

Repräsentation und Unterscheidbarkeit  
amplitudenmodulierter akustischer Signale im  
Nervensystem von Feldheuschrecken

DISSERTATION

zur Erlangung des akademischen Grades

doctor rerum naturalium

(Dr. rer. nat.)

im Fach Biologie

eingereicht an der

Mathematisch-Naturwissenschaftlichen Fakultät I

Humboldt-Universität zu Berlin

von

Frau Dipl.-Biol. Sandra Wohlgemuth

geboren am 18.01.1973 in Celle

Präsident der Humboldt-Universität zu Berlin:

Prof. Dr. Christoph Marksches

Dekan der Mathematisch-Naturwissenschaftlichen Fakultät I:

Prof. Dr. Christian Limberg

Gutachter:

1. Prof. Dr. Bernhard Ronacher
2. Priv.-Doz. Dr. Heiner Römer
3. Prof. Dr. Andreas Herz

eingereicht am: 13. Februar 2008

Tag der mündlichen Prüfung: 17. Juni 2008



# Widmung

Für M. und L.



## Abstract

A central task of auditory systems is the recognition and classification of behaviorally relevant signals. The communication signals of many grasshoppers can be characterized by a species-specific pattern of amplitude modulation, which is mainly used for species recognition in the context of mate finding. Additionally, the communication is also of interest with respect to sexual selection and an evaluation of the signaler's quality from the signal pattern, which requires the quantification of subtle variations of the common species-specific pattern.

The goal of this study was to investigate how amplitude modulated acoustic signals are represented in the responses of identified 2nd and 3rd order auditory interneurons, particularly, how well they can be discriminated on the basis of the responses. For this (i) sinusoidal amplitude modulated stimuli were used and the parameters modulation frequency and modulation depth were systematically varied, (ii) individual songs of the same species and (iii) songs with temporal rescaled basic pattern were presented.

Local interneurons can be characterized by: mostly high temporal resolution capacities, high sensitivity to fluctuations of the signal amplitude as well as a good distinguishability of sinusoidal amplitude modulated stimuli and songs on the basis of the spike trains. In ascending interneurons the synchronization to the amplitude modulations decreased, which also appeared in a reduced discrimination performance. This is caused by an increase of response variability (jitter of spike timing) but also by distinctive filter properties of the respective neurons. Neurons on this third processing level exhibit a greater specialization to particular temporal aspects of the stimulus. This can be interpreted as a basis of a behaviorally relevant classification of acoustic signals.

**Keywords:**

Neurophysiology, Coding, Information, Auditory System

## Zusammenfassung

Eine wesentliche Aufgabe auditorischer Systeme besteht in der Erkennung und Klassifikation verhaltensrelevanter Signale. Die akustischen Kommunikationssignale vieler Feldheuschrecken zeichnen sich durch artspezifische Modulationen der Signalamplitude aus, die im Kontext der Partnerwahl zur Erkennung der eigenen Art genutzt werden. Die Kommunikation ist jedoch auch als Basis für sexuelle Selektion von Interesse - einer Abschätzung der Qualität des Senders anhand der akustischen Signale, welche eine Bewertung subtiler Variationen der artspezifischen Musters erfordert.

Das Ziel dieser Arbeit bestand darin zu untersuchen, wie amplitudenmodulierte akustische Signale in den Antworten identifizierter auditorischer Interneurone der zweiten und dritten Verarbeitungsstufe repräsentiert werden, insbesondere, wie gut sie anhand dieser Antworten unterscheidbar sind. Dazu wurden (i) sinusförmig amplitudenmodulierte Stimuli genutzt und die Parameter Modulationsfrequenz und Modulationstiefe systematisch variiert, (ii) individuelle Gesänge der gleichen Art, und (iii) im Grundmuster zeitlich reskalierte Gesänge.

Lokale Interneurone zeichneten sich aus durch: ein oft sehr hohes zeitliches Auflösungsvermögen, hohe Empfindlichkeit gegenüber Schwankungen der Signalamplitude, sowie gute Unterscheidbarkeit der sinusförmig amplitudenmodulierten Signale und der Gesänge auf der Basis von Spikeantworten. Bei den aufsteigenden Interneuronen nahm die Fähigkeit zur zeitlichen Ankopplung der Spikes an die Amplitudenmodulationen der Stimuli ab, was sich auch in deren reduzierter Unterscheidbarkeit äußerte. Ursächlich hierfür war einerseits die Zunahme der Antwortvariabilität (Jitter der Spikezeitpunkte), aber auch verstärkt auftretende Filtereigenschaften. Auf dieser dritten Verarbeitungsebene kommt es zu einer stärkeren Spezialisierung auf bestimmte zeitliche Aspekte des Stimulus, die als Grundlage einer verhaltensrelevanten

Klassifikation von akustischen Signalen interpretiert werden kann.

**Schlagwörter:**

Neurophysiologie, Kodierung, Information, Auditorisches System



# Inhaltsverzeichnis

<b>I</b>	<b>Einleitung</b>	<b>1</b>
<b>1</b>	<b>Erkennung und Klassifikation zeitlicher Muster</b>	<b>3</b>
1.1	Akustische Kommunikation: Partnerwahl und sexuelle Selektion	4
1.2	Die auditorische Verarbeitung bei Feldheuschrecken . . . . .	6
1.3	Zielstellung . . . . .	9
<b>II</b>	<b>Material &amp; Methoden</b>	<b>11</b>
<b>2</b>	<b>Elektrophysiologische Versuche</b>	<b>13</b>
2.1	Versuchstiere und Haltung . . . . .	13
2.1.1	Locusta migratoria . . . . .	13
2.1.2	Chorthippus biguttulus . . . . .	13
2.2	Präparation . . . . .	14
2.3	Versuchsapparatur . . . . .	15
2.3.1	Ableitapparatur . . . . .	15
2.3.2	Akustische Apparatur . . . . .	16
2.4	Versuchsdurchführung . . . . .	16
2.5	Nach dem Versuch: Aufbereitung des Präparats und morpho- logische Zuordnung der Zellen . . . . .	17
2.6	Stimulus-Ensembles . . . . .	17
2.6.1	Intensitätskennlinien . . . . .	18
2.6.2	Sinusförmig amplitudenmodulierte Stimuli . . . . .	18
2.6.3	Gesänge . . . . .	19
2.7	Datenanalyse . . . . .	19

2.7.1	Modulationstransferfunktionen . . . . .	20
2.7.2	Kenngößen der MTF . . . . .	21
2.7.3	Minimale Modulationsschwellen und MIT . . . . .	22
2.7.4	Spiketrain-Metrik und Klassifikation . . . . .	24
2.7.5	Variabilität der Spikeantworten . . . . .	28
<b>3</b>	<b>Verhaltensversuche</b>	<b>33</b>
3.1	Versuchstiere und Haltung . . . . .	33
3.2	Versuchsapparatur . . . . .	33
3.3	Versuchsdurchführung . . . . .	34
3.4	Stimulus-Ensembles . . . . .	35
3.5	Datenanalyse . . . . .	36
3.5.1	Extraktion von Stimulusmerkmalen . . . . .	36
3.5.2	Verhaltensantworten . . . . .	37
3.6	Statistik . . . . .	39
<b>III</b>	<b>Ergebnisse</b>	<b>41</b>
<b>4</b>	<b>Modulationstransferfunktionen</b>	<b>43</b>
4.1	Kodierung von sinusförmigen Amplitudenmodulationen . . . . .	45
4.1.1	Filterkurven: rMTF und tMTF . . . . .	47
4.1.2	Kenngößen der rMTF und der tMTF . . . . .	54
4.2	Der Einfluss der Modulationstiefe . . . . .	63
4.2.1	Filterkurven bei unterschiedlichen Modulationstiefen: rMTF und tMTF . . . . .	63
4.2.2	Minimale Modulationsschwellen . . . . .	66
<b>5</b>	<b>Unterscheidbarkeit Amplitudenmodulierter Signale</b>	<b>73</b>
5.1	Spiketrain - Distanzen und korrekte Zuordnung . . . . .	75
5.1.1	Spiketrain - Distanzen . . . . .	75
5.1.2	Klassifikation . . . . .	77
5.1.3	Unterscheidbarkeit der einzelnen Reizmuster . . . . .	83

5.1.4	Unterscheidbarkeit in Abhängigkeit vom Zeitfenster und der Spikezahl . . . . .	86
5.2	Der Auflösungsparameter $\tau$ . . . . .	92
5.2.1	Die Bedeutung des Auflösungsparameters $\tau$ für die Unterscheidbarkeit . . . . .	93
5.2.2	Das optimale $\tau$ . . . . .	95
5.2.3	Zusammenhang zwischen Spikezahlunterschieden bzw. Interspike-Intervallverteilungen und der Unterscheidbarkeit . . . . .	98
5.2.4	Einfluss der Spikezeitpunkt - Variabilität auf das optimale $\tau$ der Unterscheidbarkeit . . . . .	100
5.2.5	Einfluss des Stimulus-Ensembles auf das optimale $\tau$ der Unterscheidbarkeit . . . . .	103
5.3	Zusammenhang zwischen den MTF und der Unterscheidbarkeit der SAM-Stimuli . . . . .	107
5.3.1	Vergleich zwischen Kenngrößen der MTF und der Unterscheidbarkeit . . . . .	108
5.3.2	Modulationstransferfunktionen und das optimale $\tau$ der Unterscheidbarkeit . . . . .	111
<b>6</b>	<b>Kodierung von natürlichen Signalen</b>	<b>115</b>
6.1	Die Unterscheidbarkeit von Gesängen . . . . .	116
6.1.1	Zeitfenster bzw. Spikezahlen und die Unterscheidbarkeit	122
6.1.2	Das optimale $\tau$ für die Unterscheidbarkeit der Gesänge	126
6.1.3	Vergleich der Unterscheidbarkeit: Einfluss der Reskalierung und des Auswertebereichs . . . . .	129
6.2	Charakterisierung der Antworten auf die Gesänge . . . . .	138
6.2.1	Repräsentation von Gesangsmerkmalen . . . . .	138
6.2.2	Zusammenhang zwischen Bursts und spezifischen Gesangsmerkmalen . . . . .	141
6.2.3	Antwortvariabilität bei lokalen und aufsteigenden Interneuronen . . . . .	144
6.3	Vergleich der Unterscheidbarkeit von Gesängen und SAM-Stimuli	152

6.3.1	Unterscheidbarkeit und optimaler $\tau$ -Bereich individueller Zellen bei den beiden Stimulus Ensembles . . . . .	152
6.3.2	Der Einfluss der getesteten Modulationsfrequenzen und deren Modulationstiefe auf die Unterscheidbarkeit . . . . .	154
6.3.3	Vergleichende Charakterisierung der Unterscheidbarkeit für einzelne Zelltypen . . . . .	163
<b>7</b>	<b>Verhaltensreaktionen und neuronale Antworten bei <i>C. biguttulus</i></b>	<b>167</b>
7.1	Verhaltensantworten auf die Gesänge . . . . .	169
7.1.1	Merkmale der Gesänge . . . . .	169
7.1.2	Attraktivität der Gesänge . . . . .	172
7.1.3	Zusammenhang zwischen Verteilungen der Merkmale der Gesänge und deren Attraktivität . . . . .	181
7.2	Neuronale Antworten auf die Gesänge . . . . .	187
7.2.1	Unterscheidbarkeit bei <i>C. biguttulus</i> . . . . .	187
7.2.2	Auf der Suche nach neuronalen Korrelaten zu den Verhaltensreaktionen . . . . .	199
7.3	Vergleich der neuronalen Kodierung bei homologen auditorischen Interneuronen . . . . .	206
7.3.1	Vergleich der Unterscheidbarkeit der Gesänge zwischen <i>C. biguttulus</i> und <i>L. migratoria</i> . . . . .	207
7.3.2	Intraspezifische und Interspezifische Spiketrain-Distanzen	209
<b>IV</b>	<b>Diskussion</b>	<b>215</b>
<b>8</b>	<b>Unterscheidbarkeit amplitudenmodulierter Signale</b>	<b>219</b>
8.1	Abnahme der Unterscheidbarkeit bei aufsteigenden Interneuronen . . . . .	222
8.1.1	Vergleich der Auswertebereiche . . . . .	225
8.1.2	Zeitskalen und Spikezahlen . . . . .	227
8.2	Kodierung und Unterscheidbarkeit von Amplitudenmodulationen . . . . .	231

8.2.1	Zeitliche Ankopplung der Spikes an die Stimulusperiode	231
8.2.2	Änderung der Spikerate mit der Modulationsfrequenz	236
8.2.3	Unterscheidbarkeit sinusförmig amplitudenmodulierter Stimuli . . . . .	241
8.3	Der Einfluß der Modulationstiefe . . . . .	243
8.4	Optimale zeitliche Auflösung und Variabilität der Spikeant- worten . . . . .	247
<b>9</b>	<b>Von den weiblichen Präferenzen zur neuronalen Klassifikati- on</b>	<b>253</b>
9.1	Die Attraktivität der Gesänge . . . . .	255
9.2	Klassifikation auf der Grundlage der neuronalen Antworten . .	260
<b>10</b>	<b>Vergleich der Kodierungseigenschaften homologer Neurone</b>	<b>265</b>
<b>11</b>	<b>Resume und Ausblick</b>	<b>269</b>
	<b>Anhang</b>	<b>271</b>
	Abkürzungen	273
	Danksagung	275
	Selbständigkeitserklärung	309
	Literaturverzeichnis	279
	Abbildungsverzeichnis	301
	Tabellenverzeichnis	307
	Selbständigkeitserklärung	309



**Teil I**

**Einleitung**





# Kapitel 1

## Erkennung und Klassifikation zeitlicher Muster

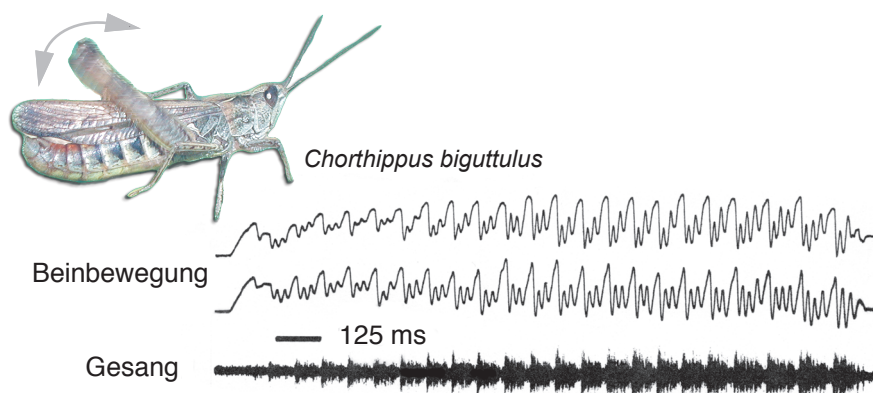
Sensorische Systeme sind auf eine korrekte Erkennung verhaltensrelevanter Signale spezialisiert. Erst eine Klassifikation der Signale ermöglicht es einem Organismus, sein Überleben und seinen reproduktiven Erfolg zu sichern. Ein sensorisches System wird dabei gewöhnlich bestimmte Merkmale eines Signals extrahieren und andere unbeachtet lassen. Welche Merkmale extrahiert und welche nicht beachtet werden, sollte von dem zugrunde liegenden Verhaltenskontext abhängen. Daher sind für das Verständnis der Verarbeitungsleistungen eines sensorischen Systems verhaltensrelevante natürliche (oder naturnahe) Signale von besonderem Interesse.

Natürliche akustische Kommunikationssignale, wie Sprache und Vogelgesänge, zeichnen sich durch eine hohe spektrotemporale Komplexität aus (Chi et al., 1999; Singh und Theunissen, 2003). Obwohl die Hörorgane von Menschen und Vögeln eine exzellente Frequenzunterscheidung ermöglichen, sind doch auch die zeitlichen Muster der Amplitudenmodulation von entscheidender Bedeutung für die Erkennung von Sprache und Gesängen (Rosen, 1992; Shannon et al., 1995; Smith et al., 2002) und (Kroodsma und Miller, 1996; Woolley et al., 2006, 2005). Die Erkennung der Kommunikationssignale basiert bei Fröschen und Insekten, deren Hörorgane nur sehr limitierte Fähig-

keiten zur Frequenzanalyse aufweisen, offenkundig auf der Bewertung der zeitlichen Muster der Amplitudenmodulationen (Alder und Rose, 2000; Gerhardt und Huber, 2002; Hennig et al., 2004). Zwischen verschiedenen zeitlichen Mustern zu unterscheiden, ist von besonderer Bedeutung im Kontext der Partnerwahl. So bilden die artspezifischen akustischen Signale vieler Feldheuschrecken im Zusammenhang mit der korrekten Interpretation durch die Hörbahn des Empfängers eine wesentliche Hybridisierungsbarriere zwischen verschiedenen sympatrisch vorkommenden Arten (von Helversen und von Helversen, 1975; Vedenina und von Helversen, 2003; Gottsberger und Mayer, 2007). Die Bewertung der akustischen Signale wird jedoch nicht alleine im Kontext der Arterkennung diskutiert (Gerhardt und Huber, 2002; von Helversen und von Helversen, 1994). Es stellt sich auch die Frage, inwieweit hierbei eine sexuelle Selektion wirksam wird. Für eine Abschätzung der Qualität des Senders, anhand der akustischen Signale, bedarf es einer Bewertung subtiler Variationen des arteigenen Signalmusters - sicherlich eine noch weitaus größere Anforderung als die Ablehnung der Signale anderer Arten.

## 1.1 Akustische Kommunikation: Partnerwahl und sexuelle Selektion

Evolutionäre Prozesse haben Verhaltensweisen der akustische Kommunikation geformt, die eine bemerkenswerte Komplexität aufweisen (Bradbury und Vehrenkamp, 1998). Viele Feldheuschrecken der *Gomphocerinae* nutzen ein bidirektionales Kommunikationssystem zur Partnerfindung (Faber, 1953; von Helversen und von Helversen, 1994): beide Geschlechter partizipieren wechselseitig am Kommunikationsprozess. Die Männchen produzieren spontane Lockgesänge, auf die ein paarungsbereites Weibchen mit einem Gesang antwortet. Diese Antwort erlaubt dem Männchen wiederum, das Weibchen zu lokalisieren und sich im Laufe eines Wechselsingens phonotaktisch anzunähern, woraufhin es zur Paarung kommen kann. Nach Shannon (1948) kann jeder Kommunikationsprozess in einen Sender, einen Kommunikationskanal und einen Empfänger unterteilt werden:



**Abbildung 1.1:** MUSTER DER BEINBEWEGUNGEN UND DES ERZEUGTEN GESANGS EINES MÄNNCHENS VON *C. biguttulus*. Die Männchen dieser Art produzieren Gesänge, die sich aus einer alternierenden Abfolge von Silben und Pausen zusammensetzen. (Gesang und Beinbewegungsspuren: Otto von Helversen.)

Die Rolle des Senders wechselt in diesem Kommunikationssystem. Beide Geschlechter produzieren die Gesänge, indem sie eine Feile, die sich an der Innenseite jedes Hinterbeins befindet, über die Schrillader des Vorderflügels reiben (Abb. 1.1). Die Stridulationsmuster sind streng artspezifisch (und auch geschlechtsspezifisch) und spiegeln sich in einem zeitlichen Muster von Amplitudenmodulationen wider (Elsner, 1974). Die Frequenzspektren sind hingegen sehr breit und weitaus unspezifischer.

Der Kommunikationskanal wird durch das natürliche Habitat gebildet: während der Übertragung wird das Signal degradiert. Es kann zu Streuungen, Beugungen und Reflexionen, aber auch zu Interferenzen mit anderen Signalen kommen. Gleichzeitig wird das Signal stark abgeschwächt, wobei sich dieses besonders auf hohe Frequenzen auswirkt (Römer und Lewald, 1992; Römer, 1998; Lang, 2000).

Die Leistungen des Empfängers bestehen in der Erkennung dieses art- und geschlechtsspezifischen Gesangs und der Lokalisation des Senders. Viele verschiedene Feldheuschreckenarten, wie etwa *C. biguttulus*, *C. brunneus* und *C. mollis*, kommen im selben Habitat vor und die korrekte Erkennung des arteigenen Signals ist von entscheidender Bedeutung für den reproduktiven Erfolg. Verhaltensversuche haben gezeigt, dass die Erkennungssysteme die-

ser eng verwandten Arten sehr unterschiedlich sind (von Helversen, 1972; von Helversen und von Helversen, 1994).

Gleichzeitig erfüllen diese Kommunikationssysteme jedoch auch wesentliche Voraussetzungen für eine sexuelle Selektion (vgl. Andersson (1994)): Die Weibchen investieren weitaus mehr in die Gameten als die Männchen. Während der Reproduktionserfolg der Männchen mit der erzielten Zahl der Paarungen zunimmt, wird der Reproduktionserfolg der Weibchen durch die von ihnen produzierten Gelege und das heißt durch die verfügbaren Energieressourcen begrenzt. Aufgrund dieser Asymmetrie sollten sich die Weibchen vorzugsweise mit Männchen verpaaren, die eine hohe Qualität aufweisen oder zumindest Männchen einer geringen Qualität ablehnen. In Verhaltensversuchen an der Feldheuschrecke *C. biguttulus* konnte gezeigt werden, dass die Weibchen dies tatsächlich tun. Männchen, die nur mit einem Hinterbein singen, werden deutlich seltener zur Paarung zugelassen als zweibeinig singende Männchen (Kriegbaum, 1989). Auf der Seite der sensorischen Verarbeitung erfordert dies eine Bewertung feiner Unterschiede: bei einbeinig singenden Männchen bleiben wesentliche Aspekte des Grundmusters des Gesangs erhalten, es treten lediglich Lücken einer Dauer von nur 2-3 ms auf.

## 1.2 Die auditorische Verarbeitung bei Feldheuschrecken

Das auditorische System der Heuschrecken ist für eine Analyse der sensorischen Verarbeitung aus zwei Gründen besonders geeignet: (i) die relevanten Stimuli sind gut bekannt und gleichzeitig eng umgrenzt. Spezifische Stimuluseigenschaften können im Verhalten getestet werden, wodurch eine enge Verbindung zur neuronalen Verarbeitung hergestellt werden kann (vgl. Ronacher und Stumpner (1988); Krahe et al. (2002b)). (ii) das System zeichnet sich mit einigen 100 Neuronen durch eine relative Einfachheit aus (zur Übersicht, siehe Pollack (1998)), wobei durch eine individuelle Identifizierbarkeit der Neurone, anhand ihrer morphologischen und physiologischen Eigenschaften, Mehrfachtests möglich sind. Dadurch können spezifische Zelleigenschaften

umfassend beschrieben werden (vgl. Stumpner und Ronacher (1991); Stumpner et al. (1991)). Die beiden Typanalorgane der Feldheuschrecken befinden sich seitlich im ersten Abdominalsegment. Die Trommelfelle werden von einer dünnen Kutikula gebildet auf deren Innenseite die eigentlichen Hörorgane, die Müller'schen Organe sitzen (Gray, 1960). Etwa 60 bis 80 Rezeptoren sind hier über Kapselzellen mit der Membran verbunden und können durch Schwingungen der Trommelfelle erregt werden. Die Axone der Rezeptoren projizieren über die beiden auditorischen Nerven in das Metathorakalganglion. Dort verschalten die Rezeptoren ipsilateral auf jeder Hemisphäre des Ganglions auf etwa 15 lokale Interneurone. Diese werden als vorgeschaltete Elemente der aufsteigenden Interneurone angesehen (Marquart, 1985a), die ins Oberschlundganglion aszendieren. Auch die Anzahl der aufsteigenden Interneurone ist mit etwa 15 bis 20 Zelltypen in jeder der beiden Hemisphären relativ begrenzt. Im Oberschlundganglion, wo es zur letztendlichen Erkennung und Bewertung des zeitlichen Musters kommt (Ronacher et al., 1986; Bauer und Helversen, 1987), ist nur sehr wenig über die auditorische Verarbeitung der Signale bekannt. Lediglich einzelne Arbeiten an *L. migratoria* zeigten hier sehr vielfältige Antworteigenschaften von allerdings nicht identifizierten Neuronen (Adam, 1969; Römer und Seikowski, 1985). Während auf den ersten drei Verarbeitungsebenen eine sehr große Übereinstimmung hinsichtlich der physiologischen Merkmale zwischen verschiedenen Feldheuschreckenarten auftritt, ist eine Übertragbarkeit der Ergebnisse auf dieser Verarbeitungsebene durch die zu erwartenden artspezifischen Filter nur noch sehr bedingt möglich.

Für die Neurone der ersten drei Verarbeitungsebenen konnten hingegen schon eine Vielzahl von physiologischen Merkmalen erfasst werden. Die Rezeptoren unterscheiden sich bezüglich ihrer Antwortschwellen, ihrer maximalen Feuerraten und ihrer Bestfrequenzen. Bei Wanderheuschrecken erfolgte eine Einteilung entsprechend ihrer Bestfrequenzen und ihrer Position an der Membran in drei bis vier Typen (Römer (1976); Jacobs et al. (1999); für *C. biguttulus* siehe Stumpner (1988)). Zwei bis drei Typen werden als Tieftonrezeptoren bezeichnet und reagieren am empfindlichsten auf Frequenzen von 4-8 kHz, ein weiterer Typ, die Hochtonrezeptoren, auf 10-25 kHz. Die Fre-

quenzempfindlichkeit der Rezeptoren ist damit gut auf den Frequenzgehalt der Gesänge abgestimmt. Im Vergleich zu Vertebraten ist die Frequenzauflösung jedoch sehr begrenzt, dagegen zeigen die Rezeptoren eine hohes zeitliches Auslösungsvermögen der Umhüllenden des Stimulus und gleichzeitig eine hohe zeitliche Präzision der Spikezeitpunkte (Prinz und Ronacher, 2002; Rokem et al., 2006). Die minimalen Integrationszeiten der Rezeptoren von *L. migratoria* liegen mit unter 1 ms im unteren Bereich der im Verhalten gemessenen Werte für Vertebraten. Die sehr präzise Wiedergabe schneller Amplitudenmodulation des Reizes in einer sich schnell ändernden Spikerate bedingt eine hohe Informationsrate (Machens et al., 2001b; Rokem et al., 2006). Des weiteren konnte gezeigt werden, dass anhand der Antworten der Rezeptoren eine nahezu perfekte Unterscheidbarkeit individueller Gesänge möglich ist (Machens et al., 2003).

Auch einige lokale Interneurone kopieren oder invertieren noch weitgehend das zeitliche Muster des akustischen Reizes. Andere zeigen komplexere Antworteigenschaften, die auf vielfältigere synaptische Verrechnungen hindeuten (Römer und Marquart, 1984; Stumpner et al., 1991).

Das Antwortverhalten der aufsteigenden Interneurone ist durch ein kompliziertes Zusammenspiel von exzitatorischen und inhibitorischen Eingängen geprägt, wobei sehr unterschiedliche Antwortmuster, Intensitäts- und Richtcharakteristiken auftreten. So ist bereits auf dieser Verarbeitungsebene eine funktionelle Separierung in richtungs- und musterkodierende Neurone gegeben. Eine parallele Verarbeitung von Richtungs- und Musterinformation konnte zunächst aus den Verhaltensreaktionen geschlossen werden (Helsen, 1984). Die Evidenz, dass diese Trennung bereits auf der Ebene des Metathorakalganglions vollzogen wird, ergab sich aus Versuchen, bei denen die Konnektive zwischen Meta- und Mesothorakalganglion durchtrennt wurden. Die Tiere beantworteten daraufhin zwar einen Gesang, reagierten aber nicht mit einer Drehung (Ronacher et al., 1986). Erst später bestätigten elektrophysiologische Studien, dass die aufsteigenden Interneurone AN1 und AN2 eine sehr starke Richtungsabhängigkeit, aber nur eine schwache Kapazität bei der Musterkodierung zeigen (Stumpner und Ronacher, 1994). Für einzelne musterkodierende Interneurone, wie das AN4, konnten ausgeprägte

Filtereigenschaften beschrieben werden. Bei diesem Neuron führen in eine Rauschsilbe eingefügte Lücken einer Dauer von 2 bis 3 ms zu einer nahezu vollständigen Unterdrückung der Spikeantwort (Ronacher und Stumpner, 1988), was sich wiederum mit der Verhaltensbeobachtung einer Ablehnung eines solchen Musters deckt.

Ein Großteil der bisherigen Erkenntnisse über die auditorische Verarbeitung auf der Ebene der lokalen und aufsteigenden Interneurone resultieren aus Untersuchungen mit rechteckig amplitudenmoduliertem weißen Rauschen. Auch im Verhalten beantworten die Weibchen von *C. biguttulus* diese sehr einfachen Muster gut (insofern die Silben-Pausendauern im arteigenen Filterbereich liegen). In Verhaltensversuchen mit amplitudenmodulierten Silben zeigen die Tiere aber trotzdem auch eine ausgeprägte Selektivität hinsichtlich subtiler zeitlicher Merkmale der Silben, wie etwa der Durchgängigkeit des Anstiegs der Amplitude am Silbenbeginn (Schmidt et al., 2008), dem Onset- und Offset-Level der Silben (Balakrishnan et al., 2001; von Helversen et al., 2004) und der Amplitude am Silbenende (von Helversen, 1979). Aufgrund der eher komplexen Antworteigenschaften, besonders der aufsteigenden Interneurone, ist die Repräsentation amplitudenmodulierter Stimuli und im besonderen natürlichen Stimuli schwer vorhersagbar. Die Frage, die sich im speziellen stellt ist, inwieweit Unterschiede zwischen den Gesängen dieser Art noch ähnlich gut aufgelöst werden können, wie von den Rezeptoren.

### 1.3 Zielstellung

In dieser Arbeit soll die Unterscheidbarkeit amplitudenmodulierter Signale anhand der Antworten der Neurone des metathorakalen auditorischen Systems quantifiziert werden. Dabei steht zunächst die Frage nach den Filtereigenschaften der auditorischen Neurone hinsichtlich der Modulationsfrequenz und der Einfluss der Modulationstiefe im Vordergrund. Ausgehend von dieser allgemeinen Charakterisierung soll geprüft werden, inwieweit sich einzelne Modulationsfrequenzen auf der Grundlage der Antworten der verschiedenen Neurone unterscheiden lassen. Der zusätzliche Einsatz von Ge-

sängen einer Art ermöglicht eine Beurteilung der Unterscheidbarkeit anhand von natürlichen Signalen, die relevante statistische Eigenschaften aufweisen und gleichzeitig untereinander sehr ähnlich sind. Die Fähigkeit noch geringe Unterschiede zwischen den Stimuli zu detektieren wird durch intrinsisches Rauschen limitiert, welches sich in einer Antwortvariabilität äußert. Ebenso können aber auch spezifische Antworteigenschaften einen Einfluss auf die erreichbare Leistungsfähigkeit haben. Diese Faktoren, sind vergleichend für die Verarbeitungsebenen und Zelltypen zu prüfen. Neben dem häufig genutzten Modellsystem für elektrophysiologische Studien im auditorischen System der Heuschrecken, *Locusta migratoria*, soll auch *Chorthippus biguttulus* untersucht werden. Die Weibchen dieser Art können mit dem gleichen Stimulus-Set sowohl im Verhalten und als auch in der Elektrophysiologie getestet werden, wodurch ein Zusammenhang zwischen diesen beiden Ebenen der Betrachtung herstellbar ist.



## **Teil II**

# **Material & Methoden**



# Kapitel 2

## Elektrophysiologische Versuche

### 2.1 Versuchstiere und Haltung

Die elektrophysiologischen Versuche wurden an der Wanderheuschrecke *Locusta migratoria* (*Acrididae: Locustinae*) und an der einheimischen Feldheuschrecke *Chorthippus biguttulus* (*Acrididae: Gomphocerinae*) durchgeführt.

#### 2.1.1 *Locusta migratoria*

Die Wanderheuschrecken wurden als adulte Tiere von kommerziellen Züchtern bezogen. Die Haltung erfolgte in Holzkäfigen bei einem Tag-Nacht-Zyklus von 14 zu 10 Stunden und einer Temperatur von 25°C. Als Futter diente eine Mischung aus Haferflocken und Fischfutter (Tetra GmbH).

#### 2.1.2 *Chorthippus biguttulus*

Die Feldheuschrecken stammten aus Freilandfängen (Populationen bei Berlin und Göttingen) und aus einer F1-Generation von im Freiland gefangenen Tieren. Für die Nachzucht wurden die Gelege nach einem zweimonatigem Kühlungszeitraum in Petrischalen mit feuchtem Granulat (Verticulate Dämmstoffe, Deutschland) in Holzkäfige umgelagert und bei  $30\pm 2^\circ\text{C}$  zum Schlupf gebracht. Die Adulthäutung erfolgte etwa drei Wochen nach dem Schlupf. Für die Versuche wurden ausschließlich adulte Weibchen verwendet, die von

den Männchen separiert bei 25 bis 30°C und einem Tag-Nacht-Zyklus von 16 zu 8 Stunden gehalten wurden. Als Futter dienten verschiedene im natürlichen Habitat vorkommende Gräserarten (v.a. *Dactylus glomerata*, *Bromus erectus erectus*; alle 2-3 Tage erneuert) und ein Gemisch aus Grillenfutter (Nekton) und Fischfutter (Tetra GmbH).

## 2.2 Präparation

Die Art der Präparation war bei *Locusta migratoria* und *Chorthippus biguttulus* identisch.

Den Tieren wurden zunächst die Flügel und Beine, der Kopf und dann die letzten Abdominalsegmente abgeschnitten, um auch noch den Darm zu entfernen. Ein Wachs-Kolophonium-Gemisch (2:1) diente zur Befestigung der Bauchseite an einem Halter. Anschließend wurden das Pronotum und die thoarakalen Tergiten abgetragen. Nach Entfernung eines Diaphragmas, sowie von Muskel- und Fettgewebe, war die thorakale Ganglienkette frei zugänglich. Der Torso wurde mit ‚Locusta-Ringer‘ (Pearson und Robertson, 1981) gefüllt, um das Nervensystem physiologisch intakt zu halten. Bei *Locusta migratoria* wurden sowohl die Konnektive zu den Abdominalganglien als auch einige seitliche Bein- und Flügelnerve des Methorakalganglions durchtrennt, damit möglichst wenige Bewegungen des Ganglions während des Versuchs auftreten. Bei *Chorthippus biguttulus* wurde auf ein Durchtrennen der Konnektive verzichtet, da die Gefahr die Tracheenblasen zu beschädigen sonst zu groß war. Bei beiden Präparationen mussten die mesothorakalen seitlichen Sklerite entfernt und die Konnektive zum Prothorakalganglion durchtrennt werden, um das Meso- und Metathorakalganglion auf einen von vorne angreifenden NiCr-Löffel zu heben. Dieser diente zur Stabilisierung des Ganglions während des Versuchs.

## 2.3 Versuchsaapparatur

Nach der Präparation wurde der Halter mit dem Tier auf einen vibrationsgedämmten Stahltisch zwischen zwei Lautsprechern positioniert. In den Tierhalter war ein Peltierelement (Dr. Neumann) integriert, wodurch die Temperatur des Versuchstieres eingestellt werden konnte. Auf dem Tisch befand sich ein nach vorne offener Faraday-Käfig (120 x 80 x 80 cm). Sowohl die Innenseite des Käfigs als auch die Stahlplatte des Tisches waren mit reflexionsdämmenden Matten aus Schaumstoffprismen (7 x 7 cm) ausgekleidet. Am Tisch war ein schwenkbares Binokular (Leila Wild MC 3) angeschraubt, um eine optische Kontrolle der Elektrodenposition zu gewährleisten. Am Binokular war eine Spaltringleuchte (volpi) befestigt, die zur Beleuchtung des Versuchsobjekts diente. Die Kaltlichtquelle (volpi, Intralux 4000-1) befand sich außerhalb des Faraday-Käfigs.

### 2.3.1 Ableitapparatur

Die Glaskapillarelektroden (borosilicate, GC100F-10; Harvard Apparatus Ltd.) wurden mit einem Elektrodenpuller (Brown-Flaming P-87) gezogen und mit 3-5% Lucifer Yellow (Sigma-Aldrich) in 0.5 M LiCl gefüllt. Die fertigen Elektroden wurden mittels eines Kunststoffhalters am Mikromanipulator (Leitz) befestigt. Als indifferente Elektrode diente der NiCr-Löffel des Tierhalters. Das Ableitsignal wurde mit einem Intrazellulärverstärker (SEC-05LX, NPI Electronic) 10-fach verstärkt und zur Reduzierung hochfrequenter Störanteile tiefpassgefiltert (10 kHz). Eine optische Kontrolle des Ableitsignals erfolgte über zwei Oszilloskope (Gould bzw. Hameg) und außerdem konnte das Signal über einen Verstärker an einen Kopfhörer weitergeleitet werden. Das Einlesen des Signals erfolgte über eine A/D-Wandlerkarte (PCI-MIO-16E-1, National Instruments) mit einer Abtastrate von 20 kHz über ein in LabView geschriebenes Einleseprogramm (M. Hennig).

### 2.3.2 Akustische Apparatur

Die Ausgabe der digital gespeicherten akustischen Signale wurde mittels eines in LabView (National Instruments) geschriebenes Programm (M. Hennig) gesteuert. Das definierte Spannungssignal wurde mit einer Abtastrate von 100-kHz über einen D/A-Wandler (PCI-MIO-16E-1, National Instruments) zu einem Verstärker (Mercury, 2000, Jensen) und dann zu einem digitalem dB-Abschwächer (PA5, Tucker-Davis Technologies) weitergeleitet. Das Signal wurde dann über einen von zwei Lautsprechern (D-28/2, Dynaudio) ausgegeben, die rechtwinklig zur Längsachse des Tieres in einer Entfernung von 30 cm angebracht waren. Das Signal wurde außerdem über die A/D-Wandlerkarte mit einer Abtastrate von 20 kHz wieder eingelesen, um als zeitliche Referenz für die Ableitsignale zu dienen.

Zur Eichung der Reizintensität diente ein Messverstärker (Brüel &Kjär, Typ 2231). Über einen angeschlossenen externen Filter (Kemo, VBF 8) wurde in einem Frequenzbereich von 5-40 kHz die mittlere Intensität in dB SPL (Ref.  $2 \cdot 10^{-5}$  N/m<sup>2</sup>) mit Hilfe eines 1/2“-Mikrophons (Brüel &Kjär, Typ 4133) exakt an der Position des Versuchstieres bestimmt. Der Schalldruckpegel wurde dabei anhand eines Dauerrauschsignals (rms) gemessen. Der Abgleich der Intensitäten zwischen rechtem und linkem Kanal konnte über das Reizprogramm vorgenommen werden.

## 2.4 Versuchsdurchführung

Für einen Versuch wurde der Halter mit der Präparation zwischen den Lautsprechern mit Knete fixiert und die Temperatur des Präparats mittels des Peltier Elements auf  $30 \pm 2^\circ\text{C}$  gebracht. Die mit Lucifer Yellow gefüllte Elektrode wurde dann am Mikromanipulator befestigt und unter optischer Kontrolle in der Ringerlösung über dem Metathorakalganglion positioniert. Der Elektrodenwiderstand betrug im Ringer zwischen 30 bis  $80\text{M}\Omega$ . Die Ableitungen aller auditorischer Interneurone erfolgten im Bereich des frontalen auditorischen Neuropils. Durch minimalen langsamen Vortrieb mit dem Mi-

kromanipulator konnte in Kombination mit leichtem Klopfen auf dessen Ausleger die Ganglienhaut durchdrungen werden. Sobald dieses vollbracht war, wurde ein akustischer Suchreiz ausgegeben (100 ms langes weißes Rauschen, An- und Abstiegszeit von 2ms). Die Penetration einzelner Zellen wurde durch härteres kürzeres Klopfen und einen kurzen Vortrieb erreicht. Dabei dienten die Kopfhörer neben dem über die Oszilloskope ausgegebenen Spannungssignal als wichtige Orientierungshilfe, um die Nähe zu einer Zelle abschätzen zu können. Sobald die Aktivität einer Zelle, die eine Reaktion auf den Suchreiz zeigte, stabil abgeleitet werden konnte, wurden die akustischen Versuchsprogramme gestartet (und die Luft angehalten). Erst im Anschluss an die physiologischen Messungen erfolgte die Injektion des Fluoreszenzfarbstoffs Lucifer Yellow durch einen hyperpolarisierenden Strom von 1 bis 8 nA. Die Dauer der Strominjektion betrug zwischen 2 und 20 Minuten.

## **2.5 Nach dem Versuch: Aufbereitung des Präparats und morphologische Zuordnung der Zellen**

Nach einem erfolgreichen Experiment wurde das Meso- und Metathorakalganglion herauspräpariert und in 4% Paraformaldehyd für 45 Minuten fixiert. Anschließend erfolgte eine Dehydrierung in einer aufsteigenden Alkoholreihe (70, 80, 90, 95, 100% jeweils 10 min), bevor die Ganglien für 10 Minuten in Methylsalicylate aufgeklart werden konnten. Eine gefärbte Zelle ließ sich dann unter dem Fluoreszenzmikroskop (Olympus) identifizieren (Römer und Marquart, 1984; Stumpner, 1988) und außerdem zeichnen.

## **2.6 Stimulus-Ensembles**

Alle Stimuli, mit Ausnahme der Gesänge, wurden mit LabView Programmen (S. Wohlgemuth) erstellt und in digitaler Form abgespeichert.

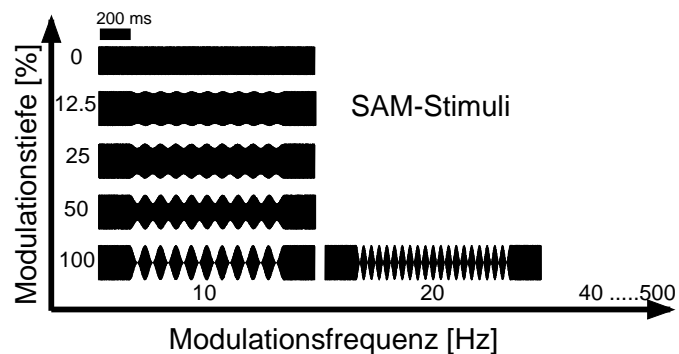
## 2.6.1 Intensitätskennlinien

Vor dem Start der eigentlichen akustischen Versuchsprotokolle wurde eine Recht-Links-Intensitätskennlinie (100 ms weißes Rauschen, 30 bis 90dB, in 10dB-Schritten, jeweils 4 Wiederholungen) ausgegeben und aufgezeichnet. Diese diente zur Bestimmung der Antwortschwelle und der Richtungsabhängigkeit der Zelle. Anschließend wurden die Versuchsreize von der empfindlicheren Seite (meist ipsilateral zur Ableitelektrode) getestet.

## 2.6.2 Sinusförmig amplitudenmodulierte Stimuli

Die sinusförmig amplitudenmodulierten Stimuli (SAM-Stimuli) wiesen Modulationsfrequenzen von 10, 20, 40, 83, 125, 167, 250, 333 und 500 Hz auf und Modulationstiefen von 0 (unmoduliertes Rauschen), 12.5, 25, 50 und 100%. Als Träger wurde weißes Rauschen (0.5-30 kHz) verwendet. Vor und nach dem 1 s langen sinusmodulierten Teil befand sich jeweils ein Abschnitt mit unmoduliertem Rauschen einer Dauer von 200 ms (Abb.2.1). Die Stimuli wurden 4 mal wiederholt. Einzelne Zellen wurden mit einem 4 s langen SAM-Stimulus getestet, der ebenfalls in einen unmodulierten Teil eingebettet war. Die Datenanalyse ließ keine systematischen Unterschiede zwischen den 1 s und den 4 s Stimuli erkennen. Die Ausgabeintensität der SAM-Stimuli lag etwa 20 dB über der Antwortschwelle, lediglich bei den Rezeptoren wurden teilweise niedrigere und höhere relative Intensitäten genutzt.

**Abbildung 2.1:** SAM-STIMULI. Die getesteten Modulationsfrequenzen betragen 10, 20, 40, 83, 125, 167, 250, 333 und 500 Hz und die Modulationstiefen lagen bei 0 (unmoduliertes Rauschen), 12.5, 25, 50 und 100%.





### 2.6.3 Gesänge

In der vorliegenden Arbeit wurden zwei Gesangs-Sets<sup>1</sup>(vgl. Abb. 6.1) getestet: 1. eine zufällige Auswahl von acht Männchengesängen der Art *Chorthippus biguttulus* (Original Gesänge) und 2. zeitlich reskalierte Varianten dieser acht Gesänge (Reskalierte Gesänge). Die Reskalierung beinhaltete eine Angleichung der Silbendauern und der Pausendauern auf 80 bzw. 20 ms. Dazu wurden die Amplitudenmodulationen (AM) der Gesänge mit Hilfe einer Hilbert-Transformation berechnet und das AM Signal ließ sich dann zeitlich reskalieren. Außerdem wurden alle Umhüllenden mit dem gleichen Trägerpektrum gefüllt, welches von einem der Gesänge stammte.

Die Ausgabeintensitäten der Original Gesänge lagen bei 73 dB, die der Reskalierten Gesänge betragen 72-76 dB, wobei eine Messung des Schalldruckpegels eine maximale Abweichung zwischen zwei Gesängen von unter 1 dB ergab. Einzelne Neurone, wie das AN1 und das AN2, antworten bei diesen Intensitäten nur sehr schlecht. Bei diesen Zellen lagen die Ausgabeintensitäten bei 55 bzw. 54 bis 58 dB. Alle Gesänge wurden 8 mal wiederholt.

## 2.7 Datenanalyse

Die digitalisierten Ableitungen wurden zunächst in ein in LabView 5.0 erstelltes Programm (M. Hennig, A. Vogel) eingelesen, um die Spikezeitpunkte zu bestimmen. Dazu wurde das Ableitungssignal differenziert und über ein Schwellenkriterium getriggert. Die Listen von Spikezeitpunkten stellten die Basis für alle weiteren Analysen dar.

---

<sup>1</sup>Die Gesänge wurden freundlicherweise von Christian Machens (Humboldt-Universität zu Berlin) zur Verfügung gestellt und stammten ursprünglich von Dagmar und Otto von Helversen (Universität Erlangen). Martin Stemmler (Humboldt-Universität zu Berlin) reskalierte die Gesänge.

### 2.7.1 Modulationstransferfunktionen

In die Auswertung ging nur die Antwort auf den modulierten Teil der Stimuli ein, d.h. die ersten 200 ms (Adaptationspuls) und die letzten 200 ms wurden verworfen.

#### rMTF

Die Raten-Modulationstransferfunktionen resultieren aus einer Auftragung der mittleren Spikerate gegenüber der Modulationsfrequenz. Die Spikerate wurde über Zeitfenster von 500 ms gemittelt und in %, bezogen auf die mittlere Spikerate in Antwort auf den unmodulierten Reiz, dargestellt. Dadurch sollten die relativen Änderungen der Spikerate zwischen einzelnen Zellen vergleichbarer gemacht werden.

#### tMTF

Die zeitlichen Modulationstransferfunktionen ergaben sich aus einer Auftragung der Vektorstärke, einem Maß für die zeitliche Ankopplung der Spikes an die Stimulusperiode, gegenüber der Modulationsfrequenz. Der erste Schritt zur Berechnung der Vektorstärken bestand in der Erstellung von Periodenhistogrammen. Dazu wurden die Spikezeitpunktlisten in Zeitfenster zerlegt, deren Dauer der jeweiligen Periodendauer der Amplitudenmodulation des Reizes entsprach. Die einzelnen Zeitfenster wurden zeitlich überlagert. Die resultierenden Periodenhistogramme wiesen stets 18 Klassen auf, was einer Klassenbreite von  $20^\circ$  entspricht. Die minimale Klassenbreite betrug damit 0,11 ms (bei einer Modulationsfrequenz von 500 Hz) und war somit immer noch mehr als doppelt so groß wie die zeitliche Präzision der Digitalisierung (0,05 ms). Die Vektorstärke (VS) lässt sich nach der Formel

$$VS = \sqrt{\left(\frac{1}{n} \sum_{i=1}^n \cos \alpha_i\right)^2 + \left(\frac{1}{n} \sum_{i=1}^n \sin \alpha_i\right)^2} \quad (2.1)$$

berechnen. Dabei bezeichnet  $\alpha_i$  die Zeitpunkte in der Phase des Stimulus, in der ein Spike auftritt und  $n$  die Gesamtzahl der auf einen Reiz hin gebildeten Spikes. Die Vektorstärke kann nur Werte zwischen 0 und 1 annehmen. Ein Wert von 0 bedeutet, dass alle Spikes gleichmäßig über die Periode auftreten. Bei einem Wert von 1 liegen hingegen alle Spikes in einer Klasse - die Zelle reagiert sehr stark phasengekoppelt. Um die Zuverlässigkeit der Vektorstärke zu beurteilen, kann Rayleighs  $z$  berechnet werden:

$$z = VS^2 * n \quad (2.2)$$

Der  $z$ -Wert kann beliebig große Werte annehmen, wobei ein hoher  $z$ -Wert ebenfalls auf eine gute zeitliche Ankopplung hinweist. Als untere Signifikanzgrenze wurde ein  $z$ -Wert von 3 angenommen (Zar, 1984; Gleich und Klump, 1995). Da auch schon die Antworten auf unmodulierte Reize zum Teil  $z$ -Werte von über 3 bedingten, wurde der Signifikanzwert von 3 um den Betrag des  $z$ -Wertes auf den unmodulierten Reiz erhöht.

## 2.7.2 Kenngrößen der MTF

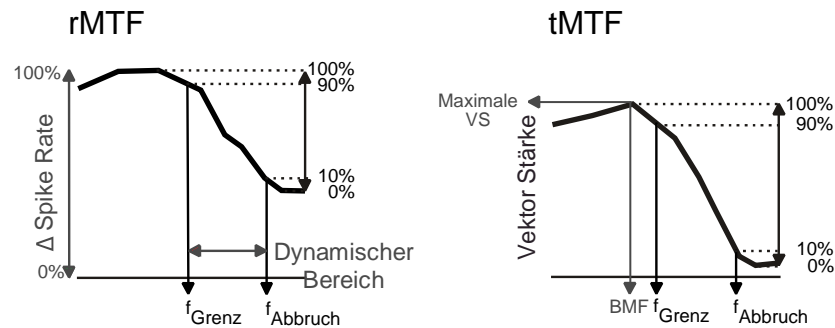
Aus den Modulationstransferfunktionen lassen sich verschiedene Kenngrößen ableiten, die sowohl die Stärke als auch die Lage und Breite der Filter erfassen. Diese Kenngrößen wurden ausschließlich aus den MTF extrahiert, bei denen die zugrunde liegenden Reize eine Modulationstiefe von 100% aufwiesen.

### Kenngrößen der rMTF

Die Stärke der Änderung der Spikerate ( $\Delta$ Spikerate) bezog sich auf die jeweilige Maximalrate. Bei einer Änderung von unter 40% wurde eine Allpass-Filtercharakteristik angenommen (vgl. Franz (2004); Weschke und Ronacher (2008)), d.h. für diese Zellen wurden keine der nachfolgenden Kenngrößen erfasst. Für die Bestimmung der Grenzfrequenz ( $f_{\text{Grenz}}$ ) und der Abbruchfrequenz ( $f_{\text{Abbruch}}$ ) wurde zunächst die Differenz zwischen minimaler und

maximaler Spikerate auf 100% gesetzt und durch lineare Interpolation die Schnittpunkte mit der Abszisse bei 90% bzw. bei 10% bestimmt (vgl. Abb. 2.2 (links) und Krishna und Semple (2000)). Der dynamische Bereich war als der MF-Bereich zwischen Grenz- und Abbruchfrequenz definiert. Für Zellen die eine Bandpass- oder eine Bandstop-Filtercharakteristik zeigten, wurde die Modulationsfrequenz bestimmt, bei der die maximale bzw. die minimale Spikerate auftrat und als BMF bzw. als WMF bezeichnet.

**Kenngößen:**



**Abbildung 2.2:** ABGELEITETE KENNGRÖSSEN DER MTF. Erläuterung siehe Text.

### Kenngößen der tMTF

Die Charakterisierung der tMTF basierte auf der Bestimmung der maximal erreichten Vektorstärke, der Modulationsfrequenz, bei der die maximale Vektorstärke auftrat (BMF), sowie den schon anhand der rMTF definierten Grenz- und Abbruchfrequenzen (Abb. 2.2 (rechts)). Letztere können als Grenzen des zeitlichen Auflösungsvermögen betrachtet werden. Zusätzlich ließ sich anhand von Rayleighs  $z$  ( $> 3$ ) die maximale Modulationsfrequenz bestimmen, bei der noch eine signifikante Ankopplung der Spikes an die Stimulusperiode erfolgte.

### 2.7.3 Minimale Modulationsschwellen und MIT

Durch den Test von Modulationsfrequenzen (MF) mit unterschiedlichen Modulationstiefen sollte geprüft werden, inwieweit eine Änderung der Spikerate

mit der MF bzw. die zeitliche Ankopplung der Spikes auch noch bei geringeren Modulationstiefen gegeben ist. Dabei wurde eine minimale Modulationsschwelle bestimmt, die als Grenze der Empfindlichkeit gegenüber den Schwankungen der Amplitude betrachtet werden kann.

### Minimale Modulationsschwelle der rMTF

In die Auswertung gingen alle Zellen ein, die bei einer Reizung mit MF einer Modulationstiefe von 100% mindestens eine  $\Delta$ Spikerate von 40% in der rMTF zeigten. Für diese Zellen wurden bei allen getesteten Modulationstiefen die Spikeratenänderungen mit der Modulationsfrequenz bestimmt. Die  $\Delta$ Spikerate kann als Maß für die Stärke der Filterung betrachtet werden und wurde gegen die Modulationstiefe aufgetragen. Die minimale Modulationsschwelle ergab sich aus dem Schnittpunkt der Kurven mit einer  $\Delta$ Spikerate von 40%. Standardmäßig werden die Modulationsschwellen in einer dB-Skala angegeben, weshalb eine entsprechende Umrechnung erfolgte:

$$dB = 20 * \log \frac{MS}{100} \quad (2.3)$$

wobei MS die Modulationsschwelle in % ist. Negativere dB-Werte zeigen eine niedrigere Schwelle an, also eine höhere Empfindlichkeit der Zelle.

### Minimale Modulationsschwelle der tMTF und MIT

Auf der Grundlage der Signifikanzgrenze der z-Werte (siehe 2.7.1) ließen sich für die einzelnen getesteten MF die Modulationsschwellen bestimmen, d.h. die Modulationstiefen, bei denen noch eine signifikante Ankopplung der Spikes an die Modulation des Reizes erfolgt (Viemeister, 1979). Auch diese Werte wurden nach Formel 2.3 in dB transformiert. Die minimale Modulationsschwelle der tMTF ist als Peakwert der Funktion definiert.

Als ein Maß für das zeitliche Auflösungsvermögen wurde die minimale Integrationszeit (MIT) bestimmt, indem 3 dB unterhalb des Peakwertes der tMTF die Grenzfrequenz  $f_g$  abgelesen und nach folgender Formel umgerechnet wurde:

$$MIT = \frac{1}{2\pi f_g} \quad (2.4)$$

## 2.7.4 Spiketrain-Metrik und Klassifikation

Die Unterscheidbarkeit der Stimuli anhand der Spiketrains wurde quantifiziert, indem

1. die Distanzen zwischen allen Spiketrains einer Zelle nach van Rossum (2001) berechnet wurden,
2. ein überwachter Clusteralgorithmus angewendet wurde (Machens, 2002)<sup>2</sup>.

### Spiketrain-Distanzen

Für die Berechnung der Distanz zwischen zwei Spiketrains wurden die Spiketrains zunächst mit einer Alpha-Funktion gefaltet:

$$\alpha_\tau = \theta(t)t \exp - (2.45t/\tau) \quad (2.5)$$

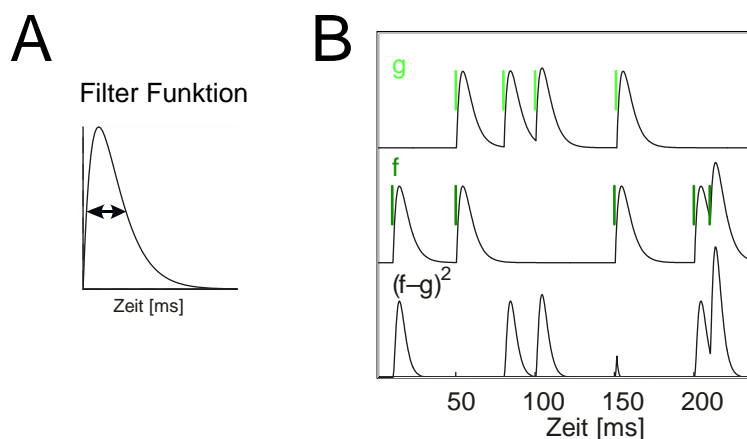
wobei die  $\theta(t)$ -Funktion null ist für alle  $t < 0$  und andernfalls eins. Die Breite der Filterfunktion wird über den freien Parameter  $\tau$  definiert, der den zeitlichen Einfluss einzelner Spikes gewichtet. Der Zeitverlauf dieser Filterfunktion imitiert damit ein EPSP einer bestimmten Breite in einem hypothetischen nachgeschalteten Neuron (siehe Abb. 2.3 A). Das Distanzmaß bewegt sich abhängig von  $\tau$  zwischen den Extremen eines Koinzidenzdetektors, für  $\tau \rightarrow 0$ , und einer reinen Spikezahlunterscheidung, für  $\tau \rightarrow \infty$ . Die Distanz zwischen zwei Spiketrains wird durch den mittleren quadratischen Abstand der gefalteten Spiketrains bestimmt (siehe Abb. 2.3 B):

$$D(f, g) = \left[ \frac{1}{\tau} \int_0^\infty dt \left[ (f(t) - g(t)) * \alpha_\tau(t) \right]^2 \right]^{\frac{1}{2}} \quad (2.6)$$

---

<sup>2</sup>Das Programm zur Berechnung der metrischen Distanzen und der Clusteralgorithmus wurden von Christian Machens (Humboldt-Universität zu Berlin) zur Verfügung gestellt.

Die paarweise Berechnung der Spiketrain-Distanzen für alle Antworten auf die  $M$  Wiederholungen aller Stimuli  $X$  eines Stimulus-Sets ergibt eine Distanzmatrix (vgl. Abb. 5.1 B).



**Abbildung 2.3:** SPIKETRAIN-METRIK NACH VAN ROSSUM. **A** Die Breite der Filterfunktion wird durch den freien Parameter  $\tau$  definiert **B** Berechnung der Spiketrain-Distanz: 1. die Spikes werden durch die Filterfunktion ersetzt. 2. die beiden Spuren der Spiketrains  $f$  und  $g$  werden erst subtrahiert und dann quadriert. 3. die Distanz zwischen  $f$  und  $g$  entspricht der Quadratwurzel aus der Fläche unter der resultierenden Spur. (Diese Abbildung wurde von Jan Clemens, Humboldt-Universität zu Berlin gestaltet).

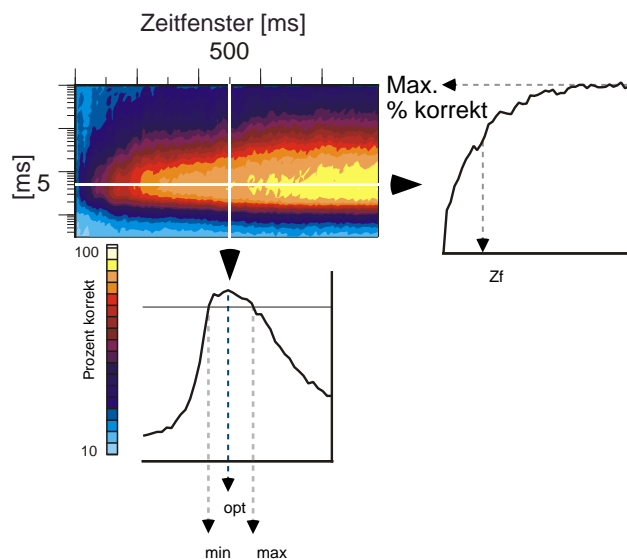
## Clusteralgorithmen

Nachdem die Distanzen zwischen allen Spiketrains einer bestimmten Zelle berechnet wurden, ließ sich mit Hilfe eines Clusteralgorithmus die korrekte Klassifikation quantifizieren und damit die Unterscheidbarkeit der Stimuli anhand der Spiketrains bestimmen. Für eine zuverlässige Unterscheidbarkeit sollten Spiketrains, die durch den selben Stimulus hervorgerufen wurden geringere Distanzen zueinander aufweisen als Spiketrains, die durch unterschiedliche Stimuli entstanden. Bei dem genutzten Clusteralgorithmus (Machens, 2002) wird zunächst zufällig eine 'Template-Spiketrain« von jedem Stimulus ausgewählt. Dann werden alle verbleibenden Spiketrains zu den Templates zugeordnet, zu denen sie die geringste Distanz aufweisen. Dieses Verfahren wurde für alle möglichen Template Permutationen wiederholt und resultierte in einer durchschnittlichen Wahrscheinlichkeit der Klassifikation.

Neben diesem überwachten Clusteralgorithmus wurde zusätzlich eine unüberwachter Clusteralgorithmus (Slonim et al., 2005) angewendet. Da letzterer prinzipiell ähnliche Ergebnisse lieferte, sich jedoch in der Darstellung als problematischer erwies, wurden nur Ergebnisse einer Auswertung aufgetragen (Abb. 5.4).

### Klassifikation: Zeitfenster und zeitlicher Auflösungsparameter $\tau$

Der Anteil korrekt zugeordneter Spiketrains ließ sich als Funktion der Dauer des ausgewerteten Zeitfensters und des zeitlichen Auflösungsparameters  $\tau$  erfassen (Abb. 2.4). Indem das Zeitfenster auf einen Wert fixiert wurde (500 ms), konnte die Abhängigkeit der Unterscheidbarkeit von  $\tau$  bestimmt werden. Von diesen Kurven wurde das optimale  $\tau$  der korrekten Zuordnung, sowie der  $\tau$ -Bereich 10 % unter dem Maximum abgelesen und über die Grenzwerte  $\tau_{\min}$  und  $\tau_{\max}$  definiert. Außerdem konnte bei einem bestimmten  $\tau$ -Wert die Abhängigkeit der korrekten Zuordnung von der Dauer des ausgewerteten Zeitfensters erfasst werden. Bei der Auswertung der Antworten auf die SAM-Stimuli wurde hierbei der jeweils optimale  $\tau$ -Wert einer Zelle genutzt. Bei den Gesangsdaten lag der verwendete Wert einheitlich bei 5 ms, was bei nahezu allen Zellen im optimalen  $\tau$ -Bereich lag. Neben der maximalen korrekte Zu-



**Abbildung 2.4:** ABGELEITETE PARAMETER DER UNTERSCHIEDBARKEIT Erläuterungen siehe Text.



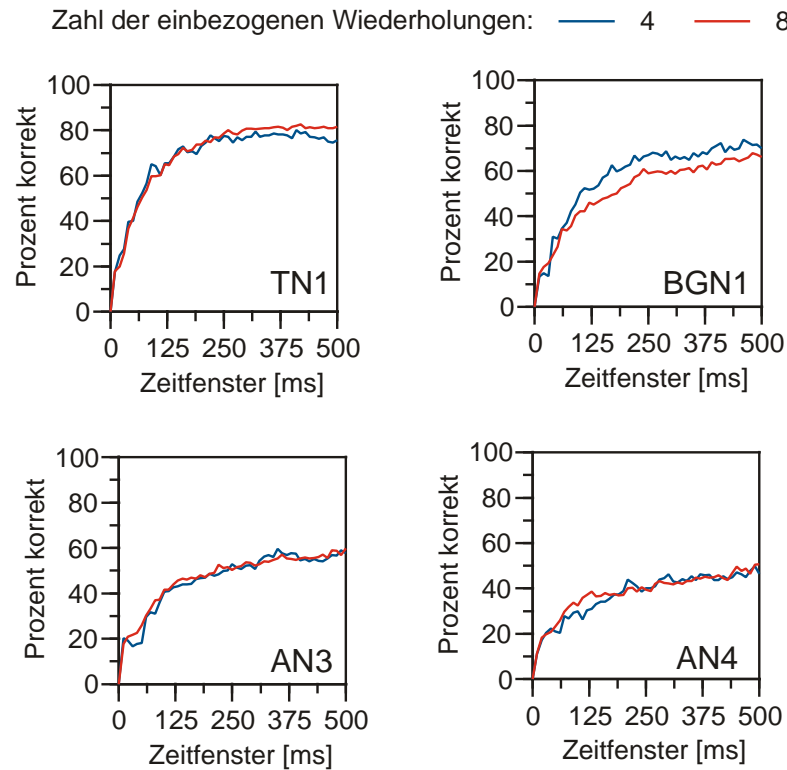
ordnung ließ sich außerdem die Dauer des Zeitfensters bestimmen, bei dem 67 % der maximalen Unterscheidbarkeit erreicht wurde ( $T_{zf}$ , vgl. Narayan et al. (2006)). Dieser Wert wurde anhand eines einfachen exponentiellen Fits erfasst. Des Weiteren konnte die korrekte Zuordnung auch in Abhängigkeit der durchschnittlichen Zahl der einbezogenen Spikes dargestellt werden.

Für einen bestimmten Wert von  $\tau$  und ein festes Zeitfenster ließ sich eine Klassifikations-Matrize berechnen, aus der die Zuordnung der Spiketrains zu den einzelnen Stimuli hervorging (vgl. Abb. 5.2). Für die SAM-Stimuli wurde anhand einer Auftragung der korrekt zugeordneten Spiketrains gegenüber der Modulationsfrequenz der Stimuli eine Abbruchfrequenz abgelesen. Diese war definiert als Modulationsfrequenz, bei der die Klassifikation auf 90% des maximal erreichten Wertes abfiel (vgl. Abb. 5.5). Alle diesbezüglichen Auswertungen wurden anhand von LabView-Programmen (S. Wohlgemuth) durchgeführt.

### **Auswertebereiche und Zahlen der einbezogenen Spiketrains**

Sowohl für die Gesänge als auch für die SAM-Stimuli gingen jeweils acht Spiketrains pro Stimulus in die Auswertung ein. Bei letzterem Stimulus-Set wurden die Antworten auf den modulierten Teil der Stimuli hierfür in 500 ms lange Teile zerlegt. Ein Test mit einer Beschränkung der Anzahl der eingehenden Wiederholungen auf vier, erbrachte vergleichbare Werte der korrekten Zuordnung (vgl. Abb. 2.5), was darauf hinweist, dass die Anzahl der genutzten Wiederholungen ausreichend war.

Die Auswertung der Antworten auf die Gesänge bezog sich auf bestimmte Teilbereiche. Zum einen ging die erste beantwortete Sekunde ein. Dazu wurden die Spiketrains ‘aligned«, indem der erste Silben-Onset, der in 90% der Wiederholungen einen Spike auslöste, als Beginn festgelegt wurde (vgl. Machens (2002)). Zusätzlich ging die letzte beantwortete Sekunde der Reskalierten Gesänge in die Auswertung ein.



**Abbildung 2.5:** UNTERSCHIEDBARKEIT BEI EINER EINBEZIEHUNG VON 4 BZW. 8 ANTWORTEN AUF WIEDERHOLTE STIMULUSPRÄSENTATIONEN. Dargestellt ist der Anteil korrekt zugeordneter Spiketrams als Funktion der Dauer des einbezogenen Zeitfensters. Lokales Interneuron TN1 und BGN1 (oben) und aufsteigendes Interneuron AN3 und AN4 (unten).

### 2.7.5 Variabilität der Spikeantworten

Es wurden verschiedene Maße angewendet, um die Variabilität der Spikeantworten zu quantifizieren. Das Ziel der Analysen bestand in einem Vergleich zwischen den einzelnen Zelltypen bzw. Verarbeitungsebenen vor dem Hintergrund der erreichten Unterscheidbarkeit der Gesänge. Um einerseits einen möglichst großen Datensatz nutzen zu können und andererseits möglichst wenige sich potenziell vielfältig auswirkende Stimulusparameter einbeziehen zu müssen, konzentrierte sich die Analyse auf die Antworten auf die Reskalierten Gesänge. Grundsätzlich wurde die Antwortvariabilität, wie auch die Unterscheidbarkeit, für zwei verschiedene Auswertebereiche untersucht: die

erste beantwortete Sekunde der Gesänge und die letzte Sekunde.

Die methodische Gemeinsamkeit aller genutzten Maße bestand darin, dass sie die ‚trial-to-trial‘Variabilität, d.h. die Variabilität der Spikeantworten zwischen wiederholten Reizpräsentationen, untersuchen. Das Augenmerk der Fragestellungen lag auf verschiedenen Aspekten, die in den gewählten Methoden Ausdruck findet.

