zylinders vom Fisch wurde die Clusterung schwächer. Ohne Zylinder waren deutlich weniger Maxima zu finden, eine Clusterung war nicht zu erkennen.

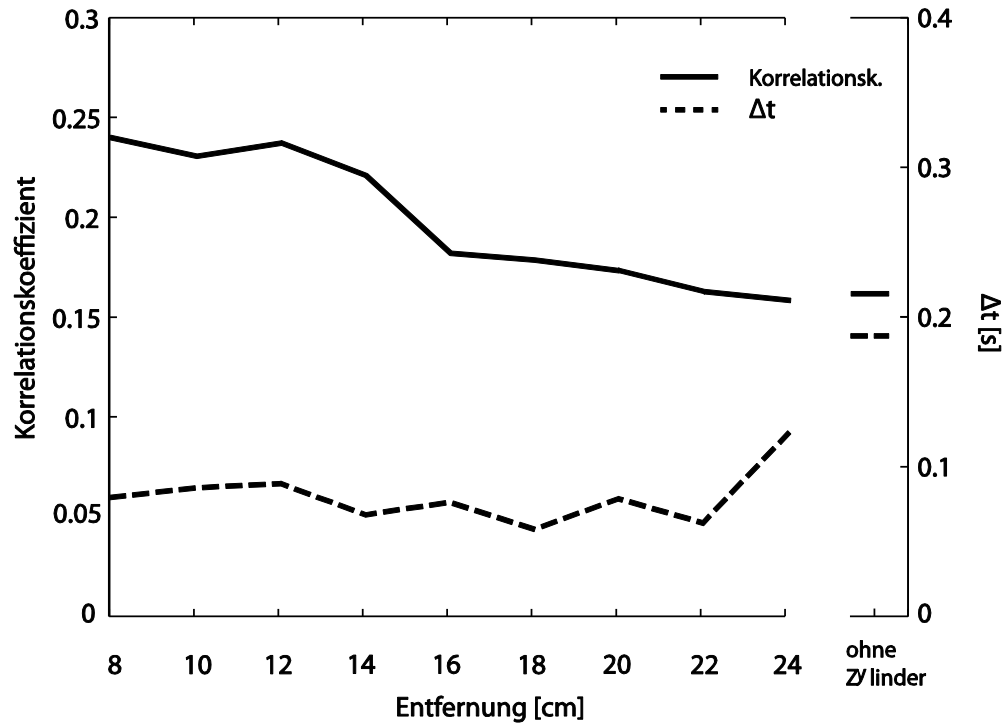


**Abb. 29:** Abstand zur berechneten VSF und Amplitude aller Autokorrelationsmaxima der 9 Units, die nach den in Kapitel 2.12 vorgestellten Bedingungen als reaktiv eingestuft wurden. **0-9:** Zylinderpositionen

Die durchschnittlichen Abstände der Korrelationspeaks von den gemessenen VSDs sind in Abb. 29 aufgetragen. Die Amplitude der Korrelationspeaks nahm mit steigendem Zylinderabstand ab. Der zeitliche Abstand der Autokorrelationsmaxima zur gemessenen VSF nahm ebenfalls zu, so dass die Clusterung mit zunehmendem Zylinderabstand schwächer wurde. Ohne Zylinder traten vereinzelte Korrelationsmaxima auf, eine Clusterung war aber nicht mehr zu erkennen.

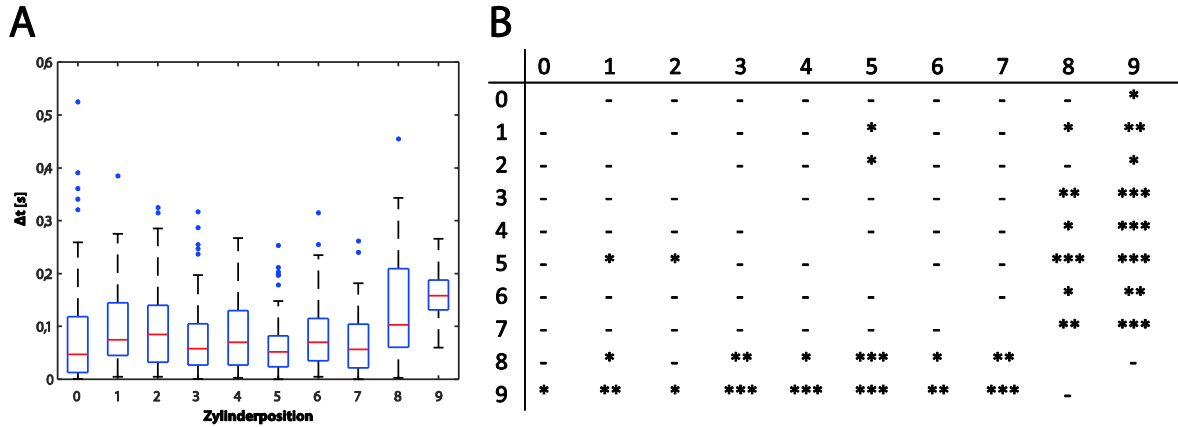
Der durchschnittliche Korrelationskoeffizient nahm mit steigender Entfernung des Zylinders von ca. 0,24 (Zylinderabstand 8 cm) auf ca. 0,16 (Zylinderabstand 24 cm) ab (Abb. 30). Die Zeitdifferenz der ersten 5 Maxima der Autokorrelationskurve nahm mit

steigendem Zylinderabstand zu und stieg von durchschnittlich 0,06 Sekunden auf ca. 0,11 Sekunden an. Ohne Zylinder stieg die Zeitdifferenz auf ca. 0,15 Sekunden an.



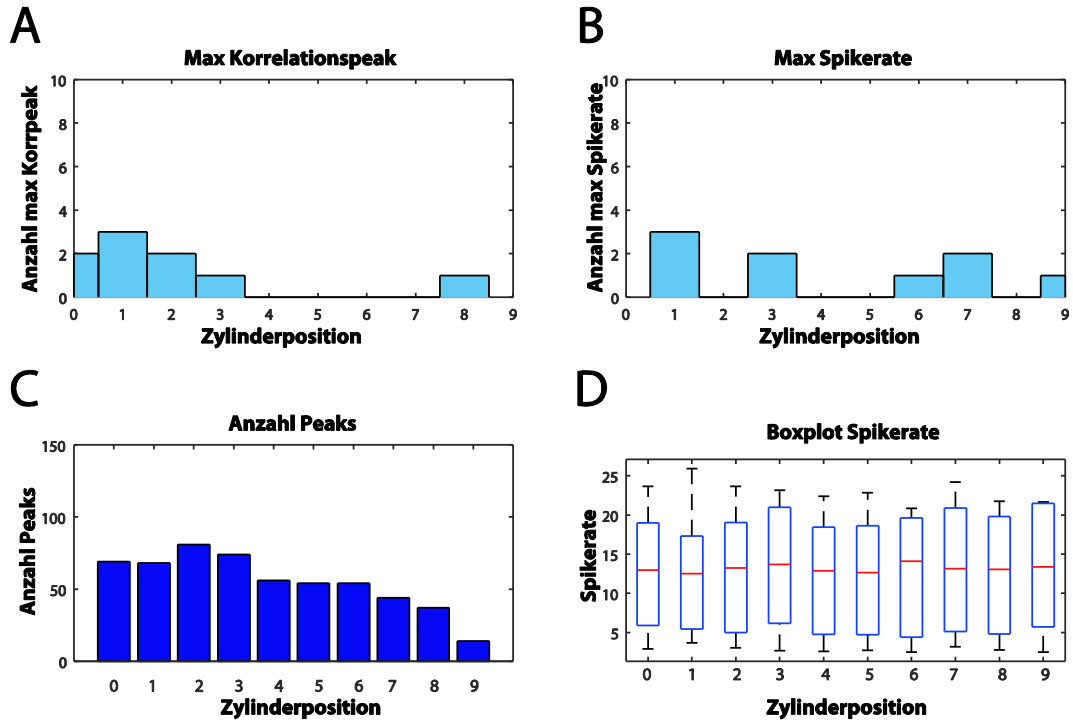
**Abb. 30: Korrelationskoeffizientenmaxima aller 9 reaktiven Units als Funktion der Zylinderentfernung. Durchgezogene Linie:** Durchschnittliche Korrelationskoeffizientenmaxima reaktiver Units. **Gestrichelte Linie:** Durchschnittliche Zeitdifferenz zur berechneten VSD in Sekunden.

In Abb. 31 ist der durchschnittliche Abstand der errechneten Korrelationspeaks zur gemessenen VSF im Boxplot aufgetragen. Hierbei zeigten sich lediglich bei den Zylinderpositionen 8 und 9 (ohne Zylinder) große Unterschiede in der zeitlichen Differenz zur berechneten VSF. Dies bestätigte sich auch bei den t-Tests (Zweistichproben-T-Test), mit denen getestet wurde, ob der zeitliche Abstand zur berechneten VSF sich bei den verschiedenen Zylinderpositionen signifikant voneinander und vom Test ohne Zylinder unterschied. Hierbei war der Abstand der Autokorrelationsmaxima von der errechneten VSF mit Ausnahme von Position 8 immer höchst signifikant (Position 3, 4, 5 und 7), hoch signifikant (Position 1 und 6) oder signifikant (Position 0 und 2).



**Abb. 31: A: Zeitdifferenz.** Durchschnittliche zeitliche Differenz der Autokorrelationspeaks. **Rote Linie:** Median. **Blaue Punkte:** Ausreißer. **B:** Zweistichproben-T-Test der zeitlichen Differenzen zur berechneten VSF. \*=  $p \leq 0,05$ , \*\*=  $p \leq 0,01$ , \*\*\*=  $p \leq 0,001$ . **0-9:** Zylinderpositionen.

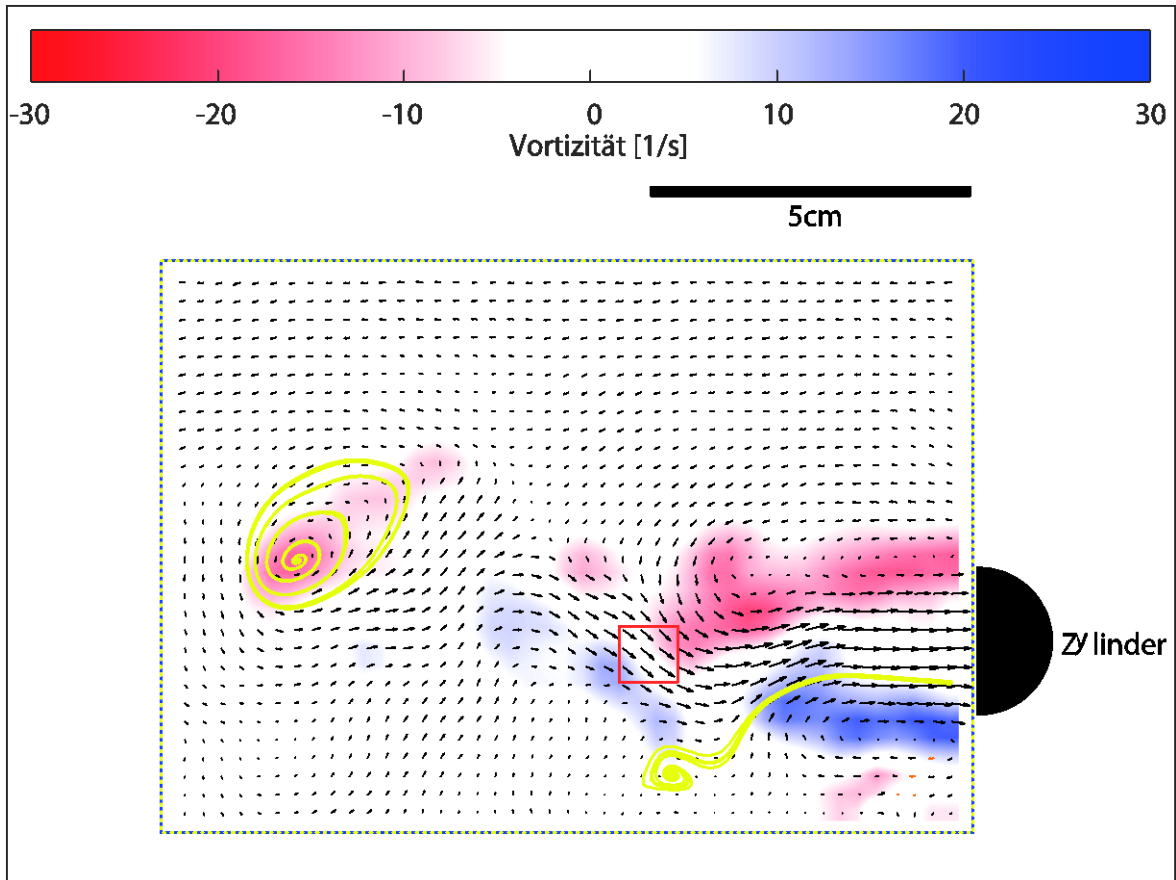
Die maximalen Autokorrelationspeaks lagen mit Ausnahme einer Unit immer bei den Zylinderpositionen 0 bis 3 (Abb. 32 A), während die Spikeraten bei Position 1 am häufigsten maximal waren, ansonsten aber nicht mit dem Zylinderabstand korrelierten (Abb. 32 B). Die meisten Autokorrelationsmaxima wurden an Zylinderposition 2 gefunden und fielen von dort bis Position 9 deutlich ab (Abb. 32 C). Die durchschnittlichen Spikeraten unterschied sich bei den verschiedenen Zylinderpositionen kaum (Abb. 32D). Ob die Zylinderposition einen Einfluss auf die Spikerate hat wurde für jede reaktive Unit mit einer einfaktoriellem Anova (Faktor: Zylinderposition, abhängige Variable: Spikerate, Post-Hoc-Test: Bonferroni) getestet. Es bestand kein signifikanter ( $p > 0,05$ ) Unterschied zwischen den einzelnen Zylinderpositionen und der Kontrolle (ohne Zylinder).