### **Spikezeitpunkt-Variabilität**

Eine Quantifizierung der Spikezeitpunkt-Variabilität, d.h. des ‚Jitters‘, erfolgte anhand einer von Rokem et al. (2006) beschriebenen Methode (Programm: LabView, S. Wohlgemuth). Diese erwies sich als vorteilhaft gegenüber anderen möglichen Verfahren, da sie Zeiteinheiten des Jitters ausgibt und einem relativ einfachen, intuitiven Blick auf die zeitlichen Verschiebungen zwischen Spikes verschiedener Wiederholungen folgt. So wurde der Jitter  $j$  über die Standardabweichung der Spikezeitpunkte zwischen den Wiederholungen eines Reizes gemessen. Um diese zu berechnen, wurden die Spikezeitpunkte innerhalb eines gleitenden Fenster, welches von einem Zeitpunkt  $t_0$  bis  $t_0 + \Delta w$  reichte, erfasst. Die Breite von  $\Delta w$  sollte klein genug sein, um mit einer hohen Wahrscheinlichkeit nur einen Spike pro Wiederholung zu enthalten und groß genug, um das Ausmaß des Jitters zu umfassen. Die Wahl der Breite des Fensters stellte sich insofern problematisch dar, als die verschiedenen Zellen mitunter sehr unterschiedliche Interspike-Intervall Verteilungen lieferten. Der Vergleich zwischen den Zellen erfordert aber die Verwendung einer identischen Fensterbreite. Für alle Zellen wurde ein  $\Delta w$  von 5 ms gewählt. Bei dieser Fensterbreite konnte, über alle Zellen betrachtet, der maximale Anteil an Spikes zur Berechnung der Jitter-Werte beitragen. Dieser Anteil wurde durch das Verwerfen von Spikes in zwei Fällen reduziert: Erstens, wurden einzelne Wiederholungen ausgeschlossen, wenn mehr als ein Spike in einem Zeitfenster auftrat und zweitens, gingen Spikes nicht ein, wenn in weniger als 5 Wiederholungen je ein Spike in einem gegebenen Zeitfenster vorkam.

In die Betrachtung des Jitters gingen nur Zellen ein, bei denen mehr als 80% der Spikes zur Berechnung beitrugen. Für diese Zellen konnte keine

Abhängigkeit der gemessenen Jitter-Werte vom genauen Anteil der einbezogenen Spikes festgestellt werden. Ebenso wenig zeigte sich eine Abhängigkeit der Jitter-Werte von der Zahl der genutzten Wiederholungen, insofern diese nicht  $<5$  betrug.

Um einer möglichen Unterschätzung des tatsächlichen Jitters durch die begrenzte zeitliche Auflösung der Spikezeitpunkte Rechnung zu tragen, wurde die Hälfte der Klassenbreite (0.025 ms) zu allen Werten addiert.

Das gleitende Zeitfenster lieferte für jede Zelle Jitter-Werte  $j$ , die in eine Verteilung  $P(j)$  eingingen und eine Berechnung des mittleren Jitters  $J$  ermöglichten.

### **Korrelationsmaß zur Berechnung der Zuverlässigkeit**

Die ‚trial-to-trial‘ Variabilität, oder anders ausgedrückt die *Zuverlässigkeit* der Spikeantwort kann sich in zweierlei Weise manifestieren: Erstens, in einem zeitlichen Jitter der Spikezeitpunkte und zweitens, in einer variablen Zahl der Spikes- einzelne Spikes könne fehlen oder zusätzliche können auftreten. Die Zuverlässigkeit der Spikeantwort wurde anhand des Korrelationsmaßes von Schreiber et al. (2003) quantifiziert (Matlab, Jan Clemens). Dieses Maß verfügt nur über einen freien Parameter  $\sigma_c$ , der den relativen Beitrag des Spikezeitpunkt-Jitters und zusätzlich auftretende oder fehlende Spikes bestimmt.

Die Spiketrains von  $N$  wiederholten Reizpräsentationen werden zunächst mit einem Gaussfilter gefaltet. Die Breite des Gaussfilters wird anhand von  $\sigma_c$  (der Standardabweichung der Gaussfilters) definiert. Aus der Faltung resultiert eine geglättete Repräsentation  $s_i(t)$  der Spiketrains, wobei der Index  $i$  die wiederholten Reizpräsentationen durchzählt. Die geglättete Repräsentation eines Spiketrains kann als Vektor  $\vec{s}_i$  betrachtet werden, wobei jede Komponente einem Punkt in der Zeit entspricht. Anschließend wird das Skalarprodukt  $\vec{s}_i \cdot \vec{s}_j$  zwischen allen möglichen Paaren von Spiketrains gebildet und durch die Beträge der zwei entsprechenden Spiketrains dividiert. Der Durchschnitt aller möglichen Spiketrain-Paare ist durch den Wert der Zuverlässigkeit,  $R_{\text{corr}}$ , gegeben.

$$R_{\text{corr}} = \frac{2}{N(N-1)} \sum_{i=1}^{N-1} \sum_{j=i+1}^N \frac{\vec{s}_i \cdot \vec{s}_j}{|\vec{s}_i| |\vec{s}_j|} \quad (2.7)$$

Die Normierung garantiert, dass  $R_{\text{corr}} \in [0;1]$ . Bei  $R_{\text{corr}}=1$  wird die höchste Zuverlässigkeit erreicht (die Spiketrains sind identisch) und bei  $R_{\text{corr}}=0$  die niedrigste. Die Analyse wurde für  $\sigma_c$ -Werte von 0.2 bis 50 ms durchgeführt. Dies erlaubt eine Darstellung von  $R_{\text{corr}}$  als Funktion von  $\sigma_c$  und damit eine Analyse der beiden ‚Symptome‘ der Unzuverlässigkeit der Spikeantwort. Liegt  $\sigma_c$  in einer Größenordnung von einer Millisekunde, oder sogar darunter, so reduziert selbst ein geringfügiger zeitlicher Jitter der Spikezeitpunkte im Bereich weniger Millisekunden die gemessene Zuverlässigkeit erheblich. Mit zunehmend größeren Werten von  $\sigma_c$  wirkt sich der Spikezeitpunkt-Jitter weniger auf die gemessene Zuverlässigkeit aus. Eine geringe Zuverlässigkeit reflektiert dann zunehmend das zusätzliche Auftreten oder Fehlen von Spikes.

### Spikezahl-Variabilität

Die Spikezahl-Variabilität wurde anhand des Fanofaktors (Fano, 1947) berechnet. Der Fanofaktor  $F(T)$  leitet sich aus der Spikezahl-Verteilung über alle Reizwiederholungen innerhalb eines bestimmten Auswertefensters  $T$  ab und ist als Verhältnis der Varianz  $\sigma_{N(T)}$  zum den Mittelwert  $\langle N(T) \rangle$  der Spikezahl definiert.

$$FF = \frac{\sigma_n}{\langle n \rangle} \quad (2.8)$$

Innerhalb der beiden Auswertebereiche (erste und letzte Sekunde der Gesänge) wurde der Fanofaktor für Auswertefenster  $T$  von 125, 250, 500 und 1000 ms berechnet.



# Kapitel 3

## Verhaltensversuche

### 3.1 Versuchstiere und Haltung

Die Verhaltensversuche wurden mit virginellen adulten Weibchen der Feldheuschrecke *Chorthippus biguttulus* durchgeführt. Die Tiere stammten alle aus Gelegen einer F1-Generation von im Freiland gefangenen Tieren (Fänge aus einer Population bei Göttingen). Die Nachzucht und Haltung erfolgte in gleicher Weise, wie für die Tiere, die für die elektrophysiologischen Versuche verwendet wurden (siehe 2.1). Jedes Weibchen wurde nach einem Dreipunktcode individuell markiert (Edding), um eine eindeutige Identifizierung zu gewährleisten.

### 3.2 Versuchsaapparatur

Das zu testende Weibchen befand sich während der Verhaltensversuche in einem geschlossenen Wärmeschrank (35 x 57 x 40 cm; WTB Binder). Der Innenraum des Schrankes war mit reflexionsdämmenden Matten aus Schaumstoffprismen ausgekleidet. Mittig befand sich ein Gitterrost mit einer präparierten Fläche (10 x 10 cm), die zur Platzierung des Versuchstiers diente. Die Testkammer wurde über eine externe Lichtquelle beleuchtet und die Innentemperatur konstant bei  $30 \pm 1^\circ\text{C}$  gehalten.

Die Signalausgabe und die Gesangsaufzeichnung erfolgten über ein in Lab-View 7.0 (National Instruments) erstelltes Program (M. Hennig). Das Program gab das Signal mit einer Abtastrate von 100 kHz aus und es wurde dann über eine D/A-Wandlerkarte (National Instruments, DAQ-M-Series PCI-625, 16 bit) an ein Verbindungsmodul (NI BNC-2110) weitergegeben. Ein digitaler Abschwächer (Heinecke) setzte das Signal, von einem internen festgesetzten Maximalwert von 93 dB, auf den auszugehenden dB-Wert. Bevor das Signal ausgegeben wurde, erfolgte eine Verstärkung über einen Endstufen-Verstärker (Raveland, XA 600). Die Schallausgabe erfolgte über einen Hochton-Lautsprecher in den Innenraum der Testkammer. Der Lautsprecher war 20 cm entfernt von der Position des Käfigs mit dem Weibchen angebracht. Die Eichung der Reizintensität erfolgte in gleicher Weise, wie bei den elektrophysiologischem Versuchsaufbau (siehe 2.3.2).

Die Gesangsantwort des Weibchen wurde über ein Mikrophon (Frequenzbereich 0,03-18 kHz; Conrad-Elektronik) aufgenommen, welches sich 1,5 cm entfernt von dem Käfig mit dem Weibchen befand. Der Gesang wurde zunächst vorverstärkt (Vivanco, MA 222), dann an das Verbindungsmodul weitergeleitet und über die A/D-Wandlerkarte (National Instruments, s.o.) an den Versuchsrechner übergeben. Die Abtastrate des Gesangs betrug 100 kHz. Um auch während des Versuches den Weibchengesang abhören zu können, wurde dieser an einen Verstärker (Diora, WS 504) geleitet und über einen Kontrolllautsprecher (Paso) ausgegeben.

### 3.3 Versuchsdurchführung

Ein *Chorthippus biguttulus*-Weibchen wurde anhand seiner allgemeinen Antwortbereitschaft für einen Versuch ausgewählt. Ein Kasten mit singenden Männchen wurde neben den der Weibchen platziert. Weibchen, die auf die spontanen Lockgesänge der Männchen Antwortgesänge produzierten, taten dies in der Regel auch auf die Gesänge in der Versuchsaapparatur. Dagegen reagierten nichtantwortende Weibchen auch zumeist in der Versuchsaapparatur nicht. Ein zu testendes Weibchen wurde in einem Drahtkäfig (6 x 7 x 6



cm) auf der vorgesehenen Fläche im Wärmeschrank gesetzt.

Jeder Testzyklus begann mit einem attraktiven Kontrollreiz (Positivkontrolle, siehe unten). Die Aufnahme über das Mikrophons startete bereits 5 s vor der Ausgabe des Reizes, um auch auftretende Spontangesänge zu detektieren. Die Aufnahme endete 20 s nach der Reizausgabe. Die Detektion einer Gesangs erfolgte automatisiert anhand der Schallintensität, der Dauer und des spektralen Gehalts eines gemessenen Signals. Um die Aufnahme möglicher Störgeräusche auszuschließen, musste ein als Gesang klassifiziertes Signal eine Amplituden von 12 mV überschreiten, eine Dauern von mindestens 400 ms und höchstens 8000 ms sowie eine Umhüllende mit mindestens zwei Harmonischen aufweisen. Wenn ein Weibchen auf den Kontrollreiz antwortete, so startete die Ausgabe der Testreize. Die Testreize wurden in randomisierter Reihenfolge vorgespielt. Zwischen den einzelnen Reizenpräsentationen erfolgten Pausen von 30 s, um die Antwortbereitschaft durch den vorher gegebenen Reiz nicht zu beeinflussen. Diese Pausen verlängerten sich, wenn ein Weibchen mit der Dauer seines Antwortgesangs 10 s überschritt. Jeder Testzyklus begann mit einer erneuten Ausgabe des positiven Kontrollreizes. Bei einem Experiment wurden 10 - 20 Zyklen vorgespielt. Ein Testzyklus startete nur nach einer Antwort auf den Kontrollreiz. Reagierte das Weibchen nicht auf den Kontrollreiz, so wurde dieser nach einer 2 min Pause erneut präsentiert. Nach fünf aufeinander folgenden nicht beantworteten Kontrollreizen wurde das Experiment abgebrochen und ein neues Tier getestet.

### 3.4 Stimulus-Ensembles

Für die Verhaltensversuche wurden dieselben Gesangsstimuli verwendet, wie für die elektrophysiologischen Versuche: ein Stimulus-Set bestehend aus den acht verschiedenen Original Gesängen und ein weiteres, welches die acht Reskalierten Gesängen beinhaltet (siehe dazu 2.6.3). Ebenso wurden dieselben Ausgabeintensitäten, von 73 dB bei den Original Gesängen und 72-76 dB für die Reskalierten Gesängen, gewählt. Neben diesen eigentlichen Teststimuli wurde den Weibchen ein 4 s langes ‚Dauerrauschen‘ (5-30 kHz Träger) vorge-

spielt, was aufgrund seiner fehlenden Silben/Pausenstruktur als Negativkontrolle diente - aber ohne eine Bedingung an ihre Beantwortung in den Testzyklus integriert war. Die auch als solche genutzte Positivkontrolle bestand in einer Folge von 30 rechteckmodulierten Silben, die mit weißem Rauschen (5-30 kHz Träger) gefüllt waren. Dieses attraktive Muster (von Helversen, 1972) wies Silben-/Pausendauern von 80 ms/12 ms auf.

## **3.5 Datenanalyse**

### **3.5.1 Extraktion von Stimulusmerkmalen**

Die Gesänge wurden hinsichtlich verschiedener Merkmale analysiert, um einen Zusammenhang zu den Verhaltens- und den neuronalen Antworten herstellen zu können. Alle zeitlichen Merkmale der Gesänge wurden mit Hilfe eines in LabView 7.0 (National Instruments) erstellten Programms (M. Hennig) erfasst.

#### **Trägerfrequenzen und Gesangsdauern**

Aus den Fourierspektren des Gesamtgesanges wurde der hochfrequente Anteil (10-40 kHz) und der tieffrequente Anteil (4-10 kHz) bestimmt. Die Gesangsdauer beschreibt den Länge des kompletten Verses.

#### **Zeitliche Merkmale der Gesänge**

Um die zeitlichen Merkmale der Gesänge zu erfassen, wurde zunächst die Umhüllende mit einer Integrationszeit von 4 ms berechnet (vgl. von Helversen et al. (2004)). Alle Abtastpunkte der Gesänge wurden erst quadriert, dann über jedes Segment integriert und schließlich aus dem Mittelwert die Wurzel gebildet. Dies entspricht der Berechnung eines quadratischen Mittelwertes (RMS) mit einer Integrationszeit von 4 ms. Zur Analyse der zeitlichen Merkmale wurde ein definierter Bereich der Gesänge herangezogen: die letzten 11 Silben, wobei die letzte Silbe grundsätzlich verworfen wurde. Die Gesangsmerkmale werden als Mittelwerte  $\pm$  Standardabweichungen angegeben.

- **Silben- und Pausendauern**

Für die Berechnung der Silben- und Pausendauern wurden der Zeitpunkt der minimalen Amplitude der Pausen ( $T_{n, \text{pau}}$ )  $n=1\dots N$  bestimmt und mit Hilfe einer Schwelle die Abstiegszeitpunkte ( $T_{n, \text{down}}$ ) - und Anstiegszeitpunkte ( $T_{n, \text{up}}$ ) erfasst. Die Pausendauern ergaben sich aus  $T_{n, \text{up}} - T_{n, \text{down}}$ , die Silbendauern aus der Differenz zwischen  $T_{n+1, \text{down}} - T_{n, \text{up}}$ . Auf der Grundlage der Silbendauer und der folgenden Pausendauer wurde das Verhältnis der Silben/Pausendauern bestimmt.

- **Onset- und Offset-Level**

Die Messung der Onset- und Offset-Level der Silben erfolgte nach von Helversen et al. (2004): zunächst wurde die maximale Amplitude der Silbe ( $A_{\text{on}}$ ) detektiert, die minimale Amplitude der folgenden Pause ( $A_{\text{pau}}$ ) und die durchschnittliche Amplitude über den Rest der Silbe ( $A_{\text{syl}}$ ). Letztere berechnete sich aus der gemittelten Amplitude in einem Zeitfenster von 10 ms nach  $T_{\text{on}}$  bis 20 ms vor  $T_{\text{pau}}$ . Die Akzentuierung der Silbenbeginns (Onset-Level) wurde in dB definiert als:

$$\text{Onset} - \text{Level} = 20 \log(A_{\text{on}}/A_{\text{syl}}) \quad (3.1)$$

.

Der Abfall der Schallintensität am Silbenende (Offset-Level) in dB berechnete sich nach:

$$\text{Offset} - \text{Level} = 20 \log(A_{\text{pau}}/A_{\text{syl}}) \quad (3.2)$$

.

### 3.5.2 Verhaltensantworten

Die Attraktivität der getesteten Reize wurde auf der Grundlage von zwei Maßen bewertet:

1. Ein vorgespielter Reiz  $\vec{x}$  lieferte für jedes Weibchen  $n=1\dots N$  eine bestimmte Zahl von Antworten  $a_{resp}$ , aus der sich über alle Reizwiederholungen  $m=1\dots M$  eine mittlere Antwortzahl  $ra$  für einen Reiz berechnen ließ:

$$ra_{n,\vec{x}} = \frac{1}{M} \sum_{m=1}^M a_{resp} \quad (3.3)$$

Die Antwortbereitschaft eines Weibchens hängt von der Motivationslage des Tieres zum Testzeitpunkt ab (von Helversen, 1972). Um diesbezügliche Unterschiede auszugleichen, erfolgte eine Normierung von  $ra_{n,\vec{x}}$  anhand der durchschnittlichen Zahl der Antworten nach Klappert und Reinhold (2003):

$$a_{n,\vec{x}} = \frac{ra_{n,\vec{x}}}{\langle ra_{n,\vec{x}} \rangle_{\vec{x}}} \quad (3.4)$$

2. Die Beantwortung eines Reizes kann als binäre Entscheidung  $w_{resp}$  ausgedrückt werden, indem  $w_{resp}=1$ , wenn  $a_{resp} \geq 1$ , andernfalls  $w_{resp}=0$ . Über alle Reizwiederholungen ergibt sich daraus eine Antwortwahrscheinlichkeit  $rw$ :

$$rw_{n,\vec{x}} = \frac{w_{resp}}{M} \cdot 100 \quad (3.5)$$

Auch dieses sehr häufig genutzte Maß (vgl. von Helversen et al. (2004), von Helversen und von Helversen (1998), Balakrishnan et al. (2001)) wurde normiert, allerdings anhand der maximal gemessenen Antwortwahrscheinlichkeit :

$$w_{n,\vec{x}} = \frac{rw_{n,\vec{x}}}{\max rw_{n,\vec{x}}} \quad (3.6)$$

Im Folgenden geben kleine Notationen  $a$  und  $w$  die für einen Reiz gemessenen Attraktivitätswerte für jedes einzelne Individuum an, die großen Notationen  $A$  und  $W$  den Median der Verteilung.

## 3.6 Statistik

Da die betrachteten Stichprobendaten der Gesangsantworten der Weibchen selten eine Normalverteilung aufwiesen, wurden ausschließlich nichtparametrische Tests mit Hilfe des Statistikprogramms SPSS 11.0.4 (SPSS Inc.) durchgeführt. Das galt auch für die elektrophysiologischen Daten. Zwei unabhängigen Stichproben wurde gegeneinander anhand des *Mann-Whitney-U-Test* geprüft. Der Vergleich zweier verbundener Stichproben erfolgte mit dem *Vorzeichen-Rang-Test von Wilcoxon*. Für den verteilungsunabhängigen Vergleich mehrerer verbundener Stichproben wurde zunächst eine *Rangvarianzanalyse nach Friedman* durchgeführt und anschließend ein *multipler Vergleich von Wilcoxon und Wilcox* (Sachs, 2004). Die Berechnung der Korrelationskoeffizienten erfolgte anhand des *Rangkorrelationskoeffizienten  $r_s$  nach Spearman*.



**Teil III**

**Ergebnisse**





# Kapitel 4

## Modulationstransferfunktionen

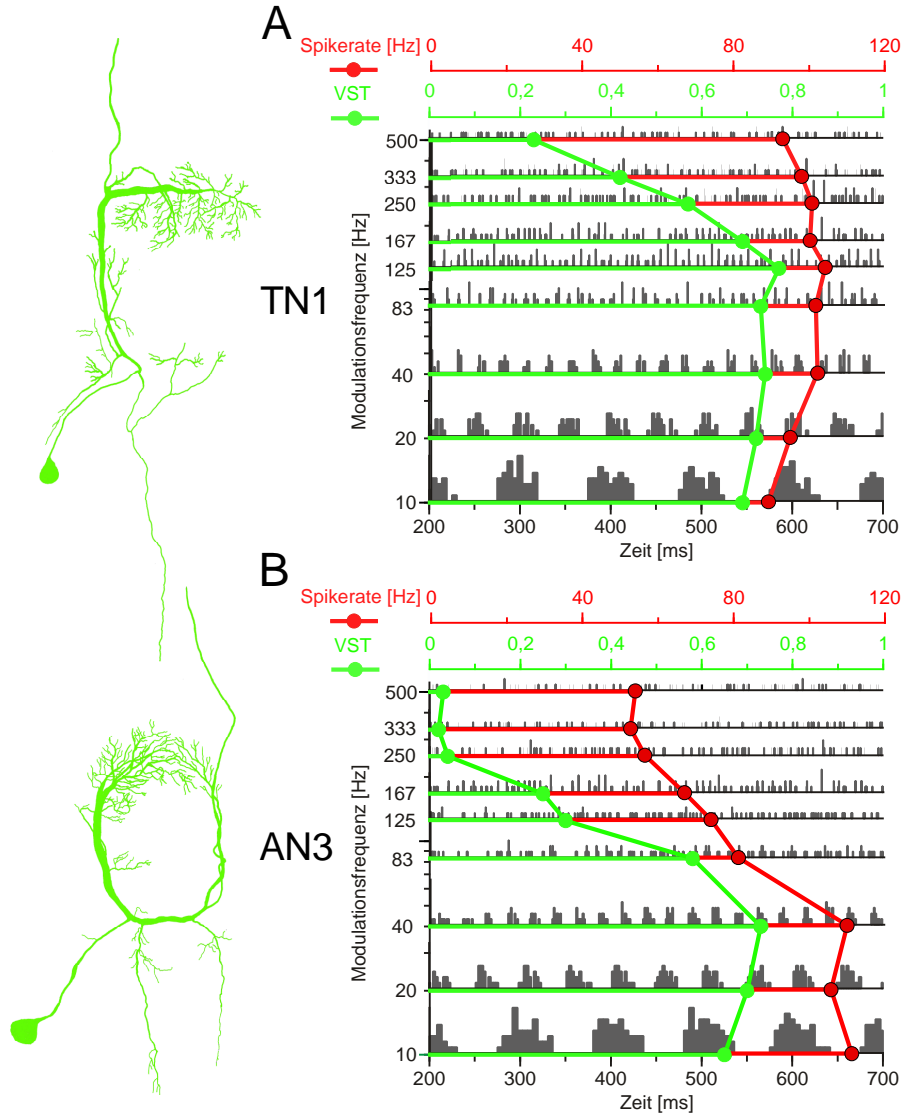
Amplitudenmodulationen (AM) sind ein Merkmal der meisten natürlichen Signale. Sie können über die AM-Frequenzen und -Tiefen charakterisiert werden. Im Zentrum der Untersuchung einer AM-Kodierung steht die Frage, welche Mechanismen zur Extraktion von AM-Information in auditorischen System existieren. Dabei kann zwischen zwei Möglichkeiten der Kodierung unterschieden werden - der zeitlichen Ankoppelung der Spikes an die Stimulusperiode und der Änderung der Spikerate mit der Modulationsfrequenz. Eine Abstimmung der Antwort auf einen begrenzten Bereich von Modulationsfrequenzen (MF), sei es durch eine besonders hohe Spikerate oder durch eine besonders präzise zeitliche Ankopplung der Spikes, bedingt eine Filterung der Information (Joris et al., 2004). Diese Eigenschaften können mit Hilfe von *Modulationstransferfunktionen* (MTF) beschrieben werden. Die Änderung der Spikerate als Funktion der Modulationsfrequenz wird als Raten-Modulationstransferfunktion (rMTF) bezeichnet. Die zeitliche Ankopplung der Spikes an die Stimulusperiode wird meist anhand der Vektorstärke bestimmt und liefert, gegen die Modulationsfrequenz aufgetragen, eine zeitliche Modulationstransferfunktion (tMTF). Im Folgenden werden MTFs von insgesamt 40 Zellen der ersten drei Verarbeitungsstufen der Hörbahn von *L. migratoria* untersucht. Dabei gingen 8 Rezeptoren (alle vom Typ der Tiefpassrezeptoren), 15 lokale Interneurone (4Typen) und 17 aufsteigende Interneurone (5Typen) in die Auswertung ein. Es sollen sowohl die Verar-

beitungsebenen vergleichend betrachtet werden, als auch innerhalb dieser, die Eigenschaften einzelner Zelltypen. Als erstes steht die Frage nach der Repräsentation und der Filterung von AM-Frequenzen im Vordergrund, wobei hier ausschließlich die Antworten auf Stimuli mit einer Modulationstiefe von 100% betrachtet werden (4.1). Neben der Modulationsfrequenz zeichnen sich die Amplitudenmodulationen natürlicher Signale durch verschieden stark ausgeprägte Modulationstiefen aus. Die Detektion geringer Schwankungen der Amplitude ist durch den dynamischen Bereich und die Variabilität der neuronalen Antworten limitiert - in welchem Ausmaß soll im zweiten Teil geklärt werden (4.2).

## 4.1 Kodierung von sinusförmigen Amplitudenmodulationen

Im Folgenden soll der Frage nachgegangen werden, welche Filtercharakteristika die einzelnen Neuronentypen der ersten drei Verarbeitungsebenen bezüglich der Modulationsfrequenz aufweisen. Dabei wird sowohl die Änderung der Spikerate mit der Modulationsfrequenz (rMTF), als auch die Änderung der Vektorstärke mit der Modulationsfrequenz (tMTF) betrachtet. Wie sich die Modulationstransferfunktionen aus den Antworten der Zellen herleiten, wird beispielhaft für ein lokales Interneuron (TN1) und ein aufsteigendes Interneuron (AN3) in Abbildung 4.1 dargestellt.

Die Antworten der Zellen auf die Stimuli unterschiedlicher MF wurden hier als PSTH dargestellt. Während beim TN1 (Abb. 4.1 A) noch bis hin zu MF von 167 Hz eine Ankopplung der Spikes sichtbar wird, ist diese beim AN3 (Abb. 4.1 B) nur bis zu einer MF von 83 Hz erkennbar. Zur Quantifizierung der zeitlichen Ankopplung der Spikes an die Modulation des Stimulus wurden für jede MF Periodenhistogramme erstellt und die Vektorstärken berechnet (vgl. Material & Methoden). Die daraus resultierende tMTF wurde als grüne Linie in die Abbildung eingetragen. Für beide Zellen ergab sich eine Tiefpass-Filtercharakteristik, wobei die Vektorstärke mit steigender MF beim AN3 deutlich früher abfiel als beim TN1. Letzteres zeigte selbst bei MF von 500 Hz noch eine signifikante Ankopplung der Spikes an die Stimulusperiode. Im Gegensatz zur Vektorstärke wurde die Spikerate über ein sehr langes, in keinem Bezug zur Stimulus-Periode stehendes, Zeitfenster gemessen (500 ms). Auch bezüglich dieses Parameters werden Unterschiede zwischen den Zellen schon im PSTH sichtbar, die sich in der Auftragung der mittleren Spikerate gegenüber der MF widerspiegeln (rMTF; rote Linie). Während beim TN1 kaum eine Änderung der Spikerate mit der MF zu beobachten war (Allpass-Filtertyp), nahm die Spikerate beim AN3 mit Zunahme der MF deutlich ab (Tiefpass-Filtertyp).

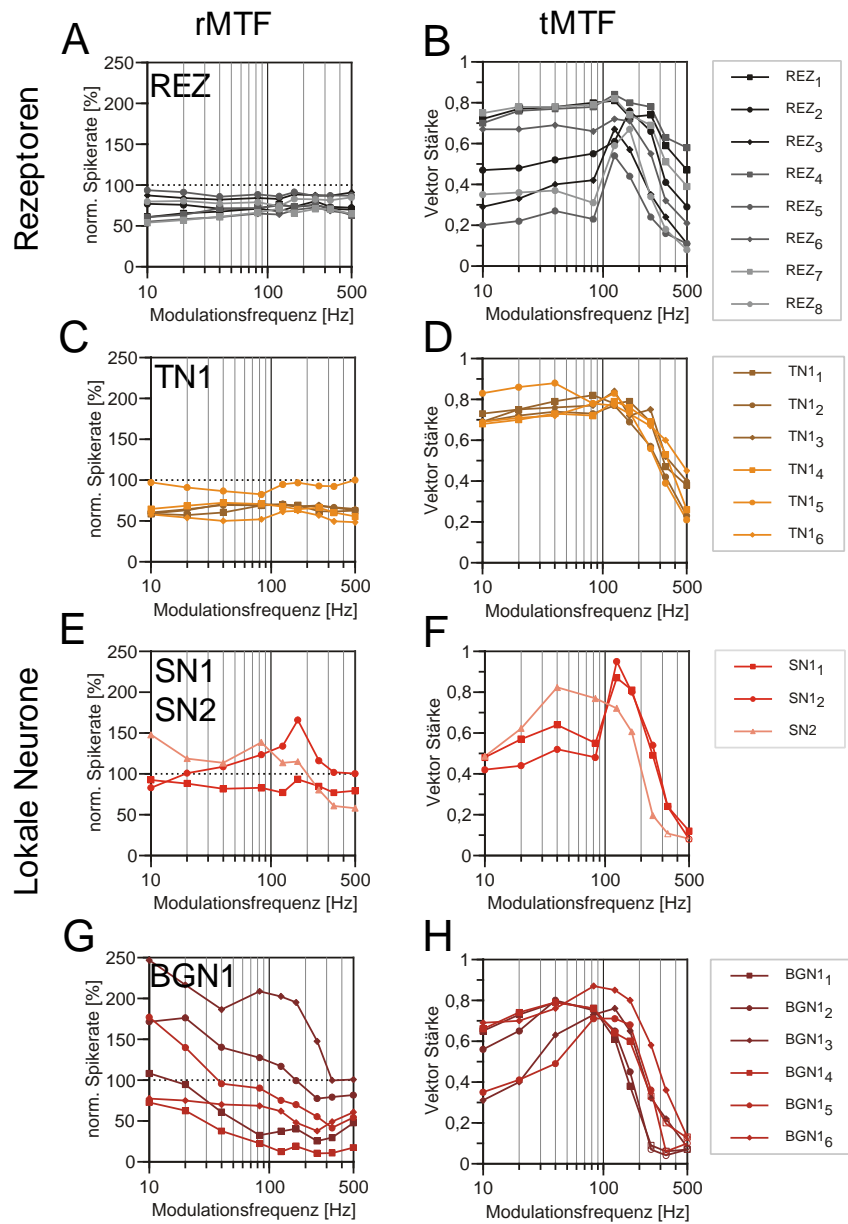


**Abbildung 4.1:** ANTWORTEN EINES LOKALEN NEURONS UND EINES AUFSTEIGENDEN NEURONS AUF STIMULI UNTERSCHIEDLICHER MODULATIONSFREQUENZ UND BERECHNETE rMTF (ROT) UND tMTF (GRÜN). **A** TN1 und **B** AN3. Die Antwort der Zellen wird hier als PSTH dargestellt, wobei vier Reizwiederholungen in die Auswertung eingingen und ein Ausschnitt von 500 ms gezeigt wird. Die Klassenbreite betrug unabhängig von der Periodendauer  $20\tau_i$ , was Werte von 5,5 ms (bei 10 Hz Modulationsfrequenz) bis 0,11 ms (bei 500 Hz) bedingte. Die Raten- Modulationstransferfunktionen (rMTF) und zeitlichen Modulationstransferfunktionen (tMTF) wurden über die gesamte Antwort auf den modulierten Teil der Stimuli bestimmt. Die Spikerate wurde über Zeitfenster von 500 ms gemittelt (vgl. auch Material & Methoden).

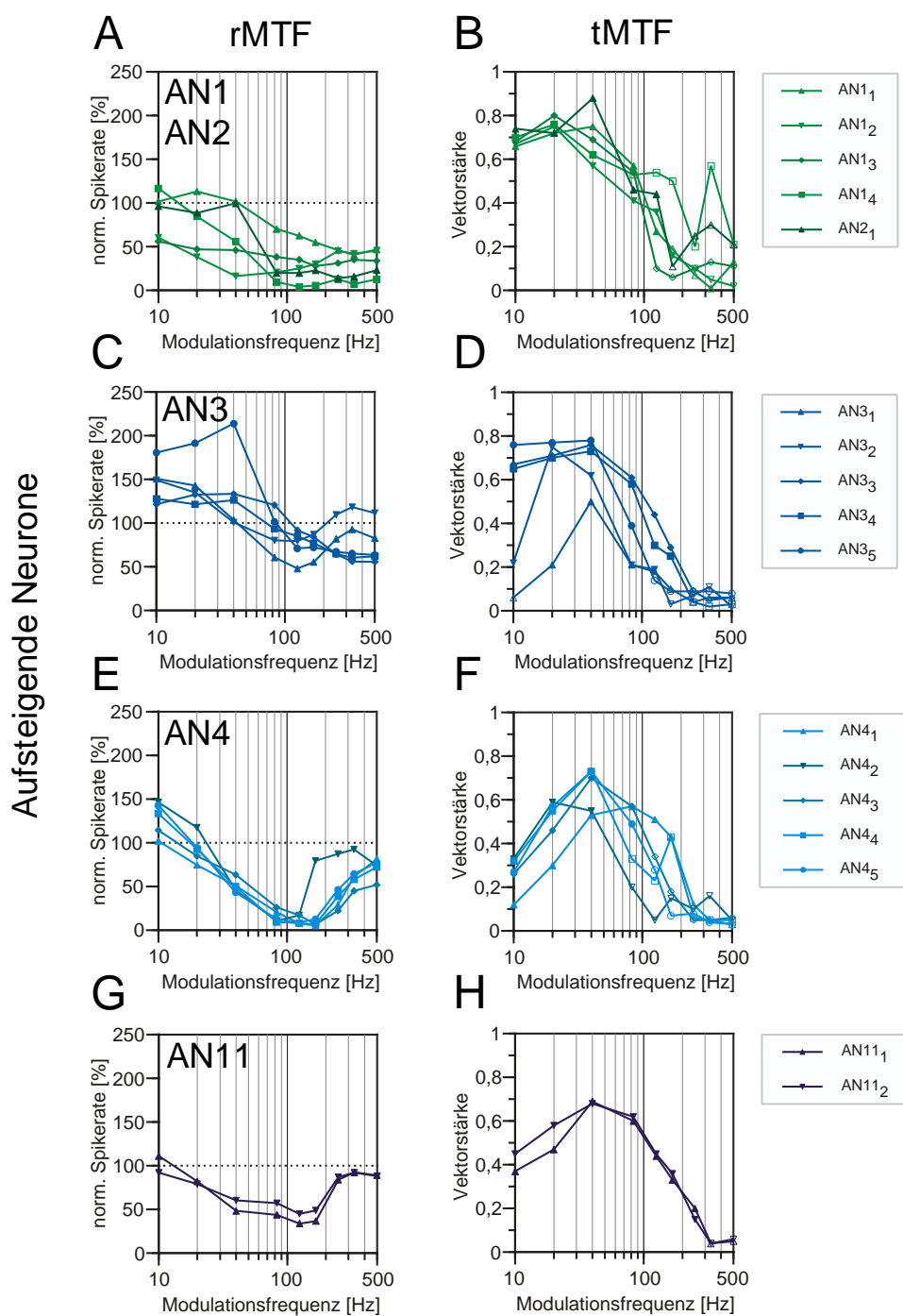
### 4.1.1 Filterkurven: rMTF und tMTF

Die rMTF und tMTF aller Rezeptoren und lokalen Interneurone sind in Abb. 4.2 vergleichend gegenübergestellt. Die Spikerate wurde für die Darstellung der rMTF auf die mittlere Spikerate des unmodulierten Reizes normiert. Dadurch sollen einerseits die wesentlichen relativen Änderungen der Spikerate besser sichtbar werden. Andererseits ist damit sowohl eine Zunahme (Werte über 100%) als auch eine Abnahme (Werte unter 100%) der Rate gegenüber dem unmodulierten Reiz erkennbar. Letztere ist aufgrund der geringeren Energie der modulierten Reize zu erwarten. Die mittlere Spikerate der Rezeptoren zeigte übereinstimmend keine wesentliche Änderung mit der Modulationsfrequenz und wies daher eine Allpass-Filtercharakteristik auf. Bei den tMTF fallen zunächst deutliche Unterschiede zwischen den Kurven der einzelnen Rezeptoren auf. Die Kurven staffeln sich vom Typ eines Tiefpass-Filters über einen leichten, bis hin zu einem deutlichen Bandpass-Filter. So variieren die Vektorstärken der Rezeptoren bei niedrigen MF, wie etwa 20 Hz, zwischen 0,2 und Werten von über 0,7. Die mittlere Spikerate korrelierte bei diesen MF negativ mit der Vektorstärke. Eine breitere Verteilung der Spikes innerhalb des Periodenfensters, wie sie z.B. bei einer niedrigen Schwelle auftritt, bedingt eine niedrigere Vektorstärke und vice versa. Somit könnte dieser Effekt alleine durch grosse Unterschiede der gewählten Intensität relativ zur Reaktionsschwelle der Zellen entstanden sein (vgl. Abb. 1, Rees und Palmer (1989)). Ein Vergleich mit den Kennlinien der Zellen bestätigt dies. Es wurden hier trotzdem alle Rezeptoren dargestellt, um eine wesentliche Eigenschaft der Vektorstärke zu zeigen. Trotz dieser Unterschiede ergab die statistische Analyse der Vektorstärke nach Rayleighs  $z$  bei allen Zellen noch eine signifikante Ankopplung der Spikes an die Stimulusperiode, selbst bei einer Modulationsfrequenz von 500 Hz.

Die lokalen Interneurone TN1 zeigten übereinstimmend bezüglich der rMTF Allpasseigenschaften und bezüglich der tMTF Tiefpasseigenschaften (Abb. 4.2 C & D). Besonders hinsichtlich der Vektorstärke fallen erstaunlich geringe interindividuelle Unterschiede bei den einzelnen MF auf. Die lokalen Interneurone SN1 reagierten im Bereich von 167 Hz mit einer erhöhten Spike-



**Abbildung 4.2:** RATEN (rMTF; LINKS) UND ZEITLICHE (tMTF; RECHTS) MODULATIONSTRANSFERFUNKTIONEN BEI REZEPTOREN UND LOKALEN INTERNEURONEN. rMTF: Spikerate als Funktion der Modulationsfrequenz. Die gestrichelte Linie bei 100% gibt die Antwort auf den unmodulierten Reiz an, auf den die Spikeraten der einzelnen Stimuli normiert wurden. Die Spikerate wurde über ein Zeitfenster von 500 ms gemittelt. tMTF: Vektorstärke als Funktion der Modulationsfrequenz. Die geschlossenen Symbole geben eine signifikante Vektorstärke an, während bei den offenen Symbolen keine signifikante Ankopplung der Spikes an die Periode des Reizes vorlag (vgl. Rayleighs  $z$  in Material & Methoden).



**Abbildung 4.3:** RATEN (rMTF; LINKS) UND ZEITLICHE (tMTF; RECHTS) MODULATIONSTRANSFERFUNKTIONEN BEI AUFSTEGENDEN INTERNEURONEN. Legende siehe Abb. 4.2

rate. Da diese Eigenschaft bei dem einen Vertreter dieses Zelltyps aber sehr schwach ausfiel, muss dieser nach den gewählten Kriterien (siehe Material & Methoden) noch als Raten-Allpass-Filter bezeichnet werden. Das andere SN1 reagierte entsprechend eines Bandpass-Filtertyps und zeigte eine deutliche Erhöhung der Spikerate gegenüber dem unmodulierten Reiz (Abb. 4.2 E). Ein Bandpass-Filtertyp ergab sich auch für die Vektorstärke und zwar bei beiden Zellen (Abb. 4.2 F). Auffällig ist hier die Lage der Bestfrequenz, einen Messpunkt unterhalb der Bestfrequenz der rMTF. Das Neuron SN2 konnte leider nur einmal getestet werden. Für diese Zelle ergab die Auftragung der mittleren Spikerate einen Tiefpass-Filter, wobei allerdings bei den Reizen mit einer MF von 83 Hz ein erneuter Anstieg zu verzeichnen ist. Die Änderung der Vektorstärke mit der MF lässt für SN2 einen Bandpass-Filtertyp erkennen. Vom lokalen Interneuron BGN1, dessen rMTF in Abb. 4.2 G dargestellt sind, konnten insgesamt sechs Vertreter getestet werden. Bezüglich der Änderung der Spikerate mit der MF lassen sich alle Zellen einem Tiefpass-Filtertyp zuordnen. Die Stärke der Änderung der Spikerate mit der MF variierte zwischen den einzelnen Zellen jedoch beträchtlich. Des weiteren war bei drei BGN1 eine Zunahme der Spikerate gegenüber dem unmodulierten Reiz zu verzeichnen, bei einem davon sogar mehr als eine Verdopplung. Die drei anderen Zellen reagierten mit einer niedrigeren Spikerate als auf den unmodulierten Reiz. Auch die tMTF der einzelnen BGN1 unterschieden sich untereinander. Dies betraf sowohl die Höhe der Vektorstärke bei niedrigen MF, als auch die "beste MF", gemäß der Modulationsfrequenz, bei der eine maximale Vektorstärke gemessen wurde. Daraus ergaben sich für einige Zellen Filterkurven, die sich eher einem Tiefpass zuordnen lassen (BGN1<sub>1</sub>, BGN1<sub>2</sub>, BGN1<sub>4</sub>). Die anderen untersuchten BGN1 tendierten eher zu einem Bandpass. Diese Unterschiede in den Filtercharakteristika zwischen den einzelnen BGN1-Neuronen sind insofern nicht verwunderlich, als zwei (oder sogar drei) Kopien dieses Zelltyps auf jeder Hemisphäre des Metathorakalganglions existieren (Römer und Marquart, 1984), die teilweise unterschiedliche Antwortigenschaften aufweisen (Stumpner, 1989).

In Abb. 4.3 sind die rMTF (links) und tMTF (rechts) der aufsteigenden Interneurone dargestellt. Dabei soll hier differenziert werden zwischen den



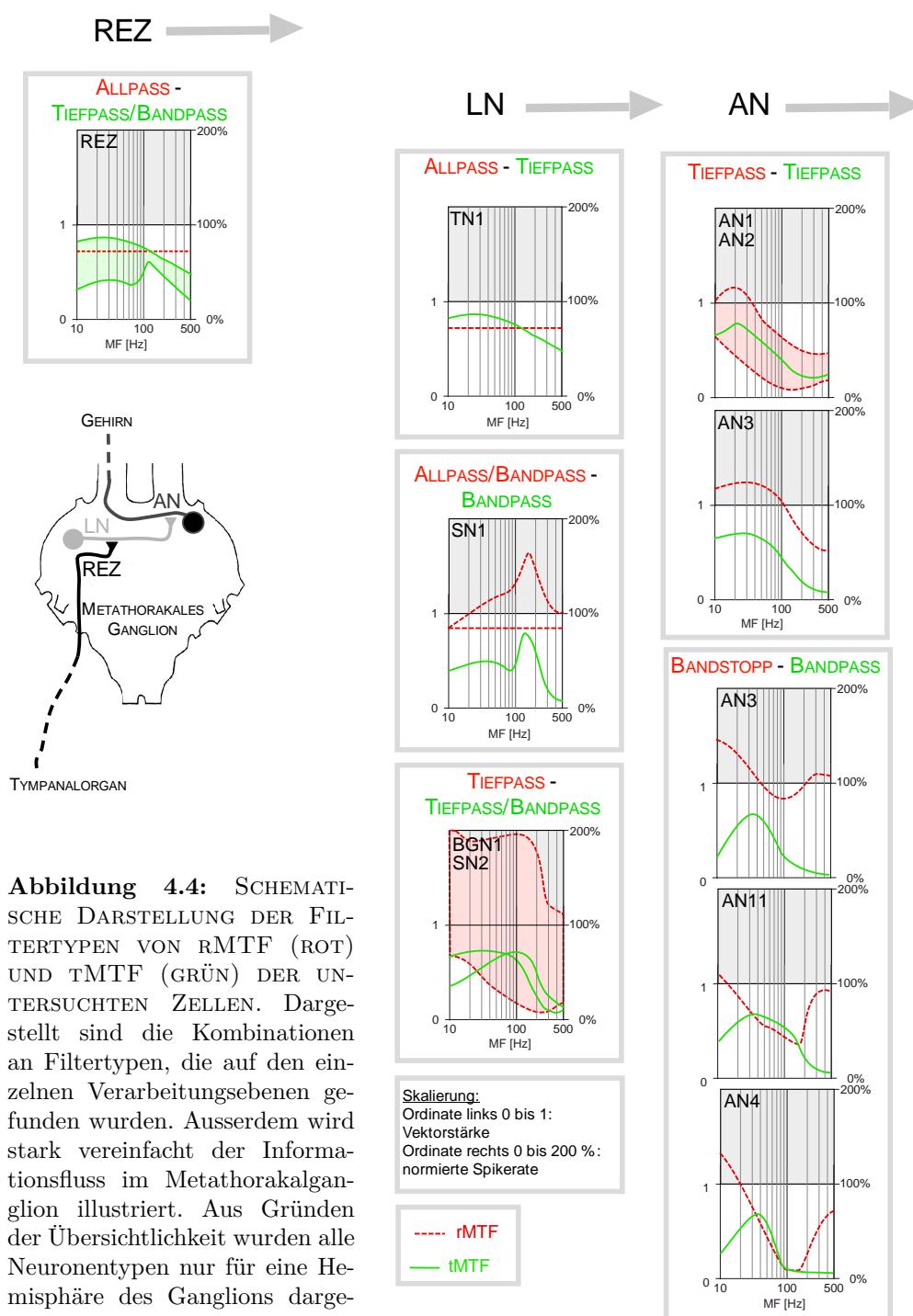
richtungskodierenden Neuronen AN1 und AN2 (Abb. 4.3 A & B) und den hier getesteten musterkodierenden Neuronen AN3, AN4 und AN11 (Abb. 4.3 C-H). Die Vertreter der richtungskodierenden Neurone wiesen eine Tiefpass-Filtercharakteristik auf und zwar sowohl bezüglich der rMTF (mit Ausnahme von AN1<sub>2</sub>, schwacher Bandstopp) als auch bezüglich der tMTF (Abb. 4.3 B). Besonders die Stärke der Änderung der Spikerate mit der MF variierte zwischen den einzelnen Neuronen beträchtlich. Mit Ausnahme von zwei Messpunkten verliefen allerdings alle Kurven unter 100% und fielen teilweise auf Werte von unter 25% ab, welches mittleren Spikeraten von unter 10 Hz entsprach. Diese niedrigen Spikeraten sind sicherlich ein zusätzlicher Grund dafür, dass die Vektorstärke bei MF von über 167 Hz das Signifikanzniveau nicht mehr überschreitet.

Bei dem musterkodierenden Interneuron AN3 wurden sowohl bei der rMTF als auch bei der tMTF verschiedene Filtertypen sichtbar (Abb. 4.3 C & D). Für AN3<sub>1</sub> und AN3<sub>2</sub> ergab die Änderung der Spikerate mit der MF einen Bandstop-Filtertyp, wobei die Filtercharakteristik allerdings sehr schwach ausgeprägt war. So wurden Spikeraten von 50% nicht unterschritten. Die anderen drei Vertreter dieses Zelltyps reagierten entsprechend eines Tiefpassfilters. Bei niedrigen MF ergab sich eine deutlich erhöhte Spikerate gegenüber dem unmodulierten Reiz. Ab einer MF von 40 Hz zeigte sich ein Abfall der Kurven bis hin zu Werten von etwa 60%. Diese Tiefpassneurone wiesen auch bezüglich der Vektorstärke eine Tiefpass-Charakteristik auf, während die Bandstopneurone hier Eigenschaften eines Bandpass-Filters erkennen lassen (vgl. dazu auch Abb. 4.4). Auch in der Studie von Stumpner (1989) zeigten sich für das AN3 von *C. biguttulus* sehr variable Antworteigenschaften der einzelnen abgeleiteten Vertreter. Damit lag die Vermutung einer Existenz von Zwillingneuronen nahe. Trotz intensiver Suche konnte, wie auch schon von Marquart (1985a) an *L. migratoria*, aber kein entsprechender Nachweis erbracht werden. Somit bleiben für diese Zelltyp relativ große interindividuelle Unterschiede typisch.

Beim AN4 zeigte sich dagegen ein sehr einheitliches Bild, vor allem bei der rMTF (Abb. 4.3 E). Es fand sich hier ein stark ausgeprägter Bandstop-Filter, der mit einer Reduktion der mittleren Spikerate auf unter 20% (unter

10 Hz) einherging. Der Bandstopp-Filtercharakteristik des AN4 wird durch eine der Exzitation vorlaufende Inhibition verursacht. Das durch jeden Pulsbeginn erneut ausgelöste IPSP bedingt eine Abnahme der Spikerate mit der MF. Die Spikerate steigt bei höheren MF wieder an, da die Pausen zwischen den Pulsen zu kurz werden, um das IPSP zuverlässig auszulösen. AN4<sub>2</sub> wurde bei einer niedrigeren Temperatur abgeleitet, als die anderen Zellen (25°C statt 30°C), welches eine Verschiebung der Hochpass-Filterflanke weiter nach links, also zu niedrigeren MF bedingte. Hinsichtlich der Vektorstärke tendierte AN4 dazu, in der Art eines Bandpass-Filters zu reagieren (Abb. 4.3 F). Dabei fällt auf, dass bei zwei Zellen schon bei einer MF von 83 Hz keine signifikante Ankopplung mehr an die Stimulusperiode erfolgte, welches auch durch die in diesem Bereich schon sehr stark reduzierte Spikerate bedingt sein dürfte. Die beiden Vertreter des aufsteigenden Interneurons AN11 zeigten ebenfalls hinsichtlich der Änderung der Spikerate mit der MF eine Bandstopp-Filtercharakteristik und hinsichtlich der Vektorstärke eine Bandpass-Filtercharakteristik (Abb. 4.3G & H). Dabei fiel die Stärke der Ausprägung des Bandstopp-Filters bei AN11 deutlich geringer aus, als beim AN4. Des Weiteren wurde bei diesem Zelltyp auch noch bei 250 Hz eine signifikante Ankopplung der Spikes an die Stimulusperiode gemessen.

In Abbildung 4.4 sind rMTF und tMTF entsprechend der gefundenen Kombinationen an Filtertypen schematisch für die drei untersuchten Verarbeitungsebenen dargestellt. Damit soll veranschaulicht werden, welche Filtertypen für die einzelnen Verarbeitungsebenen repräsentativ sein könnten. Betrachtet man die rMTF, so zeigt sich auf der Ebene der Rezeptoren noch eine Allpass-Filtercharakteristik, ebenso auch bei einigen lokalen Interneuronen (TN1 und SN1). Ein Bandpass-Filter konnte nur für ein SN1 beschrieben werden. Dagegen zeigten sich sowohl bei den lokalen als auch bei aufsteigenden Interneuronen Tiefpass-Filter (SN2, BGN1, AN1, AN2 und AN3). Ausschließlich auf der Ebene der aufsteigenden Interneurone finden sich schwach bis stark ausgeprägte Bandstopp-Filter (AN3, AN11 und AN4). Dieser Filtertyp der rMTF tritt in Kombination mit einem Bandpass-Filter der tMTF auf. Die Lage der Filterkurven zueinander lässt vermuten, dass die Abnahme der Vektorstärke nicht vollkommen unabhängig von der Reduktion der Spikerate



**Abbildung 4.4:** SCHEMATISCHE DARSTELLUNG DER FILTERTYPEN VON rMTF (ROT) UND tMTF (GRÜN) DER UNTERSUCHTEN ZELLEN. Dargestellt sind die Kombinationen an Filtertypen, die auf den einzelnen Verarbeitungsebenen gefunden wurden. Ausserdem wird stark vereinfacht der Informationsfluss im Metathorakalganglion illustriert. Aus Gründen der Übersichtlichkeit wurden alle Neuronentypen nur für eine Hemisphäre des Ganglions dargestellt. REZ: Rezeptoren, LN: lokale Interneurone und AN: aufsteigende Interneurone.

rate ist. Neben diesen Filterkombinationen zeigen aufsteigende Interneurone des weiteren Tiefpass/Tiefpass Eigenschaften (AN1, AN2 und AN3). Bezüglich der Vektorstärke finden sich Bandpass und Tiefpass-Filter auch schon bei den Rezeptoren und den lokalen Interneuronen. Die Kombinationen der Filter sind hier vielfältig. Sowohl bezüglich der Spikerate als auch bezüglich der Vektorstärke stellt sich die Frage nach den Bereichen und der Stärke der Filterung der MF. Um diese zu charakterisieren, können verschiedene Kenngrößen aus den Kurven extrahiert werden, auf die im folgenden Abschnitt eingegangen wird.

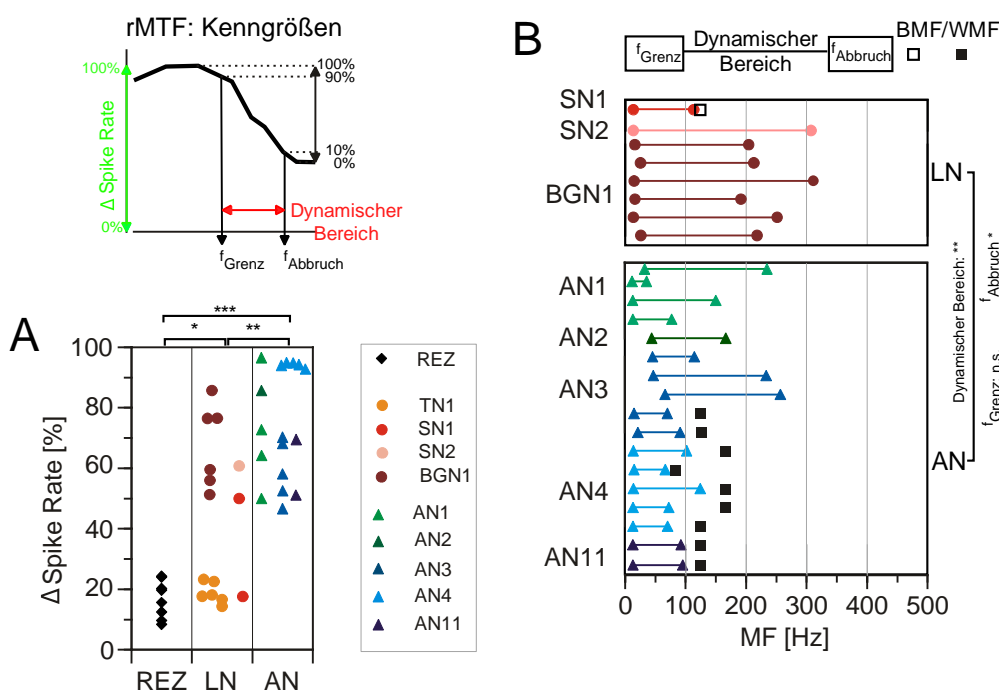
#### 4.1.2 Kenngrößen der rMTF und der tMTF

Für eine Charakterisierung der Filterung der MF können verschiedene Maße herangezogen werden, die sowohl die Stärke als auch die Lage und Breite der Filter beschreiben. Zu diesem Zweck wurden aus den in 4.1.1 dargestellten rMTFs und tMTFs verschiedene Kenngrößen abgeleitet.

##### Kenngrößen der rMTF

Bei der rMTF wurde die Stärke der Spikeratenänderung und der dynamische Bereich, das heißt der MF-Bereich der größten Spikeratenänderung erfasst (Abb. 4.5 A und B). Die Rezeptoren, die lokalen Interneurone TN1 und ein SN1 zeigten mit Werten von unter 30% eine sehr geringe Änderung der Spikerate mit der MF (Abb. 4.5 A). Für die anderen Zellen bewegte sich die  $\Delta$ Spikerate im Bereich von 45 bis 95%. Dabei fällt eine recht große Streuung zwischen verschiedenen Vertretern einzelner Neuronentypen auf. Lediglich beim AN4 ergab sich für die fünf Zellen eine geringe interindividuelle Variabilität bei gleichzeitig den höchsten Werten von 92 bis 95%. Vergleicht man nur die einzelnen Verarbeitungsebenen untereinander, so wiesen diese signifikante Unterschiede zueinander auf (U-Test: REZ-LN:  $p < 0.05$ ; LN-AN:  $p < 0.001$ , REZ-AN:  $p < 0.001$ ). Neben der Stärke der Änderung der Spikerate liefert die Beschreibung des Bereichs, in dem sich diese vollzieht ein weiteres wesentliches Merkmal der Filtercharakteristik. Dieser wird als *dynamischer Bereich* definiert und erstreckt sich zwischen der Grenzfrequenz und

der Abbruchfrequenz (vgl. Abb. 4.5 schematische Darstellung und Krishna und Semple (2000)). Eine starke Änderung der Spikerate und ein kleiner dynamischer Bereich spiegelt sich in einer steil abfallenden Filterkurve wider. Je steiler die Kurve, desto eindeutiger kann eine Spikerate postsynaptisch einer MF zugeordnet werden. In Abb.4.5 B sind Grenzfrequenzen, Abbruch-



**Abbildung 4.5:** KENNGRÖSSEN DER RMTF: STÄRKE (A) UND BEREICH DER ÄNDERUNG DER SPIKERATE (B). Die Kenngrößen wurden entsprechend der schematischen Abbildung (links oben) aus der rMTF abgeleitet. **A** Die Änderung der Spikerate wurde ausgehend von der maximalen Spikerate der Kurven bestimmt. **B** Der dynamische Bereich beschreibt den Bereich der Änderung der Spikerate zwischen Grenzfrequenz (linke Symbole) und Abbruchfrequenz (rechte Symbole). Dieser wurde nur für Zellen bestimmt, deren Spikeraten mindestens eine Änderung von 40% aufwiesen (vgl. 4.5A). Für alle Zellen, die eine Bandpass oder einen Bandstopp- Filtercharakteristik aufwiesen wurden die “Besten“ (BMF) und “Schlechtesten“ Modulationsfrequenzen gezeigt. U-Test (siehe Abbildung): ΔSpikerate: REZ-LN, LN-AN, REZ-AN; Grenzfrequenz, Abbruchfrequenz und dynamischer Bereich: LN-AN.

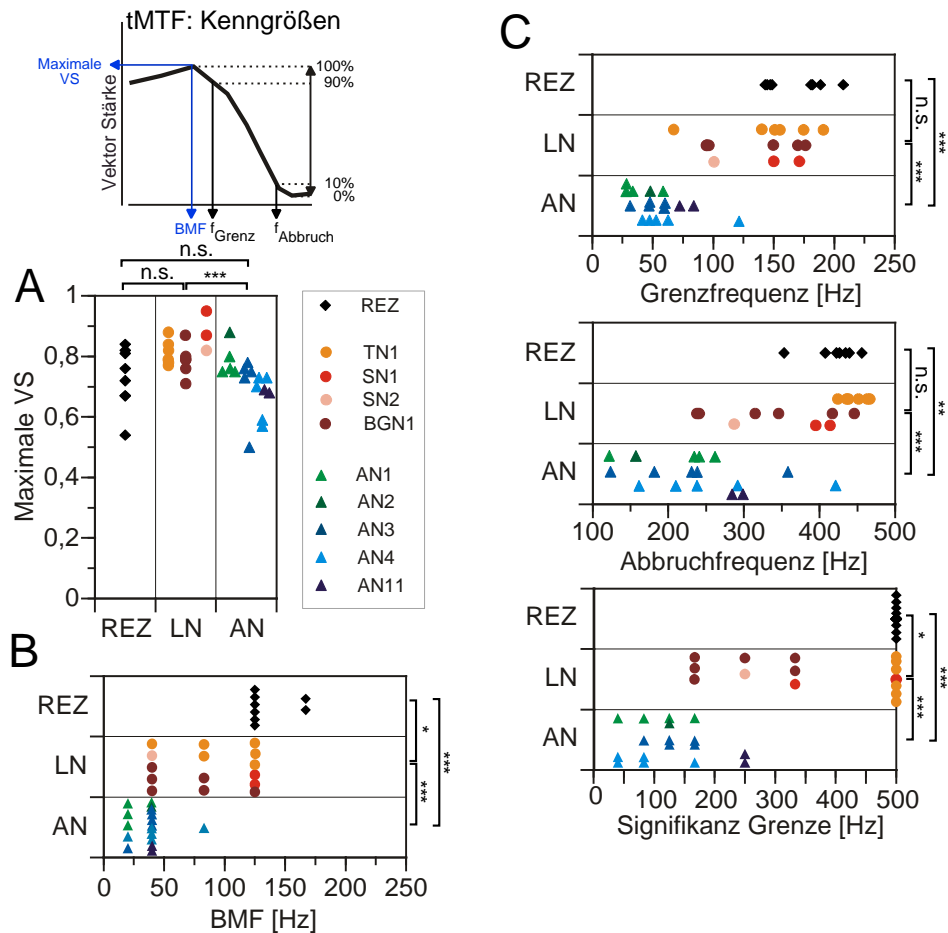
frequenzen und damit der dynamische Bereich der hier untersuchten Zellen dargestellt. Die Grenzfrequenzen unterschieden sich nicht wesentlich zwischen den lokalen und den aufsteigenden Interneuronen und liegen zwischen 10 und 70 Hz, wobei eine Mehrzahl der Zellen Grenzfrequenzen von unter 20

Hz aufwiesen. Die höchsten Abbruchfrequenzen von über 300 Hz und damit auch der größte dynamische Bereich findet sich bei den lokalen Interneuronen SN2 und BGN1. Die Abbruchfrequenzen der aufsteigenden Neurone, die eine Bandstopp- Filtercharakteristik zeigten (AN3, AN4 und AN11) und deren linke Flanke des Filters erfasst wurde, lagen alle unter 150 Hz. Für andere aufsteigenden Zellen lagen die Abbruchfrequenzen uneinheitlich - auch innerhalb der einzelnen Zelltypen- teilweise deutlich höher (AN3<sub>4</sub>, AN3<sub>5</sub>, AN1<sub>1</sub>) oder auch niedriger (AN1<sub>2</sub>). Insgesamt ließ sich für die aufsteigenden Interneurone gegenüber den lokalen eine signifikante Abnahme der Abbruchfrequenz (U-Test: LN-AN:  $p < 0.05$ ) und des dynamischen Bereichs (U-Test: LN-AN:  $p = 0.001$ ) verzeichnen. In der Literatur werden dabei häufig, neben dem dynamischen Bereich, die "Besten Modulationsfrequenzen" (BMF) oder "Schlechtesten Modulationsfrequenz" (WMF) betrachtet (Krishna und Semple, 2000; Joris et al., 2004). Diese Größen geben ausgehend von einem Bandpass bzw. einem Bandstopp-Filter die MF an, welche mit der höchsten bzw. niedrigsten Spikerate beantwortet wurde. Eine Änderung der Spikerate entsprechend eines Bandpass-Filters konnte bei den hier betrachteten Zellen lediglich für ein SN1 beschrieben werden, Bandstopp-Filter bei den aufsteigenden Interneuronen AN3, AN4 und AN 11 (Abb.4.4). Wie in Abb.4.5 B sichtbar beträgt die BMF des SN1 167 HZ, die WMF der aufsteigenden Interneurone 125 Hz (AN3, AN11 und ein AN4) oder 167 Hz (zwei AN4). Ein AN4 welches bei einer niedrigen Temperatur abgeleitet wurde, zeigte ein WMF von 83 Hz. Diese BMF bzw. die WMF geben jedoch keinen Hinweis über die Breite, d.h. die Schärfe des Filters. Ausserdem sind sie für die Charakterisierung von Tiefpassfiltern, wie sie bei den anderen Zellen vorliegen, unbrauchbar. Dementsprechend spielen sie bei der vorliegenden Betrachtung nur eine untergeordnete Rolle.

### **Kenngößen der tMTF**

Die vergleichende Charakterisierung der tMTF (Abb. 4.6) basiert auf der maximal erreichten Vektorstärke (Abb. 4.6 A), der MF mit der maximalen Vektorstärke (BMF; Abb. 4.6 B) und den schon anhand der rMTF definier-

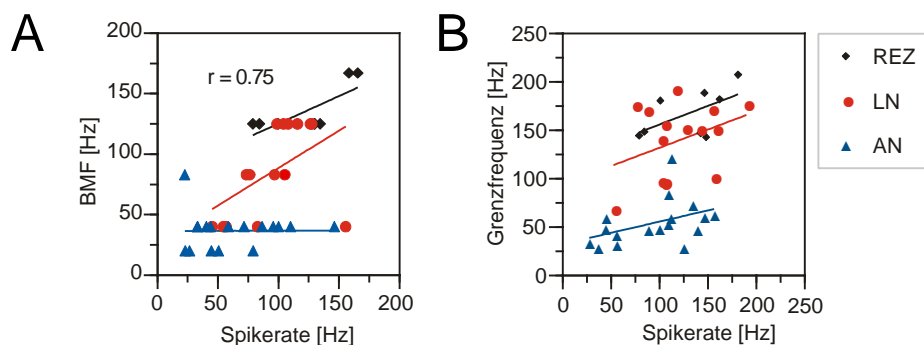
ten Grenz- und Abbruchfrequenzen (Abb. 4.6 C). Zusätzlich zu den letzten beiden Kenngrößen wurde eine anders definierte Abbruchfrequenz aufgetragen, bei der die maximale MF bestimmt wurde, die noch eine signifikante Ankopplung der Spikes an die Stimulusperiode ergab (Abb. 4.6 C; unten). Die höchsten Vektorstärken wurden für die lokalen Interneurone SN1 und TN1, gefolgt vom BGN1 gemessen. Über alle Zellen der einzelnen Verarbeitungsebenen ergab eine statistische Analyse eine signifikant höhere Vektorstärke der lokalen Interneurone gegenüber den aufsteigenden Interneuronen (U-Test: LN-AN:  $p < 0.001$ ). Zwischen den Rezeptoren und den aufsteigenden Interneuronen, sowie zwischen den Rezeptoren und den lokalen Interneuronen waren die Vektorstärken dagegen nicht signifikant verschieden. Die MF, bei der die höchste Vektorstärke auftrat, die Beste Modulationsfrequenz (BMF), zeigte eine deutliche Abnahme mit steigender Verarbeitungsebene (Abb. 4.6 B; U-Test: REZ-LN  $p < 0.05$ ; LN-AN  $p < 0.001$ ; REZ-AN  $p < 0.001$ ). Während die BMF der Rezeptoren stets über 100 Hz lagen, wurden bei den aufsteigenden Interneuronen nur Werte deutlich unter 100 Hz gemessen. Die lokalen Interneurone nahmen bezüglich dieser Kenngröße eine intermediäre Stellung ein. Die in Abb. 4.6 C dargestellten Kenngrößen beschreiben wie weit das zeitliche Auflösungsvermögen der Zellen reicht, d.h. bis zu welchen MF noch eine Ankopplung der Spikes an die Stimulusperiode vorlag. Dazu wurden anhand verschiedener Kriterien die MF bestimmt, bei denen die Vektorstärke bis zu einem bestimmten Betrag abnimmt. Für alle drei Kenngrößen ergab sich ein ähnliches Bild. Von den Rezeptoren zu den lokalen Interneuronen zeigte sich kein wesentlicher Unterschied der Grenz- bzw. Abbruchfrequenzen (U-Test: REZ-LN: n.s.). Lediglich die MF, bei der noch eine signifikante Ankopplung an die Stimulusperiode erfolgte, nahm von den Rezeptoren zu den lokalen Interneuronen ab (U-Test: REZ-LN:  $p < 0.05$ ). Dies war allerdings nur durch die niedrigen Werte des SN2 und der BGN1 bedingt. Von den lokalen zu den aufsteigenden Interneuronen kam es zu einer deutlichen Abnahme bezüglich der hier betrachteten Maße (U-Test: LN-AN:  $p < 0.001$  und REZ-AN:  $p < 0.001$  für Grenzfrequenz und Signifikanz Grenze;  $p < 0.01$  für Abbruchfrequenz). Die einzelnen Typen der aufsteigenden Interneuronen nahmen dabei einen ähnlichen Bereich ein und zeigten kaum



**Abbildung 4.6:** KENNGRÖSSEN DER tMTF: MAXIMALE VEKTORSTÄRKEN (**A**), BESTE MODULATIONSFREQENZEN (**B**) UND MODULATIONSFREQENZEN, BEI DENEN DER ABFALL DER VEKTORSTÄRKE GEMESSEN WURDE (**C**). Die schematische Abbildung (links oben) zeigt, welche Kenngrößen aus der tMTF abgeleitet wurden. **A** Die maximale Vektorstärke ergibt sich aus dem Peakwert der Kurven in Abb.4.2 und 4.3. **B** Die Beste Modulationsfrequenz (BMF) beschreibt die MF, bei der die maximale Vektorstärke auftrat. **C** Der Abfall der Vektorstärke wurde durch verschiedene Größen beschrieben. Oben: Grenzfrequenz; Mitte: Abbruchfrequenz und Unten: maximale MF, bei der noch eine signifikante Ankopplung der Spikes an die Stimulusperiode gemessen wurde (Rayleighs  $z > 3$ ). Zur Bestimmung von Grenz- und Abbruchfrequenz siehe schematische Darstellung oben links und Material & Methoden. U-Test (siehe Abbildung): REZ-LN, LN-AN, REZ-AN.



systematische Unterschiede zueinander.



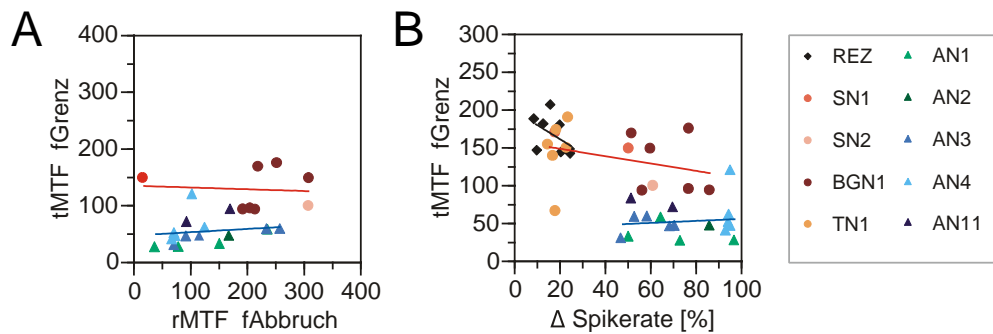
**Abbildung 4.7:** ZUSAMMENHANG ZWISCHEN DER BMF DER tMTF UND DER SPIKERATE (A) SOWIE DER GRENZFREQUENZ UND DER MAXIMALEN SPIKERATE (B). A Für alle Zellen wurde die mittlere Spikerate bei der BMF der tMTF (vgl. Abb. 4.6 C) bestimmt und beides gegeneinander aufgetragen. REZ: N = 8,  $p < 0.05$ ; LN: N = 15,  $p < 0.001$ ; AN: N = 17, n.s. B Als Spikerate diente hier die mittlere maximale Rate, die in dem getesteten Bereich an MF gemessen wurde. Die Grenzfrequenz der tMTF wurde entsprechend Abb.4.6 bestimmt. REZ: N = 8, n.s.; LN: N = 15, n.s.; AN: N = 17, n.s.

Hier stellt sich die Frage, in welchem Zusammenhang die betrachteten Größen zu der Spikerate der Zellen stehen. In Abbildung 4.7 A ist für die einzelnen Zellen die BMF der tMTF gegenüber der bei dieser MF gemessenen mittleren Spikerate aufgetragen. Sowohl für die Rezeptoren als auch für die lokalen Interneurone ergab sich eine positive Korrelation zwischen den beiden Größen (REZ:  $p < 0.05$ ; LN:  $p < 0.001$ ). Für die aufsteigenden Interneurone zeigte sich dagegen keine Korrelation zwischen den Kenngrößen. Das zeitliche Auflösungsvermögen kann durch die Spikerate limitiert werden. Um einen solchen Zusammenhang zu untersuchen, wurde die Grenzfrequenz gegenüber der mittleren Spikerate aufgetragen, die unabhängig von der MF maximal erreicht wurde (Abb. 4.7 B). Über alle Zellen der drei Verarbeitungsebenen betrachtet, korrelierte die Grenzfrequenz positiv mit der mittleren Spikerate ( $r = 0.50$ ,  $p < 0.01$ ). Auffällig war allerdings, dass sich für die einzelnen Verarbeitungsebenen kein signifikanter Zusammenhang ergab und die Regressionsgeraden weitgehend parallel zueinander verliefen. Die Unterschiede in den Grenzfrequenzen, besonders zwischen den lokalen und aufsteigenden Interneuronen, lassen sich demnach nicht alleine durch unterschiedliche Spikeraten erklären. Zwischen der Abbruchfrequenz und der Spikerate konnte in keiner

Weise ein signifikanter Zusammenhang gefunden werden und auch hier verlaufen die Regressionsgeraden der lokalen und aufsteigenden Interneurone parallel (ohne Abb.).

### Zusammenhang zwischen Kenngrößen der rMTF und der tMTF

Bei der Betrachtung der rMTF und tMTF Kurven in Abb.4.4 fällt auf, dass diese oftmals nahezu parallel zueinander verlaufen (vgl. Bandpass/Bandpass SN1 und Tiefpass/Tiefpass AN3). Daraus ergibt sich die Frage, ob und inwieweit Kenngrößen der rMTF und der tMTF zusammenhängen. Diese Frage kann aus zwei Blickwinkeln betrachtet werden. Zum einen kann rein mechanistisch gefragt werden, ob eine Änderung der Spikerate in einem bestimmten Bereich auch eine Änderung der Vektorstärke bedingt. Damit wird also darauf eingegangen wie die Kenngrößen-Werte entstehen. Eine andere Frage bezieht sich auf den Kode, mit dem relevante Information über die MF transportiert wird. Letztlich beschäftigt sich diese Frage auch mit dem “wie“, allerdings nicht wie etwas entsteht, sondern wie es genutzt wird. Schließen sich die beiden Auswerteverfahren gegenseitig aus, indem sie negativ miteinander korrelieren?



**Abbildung 4.8:** ZUSAMMENHANG ZWISCHEN KENNGRÖSSEN DER rMTF UND DER tMTF. **A** Die Grenzfrequenz der tMTF (vgl. Abb. 4.6 C, oben) wurde hier gegenüber der Abbruchfrequenz der rMTF (vgl. Abb. 4.5 B) aufgetragen. Die Rezeptoren und einige lokale Neurone gingen nicht in die Auswertung ein, insofern ihre rMTF eine  $\Delta$ Spikerate von unter 40% aufwies und somit keine Grenzfrequenz bestimmt wurde. LN: N = 8, n.s.; AN: N = 17, n.s. **B** Zusammenhang zwischen der Grenzfrequenz der tMTF (vgl. Abb.4.6 C, oben) und der  $\Delta$  Spikerate (vgl. Abb.4.5 A). REZ: N = 8, n.s.; LN: N = 15, n.s.; AN: N = 17, n.s.

Als erstes wird hier der Zusammenhang zwischen der Grenzfrequenz der tMTF und der Abbruchfrequenz der rMTF untersucht (Abb.4.8 A). Die Grenzfrequenz der tMTF beschreibt die MF, ab der eine Abnahme der Vektorstärke und damit die ÖGrenzeÓ des zeitlichen Auflösungsvermögens vorliegt. Die Abbruchfrequenz der rMTF gibt die mittlere Spikerate an, die 10% über dem Minimalwert lag und kann somit auch als Grenze des dynamischen Bereichs der rMTF gewertet werden. Es konnte, weder für die einzelnen Verarbeitungsebenen noch über alle Zellen betrachtet, eine signifikante Korrelation zwischen beiden Messgrößen festgestellt werden. Die Änderung der Spikerate der rMTF korrelierte nicht signifikant mit der Grenzfrequenz der tMTF, zumindestens nicht nach einer Berechnung von Regressionen für die einzelnen Verarbeitungsebenen (Abb.4.8 B). Betrachtet man jedoch den Zusammenhang zwischen beiden Kenngrößen über alle Zellen der drei Verarbeitungsebenen, so ergibt sich eine signifikante Korrelation ( $r = -0.69$ ,  $p < 0.001$ ). Somit wird hier ein negativer Zusammenhang zwischen der Eigenschaft eines Spikeratenfilters und dem zeitlichen Auflösungsvermögen deutlich. Allerdings wird dieser alleine durch die Allpasseigenschaften der Rezeptoren und des lokalen Neurons TN1 bedingt.

## Zusammenfassung

Aus den Modulationstransferfunktionen ging hervor, dass alle hier getesteten Zellen in ihrem Antwortverhalten eine Filterung der Modulationsfrequenzen zeigten. Eine Allpass-Filtercharakteristik ergab sich lediglich bei der rMTF der Rezeptoren und bei einzelnen lokalen Interneuronen (TN1 und ein SN1). Die rMTF der anderen Zellen wiesen folgende Eigenschaften auf: Das lokale Interneuron BGN1 und einige aufsteigende Interneurone (AN1, AN2 und einzelne AN3) reagierten entsprechend eines Tiefpass-Filtertyps. Eine Bandstop-Filtercharakteristik wurde ausschließlich auf der Ebene der aufsteigenden Interneurone gefunden (AN4, AN11 und einzelne AN3). Ein Bandpass-Filtertyp zeigte sich nur bei einem Vertreter des lokalen Interneurons SN1 und stellt somit auf allen drei Verarbeitungsebenen eher eine Ausnahme dar. Die Stärke der Filterung der Modulationsfrequenzen, in Form der maximalen Spike-

ratenänderung, nahm von den Rezeptoren über die lokalen bis hin zu den aufsteigenden Interneuronen signifikant zu. Dieser Trend galt allerdings nur eingeschränkt, da die Zelltypen der lokalen Interneurone bezüglich der Spikeratenänderung keine homogene Gruppe darstellten. So glich diese bei einzelnen Zelltypen (TN1 und SN1) eher den Rezeptoren, während andere (BGN1 und SN2 und SN1) vergleichbar den aufsteigenden Interneuronen reagierten. Letztere beiden Gruppen unterschieden sich allerdings bezüglich der Breite des dynamischen Bereichs, indem die lokalen Interneurone BGN1 und SN2 mehrheitlich höhere Abbruchfrequenzen zeigten als die aufsteigenden Interneurone.

Die tMTF der getesteten Zellen zeigte entweder eine Tiefpass- oder eine Bandpass-Filtercharakteristik. Dabei war keiner der beiden Filtertypen exklusiv nur auf einer Verarbeitungsebene zu finden. Bezüglich der Kenngrößen der tMTF zeigten sich dagegen häufig klare Unterschiede zwischen den Verarbeitungsebenen. Diese bestanden vor allem zwischen den lokalen und den aufsteigenden Interneuronen, indem bei allen betrachteten Kenngrößen ein hoch signifikanter Unterschied gemessen wurde. So nahmen die maximale Vektorstärken, die BMF, sowie die MF bei denen noch eine hohe zeitliche Ankopplung an die Stimulusperiode gemessen wurde, deutlich ab. Zwischen den Rezeptoren und den lokalen Interneuronen zeigte sich zwar auch die Tendenz einer Abnahme, aber das Signifikanzniveau wurde zumeist nicht oder nur geringfügig überschritten. Die Unterschiede in der zeitlichen Ankopplung zwischen den Zellen ließen sich nicht ausschließlich auf die mittleren Spikeraten zurückführen, auch wenn diese durchaus einen gewissen Einfluss auf das Ausmaß einer zeitlichen Ankopplung haben.

Betrachtet man die Kombinationen zwischen rMTF und tMTF-Filtertypen bei den einzelnen Zelltypen, so waren diese vielfältig - lediglich der Bandstop-Filter der rMTF trat ausschließlich in Verbindung mit Bandpass-Filtern der tMTF auf. Am einheitlichsten stellten sich die Filter-Kombinationen auf der Ebene der aufsteigenden Interneurone dar, die neben der oben genannten Bandstop/Bandpass, nur noch Tiefpass/Tiefpass Filtercharakteristika zeigten. Ein Vergleich der Kenngrößen der rMTF und der tMTF ergab keinen Zusammenhang zwischen der Lage der beiden Filterkurven. Die Eigenschaft

eines Spikeratenfilters korrelierte dagegen negativ mit dem zeitlichen Auflösungsvermögen - zumindestens wenn die Auswertung über Zellen aller drei Verarbeitungsebenen durchgeführt wurde. Der Zusammenhang gilt nur eingeschränkt, weil nur die geringen Spikeratenänderungen der Allpass-Filtertypen die negative Korrelation begründete, die sich nicht im Bereich einer höheren Spikeratenänderung erkennen lässt.

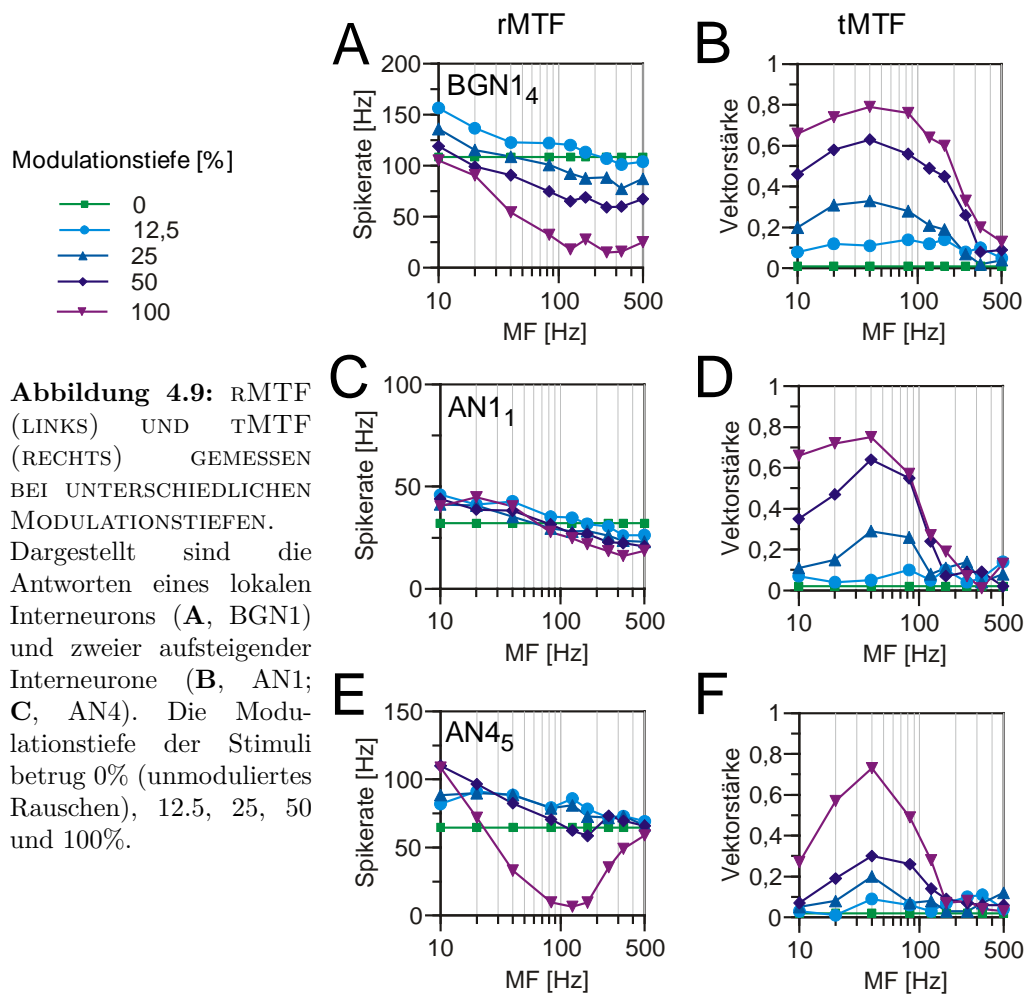
## 4.2 Der Einfluss der Modulationstiefe

Eine Betrachtung der Amplitudenmodulationen natürlicher Signale, wie dem Gesang von Heuschrecken zeigt, dass im Gegensatz zu den bisher verwendeten Stimuli, die Modulationstiefen selten Werte von 100% erreichen. Hinzu kommt, dass im natürlichen Habitat eine *Verschmierung* von Pausen durch andere externe Rauschquellen zu erwarten ist. Daraus resultiert eine Abnahme der Modulationstiefe, die eine erhöhte Empfindlichkeit des auditorischen Systems gegenüber kleinen Schwankungen der Signalamplitude verlangt. Im Folgenden soll nun der Frage nachgegangen werden, wie die Kodierung der MF von der Modulationstiefe abhängt.

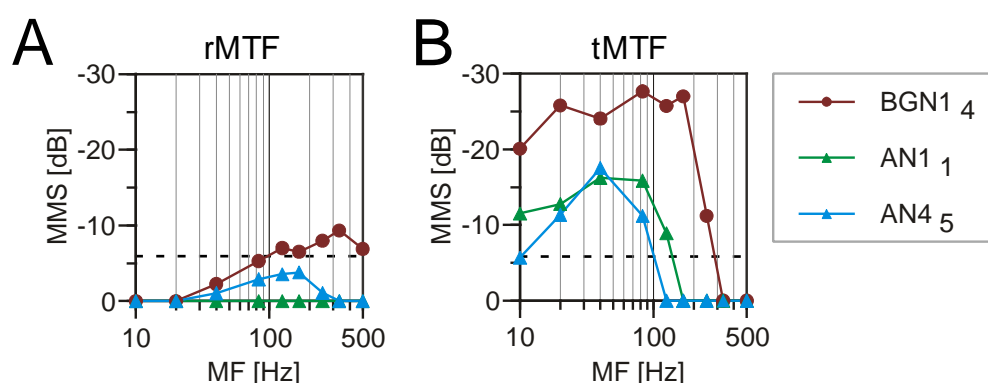
### 4.2.1 Filterkurven bei unterschiedlichen Modulationstiefen: rMTF und tMTF

Die Stimuli unterschiedlicher MF wurden bei verschiedenen Modulationstiefen (0, 12.5, 25, 50 und 100%) getestet. In Abbildung 4.9 sind beispielhaft die rMTF und tMTF eines lokalen Interneurons (BGN1) und zweier aufsteigender Interneurone (AN1 und AN4) dargestellt. Die Abhängigkeit der Spikerate von der MF fiel für die unterschiedlichen Modulationstiefen bei den drei gezeigten Zellen sehr unterschiedlich aus. Beim BGN1 (Abb. 4.9 A) verlaufen die rMTF der getesteten Modulationstiefen nahezu parallel zueinander und umfassen damit einen sehr großen Bereich an Spikeraten. Dabei fällt auf, dass mittlere Spikeraten über 75 Hz bei dieser Zelle keine eindeutige Repräsentation der Kenngrößen Modulationstiefe und MF ermöglichen. Bei dem aufsteigenden Interneuron AN1 (Abb. 4.9 C) verlaufen die Filterkurven

für die unterschiedlichen Modulationstiefen sehr dicht beieinander. Bezieht man die Standardabweichungen dieser mittleren Spikeraten mit ein, so ergibt sich kein Unterschied der Spikeraten zwischen den einzelnen Modulationstiefen. An dieser Stelle sei noch einmal auf den mit der Modulationstiefe abnehmenden Energiegehalt der Stimuli hingewiesen, der grundsätzlich eine gewisse Verschiebung der Kurven zueinander erwarten lässt. Das andere hier dargestellte aufsteigende Interneuron AN4 (Abb. 4.9 E) weist nur bei einer Modulationstiefe von 100% eine deutliche Bandpass-Filtercharakteristik auf. Bei einer Modulationstiefe von 50% ergab sich eine sehr abgeflachte Filterkurve und bei niedrigeren Modulationstiefen zeigten sich nur noch Allpass-Filtereigenschaften.



Die Ankopplung der Spikes an die Stimulusperiode nimmt monoton mit der Modulationstiefe zu, zumindest im Bereich unterhalb der Abbruchfrequenzen (4.9 B, D und F). Dabei erreichen die Filterkurven vom BGN1<sub>4</sub> und AN1<sub>1</sub> bei einer Modulationstiefe von 50% deutlich höhere Vektorstärken als beim AN4<sub>5</sub>. Die Vektorstärke ist allerdings nur ein eingeschränktes Maß zur Charakterisierung der zeitlichen Ankopplung der Spikes an die Stimulusperiode, wenn die zugrunde liegenden Spikezahlen stark variieren (siehe auch Diskussion). Um die statistische Zuverlässigkeit der Vektorstärke zu prüfen, kann Rayleighs  $z$  berechnet werden (siehe Material & Methoden). Auf der Grundlage der  $z$ -Werte ließ sich bei den einzelnen getesteten MF die Modulationsschwelle (MS) in dB bestimmen. Diese wird definiert als Modulationstiefe, bei der noch eine signifikante Ankopplung der Spikes an die Modulation des Reizes erfolgte (Viemeister, 1979).



**Abbildung 4.10:** ABHÄNGIGKEIT DER MODULATIONSSCHWELLE (MS) VON DER MODULATIONSFREQUENZ FÜR DIE ZELLEN AUS ABB.4.9. **A** rMTF: Für die Berechnung der MS wurde bei jeder getesteten MF die Modulationstiefe bestimmt, bei der erstmals eine signifikante Änderung der Spikerate auftrat. Als Signifikanzkriterium diente dabei die mittlere Spikerate auf den unmodulierten Reiz  $\pm$  der 2-fachen Standardabweichung. Die MMS wurde auf einer negativen dB-Skala aufgetragen. **B** tMTF: Die MS der einzelnen MF ergaben sich hier aus den Modulationstiefen, bei denen erstmals eine signifikante Ankopplung der Spikes an die Stimulusperiode auftrat. Als Signifikanzkriterium diente hierbei ein Rayleighs  $z$ -Wert  $> 3$  (vgl. Material & Methoden). Die MMS wurde auf einer negativen dB-Skala aufgetragen. Die gestrichelte Linie bei -6 dB entspricht einer Modulationstiefe von 50%.

Es sei noch einmal darauf hingewiesen, dass negativere dB-Werte eine höhere Empfindlichkeit gegenüber Amplitudenmodulationen bedeuten. Die Auftragung der MS gegen die MF ergibt eine zeitliche Modulationstransfer-

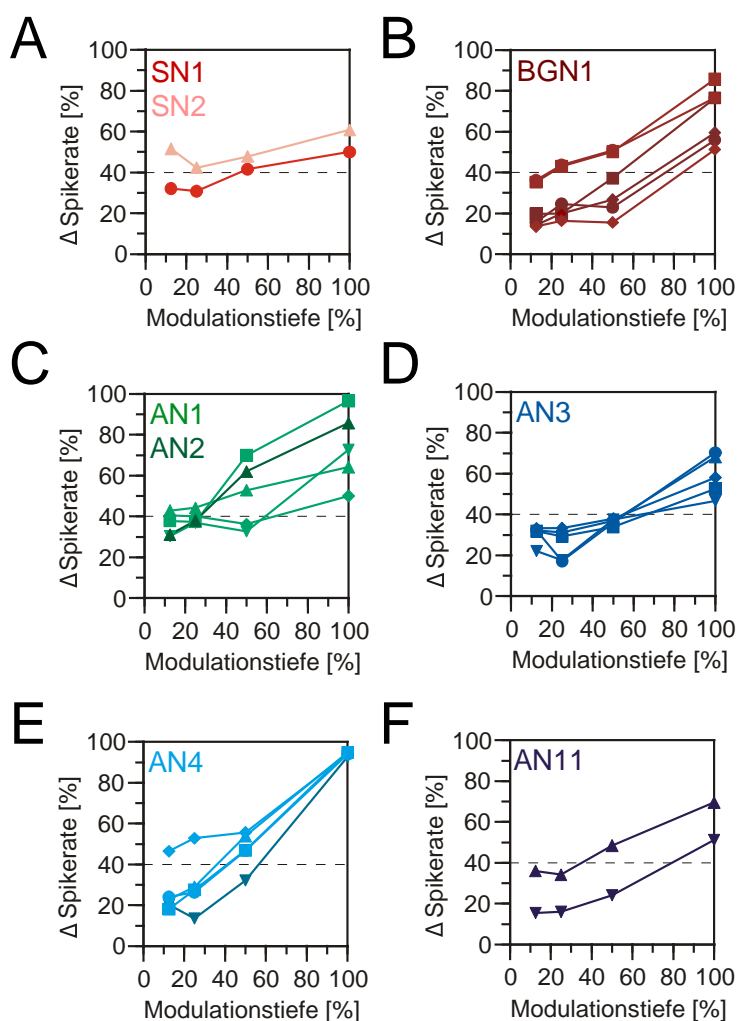
funktion(tMTF). In Abb. 4.10 B sind die resultierenden tMTF der drei Zellen aus Abb. 4.9 dargestellt. Erwartungsgemäß zeigt das BGN1 eine deutlich niedrigere Modulationsschwelle und damit eine höhere Empfindlichkeit als die beiden aufsteigenden Interneurone. Das Konzept der tMTF (Gleich und Klump, 1995; Prinz und Ronacher, 2002) lässt sich nur bedingt auf die rMTF übertragen. Franz (2004) berechnete eine MMS für eine Spikeratenänderung. Dabei diente die mittlere Spikerate  $\pm$  der doppelten Standardabweichung des unmodulierten Reizes als Schwellenkriterium für die Berechnung der Modulationstiefe, ab der eine signifikant unterschiedliche Spikerate auftrat. Auf die drei Zellen angewendet, ergeben sich die in Abb. 4.10 A dargestellten rMTF. Beim AN1 konnte selbst bei einer Modulationstiefe von 100% keine signifikante Änderung der Spikerate gegenüber dem unmodulierten Reiz gemessen werden. Die MMS bleibt damit 0 dB. Die Kurven des AN4 und des BGN1 geben die Lage der Spikeratenfilter der Zellen wieder. Sie zeigen weiterhin, dass verglichen mit der tMTF relativ tiefe Modulationen notwendig sind, um eine signifikant abweichende Spikerate zu erhalten. Die höchste Empfindlichkeit ergab sich auch hier für das BGN1.

## 4.2.2 Minimale Modulationsschwellen

### Minimale Modulationsschwellen der rMTF

Im Folgenden soll eine vergleichende Charakterisierung der minimalen Modulationsschwellen für alle abgeleiteten Neurone durchgeführt werden. Dabei wird zunächst die rMTF bei unterschiedlichen Modulationstiefen betrachtet. Eine Anwendung der oben beschriebenen Auswertemethode (vgl. 4.2.1 und Abb. 4.10 A) auf alle abgeleitete Neurone erwies sich als problematisch. So ergab sich für einige Neurone kein monotoner Zusammenhang zwischen Spikerate und Modulationstiefe. Des weiteren zeigten einige Neurone innerhalb ihrer rMTF sowohl Bereiche einer Zunahme als auch Bereiche einer Abnahme der Spikerate gegenüber dem unmodulierten Reiz (vgl. Abb. 4.2 und 4.3). Dabei kann die festgelegte Signifikanzgrenze sowohl über als auch unterschritten werden. Bei der Berechnung einer MMS für die rMTF müssten für diese Fälle zusätzliche Kriterien eingeführt werden. Um das Verfahren



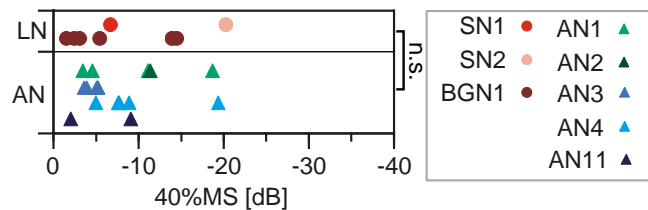


**Abbildung 4.11:** ÄNDERUNG DER SPIKERATE BEI UNTERSCHIEDLICHEN MODULATIONSTIEFEN. Für alle Zellen deren rMTF von einer Allpass-Filtercharakteristik abwich, wurden die maximalen Änderungen der Spikerate (vgl. Definition der  $\Delta$ Spikerate in Abb.4.5) bei den getesteten Modulationstiefen bestimmt und aufgetragen. Die gestrichelte Linie bei einer  $\Delta$ Spikerate von 40% gibt eine Schwelle zur Berechnung einer minimalen Modulationsschwelle an (vgl. Abb.4.12).

übersichtlich zu gestalten, wurde hierauf verzichtet und eine andere Analyse vorgezogen. Betrachtet wurden alle Neurone, deren rMTF eine von einem Allpass abweichende Filtercharakteristik aufwiesen (mindestens 40%  $\Delta$ Spikerate nach Franz (2004)). Für diese Zellen wurde bei allen getesteten Modulationstiefen die Spikeratenänderung mit der Modulationsfrequenz bestimmt. Diese  $\Delta$ Spikerate kann als Maß für die Stärke der Filterung betrachtet werden und wurde gegen die Modulationstiefe aufgetragen (4.11). Die Abbildung zeigt einen positiven Zusammenhang zwischen der Modulationstiefe und der Änderung der Spikerate. Allerdings reagierten bei Modulationstiefen von 12.5% und 25% fast alle Zellen mit einer nahezu gleichen  $\Delta$ Spikerate. Bei einigen

Zellen (SN2, AN3 und AN4) ist in diesem Bereich sogar eine Abnahme der  $\Delta$ Spikerate zu verzeichnen (4.11 A, D und E). Erst eine Modulationstiefe von 50% bedingte bei einigen Neuronen (AN1 und AN4) eine deutlich erhöhte Spikeratenänderung, bei anderen trat diese erst bei einer Modulationstiefe von 100% auf (BGN1, AN1 und AN3). Die Schnittpunkte mit einer  $\Delta$ Spikerate von 40% (gestrichelte Linie in 4.11) wurden in dB-Werte umgerechnet und als minimale Modulationsschwellen in Abb. 4.12 dargestellt. Zwischen den zwei Verarbeitungsebenen ergab sich kein signifikanter Unter-

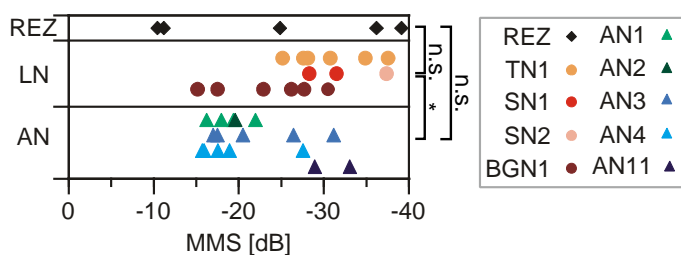
**Abbildung 4.12:** MODULATIONSSCHWELLE EINER SPIKERATENÄNDERUNG VON MINDESTENS 40%. Für die einzelnen Zellen wurden die Modulationsschwelle als Schnittpunkt mit der  $\Delta$ Spikerate von 40% bestimmt (Abb.4.11) und auf einer negativen dB-Skala aufgetragen. LN: N = 8; AN: N = 17. U-Test: LN-AN n.s.



schied der minimalen Modulationsschwellen. Für die Vertreter der einzelnen Zelltypen zeigte sich eine starke Streuung der Werte, wie etwa beim BGN1 im Bereich von -15 bis -1,5 dB (18 bis 84% MT) , oder auch beim AN1 von -19 bis -3 dB (11 bis 71% MT). Lediglich das AN3 zeigte eine schmale Verteilung um einen Wert von -5 dB. Betrachtet man alle Neurone, so liegt die Mehrzahl aller Datenpunkte im Bereich zwischen 0 und -10 dB, welches einer Modulationstiefe von 32% entspricht. Nach diesem Kriterium sind also relativ starke Modulationen der Amplitude notwendig, um eine mindestens 40%ige Änderung der Spikerate mit der MF und damit eine Filterung der Antwort zu erhalten.

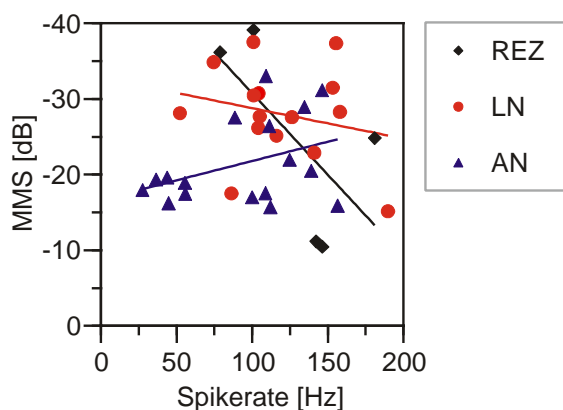
### Minimale Modulationsschwellen der tMTF

Die minimale Modulationsschwellen der zeitlichen Ankopplung der Spikes an die Stimulusperiode sind in Abb. 4.13 dargestellt. Die niedrigsten Werte von -39 bzw. -37 dB (1,1 bzw. 1,4%), und damit die höchste Empfindlichkeit



**Abbildung 4.13:** MINIMALE MODULATIONSSCHWELLEN DER TMTF. Die MMS ergab sich aus den Peak-Wert der tMTF (vgl. Abb. 4.10 B), d.h. der maximalen Empfindlichkeit gegenüber AM. Für die Bestimmung der MMS siehe Material und Methoden. REZ: N = 5; LN: N = 15; AN: N = 17. U-Test: REZ-LN n.s.; LN-AN  $p < 0.05$ ; REZ-AN n.s.

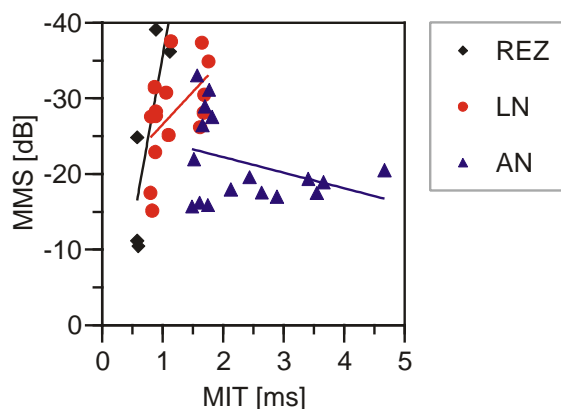
gegenüber Amplitudenmodulationen, zeigten einige Rezeptoren und Vertreter der lokalen Interneurone TN1 und SN2. Zwischen den lokalen und den aufsteigenden Interneuronen nahm die MMS signifikant ab (U-Test: LN-AN:  $p < 0.05$ ). Dieser Unterschied basiert vor allem auf dem Antwortverhalten des TN1 und der SN1 und SN2. Die MMS des lokalen Interneurons BGN1 lag mit -30 bis -15 dB (3 bis 18% MT) im Bereich der MMS der aufsteigenden Interneurone (-33 bis -15 dB (2 bis 18% MT)). Innerhalb dieser Gruppe zeigten das AN11 die höchste und das AN4 die niedrigsten Empfindlichkeiten gegenüber Amplitudenmodulationen. Die MMS der einzelnen Neurone zeigte keine Abhängigkeit von ihrer maximalen Spikerate (4.14). So wurde weder für die einzelnen Verarbeitungsebenen, noch über alle Zellen, eine signifikante Korrelation zwischen den beiden Kenngrößen gemessen.



**Abbildung 4.14:** ZUSAMMENHANG ZWISCHEN DER MMS DER TMTF UND DER SPIKERATE. Die MMS der tMTF (vgl. Abb. 4.13) wurde hier gegen die mittlere maximale Spikerate mit der die Zellen reagierten aufgetragen. REZ: N = 5, n.s.; LN: N = 15, n.s.; AN: N = 17, n.s.

**Zusammenhang zwischen der MMS und der minimalen Integrationszeit (MIT)** Im Folgenden soll geprüft werden, ob ein Zusammenhang zwischen der Auflösbarkeit von Modulationstiefen und den Modulationsfrequenzen besteht. So wurde bei Vögeln (Dooling und Searcy, 1981) und Fröschen (Dunia und Narins, 1989) eine negative Korrelation zwischen der MMS der tMTF und einem Maß für das zeitliche Auflösungsvermögen, der minimalen Integrationszeit (MIT), beschrieben. Die MIT berechnet sich aus der Abbruchfrequenz der tMTF (siehe Material & Methoden). Wie in Abb. 4.15 deutlich wird, ergab sich bei den hier untersuchten Zellen kein negativer Zusammenhang zwischen beiden Kenngrößen. Für keine der drei Verarbeitungsebenen konnte eine signifikante Korrelation gefunden werden.

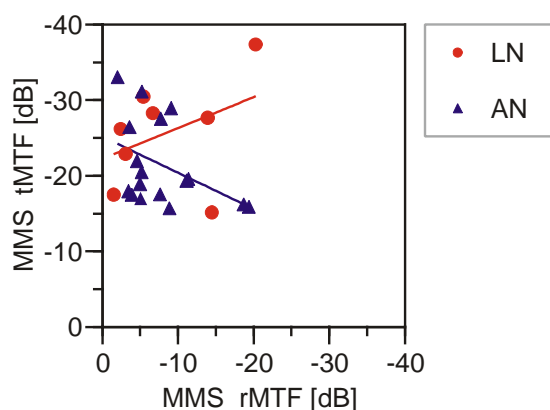
**Abbildung 4.15:** ZUSAMMENHANG ZWISCHEN DER MMS UND DER MIT. Die Minimale Integrationszeit (MIT) wurde auf der Grundlage der tMTFs bestimmt (vgl. Material & Methoden) und gibt das zeitliche Auflösungsvermögen der Zellen an. REZ: N = 5, n.s.; LN: N = 15, n.s.; AN: N = 17, n.s.



### Zusammenhang zwischen MMS der rMTF und der tMTF

Bisher wurden die MMS der rMTF und der tMTF als unabhängige Kenngrößen zu Beschreibung der Empfindlichkeit gegenüber Amplitudenmodulationen betrachtet. Es stellt sich nun die Frage, ob ein Zusammenhang zwischen beiden existiert. Um dem nachzugehen wurden die beiden MMS in Abb. 4.16 gegeneinander aufgetragen.

Für die beiden betrachteten Verarbeitungsebenen zeigen die Regressionsgeraden gegenläufige Trends. Jedoch ergab sich in beiden Fällen keine signifikante Korrelation zwischen den Kenngrößen.



**Abbildung 4.16:** ZUSAMMENHANG ZWISCHEN DER MMS DER tMTF UND DER rMTF. Vergleiche Abb. 4.13 und Abb.4.12. LN: N = 8, n.s.; AN: N = 17 n.s.

### Zusammenfassung

Sowohl die tMTF als auch die rMTF zeigten Abhängigkeiten von der Modulationstiefe der Stimuli. Es kann für nahezu alle Zellen festgehalten werden, dass die momentane Änderung der Spikerate in Abhängigkeit von der Stimulusperiode eine deutlich höhere Empfindlichkeit gegenüber Amplitudenmodulationen aufwies, als die Spikerate innerhalb großer, in keinem Bezug zur Stimulusstruktur stehenden, Zeitfenster. Die minimalen Modulationsschwellen der rMTF lagen für die Mehrheit der getesteten Zellen bei über -6 dB, d.h. erst bei Modulationstiefen von über 50% wurde das Schwellenkriterium einer Spikeratenänderung von mindestens 40% überschritten. Zwischen den lokalen und den aufsteigenden Interneuronen zeigten sich signifikante Unterschiede.

Bei der tMTF wurden die Modulationstiefen bestimmt, bei denen erstmals eine signifikante Ankopplung der Spikes an die Stimulusperiode auftrat. Diese minimalen Modulationsschwellen lagen mehrheitlich unter -15 dB, welches Modulationstiefen von unter 18% entspricht. Die höchsten Empfindlichkeiten zeigten dabei einzelne Rezeptoren und die lokalen Interneurone TN1 und SN2 mit Werten von unter -37 dB (1,1%). Die aufsteigenden Interneurone benötigten signifikant höhere minimale Modulationsschwellen und erwiesen sich somit als unempfindlicher gegenüber Amplitudenmodulationen. Das lokale Interneuron BGN1 kann bezüglich dieser Eigenschaft, wiederum eher den aufsteigenden Interneuronen zugeordnet werden als den anderen lokalen Interneuronen. Insgesamt zeigte die minimale Modulationsschwelle der

tMTF keine Abhängigkeit von der Spikerate. Bei den getesteten Zellen ergab sich außerdem keine Korrelation zwischen der minimalen Modulationsschwelle der tMTF und der minimalen Integrationszeit, einem Maß für das zeitliche Auflösungsvermögen.

Zwischen den aus der tMTF und aus der rMTF abgeleiteten minimalen Modulationsschwellen zeigte sich ebenfalls kein Zusammenhang.

# Kapitel 5

## Unterscheidbarkeit Amplitudenmodulierter Signale

Im Folgenden soll der Frage nachgegangen werden, wie gut die sinusförmig amplitudenmodulierten Stimuli anhand der Spikeantworten einzelner Zellen unterschieden werden können. Dabei wurde die Unterscheidbarkeit anhand der van Rossum Distanzen bestimmt. Diese Methode soll hier ergänzend zu der ‚klassischen‘ tMTF und rMTF- Auswertung angewandt und mit dieser verglichen werden.

Ein wesentlicher Unterschied zur MTF- Auswertung besteht darin, dass rMTF und tMTF beschreiben, welche Modulationsfrequenzen von einer Zelle überhaupt beantwortet werden, bzw. wie gut die Modulationen zeitlich aufgelöst werden können. Mit diesen Daten ist es aber nur bedingt möglich auszusagen, inwieweit zwei Frequenzen anhand der Spikeantworten der Zelle unterscheidbar sind. Insbesondere ist ein Szenario denkbar, bei dem bei hohen Modulationsfrequenzen Spikes zwar an die Phasenlage, nicht aber an jede Periode ankoppeln. Daraus ergibt sich zwar eine hohe Vektorstärke bei der tMTF, aber eine geringe Unterscheidbarkeit anhand der metrischen Distanzen wegen der großen Variabilität der absoluten Spikezeitpunkte auf Darbietung ein und desselben Reizes. Eine rMTF beschreibt die Änderung der Spikerate als Funktion der Modulationsfrequenz. Da für jede Modulationsfrequenz in der Regel über lange Zeitfenster bzw. viele Reizwiederholun-

gen gemessene Mittelwerte verwendet werden, gehen hier eine momentane Änderung und eine  $\Delta$ trial-to-trial Variabilität der Rate bei der Auswertung verloren. Auch bei dieser Betrachtung bleibt also weitgehend unklar, ob Unterschiede in dem bestimmten Parameter eine Unterscheidbarkeit von Reizmustern zulassen.

Eine Gegenüberstellung von rMTF und tMTF resultiert aus der Frage nach dem Kode, mit dem relevante Information übertragen wird. Welche Rolle die über lange Zeitfenster gemittelte Spikerate oder das exakte zeitliche Auftreten von Spikes postsynaptisch spielen, kann jedoch häufig nicht abschließend beantwortet werden (siehe oben: Raten und Zeitfilter bei einem Zelltyp; und Joris et al. (2004)). Hier liefert das Distanzmaß einen deutlichen Vorteil. Bei der Berechnung der Spiketrain-Distanzen kann der für eine Unterscheidung optimale zeitliche Auflösungsparameter  $\tau$  berechnet werden. Abhängig von diesem Parameter beschreibt der Distanzwert eine Kodierung zwischen den Extremen eines Koinzidenzdetektors bzw. einer reinen Spikezahlunterscheidung (Ratenkode). Somit kann mit Hilfe des Distanzmaßes geprüft werden, welche Rolle Spikezeitpunkte und Spikezahlen bei der Kodierung von Modulationsfrequenzen für die einzelnen Verarbeitungsebenen und Zelltypen spielen könnten. Aus diesen Vorbemerkungen ergeben sich drei wesentliche Fragen, denen im folgenden Teil nachgegangen werden soll:

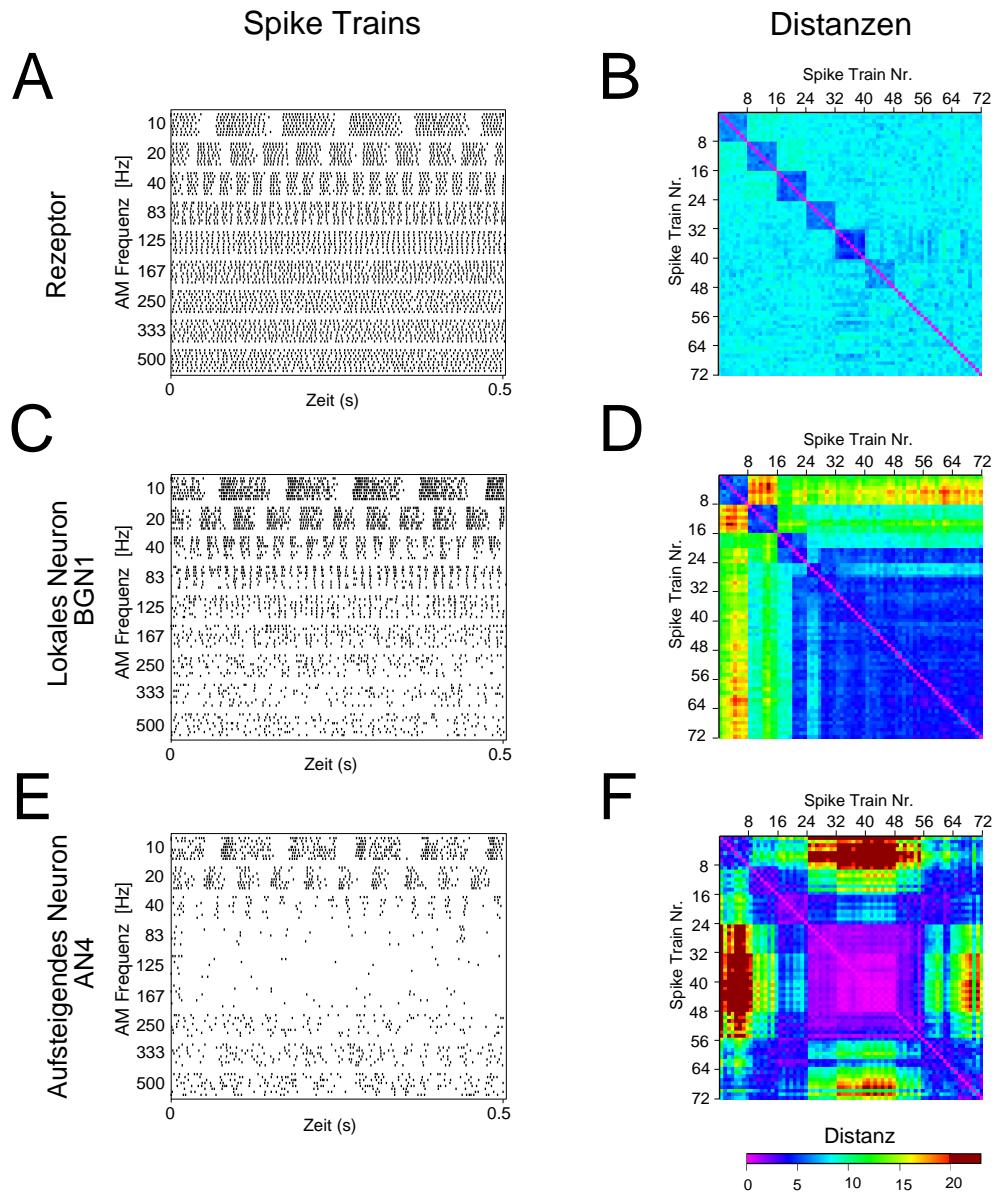
- Inwieweit lassen sich sinusförmig amplitudenmodulierte Stimuli anhand der Spikeantworten - der einzigen verfügbaren Information des Nervensystems - unterscheiden? (5.1)
- Welche Rolle spielen Unterschiede in Spikezeitpunkten und Spikezahlen für die Kodierung der Information? (5.2)
- In welchem Zusammenhang stehen die Unterscheidbarkeit und Modulationstransferfunktionen, d.h. die Filtereigenschaften auf der Grundlage der Spikerate und der zeitlichen Ankopplung der Spikes? (5.3)



## 5.1 Spiketrain - Distanzen und korrekte Zuordnung

### 5.1.1 Spiketrain - Distanzen

In Abbildung 5.1 A, C und E sind die Spikeantworten von drei verschiedenen Zellen auf Stimuli mit unterschiedlichen Modulationsfrequenzen dargestellt. Dabei handelt es sich um einen Rezeptor, ein lokales (BGN1) und ein aufsteigendes Interneuron (AN4). Der Rezeptor (Abb. 5.1 A) zeigte eine tonische Antwort mit einer guten Ankopplung an das Reizmuster bis hin zu Modulationsfrequenzen von 125 Hz. Dagegen war das Spikemuster beim BGN1 (Abb. 5.1 C) schon bei niedrigeren Modulationsfrequenzen des Stimulus vergleichsweise irregulär und die Spikerate nahm zu höheren Frequenzen stark ab. Beim AN4 (Abb. 5.1 E) zeigte sich eine eher geringe Regelmäßigkeit der neuronalen Antwort bei wiederholter Reizung mit einem Stimulus. Besonders auffällig war bei dieser Zelle die fast vollständige Reduktion der Spikeantwort im Bereich der MF von 83-167 Hz. Für jede dieser Zellen sind die ermittelten Spiketrain-Distanzen (siehe Material und Methode) in Abb. 5.1 B, D und F dargestellt. Die Distanz beträgt 0, wenn identische Spiket trains miteinander verglichen werden. Dies wird in der diagonalen Linie in den Matrizen sichtbar. Die Distanz kann allerdings unterschiedlich hohe Maximalwerte annehmen. Diese hängen von den Spikezeitpunkt- und Spikezahlunterschieden der verglichenen Spiket rains, sowie von dem gewählten Auflösungsparameter  $\tau$  ab. So variierten die Distanzen beim dargestellten Rezeptor von 0 bis 9,6 (Abb. 5.1 B) , beim BGN1 von 0 bis 20,4 (Abb. 5.1 D) und beim AN4 von 0 bis 34,0 (Abb. 5.1 F). Ein direkter Vergleich der Distanzwerte zwischen unterschiedlichen Zellen ist somit nur bedingt möglich. Allerdings lassen sich die Spiketrain Unterschiede jeder einzelnen Zelle auf der Grundlage der Distanzen beurteilen. Besonders beim Rezeptor (Abb. 5.1 B) zeichnen sich Quadrate auf der Hauptdiagonalen ab. Sie resultieren daraus, dass Spiket rains einzelner MF untereinander geringere Distanzen aufwiesen, als Spiket rains, die durch Stimuli anderer Modulationsfrequenzen hervorgerufen wurden. Diese Abgrenzung von Spiket rains einzelner Reizmuster zeigte sich hier bis zu einer



**Abbildung 5.1:** SPIKE-ANTWORTEN UND DISTANZMATRIZEN DER SPIKETRAINS VON DREI VERSCHIEDENEN ZELLEN DER UNTERSUCHTEN VERARBEITUNGSEBENEN. **A**, **C** und **E** Spike-Antworten auf die getesteten Stimuli mit unterschiedlichen Modulationsfrequenzen. Es sind Antworten auf acht Wiederholungen jedes Stimulus dargestellt. **B**, **D** und **F** Distanzen aller Spiketrams zueinander. Die Spiketrams wurden entsprechend der Spike-Rasterplots links beginnend mit der Modulationsfrequenz von 10 Hz durchnummeriert. Das Zeitfenster der Auswertung betrug 500 ms. Der Auflösungsparameter  $\tau$  wurde entsprechend einer optimalen Unterscheidung für jede Zelle unterschiedlich gewählt (Rezeptor  $\tau=2$  ms, BGN1  $\tau=4$  ms, AN4  $\tau=20$  ms; siehe dazu auch Abb. 5.11 B).

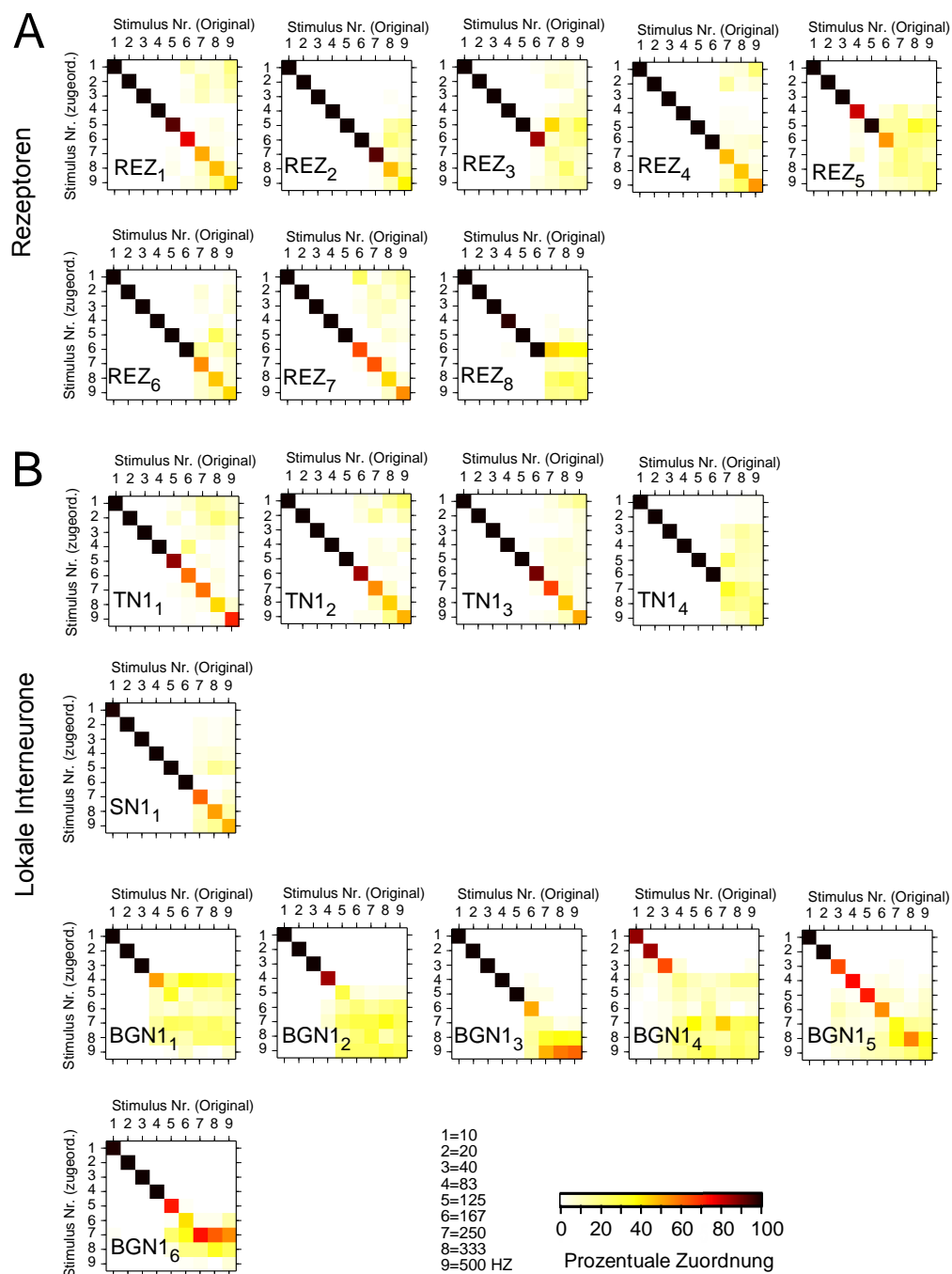
MF von 167 Hz. Beim dargestellten BGN1 (Abb. 5.1 D) ergaben sich geringe Distanzen zwischen den Spiketrains einzelner Modulationsfrequenzen nur bei 10, 20 und 40 Hz. Diese zeigten gleichzeitig eine große Distanz zu Spiketrains anderer Modulationsfrequenzen. Die Spiketrains höherer MF wiesen dagegen allgemein sehr geringe Distanzen zueinander auf, was in dem großen blauen Bereich sichtbar wird. Die Distanzmatrix des AN4 (Abb. 5.1 F) zeigt ein noch komplexeres Muster. Nicht mehr Spiketrains einzelner Modulationsfrequenzen, sondern eher von Frequenzbereichen grenzen sich durch unterschiedliche bzw. ähnliche Distanzwerte ab. So wiesen die Spiketrains, die durch Reize mit Modulationsfrequenzen von 83 bis 167 Hz hervorgerufen wurden, sehr geringe Distanzen zueinander auf, aber hohe Distanzen gegenüber den getesteten Reizmustern besonders hoher und niedriger Modulationsfrequenzen. Dies ist vor allem in den starken Unterschieden der Spikerate begründet (Abb. 5.1 E).

### 5.1.2 Klassifikation

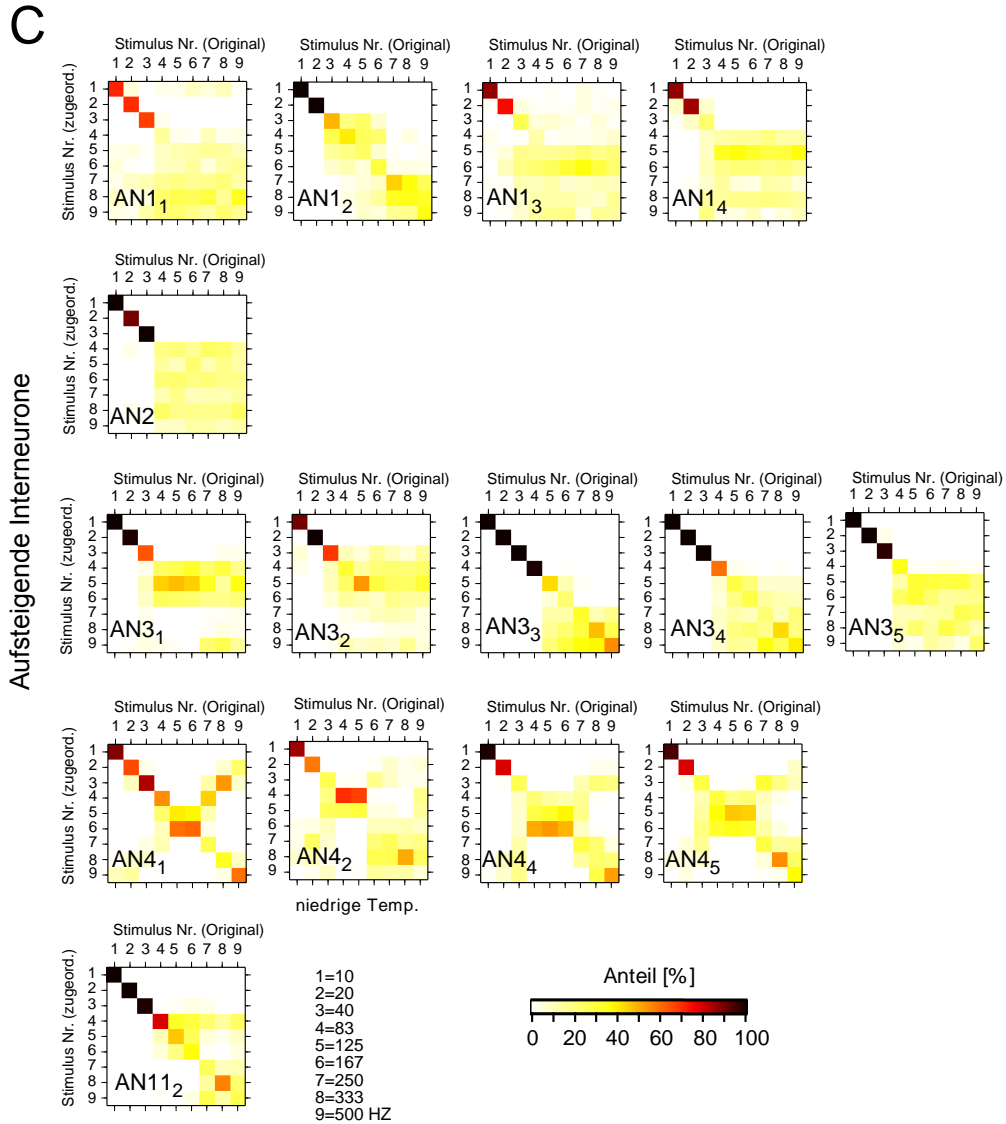
Die in 5.1.1 beschriebenen Distanzmatrizen zeigen die Unterschiede zwischen Spiketrains. Diese können auf der Kodierung von Unterschieden der getesteten Stimuli oder auf einer  $\text{trial-to-trial}$  Variabilität basieren. Um eine Unterscheidbarkeit von einzelnen Reizmustern zu gewährleisten, müssen die Spiketrains hervorgerufen durch Wiederholungen eines Stimulus geringere Distanzen zueinander aufweisen (also eine geringere  $\text{trial-to-trial}$  Variabilität haben) als zu solchen Spiketrains, die durch andere Reize hervorgerufen wurden. Um diese Unterscheidbarkeit zu quantifizieren, wurde ein Cluster Algorithmus angewendet, der eine prozentuale Zuordnung der Spiketrains zu einem Stimulus bestimmt. Dabei wurde für jeden Stimulus ein Template-Spiketrain zufällig gewählt. Alle anderen Spiketrains wurden nun demjenigen Template zugeordnet, zu dem sie die geringste Distanz aufwiesen. Dieses Verfahren wurde mehrmals für jeweils andere Template-Spiketrains wiederholt. In Abb. 5.2 sind die Klassifikations-Matrizen aller Zellen dargestellt. Die Elemente auf der Hauptdiagonalen geben für jedes Reizmuster den Anteil der korrekt klassifizierten Spiketrains an, während alle anderen Elemente inkor-

rekt klassifizierten Spiketrains entsprechen. Bei den Rezeptoren (Abb. 5.2 A) zeigte sich eine weitgehend korrekte Zuordnung der Spiketrains bis hin zu einer Modulationsfrequenz von 167 Hz (Stimulus 6). Bei REZ<sub>2</sub> wurden sogar bei einer Modulationsfrequenz von 250 Hz über 90% der Spiketrains korrekt klassifiziert. Die lokalen Interneurone TN1 und SN1 (Abb. 5.2 B) zeigten ähnliche Muster in den Klassifikations-Matrizen wie die Rezeptoren. Stimuli mit Amplitudenmodulationen von bis zu 167 Hz wurden nahezu perfekt zugeordnet, erst bei höheren Frequenzen nahm die korrekte Zuordnung ab. Die BGN1 Neurone zeigten stärkere interindividuelle Unterschiede in den Klassifikations-Matrizen (Abb. 5.2 B). Diese wurden besonders zwischen BGN1<sub>3</sub> und BGN1<sub>4</sub> deutlich. Während sich bei BGN1<sub>3</sub> noch alle Spiketrains der Modulationsfrequenz von 125 Hz perfekt klassifizieren ließen, nahm bei BGN1<sub>4</sub> in diesem Bereich der Anteil der korrekt zugeordneten Spiketrains auf unter 20% ab.

In Abb. 5.3 sind die Klassifikations-Matrizen der aufsteigenden Interneurone dargestellt. Verglichen mit den lokalen Interneuronen, wurden hier auffällig mehr Zuordnungen außerhalb der Hauptdiagonalen sichtbar, welches einem größeren Anteil an inkorrekt klassifizierten Spiketrains entspricht. So wurden beim AN1 und AN2 lediglich Spiketrains bis zu einer Modulationsfrequenz von 20 oder 40 Hz noch überwiegend korrekt klassifiziert. Dagegen war keine zuverlässige Zuordnung mehr für Spiketrains möglich, die durch Stimuli höherer MF hervorgerufen wurden. Beim AN3 wird ein größerer Anteil korrekt klassifizierter Spiketrains bereits bei niedrigeren MF sichtbar. Bei diesem Zelltyp fallen interindividuelle Unterschiede zwischen dem Bereich der Modulationsfrequenzen auf, der einen hohen Anteil an inkorrekt klassifizierten Spiketrains und eine große Ähnlichkeit zueinander ergab. AN4 zeigt schon bei niedrigen Modulationsfrequenzen einen geringen Anteil an korrekt zugeordneten Spiketrains. Besonders auffällig ist bei dieser Zelle aber vor allem, dass sich nicht so sehr zwischen hohen Modulationsfrequenzen ein Cluster gleichmäßiger Zuordnung bildet, sondern besonders im Bereich von 83 bis 167 Hz (Stimulus 4-6). Dabei werden horizontale Strukturen sichtbar, die eine starke Ähnlichkeit benachbarter MF für diese Zelle verdeutlichen. In diesem Frequenzbereich kommt es zu einer einheitlich starken Reduktion



**Abbildung 5.2:** KLASSIFIKATIONS-MATRIZEN DER **A** REZEPTOREN UND **B** LOKALEN INTERNEURONE Legende siehe Abb.

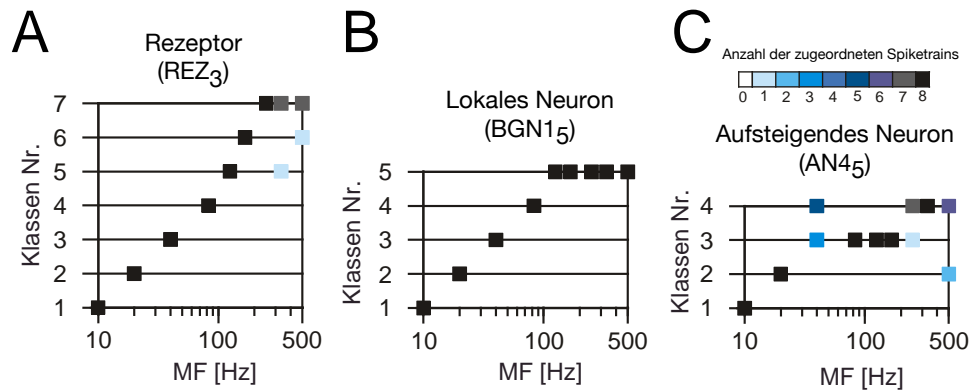


**Abbildung 5.3:** KLASSIFIKATIONS-MATRIZEN DER AUFSTEIGENDEN INTERNEURONE. Dargestellt sind die Wahrscheinlichkeiten, mit denen Spiketrains eines Stimulus (horizontale Achse) zu einem Template-Spiketrain eines Stimulus (vertikale Achse) zugeordnet wurden. Die Elemente der Hauptdiagonalen geben korrekt klassifizierte Spiketrains an, während alle anderen Elemente inkorrekt klassifizierte Spiketrains darstellen. Das Zeitfenster der Auswertung betrug 500 ms. Der Auflösungsparameter  $\tau$  wurde entsprechend einer optimalen Unterscheidung für jede Zelle unterschiedlich gewählt (siehe dazu Abb. 5.11 B).

der Spikerate bei gleichzeitig geringer Ankopplung der Spikes an das Reizmuster (vgl. Abb. 5.1 E und F). Bei AN4<sub>2</sub>, welches bei niedriger Temperatur abgeleitet wurde, zeigt sich diesbezüglich eine leichte Verschiebung zu niedrigeren MF. Des Weiteren wird (besonders bei AN4<sub>1</sub>) eine Nebendiagonale sichtbar. Außerhalb des Bereiches von 83-167 Hz weisen offenbar Spiketrains niedriger und hoher MF eine größere Ähnlichkeit zueinander auf, als benachbarte Modulationsfrequenzen. Dieses Muster zeigt sich auch in der in Abb. 5.1 E dargestellten Spikeantwort von AN4<sub>5</sub>. Die Klassifikationsmatrix des AN11 zeigt ein dem AN3 vergleichbares Bild. Spiketrains bis zu einer MF von 83 Hz konnten nahezu perfekt zugeordnet werden, während die Unterscheidungsfähigkeit bei höheren Modulationsfrequenzen stark abnahm.

Der bisher angewendete Klassifikationsalgorithmus bezieht sich auf die Unterscheidbarkeit einzelner Modulationsfrequenzen. Damit ist eine Vorannahme über die MF als mögliche separate Klassen enthalten, die nicht unbedingt einer systemimmanenten Klassifikation entsprechen muss. So könnten einerseits die getesteten Stimuli nicht die Klassen treffen, die von einer Zelle separierbar sind. Auf der anderen Seite kann eine Klassifikation zu einem möglichen Zusammenfügen bestimmter physikalisch unterschiedlicher Reizparameter zu einer Klasse führen. Bei einem großen Stimulusraum ist eine Reduktion in verhaltensrelevante Klassen sogar zu erwarten. So ist es denkbar, dass besonders in höheren Verarbeitungsebenen nicht einzelne MF voneinander abgegrenzt werden, sondern vielmehr Bereiche von MF. Dies deutet sich in Abb. 5.1 D für BGN1 an, bei dem alle hohen Modulationsfrequenzen eine geringe Distanz zueinander aufwiesen. Beim AN4 (Abb. 5.1 F) zeigte sich eine große Ähnlichkeit der Spiketrains, hervorgerufen durch Modulationsfrequenzen von 83, 125 und 167 Hz, bei einer gleichzeitig sehr großen Distanz zu niedrigen und hohen Modulationsfrequenzen. Um die in Abb. 5.2 und 5.3 dargestellte Klassenbildung zu überprüfen, wurde zusätzlich ein unüberwachter Clusteralgorithmus herangezogen (Slonim et al., 2005).