**Abb. 32** Antwortverhalten aller nach Kapitel 2.12 als reaktiv eingestuftes Units in Abhängigkeit der Zylinderposition. **A** Anzahl maximaler Autokorrelationspeaks, **B** Maximale Spikeraten, **C** Anzahl Peaks, **D** Boxplot Spikeraten, rote Linien: Median

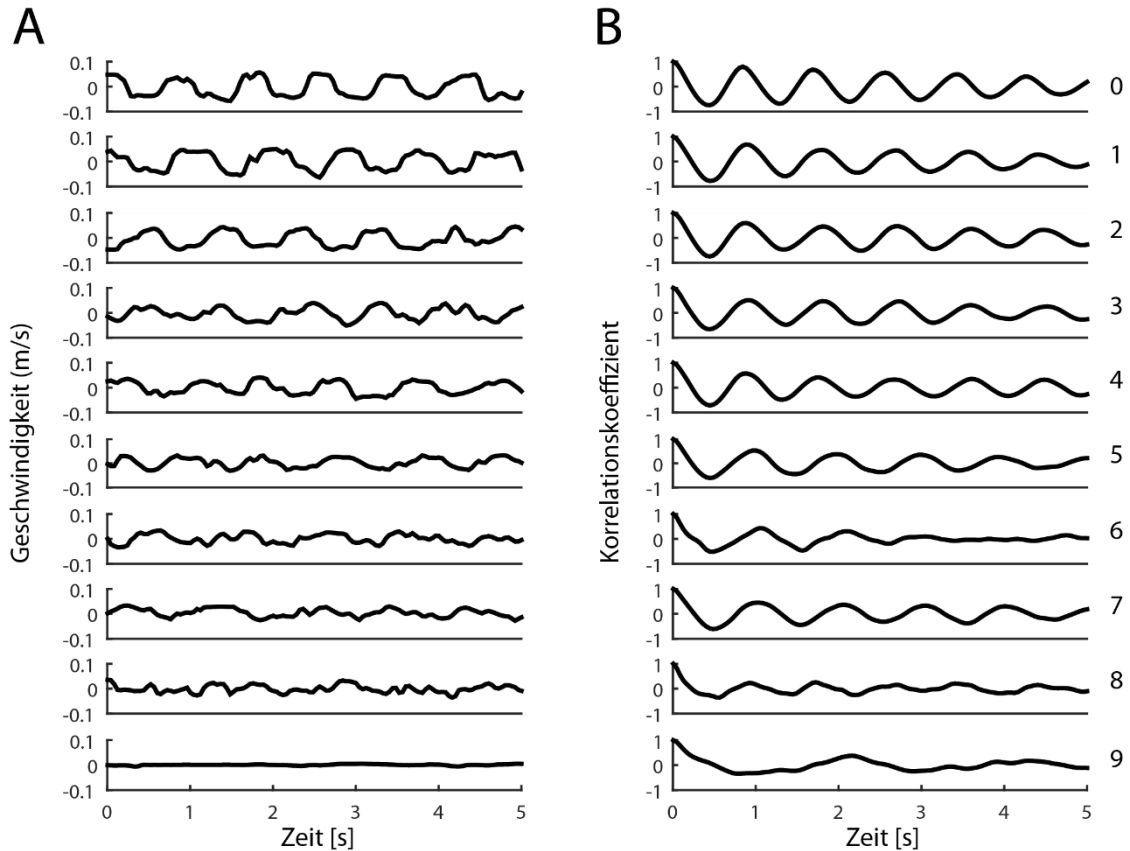
### 3.4.1 Kontrolle der VSF mittels PIV

Um die Frequenz der VSF und ihre abnehmende Stärke zu ermitteln wurden verschiedene PIVs durchgeführt. Abb. 33 zeigt die Vortizität im Versuchsbereich wie sie mit der Software PIV-Lab berechnet wurde (vergl. Kapitel 2.5). Hinter dem Zylinder war eine deutliche Wirbelstraße erkennbar, die mittels Streamlines sichtbar gemacht wurde. Auch die Analyse der  $u$ - (Geschwindigkeit in Richtung der Hauptströmung) und  $v$ -Komponente (Geschwindigkeit senkrecht zur Hauptströmungsrichtung) zeigte Wirbel abwechselnder Drehrichtung.



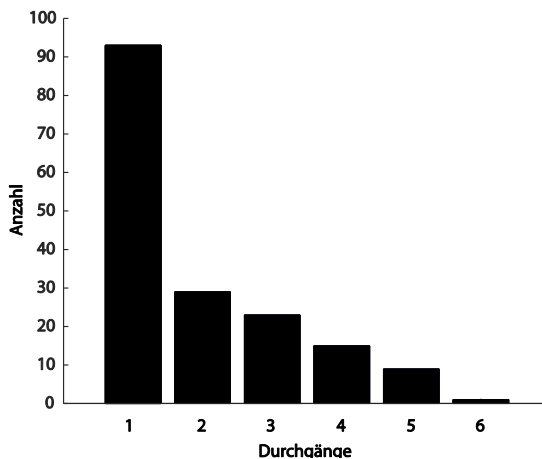
**Abb. 33 Vortizität.** Mit PIVlab erstellte Vektorgrafik. Der Zylinder befand sich in Position 0. Die mittlere Geschwindigkeit (u-Komponente) wurde von allen Vektoren subtrahiert. Zur Kenntlichmachung wurden die Wirbel mit Streamlines markiert. **Rotes Rechteck:** Zur  $V_y$ -Berechnung herangezogene Fläche.

Für die in Abb. 33 markierte Fläche (zentral vor dem Zylinder) wurde die durchschnittliche y-Komponente für alle Bildpaare extrahiert (vgl. Kapitel 2.5). Die Strömungsgeschwindigkeiten der y-Komponente für die verschiedenen Zylinderpositionen sind in Abb. 34 A aufgetragen. Mittels Autokorrelation wurde die Periodizität der Wasserbewegung in y-Richtung verdeutlicht (Abb. 34 B). Die y-Komponente der PIV-Aufnahmen zeigte eine Abschwächung der Wirbelstraße mit zunehmenden Abstand des Zylinders vom Fisch. Die Wirbelstraße war auch in einer Zylinderentfernung von 24 cm noch zu erkennen. Mit Hilfe der ersten 5 Maxima der Autokorrelationsfunktion wurde das VSD berechnet. Es lag je nach Zylinderposition zwischen 0,85 und 0,92 (Pos. 0-9: 0,85; 0,88; 0,90; 0,91; 0,90; 0,89; 0,92; 0,89; 0,85; 0,92) Sekunden.



**Abb. 34 PIV-Auswertung.** A: Nach der in Abb. 33 dargestellten Methode extrahierte v-Komponente in m/s. B: Aus A berechnete Autokorrelation zur Bestimmung des VSD.

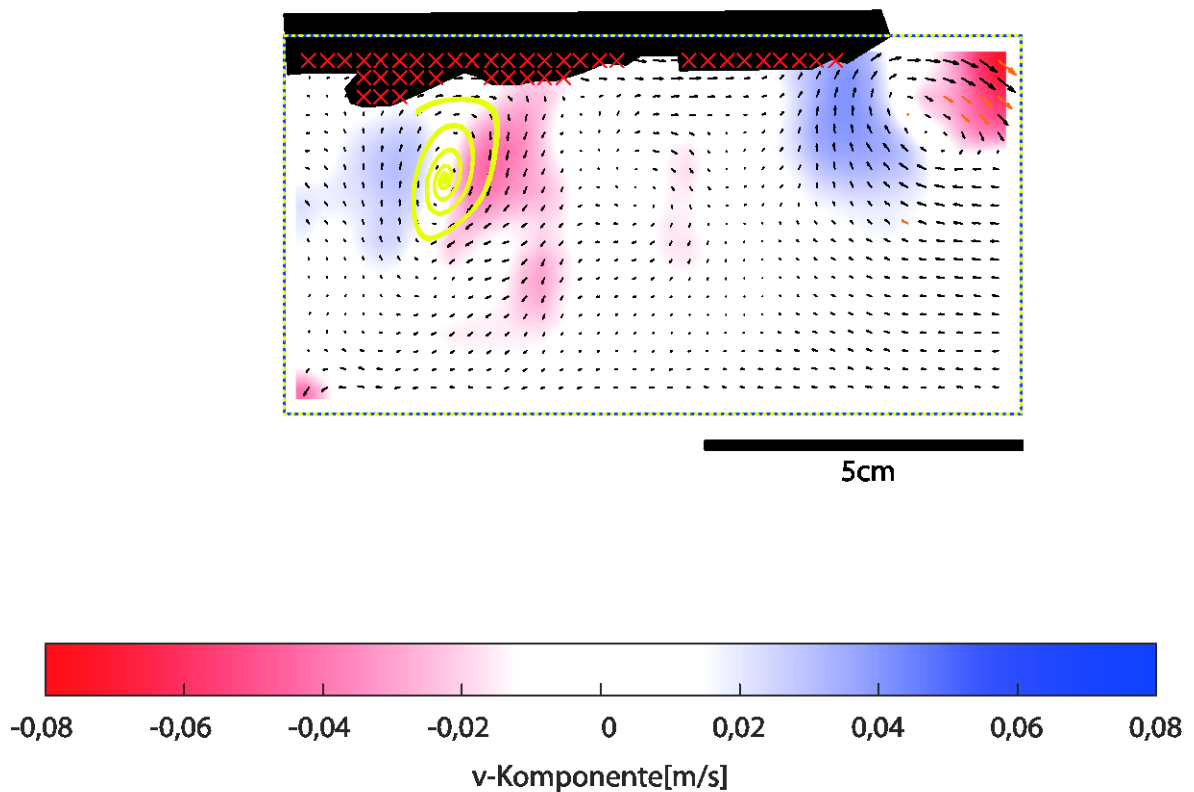
### 3.5 Einfluss der Wirbeldrehrichtung



**Abb. 35:** Anzahl der aufgenommenen Durchgänge aller Units

Neben Kármánschen Wirbelstraßen gibt es auch Wirbelstraßen, die durch den undulierenden Flossenschlag schwimmender Fische erzeugt werden. Diese unterscheiden sich von Kármánschen Wirbelstraßen durch die umgekehrte Drehrichtung der entstehenden Wirbel (vgl. Abb. 4B). In den folgenden Experimenten wurde dieselbe Fischseite mit Wirbeln verschiedener Drehrichtung gereizt (vgl. Kapitel 2.11). Es wurden insgesamt 145 Units im MON von 33 Nasen abgeleitet. Von 93 Units wurde ein Durchgang, von 29 Units 2 Durchgänge, von 23

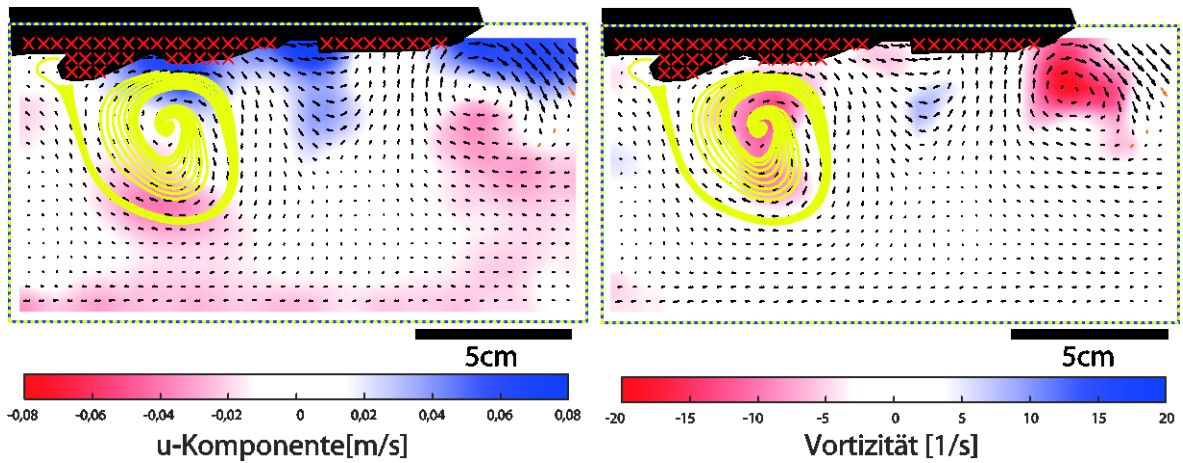
Units 3 Durchgänge, von 15 Units 4 Durchgänge, von 9 Units 5 Durchgänge und von 1 Unit 6 Durchgänge (Abb. 35) aufgenommen. Die hydrodynamischen Verhältnisse im Versuchsbereich während der Experimente, wurden mit Hilfe der PIV überprüft. Zur Überprüfung, ob die Wirbel verschiedener Drehrichtung auf die Fischflanke trafen, wurde die  $u$ -Komponente (in und gegenläufig zur Hauptströmungsrichtung, m/s), die  $v$ -Komponente (orthogonal zur Hauptströmungsrichtung, m/s) und die Vortizität (Wirbelhaftigkeit, 1/s) berechnet.



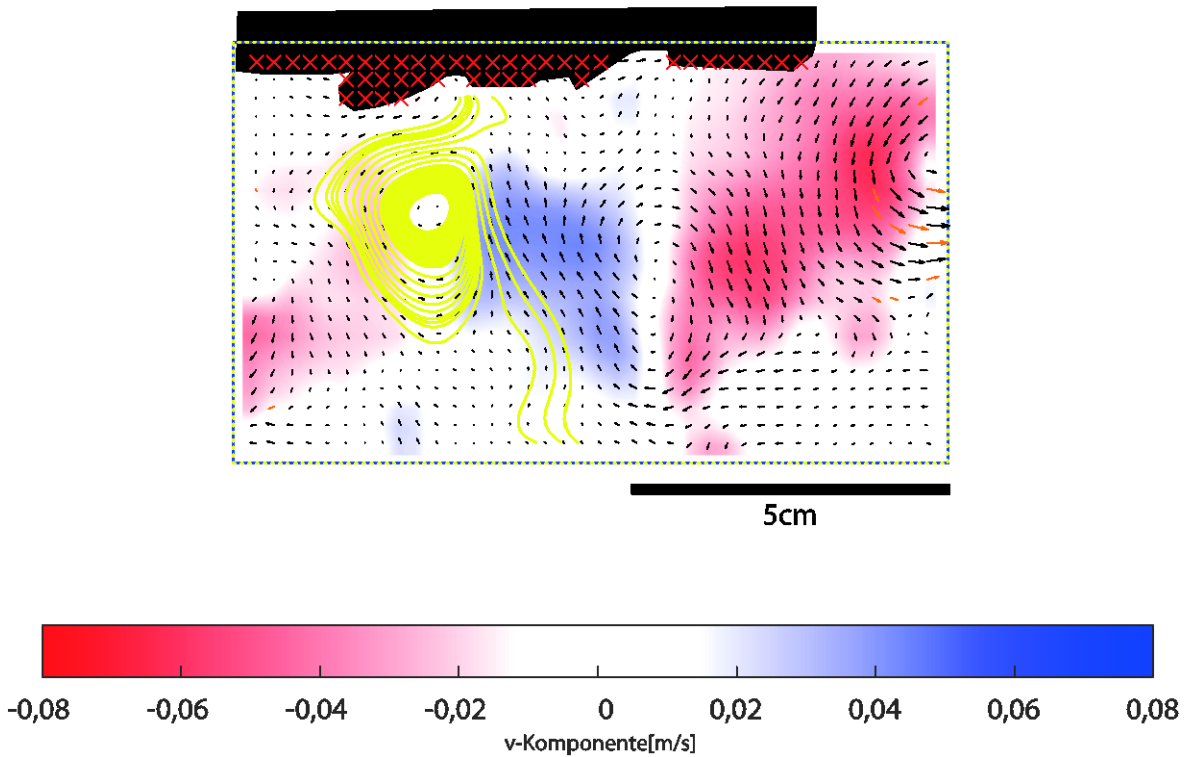
**Abb. 36: Zylinderposition 1,  $v$ -Komponente.** Die Vektoren geben die Strömungsrichtung (Richtung der Pfeile) und Strömungsgeschwindigkeit (Länge der Pfeile) an. Die mit roten Kreuzen gekennzeichneten Flächen wurden von der Berechnung der Vektoren ausgenommen. Die  $v$ -Komponente ist die Strömungsrichtung orthogonal zur Hauptströmungsrichtung. Die durchschnittliche Hauptströmung wurde von allen Vektoren subtrahiert. **Oben:** Fisch mit Fischhalter

Bei der Zylinderposition 1 ergab die Analyse der  $v$ -Komponente Wirbel, die in Drehrichtung auf die Fischflanke treffen (Abb. 36). Dies bestätigte sich auch bei der Kontrolle durch die Untersuchung der Vortizität sowie der  $u$ -Komponente (Abb. 37).





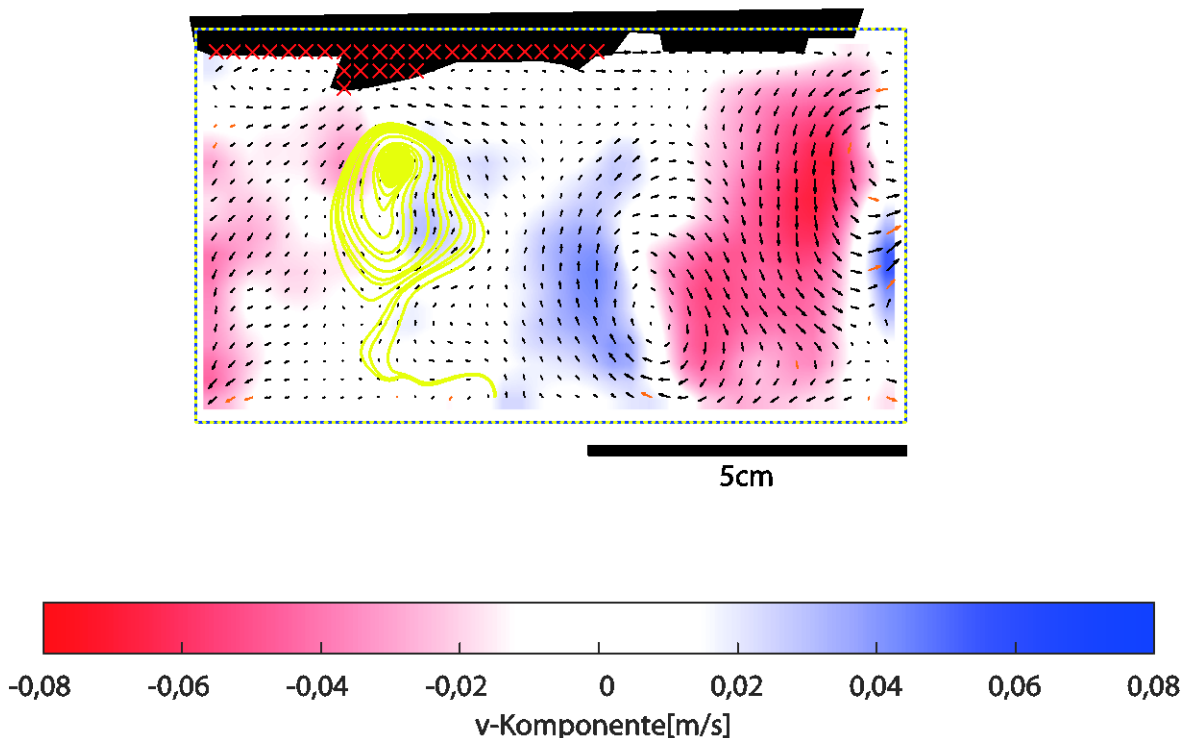
**Abb. 37: u-Komponente (links) und Vortizität (rechts) bei der Zylinderposition 1.** In dieser Abbildung sowie in den Abbildungen 37 und 38 geben die Vektoren die Strömungsrichtung (Richtung des Pfeils) und Strömungsgeschwindigkeit (Länge des Pfeils) an. Die u-Komponente ist die Strömungsrichtung parallel zur Hauptströmungsrichtung. Die durchschnittliche Hauptströmung wurde subtrahiert. Die mit roten Kreuzen gekennzeichneten Flächen waren von der Berechnung der Vektoren ausgenommen. Die Wirbel sind mit Streamlines deutlich gemacht worden. **Oben:** Fisch mit Fischhalter



**Abb. 38: Zylinderposition 2, v-Komponente.** Die v-Komponente ist die Strömungsrichtung orthogonal zur Hauptströmungsrichtung. Die durchschnittliche Hauptströmung wurde subtrahiert. Die mit roten Kreuzen

gekennzeichneten Flächen wurden von der Berechnung der Vektoren ausgenommen. Die Wirbel sind mit Streamlines deutlich gemacht worden. **Oben:** Fisch mit Fischhalter

Bei Zylinderposition 2 zeigt die v-Komponente ebenfalls regelmäßige Wirbel, die die Flanke des Fisches trafen (Abb. 38). Der in Abb. 38 gezeigte Wirbel dreht sich gegen den Uhrzeigersinn, also gegenläufig zu den Wirbeln bei Zylinderposition 1. Eine sehr ähnliche hydrodynamische Situation zeigte sich bei Zylinderposition 3 (Abb. 39). Auch hier drehten sich die Wirbel, die auf die Flanke des Fisches trafen, gegen den Uhrzeigersinn.



**Abb. 39 Zylinderposition 3, v-Komponente.** Die v-Komponente ist die Strömungsrichtung orthogonal zur Hauptströmungsrichtung. Die durchschnittliche Hauptströmung wurde subtrahiert. Die mit roten Kreuzen gekennzeichneten Flächen waren von der Berechnung der Vektoren ausgenommen. Die Wirbel sind mit Streamlines deutlich gemacht worden **Oben:** Fisch mit Fischhalter

Die beispielhafte Auswertung einer Unit zeigt Abb. 40. Andere reaktive Units reagierten ähnlich, zum Teil jedoch weniger deutlich. Bei den Zylinderpositionen 1, 2 und 3 erkennt man ein burstartiges Antwortverhalten (Abb. 40 A), das bei Position 0 (Zylinderposition contralateral zu Ableitstelle) und Position 4 (ohne Zylinder) nicht auftrat.

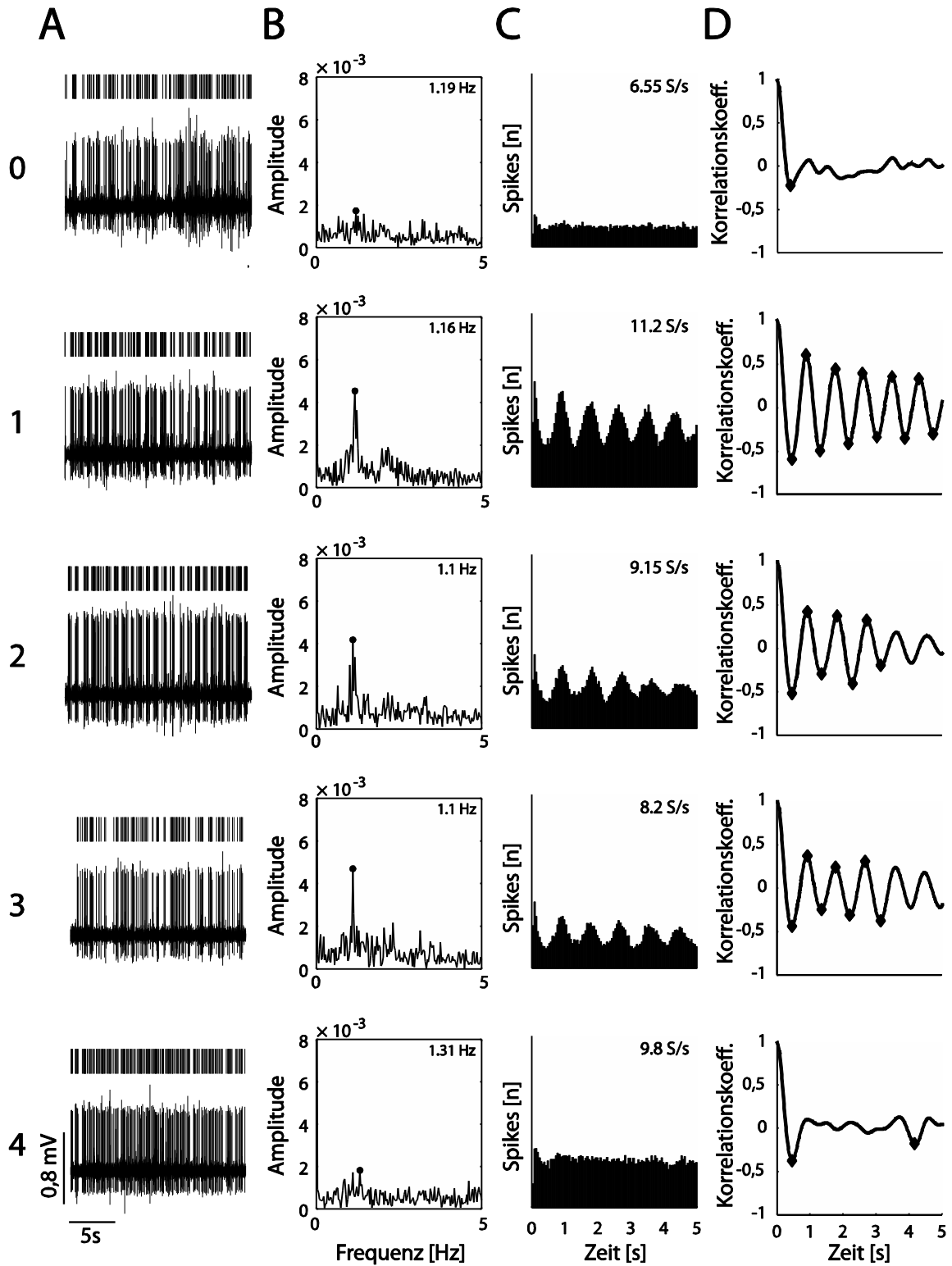
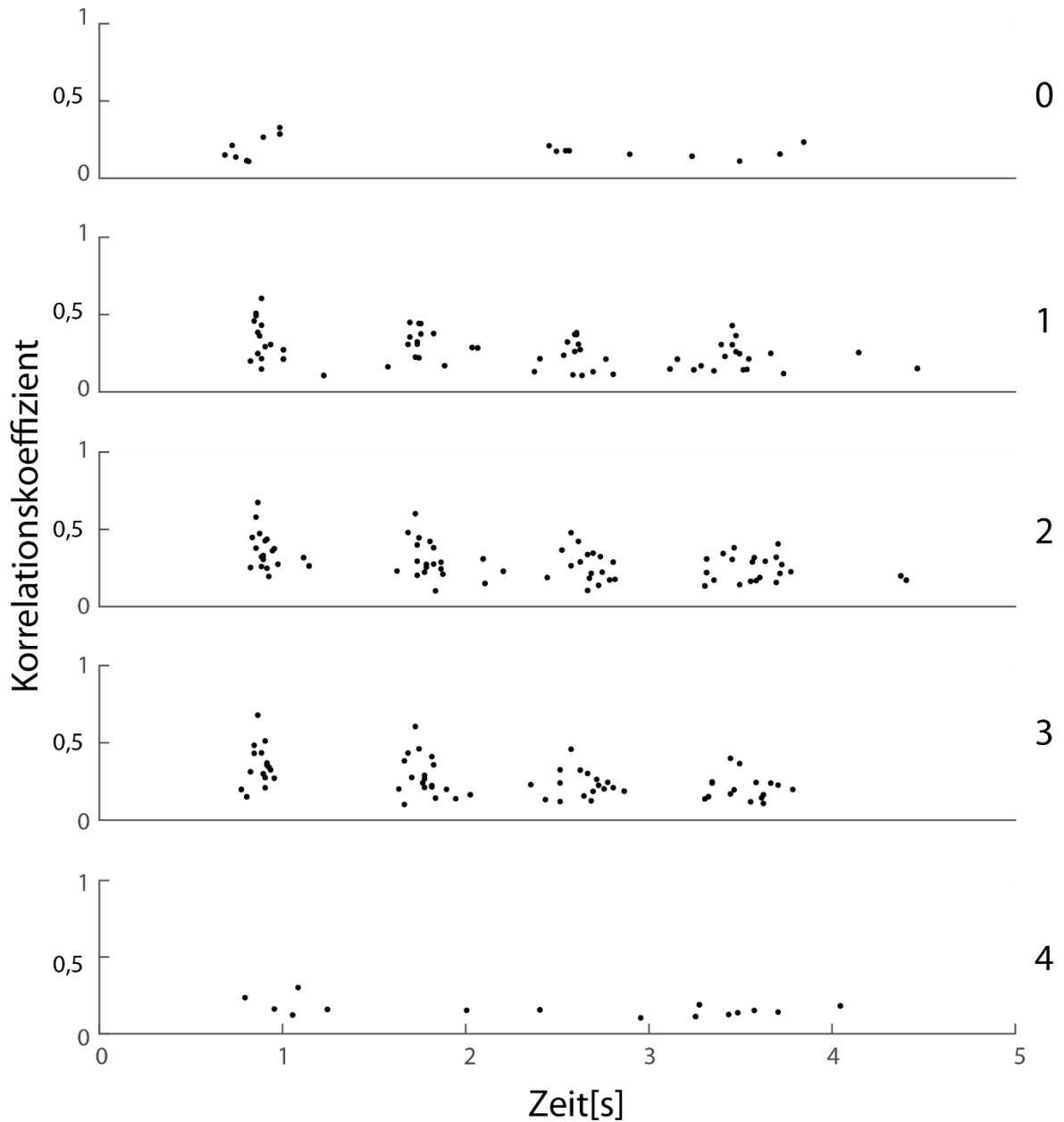


Abb. 40: Beispielauswertung Durchgang 2 Unit 2 (*C. nasus*). A: Originalableitung mit Eventkanal, B: Frequenzspektrum nach FFT, C: Spikeintervalle in Spikes/s, D: Autokorrelationskoeffizient 0-4: Zylinderpositionen

Die FFT zeigte bei den Zylinderpositionen 1, 2 und 3 Amplitudenmaxima im Bereich der berechneten VSF von 1,1 Hz (Abb. 40 B). Bei den Zylinderpositionen 0 und 4 fehlten solche Maxima. Die SIH (Abb. 40 C) zeigten alle 0,9 Sekunden eine Clusterung. Dies entsprach dem berechneten VSD und spricht für ein burstähnliches Antwortverhalten der Unit. Die Spikerate schwankte zwischen 6,55 S/s (Zylinderposition 0) und 11,2 S/s (Zylinderposition 1). Die Autokorrelationskurven (Abb. 40D) ergaben für die Zylinderposition 1, 2 und 3 ebenfalls Maxima und Minima im Abstand von 0,9 Sekunden, was dem berechneten VSD entsprach.