In Abb. 5.4 sind die Ergebnisse einer Klassifikation für die in Abb. 5.1 gezeigten Zellen dargestellt. Die Zahl der Klassen wurde hier nicht vorgegeben, sondern so gewählt, dass möglichst viele Spiketrains eines Reizmusters nur einer Klasse zugeordnet werden. Aus dieser Optimierung resultierte für die



**Abbildung 5.4:** KLASSIFIKATION BASIEREND AUF EINEM *unüberwachten* CLUSTERALGORITHMUS FÜR DIE ANTWORTEN DER DREI ZELLEN IN ABB.1. **A** Rezeptor (REZ<sub>3</sub>) **B** Lokales Interneuron (BGN1<sub>5</sub>) und **C** Aufsteigendes Interneuron (AN4<sub>5</sub>). Dargestellt ist die Anzahl der Spiketrains eines Stimulus (horizontale Achse), die zu einer Klasse (vertikale Achse) zugeordnet wurde. Die Wahrscheinlichkeit, dass ein Spiketrain  $i$  in einem Cluster  $c$  zugeordnet wurde, betrug  $P(c|i) > 0.99$ . Die Zahl der Klassen ergab sich aus einer möglichst hohen Anzahl an Spiketrains eines Reizmusters, die nur einer Klasse zugeordnet wurden. Der Auflösungsparameter  $\tau$  wurde identisch zu dem Template-Klassifikationsalgorithmus (Abb. 5.1, 5.2, 5.3) gewählt (Rezeptor  $\tau=2$  ms, BGN1  $\tau=4$  ms, AN4  $\tau=20$  ms)

neun getesteten Reizmuster eine Aufteilung der Antworten in sieben Klassen für den Rezeptor (Abb. 5.4 A), fünf Klassen für das lokale Interneuron BGN1 (Abb. 5.4 B) und vier Klassen für das aufsteigende Interneuron AN4 (Abb. 5.4 C). Für den Rezeptor ergab sich erwartungsgemäß eine nahezu perfekte Separation der Antworten gemäß der Reizmuster bis hin zu Modulationsfrequenzen von 167 Hz. Dagegen wurden beim BGN1 Spiketrains nur bis zu einer Modulationsfrequenz von 83 Hz unterschiedlichen Klassen zugeordnet. Die Antworten auf 125 bis 500 Hz wurden in einer Klasse zusammengefügt. Beim AN4 zeigte sich erwartungsgemäß in einem Bereich von 83 bis 167 Hz eine Zuordnung der Spiketrains zu einer gemeinsamen Klasse (Klasse Nr. 3, Abb. 5.4 C). Der zugrundeliegende Filter grenzt offenbar aber nicht perfekt gegenüber den Randfrequenzen ab. Einzelne Spiketrains, hervorgerufen durch Modulationsfrequenzen von 40 und 250 Hz, wurden auch dieser Klasse Nr. 3 zugeordnet.

Es stellt sich die Frage, inwieweit dieses Bild einen prinzipiellen Unterschied zu den auf einer Template Wahl basierenden Klassifikationen ergibt, die in Abb. 5.2 und 5.3 gezeigt sind. Die Anzahl der Klassen und die Zu-



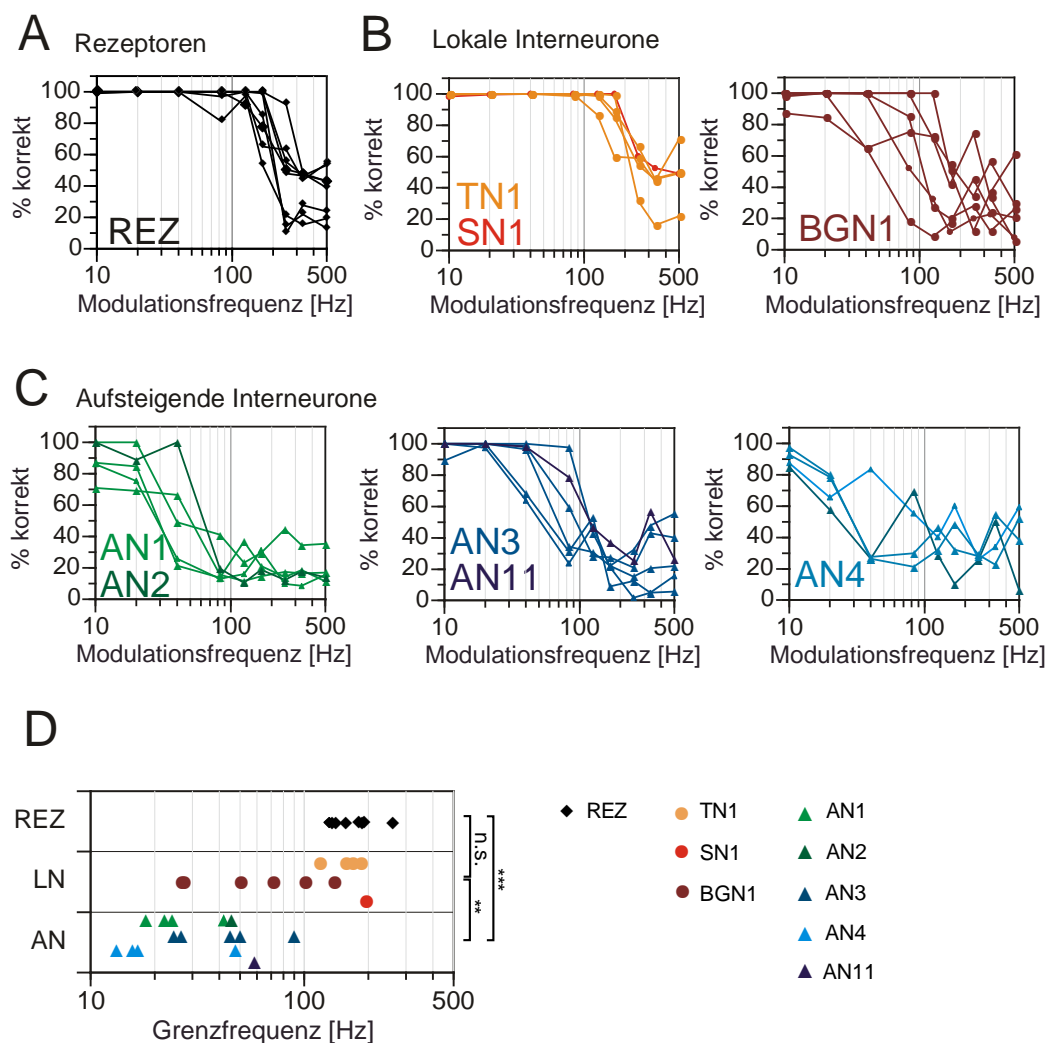
ordnung der Spiketrains, hervorgerufen durch unterschiedliche Reizmuster zu einer Klasse, ist bei dem unüberwachten Verfahren nicht vorgegeben. Es ergaben sich deutliche Unterschiede zwischen den drei betrachteten Zelltypen. Diese werden aber auch schon in den Klassifikations-Matrizen durch die unterschiedlich verteilten Cluster in Abb. 5.2 und 5.3 sichtbar. Da ein Vergleich der Analyseverfahren bei allen Zellen keine grundsätzlichen Unterschiede ergab, wird hier auf eine detaillierte Darstellung der Ergebnisse verzichtet. Die folgenden Analysen beziehen sich auf die Unterscheidbarkeit der einzelnen Modulationsfrequenzen, weshalb hierfür die Ergebnisse des auf einer Template Wahl basierenden Clusters herangezogen werden.

### 5.1.3 Unterscheidbarkeit der einzelnen Reizmuster

Die in Kapitel 5.1.2 gezeigten Klassifikations-Matrizen geben die Anteile der korrekt und inkorrekt zugeordneten Spiketrains wieder. Um ein differenziertes Bild einer eindeutigen Repräsentation eines Stimulus für einen Zelltyp zu erlangen, wird in diesem Teil der Betrachtung lediglich auf den Anteil der korrekt zugeordneten Spiketrains für jede getestete Modulationsfrequenz zurückgegriffen ( Abb. 5.5 A, B und C). Alle Zellen zeigten bezüglich der korrekten Zuordnung der Spiketrains Tiefpasseigenschaften, indem die Kurven bei höheren Modulationsfrequenzen deutlich abfielen. Allerdings variierte die Frequenz, bei der ein Abfall der Kurven auftrat, zwischen den einzelnen Neuronen erheblich. Bei der Mehrzahl der Zellen zeigte sich eine Verringerung der Grenzfrequenz von der jeweils niedrigeren zur nächst höheren Verarbeitungsebene (Abb. 5.5 D). Lediglich zwischen den Rezeptoren und den lokalen Interneuronen ergab sich kein signifikanter Unterschied zwischen den Grenzfrequenzen. Wie schon bei der Betrachtung anderer Zusammenhänge (vgl. Abb. 4.6), basiert dies auf der großen Übereinstimmung der Werte zwischen den Rezeptoren und den lokalen Interneuronen TN1 und SN1, die im Bereich von 125 Hz bis teilweise über 150 Hz lagen. Beim lokalen Interneuron BGN1 zeigten sich dagegen deutlich niedrigere Grenzfrequenzen als bei den Rezeptoren, den TN1 und den SN1. Damit nahm das BGN1 eine intermediäre Stellung mit einer gleichzeitig besonders breiten Verteilung der Grenzfrequenzen

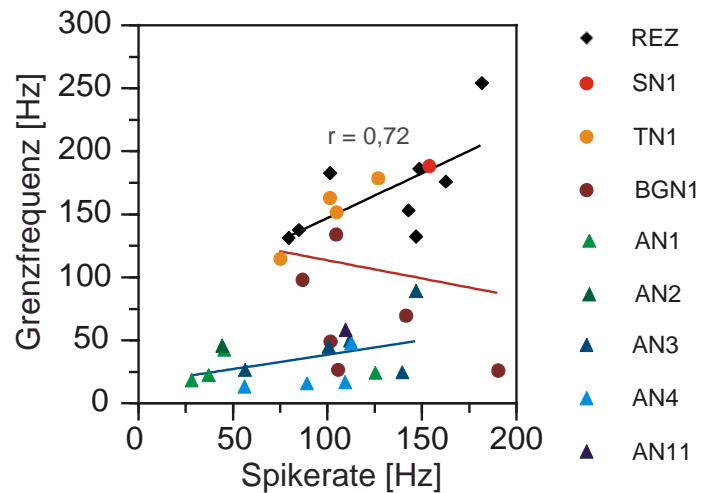
ein. Keines der aufsteigenden Interneurone erreichte Werte von 125 Hz. Die Grenzfrequenzen der Mehrzahl der Zellen dieser Verarbeitungsebene lagen unter 40 Hz. Jenseits der Grenzfrequenz blieb die korrekte Zuordnung bei einigen Zellen auf einem weitgehend gleich bleibenden Niveau (Rezeptoren: Abb. 5.5 A, TN1 und SN1: Abb. 5.5 B, AN1, AN2 und AN3: Abb. 5.5 C). Bei manchen Zellen stiegen die Kurven bei höheren Modulationsfrequenzen allerdings wieder an. Dies betraf vor allem BGN1 und AN4 (Abb. 5.5 B und C).

Bei einer präzisen Ankopplung der Spikes an die Amplitudenmodulation des Reizes, ist eine positive Korrelation der Grenzfrequenz mit der Spikerate zu erwarten. Ist die Spikerate niedriger als die Modulationsfrequenz des Stimulus, so kann nicht mehr jede Stimulusperiode mit einem Spike beantwortet werden und die Distanz zwischen den Spiketrains eines Reizes nimmt notwendigerweise zu. Gleichzeitig kann die Distanz zu Spiketrains, die durch Vielfache der Modulationsfrequenz hervorgerufen wurden, abnehmen. Beides bedingt eine Verschlechterung der korrekten Zuordnungen der Spiketrains. Bei der Betrachtung der Spikerate ergibt sich zunächst das Problem, welche Spikerate als Bezugsgröße für die Auswertung herangezogen wird. So variiert die Spikerate, wie schon in Kapitel 4.1.1 gezeigt, bei einigen Zellen beträchtlich in Abhängigkeit von der Modulationsfrequenz des Reizes. Eine mittlere Spikerate über alle getesteten Stimuli liefert somit nicht unbedingt einen repräsentativen Ausgangswert für eine Zelle. Aus diesem Grund wurde hier die mittlere maximale Spikerate bestimmt. Diese entspricht der Antwort auf den Stimulus, bei dem die Zelle am stärksten reagierte. In Abb. 5.6 wurde für die einzelnen Zelltypen die Grenzfrequenz gegen die mittlere maximale Spikerate aufgetragen. Bei den Rezeptoren ergab sich eine signifikante Korrelation zwischen der Grenzfrequenz und der Spikerate. Die lokalen Interneurone zeigten diesbezüglich wieder ein uneinheitliches Bild. Bei TN1 und SN1 wird ein Zusammenhang der beiden Größen sichtbar, bei BGN1 allerdings nicht. Für die aufsteigenden Interneurone konnte keine signifikante Korrelation zwischen der Spikerate und der Grenzfrequenz nachgewiesen werden.



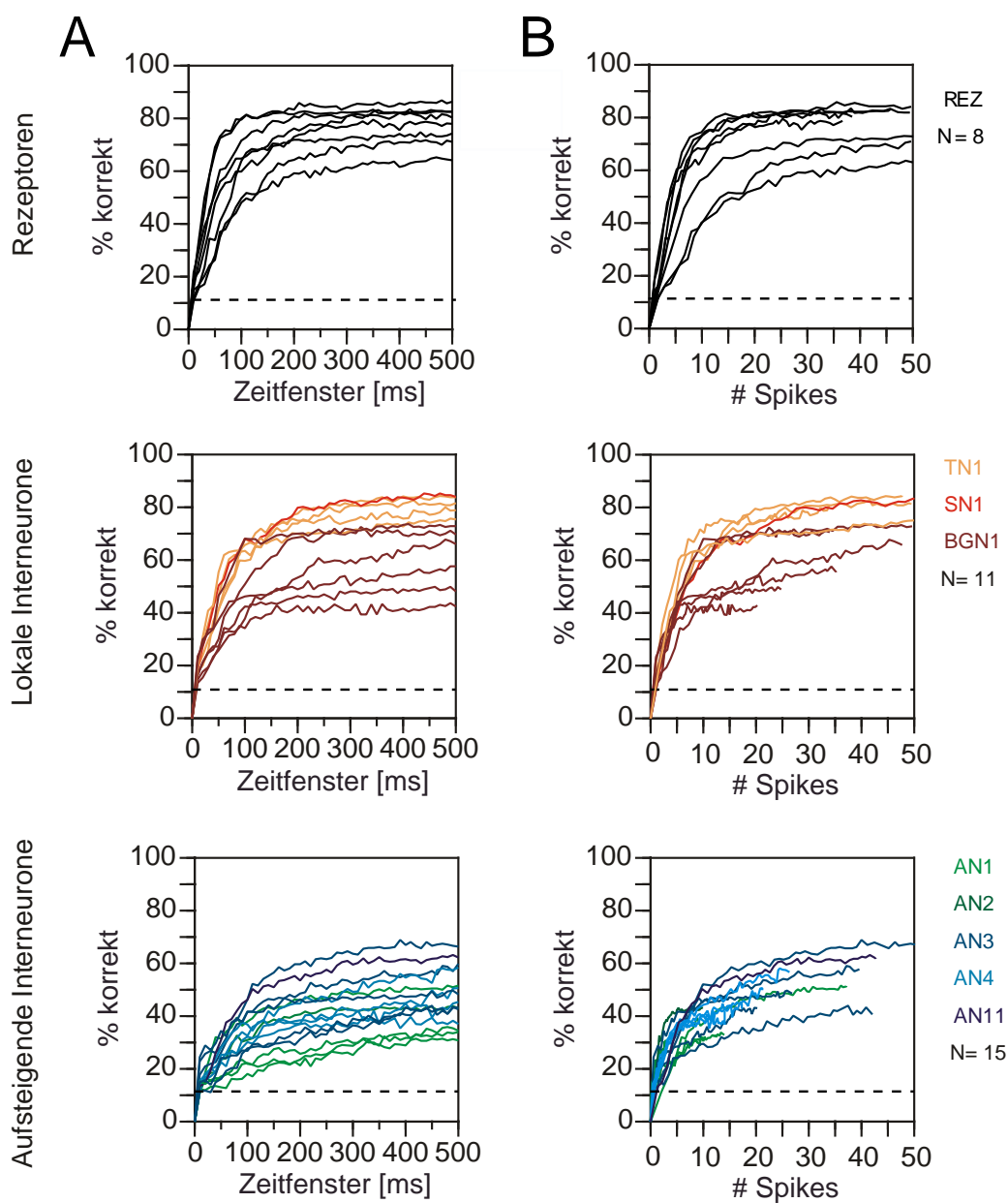
**Abbildung 5.5:** ANTEIL DER KORREKT ZUGEORDNETEN SPIKETRAINS GEGENÜBER DEN GETESTETEN MODULATIONSFREQENZEN DER STIMULI BEI **A** REZEPTOREN, **B** LOKALEN INTERNEURONEN, **C** AUFSTEGENDEN INTERNEURONEN SOWIE **D** GRENZFREQENZEN DER KORREKTEN ZUORDNUNG FÜR ALLE DREI VERARBEITUNGSEBENEN. Dazu wurde der Maximalwert der Kurven in **A**, **B**, **C** auf 100% gesetzt und die Modulationsfrequenz bestimmt, bei der 90% erreicht wurde. Das Zeitfenster der Auswertung betrug für alle Zellen 500 ms, während  $\tau$  für jede Zelle entsprechend einer optimalen Unterscheidbarkeit gewählt wurde (vgl. Abb. 5.11 B). U-Test für **D**: REZ-LN, LN-AN, REZ-AN; siehe Abbildung.

**Abbildung 5.6:**  
ZUSAMMENHANG  
ZWISCHEN DEN GRENZ-  
FREQUENZEN DER KOR-  
REKTEN ZUORDNUNG  
VON SPIKETRAINS  
(VGL. ABB. 5.5 D)  
UND DER MAXIMALEN  
SPIKERATE. Rez: N =  
8,  $p < 0,05$ ; LN: N = 11,  
n.s.; AN: N = 15, n.s.



#### 5.1.4 Unterscheidbarkeit in Abhängigkeit vom Zeitfenster und der Spikezahl

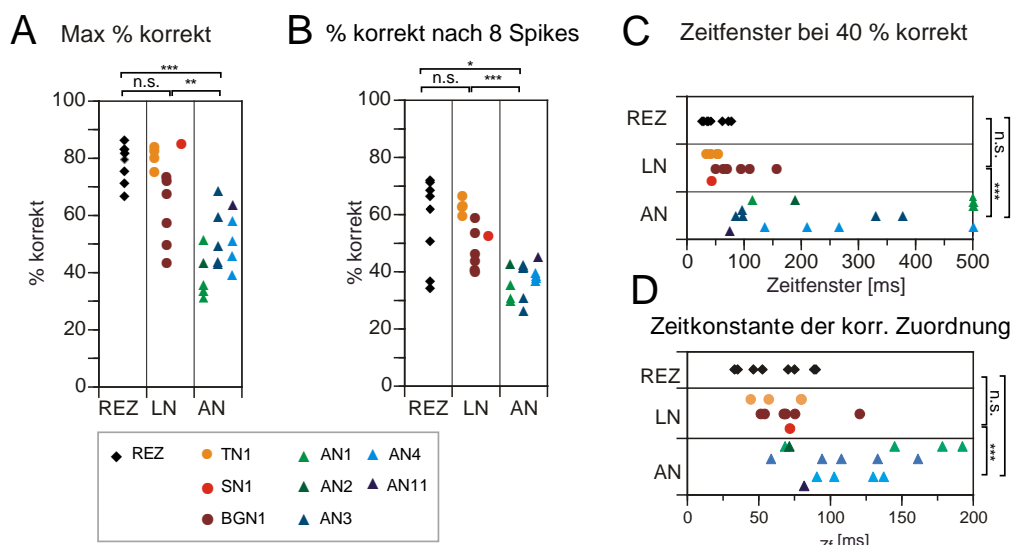
Im Folgenden soll der Frage nachgegangen werden, wie gut die getesteten Reizmuster insgesamt von den einzelnen Zelltypen unterschieden werden können und wie sich diese Unterscheidbarkeit zur Länge des Zeitfensters, welches in die Auswertung einging, verhält. Dazu wurde die Dauer von 10 - 500 ms variiert und dabei der mittlere Anteil aller korrekt zugeordneten Spiketrains über die getesteten Stimuli bestimmt. Bei einem Zeitfenster von 500 ms entspricht dieser Anteil dem Mittelwert über die Elemente der Hauptdiagonalen in Abb. 5.2 und 5.3. Die Unterscheidbarkeit der Reizmuster auf der Grundlage der Spiketrains, zeigte erwartungsgemäß eine klare Abhängigkeit von der Größe des betrachteten Zeitfensters (Abb. 5.7 A). Während bei einem Zeitfenster von 10 ms bei allen Zellen das Niveau einer zufälligen Zuordnung nicht überschritten wurde, ergab sich schon bei 50 ms ein signifikant erhöhter Prozentsatz korrekt zugeordneter Spiketrains. Die meisten Rezeptoren und lokalen Interneurone zeigten bei einem ausgewerteten Zeitfenster von 250 ms die maximal erreichte Unterscheidbarkeit. Dagegen verliefen die Kurven bei den aufsteigenden Interneuronen deutlich flacher und erreichten teilweise bis zu einem Zeitfenster von 500 ms kein Sättigungsniveau. Auffällig ist aber vor allem, dass die maximal erreichte Unterscheidbarkeit sowohl zwischen den Zelltypen, als auch den Verarbeitungsebenen voneinander ab-



**Abbildung 5.7:** ZUSAMMENHANG ZWISCHEN DER UNTERSCHIEDUNGSFÄHIGKEIT UND DEM BETRACHTETEN ZEITFENSTER BZW. DER ZAHL DER SPIKES BEI ZELLEN ALLER DREI VERARBEITUNGSEBENEN. Dargestellt in **A** der mittlere Anteil der korrekt zugeordneten Spiketrains gegenüber der Länge des Zeitfensters, welches in die Auswertung einging aufgetragen. In **B** wurden der mittlere Anteil der korrekt zugeordneten Spiketrains gegenüber den einbezogenen Zahlen der Spikes aufgetragen. Die gestrichelte Linie in den Abbildungen, gibt den bei einer zufälligen Zuordnung der Spiketrains erreichbaren Wert an.

wich. Die Werte nahmen von den Rezeptoren, den lokalen Interneuronen TN1 und SN1 über BGN1 bis hin zu den aufsteigenden Interneuronen ab. Bei einem festen Zeitfenster konnten, aufgrund unterschiedlicher Feuerraten, bei den einzelnen Zellen ungleiche Spikezahlen in die Auswertung eingehen. Dieses könnte letztlich auch die Unterschiede zwischen den in Abb. 5.7 A dargestellten Kurven bedingen. Um dem nachzugehen, wurde der Anteil der prozentual korrekt zugeordneten Spiketrains über der Zahl der ausgewerteten Spikes aufgetragen (Abb. 5.7 B). Es zeigte sich, dass der Auswertung zwar tatsächlich sehr unterschiedliche Spikezahlen zugrunde lagen und die Kurven enger zusammenfielen, die für Abb. 5.7 A beschriebene Tendenz aber auch bei dieser Darstellung erhalten bleibt. Bei den Rezeptoren, sowie den lokalen Interneuronen TN1 und SN1, ergab sich ein höherer Anteil korrekt zugeordneter Spiketrains mit zunehmender Spikezahl als bei BGN1 und den aufsteigenden Interneuronen.

In Abbildung 5.8 sind die wesentlichen Ergebnisse zur Unterscheidbarkeit der Modulationsfrequenzen zusammengefasst. Der Anteil der korrekt zugeordneten Spiketrains der einzelnen Zellen nimmt mit steigender Verarbeitungsebene ab (Abb. 5.8 A). Für die Rezeptoren und die lokalen Interneurone TN1 und SN1 wurden Werte von 70 bis 85% Prozent korrekt zugeordneter Spiketrains erreicht. Dies entspricht einer bemerkenswerten Unterscheidbarkeit der Modulationsfrequenzen, da immerhin vier der neun getesteten Modulationsfrequenzen über 150 Hz lagen. Das lokale Interneuron BGN1, welches neben tonischen auch phasische Antworteigenschaften zeigt, erreichte mit 45 bis 75% korrekt zugeordneten Spiketrains deutlich niedrigere Werte. Die Gruppe der lokalen Interneurone wies somit ein eher uneinheitliches Bild auf : während die Unterscheidbarkeit bei SN1 und TN1 der von Rezeptoren gleich, BGN1 diesbezüglich eher den aufsteigenden Interneuronen zugeordnet werden. Diese zeigten zwischen 30 und 70% korrekt zugeordneter Spiketrains und wiesen damit gegenüber den Rezeptoren und lokale Interneuronen eine signifikant niedrigere Unterscheidbarkeit auf. Für die aufsteigenden Interneurone ergaben sich die höchsten Werte bei AN3 und AN11 und die niedrigsten für die richtungskodierende Zelle AN1. Die Zeitfenster, die benötigt werden, um eine zu 40% korrekte Zuordnung der Spiketrains zu erreichen, werden von



**Abbildung 5.8:** ÜBERSICHT DER MAXIMAL ERREICHTEN UNTERSCHIEDBARKEIT, DER BENÖTIGTEN ZEITFENSTER UND DES ZUSAMMENHANGS ZUR ZAHL DER SPIKES FÜR ZELLEN ALLER DREI VERARBEITUNGSEBENEN. Alle Datenpunkte ergeben sich aus den in Abb. 5.7 gezeigten Kurven. **A** Maximal erreichter Anteil der korrekt zugeordneten Spiketrains aller getesteter Reizmuster. **B** Prozentual korrekt zugeordnete Spiketrains nach Einbeziehung der ersten 8 Spikes. **C** Zeitfenster, bei dem 40% der Spiketrains korrekt zugeordnet wurden. **D** Zeitkonstante einer korrekten Zuordnung der Spiketrains. Die Zeitkonstante wurde anhand eines einfachen exponentiellen Fit der Kurven in Abb. 5.7 A berechnet und entspricht der Dauer des ausgewerteten Zeitfensters, bei dem die korrekte Zuordnung 67% des maximal erreichten Wertes entspricht (vgl. Material & Methoden). U-Test: REZ-LN, LN-AN, REZ-AN; siehe Abbildung.

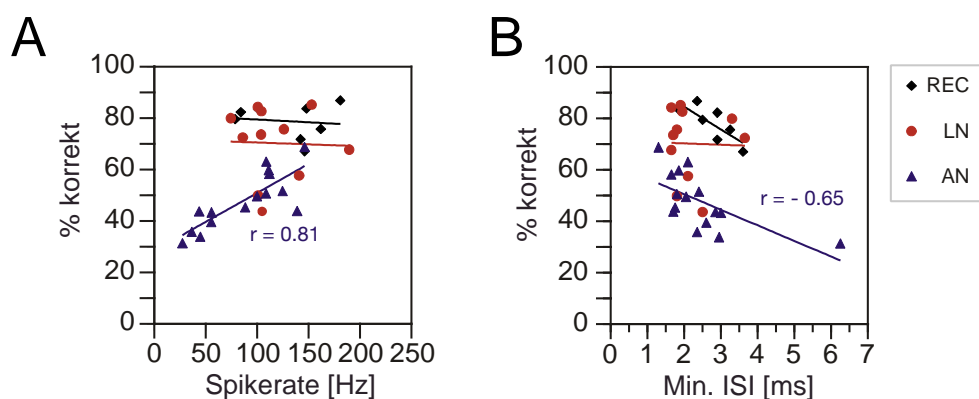
den Rezeptoren zu den höheren Verarbeitungsebenen größer (Abb. 5.8 C). So konnte zwar auch hier zwischen den Rezeptoren und den lokalen Interneuronen kein signifikanter Unterschied bestimmt werden, allerdings zeigte sich gegenüber den aufsteigenden Interneuronen eine stark signifikante Zunahme ( $p < 0.001$ ). Auch eine Bestimmung der Geschwindigkeit, mit der die korrekte Zuordnung mit der Länge des ausgewerteten Zeitfensters zunimmt (Abb. 5.8 D) ergab einen hoch signifikanten Unterschied zwischen den lokalen und den aufsteigenden Interneuronen ( $p < 0.001$ ). Zwischen den Rezeptoren und den lokalen Interneuronen wurde hingegen diesbezüglich kein Unterschied festgestellt. In Abbildung 5.8 B ist für alle Zellen der Anteil der korrekt zugeordneten Spiketrains bei Auswertung einer gleichen Spikezahl dargestellt. Vergleichbar mit Abb. 5.8 A ergab sich bei den Rezeptoren und den lokalen

Interneuronen ein signifikant höherer Anteil korrekt zugeordneter Spiketrains als bei den aufsteigenden Interneuronen. Bei dieser Auftrugung fällt aber auf, dass besonders die Werte der aufsteigenden Interneurone eine engere Verteilung aufweisen als in Abb. 5.8 A. Dies könnte auf eine Abhängigkeit der Unterscheidungsfähigkeit von der Spikerate hindeuten. Ob eine Abhängigkeit der Unterscheidungsfähigkeit für die einzelnen Zellen und Verarbeitungsebenen besteht, soll deshalb im Folgenden untersucht werden.

Die Erwartung wäre, dass die Unterscheidungsfähigkeit positiv von der Spikerate abhängt. Ein derartiger Zusammenhang kann sowohl bei einem  $\hat{\text{Ratenfilter}}$  als auch bei einem  $\hat{\text{Zeitfilter}}$  angenommen werden. Einerseits liefert eine hohe Spikerate gegenüber einer niedrigen eine bessere Möglichkeit, einen größeren Bereich an unterschiedlichen Reizmustern durch unterschiedliche Spikeraten voneinander abzugrenzen. Andererseits kann eine höhere Spikerate auch noch bei höheren Modulationsfrequenzen eine Ankopplung der Spikes an jede Periode des Stimulus erlauben, welches auch eine insgesamt bessere Unterscheidbarkeit der Reize bedingen kann.

In Abbildung 5.9 A ist der Zusammenhang zwischen der maximalen Spikerate und der Unterscheidbarkeit für die untersuchten Zellen dargestellt. Es zeigte sich lediglich für die aufsteigenden Interneurone eine signifikante Korrelation zwischen der mittleren Spikerate und dem Anteil der korrekt zugeordneten Spiketrains. Diese Korrelation ergab sich durch die geringe korrekte Zuordnung bei einzelnen aufsteigenden Interneuronen deren mittlere Spikeraten unter 50 Hz lagen. Bei Zellen, die mit mittleren Spikeraten von über 50 Hz reagierten, ließ sich keine signifikante Korrelation zwischen dem Anteil der korrekten Zuordnung und der Spikerate feststellen. Die Regressionsgeraden für die einzelnen Verarbeitungsebenen verlaufen hier weitgehend parallel zueinander, welches eine geringere Unterscheidbarkeit der aufsteigenden Interneurone gegenüber den lokalen Interneuronen und den Rezeptoren bei jeweils gleicher Spikerate bestätigt. Die schon in Abb. 5.8 gezeigten Unterschiede zwischen den Verarbeitungsebenen lassen sich also nicht alleine auf abweichende Spikeraten zurückführen. Die mittlere maximale Spikerate wurde über ein relativ langes Auswertefenster von 500 ms bestimmt, um eine zuverlässige Abschätzung der Spikezahl zu erlangen. Eine Abschätzung





**Abbildung 5.9:** ZUSAMMENHANG ZWISCHEN **A** DER MITTLEREN MAXIMALEN SPIKERATE UND **B** DEM MINIMALEN INTERSPIKE-INTERVALL (MIN. ISI) UND DER UNTERSCHIEDBARKEIT FÜR ZELLEN ALLER DREI VERARBEITUNGSEBENEN. **A** Für jede Zelle wurde die mittlere Spikerate bei maximaler Antwort bestimmt und gegenüber dem Anteil der korrekt zugeordneten Spiketrains für die Reize aller Modulationsfrequenzen aufgetragen (vgl. Abb. 4 A). REZ: N = 8, n.s.; LN: N = 11, n.s.; AN: N = 15,  $p < 0,001$ . **B** Aus den ISI Verteilungen der einzelnen Stimuli wurde für jede Zelle das minimale ISI bestimmt und gegenüber dem Anteil korrekt zugeordneter Spiketrains aufgetragen. REZ: N = 8, n.s.; LN: N = 11, n.s.; AN: N = 15,  $p < 0,01$ .

der maximalen instantanen Spikerate ist dabei nicht möglich. Diese könnte Hinweise liefern, inwieweit eine physiologische Limitation in Form einer verlängerten Refraktärzeit begrenzend für die Unterscheidbarkeit der Modulationsfrequenzen wirkt. Um dem nachzugehen wurden die minimal auftretenden Interspike-Intervalle für jede Zelle bestimmt (Abb. 5.9 B). Auch hierbei zeigte sich lediglich für die aufsteigenden Interneurone eine signifikante Korrelation zwischen dem Anteil der korrekt zugeordneten Spiketrains und dem minimalen Interspike-Intervall. Obwohl die maximale Spikerate für die aufsteigenden Interneurone im Mittel unter der von Rezeptoren und lokalen Interneuronen lag (vgl. Abb. 5.9 A), ergab sich kein Unterschied der minimalen Interspike-Intervalle zwischen den Verarbeitungsebenen. Diese können somit nicht die Unterschiede in der korrekten Zuordnung der Spiketrains zwischen den Verarbeitungsebenen erklären.

### Zusammenfassung

Die Spiketrains der Rezeptoren und der lokalen Interneurone TN1 und SN1 erlaubten eine nahezu perfekte Unterscheidung der Stimuli bis hin zu Mo-

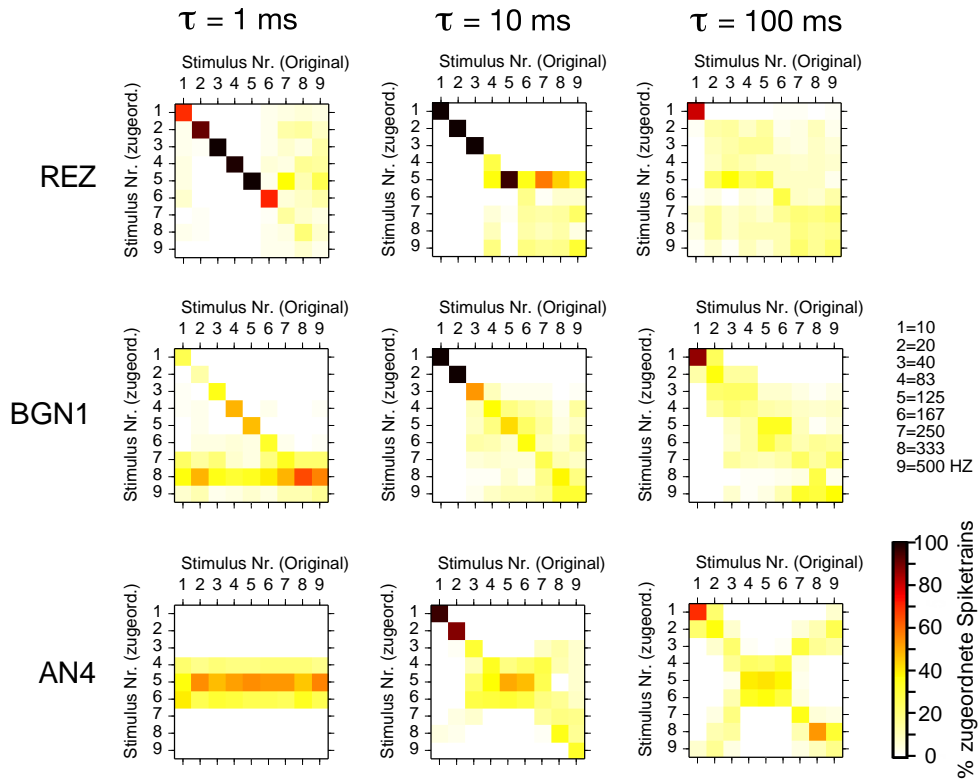
dulationsfrequenzen von etwa 150 Hz. Dabei wurden schon bei betrachteten Zeitfenstern von nur 150 ms, welche eine Einbeziehung von lediglich 5-8 Spikes bedeuteten, meist über 50% korrekt zugeordnete Spiketrains gemessen. Während bei diesen Zellen einzelne Reize noch bis hin zu hohen Modulationsfrequenzen als separate Klassen repräsentiert waren, zeigte sich bei dem lokalen Interneuron BGN1 und den aufsteigenden Interneuronen vielmehr ein Zusammenfügen verschiedener Modulationsfrequenzen zu größeren Klassen. Die Unterscheidbarkeit der einzelnen amplitudenmodulierten Reizmuster nahm schon bei deutlich niedrigeren MF ab. Die Abnahme der Unterscheidbarkeit bestand sowohl im Anteil der Spiketrains, die korrekt zugeordnet wurden, als auch die Größe der Zeitfenster, die in die Auswertung eingehen mussten, um eine bestimmte Unterscheidungsfähigkeit zu erreichen. Auch wenn für alle Zellen eine gleiche mittlere Spikezahl betrachtet wurde, blieb diese Tendenz bestehen. Die Unterschiede zwischen den Zelltypen und den Verarbeitungsebenen können weder alleine auf die mittleren Spikeraten noch auf die minimalen Interspike-Intervalle zurückgeführt werden.

## 5.2 Der Auflösungsparameter $\tau$

Die in 5.1 dargestellte Unterscheidbarkeit der Modulationsfrequenzen beruht auf den Distanzwerten, die sich zwischen Spiketrains gleicher und unterschiedlicher Reizmuster ergeben. Um diese zu berechnen, wurden die Spikes durch eine Alpha-Funktion ersetzt (vgl. Material & Methoden, Machens et al. (2003)). Der Verlauf der Funktion kann als Imitation eines EPSP eines nachgeschalteten Neurons angesehen werden. Die Breite der Funktion wird durch den freien Parameter  $\tau$  definiert, der den zeitlichen Einfluss der Spikes bestimmt. Das Distanzmaß bewegt sich abhängig von  $\tau$  zwischen den Extremen eines Koinzidenzdetektors, für  $\tau \rightarrow 0$ , und einer reinen Spikezahlunterscheidung, für  $\tau \rightarrow \infty$ .

### 5.2.1 Die Bedeutung des Auflösungsparameters $\tau$ für die Unterscheidbarkeit

Die Rolle, die der Auflösungsparameter  $\tau$  für die Unterscheidbarkeit der Modulationsfrequenzen spielt, soll in Abb. 5.10 verdeutlicht werden. Dargestellt sind hier die Klassifikations-Matrizen für drei Zellen der ersten drei Verarbeitungsebenen (vgl. Abb. 5.1). Für jede Zelle wurden die Spiketrain-Distanzen mit drei unterschiedlichen Werten von  $\tau$  berechnet (links:  $\tau = 1$  ms, Mitte:  $\tau = 10$  ms und rechts  $\tau = 100$  ms) und anschließend klassifiziert. Ein Wert von  $\tau = 1$  ms ergab bei dem Rezeptor einen hohen Anteil an korrekt zugeordneten Spiketrains, sichtbar durch die Elemente auf der Hauptdiagonalen. Lediglich Spiketrains, hervorgerufen durch Modulationsfrequenzen von 250 bis 500 Hz, ließen sich nicht mehr klar zuordnen. Die korrekte Zuordnung und damit die Unterscheidbarkeit, nahm bei dem Rezeptor für  $\tau$ -Werte von 10 ms deutlich ab. Für  $\tau = 100$  ms entsprach die Zuordnung nahezu einer zufälligen Verteilung. Nur für die Antworten auf die 10 Hz Modulationsfrequenz (Stimulus 1) zeigte sich hier ein hoher Anteil an korrekt zugeordneten Spiketrains, der aber v.a. auf die Stimulusstruktur zurückzuführen sein dürfte (vgl. 1.2.3). Für den Rezeptor lieferte offenbar eine Auswertung der Spikes mit einer hohen zeitlichen Präzision ( $\tau = 2$ ms; vgl. Abb. 5.2 und Abb. 10) eine optimale Unterscheidbarkeit. Trifft dies auch für das lokale Interneuron BGN1 und das aufsteigende Interneuron AN4 zu? Für beide Zellen zeigen die Klassifikations-Matrizen bei einem Wert von  $\tau = 1$  ms, im Gegensatz zum Rezeptor, nur einen geringen Anteil an korrekt zugeordneten Spiketrains. Auffällig beim AN4 war, dass nahezu alle Spiketrains dem Stimulus Nr. 5 zugeordnet wurden. Für kleine Werte von  $\tau$  wird die Distanz zwischen zwei Spiketrains durch die Summe der Spikes, minus dem zweifachen der koinzidenten Spikes bestimmt. Da beim AN4 offenbar der Anteil der koinzidenten Spikes vernachlässigbar ist, werden die Spiketrains vorzugsweise dem Stimulus zugeordnet, der die geringste Spikezahl hervorrief (Stimulus 5). Beim BGN1 zeigte sich diese Tendenz in einem hohen Anteil der Zuordnung zu Stimulus 8. Mit höheren Werten von  $\tau$  nimmt die Bedeutung zeitlich präziser Spikes ab. Eine solche zunehmende Integration über die Spikezeitpunkte



**Abbildung 5.10:** KLASSIFIKATION IN ABHÄNGIGKEIT VOM ZEITLICHEN AUFLÖSUNGSPARAMETER  $\tau$  BEI ZELLEN DER ERSTEN DREI VERARBEITUNGSEBENEN. **A** Rezeptor, **B** Lokales Interneuron BGN1 und **C** Aufsteigendes Interneuron AN4 (vgl. Abb. 5.1). Das Zeitfenster der Auswertung betrug 500 ms; die Klassifikations-Matrizen wurden mit  $\tau$ -Werten von 1 ms (links), 10 ms (Mitte) und 100 ms (rechts) berechnet.

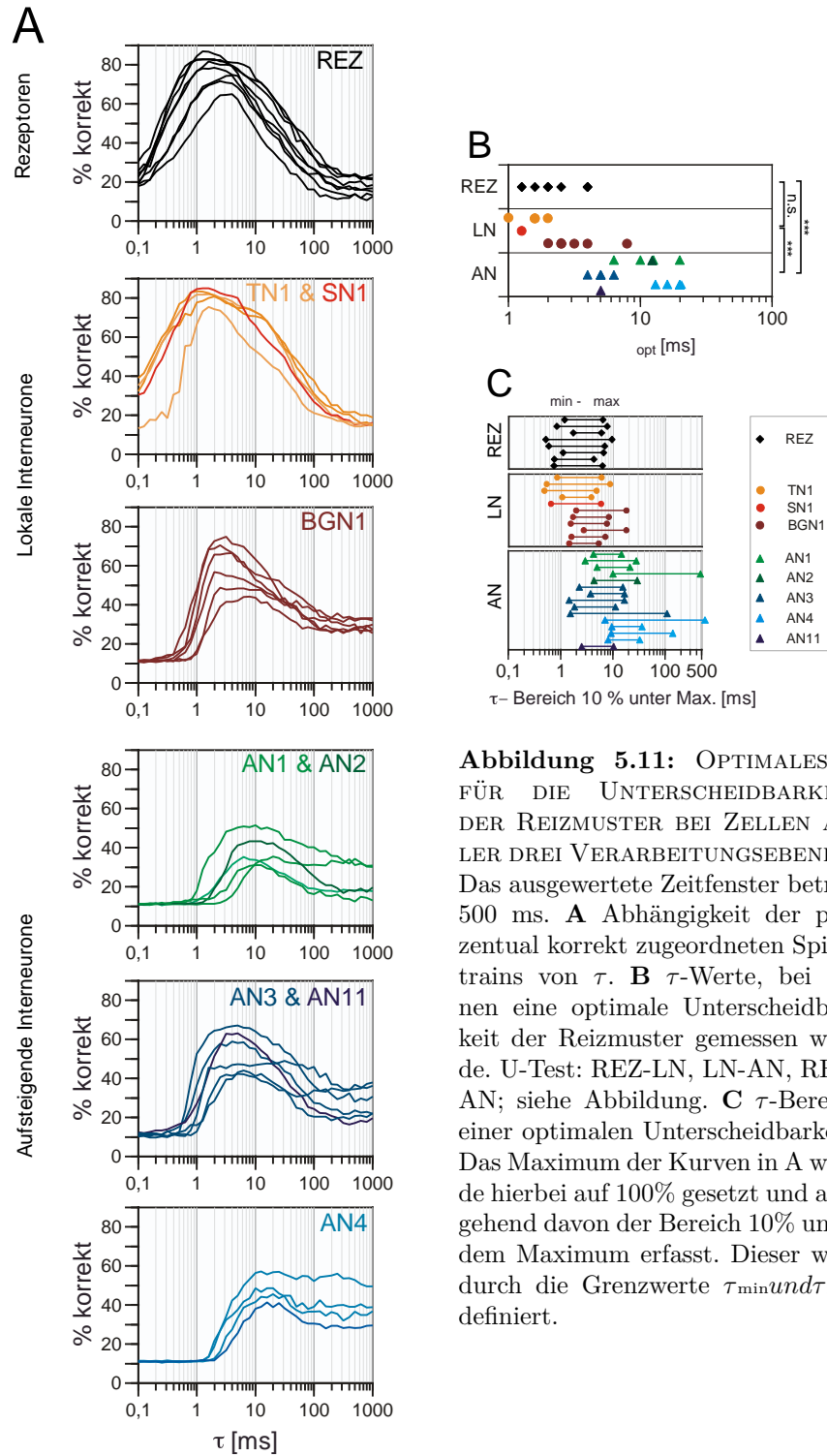
bedingt offenbar für BGN1 und AN4 bei einem Wert von  $\tau = 10$  ms eine verbesserte Unterscheidbarkeit der Stimuli. (Der höchste Anteil an korrekt zugeordneten Spiketrains wurde für dieses BGN1 allerdings schon bei  $\tau = 4$  ms gemessen, beim AN4 erst für einen Wert von  $\tau = 20$  ms (vgl. Abb. 2 und Abb. 10)). Bei beiden Zellen nahm die Unterscheidbarkeit für  $\tau = 100$  ms insgesamt wieder ab, beim BGN1 allerdings deutlicher als beim AN4. Es wurden besonders bei letzterem Cluster gleichmäßiger Zuordnung sichtbar. Diese entsprechen einem Zusammenfügen von Reizen, mit ähnlichen Spikezahlen, gegenüber einer Abgrenzung zu Reizen, die abweichende Spikezahlen hervorriefen. In diesem Fall wird somit eine, wenn auch reduzierte, Unterscheidbarkeit aufgrund von Spikezahlunterschieden sichtbar.

### 5.2.2 Das optimale $\tau$

Im folgenden soll der Frage nachgegangen werden, wie die Spiketrain-Distanzen und damit die Unterscheidbarkeit einzelner SAM-Stimuli von dem Auflösungsparameter  $\tau$  abhängen und zwar vergleichend für alle hier untersuchten Zelltypen. In Abb. 5.11 A ist die Unterscheidbarkeit als Funktion von  $\tau$  dargestellt. Für alle Zellen zeigte die Unterscheidbarkeit eine deutliche Abhängigkeit von dem gewählten  $\tau$ -Wert. Von den Kurven wurde der optimale  $\tau$ -Wert, d.h. der Peak Wert der Kurven bestimmt ( $\tau_{\text{opt}}$ : Abb. 5.11 B). Für die Rezeptoren lagen die optimalen  $\tau$ -Werte unter 5 ms. Dies traf auch für die lokalen Interneurone TN1, SN1 und BGN1 (nur in einem Fall über 5 ms) zu. Bei den aufsteigenden Interneuronen wurde dagegen ein optimales  $\tau$  von über 5 ms gemessen. Die einzige Ausnahme bildete ein AN3 mit einem Wert von 4 ms. Die höchsten Werte ergaben sich bei den richtungsabhängigen Zellen (AN1 und AN2) sowie AN4 mit Werten von über 10 ms. Da die Optimumskurven teilweise sehr breit sind und ein Peak Wert dann nicht unbedingt repräsentativ sein muss, wurde zusätzlich der  $\tau$ -Bereich 10% unter dem Maximum bestimmt ( $\tau_{\text{min}}-\tau_{\text{max}}$ : Abb. 5.11 C). Dieser zeigte wie zuvor eine große Übereinstimmung zwischen Rezeptoren, TN1 und SN1. Während sich die optimalen  $\tau$ -Werte zwischen Rezeptoren und BGN1 kaum unterschieden, dehnt sich der 90% Bereich allerdings bei letzteren zu höheren Werten aus. BGN1 erwies sich diesbezüglich als vergleichbar mit den aufsteigenden Interneuronen AN3 und AN11.

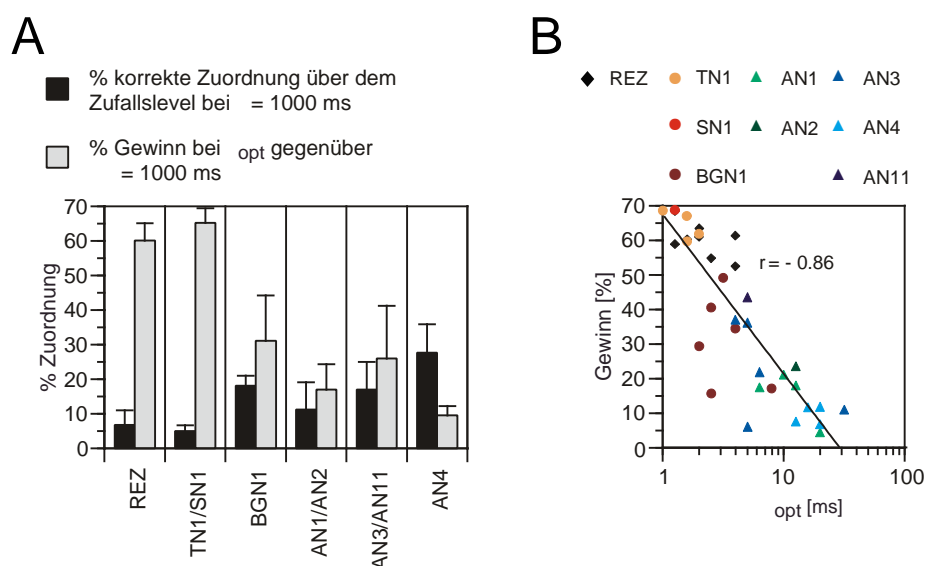
Dagegen wurden, wie schon in Abb. 5.11 B sichtbar, bei AN1, AN2 und ganz besonders AN4 erst bei höheren  $\tau$ -Werten eine bessere Unterscheidbarkeit der MF gemessen.

Betrachtet man die Kurven in Abb. 5.11 A fällt noch ein weiterer Aspekt auf. Bei sehr kleinen  $\tau$ -Werten ( $<0,5$  ms) fällt die korrekte Zuordnung auf den Zufallswert ab - für alle Zellen, mit Ausnahme der Rezeptoren, TN1 und SN1. Auf der anderen Seite ergibt sich gerade für letztere bei sehr großen  $\tau$ -Werten ( $>200$  ms) nur eine nahezu zufällige Zuordnung der Spiketrains, während hier viele vor allem aufsteigende Neurone eine deutlich bessere Unterscheidbarkeit zeigen. Der Anteil an korrekt zugeordneten Spiketrains bei



**Abbildung 5.11: OPTIMALES  $\tau$  FÜR DIE UNTERSCHIEDBARKEIT DER REIZMUSTER BEI ZELLEN ALLER DREI VERARBEITUNGSEBENEN.** Das ausgewertete Zeitfenster betrug 500 ms. **A** Abhängigkeit der prozentual korrekt zugeordneten Spike-trains von  $\tau$ . **B**  $\tau$ -Werte, bei denen eine optimale Unterscheidbarkeit der Reizmuster gemessen wurde. U-Test: REZ-LN, LN-AN, REZ-AN; siehe Abbildung. **C**  $\tau$ -Bereich einer optimalen Unterscheidbarkeit. Das Maximum der Kurven in A wurde hierbei auf 100% gesetzt und ausgehend davon der Bereich 10% unter dem Maximum erfasst. Dieser wird durch die Grenzwerte  $\tau_{\min}$  und  $\tau_{\max}$  definiert.

$\tau = 1000$  ms basiert alleine auf der Unterscheidbarkeit anhand von Spikezahlunterschieden, die Information über Spikezeitpunkte geht hier verloren. Somit reflektiert der Unterschied in der korrekten Zuordnung zwischen  $\tau = 1000$  ms und dem optimalen  $\tau$ -Wert, den Gewinn, der durch eine Einbeziehung der Spikezeitpunkte erreicht wird. In Abb. 5.12 A wird dieser Gewinn als prozentuale Differenz dargestellt (graue Balken). Zusätzlich ist hier die



**Abbildung 5.12:** JEWEILIGER BEITRAG VON SPIKEZEITPUNKT- UND SPIKEZAHLUNTERSCHIEDEN UND ZUR UNTERSCHIEDBARKEIT DER STIMULI. **A** Schwarze Balken: Beitrag der Spikezahl Unterschiede zur Unterscheidbarkeit (gemessen als Differenz zwischen dem Anteil der korrekt zugeordneten Spiketrams und einer zufälligen Zuordnung von 11,1% bei  $\tau = 1000$  ms). Graue Balken: Gewinn, der durch die Einbeziehung von Spikezeitpunkten erreicht wird (gemessen als Differenz zwischen dem Anteil der korrekten Zuordnung bei dem optimalen  $\tau$  und  $\tau = 1000$  ms, vgl. Abb. 5.11 A). Dargestellt sind Mittelwerte und Standardabweichungen für verschiedene Gruppen an Zelltypen. REZ: Rezeptoren,  $N = 8$ ; Lokale Interneurone: TN1 und SN1,  $N = 5$ ; BGN1,  $N = 6$ ; Aufsteigende Interneurone: AN1 und AN2,  $N = 5$ ; AN3 und AN11,  $N = 6$ ; AN4,  $N = 4$ . **B** Korrelation zwischen dem Gewinn der Unterscheidbarkeit (graue Balken in A) und dem optimalen  $\tau$ -Wert,  $p < 0.001$ .

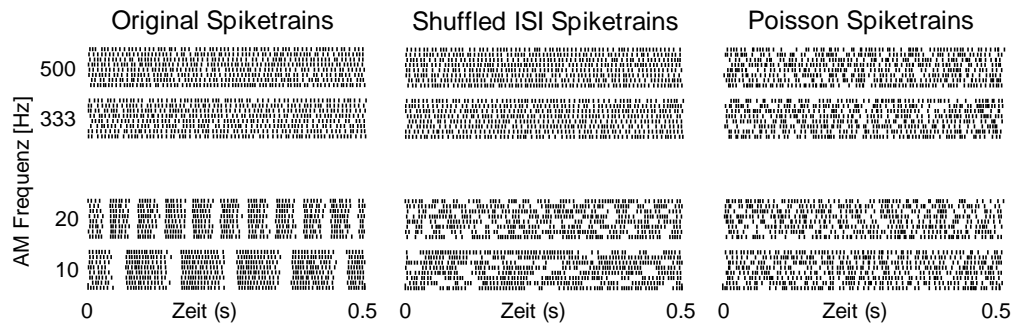
prozentuale Differenz gegenüber einer zufälligen Zuordnung bei  $\tau = 1000$  ms aufgetragen (schwarze Balken). Die Abbildung gibt Mittelwerte und Standardabweichungen für unterschiedliche Gruppen von Zelltypen an. Bei der Gruppe der Rezeptoren und der lokalen Interneurone TN1 und SN1 lag der Anteil der korrekt zugeordneten Spiketrams basierend auf einer Spikezahlunterscheidung kaum über dem Zufallsniveau. Dagegen zeigte sich beim BGN1

und den aufsteigenden Interneuronen bei diesem  $\tau$ -Wert eine deutlich bessere Unterscheidbarkeit der Stimuli. Die höchsten Werte wurden dabei von dem aufsteigenden Interneuron AN4 erreicht. Betrachtet man den Zugewinn an korrekt zugeordneten Spiketrains, der durch eine Einbeziehung der Spikezeitpunkte erreicht wird, so dreht sich das Bild um. Während für die Rezeptoren und die lokalen Interneurone TN1 und SN1 im Mittel eine Zunahme von bis zu 65% zeigten, so bewegte sich diese beim BGN1 und den aufsteigenden Interneuronen nur zwischen 10 und 30%. Wie in Abb. 5.12 B ersichtlich wird, korrelierte dieser Gewinn der Unterscheidbarkeit mit dem optimalen  $\tau$  ( $r = -0.86$ ,  $p < 0.001$ ).

### 5.2.3 Zusammenhang zwischen Spikezahlunterschieden bzw. Interspike-Intervallverteilungen und der Unterscheidbarkeit

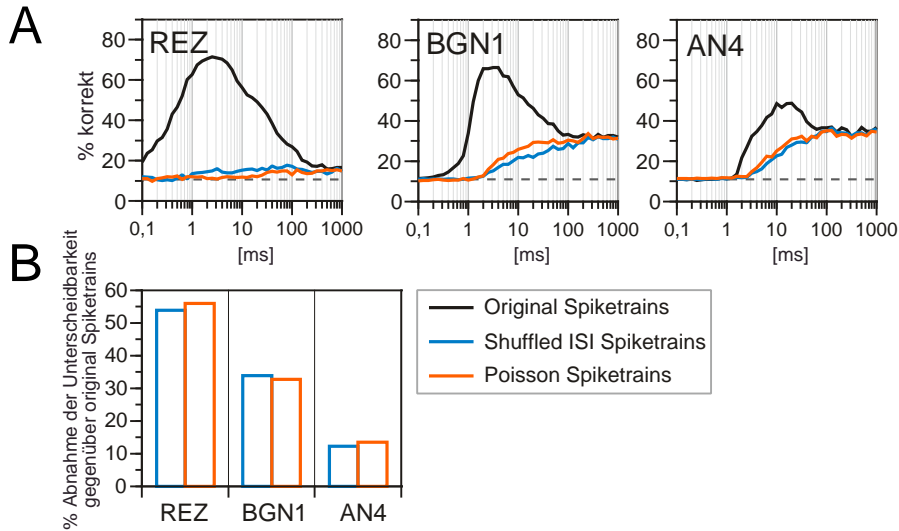
Aus der Betrachtung der Unterscheidbarkeit bei unterschiedlichen Werten des zeitlichen Auflösungsparameters  $\tau$  ergibt sich die Frage, inwieweit hier Spikezeitpunkt - und Spikezahlunterschiede gewichtet werden. Um dies zu überprüfen, wurden ausgehend von der Originalantworten der Zellen Spiketrains generiert. Ein Ansatz bestand darin, die Interspike-Intervalle innerhalb der Spiketrains zufällig zu mischen (Shuffled ISI-Spiketrains, siehe Abb. 5.13 Mitte). Hier stimmen Interspike-Intervallverteilungen und Spikezahlen also noch mit den Original-Spiketrains überein. Zum anderen wurden Spiketrains mit Interspike-Intervallen einer Poissonverteilung generiert (Poisson-Spiketrains, siehe Abb. 5.13 rechts). Bei diesen entsprachen nur noch die Spikezahlen denen der Original-Spiketrains. In Abb. 5.14 A ist die Abhängigkeit des Anteils korrekt zugeordneter Spiketrains von  $\tau$  vergleichend für die Original-Spiketrains, die Shuffled ISI-Spiketrains und die Poisson-Spiketrains dargestellt. Diese Auswertung wurde für einen Rezeptor, ein lokales Interneuron (BGN1) und ein aufsteigendes Interneuron (AN4) durchgeführt. Beim Rezeptor ergab sich, wie schon in Abb. 5.10 gezeigt, eine Optimumskurve der korrekten Zuordnung, mit einem Gipfel im  $\tau$ -Bereich von 1 bis 7 ms. Dagegen zeigten sowohl die Kurven der Shuffled ISI-Spiketrains als auch der





**Abbildung 5.13:** DARSTELLUNG DER ANTWORT EINES REZEPTORS (LINKS: ORIGINAL-SPIKETRAINS) UND AUF DIESER GRUNDLAGE GENERIERTE SPIKETRAINS MIT ZUFÄLLIG VERTEILTEN INTERSPIKE-INTERVALLEN (MITTE: SHUFFLED ISI-SPIKETRAINS), SOWIE POISSON-SPIKETRAINS MIT ENTSPRECHENDEN SPIKEZAHLEN (RECHTS:POISSON-SPIKETRAINS). **links:** Spike-Antworten des Rezeptors auf Stimuli unterschiedlicher MF (10, 20, 333 und 500 Hz). **Mitte:** Auf der Grundlage der Interspike-Intervall (ISI) - Verteilungen jedes original Spiket trains wurden die ISI innerhalb der Spiket trains zufällig angeordnet. **rechts:** Spiket trains mit Poisson verteilten Spikezeitpunkten, deren Spikezahlen den der Original-Spiket trains entsprechen.

Poisson-Spiket trains keine klare Abhängigkeit der korrekten Zuordnung von  $\tau$ . Mit zunehmendem  $\tau$ , ist lediglich ein geringfügiger Anstieg der Kurven zu beobachten. Ausgeprägter ist der Einfluss von  $\tau$  beim BGN1 und beim AN4. Der Anteil korrekt zugeordneter Shuffled ISI- und Poisson-Spiket trains nahm für  $\tau > 2$  ms zu und erreichte für  $\tau > 100$  bis 250 ms eine Sättigung. Ab  $\tau$ -Werten von 100 bis 200 ms glich der Anteil korrekt zugeordneter Spiket trains dem, der bei den Original-Spiket trains gemessen wurde. Bei allen drei dargestellten Zellen ergab sich, hinsichtlich der Abhängigkeit der korrekten Zuordnung von  $\tau$ , kein wesentlicher Unterschied zwischen den Shuffled ISI- und den Poisson-Spiket trains. Auch zwischen der maximal erreichten Unterscheidbarkeit (dem maximalen Anteil korrekt zugeordneter Spiket trains) der beiden Ansätze zeigte sich kein Unterschied. Bei allen drei Zellen nahm die Unterscheidbarkeit für die generierten Spiket trains erwartungsgemäß gegenüber den Original-Spiket trains ab- wie in Abb. 5.14 B deutlich wird, aber mit deutlich unterschiedlichem Ausmaß. So betrug die Abnahme der Unterscheidbarkeit der Shuffled ISI- und der Poisson-Spiket trains bei dem Rezeptor 55%, beim BGN1 33% und beim AN4 nur 13%. Da die Kurven der Shuffled ISI- und Poisson-Spiket trains aller drei Zellen mit  $\tau$  anstiegen und bei  $\tau =$



**Abbildung 5.14:** VERGLEICH DER KORREKTEN ZUORDNUNG VON ORIGINAL-SPIKETRAINS, SPIKETRAINS MIT SHUFFLED INTERSPIKE-INTERVALLEN UND POISSON-SPIKETRAINS BEI EINEM REZEPTOR, EINEM LOKALEN INTERNEURON (BGN1) UND EINEM AUFSTIEGENDEN INTERNEURON (AN4). **A** Abhängigkeit des Anteils korrekt zugeordneter Spiketrains von der zeitlichen Auflösung  $\tau$  für: Original-Spiketrains (schwarz), generierte Spiketrains mit shuffled ISI (blau) sowie Poisson-Spiketrains mit entsprechenden Spikezahlen (orange). Die gestrichelte Linie gibt den Anteil korrekt zugeordneter Spiketrains bei einer zufälligen Zuordnung an (11.1%). **B** Prozentuale Abnahme der korrekten Zuordnung bei shuffled ISI-Spiketrains und Poisson-Spiketrains gegenüber den Original-Spiketrains.

1000 ms gleiche Werte wie bei den original Spiketrains erreichen, spiegelt diese Abnahme nahezu exakt das in Abb. 5.12 A (graue Balken) gezeigte Ergebnis wider. Die Abbildung zeigt den Gewinn, der durch die *Einbeziehung* der Spikezeitpunkte erreicht wird (% Gewinn beim optimalen  $\tau$  gegenüber  $\tau = 1000$  ms). Dieser entspricht der Abnahme der Unterscheidbarkeit, der durch den *Verlust* der Spikezeitpunkt-Information bei den Shuffled ISI- und Poisson-Spiketrains bedingt ist.

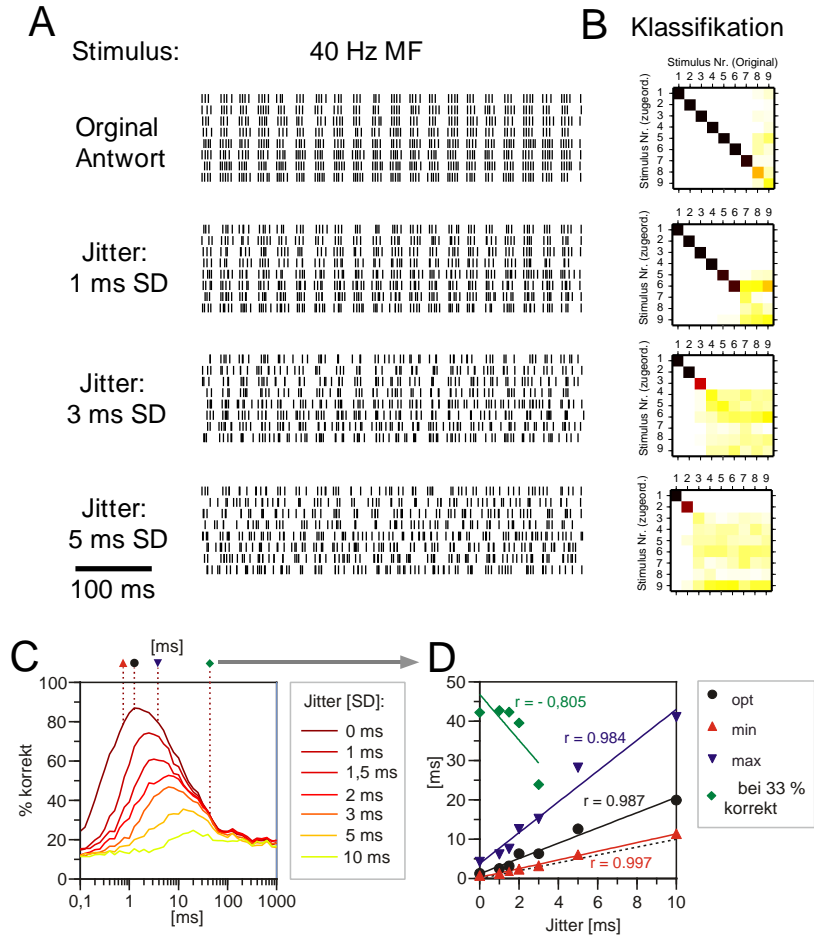
#### 5.2.4 Einfluss der Spikezeitpunkt - Variabilität auf das optimale $\tau$ der Unterscheidbarkeit

Bei der Unterscheidbarkeit von Stimuli anhand von Spiketrains wirkt die durch Rauschen hervorgerufene neuronale Variabilität limitierend. Die Rausch-

quellen können dabei vielfältig sein. So entsteht externes Rauschen durch Signaldegradation in der Umwelt, während internes Rauschen durch stochastische Prozesse bei der sensorischen Transduktion, der Spike Generierung und der synaptischen Übertragung bedingt sein kann (Ronacher et al., 2004). Die resultierende neuronale Variabilität kann die Spikezahlen und/oder die Spikezeitpunkte betreffen. Bei Rezeptoren von *L. migratoria* konnte gezeigt werden, dass das Ausmaß der Spikezeitpunkt Variabilität (des Spikezeitpunkt-Jitter) negativ mit der Informations-Übertragungsrate korreliert (Rokem et al., 2006). Wie wirkt sich der Spikezeitpunkt-Jitter auf die metrischen Distanzen aus? van Rossum (2001) konnte anhand künstlichen Spiketrains zeigen, dass mit zunehmendem Verschieben von Spikes innerhalb eines Spiketrains, die Distanz zu einem anderen Spiketrain zunimmt. Diese Zunahme gilt allerdings nur für kleine Werte von  $\tau$ .

Das Ausmaß der neuronalen Antwortvariabilität und deren Einfluss auf die Unterscheidbarkeit zeitlich strukturierter Stimuli bei den einzelnen Zelltypen, wird an späterer Stelle detailliert betrachtet. Im Folgenden soll der Zusammenhang zwischen dem Spikezeitpunkt-Jitter und der Unterscheidbarkeit bzw. dem dafür optimalen  $\tau$  allgemein betrachtet werden. Dazu wurden die Spikezeitpunkte der Antwort eines Rezeptors künstlich unterschiedlich stark verrauscht. In Abbildung 5.15 A ist die Originalantwort des Rezeptors auf wiederholte Reizung mit einem 40 Hz AM Stimulus dargestellt.