Nach den in Kapitel 2.12 genannten Kriterien wurden 26 der 145 (17,9%) aufgenommenen Units als reaktiv eingestuft. 17 dieser 26 Units reagierten positiv bei Position 0 (Zylinderposition contralateral zur Ableitstelle) und wurden von der weiteren Auswertung ausgeschlossen. Von den verbliebenen 9 Units (6,2%) reagierten 2 Units nur, wenn die Seitenlinie von gegen den Uhrzeigersinn drehenden Wirbeln (Position 2 und 3) gereizt wurde. Die verbleibenden 7 Units reagierten sowohl auf Wirbel mit Drehrichtung gegen den Uhrzeigersinn (Position 2 und/oder 3), als auch auf Wirbel mit Drehrichtung im Uhrzeigersinn (Position 1).

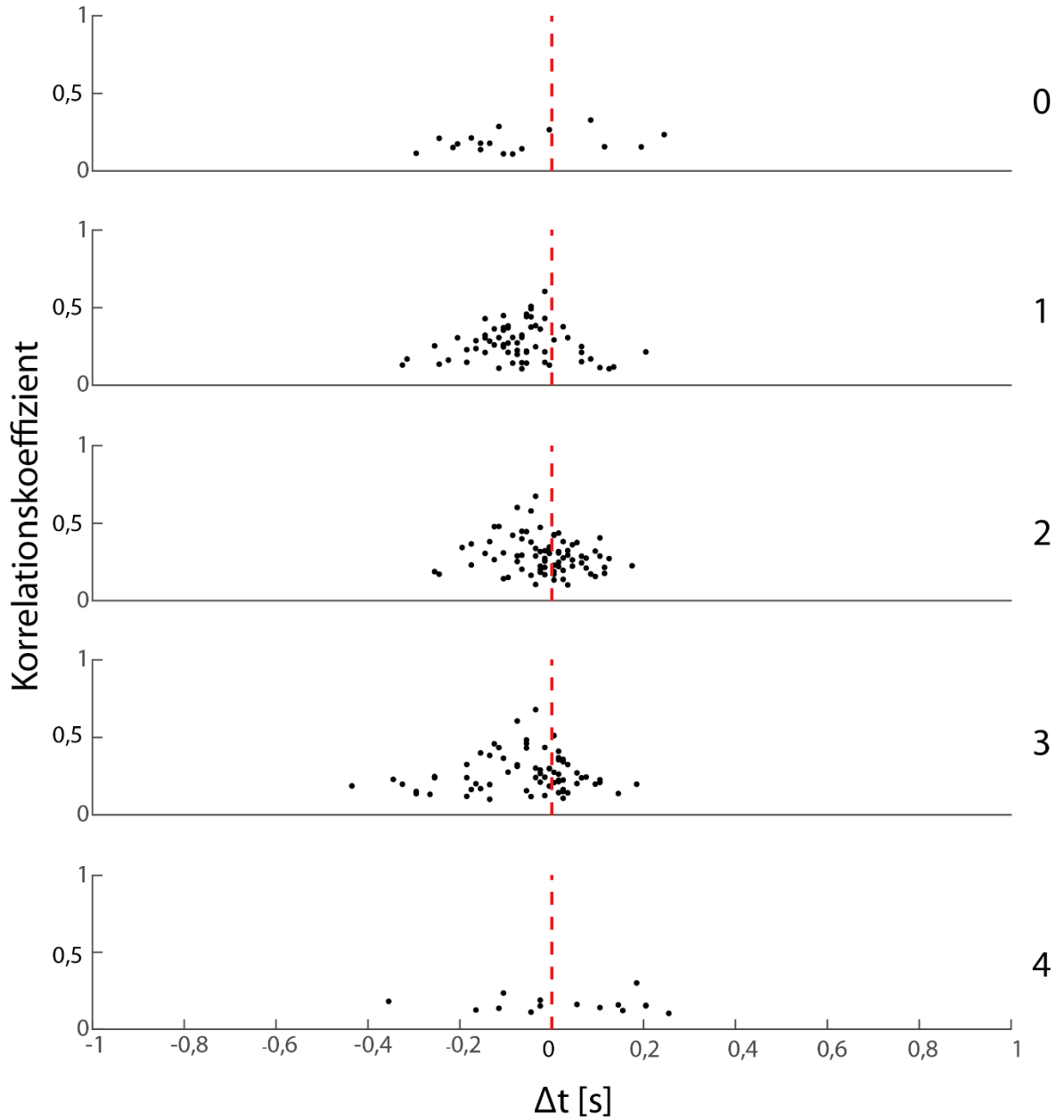
Die ersten 4 Maxima der Autokorrelationen aller 9 Units zeigt Abb. 41. Hier zeigten sich bei den Zylinderpositionen 1, 2 und 3 Clusterungen im Abstand von 0,9 Sekunden. Dies entspricht der berechneten VSDs. Bei den Zylinderpositionen 0 und 4 traten keine Clusterungen auf.



**Abb. 41: Korrelationsmaxima.** Korrelationsmaxima aller 9 Units. **0-4:** Zylinderpositionen 0 bis 4

In Abb. 42 sind die Amplituden aller als reaktiv eingestuften Units sowie ihr Abstand zur berechneten VSF aufgetragen. Bei den Zylinderpositionen 1, 2 und 3 zeigten sich deutliche Clusterungen rund um die berechnete VSF. Bei der Zylinderposition auf der contralateralen Seite des abgeleiteten MON (Position 0) und ohne Zylinder (Position 4) waren keine Clusterungen erkennbar. Zwischen der Reizung durch Wirbel mit Drehrichtung im Uhrzeigersinn (Zylinderposition 1) und Wirbeln mit Drehrichtung gegen den Uhrzeigersinn

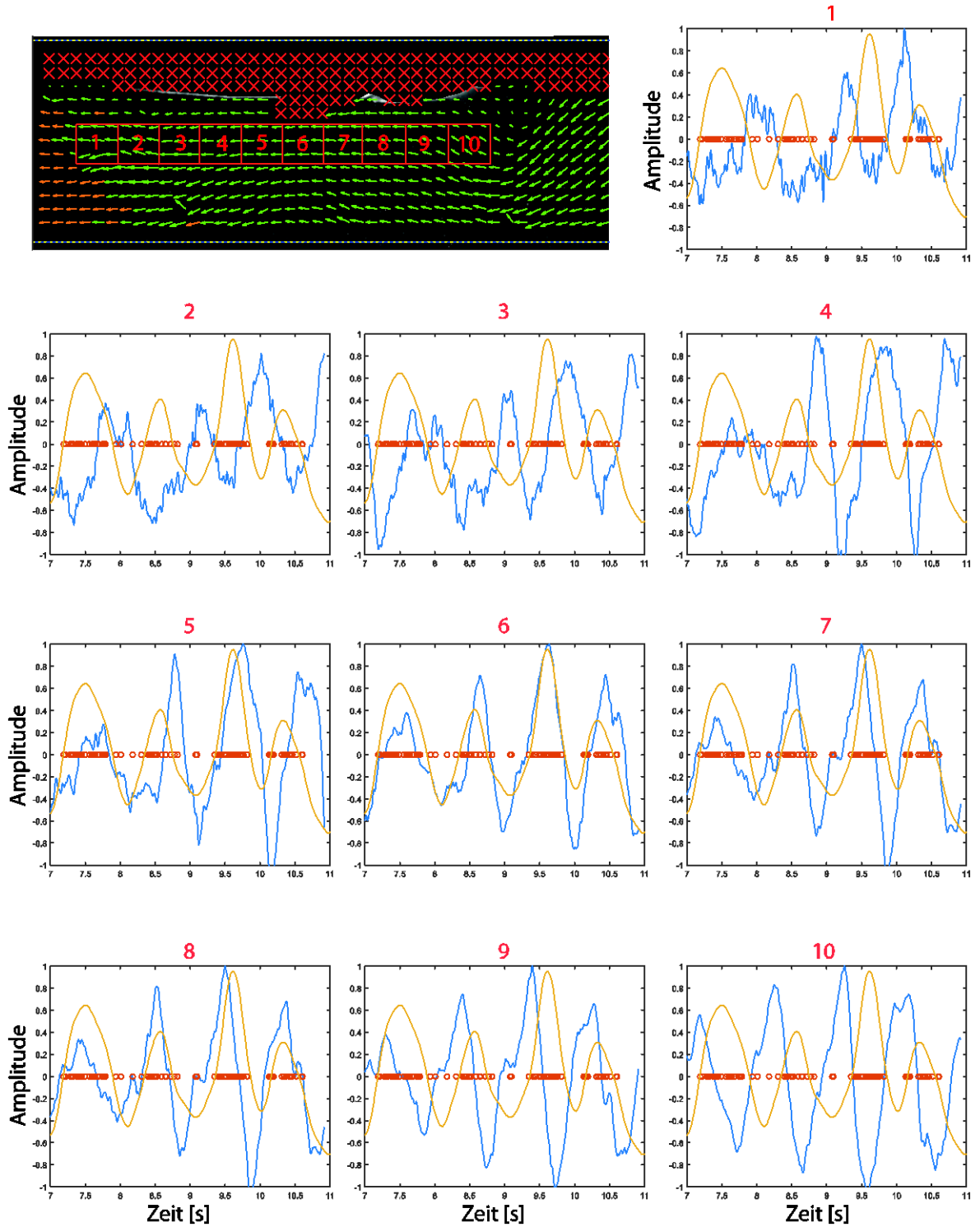
(Zylinderposition 2 und 3) war kein Unterschied in der Amplitude oder der Anzahl der Peaks und ihrer Entfernung zur berechneten VSF erkennbar.



**Abb. 42:** Abstand zur berechneten VSF und Amplitude aller Autokorrelationsmaxima der 9 Units. **0-4:** Zylinderpositionen 0 bis 4.

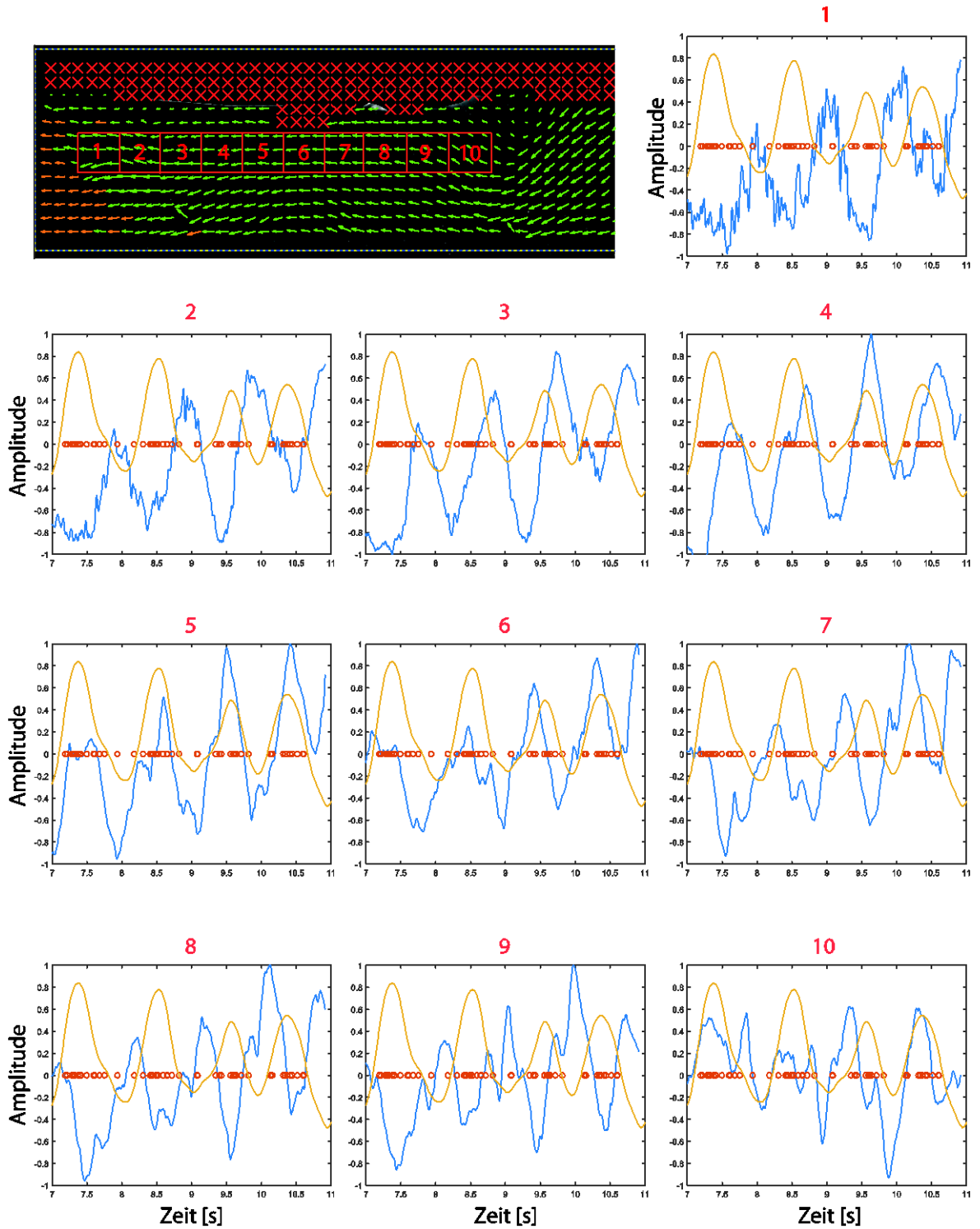
### 3.5.1 Elektrophysiologische Ableitung des MON bei simultaner PIV

Für eine Unit wurde simultan zur Ableitung eine PIV durchgeführt. Das rezeptive Feld der Unit lag in der Nähe der Brustflosse. Bei der elektrophysiologischen Aufnahme der Antworten der Unit wurde, wie in Kapitel 2.12.1 dargestellt, gleichzeitig eine PIV (Zylinderpositionen 1 und 2) durchgeführt. Anschließend wurde für die Zylinderposition 1 entlang der Flanke des Fisches in zehn  $3 \times 3$  Vektor großen Flächen die durchschnittliche v- und u-Komponente der Strömung berechnet. Aus den Originalantworten der Unit wurden die Event-Spuren in Matlab importiert und gleichzeitig mit den Strömungsgeschwindigkeiten aufgetragen (Abb. 43). Zur besseren Übersichtlichkeit werden nur die letzten 4 Sekunden der 11 Sekunden dauernden Hochgeschwindigkeitsaufnahmen gezeigt. Die in der Nähe der Brustflosse extrahierten v-Komponenten (Abb. 43, 6 und 7) in großen Teilen Deckungsgleich mit den Eventspuren von Zylinderposition 1. Von der Brustflosse aus in Richtung Kopf (8-10) und Schwanzflosse (5-1) verschoben, verschob sich das v-Komponentenmuster entsprechend und die Antwort der Unit war Phasenverschoben. Weiterhin zeigte sich, dass die durch die v-Komponente repräsentierte Wirbelstraße am Kopf des Fisches (Abb. 43, 10) regelmäßiger war als am Schwanz des Fisches. Dies entsprach auch den Beobachtungen, die in Kapitel 3.4.1 gemacht wurden. Bei der ebenfalls extrahierten u-Komponente (Abb. 44) war die größte Deckungsgleichheit der Graphen ebenfalls auf der Höhe der Brustflosse (Abb. 44, 5-6) zu finden, die Überschneidung war jedoch geringer als bei der v-Komponente.



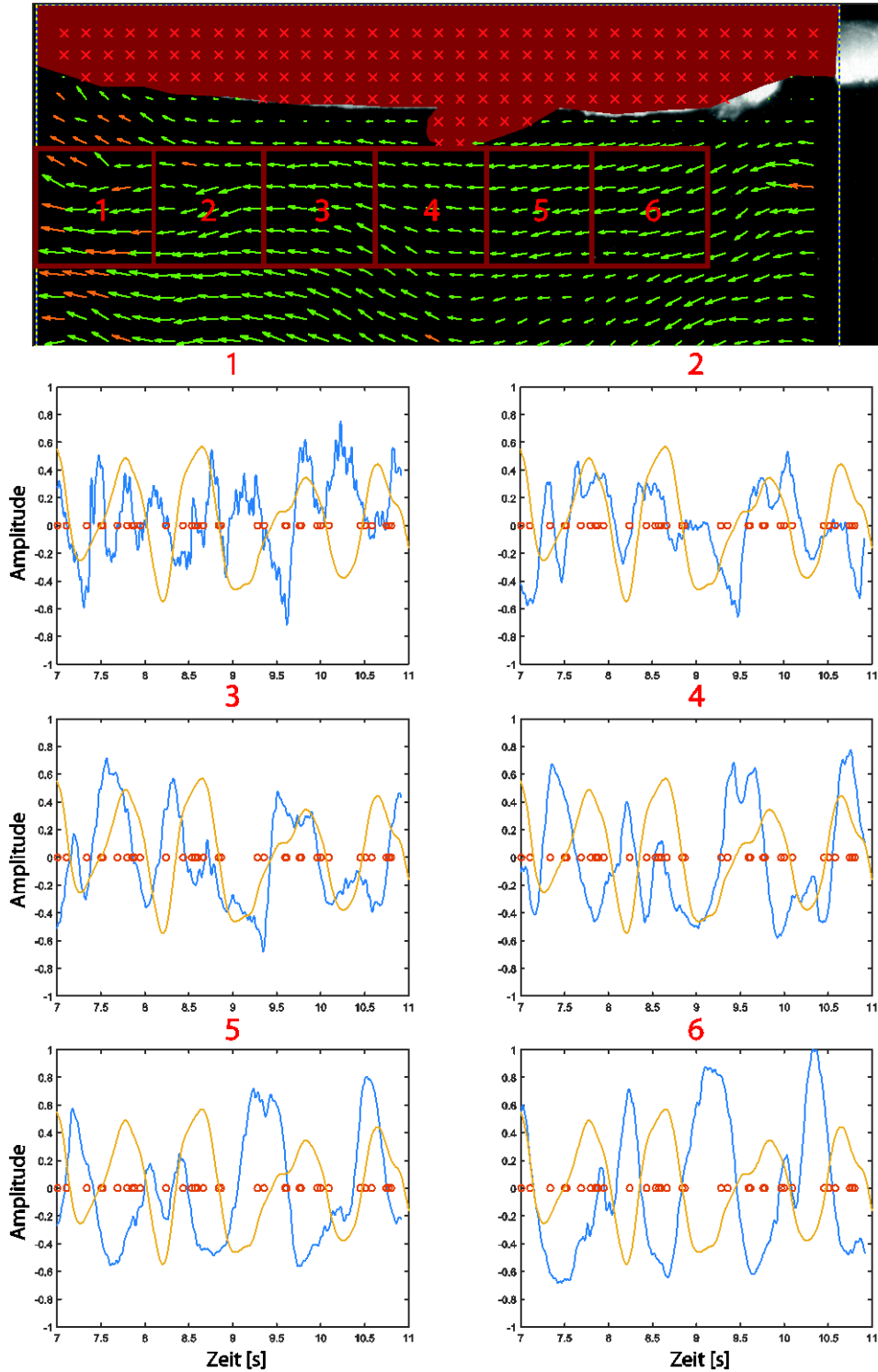
**Abb. 43: Zylinderposition 1 v-Komponente und Events. Links oben: PIV-Auswertung. Grüne Pfeile: Berechnete Vektoren. Orangene Pfeile: Fehlende Datenpunkte. Rote Rechtecke: Interrogation windows 1-10. Die Vektoren codieren die Länge und Richtung die berechneten lokalen Strömungen. Blauer Graph: Mittels PIV ermittelte normierte v-Komponente der Strömung aus den jeweiligen Exportregionen. Gelbe Kreise: Events. Gelber Graph: Aus den Events generierte und normierte Waveformen.**



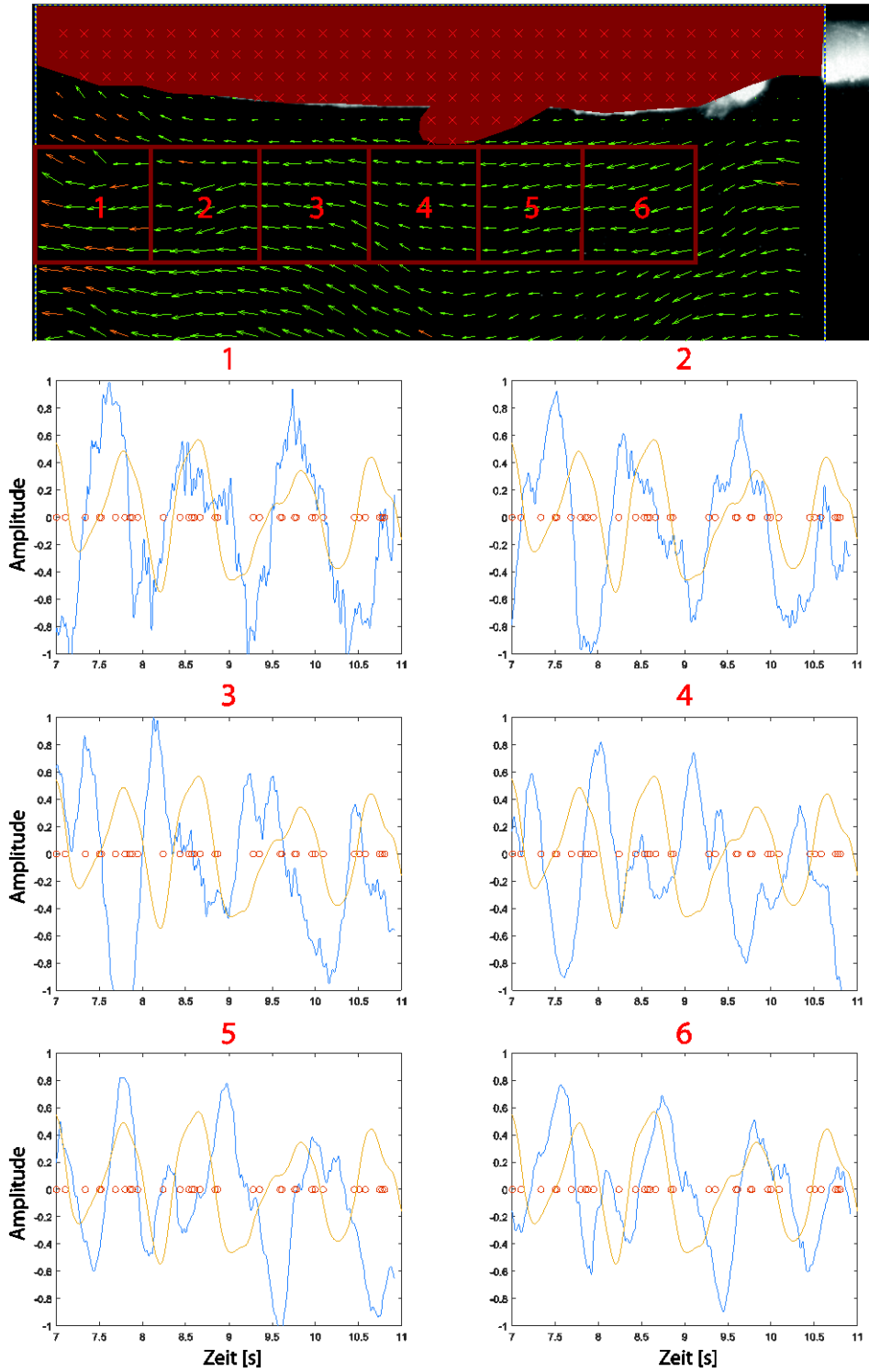


**Abb. 44: Zylinderposition 1 u-Komponente und Events.** Links oben: PIV-Auswertung. **Grüne Pfeile:** Berechnete Vektoren. **Orangene Pfeile:** Fehlende Datenpunkte. **Rote Rechtecke:** Interrogation windows 1-10. Die Vektoren codieren die Länge und Richtung die berechneten lokalen Strömungen. **Blauer Graph:** Mittels PIV ermittelte normierte v-Komponente der Strömung aus den jeweiligen Exportregionen. **Gelbe Kreise:** Events. **Gelber Graph:** Generierte und normierte Waveform aus den Events.

Bei Zylinderposition 2 wurden aufgrund der schlechteren Qualität der PIV-Aufnahme nur 6 Fenster mit jeweils  $5 \times 5$  Vektor großen Flächen zur Berechnung der v- und u-Komponente herangezogen. Zur besseren Übersichtlichkeit werden nur die letzten 4 Sekunden der 11 Sekunden langen Hochgeschwindigkeitsaufnahmen gezeigt (Abb. 45). Hierbei zeigte die Eventspur ein burstähnliches Verhalten, der Abstand entsprach dem berechneten VSD, das sich auch in der aus den Events erzeugten Kurve durch einen sinusartigen Kurvenverlauf zeigte. Die v-Komponente der PIV-Aufnahmen zeigte zwar ebenfalls einen sinusartigen Verlauf, dieser war jedoch auf keiner Position annähernd deckungsgleich mit der normierten Eventkurve (gelb). Die Auswertung der u-Komponente zeigte ebenfalls einen sinusähnlichen Kurvenverlauf bei den Strömungsgeschwindigkeiten (Abb. 46). Dieser war jedoch ebenfalls nicht Deckungsgleich mit dem Eventkanal.

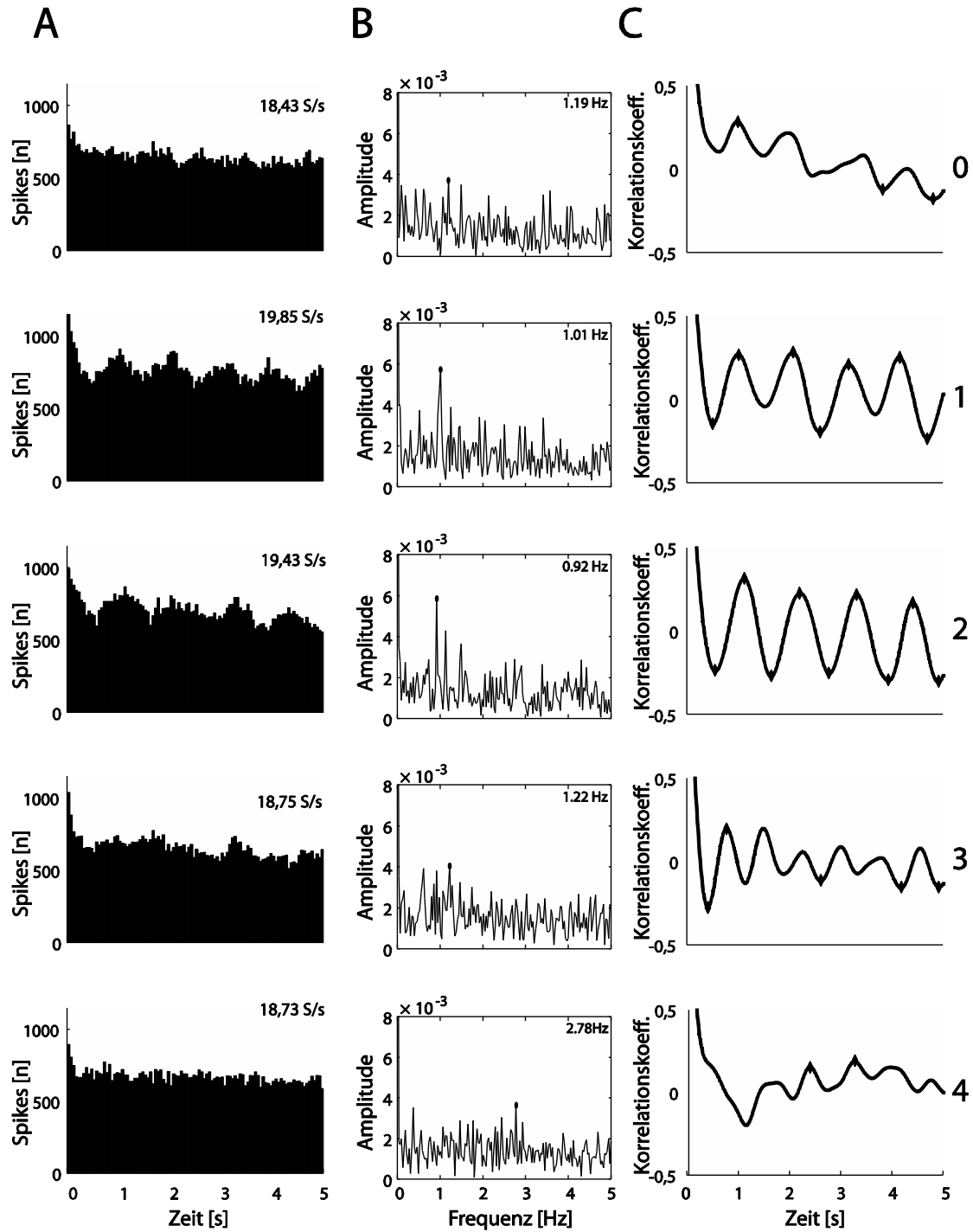


**Abb. 45: Zylinderposition 2 v-Komponente und Events. Links oben: PIV-Auswertung. Grüne Pfeile: Berechnete Vektoren. Orangene Pfeile: Fehlende Datenpunkte. Rote Rechtecke: Interrogation windows 1-6. Die Vektoren codieren in Länge und Richtung die berechneten lokalen Strömungen. Blauer Graph: Mittels PIV ermittelte normierte v-Komponente der Strömung aus den jeweiligen Exportregionen. Gelbe Kreise: Events. Gelber Graph: Generierte und normierte Waveform aus den Events.**



**Abb. 46: Zylinderposition 2 u-Komponente und Events. Links oben: PIV-Auswertung. Grüne Pfeile: Berechnete Vektoren. Orangene Pfeile: Fehlende Datenpunkte. Rote Rechtecke: Interrogation windows 1-6. Die Vektoren codieren in Länge und Richtung die berechneten lokalen Strömungen. Blauer Graph: Mittels PIV ermittelte normierte v-Komponente der Strömung aus den jeweiligen Exportregionen. Gelbe Kreise: Events. Gelber Graph: Generierte und normierte Waveform aus den Events.**