Zu den Spikezeitpunkten dieser Originalantwort wurde ein Wert addiert, der zufällig aus einer Normalverteilung gezogen wurde. Der Mittelwert dieser Verteilung betrug 0 und die Standardabweichung 1, 3, bzw. 5 ms. Abbildung 5.15 B zeigt die Klassifikation der Spiketrains der einzelnen AM-Stimuli für die getesteten Jitter-Werten. Die Original-Spiketrains wurden noch bis zu einer MF von 167 Hz zu 100% korrekt zugeordnet. Die MF der Stimuli bei der eine solche perfekte Klassifikation möglich war, nahm mit zunehmendem Jitter ab. So wurden bei einem Jitter von 1 ms nur noch Spiketrains bis 83 Hz zu 100% korrekt zugeordnet, bei 3 ms bis hin zu 40 Hz und bei einem Jitter von 5 ms ließen sich nur noch die Spiketrains hervorgerufen durch eine MF von 10 Hz perfekt zuordnen. Die oben definierte Grenzfrequenz der Unterscheidbarkeit der getesteten AM Stimuli (vgl. Abb. 5.5) nimmt also mit



**Abbildung 5.15:** EINFLUSS VON SPIKEZEITPUNKT-JITTER AUF DIE UNTERSCHIEDBARKEIT UND DIE OPTIMALE ZEITLICHE AUFLÖSUNG  $\tau$  BEI EINEM REZEPTOR. **A** Darstellung der Spike-Antwort eines Rezeptors auf wiederholte Reizung mit einem 40 Hz AM-Stimulus (oben). Die Spikezeitpunkte dieser Originalantwort wurden fluktuieren, indem zu jedem Spikezeitpunkt ein zufällig aus einer Normalverteilung gezogener Wert addiert wurde. Der Mittelwert der Normalverteilung betrug 0 und die Standardabweichung (SD) wurde variiert. Bei den hier dargestellten Spiketrams betrug die SD und damit der Jitter 1ms, 3 ms und 5ms. **B** Klassifikation aller getesteten AM-Stimuli auf der Grundlage der Spiketrams der Originalantwort (oben), bzw. der Spiketrams mit Jitter von 1 ms, 3 ms und 5 ms. Als  $\tau$  dieser Auswertung wurde das optimale  $\tau$  der Unterscheidbarkeit der Originalantwort benutzt ( $\tau = 2$  ms). **C** Abhängigkeit der korrekten Zuordnung der Spiketrams von der zeitlichen Auflösung  $\tau$  für Spiketrams mit unterschiedlich starkem Jitter. **D** Abhängigkeit des optimalen  $\tau$  ( $\tau_{\text{opt}}$ ) der Unterscheidbarkeit vom Jitter, sowie den  $\tau$ -Werten die 10% unter diesem Maximum der Kurven in **C** liegen ( $\tau_{\text{min}}$  und  $\tau_{\text{max}}$ ) und dem  $\tau$ -Wert bei dem eine 33% korrekte Zuordnung erreicht wurde. Zur Herleitung der einzelnen Kenngrößen siehe schematische Darstellung in **C**.

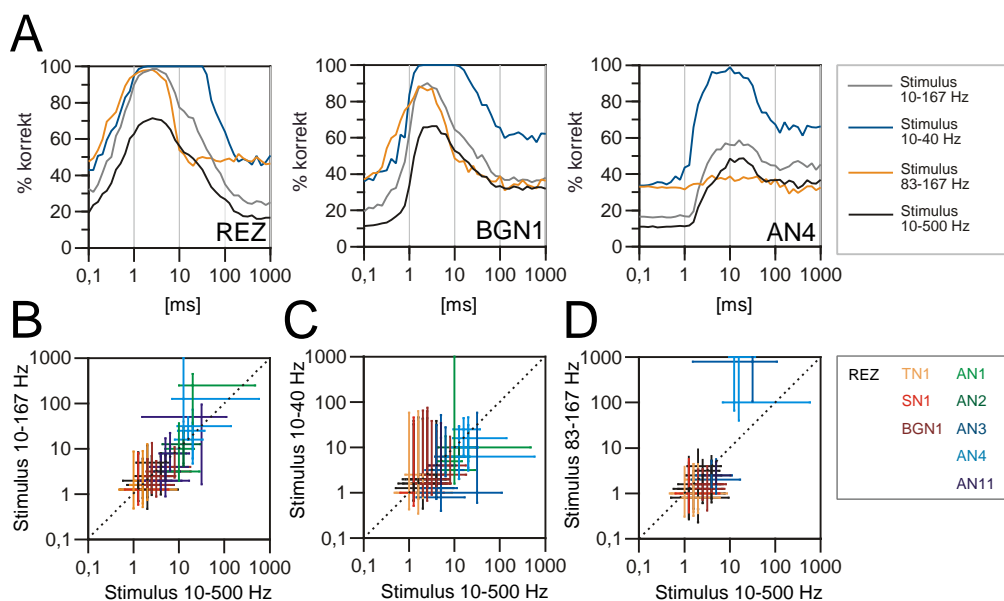
zunehmendem Jitter ab. Diese Auswertung wurde bei einem  $\tau$ -Wert von 2 ms ( $\tau_{\text{opt}}$  der original Spiketrains) durchgeführt. Die Abhängigkeit der korrekten Zuordnung von  $\tau$  bei unterschiedlich starkem Spikezeitpunkt-Jitter ist in Abbildung 5.15 C dargestellt. Hier werden zwei Dinge sichtbar. Erstens, der gesamte Anteil korrekt zugeordneter Spiketrains nimmt erwartungsgemäß mit zunehmendem Jitter ab. Zweitens, nur die linke Flanke der Kurven verschiebt sich zu höheren  $\tau$ -Werten. Mit zunehmendem Jitter verschlechtert sich also die Unterscheidbarkeit besonders bei einer feinen zeitlichen Auflösung der Spiketrains, bei einem  $\tau > 50\text{ms}$  bleibt diese identisch. Aus den Kurven ließen sich bestimmte Kenngrößen ableiten, die den Zusammenhang zwischen Jitter und  $\tau$  verdeutlichen sollen. Dabei handelte es sich analog zu Abb. 5.11 um das optimale  $\tau$  sowie die  $\tau$ -Werte 10% unter dem Maximum der Kurven ( $\tau_{\text{min}}$  und  $\tau_{\text{max}}$ ) und den  $\tau$ -Wert bei dem eine korrekte Zuordnung der Spiketrains von 33% erreicht wurde (siehe schematische Darstellung in Abb. 5.15 B). Diese  $\tau$ -Werte wurden gegen den zugefügten Jitter der Spiketrains aufgetragen (Abb. 5.15 C). Sowohl das optimale  $\tau$  als auch beide  $\tau$ -Werte 10% unterhalb des Maximums nehmen mit dem Jitter signifikant zu. Dabei fällt auf, dass die  $\tau$ -Werte der linken Flanke der Kurven ( $\tau_{\text{min}}$ ) auf der Winkelhalbierenden (gestrichelte Linie) liegen. In diesem Bereich entspricht  $\tau$  also nahezu exakt dem zugefügten Spikezeitpunkt Jitter. Bei einer korrekten Zuordnung der Spiketrains von 33% im Bereich hoher  $\tau$ -Werte zeigte dagegen der Zusammenhang zwischen dem gemessenen  $\tau$  und dem Jitter keine signifikante Abweichung von 0 ( $r = -0.805$ ).

### 5.2.5 Einfluss des Stimulus-Ensembles auf das optimale $\tau$ der Unterscheidbarkeit

Die Modulationsfrequenzen der hier getesteten neun Stimuli umfassten einen Bereich von 10 bis 500 Hz, mit einem großen Anteil an hochfrequenten Stimuli (167, 250, 333 und 500 Hz). Es ist denkbar, dass die Auswahl der Stimuli einen Einfluss auf das optimale  $\tau$  der Unterscheidbarkeit hat. Um dies zu testen, wurde das Stimulus-Ensemble auf unterschiedliche Bereiche von Modulationsfrequenzen begrenzt und die Abhängigkeit der Unterscheidbarkeit

von  $\tau$  gemessen. Dabei wurden erstens nur Antworten auf Stimuli mit Modulationsfrequenzen von 10, 20 und 40 Hz (Stimuli 1-3) betrachtet, zweitens auf 83, 125 und 167 Hz (Stimuli 4-6) und drittens auf alle sechs Modulationsfrequenzen bis 167 Hz (Stimuli 1-6). Diese Auswertung wird vergleichend mit dem gesamten getesteten Stimulus-Ensemble (Stimuli 1-9) dargestellt (Abb. 5.16). In Abb. 5.16 A ist die Unterscheidbarkeit als Funktion von  $\tau$  für die unterschiedlichen Stimulus-Ensembles dargestellt und zwar am Beispiel der drei schon vorher betrachteten Zellen (vgl. Abb. 5.1). Eine Auswertung der Antworten auf die Stimuli 1-6 änderte nur wenig an dem Verlauf der Kurven und der Lage der Maxima im Vergleich zu den Stimuli 1-9 (vgl. graue und schwarze Kurven). Der wesentliche Effekt liegt hier in einer Verschiebung der Kurven zu einer besseren Unterscheidbarkeit. Dieser ist zu erwarten, da bei einem Ausschluss der Stimuli über 167 Hz, der Bereich der niedrigsten korrekten Zuordnung der Spiketrains nicht mehr mit einbezogen wird. Beim AN4 hat dies offenbar den geringsten Einfluss, welches in dem typischen Antwortverhalten dieser Zelle begründet sein dürfte (vgl. Abb. 5.1).

Vergleichend für die beiden Stimulus-Ensembles ist in Abb. 5.16 B der optimale  $\tau$ -Bereich 10% unter dem Maximum für alle getesteten Zellen aufgetragen. Die Daten gruppieren sich überwiegend entlang der Winkelhalbierenden, welches auf einen geringen Einfluss der hohen Modulationsfrequenzen auf die Lage des optimalen  $\tau$ -Bereichs hindeutet. Dies ist auch der Fall, wenn nur noch die niedrigen Modulationsfrequenzen von 10, 20, und 40 Hz betrachtet werden (Abb. 5.16 C und blaue Kurven in Abb. 5.16 A). Allerdings dehnt sich hier der optimale  $\tau$ -Bereich weiter zu hohen Werten aus und zwar besonders bei den Rezeptoren und den lokalen Interneuronen. Dies liegt in den zeitlich weit voneinander präzise separierten Spike-Clustern begründet. Diese können auch noch bei höheren  $\tau$ -Werten zwischen den Modulationsfrequenzen unterschieden werden. Die Unterscheidbarkeit erreicht zwischen diesen Stimuli Werte von bis zu 100%. Bei der Betrachtung der Modulationsfrequenzen von 83, 125 und 167Hz erreichten viele, besonders aufsteigende Zellen, nicht Werte über dem Niveau einer zufälligen Zuordnung von 33% (vgl. Abb. 5.16 A rechts, orange Kurve). Diese Zellen konnten nicht in die Auswertung des optimalen  $\tau$ -Bereichs eingehen (Abb. 5.16 D). Für die verbleibenden Zellen



**Abbildung 5.16:** EINFLUSS DES STIMULUS ENSEMBLES AUF DEN FÜR DIE UNTERSCHIEDBARKEIT OPTIMALEN BEREICH VON  $\tau$ . **A** Vergleich zwischen vier Ensembles, die Stimuli unterschiedlicher Modulationsfrequenzen enthielten: Grau: [10, 20, 40, 83, 125, 167 Hz], Blau: [10, 20, 40 Hz], Orange: [83, 125, 167 Hz]; Schwarz: [10, 20, 40, 83, 125, 167, 250, 333, 500 Hz]. Der Zufallslevel änderte sich mit der Beschränkung der Stimulus Zahl: 11,1, 16,7 und 33.3%. **B, C, D** Vergleich zwischen dem  $\tau$ -Bereich 10% unter dem Maximum der Unterscheidbarkeit bei den verschiedenen Stimulus Ensembles (vgl. Abb. 5.11).

wird keine wesentliche Änderung der  $\tau$ -Bereichs und der Lage der Maxima sichtbar. Die Werte gruppieren sich auch hier weitgehend entlang der Winkelhalbierenden. Eine Ausnahme liefern hier ein AN3 und zwei AN4. Bei diesen Zellen findet zwischen 83 und 167 Hz kaum noch eine zeitliche Ankopplung der Spikes an die Periode des Stimulus statt und deutliche Spikezahl Unterschiede zwischen den Modulationsfrequenzen bedingen ein sehr hohes optimales  $\tau$ . Dabei ist anzumerken, dass hierbei die Modulationsfrequenz an sich nicht das  $\tau$  definiert, sondern die spezifischen Filterfunktionen dieser Zellen. Wenn dieser Filter allerdings überhaupt nicht angesprochen wird, dadurch dass ein anderes Stimulus-Ensemble gewählt wird, so kann sich natürlich auch das optimale  $\tau$  ändern.

## Zusammenfassung

Ebenso wie bei der Unterscheidbarkeit fanden sich auch bezüglich der optimalen zeitlichen Auflösung der Spiketrains deutliche Unterschiede zwischen den betrachteten Zelltypen. Bei den Rezeptoren und den lokalen Interneuronen SN1 und TN1 wurde ein optimales  $\tau$  von unter 5 ms gemessen, welches auf eine große Bedeutung der präzisen Spikezeitpunkte für die Unterscheidbarkeit hindeutet. Betrachtet man bei diesen Zellen dagegen die Unterscheidbarkeit aufgrund von Spikezahlunterschieden (also bei einem  $\tau$  von 1000 ms), so wird kaum das Zufallsniveau der Zuordnung überschritten. Hier zeigte sich für das lokale Interneuron BGN1 und die meisten aufsteigenden Interneurone eine wesentlich bessere Unterscheidbarkeit der Stimuli. Der Gewinn, der durch eine Einbeziehung der Spikezeitpunkte erreicht wurde, fiel bei diesen Zellen deutlich niedriger aus. Gleichzeitig ergaben sich für die aufsteigenden Zellen höhere optimale  $\tau$ -Werte von bis zu 20 ms.

Die Bedeutung der verschiedenen Zeitskalen des zeitlichen Auflösungsparameters  $\tau$  konnte anhand von Spiketrains mit zufällig verteilten Interspike-Intervallen, an Poisson-Spiketrains sowie durch das Verschieben von Spikezeitpunkten illustriert werden. Im Bereich von  $\tau$ -Werten unter 10 ms korrelierte das optimale  $\tau$  nahezu perfekt mit dem zugefügten Spikezeitpunkt-Jitter, zumindest bei dem untersuchten Rezeptor. Der vollständige Verlust der Spikezeitpunkt-Information (bei Nutzung von Poisson-Spiketrains und Shuffled ISI-Spiketrains) führte zu einer deutlichen Abnahme der Unterscheidbarkeit im Bereich der  $\tau$ -Werte von 0.1 bis 100-200 ms. Bei höheren  $\tau$ -Werten basierte die Unterscheidbarkeit ausschließlich auf Spikezahlunterschieden und zeigte keinen Unterschied zu den Original-Spiketrains.

Eine Reduktion des Stimulus Ensembles auf bestimmte Bereiche von Modulationsfrequenzen ergab, mit Ausnahme des AN4, keine wesentlichen Änderungen bezüglich der für die Unterscheidbarkeit optimalen zeitlichen Auflösung der Spiketrains.



### 5.3 Zusammenhang zwischen den MTF und der Unterscheidbarkeit der SAM-Stimuli

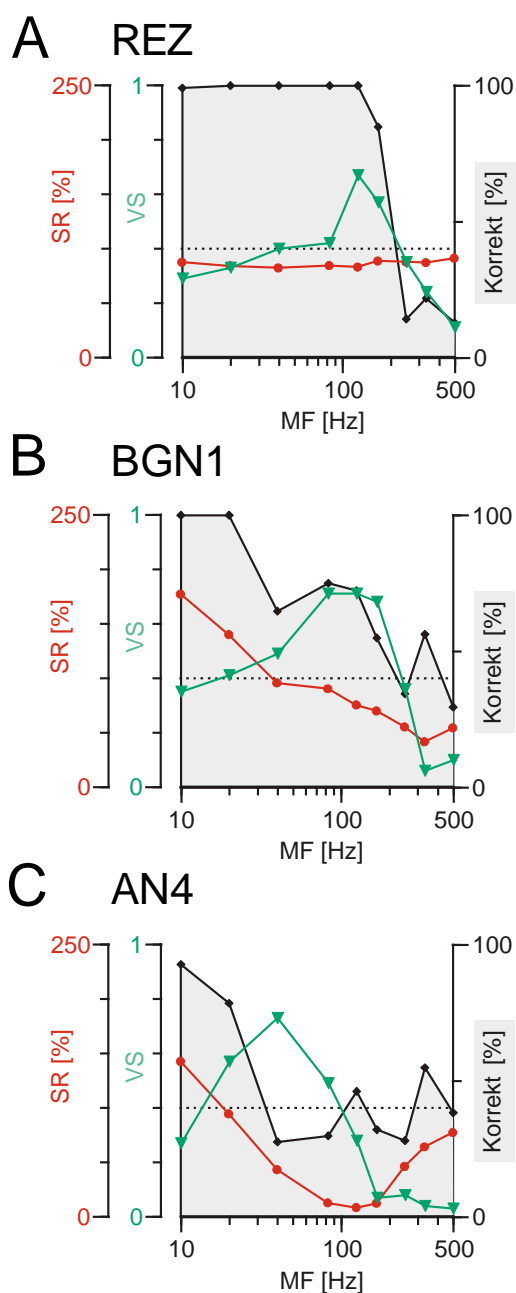
Ein weiteres Ziel der vorliegenden Untersuchung besteht in einem quantitativen Vergleich der Ergebnisse der Modulationstransferfunktionen und der Unterscheidbarkeit anhand der Spiketrain-Distanzen. Wie schon eingangs dargestellt, beschreiben die Modulationstransferfunktionen die Spikerate (rMTF) bzw. das zeitliche Auftreten der Spikes (tMTF) als Funktion der Modulationsfrequenz. Die Klassifikation anhand metrischer Spiketrain-Distanzen ist insofern weiterführend, als dass sie die Unterschiede zwischen Spiketrainen misst und entsprechend der Klassifikation den Anteil an korrekt zugeordneten Spiketrainen quantifiziert. Dabei können zwei wesentliche Unterschiede gegenüber der Erstellung von Modulationstransferfunktionen festgehalten werden (vgl. dazu auch 5.1 und Diskussion). Erstens, die Berechnung der Spiketrain-Distanzen steht in keinem Bezug zu Parametern der Stimuli. Ein solches im Nervensystem per se nicht vorhandenes *Wissen* über Stimulusmerkmale ist allerdings eine Grundlage bei der Berechnung der zeitlichen Ankopplung der tMTF (Periodendauer vgl. Material & Methoden). Zweitens, die *trial-to-trial* Variabilität, d.h. die Variabilität der Spikeantworten zwischen wiederholten Reizpräsentationen, wirkt limitierend für die korrekte Klassifikation der Spiketrainen. Diese *trial-to-trial* Variabilität wird bei der Berechnung der MTF nicht berücksichtigt. Nichtsdestotrotz beschreiben die MTF Merkmale von Spikeantworten und damit Filtercharakteristika, die eine wesentliche Grundlage bei der Unterscheidbarkeit von Stimuli liefern können.

In Abb. 5.17 sind die MTF und die Unterscheidbarkeit anhand metrischer Distanzen vergleichend für drei Zellen dargestellt. Der Rezeptor antwortete mit nahezu gleichbleibender Spikerate auf die unterschiedlichen MF (Abb. 5.17 A). Es stellt sich für diese Zelle also lediglich die Frage, ob ein Zusammenhang zwischen der tMTF und der Unterscheidbarkeit erkennbar ist. Da sich bezüglich der Vektorstärke ein Bandpassfilter und bezüglich der Unterscheidbarkeit ein Tiefpassfilter zeigt, ist dies nur bedingt der Fall. Die Abnahme der Vektorstärke tritt im gleichen Bereich der hohen MF auf, wie die Abnahme der korrekten Zuordnung. Da dies im Bereich niedriger MF nicht

der Fall ist, lässt sich offenbar nicht grundsätzlich von einem Vektorstärke-Wert eine bestimmte Unterscheidbarkeit ableiten. Auch beim BGN1 (Abb. 5.17 B) korrespondiert die rechte Flanke des Bandpassfilters der tMTF mit der Abnahme der korrekten Zuordnung der Spiket trains. Der erhöhte Wert der korrekten Zuordnung bei einer MF von 333 Hz kann allerdings nicht durch eine hohe zeitliche Ankopplung der Spikes erklärt werden (vgl. 5.10: hoher Anteil der Zuordnung zu Stimuli mit der niedrigsten Spikerate). Die Abhängigkeit der Spikerate von der MF spielt vor allem im Bereich der stärksten Änderung, also zwischen den MF 10 und 20 Hz, eine Rolle für eine mögliche Unterscheidbarkeit der Stimuli (vgl. dazu auch Abb. 5.10). Beim AN4 findet sich keine Entsprechung zwischen dem MF-Bereich der besten zeitlichen Ankopplung der Spikes und der höchsten korrekten Zuordnung der Spiket trains. Hier sei aber nochmals auf die Problematik der Beurteilung von Vektorstärkewerten hingewiesen, die auf der Grundlage von unterschiedlichen Spikezahlen berechnet wurden. Obwohl sich die Vektorstärken bei den MF von 20 und 83 Hz kaum unterschieden, ergab sich für Rayleighs  $z$  bei 20 Hz ein 10-mal so hoher Wert wie bei 83 Hz. Die statistische Zuverlässigkeit fällt somit also sehr unterschiedlich aus. Wie schon oben gezeigt, liefert die deutliche Änderung der Spikerate mit der MF beim AN4 den wesentlichen Beitrag zur Unterscheidbarkeit der MF. Allerdings können dabei weniger einzelne MF unterschieden werden, sondern vielmehr MF-Bereiche (vgl. Abb. 5.3 und Abb. 5.4). Ein Vergleich der rMTF mit der korrekten Zuordnung der Spiket trains zeigt die geringe korrekte Zuordnung, wenn mehrere MF mit ähnlichen Spikeraten beantwortet wurden. Der Verlauf des Bandpassfilters der rMTF bedingt, dass eine annähernde Eindeutigkeit der Spikeraten-Werte nur bei MF von 10 und 20 Hz gegeben ist.

### **5.3.1 Vergleich zwischen Kenngrößen der MTF und der Unterscheidbarkeit**

Die Ergebnisse der Modulationstransferfunktionen und der Unterscheidbarkeit der MF anhand der Antworten sollen im Folgenden bei allen untersuchten Zellen miteinander verglichen werden. Dabei steht der Zusammenhang



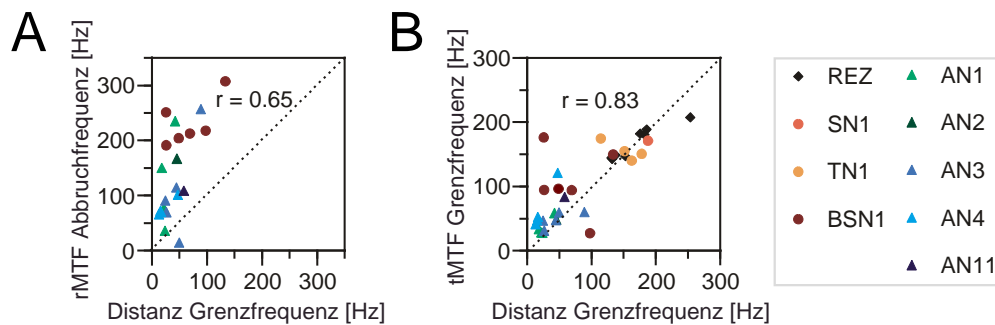
**Abbildung 5.17:** ZUSAMMENHANG ZWISCHEN DEN MODULATIONSTRANSFERFUNKTIONEN UND DER UNTERSCHIEDBARKEIT ANHAND METRISCHER SPIKETRAIN-DISTANZEN. Spikerate, Vektorstärke und Unterscheidbarkeit anhand metrischer Spiketrain-Distanzen als Funktion der Modulationsfrequenz (rMTF, tMTF und % korrekt; vgl. Abb. 4.2, 4.3 und 5.5 A-C). Dargestellt sind die Ergebnisse eines Rezeptors (**A**), eines lokalen Interneurons (BGN1, **B**) und eines aufsteigenden Interneurons (AN4, **C**).

zwischen der Lage der MF-Bereiche der Filterung und den MF-Bereichen der Unterscheidbarkeit im Vordergrund. Für diese Gegenüberstellung wurden definierte Kenngrößen herangezogen. Bei den MTF handelt es sich um die Abbruchfrequenzen (rMTF) und die Grenzfrequenzen (tMTF). Letztere geben

die MF an, bei denen eine *Grenze*, d.h. ein Abfall der zeitlichen Ankopplung zu vermerken ist (vgl. 4.6). Es mag auf den ersten Blick verwundern, warum für die rMTF die Abbruch- und nicht auch die Grenzfrequenzen herangezogen wurden. Der Grund hierfür, ist in den Filtertypen der untersuchten Zellen zu finden. Bei den mehrheitlich auftretenden Tiefpass und Bandstop-Filtern liefern die Grenzfrequenzen eher den *Beginn* und die Abbruchfrequenzen eher die äußere *Grenze* des dynamischen Bereichs, also des Bereichs der größten Spikeratenänderung (vgl. Abb. 4.5). Letztere scheinen für diese Betrachtung damit geeigneter zu sein. Für die Unterscheidbarkeit werden die Grenzfrequenzen aller Zellen betrachtet (vgl. Abb. 5.5), also die MF bei denen ein Abfall der Unterscheidbarkeit auftrat.

Wie in Abb. 5.18 A sichtbar wird, zeigten die untersuchten Zellen, abgesehen von einer Ausnahme, deutlich höhere Abbruchfrequenzen der rMTF als Grenzfrequenzen der Unterscheidbarkeit. (Die Allpassfilter der rMTF von Rezeptoren, TN1 und SN1 lassen keine Bestimmung von Abbruchfrequenzen zu - diese Zellen sind deshalb in der Abbildung nicht vertreten). Trotz dieses Unterschieds konnte eine signifikante Korrelation zwischen beiden Größen ermittelt werden ( $p < 0.01$ ). Wenn die Neuronengruppen gesondert betrachtet werden, lässt sich allerdings nur ein schwach signifikanter Zusammenhang bei den aufsteigenden Interneuronen messen (AN:  $r = 0.58$ ,  $p < 0.05$ ). Bei den lokalen Interneuronen ging nur ein Neuronentyp in die Auswertung ein (BGN1), und das Signifikanzniveau wurde verfehlt (LN:  $r = 0.65$ ).

Die Grenzfrequenzen der tMTF entsprechen bei den meisten Zellen denen der Unterscheidbarkeit (Abb. 5.18 B;  $p < 0,001$ ). Eine Ausnahme stellten hier vor allem BGN1 und einzelne Vertreter des AN4 dar. Dies bedingte, dass eine separate statistische Auswertung für die einzelnen Verarbeitungsebenen, bei den lokalen Interneuronen keine und bei den aufsteigenden Interneuronen nur eine schwach signifikante Korrelation zeigte (REZ:  $r = 0.94$ ,  $p < 0,001$ ; LN:  $r = 0.39$ , n.s.; AN:  $r = 0.52$ ,  $p < 0,05$ ).



**Abbildung 5.18:** ZUSAMMENHANG ZWISCHEN KENNGRÖSSEN DER rMTF (**A**) BZW. DER tMTF (**B**) UND DER GRENZFREQUENZ DER UNTERSCHIEDBARKEIT. In **A** ist der Zusammenhang zwischen der Abbruchfrequenz der rMTF und der Grenzfrequenz der Unterscheidbarkeit dargestellt (vgl. Abb. 4.5 und Abb. 5.5).  $N = 22$ ,  $p < 0.01$ . In **B** ist die Grenzfrequenz der tMTF gegen die Grenzfrequenz der Unterscheidbarkeit aufgetragen (vgl. Abb. 4.6 und Abb. 5.5).  $N = 34$ ,  $p < 0.001$ .

### 5.3.2 Modulationstransferfunktionen und das optimale $\tau$ der Unterscheidbarkeit

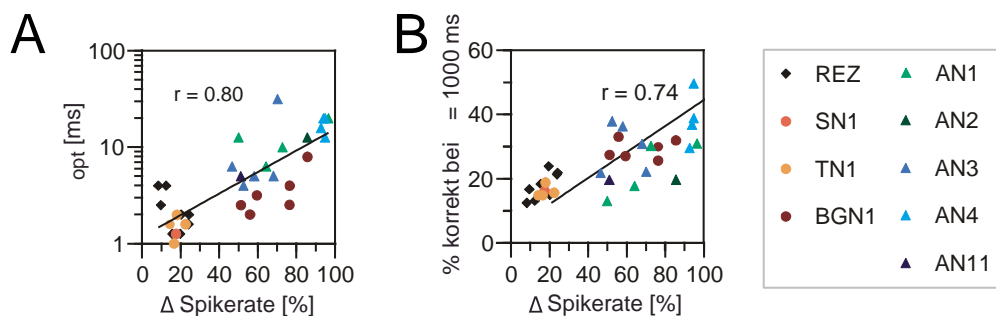
Anhand des zeitlichen Auflösungsparameters  $\tau$  kann die Rolle von Spikezeitpunkt- und Spikezahlunterschieden für die Unterscheidbarkeit untersucht werden (vgl. 5.2). Auch wenn sich die Auswertemethoden und auch die möglichen Aussagen beim MTF-Paradigma deutlich unterscheiden (vgl. 4.1; 5.3 und Material & Methoden), so resultiert die Gegenüberstellung von rMTF und tMTF aus der Frage der Bedeutung von Spikezahlen und/oder des zeitlichen Auftretens von Spikes bei der Kodierung von MF (Joris et al., 2004). Lassen sich also Zusammenhänge zwischen dem optimalen  $\tau$  der Unterscheidbarkeit und Ergebnissen der MTF finden?

Das optimale  $\tau$  der Unterscheidbarkeit wurde mit dem Unterschied zwischen der minimalen und der maximalen Spikerate, der sich aus der rMTF ableiten ließ, verglichen (Abb. 5.19 A). Diese  $\Delta$ Spikerate beschreibt die Stärke der Filtercharakteristik der rMTF. Die statistische Analyse erfolgte ungeachtet der Zugehörigkeit zu den einzelnen Neuronengruppen und zeigte einen positiven Zusammenhang zwischen dem optimalen  $\tau$ -Werten und der  $\Delta$ Spikerate ( $r = 0.80$ ,  $p < 0,001$ ). Eine separate Berechnung für die Rezeptoren, die lokalen und aufsteigenden Interneurone ergab, mit Ausnahme der

Rezeptoren, einen signifikanten Zusammenhang zwischen beiden Kenngrößen (REZ:  $r = -0.65$ , n.s.; LN:  $r = 0.86$ ,  $p < 0,001$ ; AN:  $r = 0.70$ ,  $p < 0,01$ ).

Bei einem  $\tau$ -Wert von 1000 ms basiert die Unterscheidbarkeit ausschließlich auf Spikezahlunterschieden. Auch die  $\Delta$ Spikerate erfasst Spikezahlunterschiede, somit wäre ein Zusammenhang zu erwarten. Es sei aber nochmals darauf hingewiesen, dass die  $\Delta$ Spikerate nicht die Unterschiede zwischen Antworten aller *einzelnen* Reizmuster, sondern nur die im gesamten MF-Bereich maximal aufgetretene Änderung wiedergibt. Auch geht aus diesem Wert nicht hervor, inwieweit Zellen bei unterschiedlichen Mustern mit identische Spikeraten reagierten. So bedingen Bandpass- oder Bandstop-Filtercharakteristika der rMTF eine Doppeldeutigkeit der Spikeraten im Bereich der Flanken der Filter.

Der Zusammenhang zwischen dem bei einem  $\tau$ -Wert von 1000 ms gemessenen Anteil an korrekt zugeordneten Spiketrains und der  $\Delta$ Spikerate der rMTF wird in Abb. 5.19 B gezeigt. Es wurde, sowohl über alle Zellen

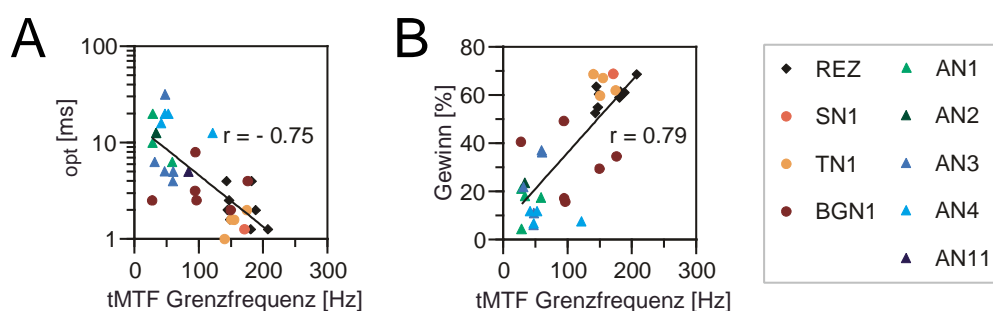


**Abbildung 5.19:** ZUSAMMENHANG ZWISCHEN **A** DEM OPTIMALEN  $\tau$  DER UNTERSCHIEDBARKEIT BZW. **B** DER KORREKTEN ZUORDNUNG BEI  $\tau = 1000$  MS UND DER ÄNDERUNG DER SPIKERATE DIE SICH AUS DER rMTF ERGIBT. **A** Das optimale  $\tau$  der Unterscheidbarkeit (vgl. Abb. 5.11) wurde gegen die  $\Delta$ Spikerate (vgl. Abb. 4.5) aufgetragen.  $N = 34$ ,  $p < 0.001$ . In **B** wird der Zusammenhang zwischen dem Anteil korrekt zugeordneter Spiketrains bei einem  $\tau$ -Wert von 1000 ms (vgl. Abb. 5.12) und der  $\Delta$ Spikerate (vgl. Abb. 4.5) gezeigt.  $N = 34$ ,  $p < 0.001$ .

betrachtet als auch für die einzelnen Verarbeitungsebenen, eine signifikante positive Korrelation gemessen (alle Zellen:  $p < 0.001$ ; REZ:  $r = 0.74$ ,  $p < 0,05$ ; LN:  $r = 0.90$ ,  $p < 0,001$ ; AN:  $r = 0.52$ ,  $p < 0,05$ ).

Im Folgenden soll der Zusammenhang zwischen dem Auflösungsparameter  $\tau$  und der Grenzfrequenz der tMTF untersucht werden. Es zeigte sich,

dass die optimalen  $\tau$ -Werte der Unterscheidbarkeit negativ mit den Grenzfrequenzen der tMTF korrelieren (Abb. 5.20 A;  $r = -0.75$ ,  $p < 0.001$ ). Eine separate Betrachtung für die einzelnen Verarbeitungsebenen ergab allerdings in keinem Fall eine signifikante Abweichung von Null (n.s.: REZ:  $r = -0.40$ ; LN:  $r = -0.38$ ; AN:  $r = -0.20$ ). Der Unterschied in der korrekten Zuordnung zwischen  $\tau = 1000$  ms und dem optimalen  $\tau$ -Wert beschreibt den Gewinn, der durch eine Einbeziehung der Spikezeitpunkte erreicht wird. In Abb. 5.20 B ist der Zusammenhang zwischen diesem Gewinn der Unterscheidbarkeit und der Grenzfrequenz der tMTF für die untersuchten Zellen dargestellt. Auch



**Abbildung 5.20:** ZUSAMMENHANG ZWISCHEN **A** DEM OPTIMALEN  $\tau$  DER UNTERSCHIEDBARKEIT SOWIE **B** DEM GEWINN, DER DURCH EINBEZIEHUNG DER SPIKEZEITPUNKTE ERREICHT WURDE UND DER GRENZFREQUENZ DER tMTF. **A** Dargestellt wird das optimale  $\tau$  der Unterscheidbarkeit (vgl. Abb. 5.11), welches gegen die Grenzfrequenz der tMTF aufgetragen wurde (vgl. Abb. 4.6).  $N = 34$ ,  $p < 0.001$ . In **B** wird der Zusammenhang zwischen dem prozentualen Gewinn beim optimalen  $\tau$  gegenüber  $\tau = 1000$  ms (vgl. Abb. 5.12) und der Grenzfrequenz der tMTF (vgl. Abb. 4.6) gezeigt.  $N = 34$ ,  $p < 0.001$ .

hier bestand eine stark signifikante allerdings erwartungsgemäß positive Korrelation zwischen beiden Kenngrößen ( $p < 0.001$ ). Der Zusammenhang konnte innerhalb der einzelnen Verarbeitungsebenen nicht statistisch gesichert werden (n.s.: REZ:  $r = 0.66$ ; LN:  $r = 0.46$ ; AN:  $r = -0.20$ ).

### Zusammenfassung

Sowohl die Lage der Filter der rMTF als auch der tMTF zeigten einen Zusammenhang zu den Bereichen der besten Unterscheidbarkeit anhand der Spiketrain-Distanzen. Eine signifikante Korrelation war dabei allerdings vorwiegend durch die großen Unterschiede zwischen den Zellen aller drei Verar-

beitungsebenen bedingt - innerhalb der einzelnen Verarbeitungsebenen wurde das Signifikanzniveau häufig nicht oder nur schwach überschritten. Lediglich auf der Ebene der Rezeptoren zeigte sich eine stark signifikante Korrelation zwischen der Grenzfrequenz der tMTF und der Unterscheidbarkeit.

Des Weiteren wurde der Zusammenhang zwischen dem optimalen  $\tau$  der Unterscheidbarkeit und Kenngrößen der Filterstärke der MTF untersucht. Das optimale  $\tau$  der Zellen zeigte einen positiven Zusammenhang zur Spikeratenänderung der rMTF und einen negativen Zusammenhang zur Grenzfrequenz der tMTF. Auch hierbei waren die signifikanten Korrelationen zwischen dem optimalen  $\tau$  und der Grenzfrequenz der tMTF nur vorhanden, wenn eine Berechnung über Zellen aller drei Verarbeitungsebenen erfolgte - innerhalb der einzelnen Verarbeitungsebenen zeigten sich keine Zusammenhänge.

Insgesamt kann bei den betrachteten Zellen festgehalten werden, dass nicht wahlweise von einer Kodierung der Information mittels Spikezeitpunkten (in kleinen Zeitfenstern) oder Spikeraten (in grossen Zeitfenstern) ausgegangen werden muss. Vielmehr scheinen beide Filter parallel, von Bedeutung sein zu können. Eine Ausnahme liefern Zellen, die Allpass-Filtereigenschaften in der rMTF zeigten, indem hier nur das zeitliche Auftreten der Spikes eine Unterscheidbarkeit der Stimuli bedingen kann.



# Kapitel 6

## Kodierung von natürlichen Signalen

In diesem Kapitel sollen die Eigenschaften von auditorischer Neuronen anhand von natürlichen Stimuli untersucht werden. Entgegen einer allgemeinen Erwartung werden diese experimentell seltener genutzt als künstlich generierte Signale. Die wohldefinierten Strukturen künstlicher Signale erlauben zumeist einen einfacheren Zugang zu der Beziehung zwischen Stimulus und Antwort. Dieser ist bei der Verwendung von natürlichen Signalen durch ihre komplexen statistischen Eigenschaften limitiert. Nichtsdestotrotz erfordern Untersuchungen von sensorischen Systemen die Verwendung von natürlichen oder zu mindestens naturnahen Stimuli, um den Kontext zum Verhalten herzustellen und mögliche spezifische Anpassungen an die Statistik natürlicher Stimuli nicht zu verfehlen. Bei den hier verwendeten natürlichen Stimuli handelt es sich um Heuschreckengesänge von individuellen Männchen einer Art. Machens (2002) untersuchte die Antworten der Rezeptoren von *L. migratoria* auf exakt diese Gesänge. In der vorliegenden Arbeit wurden die nächsten beiden Verarbeitungsstufen betrachtet: die lokalen und aufsteigenden Interneurone. Dabei stehen folgende Fragen im Vordergrund:

- Inwieweit lassen sich die Gesänge anhand der Spiketrains unterscheiden? (6.1)

Die Unterscheidbarkeit verschiedener Muster wird einerseits durch die Repräsentation von Mustereigenschaften in der Antwort limitiert und andererseits durch das Ausmaß mit dem Unterschiede der Mustereigenschaften in der neuronalen Variabilität untergehen. Daraus ergeben sich folgende Fragen:

- Welche Merkmale der Gesänge sind in der neuronalen Antwort der Zellen repräsentiert und welches Ausmaß nimmt die Antwortvariabilität bei den einzelnen Zelltypen an? (6.2)

Die Unterscheidbarkeit der Gesänge wird wie die der SAM-Stimuli (Kapitel 2) anhand von metrischen Spiketrain-Distanzen untersucht. Ausserdem wurden Antworten der gleichen Zelltypen analysiert wie bei den SAM-Stimuli und einzelne individuelle Zellen konnten mit beiden Reizmustern getestet werden:

- Welche Unterschiede bzw. Gemeinsamkeiten ergeben sich aus dem Vergleich zwischen der Unterscheidbarkeit von Gesängen und SAM-Stimuli? (6.3)

## 6.1 Die Unterscheidbarkeit von Gesängen

Im Folgenden soll die Unterscheidbarkeit von jeweils acht Gesängen anhand der Spiketrains bei lokalen und aufsteigenden Interneuronen untersucht werden. Die Unterscheidbarkeit basiert auch hier auf den metrischen Spiketrain-Distanzen (vgl. Kapitel 2). Neben dem Vergleich zwischen den verschiedenen Zelltypen und Verarbeitungsebenen, steht der Vergleich zwischen verschiedenen Gesangs-Sets und Auswertebereichen im Vordergrund der Betrachtung.

### Merkmale der Gesänge

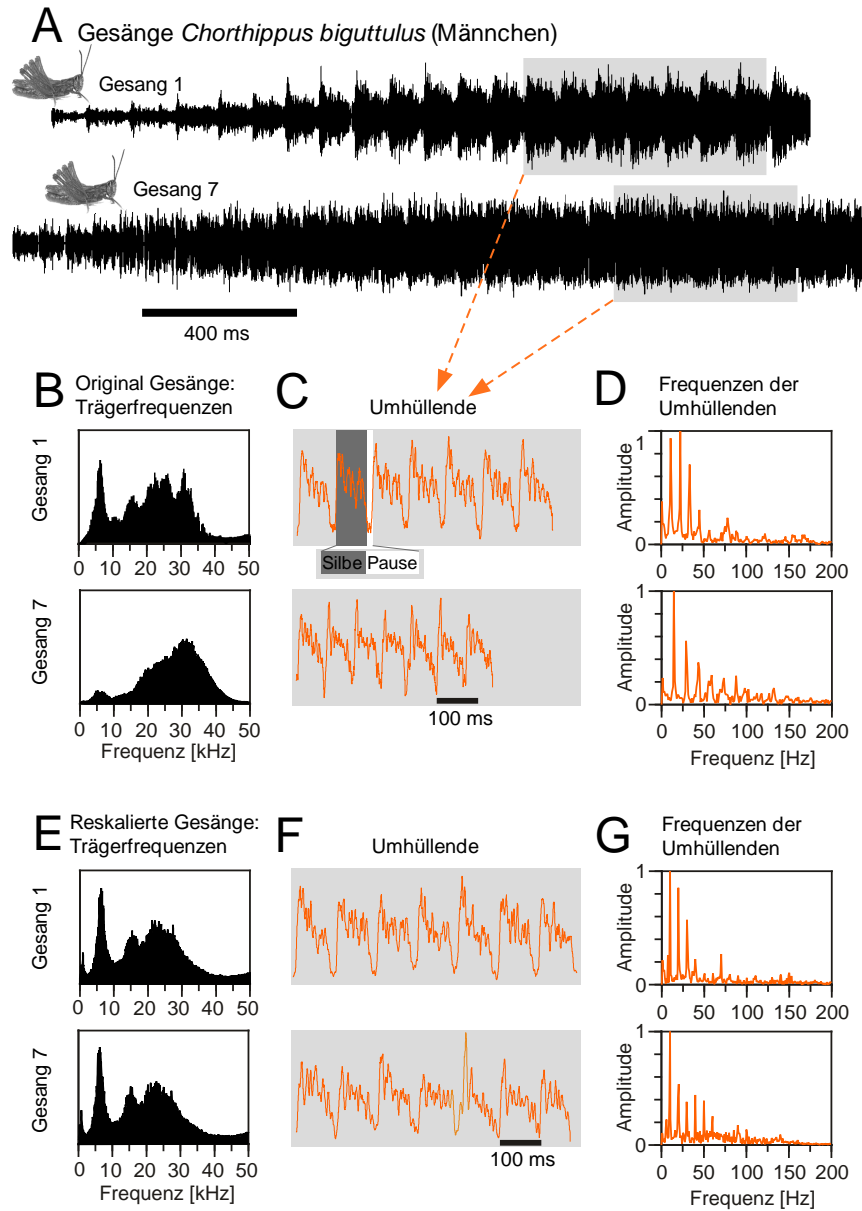
Die Gesänge stammten von acht individuellen Männchen der Art *Chorthippus biguttulus* (vgl. (Machens, 2002)). Hier soll nur auf einige wesentliche Merkmale der Gesänge eingegangen werden, insofern diese zum Verständnis der nachfolgenden Ergebnisse notwendig sind. Die acht Gesänge wiesen Dauern von 2 bis 4 Sekunden auf, wobei die Amplitude in den ersten 500 bis 1000 ms mit der Zeit langsam anstieg (Abb. 6.1 A). Einige wesentliche Unterschiede

zwischen der Feinstruktur der Gesänge sind in Abb. 6.1 B, C und D dargestellt. Die Gesänge dieser Art sind breitbandige Signale, deren Energie bis in den Ultraschallbereich reicht (Abb. 6.1 B). Die Energie verteilt sich auf einen tieffrequenten Bereich (4-10 kHz) und einen hochfrequenten Bereich (10-40 kHz). Der relative Anteil der Energie der beiden Frequenzbereiche variierte zwischen den individuellen Gesängen. So zeigte Gesang 1 einen deutlich höheren Energieanteil im tieffrequenten Bereich als Gesang 7. Das Stridulationsmuster der Tiere lässt eine Amplitudenmodulation der Trägerfrequenzen entstehen (Abb. 6.1 C). Hier wird eine alternierenden Abfolge von Silben und Pausen sichtbar. Die Dauer der Silben und Pausen variierte zwischen den acht Gesängen (Perioden von 60-120 ms). Innerhalb der Silben zeigten sich die auffälligsten Unterschiede bezüglich der Stärke der Silben-Onset-Amplitude, der Silben-Offset-Amplitude sowie der Separation der einzelnen Pulse innerhalb der Silben. Letztere werden durch die Phasenverschiebung der beiden Hinterbeine mehr oder weniger stark verschmiert. Die Unterschiede zwischen den Amplitudenmodulationsmustern spiegeln sich in den Frequenzspektren der Umhüllenden wider (Abb. 6.1 D). Während der erste Peak mit der Silben/Pausen Dauer korrespondiert, beschreiben die nachfolgenden Harmonischen die spektralen Eigenschaften der Amplitudenmodulationen innerhalb der Silben. Die Modulationsfrequenzen, die eine signifikante Amplitude aufwiesen, lagen bei allen getesteten Gesängen unter 150 Hz.

Ausgehend von den acht Original Gesängen wurde ein zweites Set an Gesängen generiert (Reskalierte Gesänge). Dabei wurden die Umhüllenden der Original Gesänge mit einem identischen Träger gefüllt (Abb. 6.1 E). Außerdem wurden die Silben und Pausen auf einheitliche Dauern von 80 ms bzw. 20 ms normiert (Abb. 6.1 F und G).

### **Unterscheidbarkeit der Gesänge bei lokalen und aufsteigenden Interneuronen**

In Abb. 6.2 A werden die Antworten von zwei lokalen Interneuronen auf die Original Gesänge (links) und die Reskalierten Gesänge (rechts) gezeigt. Bei beiden Zellen spiegelten sich Amplitudenmodulationen der Gesänge in

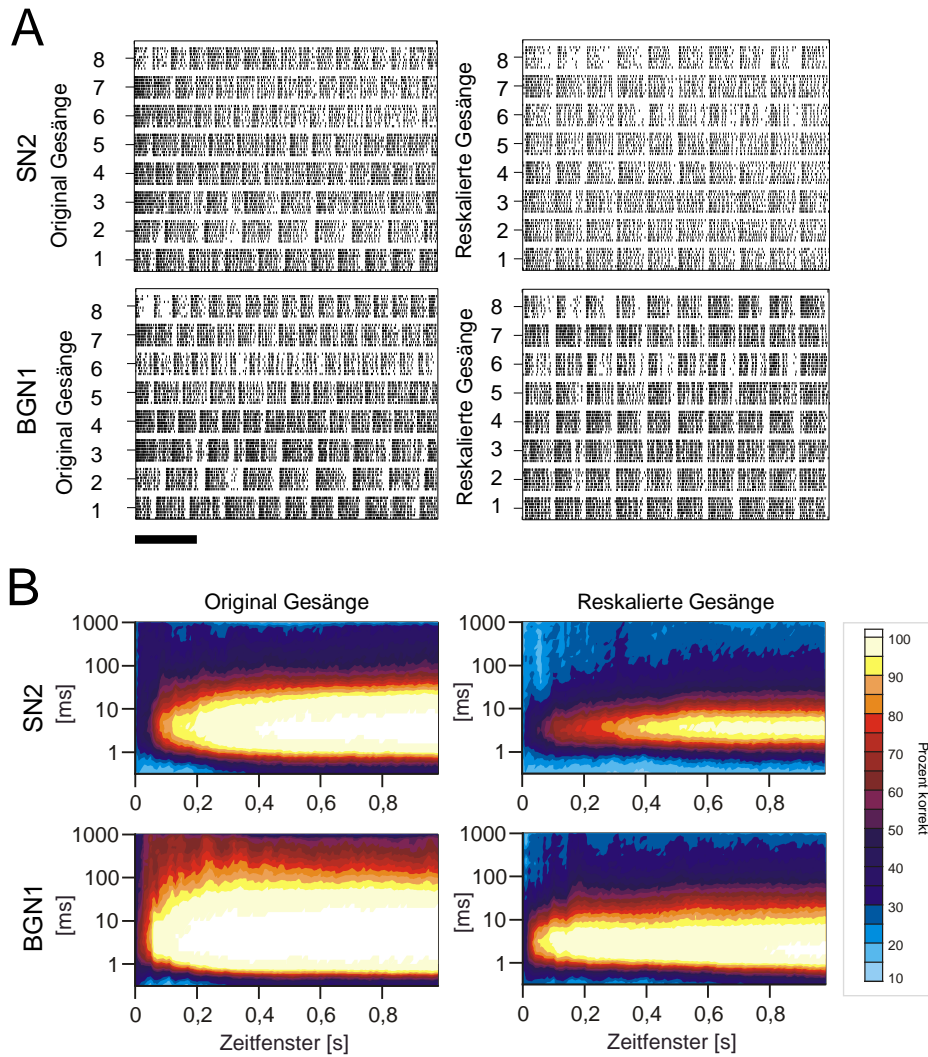


**Abbildung 6.1:** MERKMALE DER VERWENDETEN GESÄNGE. **A** Gesänge von zwei verschiedenen *Chorthippus biguttulus* Männchen. **B** Die Trägerfrequenzen der beiden Gesänge. **C** Amplitudenmodulationen: für die in **A** grau unterlegtem Teile der Gesänge wurden die Umhüllenden berechnet (vgl. Material & Methoden). **D** Frequenzspektren der Umhüllenden. **E**, **F** und **G**: Merkmale des zweiten verwendeten Gesangs-Sets, der Reskalierten Gesänge. Analog zu **B**, **C** und **D** werden die Trägerfrequenzen, die Umhüllenden und die Frequenzspektren der Umhüllenden dargestellt. Bei der Reskalierung wurden alle Originalgesänge einerseits mit einem identischen Träger gefüllt und andererseits wurden die Silbendauern auf 80 ms und Pausendauern auf 20 ms normiert.

einer Modulation der Spikerate wider. Dies bezog sich sowohl auf die Silben-Pausenstruktur als auch auf Feinstrukturen innerhalb der Silben. Die auf den Spiketrains basierende Unterscheidbarkeit ist in Abb. 6.2 B dargestellt. Der Anteil korrekt zugeordneter Spiketrains wurde hier als Funktion des zeitlichen Auflösungsparameters  $\tau$  und der Länge des ausgewerteten Zeitfensters aufgetragen. Bei den Original Gesängen (links) erreichte das SN2 bei einem Zeitfenster von 200 ms, das BGN1 sogar bereits nach 80 ms eine zu 95% korrekte Zuordnung. Die optimalen Werte des zeitliche Auflösungsparameters  $\tau$  erstreckten sich beim SN2 über einen Bereich von 2 bis 20 ms und beim BGN1 lag dieser zwischen 1 bis 60 ms. Auch die Reskalierten Gesängen (rechts) ließen bei beiden Zellen noch zu über 95% korrekt zuordnen. Allerdings wurden dazu beim SN2 deutlich längere Zeitfenster benötigt (500 ms), während beim BGN1 nur eine geringfügige Zunahme auf einen Wert von 100 ms zu verzeichnen war. Ein weiterer auffälliger Unterschied gegenüber den Original Gesängen bestand in der für die Unterscheidbarkeit optimalen zeitlichen Auflösung der Spiketrains. Der optimale  $\tau$ -Bereich wurde bei beiden Zellen deutlich schmaler, was vor allem durch eine Verschiebung der oberen Flanke zu niedrigeren Werten bedingt war.

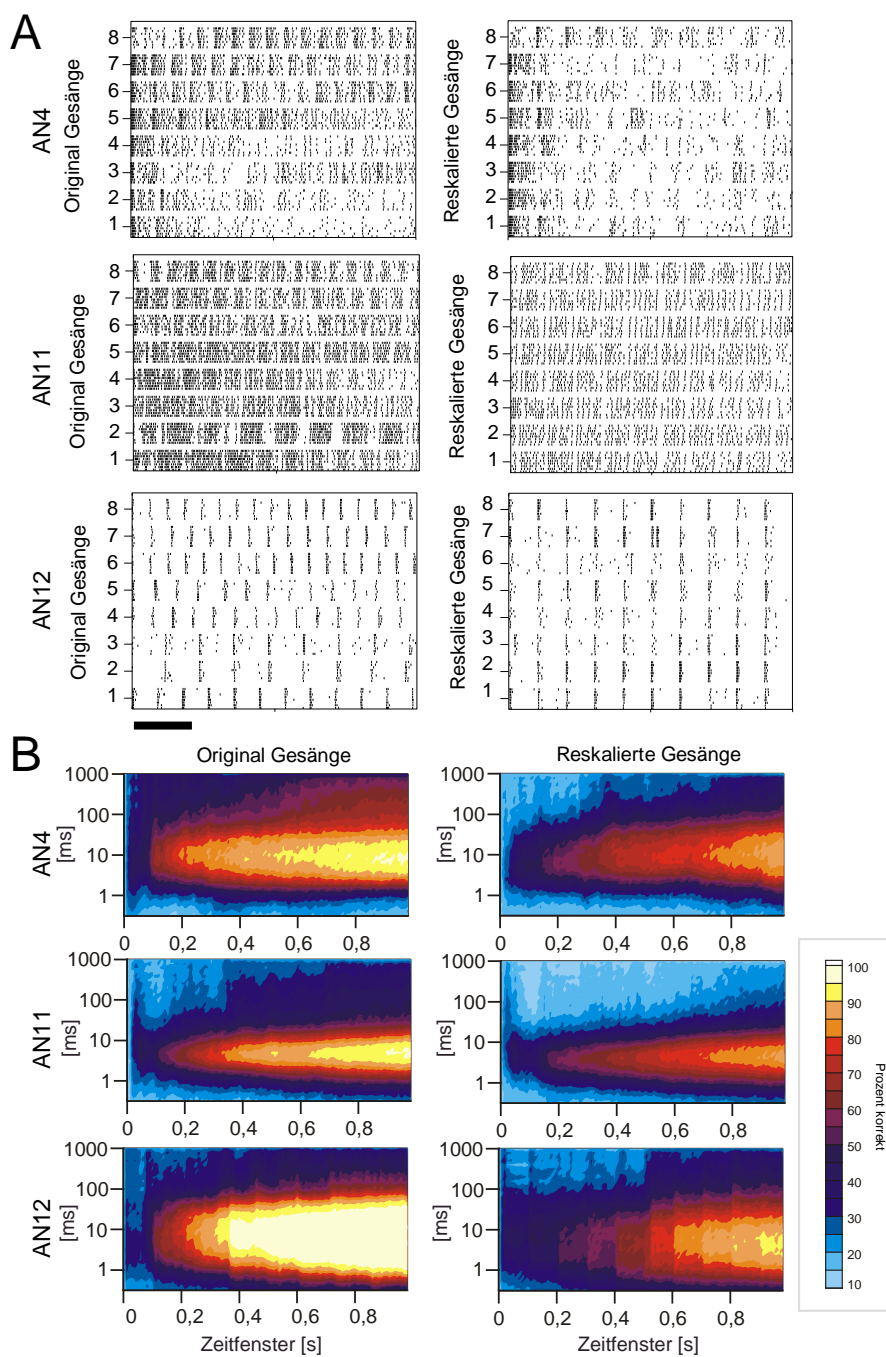
Wie gut lassen sich die Gesänge bei den aufsteigenden Interneuronen unterscheiden? Betrachtet man die Spikerasterplots (Abb. 6.3 A), so fallen zunächst die Unterschiede in den Antworteigenschaften zwischen den einzelnen Zelltypen auf.

Auf diese soll hier nicht im Detail eingegangen werden, da dies an späterer Stelle erfolgt. Im Vergleich zu den dargestellten lokalen Interneuronen sei nur auf zwei Aspekte hingewiesen: die geringere Ankopplung der Spikes an die Feinstruktur der Gesangsumhüllenden (besonders beim AN12) und die höhere neuronale Antwortvariabilität, in der die Unterschiede zwischen den Gesängen stärker untergehen (besonders beim AN4). Beides lässt eine verringerte Unterscheidbarkeit erwarten. Bei den Original Gesängen wurden trotzdem noch bei allen drei Zellen korrekte Zuordnungen der Spiketrains von über 90% erreicht. Die höchsten Werte zeigten sich beim AN12 mit über 95%. Die Zelle antwortet lediglich am Beginn der Silben mit einem Burst. Die



**Abbildung 6.2:** LOKALE INTERNEURONE: SPIKEANTWORTEN AUF DIE GESÄNGE UND RESULTIERENDE UNTERSCHIEDBARKEIT. **A** Spikeantworten eines SN2 und eines BGN1 auf die acht getesteten Original Gesänge (links) und die entsprechenden Reskalierten Gesänge (rechts). Jeder Gesang wurde 8 mal wiederholt. Zeitbalken: 200 ms. **B** Anteil korrekt klassifizierter Spiketrains als Funktion sowohl von  $\tau$  als auch der Dauer des Zeitfensters der Auswertung. Die Unterscheidbarkeit basiert auf den in **A** gezeigten Spikeantworten des SN2 und des BGN1 (links: Original Gesänge; rechts: Reskalierte Gesänge).

aufgrund der unterschiedlichen Periodendauern der Original Gesänge gegenüber verschobenen Bursts, lieferten offenbar genug Information, um die Gesänge nach 400 ms nahezu perfekt voneinander unterscheiden zu können.



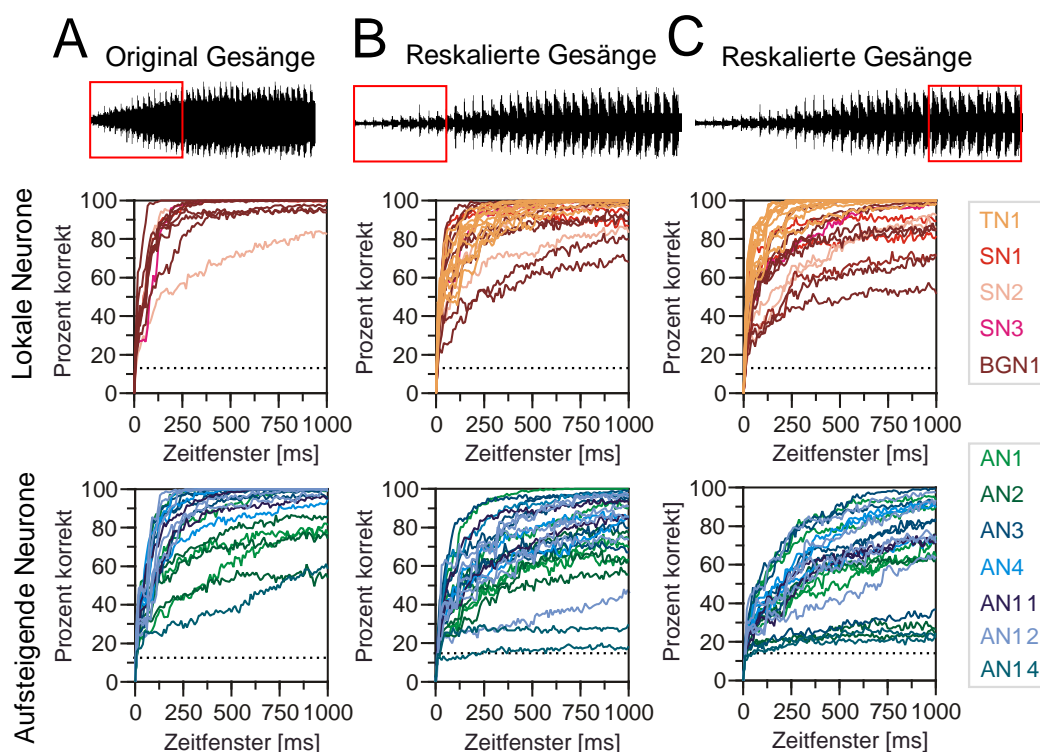
**Abbildung 6.3:** AUFSTIEGENDE INTERNEURONE: SPIKEANTWORTEN AUF DIE GESÄNGE UND RESULTIERENDE UNTERSCHIEDBARKEIT. Daten eines AN4, AN11 und AN12. Legende siehe 6.2.

Beim AN4 und beim AN11 wurden dagegen vergleichsweise längere Zeitfenster von 550 bzw. 650 ms benötigt. Die optimale zeitliche Auflösung lag beim AN4 im Bereich von 5 bis 20 ms und beim AN11 im Bereich von 4 bis 10 ms. Der optimale  $\tau$ -Bereich war bei diesen beiden Zellen also schmäler als bei den lokalen Interneuronen. Beim AN12 lieferten wiederum  $\tau$ -Werte von 1 bis 30 ms die beste Unterscheidbarkeit. Betrachtet man nun die Unterscheidbarkeit der Reskalierten Gesängen bei den aufsteigenden Neurone, so zeigt sich für alle drei Zellen eine Abnahme. Beim AN4 und beim AN11 wurden die Spiket trains nur noch zu 80 bis 85% korrekt zugeordnet, beim AN12 maximal zu 90%. Um diesen Grad korrekter Zuordnung zu erzielen, mussten Spiket trains einer Dauer von über 700 ms ausgewertet werden. Der optimale  $\tau$ -Bereich änderte sich gegenüber den Original Gesängen nur geringfügig. Auch hier bezog sich die Änderung vor allem auf eine schlechtere Unterscheidbarkeit bei hohen  $\tau$ -Werten ( $>80$  ms).

### 6.1.1 Zeitfenster bzw. Spikezahlen und die Unterscheidbarkeit

Nachdem die Unterscheidbarkeit bei einzelnen lokalen und aufsteigenden Interneuronen untersucht wurde, stellt sich die Frage, inwieweit für die einzelnen Verarbeitungsebenen allgemeine Charakteristika beschrieben werden können. Insgesamt konnten die Antworten von 11 lokalen (4 Zelltypen) und 22 aufsteigenden Interneuronen (7 Zelltypen) auf die Original Gesänge analysiert werden. Bei den Reskalierten Gesängen gingen 25 lokale (5 Zelltypen) und 25 aufsteigende Interneurone (7 Zelltypen) in die Auswertung ein. In Abb. 6.4 ist die Unterscheidbarkeit als Funktion der Länge des einbezogenen Zeitfensters dargestellt. Bei beiden Gesangs-Sets ging jeweils die Antwort auf die erste beantwortete Sekunde der Gesänge ein (Abb. 6.4 A und B). Zusätzlich wurde die Unterscheidbarkeit der letzten Sekunde der Reskalierten Gesänge analysiert (Abb. 6.4 C). An dieser Stelle soll weniger ein Vergleich zwischen den Reizbedingungen erfolgen, als vielmehr zwischen den Zelltypen bzw. der Verarbeitungsebenen. Die Größe des Datensatzes erlaubt ausserdem einen Vergleich zwischen den funktionell separierten richtungs- und muster-





**Abbildung 6.4:** UNTERSCHIEDBARKEIT DER GESÄNGE ALS FUNKTION DER LÄNGE DES AUSGEWERTETEN ZEITFENSTERS. Die Unterscheidbarkeit basierte auf **A** Antworten auf die erste Sekunde der Original Gesänge. **B** Antworten auf die erste Sekunde der Reskalierten Gesänge. **C** Antworten auf die letzte Sekunde der Reskalierten Gesänge (vgl. Darstellungen oben). Ergebnisse für alle getesteten lokalen Interneurone (oben) und alle aufsteigenden Interneurone (unten). Die gestrichelte Linie gibt das Zufallsniveau der Zuordnung an (12.5%). Der zeitliche Auflösungsparameter  $\tau$  betrug einheitlich für alle Zellen 5 ms (vgl. Material & Methoden, sowie Abb. 6.6). Original Gesänge: LN,  $N = 11$ ; AN,  $N = 22$ ; Reskalierte Gesänge: LN,  $N = 25$ ; AN,  $N = 25$ .

kodierenden Interneuronen.

Der Verlauf der Funktionen in Abb. 6.4 ist bei allen Zellen insofern ähnlich, als die Unterscheidbarkeit mit zunehmender Dauer des ausgewerteten Zeitfensters zunächst steil und dann langsamer ansteigt, um schließlich in den meisten Fällen ein Plateauniveau zu erreichen. Zwei Aspekte unterschieden sich zwischen den Zellen wesentlich. Erstens, die maximal erreichte Unterscheidbarkeit. Zweitens, die Steilheit des Anstiegs, also die Geschwindigkeit mit der die korrekte Zuordnung mit der Länge des ausgewerteten Zeitfensters zunimmt. Die maximal erreichte Unterscheidbarkeit zeigte bei den Ori-

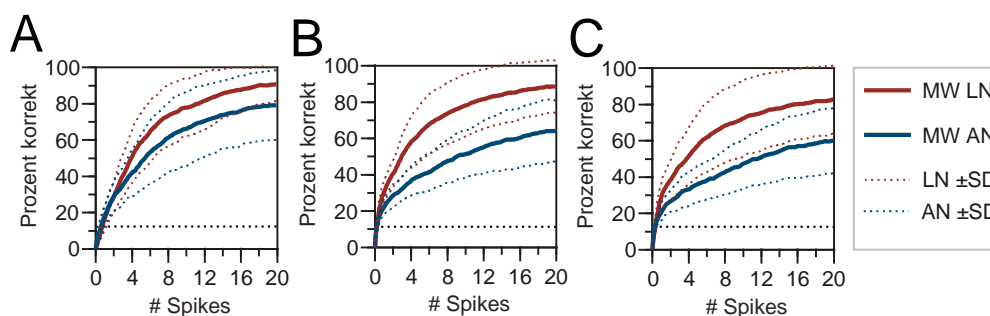
ginal Gesängen (Abb. 6.4 A) keinen signifikanten Unterschied zwischen den Verarbeitungsebenen. Bei den lokalen Interneuronen wurden, mit Ausnahme nur einer Zelle, über 95% der Spiketrains korrekt zugeordnet. (In dieser Abbildung sind keine Daten des TN1 enthalten, da diese Zelle drei Gesänge mit geringem tieffrequenten Anteil nicht beantwortete). Die maximale Unterscheidbarkeit der aufsteigenden Interneurone zeigte eine sehr viel breitere Verteilung der Werte. Die musterkodierenden aufsteigenden Interneurone erreichten, abgesehen vom AN14, ebenfalls korrekte Zuordnungen von über 95%. Dagegen ergab sich für die Mehrzahl der richtungskodierenden Interneuronen (AN1 und AN2) eine deutlich niedrigere Unterscheidbarkeit der Gesänge (U-Test: AN(M) - AN(R),  $p < 0.05$ ). Inwieweit veränderte sich dieses Bild bei den Reskalierten Gesängen?

Sowohl die Auswertung der ersten Sekunde der Reskalierten Gesänge (Abb. 6.4 B) als auch der letzten Sekunde (Abb. 6.4 C) ergab eine signifikante Abnahme der Unterscheidbarkeit für die höheren Verarbeitungsebenen (U-Test: LN-AN,  $p < 0.001$  und  $p < 0.001$ ). Die lokalen Interneurone erreichten noch Anteile korrekter Zuordnungen von 70-100% (erste Sekunde) bzw. 50 -100% (letzte Sekunde). Die höchsten Werte zeigte auf dieser Verarbeitungsebene das TN1, die niedrigsten Werte und gleichzeitig auch die größte Streuung das BGN1. Der Unterschied gegenüber den aufsteigenden Interneuronen ließ sich auch dann statistisch sichern, wenn das TN1 wie auch bei den Original Gesängen, nicht in die Analyse mit einbezogen wurde (U-Test: LN (ohneTN1) - AN,  $p < 0.05$  und  $p < 0.05$ ). Für die aufsteigenden Interneurone ergaben sich nicht nur insgesamt niedrigere Werte, sondern auch eine breitere, zwischen den einzelnen Zelltypen häufig stark überlappende Verteilung der maximal erreichten Unterscheidbarkeit auf (20-100% bzw. 20-99%). Werte von unter 50% wurden nur beim AN14 und beim richtungskodierenden Interneuron AN2 gemessen. Zwischen den richtungs- und den musterkodierenden Interneuronen konnte bei den Reskalierten Gesängen kein signifikanter Unterschied ermittelt werden.