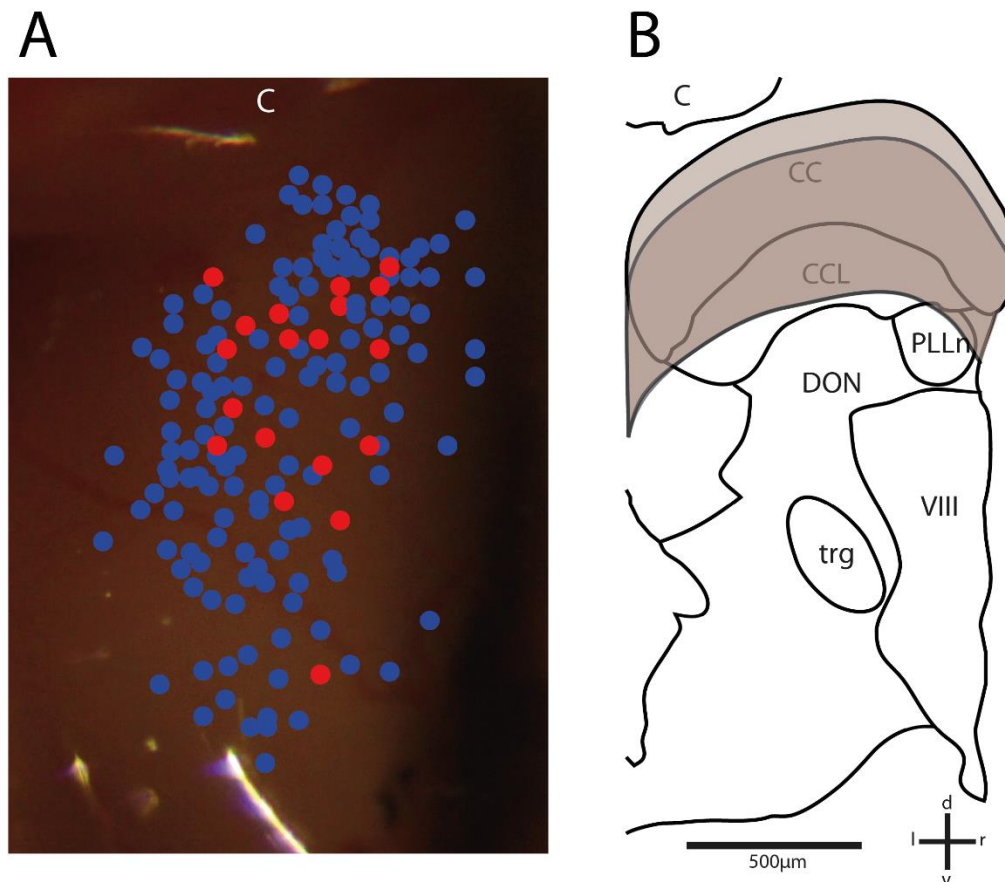
In Abb. 47 ist die Auswertung von Unit 9 aufgetragen. Das ISH (Abb. 47A) zeigte bei den Zylinderposition 1 und 2 eine Häufung von Abständen im Bereich von 1 Sekunde, was in der Nähe des berechneten VSD (1,1s) lag. Bei den Zylinderpositionen 0, 3 und 4 war eine solche Häufung nicht zu beobachten. Die Spikerate schwankte zwischen 18,43 (Zylinderposition 0) und 19,85 (Zylinderposition 1) Spikes pro Sekunde. Das Frequenzspektrum (Abb. 47B) zeigten für die Zylinderpositionen 1 und 2 Maxima in der Nähe der berechneten VSF von 0,9 Hz. Für die Zylinderpositionen 0, 2 und 3 waren keine Maxima in der Nähe der errechneten VSF zu beobachten. Die Autokorrelationskurven (Abb. 47C) zeigten für die Zylinderpositionen 1 und 2 sinusartige Maxima und Minima im Abstand der berechneten VSD. Für die anderen Zylinderpositionen waren keine Maxima und Minima im Abstand der berechneten VSD zu erkennen.



**Abb. 47: Beispielauswertung, Durchgang 2, Unit 9(C) (*C. nasus*).** A: Abstände jedes Spikes zu jedem folgenden Spike mit Spikes/s, B: Frequenzspektrum nach FFT, C: Autokorrelationskoeffizient mit markierten hoch und Tiefpunkten. 0-4: Zylinderpositionen

### 3.6 Lokalisation der Ableitstellen

Wann immer möglich, wurden während der Versuche (Kapitel 3.3.2, 3.4 und 3.5) die ungefähre Eindringtiefe sowie der ungefähre Eintrittsort der Elektrode ins Gehirn dokumentiert.



**Abb. 48: Ableitorte.** **A:** Ungefähre Eintrittspunkte der Elektroden in die Medulla (Aufsicht). **Blaue Punkte:** Nach Kapitel 2.12 nicht als reaktiv eingestufte hydrodynamische Units. **Rote Punkte:** als reaktiv eingestufte hydrodynamische Units. **B:** Aus einem Transversalschnitt der Medulla rekonstruierte Hirnregionen. **Hellgrau hinterlegt:** ungefährer Bereich, in dem hydrodynamisch aktive Units gefunden wurden. **Dunkelgrau hinterlegt:** ungefährer Bereich, in dem als reaktiv eingestufte Units gefunden wurden. **C = Cerebellum, CC = Crista cerebellaris, CCL = Crest Cell Layer, PLLn = posterior lateral line nerve, DON = Nucleus descendens, trg = sekundärer gustatorischer Trakt, VIII = 8. Hirnnerv, d = dorsal, l = links, r = rechts, v = ventral**

Von 80 abgeleiteten hydrodynamischen Neuronen ist ebenfalls die ungefähre Ableittiefe bekannt. Diese lag zwischen 30 und 545  $\mu\text{m}$  (Median: 321  $\mu\text{m}$ ). Bei den als reaktiv eingestuften hydrodynamischen Units sind für 7 Units die Ableittiefen (zwischen 62 und 545  $\mu\text{m}$ ) bekannt. Die Eintrittspunkte der Elektroden ins Gehirn sind in Abb. 48A

aufgetragen. Reaktive Units wurden hauptsächlich in der rostralen Medulla (in der Nähe des Cerebellums) gefunden. Die Ableittiefen sind in Abb. 48B aufgetragen. Der Bereich, in dem reaktive Units gefunden wurden, ist ähnlich groß wie der Bereich, in dem hydrodynamisch aktive Units gefunden wurden. Alle Ableitstellen befanden sich potentiell im Bereich des MON.



## 4 Diskussion

### 4.1 Histologische Untersuchungen

#### 4.1.1 Aufbau der Medulla

Der Aufbau der Medulla der Nase entspricht weitgehend dem Aufbau der Goldfisch-Medulla (New et al. 1996). Die Schichten sind deckungsgleich. Lediglich die Verbindungszone zwischen der Molekularschicht und der Crest cell layer konnte nicht erkannt werden. Da alle anderen Bereiche des MON erkannt werden konnten, ist zu vermuten, dass auch die Verbindungszone vorhanden ist und nur aufgrund ihrer geringen Dicke nicht sicher lokalisiert werden konnte. Aufgrund der Ähnlichkeit im Aufbau der Medulla von *Chondostoma nasus*, *Carassius auratus* und weiterer Fischarten (McCormick 1989; New et al. 1996; McCormick 1997) ist zu vermuten, dass diese auch funktionell ähnlich sind. Viele der Erkenntnisse, die bei der Erforschung des MON von *C. auratus* gewonnen wurden, haben vermutlich auch für *C. nasus* Geltung (Caird 1978; Montgomery et al. 1995; Mogdans et al. 1997; Ali 2008; Künzel 2009; Ali et al. 2010).

#### 4.1.2 DASPEI-Färbung

Die DASPEI-Färbung ergab, dass Nasen (N=1) 245 Oberflächenneuromasten (ohne die Oberflächenneuromasten der Schwanzflosse) haben und der Hauptkanal aus 90 Kanalneuromasten besteht. Frühere Untersuchungen (Beckmann et al. 2010) lieferten ähnliche Ergebnisse. Damit verfügt die Nase über deutlich mehr Oberflächenneuromasten als die Regenbogenforelle, welche nach meiner Untersuchung lediglich 67-92 Oberflächenneuromasten hatte. Weiterhin waren die ON der Nase strukturierter über die Körperoberfläche verteilt, direkt ober- und unterhalb des Hauptseitenlinienkanals. Weitere 3-4 Reihen von ON befanden sich zwischen dem Rumpfseitenlinienkanal und dem Rücken (Abb. 15). Eine so auffällige Verteilung der ON auf der Körperoberfläche war bei den Regenbogenforellen nicht zu finden. Zwar lagen einige ON in der direkten Umgebung des Hauptseitenlinienkanals, allerdings nur vereinzelt. Bei den Regenbogenforellen (N=4) gab es jedoch sehr auffällige (und bei allen Versuchstieren ähnliche) Verteilungen der ON über dem Auge, der Nasenöffnung und dem Gebiet der Parietale (Abb. 16). Eine Assoziation von ON mit dem Rumpfseitenlinienkanal ist weit verbreitet (Münz 1979; Webb 1989; Coombs and Montgomery 1994). Hierbei handelt es sich wahrscheinlich um funktionelle Strukturen.

## 4.2 Elektrophysiologische Untersuchungen

### 4.2.1 Laterale Verschiebung des Zylinders

Die als reaktiv eingestuften hydrodynamischen Units konnten die Wirbelstraße in einem großen Bereich wahrnehmen. Sieben dieser Units reagierten, wenn sich der Zylinder auf Position 2 befand, 5 Units antworteten bei der Zylinderposition 1, jeweils 4 bei der Zylinderposition 4 und 5 und 3 bei der Zylinderposition 3. Lediglich an der am weitesten vom Fisch entfernten Zylinderposition 0 und 6 (Zylinder auf der gegenüberliegenden Seite des Fisches) konnte keine Antwort festgestellt werden. Primäre Seitenlinienafferenzen des Goldfisches reagieren am stärksten auf eine Wirbelstraße (Chagnaud et al. 2007), wenn der die Wirbel ablösende Zylinder mit der Kante leicht seitlich versetzt zur Mittellinie des Fisches positioniert wird. Diese Beobachtung hat sich bei den Antworten der MON-Units der Nase bestätigt. Die Zylinderposition 0 (zentral vor dem Fisch) führte ebenfalls häufig zu einer Antwort. Diese Beobachtung lässt sich mit dem Aufbau der Wirbelstraße erklären. Der Zylinder produziert abwechselnd mit beiden Kanten des Halbzylinders eine Wirbelstraße (Abb. 11). Somit gibt es zwei Zylinderpositionen, an denen die Wirbel voll auf die Seite des Fisches treffen: Einmal bei der Zylinderposition 5 (Zylinderposition direkt vor dem Fisch) und einmal bei der Position 1 (Zylinderposition leicht seitlich versetzt zur Mittellinie des Fisches) (siehe Abb. 10). Sobald der Zylinder auf Position 0 verschoben wurde, erfolgte keine Reaktion mehr auf die Wirbelstraße. Dies deckt sich mit den PIV-Aufnahmen, bei denen bei der Zylinderposition 0 ebenfalls keine Wirbel mehr am Fisch beobachtet wurden. Die gleiche Art von Untersuchung wurde bei Regenbogenforellen durchgeführt. Bei den Forellen wurden leider keine Units gefunden, die auf Reizung mit einer Kármánschen Wirbelstraße reagierten (Kapitel 3.3.2, siehe auch: Kapitel 4.2.4). Dieses Ergebnis überrascht, da Forellen Kármánsche Wirbelstraßen zur Einsparung motorischer Energie nutzen (u.a. Liao et al. 2003b; Liao et al. 2003a; Przybilla et al. 2010).

### 4.2.2 Antwortverhalten von MON-Units als Funktion der Zylinderentfernung

#### 4.2.2.1 *Strömung*

MON-Units und primäre Seitenlinienafferenzen zeigen bei Strömungen eine im Vergleich zum Stillwasser erhöhte Aktivität (Voigt et al. 2000; Engelmann et al. 2002; Chagnaud et al. 2008a; Herzog 2016). Diese Erhöhung ist variabel, was sich durch die unterschiedlichen

Eingänge von Kanal- und Oberflächenneuromasten erklären lässt. Die Reizung der Seitenlinienneuromasten mittels Kármánscher Wirbelstraßen machte es bei den vorliegenden Experimenten notwendig, eine großräumige Hintergrundströmung einzusetzen. Bei der manuellen Verschiebung des Zylinders wurden außerdem Oberflächenwellen sowie unerwünschte Turbulenzen produziert. Aus diesem Grund wurden die 10 Sekunden vor und nach dem Verschieben des Zylinders nicht in die Auswertung mit aufgenommen, so dass die durch die Bewegung des Zylinders verursachten Turbulenzen die Ergebnisse nicht verfälschen sollten (Abb. 9). Jedoch führte das Verschieben des Zylinders gelegentlich zum Verlust der Ableitung. Weiterhin mussten die Fische während der Versuche künstlich beatmet werden, was durch einen gleichmäßigen Wasserstrom durch die Kiemen erreicht wurde (Kapitel 2.3). Die dabei entstehende Strömung reizt ebenfalls die Neuromasten, erhöht also möglicherweise die neuronale Aktivität und führt damit zu einer Maskierung der Antworteigenschaften der Units (Herzog 2016). Es ist möglich, dass durch diese Fehlerquelle Neurone nicht als reaktiv erkannt wurden. Da der gleichmäßige Wasserstrom jedoch zu einer gleichmäßigen Erhöhung der Aktivität der Unit und nicht zu burstartigem Antwortverhalten wie bei einer Reizung mit einer Wirbelstraße führen sollte, ist es unwahrscheinlich, dass hierdurch Units fälschlich als reaktiv eingestuft worden sind.

#### *4.2.2.2 Spikerate*

In vorhergegangenen Studien wurde gezeigt, dass MON-Units der Rotfeder sowohl mit einer Erhöhung als auch mit einer Verringerung der Spikerate auf die Reizung mit einer Wirbelstraße reagieren können (Klein 2015). Die Versuche von Klein (2015) wurden mit verschiedenen großen Zylindern sowie in freier Strömung durchgeführt. In der vorliegenden Arbeit wurde bei keiner der untersuchten Units eine Erhöhung oder Verringerung der Spikerate bei einer Reizung mit verschiedenen weit entfernten Zylindern im Vergleich zur laminaren Strömung festgestellt (Kapitel 3.4). Dies entspricht den Ergebnissen, die bei der Untersuchung von primären Seitenlinienferrenzen von Goldfischen ermittelt wurden (Chagnaud et al. 2007). Bei zeitgleich stattfindenden Untersuchungen an Rotfedern (Winkelkemper 2018) wurden Units gefunden, deren Spikerate mit steigender Entfernung des Zylinders signifikant stieg oder fiel. Ein solcher Unterschied war allerdings nicht im Vergleich zur Kontrolle (Reizung nur durch laminare Strömung) feststellbar.