Betrachten wir nun die Geschwindigkeit, mit der die Unterscheidbarkeit mit zunehmend längeren Zeitfenstern anstieg. Um diesen Parameter zu erfassen, wurden auf der Grundlage eines einfachen exponentiellen Fits der

Kurven die Zeitkonstanten der korrekten Zuordnung bestimmt ( $T_{zf}$  vgl. Material & Methoden). Bei allen drei Reizbedingungen zeigten die lokalen Interneurone signifikant niedrigere Werte als die aufsteigenden Interneurone (U-Test (LN-AN): 6.4 A:  $p < 0.05$ ; B:  $p < 0.001$ ; C:  $p < 0.001$ ). Ein Vergleich zwischen richtungs- und musterkodierenden Interneuronen ergab für letztere signifikant kleinere Zeitkonstanten bei den Original Gesängen. Bei den Reskalierten Gesängen wurde kein signifikanter Unterschied zwischen diesen Neuronengruppen gemessen.

Ein festes Zeitfenster kann bei verschiedenen Neuronen unterschiedliche Spikezahlen enthalten. Inwieweit dies einen Einfluss auf die Unterscheidbarkeit hatte, sollte geprüft werden, indem der Anteil korrekt zugeordneter Spiketrains gegenüber der Zahl der einbezogenen Spikes aufgetragen wurde (Abb. 6.5). Bei den Original Gesängen (Abb. 6.5 A) zeigten die lokalen Interneurone gegenüber den aufsteigenden Interneuronen im Mittel höhere Anteile korrekt zugeordneter Spiketrains. Unter Einbeziehung der Standardabweichungen überlappen die erreichten Unterscheidbarkeit beider Neuronengruppen allerdings stark. Somit konnte, wie auch schon für die maximal



**Abbildung 6.5:** UNTERSCHIEDBARKEIT DER GESÄNGE ALS FUNKTION DER EINBEZOGENEN SPIKES. **A** Erste Sekunde der Original Gesänge. **B** Erste Sekunde der Reskalierten Gesänge. **C** Letzte Sekunde der Reskalierten Gesänge. Dargestellt sind Mittelwertskurven der einzelnen Verarbeitungsebenen. Die Standardabweichung ist als gestrichelter Bereich angegeben. Die schwarze gestrichelte Linie gibt das Zufallsniveau der Zuordnung an (12.5%). Der zeitliche Auflösungsparameter  $\tau$  betrug einheitlich für alle Zellen 5 ms (vgl. Material & Methoden, sowie Abb. 6.6). Original Gesänge: LN,  $N = 11$ ; AN,  $N = 22$ ; Reskalierte Gesänge: LN,  $N = 25$ ; AN,  $N = 25$ .

erreichte Unterscheidbarkeit (vgl. Abb. 6.4 A), kein signifikanter Unterschied zwischen den korrekten Anteilen bei gleichen Spikezahlen gemessen werden

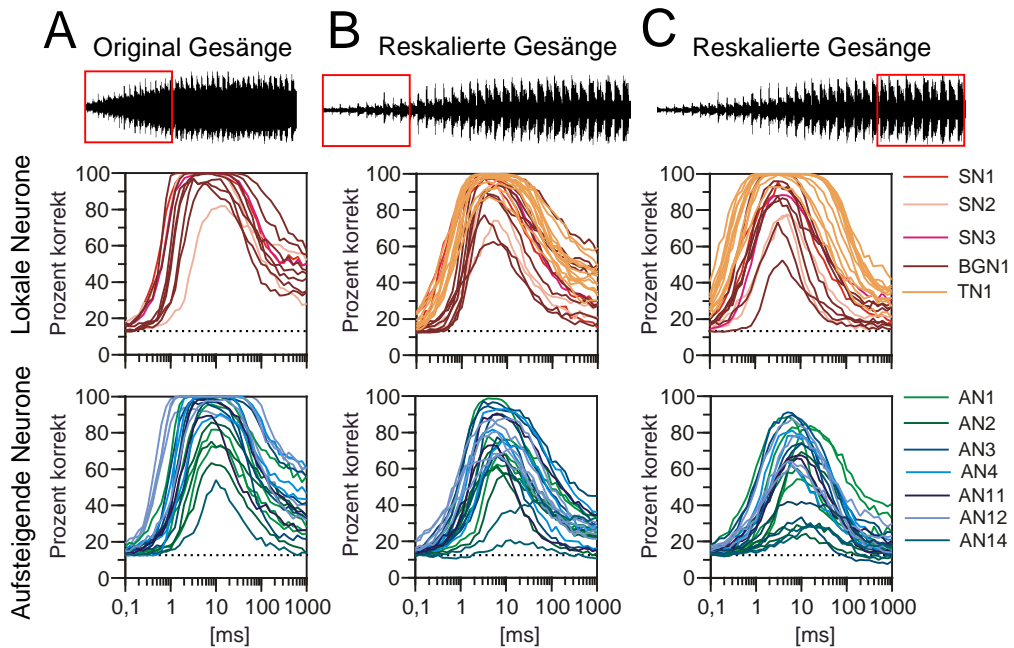
(U-Test: Vergleich der korrekten Zuordnung bei 20 Spikes: LN-AN, n.s.). Auch die Geschwindigkeit, mit der die korrekte Zuordnung eine Sättigung erreicht, ergab keine signifikante Abweichung zwischen den Verarbeitungsebenen. Dem schwach signifikanten Unterschied der Geschwindigkeit mit der die Unterscheidbarkeit mit zunehmender Dauer des Zeitfensters zunimmt (vgl. Abb. 6.4 A), liegen folglich unterschiedliche Spikezahlen zugrunde. Anders war die Situation bei den Reskalierten Gesängen: für beiden Auswertebereiche (Abb. 6.5 B und C) zeigten die lokalen Interneurone signifikant höhere Anteile korrekt zugeordneter Spiketrains bei 20 einbezogenen Spikes als die aufsteigenden Interneurone (U-Test (LN-AN): 6.5 B:  $p < 0.001$ ; C:  $p < 0.001$ ). Die Unterscheidbarkeit erreichte gleichzeitig bei den lokalen Interneuronen auf der Grundlage von weniger Spikes ein Sättigungsniveau als bei den aufsteigenden Interneuronen (U-Test (LN-AN): 6.5 B:  $p < 0.001$ ; C:  $p < 0.05$ ). Die Unterschiede zwischen den Anteilen korrekt zugeordneter Spiketrains der Verarbeitungsebenen bei gleich langen Zeitfenstern (Abb. 6.4) lassen sich somit nicht alleine auf verschiedene Spikezahlen zurückführen.

### 6.1.2 Das optimale $\tau$ für die Unterscheidbarkeit der Gesänge

Die Unterscheidbarkeit der Gesänge wurde für unterschiedliche Werte des Auflösungsparameter  $\tau$  bestimmt, um dessen Einfluss vergleichend für die einzelnen Zelltypen bzw. Verarbeitungsebenen zu untersuchen (Abb. 6.6). Sowohl die Auswertung der Antworten auf die Original (Abb. 6.6 A) als auch auf die Reskalierten Gesänge (Abb. 6.6 B und C) ergab eine Abhängigkeit des Anteils der korrekten Zuordnung von  $\tau$  in Form von Optimumskurven. Ein Teil der Zellen (besonders lokale Interneurone) zeigten ein konstantes Maximum über einen breiten Bereich von  $\tau$ -Werten. Aus diesem Grund wurde auf eine Bestimmung *eines* optimalen  $\tau$ -Wertes der Unterscheidbarkeit der Gesänge verzichtet, sondern ausschließlich der optimale  $\tau$ -Bereichs betrachtet. Dieser wurde 10% unterhalb der maximalen korrekten Zuordnung bestimmt und durch die Grenzwerte  $\tau_{\min}$  und  $\tau_{\max}$  beschrieben (vgl. 5.2 und Material & Methoden). Bei allen drei untersuchten Datensätzen begann der optimale

$\tau$ -Bereich bei den lokalen Interneuronen bei signifikant kleineren  $\tau$ -Werten als bei den aufsteigenden Interneuronen ( $\tau_{\min}$ : U-Test (LN-AN): Abb. 6.6 A:  $p < 0.05$ ; B:  $p < 0.001$ ; C:  $p < 0.001$ ). So erreichten die lokalen Interneurone, abgesehen von einem SN2 (Abb. 6.6 A), bereits bei einer zeitlichen Auflösung von 1 bis 3 ms 90% der maximal korrekten Zuordnung. Beim TN1 wurden sogar Werte von unter 1 ms gemessen (Abb. 6.6 C). Die aufsteigenden Interneurone zeigten mehrheitlich  $\tau_{\min}$ -Werte von 2 bis 5 ms. Werte  $< 2$  ms wurden lediglich bei drei Vertretern des AN12 bei den Original Gesängen gemessen (Abb. 6.6 A), Werte  $> 5$  ms beim AN2 und beim AN14 (Abb. 6.6 A, B und C). Abgesehen von letzteren, konnten für die einzelnen aufsteigenden Zelltypen keine systematischen Unterschiede des minimalen  $\tau$ -Wertes festgestellt werden, da die Verteilungen sehr stark überlappen. Eine separate Betrachtung von richtungs- und musterkodierende Interneuronen ergab nur bei den Original Gesängen einen statistisch sicherbaren Unterschied, in der Weise, dass erstere signifikant höhere  $\tau_{\min}$ -Werte zeigten. Bei den Reskalierten Gesängen ergab sich diesbezüglich kein signifikanter Unterschied zwischen diesen Neuronengruppen.

Bei welchem Wert von  $\tau$  fällt die Unterscheidbarkeit wieder 10% unter den erreichten Maximalwert? In Abb. 6.6 wird sichtbar, dass sich der Abfall der Kurven innerhalb der einzelnen Verarbeitungsebenen und auch der einzelnen Zelltypen in einem sehr breiten  $\tau$ -Bereich vollzieht. Eine statistische Auswertung ergab für alle drei Datensätze keinen signifikanten Unterschied der  $\tau_{\max}$ -Werte zwischen den lokalen und den aufsteigenden Interneuronen. Bei den Original Gesängen lagen die  $\tau_{\max}$ -Werte für die lokalen Interneurone im Bereich von 11 bis 105 ms und für die aufsteigenden Interneurone zwischen 16 und 120 ms. Die Unterscheidbarkeit brach bei den Reskalierten Gesängen insgesamt schon bei kleineren  $\tau$ -Werten ab. Für die lokalen Interneurone ergaben sich hier  $\tau_{\max}$ -Werte von 5 bis 60 ms und für die aufsteigenden Interneurone Werte von 9 bis 40 ms. Wie auch zwischen den Verarbeitungsebenen zeigte sich auch zwischen den richtungs- und musterkodierenden Interneuronen kein signifikanter Unterschied zwischen den  $\tau_{\max}$ -Werten. Betrachtet man die Abhängigkeit der Unterscheidbarkeit von  $\tau$ , so fällt auf, dass diese beim TN1 nicht nur schon bei sehr viel kleineren  $\tau$ -Werten ein Maximum



**Abbildung 6.6:** UNTERSCHIEDBARKEIT DER GESÄNGE ALS FUNKTION DES ZEITLICHEN AUFLÖSUNGSPARAMETERS  $\tau$ . Der Anteil korrekt zugeordneter Spiketrains in Abhängigkeit von  $\tau$  wurde in **A** für die Antworten auf die erste Sekunde der Original Gesänge bestimmt. In **B** für Antworten auf die erste Sekunde der Reskalierten Gesänge. In **C** für Antworten auf die letzte Sekunde der Reskalierten Gesänge (vgl. Darstellung oben). Die Ergebnisse aller getesteten lokalen Interneurone sind oben dargestellt und aller aufsteigenden Interneurone unten. Die gestrichelte Linie gibt das Zufallsniveau der Zuordnung an (12.5%). Das Zeitfenster der Auswertung betrug einheitlich 500 ms. Original Gesänge: LN,  $N = 11$ ; AN,  $N = 22$ ; Reskalierte Gesänge: LN,  $N = 25$ ; AN,  $N = 25$ .

erreichte, sondern gegenüber den anderen lokalen Interneuronen auch erst bei sehr viel größeren  $\tau$ -Werten abfiel. Wurde das TN1 (wie schon bei den Original Gesängen) aus dem Vergleich zwischen den Verarbeitungsebenen ausgeschlossen, so zeigten die lokalen gegenüber den aufsteigenden Interneuronen bei signifikant kleineren  $\tau$ -Werten eine Abnahme der Unterscheidbarkeit der Reskalierten Gesänge ( $\tau_{\max}$ :U-Test (LN-AN):  $p < 0.01$  und  $p < 0.001$  für die Daten aus Abb. 6.6 B bzw. C).

Bei einem  $\tau$ -Wert von 1000 ms basierte die Unterscheidbarkeit der Gesänge ausschließlich auf Spikezahlunterschieden. Unterschiedliche Spikezahlen können aus verschiedenen Trägerfrequenzanteilen, Intensitätsunterschieden und auch zeitlichen Filterprozessen resultieren. An dieser Stelle soll weni-

ger der Einfluss dieser drei Faktoren untersucht werden. Hier wird zunächst einmal der Frage nachgegangen werden, inwieweit für die einzelnen Verarbeitungsebenen bzw. Zelltypen eine mehr oder weniger gute Unterscheidbarkeit aufgrund der Spikezahlen möglich war. Ein Vergleich zwischen den Verarbeitungsebenen ergab bei den Original Gesängen keinen signifikanten Unterschied der erreichten Unterscheidbarkeit bei  $\tau = 1000$  ms. Bei den Reskalierten Gesängen zeigte sich dagegen eine signifikant höhere korrekte Zuordnung für die lokalen als für die aufsteigenden Interneurone ( $\tau_{\max}$ : U-Test (LN-AN):  $p < 0.01$  und  $p < 0.001$  für die Daten aus Abb. 6.6 B bzw. C). Das Unterschied verschwand allerdings, wenn das TN1 mit seiner hohen korrekten Zuordnung, wie bei den Original Gesängen aus der Analyse ausgeschlossen wurde. Richtungs- und musterkodierenden Interneurone wiesen bei allen drei Datensätzen keinen signifikanten Unterschied zwischen den korrekt zugeordneten Anteilen bei  $\tau = 1000$  ms auf. Auch die einzelnen Zelltypen zeichneten sich weniger durch bestimmte Anteile korrekter Zuordnung aus, sondern vielmehr durch Unterschiede zwischen den Vertretern und stark überlappende Verteilungen.

### 6.1.3 Vergleich der Unterscheidbarkeit: Einfluss der Reskalierung und des Auswertebereichs

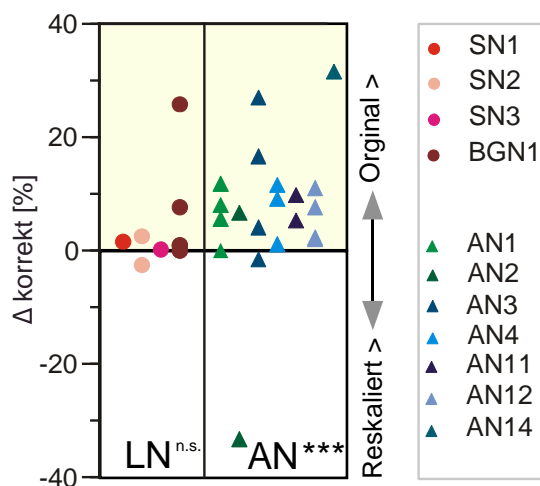
Die Unterscheidbarkeit wurde bisher für die verschiedenen Gesangs-Sets separat betrachtet. Von 10 lokalen und 20 aufsteigenden Interneuronen konnten Antworten sowohl auf Original wie auch auf Reskalierte Gesänge gewonnen werden. Dadurch wird ein direkter Vergleich der Unterscheidbarkeit möglich. Zwei wesentliche Parameter in denen sich die Original Gesänge unterscheiden, die Silben- und Pausendauern sowie die Trägerfrequenzen (vgl. Abb. 6.1), nehmen bei den Reskalierten Gesängen identische Werte an. Daraus ergibt sich die Frage, inwieweit die Reskalierung die Unterscheidbarkeit der Gesänge beeinträchtigte. Für diesen Vergleich wird zunächst die erste Sekunde der Gesänge betrachtet. In diesem Auswertebereich nahm die Amplitude der Gesänge mit der Zeit zu. Die Dauer dieser Anstiegsphase unterschied sich zwischen einzelnen Gesängen, welches wiederum unterscheidbare mitt-

lere Spikeraten bedingen konnte. Deshalb wurde zusätzlich noch die letzte Sekunde der Reskalierten Gesänge ausgewertet, in der die mittlere Amplitude aller Gesänge nahezu identisch war. So betrug der maximal gemessene Intensitätsunterschied zwischen einzelnen Gesängen hier weniger als 1 dB. Ein Vergleich der beiden Auswertebereiche soll klären inwieweit sich die Unterscheidbarkeit zwischen der ersten und der letzten ausgewerteten Sekunde veränderte.

### Vergleich zwischen Original und Reskalierten Gesängen

Die Rezeptoren zeigen bei Original und Reskalierten Gesängen eine gleichbleibende Unterscheidbarkeit (Machens, 2002). Dies beinhaltet sowohl den maximal erreichten Anteil korrekt zugeordneter Spiketrains von über 95% als auch die dafür benötigten Zeitfenster von 200-300 ms. Die optimalen  $\tau$ -Werte der Unterscheidbarkeit (2-10 ms) änderten sich ebenfalls nicht wesentlich. In Abb. 6.7 ist die prozentuale Differenz der Anteile korrekt zugeordneter Spiketrains zwischen den beiden Gesangs-Sets für die lokalen und aufsteigenden Interneurone dargestellt.

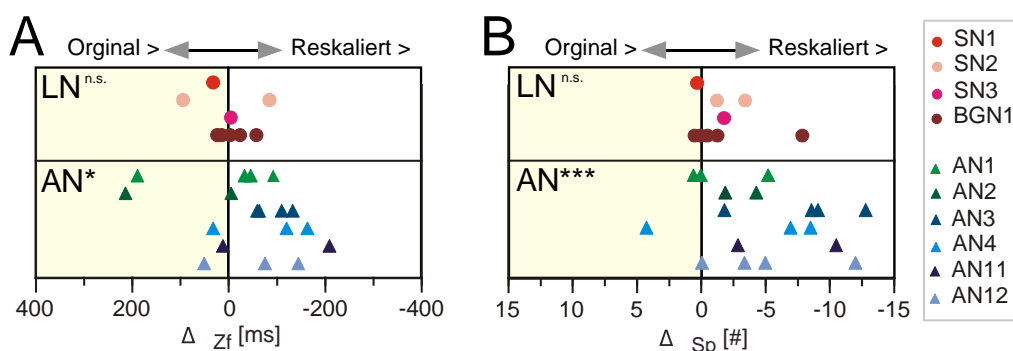
**Abbildung 6.7:** EINFLUSS DER RESKALIERUNG AUF DIE UNTERSCHIEDBARKEIT. Für jede Zelle wurde der maximale Anteil korrekt zugeordneter Spiketrains bei den Original Gesängen und bei den Reskalierten Gesängen bestimmt. Das Zeitfenster der Auswertung betrug eine Sekunde. Die prozentuale Differenz (% korrekt Original Gesänge - % korrekt Reskalierte Gesänge) beschreibt die Änderung der Unterscheidbarkeit zwischen den beiden Gesangs-Sets. Wilcoxon-Paardifferenzen-Test: LN: N = 10, n.s.; AN: N = 20,  $p < 0.001$ . Alle Zellen: N = 30,  $p < 0.001$ .



Der Anteil korrekt zugeordneter Spiketrains nahm von den Original zu den Reskalierten Gesängen signifikant ab (Wilcoxon-Test (Alle Zellen):  $p < 0.001$ ). Eine separate Betrachtung der beiden Verarbeitungsebenen zeigte allerdings,



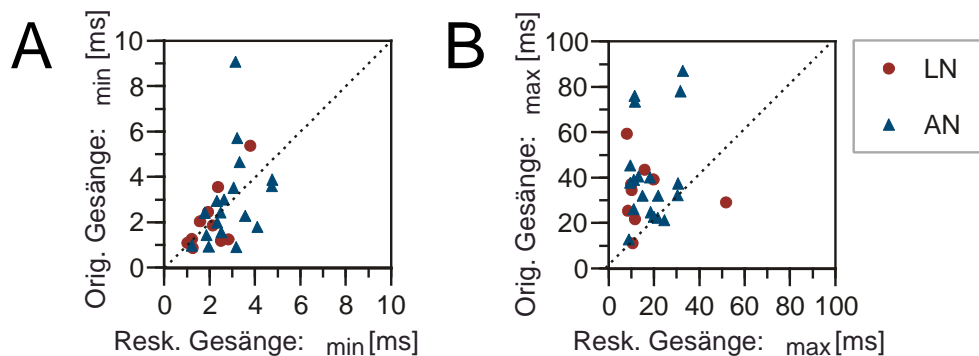
dass dieses alleine auf der hoch signifikanten Abnahme der korrekten Zuordnung der aufsteigenden Interneurone basierte (Wilcoxon-Test (AN):  $p < 0.001$ ). Die lokalen Interneurone zeigten dagegen keine signifikante Änderung der Unterscheidbarkeit. Dieser Trend war auch, für die Geschwindigkeit mit der die Unterscheidbarkeit zunahm zu erkennen (Abb. 6.8). Bei den lokalen Interneuronen ergab sich kein signifikanter Unterschied zwischen den Gesangs-Sets sowohl bezüglich der Zeitfenster (Abb. 6.8 A) als auch der Spikezahlen (Abb. 6.8 B), die benötigt wurden, um 63% der maximalen korrekten Zuordnung zu erreichen. Dagegen benötigten die aufsteigenden Interneurone bei den Reskalierten Gesängen signifikant längere Zeitfenster (Wilcoxon-Test (AN):  $p < 0.05$ ) bzw. höhere benötigte Spikezahlen (Wilcoxon-Test (AN):  $p < 0.001$ ) für eine entsprechende korrekte Zuordnung als bei den Original Gesängen.



**Abbildung 6.8:** EINFLUSS DER RESKALIERUNG AUF DIE FÜR DIE UNTERSCHIEDBARKEIT BENÖTIGTEN ZEITFENSTER UND SPIKEZAHLEN. **A** Die Zeitkonstanten der Unterscheidbarkeit wurden für jede Zelle bei den Original und den Reskalierten Gesängen gemessen und als Differenz aufgetragen ( $T_{zf}$  Original Gesänge -  $T_{zf}$  Reskalierte Gesänge). **B** Differenz zwischen der Geschwindigkeit der Zunahme der Unterscheidbarkeit in Abhängigkeit der einbezogenen Spikezahlen bei Original und Reskalierten Gesängen ( $T_{Sp}$  Original Gesänge -  $T_{Sp}$  Reskalierte Gesänge).  $T_{zf}$  (Wilcoxon-Paardifferenzen-Test: LN:  $N = 9$ , n.s.; AN:  $N = 19$ ,  $p < 0.05$ . Alle Zellen:  $N = 28$ ,  $p < 0.05$ ).  $T_{Sp}$  (Wilcoxon-Paardifferenzen-Test: LN:  $N = 9$ , n.s.; AN:  $N = 19$ ,  $p < 0.001$ . Alle Zellen:  $N = 28$ ,  $p < 0.001$ ).

Da beide Werte zunahmen, deutete sich an, dass die Zunahme der Dauer der benötigten Zeitfenster nicht allein auf eine Abnahme der mittleren Spikerate bei den Reskalierten Gesängen zurückzuführen war. Tatsächlich zeigte sich keine Korrelation zwischen der Änderung der Spikerate und der Änderung der Unterscheidbarkeit (Daten nicht dargestellt).

Ein Vergleich zwischen den Gesangs-Sets hinsichtlich der für die Unterscheidbarkeit optimalen zeitlichen Auflösung der Spiketrain (Abb. 6.9) orientierte sich an der minimalen und der maximalen Grenze des optimalen Bereichs:  $\tau_{\min}$  und  $\tau_{\max}$ . Die  $\tau_{\min}$ -Werte zeigten keine signifikante Abweichung

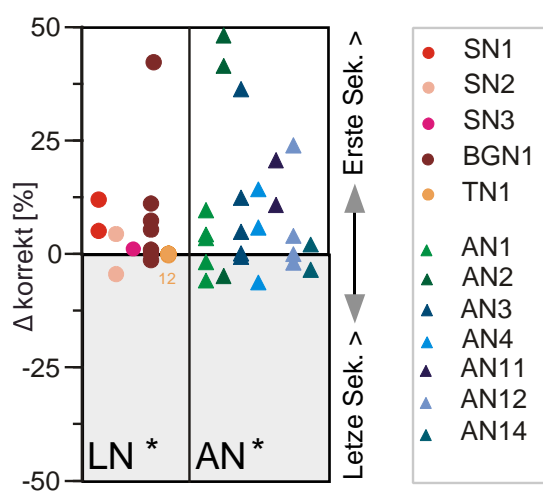


**Abbildung 6.9:** VERGLEICH ZWISCHEN ORIGINAL UND RESKALIERTEN GESÄNGEN: DER OPTIMALE  $\tau$ -BEREICH. **A**  $\tau_{\min}$ (vgl. Material & Methoden) bei den Original gegenüber den Reskalierten Gesängen. **B**  $\tau_{\max}$ (vgl. Material & Methoden) bei den Original gegenüber den Reskalierten Gesängen.

von der Winkelhalbierenden (Abb. 6.9 A). Dagegen ergab sich für  $\tau_{\max}$  (Abb. 6.9 B) ein signifikanter Unterschied in der Weise, dass bei den Original Gesängen deutlich höhere Werte gemessen wurden als bei den Reskalierten Gesängen (Wilcoxon-Paardifferenzen-Test: LN:  $p < 0.01$ ; AN:  $p < 0.01$ ). Dies ist insofern nicht verwunderlich, als dass bei den Original Gesängen die unterschiedlichen Trägerfrequenzanteile zu unterschiedlicheren Spikezahlen führen können. So werden die Spiketrains aufgrund der Spikezahlen (bei  $\tau = 1000$  ms) bei den Original Gesängen sowohl für die lokalen als auch die aufsteigenden Interneurone zu einem Anteil von bis zu 60% korrekt zugeordnet (Abb. 6.6 A), bei den Reskalierten Gesängen, abgesehen von einzelnen lokalen Interneuronen, nur bis zu 40% (Abb. 6.6 B). Die statistische Analyse zeigte eine signifikante Abnahme der Unterscheidbarkeit auch bei diesem Wert des zeitlichen Auflösungsparameters  $\tau$  zwischen den beiden Gesangs-Sets (Wilcoxon-Paardifferenzen-Test: LN:  $p < 0.05$ ; AN:  $p < 0.01$ ).

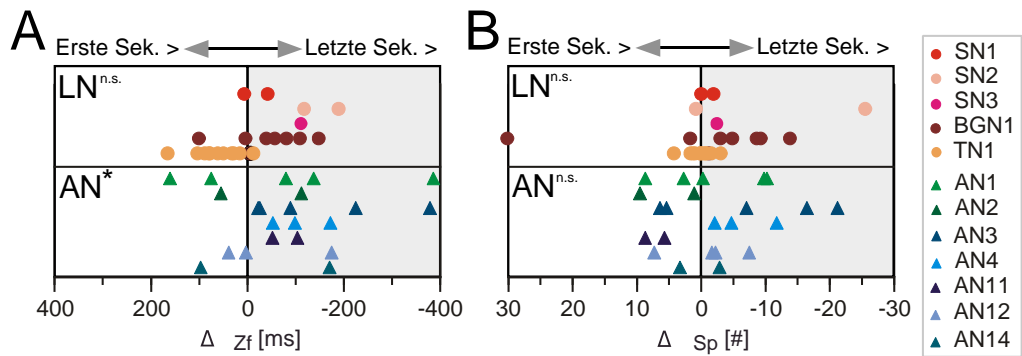
## Vergleich zwischen verschiedenen Auswertebereichen

Im Folgenden soll die Unterscheidbarkeit zweier verschiedener Auswertebereiche miteinander verglichen werden: der ersten und letzten Sekunde der Reskalierten Gesänge. Bei den Rezeptoren zeigte Machens (2002) eine niedrigere Unterscheidbarkeit zwischen den Gesängen bei einer Analyse der letzten Sekunde. Diese trat aber nur bei drei von sieben Experimenten auf. In diesen Fällen war die Abnahme offenbar weniger durch die geringeren Unterschiede zwischen den Gesängen bedingt als vielmehr dadurch, dass die Zellen in einen Sättigungsbereich getrieben wurden. In Abb. 6.10 ist die prozentuale Differenz der korrekten Zuordnung zwischen den beiden Auswertebereichen aufgetragen. Sowohl die lokalen als auch die aufsteigenden Interneurone zeigten mehrheitlich für die letzte Sekunde eine geringere korrekte Zuordnung der Spiketrains als für die erste Sekunde der Gesänge (Wilcoxon-Test (LN):  $p < 0.05$ ; (AN):  $p < 0.05$ ). Bei nahezu allen Zelltypen zeigten allerdings einzel-



**Abbildung 6.10:** EINFLUSS DES AUSWERTEBEREICHES AUF DIE UNTERSCHIEDBARKEIT. Der maximale Anteil der korrekt zugeordneter Spiketrains wurde sowohl für die erste Sekunde als auch für die letzte Sekunde der Reskalierten Gesänge bestimmt und die Differenz ermittelt (% korrekt erste Sekunde - % korrekt letzte Sekunde). Wilcoxon-Paardifferenzen-Test: LN:  $N = 25$ ,  $p < 0.05$ ; AN:  $N = 25$ ,  $p < 0.05$ . Alle Zellen:  $N = 50$ ,  $p < 0.001$ .

ne Vertreter auch eine Zunahme der Unterscheidbarkeit innerhalb der letzten Sekunde der Gesänge. Nur bei den 12 Vertretern des TN1 blieb die Unterscheidbarkeit nahezu konstant. Abgesehen von nur einem Vertreter wurden beim TN1 auch kürzere Zeitfenster für eine korrekten Zuordnung benötigt (Abb. 6.11 A). Bei den anderen Interneuronen wurde dagegen bei der Auswertung der letzten Sekunde das Zeitfenster länger (Wilcoxon-Test (LN): n.s.; (AN):  $p < 0.05$ ). Die Spikezahlen, die bei den beiden Auswertebereichen



**Abbildung 6.11:** DIFFERENZ DER DIE FÜR DIE UNTERSCHIEDBARKEIT BENÖTIGTEN ZEITFENSTER UND SPIKEZAHLEN ZWISCHEN DEN BEIDEN AUSWERTEBEREICHEN. **A** Für die beiden Auswertebereiche wurden die Zeitkonstanten der Unterscheidbarkeit bestimmt und für jede Zelle als Differenz aufgetragen ( $T_{zf}$  Erste Sekunde -  $T_{zf}$  Letzte Sekunde). **B** In gleicher Weise wurde die Differenz zwischen der Konstanten der Spikezahl bei der Ersten und Letzten Sekunde der Reskalierten Gesängen ermittelt ( $T_{Sp}$  Erste -  $T_{Sp}$  Sekunde der Gesänge).  $T_{zf}$  (Wilcoxon-Paardifferenzen-Test: LN: N = 24,  $p < 0.05$ ; AN: N = 23,  $p < 0.05$ ). Alle Zellen: N = 47,  $p < 0.05$ ).  $T_{Sp}$  (Wilcoxon-Paardifferenzen-Test: LN: N = 24, n.s.; AN: N = 23, n.s. Alle Zellen: N = 47, n.s.)

benötigt wurden, um 63% der maximalen Unterscheidbarkeit zu erreichen, wichen jedoch nicht signifikant voneinander ab (Abb. 6.11 B). Wie lässt sich dieses Bild erklären?

**Abbildung 6.12:**

ANTWORTEN AUF SILBEN UNTERSCHIEDLICHER AMPLITUDE. **A** Antworten eines lokalen Interneurons TN1. **B** Antworten eines aufsteigenden Interneurons AN3. links: Antworten auf drei Wiederholungen einer Silbe aus der erste Sekunde eines Reskalierten Gesangs. rechts: Antworten auf drei Wiederholungen einer Silbe aus der letzten Sekunde eines Reskalierten Gesangs.

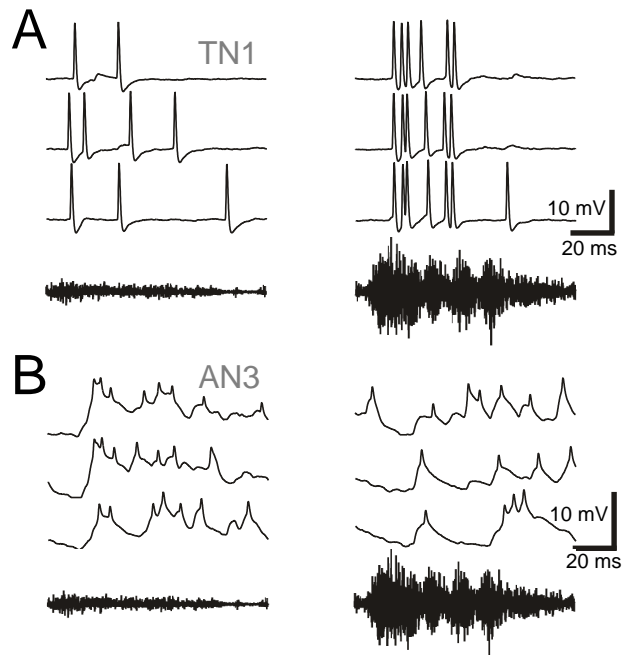
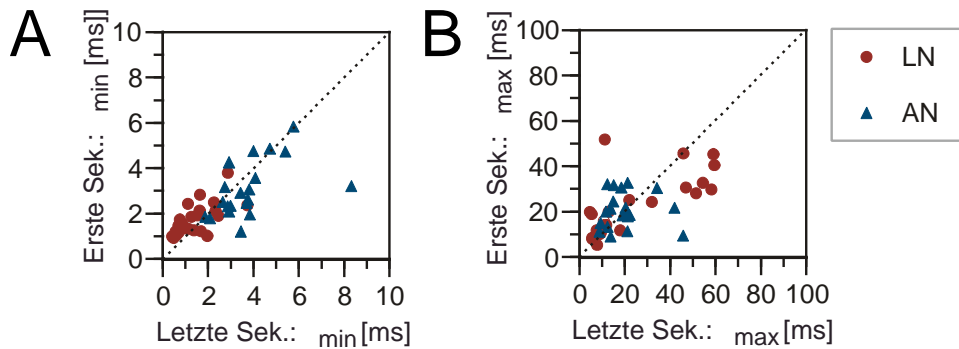
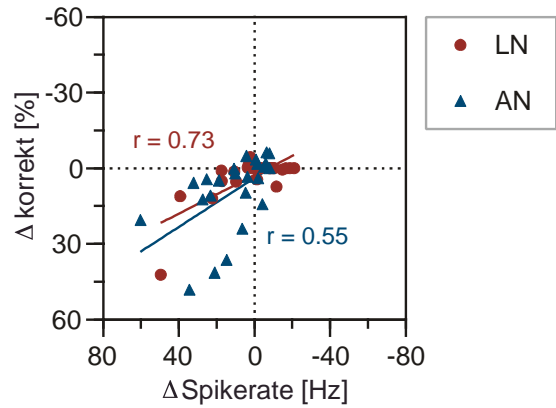


Abbildung 6.12 zeigt die Antworten eines lokalen Interneurons (TN1) und eines aufsteigenden Interneurons (AN3) auf wiederholte Reizung mit einer Silbe aus der ersten und der letzten Sekunde eines Gesangs. Das TN1 (Abb. 6.12 A) beantwortete die Silbe aus der letzten Sekunde aufgrund ihrer höheren Amplitude mit einer höheren Spikezahl. Gleichzeitig wies die Antwort gegenüber der Silbe niedrigerer Amplitude eine deutlich geringere trial-to-trial Variabilität auf - sowohl bezüglich der Spikezahlen als der Spikezeitpunkte. Beim AN3 (Abb. 6.12 B) zeigte sich insofern ein gegensätzliches Bild, als dass die mittlere Spikezahl mit der Zunahme der Silben-Amplitude abnahm. Damit einher geht wiederum eine Zunahme der Antwortvariabilität.

Die Antworten vieler aufsteigender Interneurone sind geprägt durch ein komplexes intensitätsabhängiges Zusammenspiel von Exzitationen und Inhibitionen. Während die Intensitätskennlinien der Rezeptoren und einiger lokale Interneurone (wie dem TN1) bis zu einem Sättigungsbereich ansteigen, zeigen die meisten aufsteigenden Interneurone in ihren Kennlinien einen Optimums-Typ (Stumpner und Ronacher, 1991). Dies bedingte bei den meisten aufsteigenden Interneuronen eine Abnahme der Spikerate innerhalb der letzten Sekunde der Gesänge. (Adaptationsprozesse mögen hier sicherlich zusätzlich eine Rolle spielen). Betrachtet man nun die Änderung der Unterscheidbarkeit zwischen der ersten und letzten Sekunde der Gesänge gegenüber der Änderung der mittleren Spikerate (Abb. 6.13), so zeigt sich ein positiver Zusammenhang zwischen beiden Größen (LN:  $r = 0.73$ ,  $p < 0.001$ ; AN:  $r = 0.55$ ,  $p < 0.01$ ). Eine Abnahme der Spikerate kann, neben einer Zunahme der Antwortvariabilität, auch noch einen wichtigen weiteren negativen Effekt für die Unterscheidbarkeit der Gesänge bedingen: eine Abnahme der Information über den Amplitudenverlauf der Gesänge. Auch diese spiegelte sich in den Antworten des TN1 und des AN3 wider (Abb. 6.12).

In Abb. 6.14 sind die minimalen und die maximalen optimalen  $\tau$ -Werte vergleichend für die beiden Auswertebereiche dargestellt. Auf den ersten Blick gruppieren sich die  $\tau_{\min}$ -Werte entlang der Winkelhalbierenden (Abb. 6.14 A). Eine separate Betrachtung der lokalen und der aufsteigenden Interneurone zeigte allerdings gegenläufige Trends der Neuronengruppen. Während die lokalen Interneurone bei den Reskalierten Gesängen eine signifikante Ab-

**Abbildung 6.13:** ÄNDERUNG DER UNTERSCHIEDBARKEIT GEGENÜBER DER ÄNDERUNG DER MITTLEREN SPIKERATE ZWISCHEN VERSCHIEDENEN AUSWERTEFENSTERN DER RESKALIERTEN GESÄNGE. Die Änderung der Unterscheidbarkeit wurde wie in 6.10 als prozentuale Differenz der korrekten Zuordnung zwischen den beiden Auswertebereichen bestimmt. Die Änderung der Spikerate beschreibt die Differenz der mittleren Spikeraten. LN: N = 25,  $p < 0.001$ ; AN: N = 25,  $p < 0.01$ .



**Abbildung 6.14:** VERGLEICH ZWISCHEN VERSCHIEDENEN AUSWERTEFENSTERN: DER OPTIMALE  $\tau$ -BEREICH. **A**  $\tau_{\min}$  (vgl. Material & Methoden) bei der Auswertung der ersten gegenüber der letzten Sekunde der Reskalierten Gesänge. **B**  $\tau_{\max}$  (vgl. Material & Methoden) für die erste gegenüber der letzten Sekunde.

nahme der  $\tau_{\min}$ -Werte zeigten ( $p < 0.05$ ), ergab sich hier für die aufsteigenden Interneurone eine signifikante Zunahme ( $p < 0.05$ ). Darin deutet sich eine gegenläufige Änderung der Präzision der Spikezeitpunkte an, die wiederum im Zusammenhang zur Änderung der Spikeraten stehen dürfte. Die Obergrenze der optimalen zeitlichen Auflösung ( $\tau_{\max}$ ) änderte sich nicht signifikant zwischen den Auswertebereichen (Abb. 6.14 B). Allerdings zeigte sich bei einem  $\tau$ -Wert von 1000 ms eine signifikante Abnahme der korrekt zugeordneten Spiketrains von der ersten zur letzten ausgewerteten Sekunde der Gesänge (Wilcoxon-Test (LN):  $p < 0.01$ ; (AN):  $p < 0.001$ ). Darin deutet sich der geringeren Intensitätsunterschiede zwischen den Gesängen innerhalb der letzten

Sekunde an.

### **Zusammenfassung**

Die lokalen Interneurone erzielten eine nahezu perfekte Unterscheidbarkeit der Original Gesänge anhand der Spiketrains. Die aufsteigenden Interneurone verhielten sich diesbezüglich nicht einheitlich. Während die musterkodierenden Interneuronen zum Teil noch ähnlich hohe Werte zeigten wie die lokalen Interneurone, fiel die korrekte Zuordnung der Spiketrains der richtungskodierenden Interneurone signifikant geringer aus. Bei den Antworten auf die reskalierten Gesänge fanden sich deutliche Unterschiede zwischen den Verarbeitungsebenen. Von den lokalen Interneurone wurde hier eine hoch signifikant bessere korrekte Zuordnung erreicht als von den aufsteigenden Interneuronen. Für letztere nahmen die erreichbaren Werte noch weiter ab, wenn die Antworten auf die letzte Sekunde der Gesänge analysiert wurden. Eine Ursache hierfür dürfte in der Abnahme der Spikeraten liegen.

Bei beiden untersuchten Gesangssets begann der optimale  $\tau$ -Bereich für eine Unterscheidbarkeit bei den lokalen Interneuronen bei signifikant kleineren Werten als bei den aufsteigenden Interneuronen. Anhand der Spikezahlen ( $\tau = 1000\text{ms}$ ) ließen sich die Gesänge für die Neurone der beiden Verarbeitungsebenen in vergleichbarer Weise zuordnen.

## 6.2 Charakterisierung der Antworten auf die Gesänge

Die Unterscheidbarkeit der Gesänge wird durch das Ausmaß bestimmt, mit dem Unterschiede zwischen den Gesängen auch zu Unterschieden in den Antworten der Zellen führen. Es stellt sich die Frage, welche und auch wie Merkmale der Gesänge von den untersuchten Zelltypen kodiert werden. Die Kodierungskapazität wird negativ durch intrinsisches Rauschen beeinflusst, da dieses eine neuronale Variabilität bedingt, in der Stimulus induzierte Unterschiede leicht untergehen können. Wie ein Gesang in der neuronalen Antwort repräsentiert ist und welche Konsequenzen internes Rauschen auf die Antwort hat, soll in dem folgenden Teil betrachtet werden.

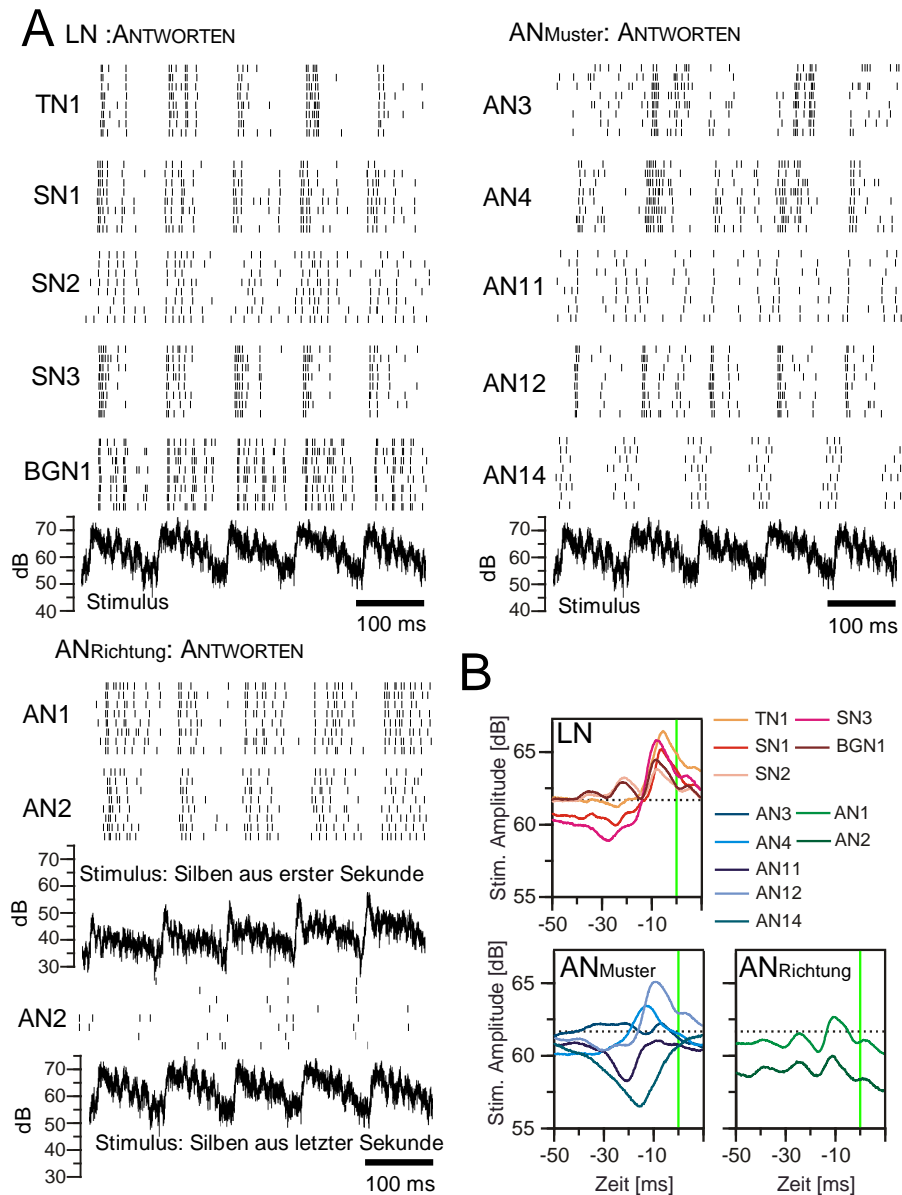
### 6.2.1 Repräsentation von Gesangmerkmalen

Die Antwort eines Neurons besteht in komplexen Spikesequenzen, die sowohl intrinsische Eigenschaften des Neurons und vorgeschalteter Elemente reflektieren als auch die zeitlichen Eigenschaften des Stimulus. Für die Erfassung neuronaler Antwortselektivität ist die Zusammensetzung des Stimulus-Ensembles kritisch. Eine klassische Methode zur Beschreibung der durchschnittlichen Stimulusmerkmale, die einer Spikeantwort vorausgingen, der Spike-Triggered Average (De Boer und Kuyper, 1968), erfordert idealerweise den Einsatz von Stimuli, die Eigenschaften von weißem Rauschen aufweisen (Dayan und Abbott, 2001). Weißes Rauschen kennzeichnet sich durch mit gleichem Gewicht enthaltenden Frequenzen und Unkorreliertheit von einem Zeitpunkt zu einem nächsten. Diese Bedingungen werden von den hier getesteten natürlichen Stimuli nicht erfüllt: zum einen sind nicht alle Modulationsfrequenzen mit gleichem Gewicht enthalten und zum anderen sind Korrelationen von einem Zeitpunkt zu einem anderen vorhanden (vgl. Abb. 6.1). Ein Spike-Triggered Average (im folgenden auch STA) der Gesangsumhüllenden zeigt somit starke Stimulus-induzierte Merkmale, die nur bedingt eine verallgemeinerbare Aussage über die Eigenschaften der Zelle zulassen. Trotzdem wurde diese Auswertung durchgeführt, da sie bei einer vergleichenden



Darstellung der Antwortmerkmale der verschiedenen Zelltypen hilfreich erscheint. In Abb. 6.15 A sind Antworten von Vertretern aller getesteten Zelltypen auf einen Gesangsausschnitt und in 6.15 B der Spike-Triggered Average der acht Reskalierten Gesänge für diese Zellen dargestellt. Der Verlauf des STA wies als übereinstimmendes Merkmal aller getesteter lokaler Interneurone eine starke positive Schwingung auf. Die Peak-Amplitude erreichte bei den Zellen allerdings unterschiedlich hohe Maximalwerte. Die Maximalwerte des TN1, des SN3 und des SN1 und der Verlauf des STA deuteten darauf hin, dass bei diesen Zellen Silben-Onsets besonders stark zum STA beitragen. Dagegen werden beim BGN1 und beim SN2 zusätzliche zeitlich früher auftretende positive Schwingungen niedrigerer Amplitude sichtbar und insgesamt niedrigere Maximalwerte erreicht, was auf eine niedrigere Reizschwelle hinweist.

In den Antworten und im Verlauf des STA zeigten sich zwischen den musterkodierenden aufsteigenden Interneuronen erhebliche Unterschiede (6.15 A (links) und B (unten)). Am deutlichsten wird dies bei einem Vergleich des STA zwischen dem AN12 und dem AN14. Letzteres war spontan aktiv und wurde während der Silben gehemmt. Der negative Amplitudenverlauf des STA spiegelt somit die Pausen wider. Beim AN12 gingen dagegen besonders stark die Silben-Onsets in den STA ein, da diesem eine stark phasische Antwort folgte (vgl. Abb. 6.15). Der STA des AN3 zeigte einen sehr flachen Verlauf welches auf den vorwiegenden Beitrag von Sequenzen vergleichsweise niedrigerer Amplitude hindeutet. Die Silben-Onsets gingen hier offenbar deutlich weniger ein, sondern vielmehr der hintere Teil der Silben. Am Ende einer Silbe folgte stets eine Pause, was wiederum die Abnahme des STA nach dem Spikezeitpunkt erklären könnte. Dieses allein durch die Struktur des Stimulus bedingte Merkmal fand sich auch beim AN11 und beim AN4. Während bei letzterem aber eine positive gemittelte Schwingung einem Spike voranging, wurde beim AN11 ein negativer Verlauf des STA sichtbar. In den Antworten dieser Zelle auf die Gesänge zeigte sich ein auf dieser Verarbeitungsebene verbreitet auftretendes Zusammenspiel von exzitatorischen und inhibitorischen Eingängen. Die Intensitätskennlinie des AN11 ließ eine besonders niedrige Reizschwelle von nur 40 dB erkennen. Die Spikerate nahm



**Abbildung 6.15:** SPIKEANTWORTEN UND SPIKE-TRIGGERED AVERAGE DER GESANGS-UMHÜLLENDEN FÜR VERTRETER DER UNTERSUCHTEN LOKALEN UND AUFSTIEGENDEN INTERNEURONE. **A** Antworten jeweils eines lokalen und aufsteigenden Interneurons auf acht Wiederholungen des unten gezeigten Gesangsausschnitts (500 ms aus der letzten oder ersten Sekunde). **B** Spike-Triggered Average (STA) der Zellen: Für alle Spikezeitpunkte (0 ms, grüne vertikale Linie) wurde die mittlere Amplitude der Stimulushüllenden, die den Spikes vorausging berechnet. Die mittlere Amplitude über die gesamten getesteten Stimulusverläufe ist als gestrichelte horizontale Linie eingetragen. In die Auswertung gingen die Antworten auf alle acht Reskalierten Gesänge ein.

nur bis 60 dB zu. Oberhalb dieser Intensität setzte eine zunehmende Hemmwirkung ein. In der Antwort auf die Gesänge äußerte sich dieses, indem die Silben niedriger Amplitude (im ersten Teil des Gesangs) mit einer hohen Rate beantwortet wurden, während mit dem Gesamtanstieg der Amplituden der Silben die Antwort insgesamt deutlich abnahm und zunehmend Pausen stärker beantwortet wurden als Silben. Die verglichen mit dem AN14 kurze und weniger starke negative Schwingung des STA dürfte aus einer Überlagerung dieser beider Gesangsmerkmale resultieren.

Die Antworten der richtungskodierenden aufsteigenden Interneurone AN1 und AN2 kennzeichneten sich durch eine sehr niedrige Reizschwelle und eine (besonders beim AN2) stark ausgeprägte Hemmung im Bereich höherer Intensitäten (vgl. Abb. 6.15 A (unten), AN2: Silben erster Sekunde - letzter Sekunde). Dies äußerte sich in einer Verschiebung des STA in einen Bereich niedriger Intensitäten.

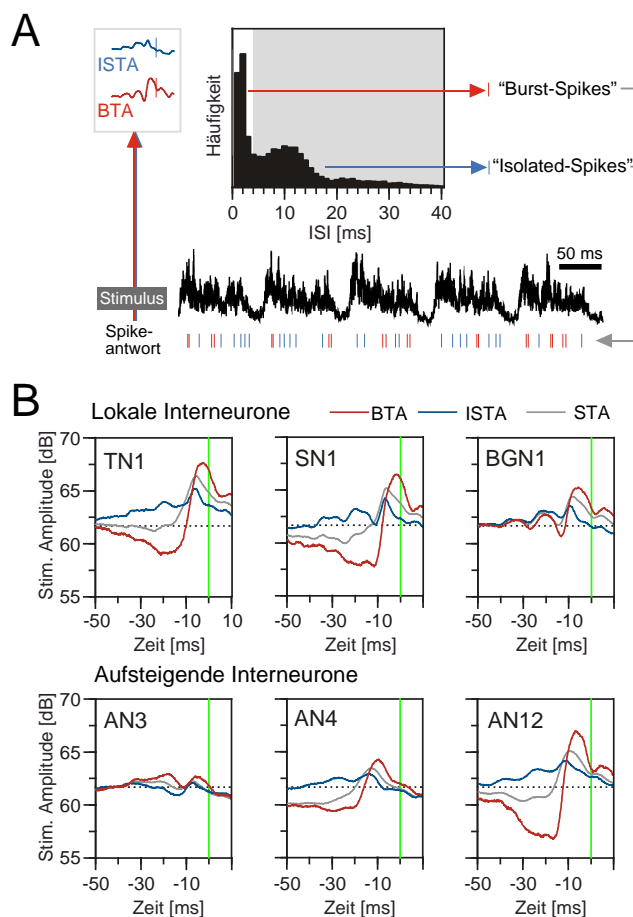
### **6.2.2 Zusammenhang zwischen Bursts und spezifischen Gesangsmerkmalen**

Eine Charakterisierung der Antworten auditorischer Interneurone bei *L. migratoria* (Marquart, 1985a) und homologer Zellen bei *C. biguttulus* (Stumpner und Ronacher, 1991) zeigte eine Zunahme phasisch-tonischer und rein phasischer Antwortkomponenten bei einzelnen lokalen Interneuronen und vor allem aufsteigenden Interneuronen gegenüber den rein tonischen antwortenden Rezeptoren. Die phasische Antwort besteht bei diesen Zellen in der Regel aus einer hochfrequenten Abfolge von mehreren Spikes gefolgt von einem Ruheintervall. Die Rolle solcher Antwortmuster bei der Signalübertragung und -erkennung ist weitgehend unklar. Betrachtet man die Antworten auf die Gesänge (Abb. 6.15 A), so fallen bei verschiedenen Zelltypen, wie etwa dem AN12, dem AN3 und dem SN3 hochfrequente isolierte Spikefolgen auf, während andere Zellen eine sehr viel gleichmäßigere niederfrequente Spikeantwort zeigten (vgl. SN2 und AN11). In diesem Teil soll der Frage nachgegangen werden, welche spezifischen Gesangsmerkmale hochfrequenten Spikefolgen bei den einzelnen Zelltypen vorausgingen. Die hochfrequenten Spikefolgen

werden im folgenden als ‚Burst‘ bezeichnet und alleine aufgrund der gemessenen Interspike-Intervalle von  $^2$  6 ms als Einheiten definiert (Abb. 6.16 A). Einem solchen Antwortmuster können nicht nur intrinsische Zelleigenschaften sondern auch Netzwerkeigenschaften und auch Stimuluseigenschaften zugrundeliegen. Damit wird hier der Begriff ‚Burst‘ sehr viel weiter gefasst als im eigentlichen Sinne.<sup>1</sup> In Abb. 6.16 B ist der ‚Burst-Triggered Average‘ (BTA), d.h. die durchschnittliche Stimulusamplitude, die den ersten Spikes des Burst vorausging exemplarisch für lokale und aufsteigende Interneurone dargestellt. Der BTA zeigte, dass Bursts beim TN1, SN1 und vor allem beim AN12 vorwiegend nach einem Silben-Onset auftreten. Der Silben-Onset ist zeitlich mit vorausgehenden Pausen korreliert (vgl. Abb. 6.1), die sich in dem negativen Verlauf der BTA widerspiegelt. Das Auftreten von Bursts nach einem Silben-Onset ist zunächst nicht verwunderlich und kann alleine auf einer Ratenkodierung beruhen, bei der eine Zunahme der Reizintensität eine Abnahme der Interspike-Intervalle bedingte. Beim TN1 ist von diesem Zusammenhang auszugehen. Anders stellte sich die Situation beim AN12 dar. Diese Zelle zeigte über einen breiten Intensitätsbereich eine Onset-Antwort, wobei die Zahl der Spikes im Burst weniger mit der Onset-Amplitude sondern vielmehr mit der Dauer der vorangehenden Pause korrelierte (Creutzig, 2007). Der BTA des AN4 zeigte zwar auch eine positive Schwingung, die Maximalamplitude ist allerdings hier sehr viel niedriger und auch ein vorausgehender negativer Verlauf deutet sich nur sehr schwach an. Offenbar traten beim AN4 Bursts nicht nur in Antwort auf den Silben-Onset auf, sondern auch auf Amplitudenänderungen innerhalb der Silben. Noch häufiger schien dies beim AN3 und beim BGN1 der Fall zu sein. Der BTA deutete aber daraufhin, dass der spezifische Amplitudenverlauf, der einem Burst vorausgeht bei beiden Zellen unterschiedlich war. Während der Isolated-Spike-Triggered Average (ISTA) beim AN3 nahezu die gleiche Maximalamplitude aufweist,

---

<sup>1</sup>Während viele sensorische Neurone mit einem graduellen Anstieg der Endladungsrate in Abhängigkeit von dem synaptischen Antrieb reagieren, zeigen einige die Eigenschaft ihre Endladungsrate abrupt zu erhöhen. Eine solche Entladung in Form einer hochfrequenten Spikefolge, wird herkömmlich mit dem Begriff ‚Burst‘ bezeichnet und auf intrinsische Zelleigenschaft zurückgeführt, wobei in vielen Systemen Netzwerkeigenschaften bei der Ausprägung von Bedeutung zu sein scheinen (zur Übersicht siehe Krahe und Gabbiani (2004)).



**Abbildung 6.16:** BURST-TRIGGERED AVERAGE UND ISOLATED-SPIKE TRIGGERED AVERAGE DER GESANGSUMHÜLLENDEN. **A** Methode zur Berechnung des Burst-Triggered Average (BTA) und des isolated-Spike-Triggered Average (ISTA) der Stimulusumhüllenden. Das Verfahren ist hier beispielhaft für ein lokales Interneuron (BGN1) dargestellt. Ausgehend von der Interspike-Intervall-Verteilung wurden die Spikes ‚Bursts,zugeordnet (ISI , rote Spikes) oder als ‚Isolated-Spikes, klassifiziert (ISI > 4 ms, blaue Spikes). Aus der mittleren Stimulusamplitude, die dem ersten Spike jedes Bursts vorausging wurde der BTA berechnet. Dieser gibt somit den Zeitpunkt des Burstsbeginns, aber nicht die interne Struktur der Spikes im Burst wieder. Der ISTA wurde entsprechend des STA als mittlere Stimulusamplitude, die allen Isolated-Spikes vorausging bestimmt. **B** BTA, ISTA und STA für drei lokale und drei aufsteigende Interneurone. Die gestrichelte horizontale Linie markiert die mittlere Stimulusamplitude über die gesamten getesteten Stimulusverläufe, während die vertikale grüne Linie den Zeitpunkt der Spikes hervorhebt. Maximales Interspike-Intervall zur Zuordnung der Spikes zu Bursts: LN: TN1 = 5 ms, SN1 = 6 ms, BGN1 = 4 ms; AN: AN3 und AN4 = 6ms, AN12 = 5 ms.

war diese bei den anderen untersuchten Zellen im Vergleich zum BTA deutlich niedriger. Der Verlauf des ISTA war ausserdem insgesamt im Vergleich zum BTA sehr viel flacher.

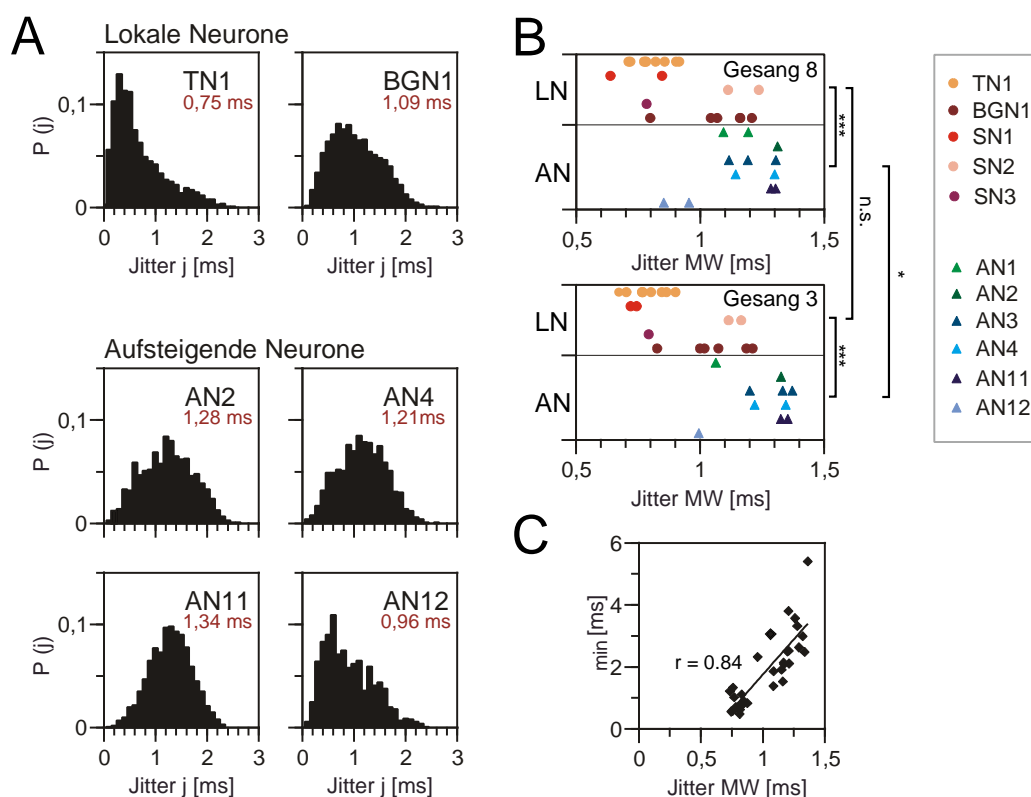
### 6.2.3 Antwortvariabilität bei lokalen und aufsteigenden Interneuronen

Die Antwortvariabilität wurde durch die metrischen Distanzen zwischen Spike-trains eines Gesangs erfasst und ging in die Quantifizierung der Unterscheidbarkeit ein. In der folgenden Betrachtung wird die Antwortvariabilität unabhängig von der Spiketrain-Metrik untersucht, um einem möglichen Einfluss auf die Unterscheidbarkeit der Gesänge nachzugehen. Dazu wurde sowohl die ‚trial-to-trial,- Variabilität der Spikezeitpunkte (d.h. der ‚Jitter,der Spikezeitpunkte) als auch der Spikezahlen bestimmt.

#### Spikezeitpunkt-Variabilität

Die Berechnung des Jitters der Spikezeitpunkte basierte auf der Standardabweichung der Spikezeitpunkte zwischen den Wiederholungen eines Gesangs (Rokem et al., 2006). In Abb. 6.17 A sind sie Jitter-Verteilungen  $P(j)$  für die Antworten auf einen Ausschnitt der Reskalierten Gesänge (vgl. Material & Methoden) beispielhaft für einzelne lokale und aufsteigende Interneurone dargestellt. Die Verteilungen sind als Wahrscheinlichkeiten definiert, mit denen ein Spike mit dem Betrag des Jitters  $j$  auftrat.

Das Maximum von  $P(j)$  lag bei dem lokalen Interneurons TN1 bei 0.3 ms, wobei 25% der Spikes sogar Standardabweichungen von unter 0.3 ms erreichten, gleichzeitig aber nur für 25% der Spikes ein Jitter von über 1 ms ermittelt wurde. Beim BGN1 wiesen dagegen 50% der Spikes einen Jitter von über 1 ms auf. Die Unterschiede der Verteilungen spiegelten sich in den Mittelwerten des Spikezeitpunkt-Jitters von 0.75 ms beim TN1 und 1.09 ms beim BGN1 wider. Die aufsteigenden Interneurone zeigten mit Ausnahme des AN12 einen höheren Spikezeitpunkt-Jitter. Sowohl die Maxima von  $P(j)$  als der größere Anteil der Jitter-Werte lag beim AN2, AN4 und beim AN11 über 1 ms. Dagegen zeigte sich beim AN12 das Maximum von  $P(j)$  bei nur



**Abbildung 6.17:** JITTER DER SPIKEZEITPUNKTE BEI DEN UNTERSUCHTEN NEURONEN. **A** Wahrscheinlichkeiten  $P(j)$  mit denen Spikes mit einem Jitter  $j$  auftraten, exemplarisch dargestellt für zwei lokale und vier aufsteigende Interneurone. Die roten Zahlenwerte geben den Mittelwert des Jitters der Spikes bei den jeweiligen Zellen an. Die Berechnung wurde für die Antworten auf alle Reskalierten Gesänge durchgeführt. Je nach der höheren mittleren Spikerate wurde entweder die erste beantwortete Sekunde oder die letzte Sekunde der Gesänge analysiert. **B** Mittlerer Jitter der Spikes bei lokalen und aufsteigenden Interneuronen separat berechnet für die Antworten auf zwei verschiedene Gesänge (Gesang 8, oben und Gesang 3, unten). U-Test (LN-AN): Gesang 8 und Gesang 3:  $p < 0.001$ . Wilcoxon-Paardifferenzen-Test (Gesang 8 vs. Gesang 3): LN: n.s.; AN:  $p < 0.05$ . **C** Zusammenhang zwischen dem mittleren Jitter der Spikezeitpunkte der Antworten der lokalen und aufsteigenden Interneurone auf alle Reskalierten Gesänge und den minimalen  $\tau$ -Werten der Unterscheidbarkeit der Gesänge (vgl. Abb. 6.6).  $N = 31$ ,  $p < 0.01$ .

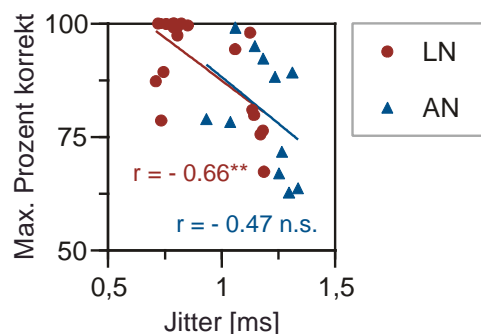
0,6 ms und nur für 45% der Spikes ergab sich ein Spikezeitpunkt-Jitter von über 1 ms. Dies bedingte einen Mittelwert des Jitters beim AN12 vom 0,95 ms, während bei den anderen aufsteigenden Interneuronen Mittelwerte von 1,28 ms (AN2), 1,21 ms (AN4) und 1,34 ms (AN11) gemessen wurden. Die Verteilungen des Spikezeitpunkt-Jitters nahmen für alle dargestellten Zellen

einen relativ breiten Bereich von über 2 ms an. Dies deutet daraufhin, dass die unterschiedlichen Teile des zeitlich variierenden Musters mit einer unterschiedlichen zeitlichen Präzision kodiert wurden. In (Abb. 6.17 B) sind die Mittelwerte des Jitters der Spikezeitpunkte aller Zellen, die in die Auswertung eingingen, für zwei einzelne Gesänge dargestellt. Die Antworten auf beide Gesänge zeigten für die aufsteigenden Interneurone einen deutlich höheren Jitter der Spikezeitpunkte als für die lokalen Interneurone ( $p < 0.001$ ). Mit Ausnahme des AN12 lag der mittlere Jitter-Wert bei allen aufsteigenden Zellen über 1 ms. Innerhalb der Gruppe der lokalen Interneurone wiesen das SN2 und einzelne Vertreter des BGN1 zwar auch Werte von über 1 ms auf, beim TN1, SN1 und SN3 lag der mittlere Jitter allerdings nur bei 0.6 bis 0.9 ms. Ein Vergleich des Spikezeitpunkt-Jitters bei individuellen Zellen zwischen den beiden ausgewerteten Gesängen ergab bei den lokalen Interneuronen keinen Unterschied des Jitters in den Antworten. Die aufsteigenden Interneurone zeigten dagegen eine schwach signifikante Zunahme des mittleren Jitters bei Gesang 3 gegenüber Gesang 8 ( $p < 0.05$ ).

Die Spiketrain-Metrik bestimmte über den Auflösungsparameter  $\tau$  die optimale zeitliche Auflösung für die Unterscheidbarkeit der Gesänge. Inwieweit wirkt sich der gemessene Jitter der Spikezeitpunkte auf die optimale zeitliche Auflösung für die Unterscheidbarkeit aus? Abbildung 6.17 C zeigt einen signifikanten positiven Zusammenhang zwischen dem mittleren Spikezeitpunkt-Jitter und dem minimalen  $\tau$  der Unterscheidbarkeit ( $p < 0.01$ ). Der Zusammenhang zwischen dem Spikezeitpunkt-Jitter und dem zeitlichen Auflösungsparameter  $\tau$  wurde schon an früherer Stelle untersucht (vgl. 5.2), indem die Spikes einer Zellantwort künstlich verrauscht wurden, d.h. ein zusätzlicher definierter Spikezeitpunkt-Jitter erzeugt wurde. Die Auswertung ergab hier einen nahezu perfekten proportionalen Zusammenhang zwischen dem zugefügtem Jitter und dem minimalen  $\tau$  der Unterscheidbarkeit (vgl. Abb. 5.15). Dagegen zeigten die nach (Rokem et al., 2006) gemessenen Jitter-Werte im Vergleich zum minimalen  $\tau$  die Tendenz einer Unterschätzung des tatsächlichen Jitters besonders bei hohen Werten (vgl. Material & Methoden). Eine solche Unterschätzung würde allerdings den schon jetzt hoch signifikanten Unterschied des gemessenen Spikezeitpunkt-Jitters zwischen lokalen und auf-



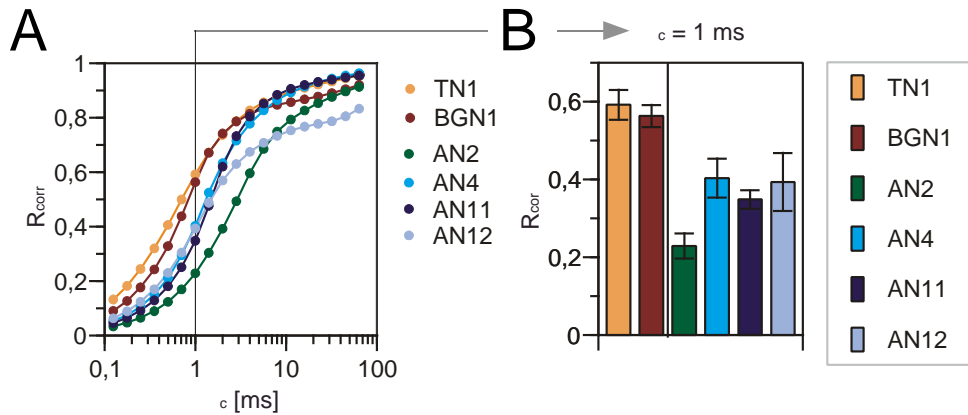
steigenden Interneuronen noch weiter verstärken. Inwieweit zeigt sich eine



**Abbildung 6.18:** ABHÄNGIGKEIT DER UNTERSCHIEDBARKEIT VON DEM GEMESSENEN JITTER DER SPIKEZEITPUNKTE. Der Anteil korrekt zugeordneter Spiketrains wurde hier gegen den mittleren Jitter der Spikezeitpunkte (vgl. Abb. 6.17) aufgetragen. LN:  $N = 20$ ,  $p < 0.001$ ; AN:  $N = 11$ , n.s.

Abhängigkeit der Unterscheidbarkeit vom Jitter der Spikezeitpunkte? Aus Abbildung 6.18 geht hervor, dass sich nur auf der Ebene der lokalen Interneurone ein signifikanter negativer Zusammenhang zwischen dem Jitter und dem Anteil korrekt zugeordneter Spiketrains finden ließ ( $r = -0.66$ ,  $p < 0.001$ ). Für die aufsteigenden Interneurone ergab sich zwar auch erwartungsgemäß ein negativer Zusammenhang zwischen beiden Größen, allerdings erwies sich dieser nicht als signifikant ( $r = -0.47$ ).

Der Trend einer Zunahme der Spikezeitpunkt-Variabilität von den lokalen zu den aufsteigenden Interneuronen wird durch eine Auswertung mit dem Korrelationsmaß von Schreiber et al. (2003) unterstützt. Dieses bestimmt keine Zeiteinheit des Jitters der Spikezeitpunkte, sondern quantifiziert die Zuverlässigkeit ( $R_{\text{corr}}$ ) der Koinzidenz der Spikezeiten in verschiedenen Wiederholungen. Der Vorteil dieses Korrelationsmaßes besteht in einem geringem Fehler bei einer kleinen Zahl an Wiederholungen und einer zuverlässigen Abschätzung, die nur einen freien Parameter beinhaltet. Der Parameter  $\sigma_c$  bestimmt die Breite des Gaussfilters mit dem der Spiketrain gefaltet wird und gibt damit die zeitliche Auflösung an, bei der koinzidente Spikes bewertet werden. Bei sehr kleinen Werten von  $\sigma_c$  beruht die gemessene Zuverlässigkeit ausschließlich auf der Bewertung der Spikezeitpunkte, also dem Jitter. Mit zunehmenden  $\sigma_c$  werden fehlende oder zusätzliche Spikes stärker gewichtet. In Abb. 6.19 A ist die Zuverlässigkeit der Spikezeitpunkte in Abhängigkeit von  $\sigma_c$  für die bereits in in 6.17 A dargestellten Zellen aufgetragen. Im Bereich



**Abbildung 6.19:** ZUVERLÄSSIGKEIT DER SPIKEZEITPUNKTE BEI LOKALEN UND AUFSTIEGENDEN INTERNEURONEN. **A** Die Zuverlässigkeit der Spikezeitpunkte ( $R_{corr}$ ) in Abhängigkeit von dem Parameter  $\sigma_c$ , der die Filterbreite und damit die betrachtete Zeitskala definiert für die bereits in Abb. 6.17 A untersuchten Zellen. Die Kurven geben die mittlere Zuverlässigkeit, die bei einer Analyse für aller acht Gesänge gemessen wurde an. Der Auswertebereich betrug 1 s. **B** Mittelwerte und Standardabweichungen der gemessenen Zuverlässigkeit bei einem  $\sigma_c$ -Wert von 1 ms.

kleiner Werte von  $\sigma_c$  ( $<3$ ms) zeigte sich eine höhere Zuverlässigkeit der Spikezeitpunkte bei den beiden lokalen Interneuronen gegenüber den aufsteigenden Interneuronen. So erreichte die Zuverlässigkeit der Antworten bei einem  $\sigma_c$  von 1 ms beim TN1 und beim BGN1 bereits Werte von fast 0.6, während für alle aufsteigenden Interneurone Werte von maximal 0.4 gemessen wurden (Abb. 6.17 B). Die niedrigste Zuverlässigkeit der Spikezeitpunkte zeigte das AN2. Bei einem  $\sigma_c$ -Wert von 10 ms war die gemessene Zuverlässigkeit beim TN1, BGN1, AN4 und AN11 nahezu identisch. Dies deutet daraufhin, dass bei diesen Zellen fehlende und zusätzliches Spikes in ähnlicher Weise zur Antwortvariabilität beitragen. Die Spikezahl-Variabilität der getesteten Zellen soll im nächsten Abschnitt ausführlicher untersucht werden.

### Spikezahl-Variabilität

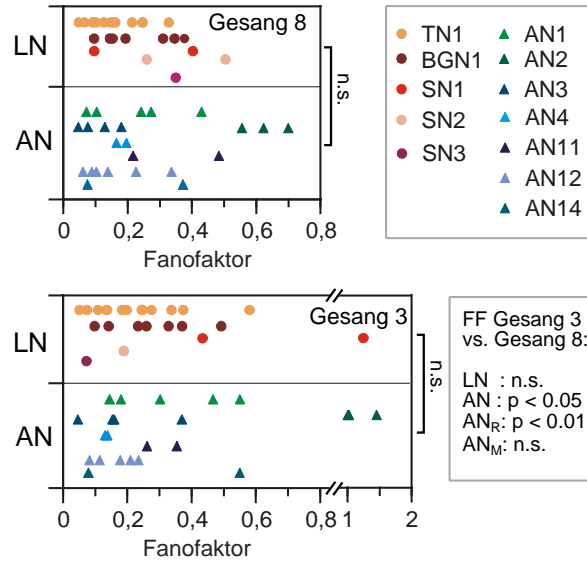
Die Variabilität der Spikezahlen, die bei wiederholter Reizung mit einem identischen Stimulus auftritt, wurde anhand des Fanofaktors vergleichend für die lokalen und aufsteigenden Interneurone untersucht. Eine ausführliche Studie von Franz (2004) zeigte zwischen diesen beiden Verarbeitungsebenen

keinen signifikanten Unterschied des Fanofaktors bei Antworten auf unmodulierte akustische Signale. Lediglich die richtungskodierenden aufsteigenden Interneurone wiesen eine signifikant höhere Spikezahl-Variabilität auf als lokale und musterkodierende aufsteigende Interneurone. An dieser Stelle sei auf die kontroverse Diskussion der Frage hingewiesen, inwieweit unstrukturierte und damit unnatürliche Reize wie sie in der Studie von Franz (2004) verwendet wurden, eine geringere Zuverlässigkeit der Antwort einer Zelle bedingen können als natürliche Reize, wie die hier getesteten Gesänge (vgl. de Ruyter van Steveninck et al. (1997) und Warzecha und Egelhaaf (1999)). Diese Frage kann allerdings nur befriedigend mit Hilfe eines direkten Vergleichs der Antworten individueller Zellen auf beide Stimulusbedingungen nachgegangen werden. An dieser Stelle soll lediglich untersucht werden, inwieweit die Spikezahlvariabilität zwischen den untersuchten Zellen unterschiedliche Limitationen in der Unterscheidbarkeit bedingen könnte. Der bei einer Zelle gemessene Fanofaktor kann sowohl eine Abhängigkeit von der Größe des gewählten Zeitfensters als auch der Spikerate der Antwort aufweisen. Aus diesem Grund wurde der Fanofaktor für verschieden lange Zeitfenster von 125, 250, 500 und 1000 ms bestimmt. Die mittlere Spikerate zeigte bei vielen untersuchten Zellen einen Unterschied zwischen der ersten Sekunde der Antwort auf die Gesänge und der Antwort auf die letzte Sekunde der Gesänge (vgl. Abb. 6.13). Für die in Abb. 6.20 aufgetragenen Daten wurde der Fanofaktor über ein Zeitfenster von 500 ms bestimmt und zwar bei beiden Gesängen für den Auswertebereich, in dem eine jeweilige Zelle die höhere mittlere Spikerate zeigte. Die Antworten auf beide Gesänge ergaben keinen signifikanten Unterschied der Spikezahl-Variabilität zwischen den lokalen und den aufsteigenden Interneuronen.

Auch für die anderen ausgewerteten Zeitfenstergrößen wurde kein signifikanter Unterschied des Fanofaktors zwischen diesen beiden Verarbeitungsebenen gemessen (Daten hier nicht gezeigt). Der kleinste Fanofaktor zeigte sich bei den lokalen Interneuronen beim TN1 mit einem Wert von 0,05 und bei den aufsteigenden Interneuronen beim AN12 mit einem Wert von 0,06 (Abb. 6.20, Gesang 8). Die höchste Spikezahl-Variabilität wurde beim richtungskodierenden aufsteigenden Interneuron AN2 gemessen, bei dem der

**Abbildung 6.20:**

**SPIKEZAHL-VARIABILITÄT BEI DEN UNTERSUCHTEN NEURONEN.** Fanofaktoren der lokalen und aufsteigenden Interneurone für Gesang 8 und Gesang 3. Die Fanofaktoren wurden auf der Grundlage von 500 ms langen Zeitfenstern berechnet (vgl. Material & Methoden). U-Test (LN-AN): n.s.; Wilcoxon-Paardifferenzen-Test (Gesang 8 vs. Gesang 3) LN (25): n.s.; AN (24):  $p < 0.05$ ; AN<sub>R</sub>(8):  $p < 0.01$ ; AN<sub>M</sub>(16): n.s..



Fanofaktor bei allen Vertretern über 0,5 lag. Bei dem anderen richtungskodierenden aufsteigenden Interneuron AN1 wurde dagegen eine deutlich niedrigere Spikezahl-Variabilität gemessen. Sowohl bei Gesang 8 als auch noch deutlicher bei Gesang 3 fällt eine relativ breite Verteilung der Fanofaktoren bei den einzelnen Zelltypen auf. Ursächlich hierfür können Unterschiede in der Reaktionsschwelle und/oder Unterschiede des Verlaufs der Intensitätskennlinien sein, die sich auf die Spikerate auswirken. Ein Vergleich zwischen den gemessenen Fanofaktoren beider Gesänge ergab einen schwach signifikante Zunahme für die Antworten auf Gesang 3 innerhalb der Gruppe der aufsteigenden Interneuronen ( $p < 0.05$ ). Dieser Unterscheid ist allerdings ausschließlich auf die erhöhte Spikezahl-Variabilität der richtungskodierenden Interneurone zurückzuführen (AN<sub>R</sub>:  $p < 0.01$ ; AN<sub>M</sub>: n.s.). Eine Korrelation zwischen der Änderung der Spikerate und der Änderung des Fanofaktors war für keine der Zellgruppen vorhanden.

**Zusammenfassung**

Die lokalen Interneurone zeigten eine sehr viel größere Übereinstimmung in den Antwortmerkmalen als die aufsteigenden Interneurone. Hier wurden zunehmend Filtereigenschaften sichtbar, durch welche spezifischere zeitliche

Aspekte der Gesänge in den neuronalen Antworten repräsentiert waren. Die Auswertung verschiedener Merkmale der Antwortvariabilität ergab einen signifikanten Unterschied zwischen den Verarbeitungsebenen hinsichtlich des Jitters der Spikezeitpunkte. Die aufsteigenden Interneurone zeigten, mit Ausnahme des AN12, eine sehr viel geringere zeitliche Präzision der Spikes in ihren Antworten als die lokalen Interneurone. Die Spikezahl-Variabilität ließ hingegen keinen Unterschied zwischen den Verarbeitungsebenen erkennen.

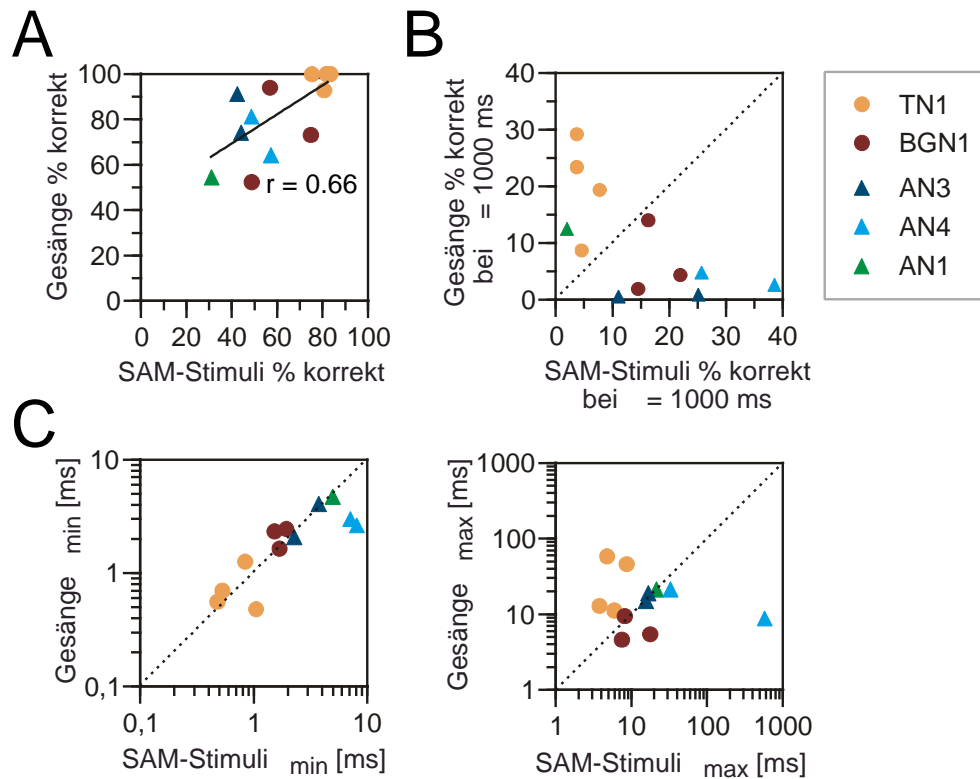
## 6.3 Vergleich der Unterscheidbarkeit von Gesängen und SAM-Stimuli

Nach der Untersuchung der Unterscheidbarkeit anhand metrischer Spike-train-Distanzen für zwei verschiedene Stimulus-Ensembles - natürliche Gesänge und sinusförmig amplitudenmodulierte Stimuli - stellt sich die Frage, inwieweit ein Zusammenhang zwischen den Ergebnissen beider Datensätze existiert.

### 6.3.1 Unterscheidbarkeit und optimaler $\tau$ -Bereich individueller Zellen bei den beiden Stimulus Ensembles

Einzelne Zellen konnten sowohl mit den Gesängen als auch mit den SAM-Stimuli getestet werden, was einen direkten Vergleich erlaubt (Abb. 6.21). Ein Vergleich der erreichten Unterscheidbarkeit zeigt, dass sich die Antworten auf die Gesänge zu einem höheren Anteil korrekt zuordnen ließen als die Antworten auf die SAM-Stimuli. Eine statistische Analyse ergab eine schwach signifikante Korrelation der gemessenen Unterscheidbarkeit ( $p < 0.05$ ). Die metrischen Distanzen wurden mit einem Wert des Auflösungsparameters  $\tau$  berechnet, bei dem sich eine optimale Unterscheidbarkeit erreichen ließ. Diese unterschieden sich zwischen den Zellen, lagen aber alle unter 20 ms (vgl. Abb. 5.11 und Abb. 6.6). Für die Unterscheidbarkeit der getesteten Stimuli spielen, wie bereits gezeigt, bei allen Zellen Spikezeitpunkt-Informationen eine größere Rolle als Spikezahlunterschiede. Die Bedeutung dieser für die Unterscheidbarkeit lässt sich bei einem  $\tau$ -Wert von 1000 ms quantifizieren. In Abb. 6.21 B wurde der bei diesem  $\tau$ -Wert gemessene Anteil der korrekt zugeordneten Spiketrains beider getesteten Stimulus-Ensembles gegeneinander aufgetragen. Dabei sei auf einen Unterschied zwischen den Stimulus-Sets hingewiesen. Über ein langes Zeitfenster betrachtet war der Energiegehalt der SAM-Stimuli bei den unterschiedlichen MF identisch, wohingegen dieser zwischen den Gesängen auch für die letzten Sekunde nicht identische Werte aufwies (vgl. Material & Methoden). Der maximal gemessene Intensitätsun-

terschied zwischen den Gesängen betrug zwar weniger als 1 dB, trotzdem kann dies bei einer Zelle mit einem sehr steilen dynamischen Bereich und einer präzisen Antwort unterscheidbare Spikezahlen bedingen. Eine höhere Unterscheidbarkeit auf der Grundlage von Spikezahlunterschieden bei den Gesängen zeigte sich allerdings nur beim TN1 und beim AN1. Dagegen ließen sich die Spiketrains bei einem  $\tau$ -Wert von 1000 ms beim BGN1, AN3 und AN4 bei den SAM-Stimuli zu einem sehr viel größeren Anteil korrekt zuordnen. Im Folgenden wird der für die Unterscheidbarkeit *optimale* Bereich des zeitlichen Auflösungsparameters  $\tau$  anhand der beiden Grenzwerte,  $\tau_{\min}$  und  $\tau_{\max}$ , vergleichend betrachtet. Die minimalen  $\tau$ -Werte der Unterscheidbarkeit zeigten eine recht gute Übereinstimmung zwischen den beiden getesteten Stimulus-Sets (Abb. 6.21 C, links). Eine Ausnahme hiervon stellt das AN4 dar. Bei den beiden Vertretern dieses Zelltyps wurden deutlich höhere  $\tau_{\min}$ -Werte bei der Unterscheidbarkeit der SAM-Stimuli als bei der Unterscheidbarkeit der Gesänge gemessen. Betrachtet man den  $\tau$ -Wert, bei dem die Unterscheidbarkeit wieder abnimmt, so zeigt sich insgesamt ein deutlich uneinheitlicheres Bild ( $\tau_{\max}$ : Abb. 6.21 C, rechts). Beim TN1 wird noch eine relativ gute Unterscheidbarkeit der Gesänge bei  $\tau$ -Werten von  $> 10$  ms erreicht, während dies bei den SAM-Stimuli nur bei  $\tau$ -Werten von  $< 10$  ms der Fall ist. Beim BGN1 und vor allem beim AN4 zeigt sich ein entgegengesetzter Trend: bei der Analyse der Antworten auf die SAM-Stimuli wurden höhere  $\tau_{\max}$ -Werte gemessen als bei den Gesängen. Für das AN4 kann damit insgesamt eine Verschiebung des optimalen  $\tau$ -Bereichs zu höheren Werten bei den SAM-Stimuli festgehalten werden. Der optimale  $\tau$ -Bereiche des getesteten AN1 und der beiden AN3 zeigen dagegen eine gute Übereinstimmung zwischen den beiden getesteten Stimulus-Sets - sowohl die  $\tau_{\min}$ -Werte als auch die  $\tau_{\max}$ -Werte liegen auf der Winkelhalbierenden.



**Abbildung 6.21:** VERGLEICH DER UNTERSCHIEDBARKEIT VON GESÄNGEN UND SAM-STIMULI.

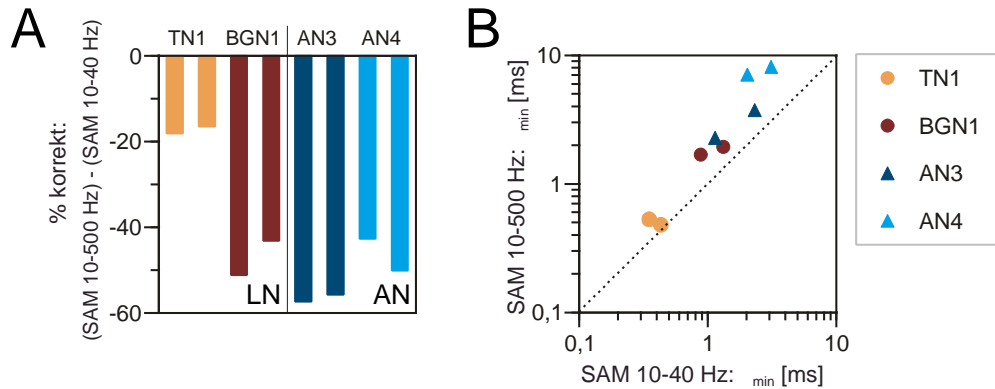
**A** Maximaler Anteil korrekt zugeordneter Spiketrains bei den Gesängen gegenüber dem gemessenen Anteil bei Antworten auf die SAM-Stimuli. Aufgetragen sind die Ergebnisse von Zellen, die mit beiden Stimulus-Sets getestet werden konnten. Das Zeitfenster der Auswertung betrug 500 ms und die Unterscheidbarkeit wurde bei dem optimalen  $\tau$ -Wert bestimmt.  $r = 0.66$ ,  $N = 12$ ,  $p < 0.05$ . **B** Anteil der korrekt zugeordneten Spiketrains über dem Niveau einer zufälligen Zuordnung bei einem  $\tau$ -Wert von 1000 ms für die Antworten auf die Gesänge gegenüber den Antworten auf die SAM-Stimuli. **C** Vergleich des für die Unterscheidbarkeit optimalen  $\tau$ -Bereichs bei den beiden getesteten Stimulus-Sets: Minimale  $\tau$ -Werte (links) und der maximale  $\tau$ -Werte (rechts), die sich aus der Analyse der Antworten auf die Gesänge und die SAM-Stimuli ergaben.

### 6.3.2 Der Einfluss der getesteten Modulationsfrequenzen und deren Modulationstiefe auf die Unterscheidbarkeit

Die Gesänge unterschieden sich gegenüber den SAM-Stimuli in zwei wesentlichen Parametern: Erstens, den enthaltenden Modulationsfrequenzen (und



deren Gewichtung) und zweitens, den auftretenden Modulationstiefen. Während mit den SAM-Stimuli die Unterscheidbarkeit von neun Modulationsfrequenzen im Bereich von 10 bis 500 Hz getestet wurde, bewegten sich die Modulationsfrequenzen der Gesänge in einem sehr viel schmaleren und auch niederfrequenterem Bereich. Das Frequenzspektrum der Amplitudenmodulationen aller Reskalierten Gesänge wiesen einen ersten starken Peak bei 10 Hz und 3 bis 4 Harmonische bei 20, 30, 40 und 50 Hz auf, deren genaue Lage und Energie-Gehalt zwischen den Gesängen variierte (vgl. Abb. 6.1). Bei keinem der acht Gesänge zeigten sich signifikante Modulationsfrequenzen von über 150 Hz. Die Unterscheidbarkeit der SAM-Stimuli ergab bei den in 6.3 betrachteten aufsteigenden Interneuronen und bei einem BGN1 Grenzfrequenzen von unter 50 Hz (vgl. Abb. 5.5). Tatsächlich zeigt sich eine schwach signifikante Korrelation zwischen den gemessenen Grenzfrequenzen der Unterscheidbarkeit der SAM-Stimuli und dem Anteil korrekt zugeordneter Spiketrains der Gesänge ( $r = 0.63$ ,  $N = 12$ ,  $p < 0.05$ , Daten nicht gezeigt). Für die Unterscheidbarkeit der Gesänge dürfte allerdings weniger die korrekte Zuordnung der Antworten auf Modulationsfrequenzen von etwa 20 und 40 Hz eine Rolle spielen sondern vielmehr die Unterscheidbarkeit von beispielsweise 20 und 21 Hz, die hier nicht getestet wurde. Trotzdem kann eine weitergehende Betrachtung der Unterscheidbarkeit getesteter SAM-Stimuli zum Verständnis der Bedeutung spezifischer Stimuluseigenschaften beitragen. Die Rolle, die enthaltene Modulationsfrequenzen und Modulationstiefen für die Unterscheidbarkeit spielen können, wird im Folgenden exemplarisch für jeweils zwei Vertreter der lokalen Interneurone TN1 und BGN1, sowie der aufsteigenden Interneurone AN3 und AN4 untersucht. Abb. 6.22 A zeigt, dass sich der Anteil der enthaltenden Modulationsfrequenzen bei den einzelnen Zelltypen auf unterschiedliche Weise in der Unterscheidbarkeit niederschlägt. Hier wurde die Differenz zwischen der korrekten Zuordnung von neun MF im Bereich von 10-500 Hz gegenüber der korrekten Zuordnung der MF von 10, 20 und 40 Hz aufgetragen. Beim TN1 bedingt das Vorhandensein hoher MF eine Abnahme der korrekten Zuordnung von weniger als 20%, beim BGN1, AN3 und AN4 liegt dieser Wert bei 43 bis 57%. Die Lage des optimalen  $\tau$ -Bereichs der Unterscheidbarkeit verschiedener MF-Bereiche



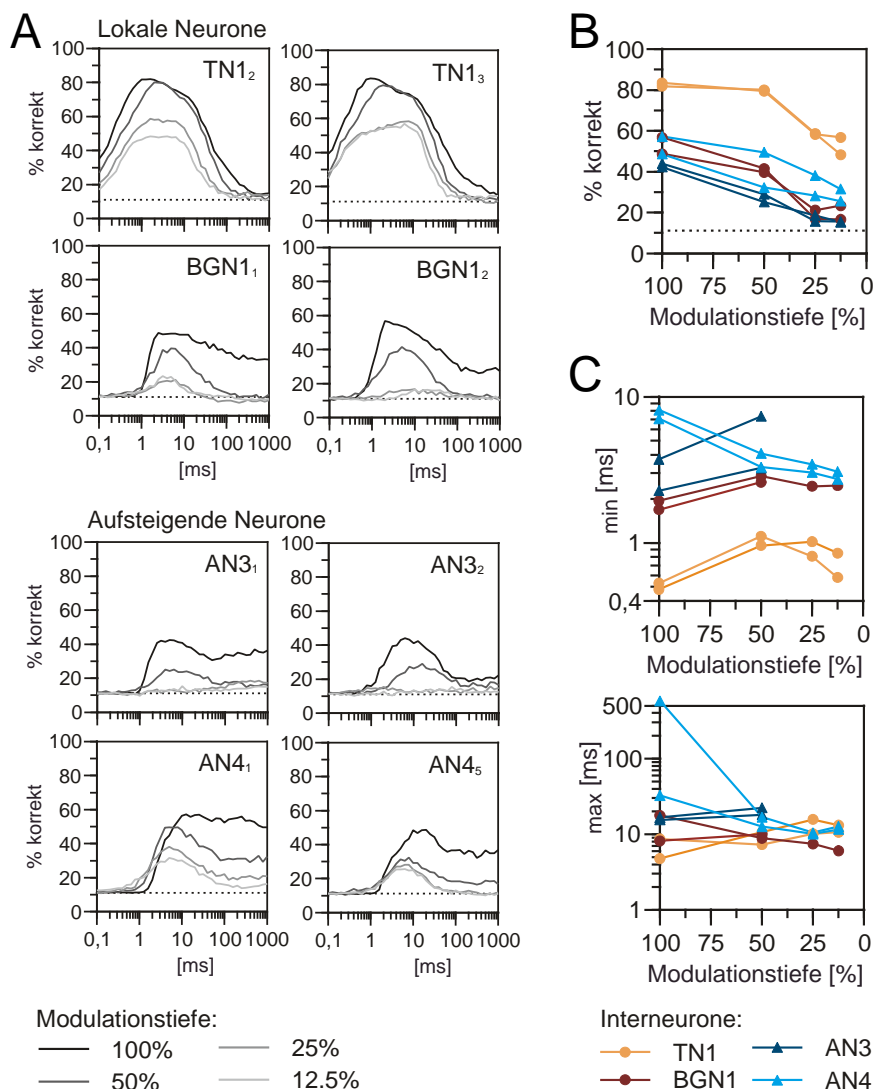
**Abbildung 6.22:** EINFLUSS DER ENTHALTENDEN MODULATIONSFREQENZEN AUF DIE UNTERSCHIEDBARKEIT **A** Abnahme des Anteils korrekt zugeordneter Spiketrains bei einer Verwendung eines Stimulus-Sets mit SAM-Stimuli von 10-500 Hz gegenüber dem gemessenen Anteil der korrekten Zuordnung bei SAM-Stimuli von 10-40 Hz. Aufgetragen ist die Differenz des Anteils korrekt zugeordneter Spiketrains (SAM-Stimuli 10-500 Hz - SAM-Stimuli 10-40 Hz) für jeweils zwei Vertreter der lokalen Interneurone TN1 und BGN1 und zwei Vertreter der aufsteigenden Interneurone AN3 und AN4. **B** Vergleich der gemessenen  $\tau_{\min}$ -Werte der Unterscheidbarkeit der SAM-Stimuli von 10-500 Hz gegenüber den SAM-Stimuli von 10-40 Hz.

wurde bereits getestet und zeigte keinen systematischen Zusammenhang im Sinne einer inversen Abhängigkeit des optimalen  $\tau$ -Bereichs von dem getesteten MF-Bereich (Abb. 5.16). Wie schon dargestellt (vgl. Abb. 5.15 und Abb. 6.17), können die  $\tau$ -Werte Hinweise über die Spikezeitpunkt-Variabilität liefern, die wiederum durchaus von den enthaltenden Modulationsfrequenzen abhängen kann. In Abb. 6.22 B sind die minimalen  $\tau$ -Werte der Unterscheidbarkeit der 9 SAM-Stimuli von 10-500 Hz gegenüber den gemessenen Werten der Unterscheidbarkeit der 3 SAM-Stimuli von 10-40 Hz aufgetragen. Bei allen Zellen ergab die Unterscheidbarkeit der MF von 10-500 Hz höhere  $\tau_{\min}$ -Werte als die Unterscheidbarkeit der MF 10, 20 und 40 Hz. Die Abweichung war allerdings unterschiedlich stark ausgeprägt. Während  $\tau_{\min}$  bei den beiden TN1 von 0.4 auf 0.5 ms anstieg, zeigte sich beim AN4 eine Zunahme von 2 bzw. 3 ms auf 7 bzw. 8 ms. Die Zunahme der  $\tau_{\min}$ -Werte bei einer Reizung mit höherer MF ist nicht verwunderlich insofern eine geringere Ankopplung bei hohen MF auch eine Zunahme der Spikezeitpunkt-Variabilität bedingen kann. Die starke Zunahme der  $\tau_{\min}$ -Werte beim AN4, dürfte besonders durch

die inhibitorischen Eingänge bei einer Reizung mit MF von 40-167 Hz bedingt sein (vgl. Abb. 5.1). Neben der starken Reduktion der Spikerate wird für diesen MF-Bereich eine höhere Spikezeitpunkt-Variabilität sichtbar. Auch andere hier getestete Interneurone erhalten inhibitorische Eingänge.

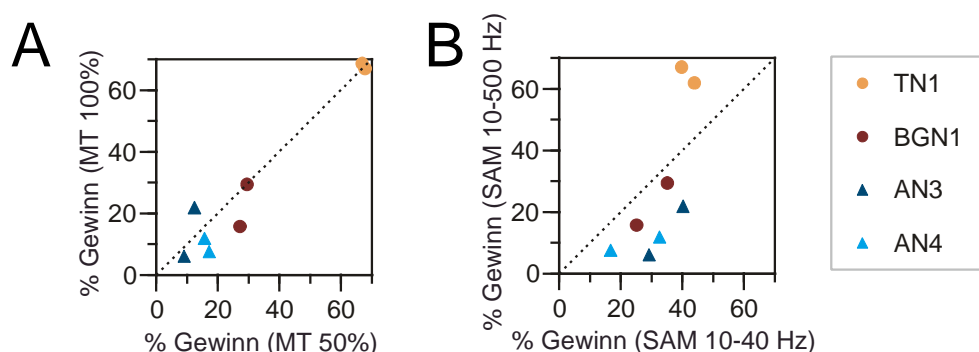
Die Modulationstiefen der getesteten SAM-Stimuli lagen bei allen Modulationsfrequenzen einheitlich bei 100%. Sowohl innerhalb eines Gesangs als auch zwischen den Gesängen zeigten sich dagegen unterschiedliche Modulationstiefen. Abgesehen von der durch die Silben/Pausen Struktur bedingten starken Amplitudenmodulation, traten bei den getesteten Gesängen innerhalb der Silben vornehmlich niedrige Modulationstiefen auf (vgl. Abb. 6.1). Damit wird die Unterscheidbarkeit der Gesänge, im Gegensatz zu der Unterscheidbarkeit der SAM-Stimuli, zusätzlich entscheidend durch die Empfindlichkeit einer Zelle gegenüber *kleinen* Schwankungen der Signalamplitude bestimmt. Die Unterscheidbarkeit der SAM-Stimuli wird im Folgenden bei unterschiedlichen Modulationstiefen untersucht. Die Analyse wurde wiederum für die gleichen Zellen wie in Abb. 6.22 durchgeführt. In Abb. 6.23 A ist der Anteil korrekt zugeordneter Spiketrains als Funktion des zeitlichen Auflösungsparameters  $\tau$  dargestellt und zwar bei getesteten Modulationstiefen von 100, 50, 25 und 12.5%. Erwartungsgemäß geht mit der Abnahme der getesteten Modulationstiefe auch eine Abnahme des erreichten Anteils korrekt zugeordneter Spiketrains einher. Die Abnahme der Unterscheidbarkeit verhält sich allerdings bei den einzelnen Zellen in unterschiedlicher Weise. So zeigte sich bei den beiden Vertretern des TN1 auch noch bei einem Test mit Modulationstiefen von 50% ein korrekt zugeordneter Anteil der Spiketrains von 80%. Damit nimmt die Unterscheidbarkeit gegenüber den SAM-Stimuli mit Modulationstiefen von 100% lediglich um 2 bzw. 4% ab (Abb. 6.23 B). Die stärkste Änderung vollzieht sich beim TN1 zwischen den Modulationstiefen von 50% und 25%. Selbst bei einem Test der Unterscheidbarkeit von SAM-Stimuli mit Modulationstiefen von 12.5% ließen sich allerdings noch 48 bzw. 57% der Spiketrains korrekt zuordnen. Beim BGN1 wurden dagegen bereits bei Modulationstiefen von 50% deutlich weniger Spiketrains korrekt zugeordnet und bei Modulationstiefen von 25% lag die Unterscheidbarkeit mit Werten von

17 bzw. 21% nur geringfügig über dem Niveau einer zufälligen Zuordnung. Für das aufsteigende Interneuron AN3 ergab sich ein ähnliches Bild - nur die Antworten auf SAM-Stimuli mit Modulationstiefen von 50% konnten zumindest noch zu 25% bzw. 29% korrekt zugeordnet werden. Die Spiketrains, die durch SAM-Stimuli mit Modulationstiefen von 25 bzw. 12.5% hervorgerufen wurden, waren untereinander anhand der metrischen Distanzen nicht mehr unterscheidbar. Das AN4 zeigte im Vergleich zum AN3 eine weniger starke Abnahme der Unterscheidbarkeit bei SAM-Stimuli mit geringer Modulationstiefe. So wurden die Antworten auf die Stimuli mit Modulationstiefen von nur 12.5% immerhin noch zu über 25% korrekt zugeordnet. Aus den Abb. 6.23 A dargestellten Kurven lässt sich nicht nur die erreichbare Unterscheidbarkeit ablesen, sondern vielmehr wie diese vom zeitlichen Auflösungsparameter  $\tau$  abhängt. Inwieweit ändert sich der relevante  $\tau$ -Bereich mit der Abnahme der Modulationstiefe der Stimuli? In Abb. 6.23 C sind die beiden Grenzwerte des optimalen  $\tau$ -Bereichs für die getesteten Modulationstiefen der SAM-Stimuli dargestellt. Gegenüber der Unterscheidbarkeit der vollständig modulierten SAM-Stimuli zeigte sich bei der Analyse der Antworten auf Stimuli mit einer Modulationstiefe von 50% eine Zunahme der minimalen  $\tau$ -Werte und zwar bei allen Zellen, außer dem AN4. Eine Zunahme der  $\tau_{\min}$ -Werte bei einer geringeren Modulationstiefe ist nicht verwunderlich, da nicht nur durch die geringere Modulation an sich sondern auch durch die resultierende geringere Anstiegssteilheit der Pulse eine höhere Spikezeitpunkt-Variabilität zu erwarten ist. Bei Modulationstiefen von 25% und 12.5% lässt sich kein einheitlicher Trend der  $\tau_{\min}$ -Werte erkennen. Bei einem Vertreter des TN1 nimmt  $\tau_{\min}$  bei der Unterscheidbarkeit der SAM-Stimuli mit einer Modulationstiefe von 25% weiter zu, fällt aber bei Modulationstiefen von 12.5% wieder ab. Bei dem anderen TN1 ist insgesamt eine Abnahme zu verzeichnen. Diese Abnahme ist allerdings durch die Art der Messung der  $\tau_{\min}$ -Werte 10% unter dem Maximum der Kurven begründet. Bei beiden Zellen lässt sich eine Verschiebung der linken Flanke der Optimumskurven zu höheren Werten feststellen (vgl. Abb. 6.23 A). Anders war die Situation beim AN4. Für beide Vertreter des AN4 nahmen die gemessenen  $\tau_{\min}$ -Werte mit der getesteten Modulationstiefe der SAM-Stimuli deutlich ab, welches sich auch in den Optimumskurven wi-



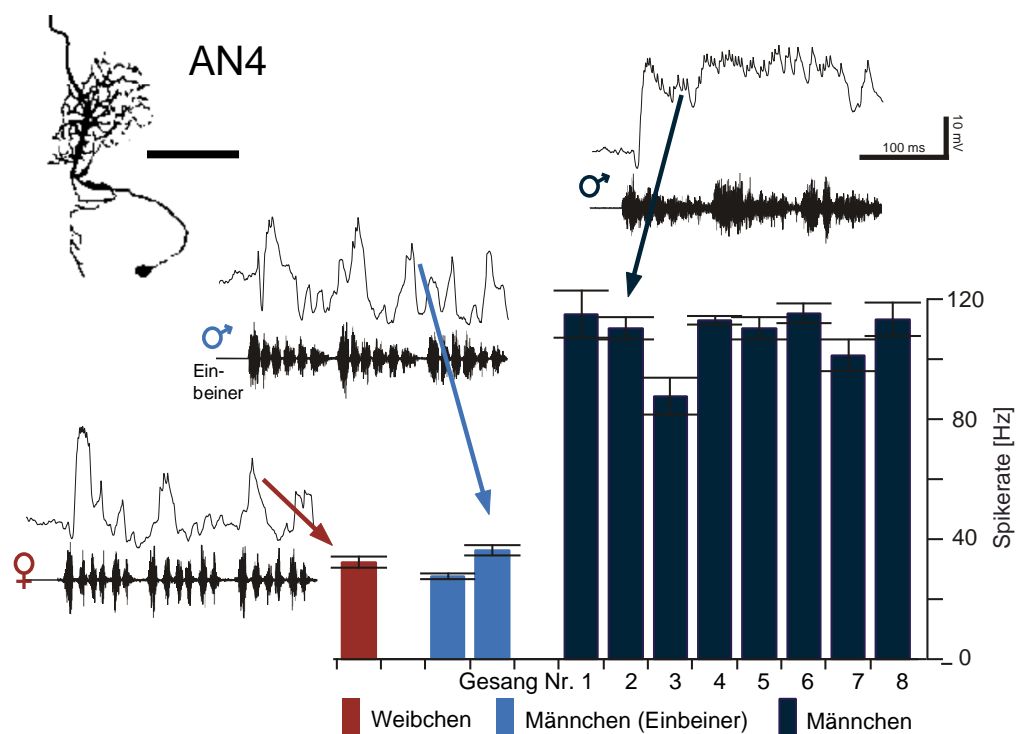
**Abbildung 6.23:** EINFLUSS DER MODULATIONSTIEFE AUF DIE UNTERSCHIEDBARKEIT DER SAM-STIMULI. **A** Anteil korrekt zugeordneter Spiketrains als Funktion des zeitlichen Auflösungsparameters  $\tau$  bei einer Analyse der Antworten auf SAM-Stimuli (10-500 Hz) mit Modulationstiefen von 100%, 50%, 25% bzw. 12,5%. Dargestellt sind die Ergebnisse der lokalen Interneurone TN1 und BGN1 und der aufsteigenden Interneurone AN3 und AN4 (jeweils zwei Vertreter). Das Zeitfenster der Auswertung betrug 500 ms. **B** Abhängigkeit zwischen dem Anteil maximal korrekt zugeordneter Spiketrains von der Modulationstiefe der getesteten Stimuli. **C** Abhängigkeit zwischen den gemessenen minimalen  $\tau$ -Werten (oben) bzw. der maximalen  $\tau$ -Werten (unten) und der Modulationstiefe der getesteten Stimuli. Alle Datenpunkte in **B** und **C** ergeben sich aus den Kurven in **A**.

derspiegelt. Dieser Effekt dürfte auf die starke Reduktion der inhibitorischer Eingänge bei einer geringeren Modulationstiefe zurückzuführen sein. Diese scheint sich negativ auf die Präzision der Spikezeitpunkte auszuwirken. Die mit abnehmender Modulationstiefe zunehmend geringer ausgeprägte Reduktion der Spikerate in dem für das AN4 spezifischen MF-Bereich, äußert sich vor allem in einer besonders starken Abnahme der korrekten Zuordnung bei einem hohen Wert des Auflösungsparameters  $\tau$ . So nehmen die  $\tau_{\max}$ -Werte beim AN4 mit der Modulationstiefe der SAM-Stimuli ab. Bei den anderen untersuchten Zellen tritt teilweise ebenfalls eine, wenn auch leichte, Abnahme der  $\tau_{\max}$ -Werte mit der Modulationstiefe auf, teilweise bleiben diese aber auch konstant oder nehmen leicht zu. Auch hierbei sei auf die Methode der Erfassung dieses Wertes hingewiesen, die bei einer Änderung der Form der Kurven problematisch ist. So verschiebt sich beim TN1 auch die rechte Flanke der Optimumskurven allerdings in Richtung niedrigerer  $\tau$ -Werte, was durch die verwendete Bestimmung von  $\tau_{\max}$  nicht erfasst wird (siehe Form der Kurven). Bei einigen der dargestellten Zellen, wie den Vertretern des BGN1 und besonders des AN4, sowie einem Vertreter des AN3, zeigt die Unterscheidbarkeit der Antworten auf SAM-Stimuli mit einer Modulationstiefe von 100% nur eine geringfügige Abnahme für hohe Werte des Auflösungsparameters  $\tau$ . Dieser Aspekt wurde bereits untersucht und lässt sich in einem geringem Zugewinn der Unterscheidbarkeit ausdrücken, der durch die Einbeziehung der Spikezeitpunkte erreicht wird (vgl. Abb. 5.12). Bei geringeren getesteten Modulationstiefen deutet sich bezüglich dieser Größe eine Änderung an, indem die Unterscheidbarkeit hier verstärkt bei hohen  $\tau$ -Werten abfällt. In Abb. 6.24 A ist der Gewinn der Unterscheidbarkeit, der durch die Einbeziehung der Spikezeitpunkte bei einer Analyse der Antworten auf die Stimuli mit Modulationstiefen von 100% und 50% erreicht wurde gegeneinander aufgetragen. Tatsächlich zeigt diese Kenngröße höhere Werte bei der Analyse der Antworten auf die Stimuli mit Modulationstiefen von 50% als auf die mit 100%. Lediglich Zellen, bei denen die Unterscheidbarkeit auch schon bei den vollständig modulierten Stimuli bei hohen  $\tau$ -Werten auf einem niedrigen Niveau lag (vgl. Abb. 6.23), zeigten keine Änderung (TN1 und ein BGN1<sub>2</sub>) oder eine Abnahme dieser Kenngröße (AN3<sub>2</sub>).



**Abbildung 6.24:** GEWINN DER UNTERSCHIEDBARKEIT, DER DURCH EINBEZIEHUNG DER SPIKEZEITPUNKTE ERREICHT WIRD: VERGLEICH ZWISCHEN DEM % GEWINN IN **A** BEI GETESTETEN MODULATIONSTIEFEN VON 100% GEGENÜBER MODULATIONSTIEFEN VON 50% UND **B** BEI GETESTETEN MODULATIONSFREQENZEN VON 10-500 Hz GEGENÜBER GETESTETEN MODULATIONSFREQENZEN VON 10- 40 Hz. Der % Gewinn wurde gemessen als Differenz zwischen dem Anteil der korrekten Zuordnung bei dem optimalen  $\tau$  und  $\tau = 1000$  ms (vgl. Abb. 5.12). Aufgetragen wurden wiederum Daten von zwei Vertretern des TN1, des BGN1, des AN3 und des AN4.

Wie schon eingangs beschrieben, treten bei den Gesängen nicht nur vorwiegend geringe Modulationstiefen sondern auch niedrigere Modulationsfrequenzen auf als bei der Unterscheidbarkeit der SAM-Stimuli getestet wurden. Eine Reduzierung der Unterscheidbarkeit auf Stimuli niedriger MF bedingt ebenfalls eine Zunahme der Bedeutung der Spikezeitpunkt-Information für die Unterscheidbarkeit (Abb. 6.24 B). (Lediglich für das TN1 traf dies nicht zu, welches aber zum Großteil auf dem höheren Zufallsniveau bei einer Unterscheidbarkeit der drei niedrigen Modulationsfrequenzen basiert.) Insgesamt kann also festgehalten werden, dass für die Unterscheidbarkeit von Stimuli mit geringen Modulationsfrequenzen bzw. Modulationstiefen, wie sie bei den Gesängen vorlagen, die Auswertung der Spikezeitpunkte bei den betrachteten Zellen bessere Resultate liefert als die der Spikezahlen. Besonders stark äußert sich dies beim AN4. Die spezifische Filtereigenschaft dieser Zelle, die eine starke Änderung der Spikerate bedingen kann, wird bei den hier getesteten Gesängen kaum wirksam, da das Merkmal, auf das diese anspricht, nicht auftritt. Dass dieser Filter sehr wohl für eine Unterscheidung von Gesängen genutzt werden kann, soll durch Abb. 6.25 verdeutlicht werden. Hier sind exemplarisch die Antworten des AN4<sub>5</sub> auf Gesänge von *C. biguttulus* dar-



**Abbildung 6.25:** ANTWORTEN EINES AN4 AUF WEIBCHEN - UND MÄNNCHENGESÄNGE. Exemplarische Antworten eines AN4 auf einen Weibchengesangs, den Gesang eines einbeinigen Männchens und auf den Gesang eines intakten Männchens. Mittlere Spikerate der Antworten auf den Weibchengesang sowie die Gesänge von zwei individuellen einbeinigen Männchen und auf die acht intakten Männchen. Bei den intakten Männchen handelt es sich um die getesteten Reskalierten Gesänge. Der Weibchengesang und die beiden Einbeiner wurden ebenfalls reskaliert, indem die Silben/Pausen-Dauer angeglichen und die Umhüllenden mit einem identischen Trägerspektrum gefüllt wurden. Größen-Balken: 250  $\mu\text{m}$ .

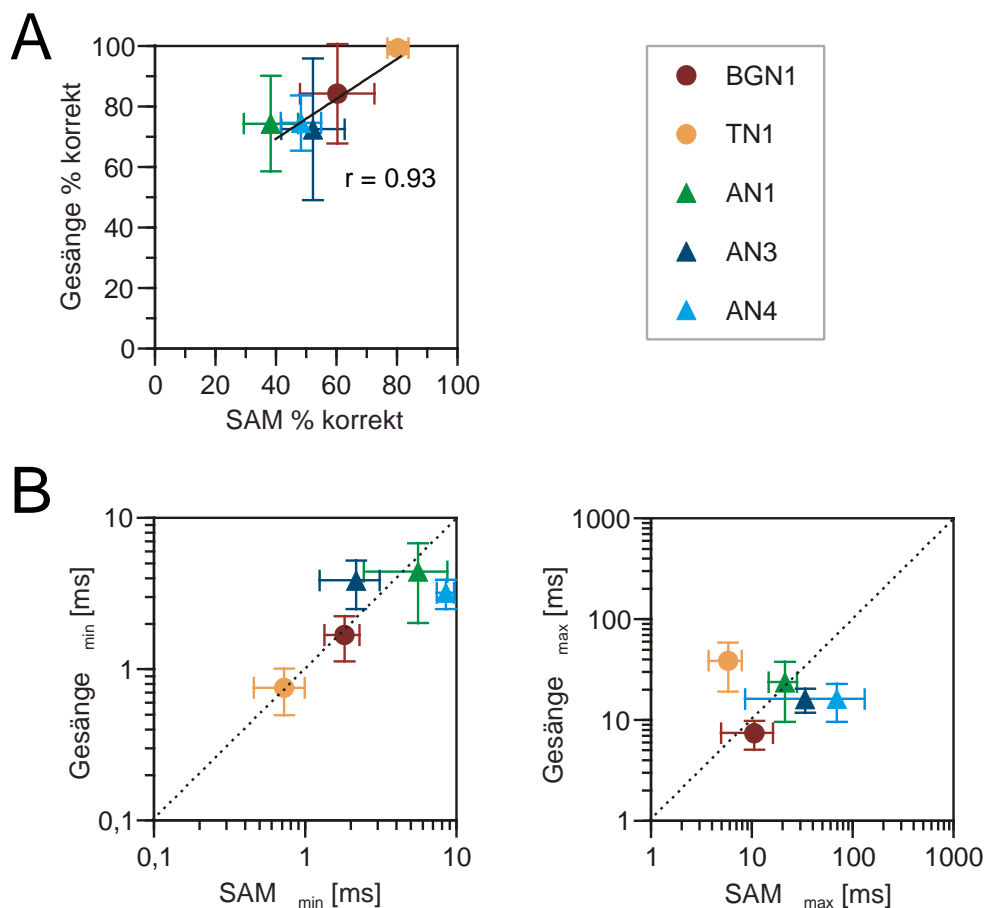


gestellt und zwar auf einen der bereits untersuchten Männchengesänge und außerdem auf den Gesang eines einbeinig singenden Männchen und auf einen Weibchengesang. Sowohl innerhalb der Silben des Weibchens als auch des einbeinig singenden Männchens treten durch kurze Lücken getrennte Pulse auf. In den Antworten auf diese beiden Signale werden immer wieder neu ausgelöste IPSP sichtbar, welche das EPSP stark unterdrücken, so dass nur wenig Spikes generiert werden. Betrachtet man dagegen die Antwort auf den Gesang des intakten Männchen, so zeigt sich hier nur eine vorlaufende Inhibition gefolgt von einer starken Exzitation. Eine Auftragung der mittleren Spikerate, die für alle acht Gesänge der intakten Männchen gemessen wurde, zeigt hohe und nur geringfügig unterschiedliche Werte (abgesehen von einer Abnahme bei Gesang 3). Demgegenüber reduzierte sich die Spikerate der Antworten auf die bei beiden getesteten Einbeiner und das Weibchen um mehr als die Hälfte auf ein ähnliches Niveau. Damit dürften zumindestens diese Gesänge von denen der intakten Männchen eindeutig unterscheidbar sein.

### **6.3.3 Vergleichende Charakterisierung der Unterscheidbarkeit für einzelne Zelltypen**

Bisher konzentrierte sich die vergleichende Untersuchung der Ergebnisse der Unterscheidbarkeit ausschließlich auf Zellen, bei denen beide Stimulus-Ensembles getestet werden konnten. Im Folgenden werden auch Zellen einbezogen die entweder nur mit den SAM-Stimuli oder nur mit den Gesängen gereizt wurden, um auf der Grundlage eines größeren Datensatzes eine fundiertere Betrachtung von bestimmten Zelltypen zu gewährleisten. Als Merkmal der erreichten Unterscheidbarkeit wurde der mittlere Anteil korrekt zugeordneter Spiketrains der einzelnen Zelltypen bei den beiden Stimulus-Ensembles gegeneinander aufgetragen (Abb. 6.26 A). In die Auswertung gingen nur Zelltypen ein, bei denen 3 bis 12 Vertreter getestet werden konnten. Bei allen dargestellten Zelltypen zeigt sich auf der Grundlage der Spiketrain-Distanzen eine bessere Unterscheidbarkeit der Gesänge als der SAM-Stimuli. Auf eine statistische Analyse des Zusammenhang zwischen den beiden untersuchten

Datensätzen muss verzichtet werden, da sowohl abhängige als auch unabhängige Daten enthalten sind. Trotzdem kann hier festgehalten werden, dass sich eine Korrelation zwischen der erreichten Unterscheidbarkeit beider Stimulus-Ensembles andeutet. Der höchste Anteil korrekt zugeordneter Spiketrains



**Abbildung 6.26:** VERGLEICH BEI DEN EINZELNEN ZELLTYPEN: UNTERSCHIEDBARKEIT BEI GESÄNGEN UND SAM-STIMULI **A** Mittelwerte und Standardabweichungen der Anteile maximal korrekt zugeordneter Spiketrains bei den Gesängen gegenüber den SAM-Stimuli. Das Zeitfenster der Auswertung betrug 500 ms und die Unterscheidbarkeit wurde bei dem optimalen  $\tau$ -Wert bestimmt. **B** Mittelwerte und Standardabweichungen der Grenzwerte des optimalen  $\tau$ -Bereichs, der Analyse der Antworten auf die Gesänge gegenüber gemessenen Werten mit den SAM-Stimuli.

wurde bei beiden getesteten Datensätzen beim lokalen Interneuron TN1, gefolgt vom BGN1, gemessen. Für die aufsteigenden Interneurone ließ sich insgesamt eine geringere Unterscheidbarkeit für beide Stimulus-Ensembles be-

obachten. Während sich der mittlere Anteil korrekt zugeordneter Spiketrains für die einzelnen aufsteigenden Interneurone bei den Gesängen auf einem ähnlichen Niveau bewegt, ließen sich bei einem Test mit den SAM-Stimuli deutlichere Unterschiede zwischen den Zelltypen feststellen. Das AN3 erreichte hier im Mittel den höchsten Wert, gefolgt vom AN4 und vom AN1. Die Standardabweichung der Mittelwerte fällt insgesamt bei den untersuchten Zelltypen, besonders jedoch aber beim AN3 und beim BGN, relativ hoch aus. Lediglich die Vertreter des TN1 zeigten für beide getestete Datensätze einen sehr einheitlichen Anteil korrekt zugeordneter Spiketrains. Inwieweit ändert sich der für die Unterscheidbarkeit optimale Bereich des zeitlichen Auflösungsparameters  $\tau$  zwischen den beiden Stimulus-Ensembles? Die minimalen  $\tau$ -Werte der einzelnen Zelltypen gruppieren sich, mit Ausnahme des AN4, entlang der Winkelhalbierenden (Abb. 6.26 B). Für diesen Zelltyp wurden für die Unterscheidbarkeit der SAM-Stimuli deutlich höhere minimale  $\tau$ -Werte gemessen als bei der Analyse der Antworten auf die Gesänge. Auch insgesamt deutet sich bei den aufsteigenden Interneuronen bezüglich dieser Kenngröße ein Trend an, der auch schon für die maximal erreichte Unterscheidbarkeit auffiel: die mittleren  $\tau_{\min}$ -Werte wichen zwischen den aufsteigenden Interneuronen bei der Analyse der Antworten auf die SAM-Stimuli stärker ab als bei den Gesängen. Dies traf auch für den oberen Grenzwert des optimalen  $\tau$ -Bereichs,  $\tau_{\max}$ , zu. Während hingegen die  $\tau_{\min}$ -Werte bei beiden lokalen Interneuronen nahezu identisch ausfielen, zeigte sich beim TN1 ein deutlich höherer  $\tau_{\max}$ -Wert bei den Gesänge als bei den SAM-Stimuli. Betrachtet man den sich aus den beiden Grenzwerten ergebenden optimalen  $\tau$ -Bereich, so kann für die einzelnen Zelltypen folgendes festgehalten werden: Beim BGN1 und beim AN1 zeigt sich kaum ein Unterschied dieser Kenngröße zwischen den beiden getesteten Stimulus-Ensembles. Beim AN3 deutet sich bei den SAM-Stimuli ein insgesamt breiterer optimaler  $\tau$ -Bereich an, während beim TN1 die Antworten auf die Gesänge noch bei deutlich höheren  $\tau$ -Werten optimal unterschieden werden konnten. Der stärkste Unterschied bestätigt sich für das AN4. Der optimale  $\tau$ -Bereich verschiebt sich bei dieser Zelle bei den SAM-Stimuli insgesamt zu höheren Werten.

**Zusammenfassung**

In einem Vergleich der korrekten Zuordnung der Antworten auf die SAM-Stimuli und auf die Gesänge wurden sowohl Übereinstimmungen als auch Unterschiede sichtbar, die sich auf die Eigenschaften der beiden Stimulus-Sets zurückführen ließen. Bei Zellen, die mit beiden Stimulus-Sets getestet wurden, zeigte sich nur eine schwach signifikante Korrelation der erzielten Anteile einer korrekten Zuordnung der Spiketrains. Der optimale Wert des zeitlichen Auflösungsparameters  $\tau$  stimmte bei den meisten Zellen weitgehend überein. Kein Zusammenhang ließ sich hingegen bezüglich einer allein auf Spikezahlen basierenden Unterscheidbarkeit erkennen.

# Kapitel 7

## Verhaltensreaktionen und neuronale Antworten bei *C. biguttulus*

Die Erkennung akustische Signale ist für die Vertreter der Gomphocerinae (Acrididae), zu denen die Heuschrecke *Chorthippus biguttulus* gehört, von besonderer Bedeutung: diese Tiere produzieren arteigene Gesänge, die innerhalb eines bidirektionales Kommunikationssystem der Partnerfindung dienen: Sowohl die Art- als auch die Geschlechtererkennung erfolgt anhand von Gesangsmerkmalen. Aufgrund der Asymmetrie der Investitionen sollten die Weibchen allerdings nicht *irgendein* Männchen der eigenen Art wählen, sondern ein besonders Interesse haben, sich nur mit Männchen zu verpaaren, die eine hohe Qualität aufweisen. Verhaltensdaten zeigen, dass für diese sexuelle Selektion Merkmale des Lockgesangs der Männchen genutzt werden (Klappert und Reinhold, 2003; von Helversen et al., 2004). Die Häufigkeit mit der die Weibchen den Gesang eines Männchens beantworteten wird als Indikator für dessen Attraktivität betrachtet (Klappert und Reinhold, 2003).

In dieser Arbeit wurden bereits eingehend die neuronalen Antworten auf Gesänge individueller Männchen der Art *Chorthippus biguttulus* untersucht (6.1) - allerdings an dem für die Elektrophysiologie häufig genutzten Modellsystem, der Wanderheuschrecke *L. migratoria* (Franz und Ronacher, 2002;

Krahe et al., 2002a; Machens et al., 2005). Im folgenden Teil werden nun Daten vorgestellt, die an *C. biguttulus*-Weibchen gewonnen werden konnten, die genutzten Gesangs-Sets waren identisch. Der Versuchsansatz beinhaltete neurophysiologische Versuche und zusätzlich Verhaltensversuche. Bei den Verhaltensversuchen standen folgende Fragestellungen im Vordergrund:

- Welche Verhaltensreaktionen zeigen die Weibchen auf die Gesänge und welche Zusammenhänge lassen sich zwischen den Verteilungen bestimmter Merkmale der Gesänge und deren Attraktivität feststellen? (7.1)

Nach dieser reinen Betrachtung der Beziehung zwischen Reiz und Reaktion, d.h. der Eingangs-Ausgangsanalyse, stellt sich die Frage nach der neuronalen Kodierung der im Verhalten getesteten Stimuli. Eine Verhaltensselektivität setzt eine Klassifikation voraus, die auf Unterschieden in den Spikeantworten basieren muss. Die letztendliche ‚Entscheidung‘ über die Attraktivität eines Musters wird, wie bereits einleitend erwähnt, erst im Oberschlundganglion der Feldheuschrecken getroffen (Bauer und Helversen, 1987). Dennoch sollte die dafür notwendige Information auch auf vorangehenden Ebenen der Hörbahn präsent sein. Daraus ergeben sich die Fragen:

- Inwieweit sind die Gesänge anhand der neuronalen Antworten bei *C. biguttulus* unterscheidbar und zeigt sich ein Zusammenhang zur Verhaltensselektivität? (7.2)

Die hier untersuchten lokalen und aufsteigenden Interneurone werden aufgrund ihrer morphologischen und physiologischen Eigenschaften mit den identisch benannten Vertretern von *L. migratoria* homologisiert (Marquart, 1985a; Stumpner, 1988). Letztere Art besitzt allerdings kein ausgeprägtes akustisches Verhalten und die Unterscheidbarkeit von Gesängen hat hier, im Gegensatz zu *C. biguttulus*, keinerlei Verhaltensrelevanz. Es stellen sich die Fragen:

- Sind die Gesänge anhand der Spiket trains für homologe Zelltypen von *C. biguttulus* und *L. migratoria* gleich gut unterscheidbar? Inwieweit zeigen sich zwischen den einzelnen Vertretern eines Zelltyps einer Art gleich große Differenzen wie zwischen den Arten? (7.3)

## 7.1 Verhaltensantworten auf die Gesänge

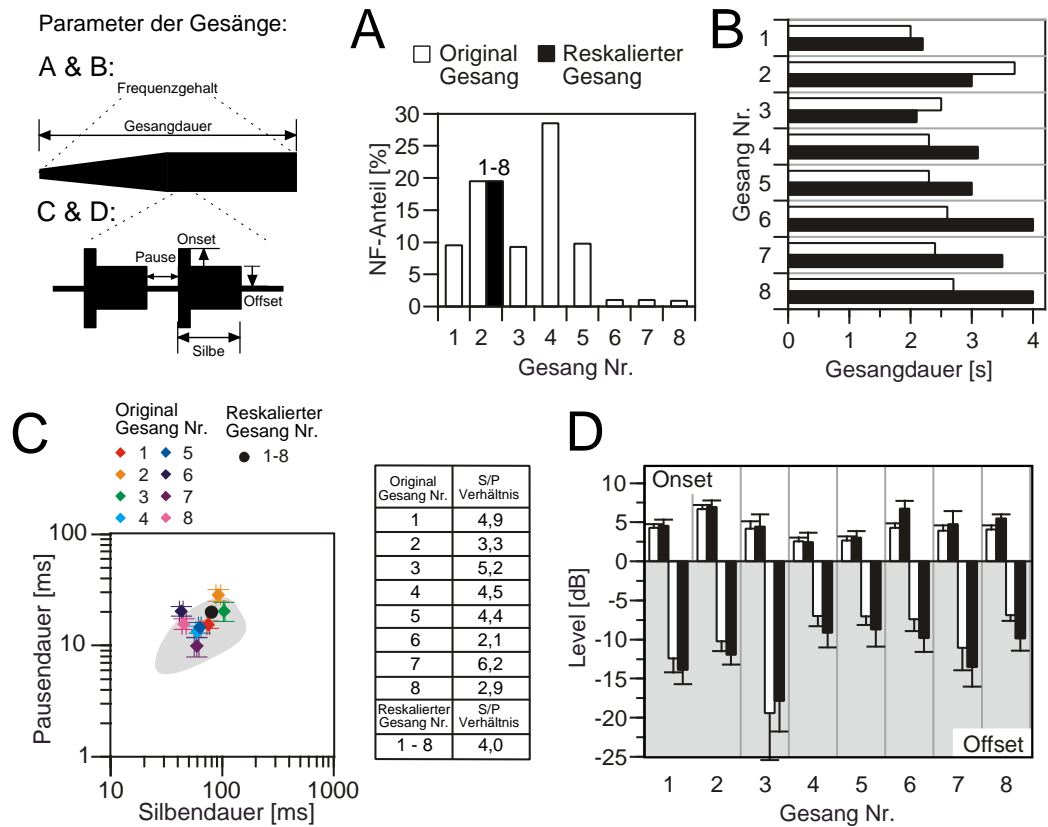
In diesem Teil werden zunächst die Verteilungen von zeitlichen Merkmalen für die jeweils 8 Gesänge der beiden Gesangs-Sets untersucht. Dabei wird der Schwerpunkt auf Merkmale gelegt, die innerhalb bestimmter Wertebereiche für die Erkennung und Beurteilung eines Gesangs von Bedeutung sind (von Helversen und von Helversen, 1994; Balakrishnan und von Helversen, 2004). Dieser Betrachtung folgt eine Darstellung der Ergebnisse der Verhaltensreaktionen der Weibchen auf die Gesänge. Abschließend werden die Verhaltensreaktionen zu den Verteilungen der zeitlichen Merkmale in Bezug gesetzt, um einen Zusammenhang zur Attraktivität der Gesänge herstellen zu können.

### 7.1.1 Merkmale der Gesänge

Die getesteten Gesänge unterschieden sich hinsichtlich verschiedener Merkmale, die durch die Weibchen bewertet werden und in einem bestimmten Verhältnis gewichtet eine Antwortwahrscheinlichkeit bestimmen. Vor diesem Hintergrund wurden folgende Merkmale bei den jeweils acht Gesänge der beiden Stimulus-Sets analysiert: die spektrale Zusammensetzung der Gesänge, die Gesangsdauern, die Silben- und Pausendauern, die Akzentuierung des Silbenbeginns (Onset-Level) und der Intensitätsabfall am Silbenende (Offset-Level) (Abb. 7.1). Bei den Original Gesängen können alle diese Merkmale unterschiedliche Werte annehmen. Die aus diesem Gesangs-Set generierten Reskalierten Gesänge weisen dagegen identische Verteilungen der Trägerfrequenzen und einheitliche Silben- sowie Pausendauern auf.

#### Trägerfrequenzen

Die spektrale Zusammensetzung der Original Gesänge unterschied sich vor allem in dem relativen Anteil des hochfrequenten Bereichs (10 - 40 kHz) gegenüber dem tieffrequenten Bereich (4 - 10 kHz) (Abb. 7.1 A). Bei Gesang 6 bis 8 lag nur etwa 1% der Energie im tieffrequenten Bereich. Die Gesänge 1, 3 und 5 wiesen einen relativen Anteil von etwa 10 % auf und der Gesang



**Abbildung 7.1:** MERKMALE DER GESÄNGE. **A** Anteil der Trägerfrequenzen unter 10 kHz bei den einzelnen Original Gesängen. Die Umhüllenden der Reskalierten Gesänge wurden mit dem Träger des Gesangs 2 gefüllt. **B** Gesangsdauern der acht Original und der jeweiligen Reskalierten Gesänge. **C** Mittlere Pausendauer gegenüber der mittleren gemessenen Silbendauer der Original Gesänge, sowie die beiden Werte der Reskalierten Gesänge. Der graue Bereich gibt die Silben/Pausendauern an, bei denen eine Antwortwahrscheinlichkeit der Weibchen von 50% mit rechteckmodulierten Stimuli gemessen wurde (neu aufgetragen nach von Helversen und von Helversen (1994)). **D** Onset-Level und Offset-Level der Silben: Mittelwerte und Standardabweichungen der Original und der Reskalierten Gesänge. Alle in **C** und **D** gemessenen Werte basieren auf einer Auswertung der letzten 10 Silben der Gesänge (vgl. Material & Methoden).