#### *4.2.2.3 Entladungsmuster*

Die zeitlichen Antworten der untersuchten Units unterschieden sich bei der Reizung mit Zylinder deutlich von den Antworten ohne Zylinder. Jede reaktive Unit zeigte bei

mindestens einer Zylinderdistanz ein burstartiges Antwortverhalten. 6 der reaktiven Units zeigten dieses Antwortverhalten auch noch bei der größten untersuchten Zylinderdistanz, bei 3 Units war dies nur bis zu einer Zylinderentfernungen von 22 cm zu beobachten. Eine Unit reagierte nur bis zu einem Zylinderabstand von 20 cm durch ein Bursten in der VSF. Zeitgleich zu dieser Arbeit stattfindende Untersuchungen an Rotfedern (Winkelkemper 2018) zeigten, dass ca. die Hälfte aller MON-Units bis zu einer Zylinderentfernungen von 16 cm mit Bursts auf die Wirbelstraße reagieren. Dieser Unterschied könnte am unterschiedlichen Aufbau des Seitenliniensystems der beiden untersuchten Fischarten liegen. Juvenile Rotfedern haben fast 2000 ON (Beckmann et al. 2010), jedoch nur ca. 40 Kanalporen im Rumpfseitenlinienkanal (eigene Untersuchungen). Nasen verfügen über 90 Kanalporen im Hauptkanal und über 250-500 ON (Beckmann et al. 2010, eigene Untersuchungen). MON-Neurone erhalten Eingänge von Seitenlinienafferenzen. Typ 1 Afferenzen innervieren ON, Typ 2 Afferenzen KN. ON sind strömungssensitiv, ihre Antworten auf Dipolreize werden unter Strömungsbedingungen maskiert. KN weisen nur eine geringe Strömungssensitivität auf, im Gegensatz zu den ON sind ihre Antworten unter Strömungsbedingungen nicht maskiert (Engelmann et al. 2002). Es ist demnach möglich, dass es sich bei den Units, die noch bei hohen Zylinderentfernungen auf die Wirbelstraße reagierten, um Neurone handelt, die Eingang von KN erhalten. Units, die nur bei geringen Zylinderentfernungen auf die Wirbelstraße reagieren, erhalten vermutlich Eingang von ON.

#### 4.2.2.4 Kontrolle der abnehmenden Stärke der Wirbelstraße

Die Wirbel bildeten sich wie erwartet hinter dem Halbzylinder und waren ca. 3 cm hinter dem Zylinder als stationäre Wirbel in den PIV-Aufnahmen erkennbar (Abb. 33). Erst ca. 6 cm hinter dem Zylinder war die Wirbelstraße voll ausgebildet. In einer Entfernung von 8 cm zum Zylinder war die Wirbelstraße am stärksten und zeigte folglich auch die höchsten Autokorrelationswerte (Abb. 34). Die Wirbelstraße war bis zu einer Zylinderentfernung von 24 cm noch nachweisbar (Abb. 34). Eine größere Entfernung des Zylinders vom Versuchstier war aus methodischen Gründen nicht möglich, es ist demnach wahrscheinlich, dass auch in größeren Entfernungen zum Zylinder noch Antworten von MON-Units auf die Wirbelstraße erfolgen.

#### 4.2.3 Wirbeldrehrichtung:

Die Unterscheidung von Wirbeln verschiedener Drehrichtung könnte von Fischen dafür genutzt werden, Wirbelstraßen, die hinter einem in der Strömung stehenden Objekten entstehen von solchen zu unterscheiden, die von schwimmenden Fischen produziert werden. Die im MON von *C. nasus* abgeleiteten Seitenlinienneurone reagierten auf die

Reizung mit Wirbeln verschiedener Drehrichtung durch ein burstartiges Antwortverhalten in der VSF, wie es auch schon in den Versuchen 3.3.1 und 3.4 zu beobachten war. Zwei Units reagierten nur auf eine Reizung durch Wirbel mit Drehrichtung gegen den Uhrzeigersinn, während die anderen 7 als reaktiv eingestuften Units auf Wirbel beiderlei Drehrichtung mit einem burstartigen Entladungsverhalten reagierten. Units, die nur auf Wirbel mit Drehrichtung im Uhrzeigersinn reagierten, wurden nicht gefunden. Aufgrund der hohen biologischen Bedeutung (Kapitel 1), Wirbel verschiedener Drehrichtung zu unterscheiden, wurde vermutet, dass ein wesentlich höherer Anteil von MON-Neuronen unterschiedlich auf Wirbel verschiedener Drehrichtung reagiert. Diese Hypothese wurde bei den elektrophysiologischen Untersuchungen nicht bestätigt. Die Anzahl der abgeleiteten reaktiven Units war zu klein, um definitive Aussagen über das Diskriminieren von Wirbeln verschiedener Drehrichtung durch MON-Units treffen zu können. Es ist ebenfalls möglich, dass die Diskriminierung von Wirbeln verschiedener Drehrichtung erst in höheren Hirnregionen vorgenommen wird.

#### 4.2.3.1 *Simultane PIV*

Bei der simultanen PIV hat sich gezeigt, dass die Unit auf Zylinderposition 1 (Zylinder frontal vor dem Fisch) mit Bursts reagierte, wenn die auf die Fiscoberfläche zeigende v-Komponente der Strömung maximal war. Bei negativer v-Komponente kam es zu einer Reduktion der Spikerate, also zu einer Pause zwischen den Bursts (Abb. 43). Wie zu erwarten, reagierten die ON oder KN also hauptsächlich auf direkte Anströmung. Demgegenüber hatte eine Änderung der u-Komponente der Strömung (in bzw. gegenläufig zur Hauptströmungsrichtung) keinen Einfluss auf die Entladungsrate der Units. Dies ist insofern überraschend, da eine lokale Erhöhung oder Reduzierung der Wasserströmung an der Fischflanke von ON sehr gut wahrgenommen werden müsste. Auch bei KN würde dies über die entstehenden Druckunterschiede an den Poren zu einer Strömung im Kanalsystem und damit zu einer Auslenkung der Cupula und Zilienbündel der Haarsinneszellen führen. An Zylinderposition 2 war zwar ebenfalls ein Bursten mit der Frequenz der VSF erkennbar, allerdings war die aus der Antwort generierte Waveform in diesem Fall nicht deckungsgleich mit der v-Komponente der Strömung (Abb. 45). Dies könnte mit der in diesem Fall schlechteren PIV-Aufnahme erklärbar sein, denn in der Autokorrelation war eine Reaktion der Unit auf die Wirbelstraße an Zylinderposition 2 nachweisbar (Abb. 47). Bei der u-Komponente war auch bei dieser Zylinderposition keine Antwort erkennbar (Abb. 46). Die vorliegenden Ergebnisse deuten darauf hin, dass die untersuchte Unit auf die v-Komponente der Wirbelstraße reagierte. Parallel stattfindende Experimente an Rotfedern (Winkelkemper 2018) zeigten eine ähnliche Reaktion.

#### 4.2.3.2 Ableitstellen:

Mit Hilfe von Läsionen wurde gezeigt, dass sich die abgeleiteten Units im MON befanden. Sie waren alle in der Transition Zone oder in der Crista Cerebellaris lokalisiert. Die Ableittiefen sowie Ableitorte (Abb. 48) zeigten ebenfalls, dass im Bereich des MON abgeleitet wurde. Die relativ geringen Antwortraten von durchschnittlich 9,34 Spikes/s der untersuchten Units zeigen, dass es sich wahrscheinlich um Neurone aus dem Hirnstamm und nicht um primäre Seitenlinienafferenzen handelt. Auch das Antwortverhalten der abgeleiteten Units unterscheidet sich von dem, dass bei vorangegangenen Untersuchungen an primären Afferenzen festgestellt wurde (Chagnaud et al. 2007). Bis auf wenige Ausnahmen sollte es sich bei den abgeleiteten Units demnach um MON-Neurone handeln. Bei den Ausnahmen handelte es sich wahrscheinlich um primäre Afferenzen, die im MON terminieren. Dies könnte bei einer als reaktiv eingestuften Unit der Fall gewesen sein, die eine Spikerate von durchschnittlich 21,6 Spikes/s aufwies. In der Medulla abgeleitete Units zeichnen sich in der Regel durch eine Spikerate von 1,1-10 Spikes/s aus, während primäre Afferenzen eine deutlich höhere Spikerate von 15,3-30,3 Spikes/s aufweisen (siehe z.B. Münz 1985; Bleckmann and Zelick 1993; Mogdans et al. 1997; Bleckmann and Mogdans 1998; Chagnaud et al. 2008b; Ali et al. 2010; Bleckmann et al. 2014). Die Varianz der Spikerate von primären Afferenzen und MON-Neuronen ist allerdings sehr groß, so dass anhand der Spikeraten keine sichere Aussage über die Art einer Unit getroffen werden kann.

#### 4.2.4 Vergleich limnophiler und rheophiler Arten

Bei Arbeiten am Goldfisch konnte die Reaktion auf eine Wirbelstraße an den primären Afferenzen durch einen hohen Amplituden-Peak im Bereich der VSF-Frequenz nachgewiesen werden (Chagnaud et al. 2007). Bei zeitgleich zu den hier vorgestellten Versuchen durchgeführten Versuchen mit Rotfedern wurden ebenfalls Units gefunden, die auf eine Wirbelstraße mit Burstfrequenzen im Bereich der VSF reagierten. Diese Units reagierten ähnlich wie die in dieser Arbeit vorgestellten Units. Auffällig ist, dass bei Rotfedern ein deutlich höherer Anteil (49,3%) der Units auf Wirbelstraßen reagiert haben. Über alle Versuchsteile gemittelt lag der Anteil der reaktiven Units bei der Nase nur bei 10,5%. Bei den Regenbogenforellen, die von den untersuchten Fischen die am schnellsten fließenden Gewässer besiedeln, wurde keine reaktive Unit gefunden. Aufgrund der geringen Zahl an auswertbaren Units ist eine abschließende Aussage, ob bei Regenbogenforellen wirklich deutlich weniger Units auf Wirbelstraßen reagieren als bei anderen Fischen, leider nicht möglich. Bekannt ist, dass Regenbogenforellen Wirbelstraßen nutzen, um energiesparend in einem Fließgewässer auf der Stelle zu verharren (Liao et al.

2003a; Przybilla et al. 2010). Untersuchungen haben gezeigt, dass dies zum Teil auf einem passiven Vorgang beruht (Liao 2004). Die Wirbelstraßen können Forellen zudem auch bei ausgeschalteter Seitenlinie zum energiesparenden Schwimmen nutzen (Przybilla 2012). Dies funktioniert allerdings nicht mehr, wenn es dunkel ist und der die Wirbelstraße erzeugende Zylinder senkrecht zur Strömungsrichtung bewegt wird. Mit intakter Seitenlinie ist energiesparendes Schwimmen auch in dieser Situation noch möglich.

Neben der unterschiedlichen Lebensweise zeigt die periphere Seitenlinie der 3 untersuchten Fischarten große Unterschiede. *C. auratus* hat ca. 1930 ON auf jeder Körperseite (Puzdrowski 1989; Schmitz et al. 2008a). Dies entspricht in etwa der Anzahl von ON bei *S. erythrophthalmus* und ist deutlich mehr als bei *C. nasus* (vgl. Kapitel 4.2.2.3). *O. mykiss* hat sogar nur 67-92 ON, diese liegen zum größten Teil am Kopf. Es könnte demnach sein, dass die artspezifischen Unterschiede in der Reaktion auf Wirbelstraßen auf die unterschiedliche Ausstattung mit ON zurückzuführen ist.

### 4.3 Fazit

In dieser Arbeit wurde das Antwortverhalten von medullären Seitenliniennuronen auf Wirbelstraßen abnehmender Stärke und in unterschiedlicher Entfernung zum Fisch untersucht. Es konnte gezeigt werden, dass Wirbelstraßen noch in größerer Entfernung im Antwortverhalten der MON-Neurone identifiziert werden können. Hierbei schwächten sich die Antworten jedoch deutlich ab. Die Drehrichtung der Wirbel hatte nur selten einen nachgewiesenen Effekt auf das Antwortverhalten der MON-Neurone. Die Unterschiede in der Reaktion auf Wirbelstraßen im Vergleich zu Untersuchungen an limnophilen Rotfedern könnte in der unterschiedlichen Ausstattung der untersuchten Fischarten mit ON zusammen hängen. Um weitere Informationen über die Wahrnehmung von fischgenerierten Wirbelstraßen zu gewinnen, sollten weitere elektrophysiologische Experimente in höheren Hirnregionen durchgeführt werden.

## Literaturverzeichnis

- Ali R (2008) Response of the Medial Octavolateral Nucleus (MON) in the Goldfish, *Carassius auratus*, to constant-amplitude and amplitude-modulated water wave stimuli.
- Ali R, Mogdans J, Bleckmann H (2010) Responses of Medullary Lateral Line Units of the Goldfish, *Carassius auratus*, to Amplitude-Modulated Sinusoidal Wave Stimuli. *Int J Zool* 2010:1–14. doi: 10.1155/2010/762621
- Barth FG (1967) Ein einzelnes Spaltsinnesorgan auf dem Spinnentarsus: seine Erregung in Abhängigkeit von den Parametern des Luftschallreizes. *Z Vgl Physiol* 55:407–449. doi: 10.1007/BF00302624
- Barth FG (2001) Sinne und Verhalten: aus dem Leben einer Spinne. Springer Berlin Heidelberg
- Beckmann M, Erős T, Schmitz A, Bleckmann H (2010) Number and Distribution of Superficial Neuromasts in Twelve Common European Cypriniform Fishes and Their Relationship to Habitat Occurrence. *Int Rev Hydrobiol* 95:273–284. doi: 10.1002/iroh.200911185
- Bischof (1974) Verteilungen und Bewegungsweise der keulenförmigen Sensillen von *Gryllus bimaculatus* DEG. 93:449–457.
- 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 (1994) Reception of Hydrodynamic Stimuli in Aquatic and Semiaquatic Animals. In: *Progress in Zoology*. p 115
- Bleckmann H (1988) Prey identification and prey localization in surface feeding fish and fishing spiders. 619–641.
- Bleckmann H, Mogdans J (1998) Responses of the goldfish trunk lateral line to moving objects. *J Comp Physiol A* 182:659–676.
- Bleckmann H, Mogdans J, Coombs SL (2014) Flow sensing in air and water: Behavioral, neural and engineering principles of operation. *Flow Sens Air Water Behav Neural Eng Princ Oper* 1–562. doi: 10.1007/978-3-642-41446-6
- Bleckmann H, Zelick R (1993) The response of peripheral and central mechanosensory lateral line units of weakly electric fish to moving objects. *J Comp Physiol A* 172:115–128.
- Brown RE, Fedde MR (1993) Airflow sensors in the avian wing. *J Exp Biol* 179:13–30.
- Burt De Perera T (2004) Spatial parameters encoded in the spatial map of the blind Mexican cave fish, *Astyanax fasciatus*. *Anim Behav* 68:291–295. doi: 10.1016/j.anbehav.2003.11.009
- Caird DM (1978) A simple cerebellar system: the lateral line lobe of the goldfish. *J Comp Physiol A Neuroethol* 74:61–74.
- Catania KC, Hare JF, Campbell KL (2008) Water shrews detect movement, shape, and smell to find prey underwater. *Proc Natl Acad Sci U S A* 105:571–6. doi: 10.1073/pnas.0709534104
- 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 (2007) 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 SL, Janssen J (1990) Behavioral and neurophysiological assessment of lateral line sensitivity in the mottled sculpin, *Cottus bairdi*. *J Comp Physiol A* 167:557–567. doi: 10.1007/BF00190827
- Coombs SL, Janssen J, Webb JF (1988) Diversity of lateral line Systems: Evolutionary and Functional considerations. In: Atema J, Fay RR, Popper A (eds) *Sensory Biology of Aquatic Animals*.
- Coombs SL, Montgomery JC (1994) Function and Evolution of Superficial Neuromasts in an Antarctic Notothenioid Fish. *Brain Behav Evol* 44:287–298. doi: 10.15713/ins.mmj.3
- Dehnhardt G, Mauck B, Bleckmann H (1998) Seal whiskers detect water movements. *Nature* 394:235–236. doi: 10.1038/28303
- Dehnhardt G, Mauck B, Hanke W, Bleckmann H (2001) Hydrodynamic Trail-Following in Harbor Seals (*Phoca vitulina*). *Science* (80- ) 293:102–104. doi: 10.1126/science.1060514
- Dijkgraaf S (1952) Bau und Funktionen der Seitenorgane und des Ohrlabyrinths bei Fischen. *Experientia* VIII:205–244.
- Dijkgraaf S (1962) The Functioning and Significance of the Lateral-Line Organs. *Biol Rev* 38:51–105. doi: 10.1111/j.1469-185X.1963.tb00654.x
- Dowben RM, Rose JE (1953) A metal-filled microelectrode. *Science* 118:22–4.
- 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) Hydrodynamic stimuli and the fish lateral line. *Nature* 408:51–52. doi: 10.1002/(SICI)1097-0177(199909)216:1<1::AID-DVDY1>3.0.CO;2-T
- Faucher K, Parmentier E, Becco C, et al (2010) Fish lateral system is required for accurate control of shoaling behaviour. *Anim Behav* 79:679–687. doi: 10.1016/j.anbehav.2009.12.020
- Flock A, Russell I (1976) Inhibition by efferent nerve fibres: Action on hair cells and afferent synaptic transmission in the lateral line canal organ of the burbot *Iota Iota*. 45–62.
- Fuller, Larson, Fusaro, et al (2017) *Oncorhynchus mykiss*. <https://nas.er.usgs.gov>.
- Gesteland R, Howland B, Lettvin J, Pitts W (1959) Comments on microelectrodes. *Proc IRE* 47:1856–1862.
- Gnatzy W, Schmidt K (1971) Die Feinstruktur der Sinneshaare auf den Cerci von *Gryllus bimaculatus* Deg. (*Saltatoria*, *Gryllidae*). 209:190–209.
- Grap NJ, Monzel AS, Kohl T, Bleckmann H (2015) *Crocodylus niloticus* (*Crocodylia*) is highly sensitive to water surface waves. *Zoology* 118:320–324. doi:

- 10.1016/j.zool.2015.03.004
- 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* 203:1193–1200.
- Harris G g., Frishkopf LS, Flock Å (1970) Receptor potentials from hair cells of the lateral line. *Science* 167:76–9.
- Herzog H (2016) Entwicklung bionischer Strömungsmessverfahren basierend auf Untersuchungen des Seitenliniensystems der Fische.
- Hudspeth a J, Corey DP (1977) Sensitivity, polarity, and conductance change in the response of vertebrate hair cells to controlled mechanical stimuli. *Proc Natl Acad Sci U S A* 74:2407–2411. doi: 10.1073/pnas.74.6.2407
- Jielof R, Spoor A, De Vries H (1952) The microphonic activity of the lateral line. *J Physiol* 137–157.
- Kanter MJ, Coombs SL (2003) Rheotaxis and prey detection in uniform currents by Lake Michigan mottled sculpin (*Cottus bairdi*). *J Exp Biol* 206:59–70. doi: 10.1242/jeb.00056
- 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 Neuroethol Sens Neural Behav Physiol* 201:691–703. doi: 10.1007/s00359-015-1016-5
- Kottelat M, Freyhof J (2007) *Handbook of European Freshwater Fishes*.
- Kroese a B, Schellart N a (1992) Velocity- and acceleration-sensitive units in the trunk lateral line of the trout. *J Neurophysiol* 68:2212–2221.
- Künzel S (2009) Characterisation of Brainstem Lateral Line Neurons in Goldfish, *Carassius auratus*: Frequency Selectivity, Spatial Excitation Patterns and Flow Sensitivity.
- Lang HH (1980) Surface wave discrimination between prey and nonprey by the back swimmer *Notonecta glauca* L. (Hemiptera, Heteroptera). *Behav Ecol Sociobiol* 6:233–246.
- Liao JC (2006) The role of the lateral line and vision on body kinematics and hydrodynamic preference of rainbow trout in turbulent flow. *J Exp Biol* 209:4077–90. doi: 10.1242/jeb.02487
- Liao JC (2004) Neuromuscular control of trout swimming in a vortex street: implications for energy economy during the Karman gait. *J Exp Biol* 207:3495–506. doi: 10.1242/jeb.01125
- Liao JC, Beal DN, Lauder G V., Triantafyllou MS (2003a) 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, Beal DN, Lauder G V, Triantafyllou MS (2003b) Fish Exploiting Vortices Decrease Muscle Activity. *Science* 302:1566–1569. doi: 10.1126/science.1088295
- McCormick C (1997) Organization and connections of octaval and lateral line centers in the medulla of a clupeid, *Dorosoma cepedianum*. *Hear Res* 110:39–60.
- McCormick C a. (1989) Central Lateral Line Mechanosensory Pathways in Bony Fish. In: *The Mechanosensory Lateral Line*. pp 341–364
- McCormick C a., Hernandez D V. (1996) Connections of Octaval and Lateral Line Nuclei of the medulla in the Goldfish, Including the Cytoarchitecture of the Secondary Octaval

- Population in Goldfish and Catfish. *Brain Behav Evol* 47:113–137.
- McHenry MJ, Feitl KE, Strother JA, Van Trump WJ (2009) Larval zebrafish rapidly sense the water flow of a predator's strike. *Biol Lett* 5:477–9. doi: 10.1098/rsbl.2009.0048
- Mogdans J, Bleckmann H, Menger N (1997) Sensitivity of central units in the goldfish, *Carassius auratus*, to transient hydrodynamic stimuli. *Brain. Behav. Evol.* 50:261–283.
- Montgomery J, Baker CF, Carton AG (1997) The lateral line can mediate rheotaxis in fish. *Nature* 389:960–963. doi: 10.1038/40135
- Montgomery JC, 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. doi: 10.1016/0304-3940(94)90007-8
- Montgomery JC, Coombs SL, Conley R a., Bodznick D (1995) Hindbrain sensory processing in lateral line, electrosensory, and auditory systems: a comparative overview of anatomical and functional similarities. *Aud Neurosci* 207–231.
- Montgomery JC, MacDonald JA (1987) Sensory Tuning of Lateral Line Receptors in Antarctic Fish to the Movements of Planktonic Prey. *Science* (80- ) 235:195–196. doi: 10.1126/science.235.4785.195
- Münz H (1989) Functional organisation of the lateral line periphery. In: Coombs S, Görner P, Münz H (eds) *The mechanosensory lateral line*. pp 285–298
- Münz H (1979) Morphology and innervation of the lateral line system in *Sarotherodon niloticus* (L.) (cichlidae, teleostei). *Zoomorphologie* 93:73–86. doi: 10.1007/BF02568676
- Münz H (1985) Single unit activity in the peripheral lateral line system of the cichlid fish *Sarotherodon niloticus* L. *J Comp Physiol A Neuroethol Sensory, Neural, Behav Physiol* 157:555–568.
- New JG, Coombs SL, McCormick C a, Oshel PE (1996) Cytoarchitecture of the medial octavolateralis nucleus in the goldfish, *Carassius auratus*. *J Comp Neurol* 366:534–46. doi: 10.1002/(SICI)1096-9861(19960311)366:3<534::AID-CNE11>3.0.CO;2-P
- Partridge BL, Pitcher TJ, Gables C (1980) of Comparative The Sensory Basis of Fish Schools : Relative Roles of Lateral Line and Vision. *Structure* 325:315–325.
- Pickles JO, Corey DP (1992) Mechano-electrical transduction by hair cells. *TINS* 15:254–259.
- Pitcher T (1979) Sensory information and the organization of behaviour in a shoaling cyprinid fish. *Anim Behav* 27:126–149.
- 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 (2012) The swimming behaviour of Rainbow trout, *Oncorhynchus mykiss*, in turbulent water flow.
- 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
- Puzdrowski RL (1989) Peripheral distribution and central projections of the lateral-line nerves in goldfish, *Carassius auratus*. *Brain Behav Evol* 34:110–131. doi: 10.1159/000316065
- Rouse GW, Pickles JO (1991) Ultrastructure of Free Neuromasts of *Bathygobius fuscus* (Gobiidae) and Canal Neuromasts of *Apogon cyanosoma* (Apogonidae). *J Morphol* 120:111–120.

- Russell IJ, Roberts BL (1974) Active reduction of lateral-line sensitivity in swimming dogfish. *J Comp Physiol A* 94:7–15. doi: 10.1007/BF00610153
- Schmitz A, Bleckmann H, Mogdans J (2014) The lateral line receptor array of cyprinids from different habitats. *J Morphol* 275:357–370. doi: 10.1002/jmor.20219
- Schmitz A, Bleckmann H, Mogdans J (2008a) Organization of the superficial neuromast system in goldfish, *Carassius auratus*. *J Morphol* 269:751–761. doi: 10.1002/jmor.10621
- Schmitz A, Bleckmann H, Mogdans J (2008b) Organization of the superficial neuromast system in goldfish, *Carassius auratus*. *J Morphol* 269:751–61. doi: 10.1002/jmor.10621
- Sharma S, Coombs SL, Patton P, De Perera TB (2009) The function of wall-following behaviors in the Mexican blind cavefish and a sighted relative, the Mexican tetra (*Astyanax*). *J Comp Physiol A* 195:225–240. doi: 10.1007/s00359-008-0400-9
- Soares D (2002) Neurology: an ancient sensory organ in crocodylians. *Nature* 417:241–242. doi: 10.1038/417241a
- Späth M, Schweickert W (1975) Lateral-line Efferents to Mechanical and Visual Stimuli. *Naturwissenschaften* 62:579–580.
- Taguchi M, Liao JC (2011) Rainbow trout consume less oxygen in turbulence: the energetics of swimming behaviors at different speeds. *J Exp Biol* 214:1428–36. doi: 10.1242/jeb.052027
- Tricas TC, Highstein SM (1991) Action of the octavolateralis efferent system upon the lateral line of free swimming toadfish, *Opsanus tau*. *J Comp Physiol A* 25–37.
- van Netten SM, Kroese ABA (1987) Laser interferometric measurements on the dynamic behaviour of the cupula in the fish lateral line. *Hear Res* 29:55–61. doi: 10.1016/0378-5955(87)90205-X
- Van Trump WJ, McHenry MJ (2013) The lateral line system is not necessary for rheotaxis in the Mexican blind cavefish (*Astyanax fasciatus*). *Integr Comp Biol* 53:799–809. doi: 10.1093/icb/ict064
- Vischer HA (1990) The morphology of the lateral line system in 3 species of Pacific cottoid fishes occupying disparate habitats. *Experientia* 46:244–250. doi: 10.1007/BF01951754
- Vogel S (1996) *Life in moving fluids*. Princeton University Press, Princeton
- Voigt R, Carton A G, Montgomery JC (2000) Responses of anterior lateral line afferent neurones to water flow. *J Exp Biol* 203:2495–2502.
- von Rath O (1887) Über die Hautsinnesorgane der Insekten. *Zeitschrift für wissenschaftliche Zool* 46:413–454.
- Webb JF (2014) Morphological diversity, development, and evolution of the mechanosensory lateral line system. In: Coombs S, Bleckmann H (eds) *The lateral line system*. Springer, New York, pp 17–72
- Webb JF (1989) Developmental Constraints and Evolution of the Lateral Line System in Teleost Fishes. In: *The Mechanosensory Lateral Line*. pp 79–97
- Wellenreuther M, Brock M, Montgomery J, Clements KD (2010) Comparative morphology of the mechanosensory lateral line system in a clade of New Zealand triplefin fishes. *Brain Behav Evol* 75:292–308. doi: 10.1159/000317061
- Whitfield T, Granato M, Eeden F, et al (1996) Mutations affecting development of the

zebrafish inner ear and lateral line. *Development* 123:241–254.  
Winkelkemper J (2018) Antwortverhalten von medullären Seitenlinienneuronen auf  
Wirbelstraßen in laminarer und turbulenter Strömung.

## Anhang

### A Ringer Lösung

<b>Ringer Lösung</b>	<b>1000 ml</b>
Destilliertes Wasser	700 ml
NaCl	5,902 g
KCl	0,261 g
NaHCO <sub>3</sub>	2,100 g
Tris-Puffer	0,121 g
MgSO <sub>4</sub>	0,296 g
CaCl <sub>2</sub>	0,277 g

### B Beschichtung Objektträger

300 ml Aqua bidest.	Bei 50°C lösen
1,5 g Gelatine	
0,15 g Chromalaun	
Objektträger 2 Minuten eintauchen	
Bei 40°C einen Tag im Wärmeschrank trocknen	

### C Cresyl-Violet-Färbeprotokoll

Ethanol 70%	1 min
Ethanol 80%	1 min
Ethanol 96%	1 min
Isopropanol 100% I	1 min
Isopropanol 100% II	1 min
Isopropanol 100% III	1 min
Xylol I	3 min
Xylol II	3 min
Xylol III	3 min
Isopropanol 100% III	1 min
Ethanol 96%	1 min
Ethanol 80%	1 min
Ethanol 70%	1 min
Aqua bidest. I	10 min
Cresyl violet 0,2%	5-7 min
Aqua bidest. I	5-10 sec

Aqua bidest. II	0,5-1 min
Ethanol 70%	Auf Sicht entfärben
Ethanol 80% + 2 Tropfen Essigsäure	
Ethanol 96%	
Isopropanol 100% I	5 min
Isopropanol 100% II	5 min
Isopropanol 100% III	5 min
Xylol I	5 min
Xylol II	5 min
Xylol III	5 min
Eindeckeln mit Roth Histokitt II	

## Publikationen

Medullary lateral line units of the rudd, *Scardinius erythrophthalmus*, and the nase, *Chondrostoma nasus*, encode the distance to an upstream object.

J. Winkelkemper, S. Kranz and H. Bleckmann (Journal of Comparative Physiology A) 2017



## **Danksagung**

Zuallererst möchte ich Professor Horst Bleckmann für die Betreuung meiner Promotion, die Korrekturen an diesem Manuskript und insbesondere seine Geduld weit über seinen Ruhestand hinaus Danken. Ich danke meinen Laborpartnern Jan und Felix für die gute Zusammenarbeit und viele hilfreiche Anregungen und Unterstützungen. Maren, Adrian, Henrik und dem Rest der Arbeitsgruppe danke ich für ein sehr gutes Arbeitsklima.