2 und 4 von 20 bzw. 29%. Die Reskalierten Gesänge wurden einheitlich mit dem Träger des Gesangs 2 gefüllt und enthielten somit sowohl hoch- als auch tieffrequente Anteile.



## Gesangsdauern

Die Gesamtdauer der Gesänge betrug zwischen 2 und 4 Sekunden (Abb. 7.1 B). Innerhalb der Original Gesänge wies allerdings nur Gesang 2 eine Dauer von über 3 Sekunden auf. Alle anderen Gesänge bewegten sich hinsichtlich dieses Merkmals im Bereich von 2 bis 2,7 Sekunden. Die Normierung der Silben- und Pausendauern bedingte mehrheitlich eine Verlängerung der Gesänge, so dass sich bei sechs der Reskalierten Gesänge Gesamtdauern von über 2,7 Sekunden und nur für zwei Gesänge Werte von unter 2,7 Sekunden ergaben.

## Silben- und Pausendauern

Die Silbendauern wiesen zwischen den acht Original Gesängen beträchtliche Unterschiede auf und bewegten sich im Bereich von 43 bis 103 ms, die Pausendauern lagen zwischen 10 und 28 ms (Abb. 7.1 C). von Helversen (1972) konnte zeigen, dass die Antwort der Weibchen bei *C. biguttulus* von einer bestimmten Kombination der Dauern von Silben und Pausen abhängt. Beide Größen hängen voneinander ab: je länger die eingestellte Silbendauer, umso länger auch die am besten beantwortete Pausendauer. In Abb. 7.1 C wurde der Bereich, bei dem anhand von rechteckmodulierten Silben eine Antwortwahrscheinlichkeit von mindestens 50% erreicht wurde, grau unterlegt (neu aufgetragen nach von Helversen und von Helversen (1994)). Es zeigte sich, dass die Silben/Pausendauern der hier getesteten Original Gesänge innerhalb dieses optimalen Bereichs lagen, lediglich die Mittelwerte von Gesang 2 und 6 befanden sich leicht ausserhalb. Auch die Silben- und Pausendauern der Reskalierten Gesänge entsprachen mit Werten von 80 ms bzw. 20 ms einer präferierten Kombination. Die Verhältnisse der aufeinander folgenden Dauern der Silbe und Pause betrug somit bei den Reskalierten Gesängen einheitlich 4 : 1. Bei den Original Gesängen wurden Mittelwerte von 2,1 bis 6,2 : 1 gemessen.

### Onset-Level und Offset-Level der Silben

Abbildung 7.1 D zeigt die Stärke der Akzentuierung des Silbenbeginns (Onset-Level) und der Abnahme der Intensität am Silbenende (Offset-Level), die bei den Original und den Reskalierten Gesängen gemessen wurde. Der Bereich der mittleren Onset-Level (2.5 bis 6.9 dB) ist relativ schmal verglichen mit dem Bereich der mittleren Offset-Level (-6.8 bis -19.4 dB). Letztere zeigen allerdings nur für Gesang 3 einen Wert von unter -15 dB. Den höchsten Onset-Level wurde bei Gesang 2 gemessen. Einige Gesänge weisen ähnlich starke Offset-Level auf (Gesang 4, 5 und 6) und auch teilweise ähnliche Onset-Level (Gesang 4 und 5).

Alle diese Merkmale können bei der Bewertung der Gesänge eine Rolle spielen. Im nächsten Teil wird die Antworthäufigkeit der Weibchen untersucht, die als Indikator für die Attraktivität der Gesänge gewertet werden kann.

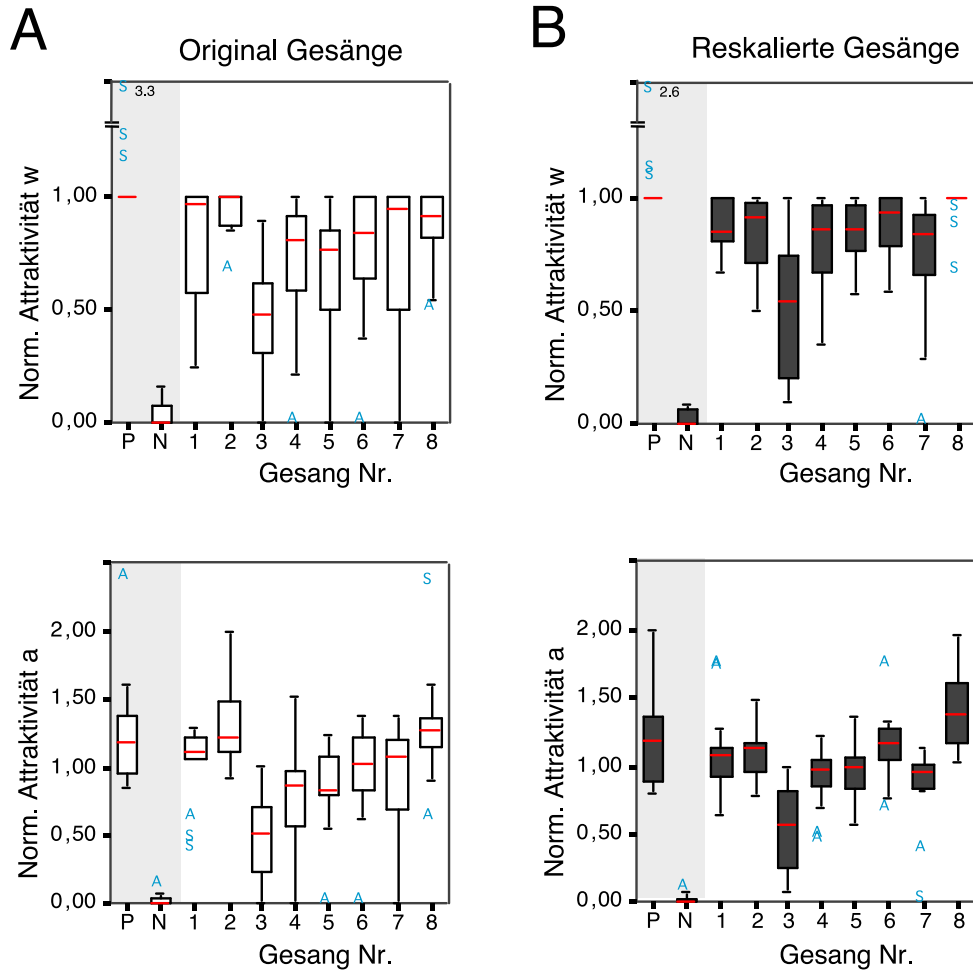
#### 7.1.2 Attraktivität der Gesänge

Die Attraktivität der Gesänge wurde anhand von zwei Maßen analysiert (vgl. Material & Methode): der auf den Durchschnitt normierten Antwortzahl  $A$  und der auf das Maximum normierten Antwortwahrscheinlichkeit  $W$ . Die Antwortwahrscheinlichkeit quantifizierte die Zahl der Reizwiederholungen, die eine Antwortzahl von  $>1$  aufwiesen. In Abb. 7.2 sind beide Attraktivitätswerte der getesteten Original und die Reskalierten Gesänge dargestellt. Vor jedem Testdurchlauf der Gesänge wurde die Reaktion der Weibchen auf ein rechteckig-moduliertes Silbenmuster geprüft. Dieses attraktive Muster diente als Positivkontrolle zur Überprüfung der allgemeinen Antwortbereitschaft eines Weibchens. Da eine Beantwortung Voraussetzung für den Start eines Testzyklus war, ergab sich hierfür zwangsläufig eine Antwortwahrscheinlichkeit von 100%. Zusätzlich wurde ein ‚Dauerrauschen‘ (4 Sekunden) getestet, um die Selektivität der Weibchen zu überprüfen. Die Beantwortung dieser Negativkontrolle hatte keinen Einfluss auf den Testablauf. Die Reaktionen der Weibchen auf die Positiv- und die Negativkontrolle gingen nicht in die Normierung der Antwortzahlen bzw. -wahrscheinlichkeiten der Gesän-

ge ein. Stattdessen wurden die bei den beiden Kontrollen gemessenen Werte in Relation zu der maximalen Antwortwahrscheinlichkeit bzw. der durchschnittlichen Antwortzahl der Gesänge gesetzt, um einen Vergleich zu diesen herzustellen. Durch diese Art der Normierung konnten die  $w$ -Werte auch über 1 liegen, wenn die Antwortwahrscheinlichkeit auf die Kontrolle höher lag als auf die Gesänge. Für die Positivkontrolle betrug der Median von  $W$  1 (Abb. 7.2 A und B, oben). Von den 14 bzw. 15 getesteten Weibchen, ergaben sich bei lediglich 3 Weibchen Werte von  $> 1$  (als Extremwerte gekennzeichnet). Der jeweils am besten beantwortete Gesang erreichte also zumeist eine mit der Positivkontrolle übereinstimmende Antwortwahrscheinlichkeit von 100%. Gleichzeitig wurde anhand des Attraktivitätsmaßes  $A$  deutlich, dass die Mehrzahl der Weibchen auf einzelne Gesänge mit einer annähernd gleichen oder sogar höheren Antwortzahl reagierten wie auf die Positivkontrolle (Abb. 7.2 A und B, unten).

Die Negativkontrolle („Dauerrauschen“) wurde hingegen von den meisten Weibchen überhaupt nicht beantwortet, was sich in einem Median von 0 widerspiegelt. Nur 4 von 14 bzw. 6 von 15 Weibchen zeigten eine, allerdings auch nur geringe Reaktion auf das „Dauerrauschen“- die Tiere wiesen demnach eine hohe Antwortselektivität auf.

Das Antwortniveau auf die Gesänge lag insgesamt sehr hoch. So betrug die mittlere (unnormierte) Antwortwahrscheinlichkeit über alle getesteten Weibchen auf die Original Gesänge  $71 \pm 23\%$  und auf die Reskalierten Gesänge  $77 \pm 20\%$ . Betrachtet man die normierte Antwortwahrscheinlichkeit, so fällt auf, dass sich der Median innerhalb eines Gesangs-Sets zumeist nur sehr geringfügig unterschied (Abb. 7.2 A und B, oben). Lediglich bei Gesang 3 lag  $W$  unter bzw. knapp über 0.5. Innerhalb der Original Gesänge erreichte Gesang 2 den höchsten Wert, innerhalb der Reskalierten Gesänge Nr. 8 mit  $W > 0.9$ . Abgesehen von diesen beiden Gesängen, zeigte sich mit einem Interquartilabstand (IQR) von 20 bis 51% (Original Gesänge) bzw. 20 bis 55% (Reskalierte Gesänge) eine relativ hohe interindividuelle Variabilität der Antwortwahrscheinlichkeit auf einen jeweiligen Gesang. An dieser Stelle sei nochmals darauf hingewiesen, dass es sich hier um normierte Daten han-

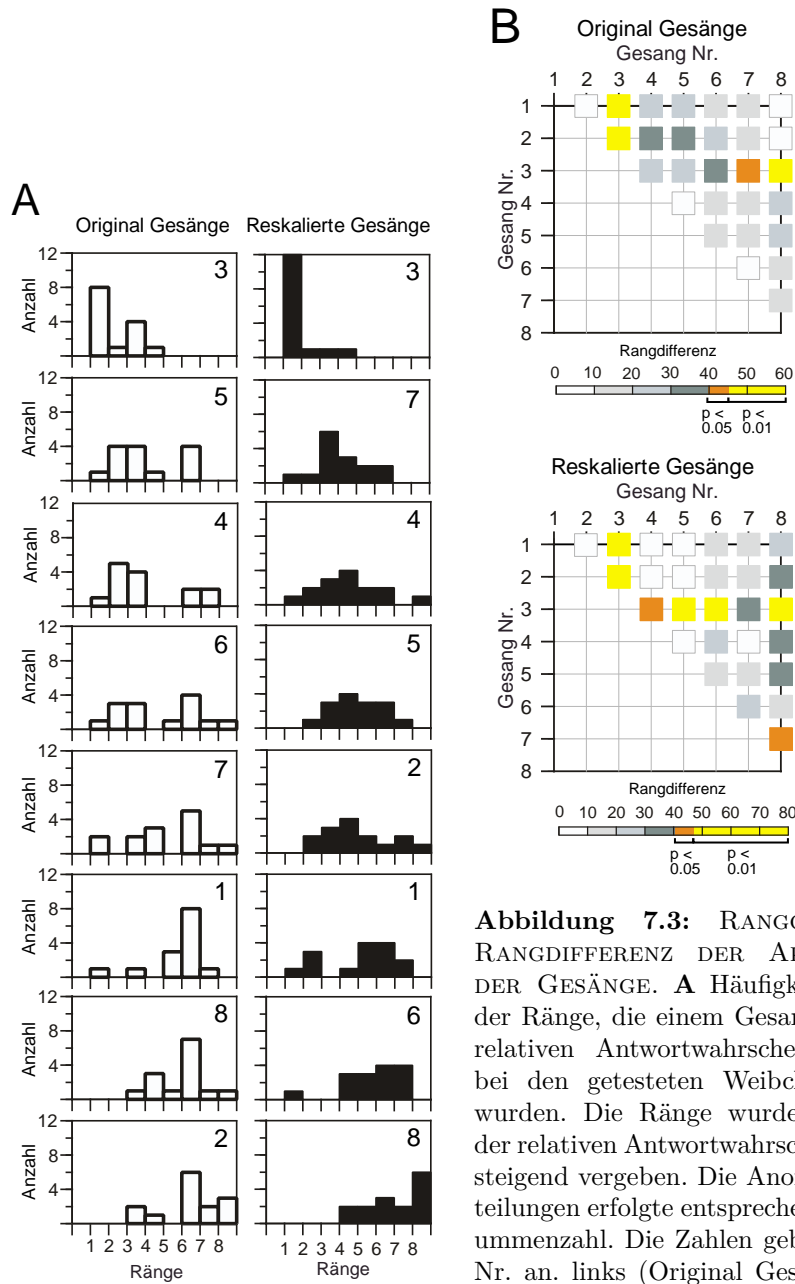


**Abbildung 7.2:** ATTRAKTIVITÄT DER GESÄNGE. Verteilung der normierte Antwortwahrscheinlichkeit  $w$  (oben) und Antwortzahl  $a$  (unten) auf **A** die Original Gesänge und **B** die Reskalierten Gesänge. Zusätzlich sind die Werte für die Positivkontrolle (P) und die Negativkontrolle (N) angegeben, die nicht in die Normierungen der Gesangsantworten eingingen, sondern zu diesen in Relation gesetzt wurden. Die Verteilung der Daten wird durch folgende Größen beschrieben: die untere Grenze der Box gibt das 25%-Quartil an, die obere Grenze das 75%-Quartil, die rote Linie innerhalb der Box zeigt den Median ( $W$  bzw.  $A$ ) der Verteilung. Die Linien ausserhalb der Box begrenzen nach unten das Minimum und nach oben das Maximum der Verteilung. Extremwerte werden als Kreis dargestellt, wenn sie mehr als das 1,5-fache und als Stern, wenn sie mehr als das 3-fache des Interquartilsabstandes von der Boxbegrenzung entfernt liegen. **A** :  $N = 14$  und **B** :  $N = 15$ .

delt, wodurch eine unterschiedliche Motivationslage der Tiere ausgeglichen werden sollte. Die Normierung erfolgte auf den maximal beantworteten Ge-

sang. Da dieser zumeist zu 100% beantwortet wurde (vgl. Positivkontrolle), ergab sich hier häufig kein Unterschied zwischen der unnormierten Antwortwahrscheinlichkeit  $rw$  und dem normierten Wert  $w$ . Die Normierung auf die durchschnittliche Antwortzahl bedingte dagegen stets eine Verschiebung der Werte. Nichtsdestotrotz zeigten auch die  $a$ -Werte den sehr breiten Antwortbereich der Weibchen bei den einzelnen Gesängen (Abb. 7.2 A und B, unten, beachte die unterschiedliche Skalierung). Der IQR von der Verteilung von  $a$  betrug 27 bis 59% (Original Gesänge) bzw. 19 bis 59% (Reskalierte Gesänge). Der Median der normierten Antwortzahl ( $A$ ) verhielt sich in sehr ähnlicher Weise wie  $W$ . Lediglich für die Original Gesänge trat eine Verschiebung auf, insofern nicht mehr Gesang 2, sondern wie auch bei den Reskalierten Gesängen, Gesang 8 von den meisten Weibchen am häufigsten beantwortet wurde. Eine ähnliche Verteilung der Werte ist aufgrund des methodischen Zusammenhangs bei der Berechnung beider Attraktivitätsmaße nicht verwunderlich. Ein Vergleich zwischen den beiden Attraktivitätsmaßen ergab für alle Tiere, mit nur einer Ausnahme, eine signifikante Korrelation zwischen  $a$  und  $w$  (Original Gesänge:  $N = 13$ ,  $p < 0.05$ ,  $N = 1$ , n.s.; Reskalierte Gesänge:  $N = 15$ ,  $p < 0.05$ ).

Als nächstes stellt sich die Frage inwieweit sich Unterschiede in der Attraktivität der Gesänge auch statistisch sichern lassen. Die Analyse beschränkt sich im folgenden auf die in der Literatur häufiger angeführte Antwortwahrscheinlichkeit. Der *Friedmann*-Homogenitätstest ergab hoch signifikanten Unterschiede zwischen den Stichproben jedes der beiden Datensätze (Original vs. Reskalierte Gesänge  $p < 0.001$ ). Um zu prüfen, *welche* Gesänge unterschiedlich attraktiv waren, wurden zunächst für jedes Weibchen den Gesängen entsprechend ihrer Antwortwahrscheinlichkeit Ränge zugewiesen. Der Gesang mit der niedrigsten Antwortwahrscheinlichkeit erhielt die niedrigste Rangnummer. Bei gleichen Antwortwahrscheinlichkeiten erfolgte eine identische intermediäre Rangvergabe. In Abb. 7.3 A sind die Häufigkeitsverteilungen der resultierenden Rangzahlen für die jeweils acht Gesänge der beiden Gesangs-Sets dargestellt. Die Verteilungen der Gesänge wurden nach ihren Rangsummenzahlen sortiert angeordnet. Zwei Aspekte werden hier deutlich:



**Abbildung 7.3:** RANGORDNUNG UND RANGDIFFERENZ DER AKKTRAKTIVITÄT DER GESÄNGE. **A** Häufigkeitsverteilungen der Ränge, die einem Gesang aufgrund der relativen Antwortwahrscheinlichkeit ( $rw$ ), bei den getesteten Weibchen zugewiesen wurden. Die Ränge wurden entsprechend der relativen Antwortwahrscheinlichkeit aufsteigend vergeben. Die Anordnung der Verteilungen erfolgte entsprechend ihrer Rangsummenzahl. Die Zahlen geben die Gesangs Nr. an links (Original Gesänge):  $N = 14$ . rechts (Reskalierte Gesänge):  $N = 15$ . **B** Absolute Rangdifferenzen zwischen den Rangsummen der Original und der Reskalierten Gesängen. Die Vergleiche, bei denen die kritischen Differenzen nach *Wilcoxon und Wilcoxon* unterschritten wurden, sind farbig dargestellt.

Erstens, sowohl der Original als auch der Reskalierte Gesang 3 wies am häufigsten die geringste Attraktivität bei den Weibchen auf und der Gesang Nr. 2 (Original) bzw. der Gesang Nr. 8 (Reskaliert) die höchste. Dies stimmt mit der Lage des Medians der normierten Antwortwahrscheinlichkeiten dieser Gesänge überein (vgl. (vgl. Abb. 7.2, oben). Zweitens, die Verteilungen der Ränge sind bei vielen Gesängen relativ breit (vgl. Original Gesang 4 bis 7 sowie Reskalierte Gesänge 1, 2, 4, 5). Die Präferenzen der Weibchen fielen hier offenbar sehr unterschiedlich aus, was sich aus den Verteilungen der Antwortwahrscheinlichkeiten (vgl. Abb. 7.2, oben) nicht zwangsläufig ableiten lässt. Gleichzeitig verhält sich die Lage des Medians der Antwortwahrscheinlichkeit  $W$  zumindest zwischen einzelnen Gesängen anders als die Verteilungen der Ränge. So erreicht  $W$  für den Reskalierten Gesang 2 einen höheren Median als für Gesang 1. Hinsichtlich der Ränge kehrt sich das Bild um: Gesang 1 werden häufiger höhere Ränge zugewiesen als Gesang 2.

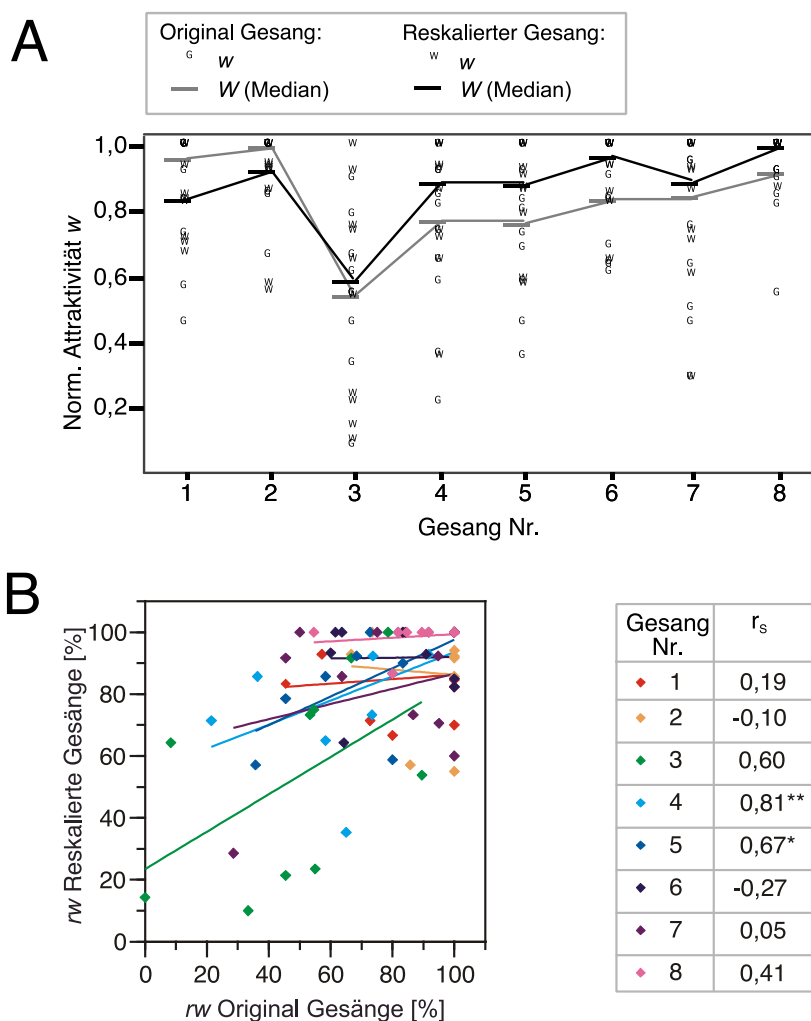
Eine Rangvergabe und anschließende Berechnung der Rangsummen entspricht der Vorgehensweise eines von *Wilcoxon und Wilcox* (1964) beschriebenen statistischen Test (Multipler Vergleich verbundener Stichproben). Die absoluten Rangsummendifferenzen (Abb. 7.3 B) werden mit einer kritischen Differenz verglichen und weisen auf signifikante Unterschiede zwischen den Stichproben hin. Innerhalb der Original Gesänge zeigte Gesang 3 eine signifikant niedrigere Antwortwahrscheinlichkeit als Gesang 1, 2, 8 ( $p < 0.01$ ) und 7 ( $p < 0.05$ ). Auch innerhalb der Reskalierten Gesänge unterschied sich Gesang 3 am stärksten in seiner Attraktivität von den anderen Gesängen und ergab eine statistisch signifikante Differenz gegenüber allen anderen, abgesehen von Gesang 7 ( $p < 0.01$  für 3 vs. 1, 2, 5, 6, 8;  $p < 0.05$  für 3 vs. 4). Des weiteren wich die Antwortwahrscheinlichkeit des Gesangs 8 signifikant von der des Gesangs 7 ab ( $p < 0.05$ ). Absolut betrachtet, trat der größte Unterschied zwischen den Reskalierten Gesängen 3 und 8 auf.

## Vergleich zwischen den Antworten auf Original und Reskalierte Gesänge

Die Original Gesänge unterschieden sich gegenüber den Reskalierten Gesängen hinsichtlich zweier Merkmale, die innerhalb eines bestimmten Wertebereichs für das Erkennen eines Gesangs von Bedeutung sind: die spektrale Zusammensetzung (nur für Gesang 2 blieb diese identisch) und die Silben- und Pausendauern innerhalb der Gesänge (vgl. Abb. 7.1). Die Reskalierung der Silben und Pausendauern bedingte gleichzeitig eine Änderung der Gesamtdauer der Gesänge. Die Werte anderer Merkmale, wie etwa des Onset- und Offset-Level, blieben weitgehend identisch.

Für 10 Weibchen konnten beide Gesangs-Sets getestet werden, was einen direkten Vergleich der Attraktivität der beiden Gesangsvarianten erlaubt. In Abb. 7.4 A sind die Verteilungen der normierten Antwortwahrscheinlichkeit auf die Original und die Reskalierten Gesänge zusammen aufgetragen. Auf Gesang 1 und 2 zeigten die Weibchen eine geringfügig höhere Antwortbereitschaft als auf den jeweiligen Original Gesang, bei Gesang 3 bis 8 erreichten dagegen die Reskalierten Gesänge häufiger leicht höhere Werte. Ein Paarvergleich ergab nur für Gesang 8 einen Unterschied zwischen dem Original und der Reskalierten Variante, wobei der Reskalierte Gesang eine signifikant höhere Antwortwahrscheinlichkeit bedingte ( $p < 0.05$ ). Die interindividuelle Variabilität der Reaktionen auf einen jeweiligen Gesang war relativ hoch (IQR von 15 bis 51% bzw. 0 bis 60%). Der Interquartilsabstand war zwar bei 6 der Original Gesänge größer als bei den jeweiligen Reskalierten, ein signifikanter Unterschied der Breite der Verteilungen konnte allerdings nicht gemessen werden (Org. vs. Resk. Gesang, U-Test:  $p = 0.16$ ). Die Original Gesänge unterscheiden sich untereinander hinsichtlich einer größeren Zahl von Merkmalen als die Reskalierten Gesänge (vgl. Abb. 7.1). Daraus ergibt sich die Frage, inwieweit die Attraktivitätswerte zwischen den einzelnen Original Gesängen auch stärker abweichen als zwischen den einzelnen Reskalierten Gesängen. Ein größerer Unterschied konnte festgestellt werden, wobei der mittlere CV der Antwortwahrscheinlichkeiten für die Original Gesänge 0.36





**Abbildung 7.4:** ATTRAKTIVITÄT DER ORIGINAL VS. DER RESKALIERTEN GESÄNGE. **A** Normierte Antwortwahrscheinlichkeit  $w$  auf die Original Gesänge und die Reskalierten Gesänge. In die Auswertung gingen nur Daten von Weibchen ein, die mit beiden Gesangssets getestet wurden ( $N = 10$ ). **B** Zusammenhang zwischen den (unnormierten) Antwortwahrscheinlichkeiten  $rw$  auf den jeweiligen Original und den Reskalierten Gesang. In der Tabelle sind die Rangkorrelationskoeffizienten für die einzelnen Gesänge angegeben.  $N = 10$ ; \*  $p < 0.05$ , \*\*  $p < 0.01$ .

betrug, während für die Reskalierten Gesänge ein Wert von 0.23 gemessen wurde.

Der Median der normierten Antwortwahrscheinlichkeiten zeigte eine signifikante Korrelation zwischen den Original und den Reskalierten Gesängen ( $r = 0.76$ ,  $p < 0.05$ ). Bei einer großen interindividuelle Variabilität liegt die Frage

nahe, inwieweit eine Abhängigkeit zwischen der Antwortwahrscheinlichkeit auf einen Original und den jeweiligen Reskalierten Gesang bestand, wenn individuelle Weibchen verglichen werden. Eine signifikante Korrelation ergab sich diesbezüglich für Gesang 5 und Gesang 4 (Abb. 7.4 B;  $p < 0.05$  und  $p < 0.01$ ). Um ein einheitliches Verhältnis von Silben/Pausedauern zu erreichen, mussten die Original Gesänge unterschiedlich stark reskaliert werden. Für die Gesänge 5 und 4 fiel diese Änderung am geringsten aus (vgl. Abb. 7.1 C). Das Verhältnis der Silben/Pausendauern betrug bei diesen Original Gesänge 4.5 bzw. 4.4 : 1, das der Reskalierten Varianten 4:1. Am stärksten änderte die Reskalierung die Silben- und Pausedauern bei Gesang 6 und Gesang 7: Bei ersterem verdoppelten sich die Silbendauern nahezu, bei letzterem die Pausendauern. Betrachtet man nun die Änderung der relativen Bewertung dieser Gesänge von der Original zu den Reskalierten Variante (Abb. 7.3 A) so zeigt sich, dass Gesang 6 attraktiver wurde und Gesang 7 unattraktiver. Ebenfalls etwas unattraktiver in der Reskalierten Variante wurde Gesang 2 - sowohl Silbendauern als auch Pausendauern verkürzten sich hier allerdings gegenüber dem Original. Hingewiesen sei an dieser Stelle noch auf der relativ hohen Korrelationskoeffizienten von Gesang 3, der mit  $r_s = 0.6$  nur knapp das Signifikanzniveau verfehlte ( $p = 0.06$ ).

Die Abhängigkeit der Antwortwahrscheinlichkeiten auf die 8 Original und die jeweiligen Reskalierten Gesänge wurden zusätzlich für die individuellen Tiere gesondert betrachtet. Tabelle 7.1 gibt die Korrelationskoeffizienten und die Irrtumswahrscheinlichkeiten an. Die Unterschiede zwischen den Tieren

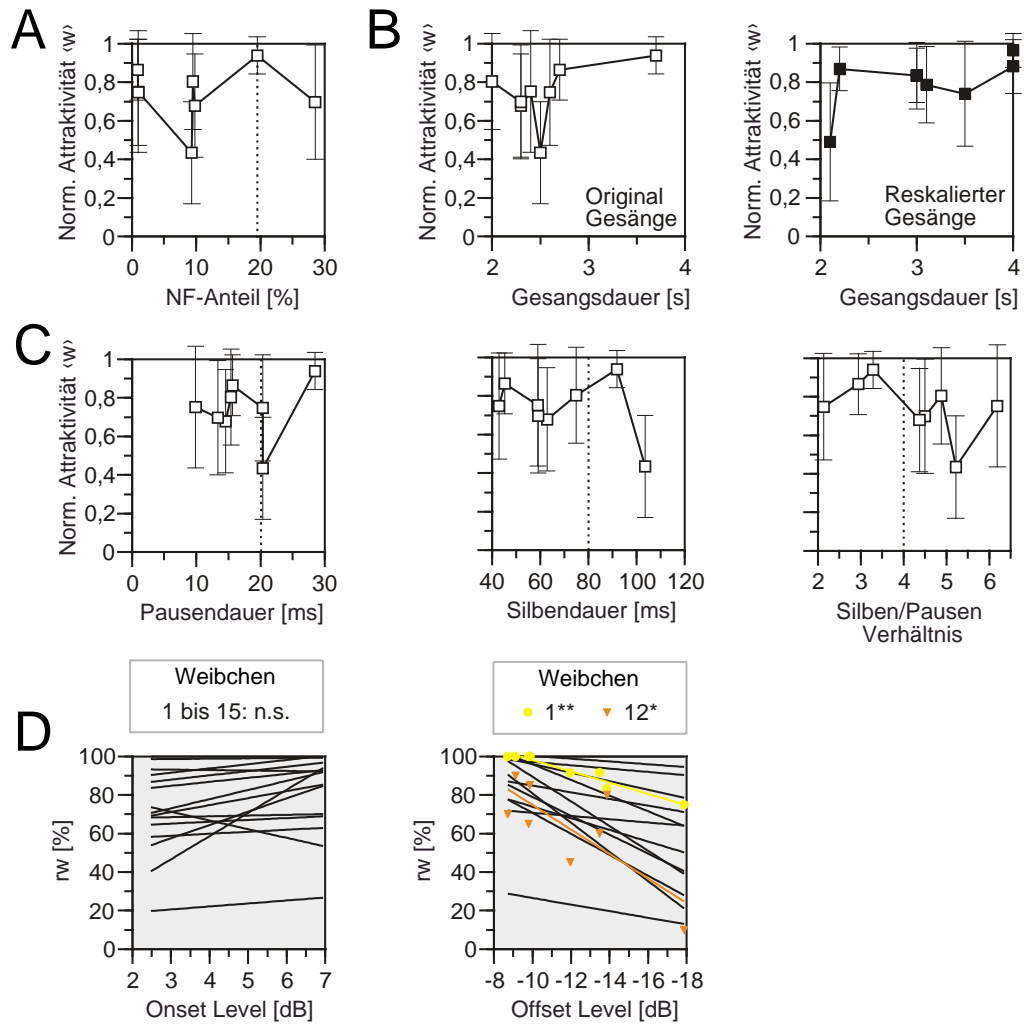
Weibchen	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
$r_s$	0,45	0,45	0,75	0,94	-0,31	0,1	0,59	-0,27	0	0,66
p	0,26	0,26	<u>0,03</u>	<u>0,001</u>	0,46	0,81	0,13	0,53	-	0,07

**Tabelle 7.1:** KORRELATIONSKOEFFIZIENTEN DER ANTWORTWAHRSCHEINLICHKEITEN DER ORIGINAL GEGENÜBER DEN RESKALIERTEN GESÄNGEN BEI DEN EINZELNEN WEIBCHEN. Neben den Rangkorrelationskoeffizienten sind die entsprechenden Irrtumswahrscheinlichkeiten angegeben. Die unterstrichenen Werte markieren signifikante Korrelationen ( $p < 0.05$ ).

waren auch diesbezüglich beträchtlich ( $r_s$  zwischen -0.3 und 0.9). Für 2 der 10 Weibchen ergab sich ein signifikanter Zusammenhang zwischen den Antwortwahrscheinlichkeiten auf die beiden Gesangsvarianten ( $p < 0.05$  und  $p < 0.001$ ). Das Weibchen 10 verfehlte mit  $r_s = 0.66$  das Signifikanzniveau knapp ( $p = 0.07$ ), für alle anderen Weibchen lag  $r_s$  unter 0.6 ( $p > 0.1$ ).

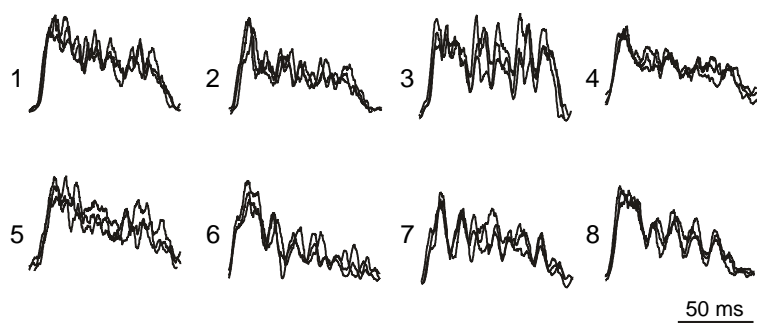
### 7.1.3 Zusammenhang zwischen Verteilungen der Merkmale der Gesänge und deren Attraktivität

Die Attraktivitätswerte der Gesänge bewegten sich in einem relativ kleinen Bereich - nur gegenüber zwei Gesängen konnten signifikant abweichende Antwortwahrscheinlichkeiten gemessen werden (vgl. Abb. 7.3 B). In diesen Fällen kann davon ausgegangen werden, dass die Gesänge für die Tiere unterscheidbar sind, was auf bestimmten Unterschieden zwischen Merkmalswerten basieren muss. Der Umkehrschluss gilt allerdings nicht. Gesänge, die gleich häufig beantwortet werden, müssen nicht zwangsläufig identisch repräsentiert sein. Sie können unter Umständen andere Merkmalskombinationen aufweisen, die mit einer unterschiedlichen Gewichtung die gleiche Antwortbereitschaft bedingen. Deswegen erscheint eine isolierte Betrachtung einzelner Merkmale in gewisser Weise problematisch - eine multivariate Analyse erfordert allerdings eine deutlich höhere Zahl an getesteten Reizen (mit stetigen Merkmalsverteilungen) und eine höhere Zahl an Versuchstieren. Die Betrachtung hier dient allerdings auch weniger der systematischen Suche nach attraktiven Merkmalswerten und -kombinationen. Vielmehr soll hier der Frage nachgegangen werden, inwieweit für die in dieser Arbeit getesteten Gesänge Zusammenhänge zwischen Reiz und Verhalten erkennbar sind. In Abb. 7.5 sind die Werte verschiedener Gesangsmerkmale der acht Gesänge gegenüber den gemessenen Antwortwahrscheinlichkeiten der Weibchen aufgetragen. Dabei sei zunächst darauf hingewiesen, dass die mittlere Antwortwahrscheinlichkeit für nur einen der Gesänge sehr niedrig war (Gesang 3). Dieser Datenpunkt zieht die in Abb. 7.5 A bis C gezeigten Kurven bei den jeweiligen Werten dieses Gesangs stark nach unten. Es zeigt sich aber auch kein eindeutiger Zusammenhang wenn dieser Gesang aus der Betrachtung ausgeschlossen wird: Die mittlere Attrak-



**Abbildung 7.5:** ZUSAMMENHANG ZWISCHEN DEN VERTEILUNGEN DER MERKMALE DER GESÄNGE UND DEREN ATTRAKTIVITÄT **A** Anteil der Trägerfrequenzen unter 10 kHz der Original Gesänge gegenüber der normierten Antwortwahrscheinlichkeit. **B** Gesamtdauern der Original (links) und der Reskalierten Gesänge (rechts) gegenüber der normierten Antwortwahrscheinlichkeit. **C** Mittlere Pausendauern, Silbendauern und das Verhältnis der Dauern der Silben/Pausen gegenüber den gemessenen Antwortwahrscheinlichkeiten bei den Original Gesängen. Die Antwortwahrscheinlichkeit ist in **A**, **B** und **C** als Mittelwert  $\langle w \rangle \pm$  Standardabweichung angegeben. **D** Abhängigkeit der Antwortwahrscheinlichkeit von dem mittleren Onset- und Offset-Level der acht Reskalierten Gesänge. Für die Antwortwahrscheinlichkeit wurde hier der unnormierter Wert  $rw$  aufgetragen. Jede Linie gibt die Regressionsgerade für ein getestetes Weibchen an. Auf die Darstellung der einzelnen Werte wurde zugunsten einer besseren Übersichtlichkeit verzichtet, sofern diese keine signifikante Korrelation aufwiesen.

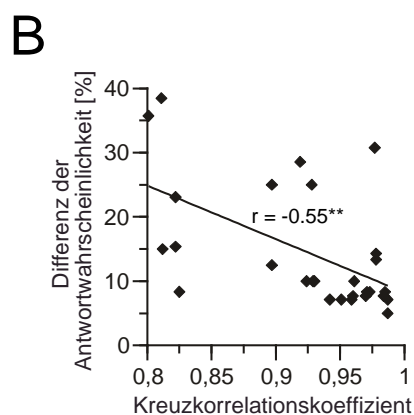
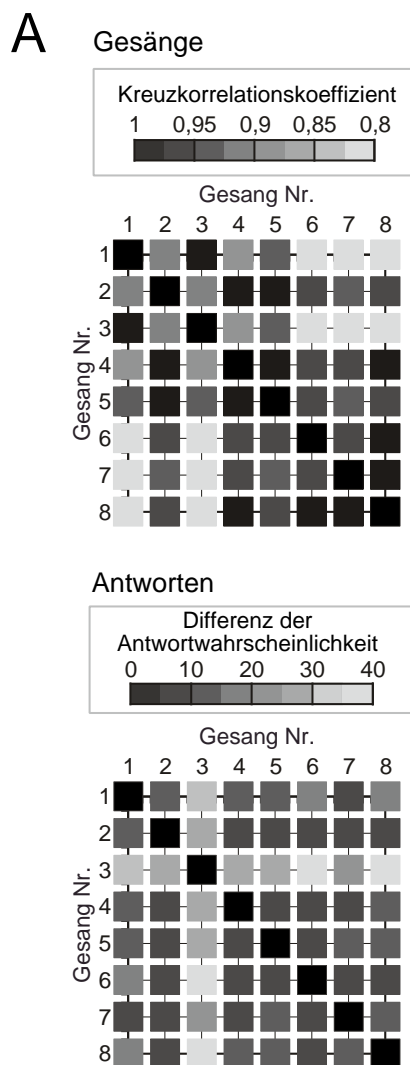
tivität der Gesänge läßt keine eindeutige Abhängigkeit von dem niederfrequenten Anteil der Trägerfrequenzen, den Gesangsdauern und den Silben- und Pausendauern, sowie dem Verhältnis zwischen letzteren erkennen. Die Reaktion der Weibchen wurde außerdem zu dem mittleren Onset- und Offset-Level der acht Reskalierten Gesänge in Bezug gesetzt (Abb. 7.5 D). Die Auftragung der Abhängigkeit für *einzelne* Weibchen wurde hier gewählt, da große interindividuelle Unterschiede zu erwarten sind (Balakrishnan und von Helversen, 2004). Die Antwortwahrscheinlichkeit korrelierte bei keinem der Weibchen mit dem mittleren Onset-Level der getesteten Gesänge (Abb. 7.5 D, rechst: n. s.). Die Korrelationskoeffizienten wiesen mit Werten von -0.45 bis 0.66 eine große Streuung auf - es wurde allerdings nur bei zwei Tieren ein negativer Wert gemessen. Zwischen der Antwortwahrscheinlichkeit und dem Offset-Level der Gesänge ergab sich hingegen bei zwei Tieren signifikante Korrelation ( $p < 0.05$  und  $p < 0.01$ ). Diese bestand in einem negativen Zusammenhang zwischen der Reaktion der Weibchen und der Stärke der Abnahme der Stimulusamplitude der Silbe gegenüber der Pause. Auch die Regressionsgeraden der anderen Weibchen geben einen negativen Trend wieder ( $r_s$  zwischen -0,11 und -0,93). Der am schlechtesten beantwortet Gesang 3 wies gleichzeitig den stärksten Offset-Level von allen Gesängen auf. Zumindest bei einem Tier blieb der signifikante Zusammenhang auch dann erhalten, wenn Gesang 3 aus der Analyse ausgeschlossen wurde. Bei dem anderen Tier wurde das Signifikanzniveau dann verfehlt. Für die Mehrzahl der Weibchen ergaben sich auch ohne diesen Datenpunkt negative Korrelationskoeffizienten, bei einzelnen Weibchen wurden daraufhin auch positive Werte gemessen. Bei diesem Gesang Nr. 3 fällt ein weiteres, bisher noch nicht betrachtetes Merkmal besonders auf: die Umhüllende der Silben weist bei einer gleichbleibend hohen Maximalamplitude starke Schwankungen auf. Solche ‚Lücken‘ entstehen bei einbeinig singenden Männchen oder eben bei Männchen die nicht imstande sind eine konstante Phasenverschiebung der Beinbewegungen einzuhalten (oder auch Flügeldeformationen u.a. aufweisen). Das Männchen, das diesen Gesang produzierte, benutzte beide Beine, synchronisierte die Beinbewegungen (oder auch nur deren Andruck) möglicherweise einfach stärker als die anderen Männchen. Die resultierenden Lücken könnten sich negativ auf die



**Abbildung 7.6:** SUPERPOSITION DER UMHÜLLENDE DREIER SILBEN DER 8 GESÄNGE.

Beantwortung dieses Gesangs ausgewirkt haben (Kriegbaum, 1989).

Die bisherige Betrachtung konzentrierte sich auf *einzelne* Merkmale und den Zusammenhang zu der beobachteten Verhaltensreaktion der Weibchen. Zwischen den getesteten Gesängen ergaben sich sehr häufig ähnliche Antwortwahrscheinlichkeiten. Eine gleiche Verhaltensreaktion kann sowohl auf einer ähnlichen Merkmalsverteilung zweier Stimuli basieren als auch auf völlig unterschiedlichen Merkmalsverteilungen, die durch eine andere Gewichtung letztlich das gleiche Ergebnis liefern. Es stellt sich die Frage, inwieweit Gesänge, die gleich häufig beantwortet werden, auch hohe zeitliche Korrelation der Gesangsumhüllen aufweisen. Dies könnte bedeuten, dass hier nicht so sehr andere Merkmalskombinationen zugrunde lagen, sondern vielmehr die tatsächliche Ähnlichkeit der Gesänge. Zu diesem Zweck wurden die Gesangsumhüllen zunächst in dB umgerechnet und dann die Werte über einer Schwelle von 48 dB zeitlich miteinander korreliert. Die sich daraus ergebene Abstandsmatrix ist in Abb. 7.7 A (oben) dargestellt und gibt die Kreuzkorrelationskoeffizienten für alle Gesangspaare an. Zusätzlich werden hier die absoluten Differenzen der Antwortwahrscheinlichkeiten (Medianwert) zwischen allen Gesängen gezeigt (unten). Die Abstandsmatrix der Antwortwahrscheinlichkeiten lässt zunächst den relativ großen Unterschied gegenüber Gesang 3 erkennen. Dieser wird auch in den Korrelationswerten von Gesang 3 gegenüber einigen, allerdings nicht allen anderen Gesängen sichtbar (vgl. Gesang 3:1, 3:2 und 3:5). Eine Reihe von Gesängen, die sehr niedrige Differenzen



**Abbildung 7.7:** ABSTANDSMATRIX DER GESANGSUMHÜLLENDE UND DER ANTWORTWAHRSCHEINLICHKEITEN.

**A** Kreuzkorrelationskoeffizienten eines paarweisen Vergleichs der Gesangsumhüllenden aller 8 Reskalierten Gesängen (oben) und absolute Differenzen der Antwortwahrscheinlichkeiten zwischen den Gesängen (Median der absoluten Differenzen von  $rw$ ). Der Verlauf der Helligkeitszuordnung der einzelnen Werte erfolgte für die beiden Matrizen gegensätzlich. **B** Zusammenhang zwischen den Korrelationskoeffizienten der Gesangsumhüllenden und den Differenzen der Antwortwahrscheinlichkeiten. Alle Werte leiten sich aus **A** ab.  $N = 28$ ,  $r = -0.55$ ,  $p < 0.01$ .

der Antwortwahrscheinlichkeiten aufwiesen, zeigten gleichzeitig auch relativ hohe Korrelationen zwischen den Gesangsumhüllenden. Dies könnte darauf hindeuten, dass ein großer Teil der sehr ähnlichen Attraktivitätswerte eher aus einer tatsächlichen hohen Ähnlichkeit der Stimuli resultiere und weniger aus abweichenden Merkmalen, die anders gewichtet wurden. Ein derartiger Zusammenhang ließ sich allerdings nicht für alle Gesangspaare feststellen:

Gesang 1 erreichte im Vergleich zu Gesang 6, 7 und 8 relativ ähnliche Attraktivitätswerte, der Kreuzkorrelationskoeffizient ist in diesen Fällen aber vergleichsweise niedrig.

Insgesamt betrachtet, ergab sich zwischen den gemessenen Differenzen der Antwortwahrscheinlichkeiten und dem Ausmaß der zeitlichen Korrelation der Umhüllenden ein signifikanter negativer Zusammenhang (Abb. 7.7 B,  $p < 0.01$ ) - aber auch bei dieser Auftragung zeigt sich, dass es große Abweichungen von diesem Trend gibt.

### **Zusammenfassung**

Sowohl zwischen den einzelnen Original Gesängen als auch noch zwischen den Reskalierten Gesängen zeigten sich signifikante Unterschiede in der Bewertung durch die Weibchen. Diese traten jedoch nur zwischen wenigen Gesangspaaren auf. Die interindividuelle Variabilität der relativen Bewertung war recht groß, mit Ausnahme bezüglich des jeweils attraktivsten und vor allem des unattraktivsten Gesangs. Ein Paarvergleich der Antwortwahrscheinlichkeiten auf die beiden Gesangsvarianten ergab nur bei einem Gesang eine signifikante Abweichung. Allerdings ließ sich auch nur bei zwei Gesängen eine signifikante Korrelation feststellen. Insgesamt erwies sich eine Beurteilung der Attraktivität auf der Grundlage der Gesangsmerkmale als problematisch, da die einzelnen Gesänge sehr unterschiedliche Merkmalskombinationen zeigten. Bei einer Analyse der Verteilungen einzelner Merkmale der Gesänge und deren Attraktivität deutete sich lediglich zwischen dem Offset-Level der Silben und deren Beantwortung ein negativer Zusammenhang an. Der unattraktivste Gesang wies aber auch noch weitere auffällige Merkmale auf, wie besonders stark ausgeprägte Lücken, die für die schlechte Beantwortung verantwortlich sein könnten.



## 7.2 Neuronale Antworten auf die Gesänge

In diesem Teil werden die Antworten lokaler und aufsteigender Neurone von *C. biguttulus* auf arteigenen Männchengesänge untersucht. Dabei handelt es sich um die bereits im Verhalten getesteten zwei Gesangs-Sets. Bei der Analyse der neuronalen Antworten steht wiederum die Frage nach der Unterscheidbarkeit der Gesänge anhand der Spiketrain-Distanzen im Vordergrund. Die Unterscheidbarkeit wird vergleichend zu der Verhaltensselektivität betrachtet, um mögliche neuronale Korrelate dieser Leistung aufzuspüren.

### 7.2.1 Unterscheidbarkeit bei *C. biguttulus*

Die Unterscheidbarkeit von Gesängen anhand der Spiketrain-Distanzen wurde auch hier zum einen für die acht Original Gesänge getestet und zum anderen für die aus diesen generierten acht Reskalierten Gesänge. Für letztere innerhalb von zwei verschiedenen Auswertebereichen: der ersten und der letzten Sekunde der Gesänge. Während die Analyse der Antworten auf die Reskalierten Gesänge bei 4 lokalen Interneuronen (3 Zelltypen) und 12 aufsteigenden Interneuronen (5 Zelltypen) durchgeführt werden konnte, lagen für die Original Gesänge nur Daten von 6 aufsteigenden Interneuronen (2 Zelltypen) vor.

#### **Einfluß der Dauer des ausgewerteten Zeitfensters bzw. der einbezogenen Spikezahlen auf die korrekte Zuordnung**

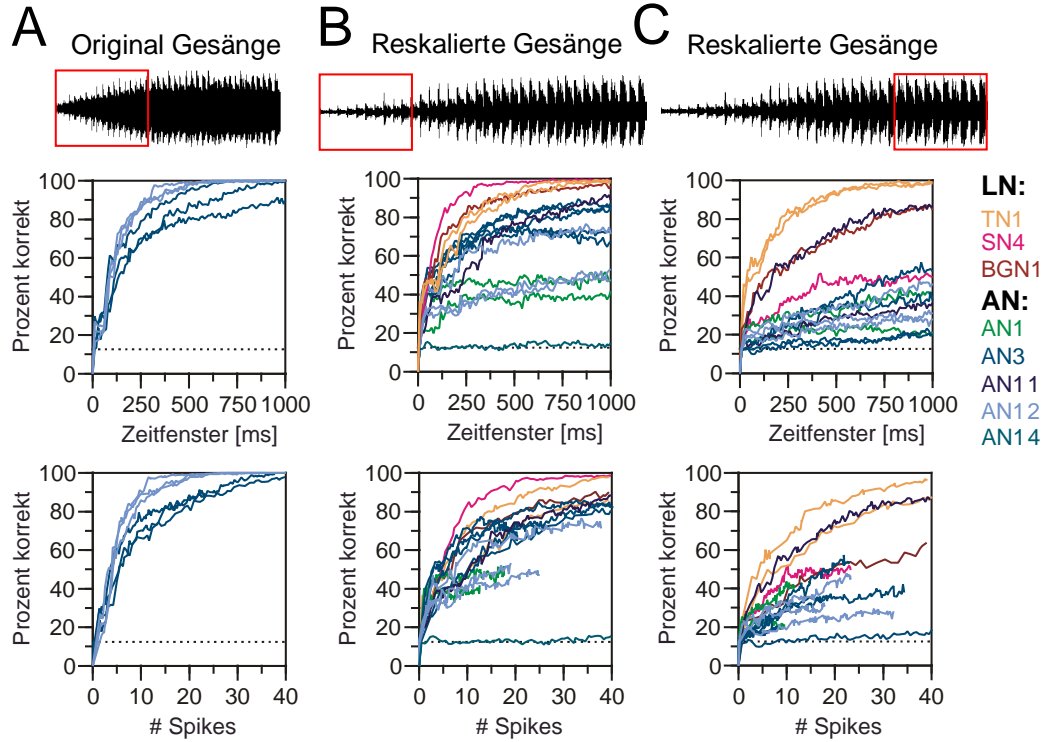
Zunächst soll der Frage nachgegangen werden, wie gut sich die Gesänge insgesamt unterscheiden ließen, bevor die Unterscheidbarkeit *einzelner* Gesänge betrachtet wird. In Abbildung 7.8 ist der Anteil korrekt zugeordneter Spiketrains als Funktion der Größe des einbezogenen Zeitfensters (oben) bzw. der Anzahl der einbezogenen Spikes (unten) aufgetragen. Erwartungsgemäß nahm der Anteil korrekt zugeordneter Spiketrains mit zunehmender Länge des Zeitfensters bzw. Zahl der Spikes zu, bevor er zumeist innerhalb des betrachteten Bereichs sättigte. Sowohl zwischen den einzelnen untersuchten Neuronentypen als auch zwischen den Gesangs-Sets bzw. Auswertebereichen

zeigten sich allerdings Unterschiede in der maximal erreichten Unterscheidbarkeit (vgl. auch Abb. 7.8 D). Für die Original Gesänge fielen die Unterschiede gering aus, allerdings konnten hier auch nur Daten von zwei Zelltypen analysiert werden. Die Antworten auf die Original Gesänge ließen sich bei dem aufsteigenden Interneuron AN3 zu über 90% korrekt zuordnen, für das AN12 ergab sich sogar bei allen Vertretern eine korrekte Zuordnung von 100% (Abb. 7.8 A). Um die maximale Unterscheidbarkeit zu erreichen, mussten für die Vertreter des AN3 Zeitfenster von 600 bis  $> 1000$  ms ausgewertet werden, beim AN12 übereinstimmend lediglich Zeitfenster von 500 ms. Bemerkenswert ist für das AN12, dass für eine perfekte Unterscheidbarkeit nur  $\sim 20$  Spikes einbezogen werden mussten. Um eine ähnliche Leistung zu erzielen, waren beim AN3 dagegen  $\sim 40$  Spikes notwendig (Abb. 7.8 A, unten). Von den Original zu den Reskalierten Gesängen zeigte sich sowohl für die Vertreter des AN3 als auch des AN12 eine Abnahme der Unterscheidbarkeit (Abb. 7.8 D). Beim AN3 fiel diese allerdings deutlich geringer aus ( $\Delta$ : 10 - 14%) als beim AN12 ( $\Delta$ : 23 - 50%). Im Gegensatz zu den Original Gesängen erreichten diese Vertreter des AN3 bei den Reskalierten Gesängen nicht nur insgesamt eine höhere Unterscheidbarkeit, sondern auch bei einer gleichen Anzahl einbezogener Spikes höhere Werte als das AN12. Die Angleichung der Dauern von Silben und Pausen zwischen den acht Gesängen bedingt beim AN12 offenbar einen stärkeren Verlust an Information, die für eine Unterscheidbarkeit genutzt werden kann, als beim AN3.

Betrachten wir nun die Unterscheidbarkeit der Reskalierten Gesänge anhand der Antworten aller auditorischen Interneurone, von denen Daten vorliegen, so fällt zunächst folgendes auf: die lokalen Interneurone erreichten eine nahezu perfekte korrekte Zuordnung der Spiketrains, bei den aufsteigenden Interneuronen fiel diese schlechter aus (Abb. 7.8 D). Zwischen den einzelnen Vertretern der aufsteigenden Interneurone zeigten sich außerdem deutliche Unterschiede. Die höchste Unterscheidbarkeit der Reskalierten Gesänge erzielte das AN11 mit einem Anteil korrekt zugeordneter Spiketrains von 92%, gefolgt vom AN3 mit 77 bis 90% und vom AN12 mit 50 bis 77%. Bei den beiden Vertretern des richtungskodierenden Interneurons AN1 ließen sich nur noch 42% bzw. 52% der Spiketrains korrekt zuordnen, beim

AN14 (16% korrekt) bewegte sich die Unterscheidbarkeit kaum über dem Niveau einer zufälligen Zuordnung. Die Größe des ausgewerteten Zeitfensters, was nötig war, um eine maximale Unterscheidbarkeit zu erzielen, zeigte keine systematischen Unterschiede zwischen den einzelnen Neuronentypen bzw. Verarbeitungsebenen (Abb. 7.8 B, oben). So nahm der Anteil korrekt zugeordneter Spiketrains für die meisten Zellen ab einer Dauer des ausgewerteten Zeitfenster von 700 ms nicht mehr oder nur noch geringfügig zu. Lediglich die Vertreter des AN1, die auch insgesamt eine eher schlechte Unterscheidbarkeit zeigten, erreichten schon bei einem Zeitfenster von etwa 300 ms ein Sättigungsniveau. Zwischen den Anteilen der korrekt zugeordneten Spiketrains der einzelnen Neuronentypen bzw. Verarbeitungsebenen ergaben sich geringere Unterschiede, wenn diese auf der Grundlage einer identischen Anzahl einbezogener Spikes betrachtet wurden (Abb. 7.8 B, unten). Zwei Vertreter lokaler Interneurone (SN4 und TN1) zeigten zwar auch bei dieser Auswertung die höchste Unterscheidbarkeit, für zwei andere Vertreter (TN1 und BGN1) wurden allerdings genauso hohe Werte gemessen, wie für die aufsteigenden Interneurone AN3 und AN11. Innerhalb der aufsteigenden Interneurone ließ sich eine ähnliche, wenn auch stärker überlappende, Verteilung der einzelnen Neuronentypen feststellen wie bei einer Auftragung gegenüber dem ausgewerteten Zeitfenster.

Wie gut lassen sich die Gesänge noch anhand der Spiketrains unterscheiden, wenn nun ausschließlich die Reaktion auf die letzte Sekunde der Gesänge analysiert wird? Innerhalb dieses Bereiches war die mittlere Amplitude der Gesänge nahezu identisch (vgl. 6.1). Abgesehen vom AN11 und einem AN12, zeigte sich für alle aufsteigenden Interneurone eine sehr deutliche Abnahme der maximal erreichten korrekten Zuordnung der Spiketrains (Abb. 7.8 D). Lediglich das AN11 und ein AN3 erreichten für diesen Auswertebereich noch Werte von über 50%, bei allen anderen aufsteigenden Interneuronen konnten nur noch weniger als die Hälfte der Spiketrains korrekt zugeordnet werden. Ab einem ausgewerteten Zeitfenster von 50 ms blieb die Unterscheidbarkeit entweder auf einem konstanten niedrigen Niveau oder stieg nur noch sehr langsam mit der Vergrößerung des ausgewerteten Zeitfensters an (Abb. 7.8 C, oben) Für die lokalen Interneurone ergab sich ein inhomogenes Bild: die



#### D Maximal erreichte korrekte Zuordnung

Zelle	Lokale Interneurone			Aufsteigende Interneurone												
	SN4	TN1	BGN	AN1		AN3					AN11	AN12			AN14	
Nr.		(1)	(2)	(1)	(2)	(1)	(2)	(3)	(4)	(5)		(1)	(2)	(3)		
A: Orig. Gesänge								91	100	99		100	100	100		
B: Resk. Gesänge	100	99	99	98	42	52	86	74	77	90	87	92	77	53	50	16
C: Resk. Gesänge	52	99	100	87	25	44	57	37	22	23	42	87	30	33	48	15

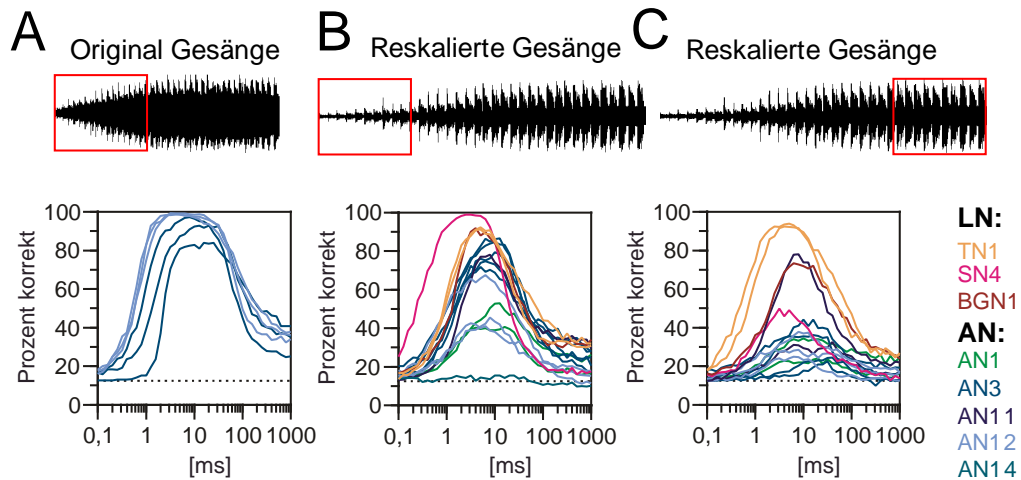
**Abbildung 7.8:** UNTERSCHIEDBARKEIT ALS FUNKTION DER DAUER DES AUSGEWERTETEN ZEITFENSTERS (OBEN) BZW. DER ZAHL DER EINBEZOGENEN SPIKES (UNTEN). In die Auswertung gingen die Antworten auf **A** die erste Sekunde der Original Gesänge ein, **B** die erste Sekunde der Reskalierten Gesänge und **C** die letzte Sekunde der Reskalierten Gesänge. Die gestrichelte Linie gibt das Zufallsniveau der Zuordnung an (12.5%). Die Unterscheidbarkeit wurde bei einem Wert des zeitlichen Auflösungsparameters  $\tau$  von 5 ms getestet. **D** Maximal erreichter Anteil korrekt zugeordneter Spiketrajektorien innerhalb der ausgewerteten Zeitfenster von einer Sekunde. Die Werte ergeben sich aus dem Maximum der Kurven aus **A-C**.

Antworten der beiden Vertretern des TN1 wurde auch hier noch perfekt korrekt zugeordnet, für das BGN1 ergab sich eine Abnahme von 11%, für das SN4 von fast 50%. Letztere Zelle beantwortete die letzte Sekunde der Gesänge mit deutlich weniger Spikes als die erste, welches die Unterscheidbarkeit negativ beeinflussen könnte. Auch die meisten anderen Interneurone zeigten in diesem Bereich eine Reduktion der Spikerate. Auf der Grundlage gleicher Anzahlen einbezogener Spikes zeigte sich allerdings trotzdem noch eine niedrigere korrekte Zuordnung der Antworten auf die letzte Sekunde der Gesänge als auf die erste Sekunde (Abb. 7.8 B und C, unten). Lediglich für das TN1 und das AN11 ergab sich kein Unterschied zwischen den beiden ausgewerteten Bereichen. Diese beiden Neuronentypen erreichten bei einer Betrachtung der Anzahl der einbezogenen Spikes auch gleichzeitig die höchste korrekte Zuordnung. Zwischen den anderen Neuronentypen überlappten die Verteilungen zumeist und zeigen damit keine wesentlichen Unterschiede.

### **Korrekte Zuordnung: Einfluß des zeitlichen Auflösungsparameters**

$\tau$

Der Anteil korrekt zugeordneter Spiketrains der einzelnen Interneurone wurde bei verschiedenen Werten des zeitlichen Auflösungsparameters  $\tau$  bestimmt. Bei einem großen Wert von  $\tau$  wird die metrische Distanz mehr durch Unterschiede in den Spikezahlen bestimmt, bei einem kleinen  $\tau$ -Wert hingegen durch Abweichungen der präzisen Spikezeitpunkte (vgl. 5.2). In Abbildung 7.9 ist die Abhängigkeit der Unterscheidbarkeit von  $\tau$  für die untersuchten Gesangs-Sets bzw. Auswertebereiche aufgetragen. Die Kurven zeigen für alle Zellen einen Optimumsverlauf. Zwischen den einzelnen Neuronentypen und teilweise auch zwischen den Reizbedingungen ließen sich allerdings Unterschiede bezüglich der  $\tau$ -Werte feststellen, bei denen die Unterscheidbarkeit optimal war. In Tabelle 7.2 sind die Grenzwerte des optimalen  $\tau$ -Bereichs,  $\tau_{\min}$  und  $\tau_{\max}$  angegeben. Die Antworten des AN12 auf die Original Gesänge konnten bereits bei  $\tau$ -Werten von 1-2 ms zu 90% korrekt zugeordnet werden, was auf einen sehr niedrigen Jitter der Spikezeitpunkte hindeutet. Die Vertreter des AN3 erreichten erst bei Werten von 2 - 4 ms eine, in Relation zum



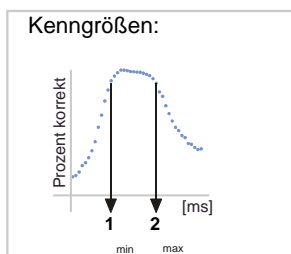
**Abbildung 7.9:** UNTERSCHIEDBARKEIT ALS FUNKTION DES ZEITLICHEN AUFLÖSUNGSPARAMETERS  $\tau$ . In die Auswertung gingen die Antworten auf **A** die erste Sekunde der Original Gesänge ein, **B** die erste Sekunde der Reskalierten Gesänge und **C** die letzte Sekunde der Reskalierten Gesänge. Die gestrichelte Linie gibt den Wert das Zufallsniveau der Zuordnung an (12.5%). Die Auswertung wurde für ein festes Zeitfenster von 500 ms durchgeführt.

Maximum, vergleichbare Unterscheidbarkeit (Abb. 7.9 A). Die Optimumskurven sind für beide Zelltypen relativ breit, welches sich in  $\tau_{\max}$ -Werten von über 28 ms widerspiegelt. Zwischen den beiden Zelltypen ließen sich keine systematischen Unterschiede für den  $\tau$ -Wert feststellen, bei dem die korrekte Zuordnung wieder abfällt. Bei einem Wert des zeitlichen Auflösungsparameters von 1000 ms, d.h. auf der Grundlage einer Bewertung von Spikezahlunterschieden, wurden die Spiketrains mit einem Anteil von 25 - 41% korrekt zugeordnet (Abb. 7.9 A). Gegenüber dem erreichten Maximum (85-99% bei einem ausgewerteten Zeitfenster von 500 ms) zeigte sich damit eine deutliche Abnahme der Unterscheidbarkeit, wenn die Information über die genauen Spikezeitpunkte nicht mit einbezogen wurde.

Von den Original zu den Reskalierten Gesängen verengte sich der Bereich der  $\tau$ -Werte, der eine optimale Unterscheidbarkeit ermöglichte (Tab. 7.2 A und B). So nahm  $\tau_{\min}$  bei den meisten Zellen höhere Werte an und gleichzeitig wurden für  $\tau_{\max}$  deutlich niedrigere Werte gemessen. Im Vergleich zu den Original Gesängen ließen sich die Reskalierten Gesänge des weiteren prak-

A Original Gesänge: Erste Sekunde			C Reskalierte Gesänge: Letzte Sekunde		
Zellen	1: min	2: max	Zellen	1: min	2: max
AN3 (3)	4	46	SN4	2	7
AN3 (4)	2	28	TN1 (1)	2	14
AN3 (5)	4	48	TN1 (2)	1	13
AN12 (1)	1	37	BGN1	4	20
AN12 (2)	2	39	AN1 (1)	-	-
AN12 (3)	1	31	AN1 (2)	4	46
			AN3 (1)	6	26
			AN3 (2)	5	48
			AN3 (3)	-	-
			AN3 (4)	-	-
			AN3 (5)	2	34
			AN11	4	14
			AN12 (1)	-	-
			AN12 (2)	1	52
			AN12 (3)	5	15
			AN14	-	-

- Lokale Neurone  
 Aufsteigende Neurone



**Tabelle 7.2:** OPTIMALE BEREICH DES ZEITLICHEN AUFLÖSUNGSPARAMETERS  $\tau$  FÜR DIE UNTERSCHIEDBARKEIT. Auswertung der Antworten auf **A** die erste Sekunde der Original Gesänge **B** die erste Sekunde der Reskalierten Gesänge und **C** die letzte Sekunde der Reskalierten Gesänge. Die Grenzen des optimalen Bereichs,  $\tau_{\min}$  und  $\tau_{\max}$ , wurden bestimmt, indem die beiden Schnittpunkte 10% unter dem Maximum bestimmt wurden (siehe Darstellung oben). Das Zeitfenster der Auswertung betrug einheitlich 500 ms.

tisch nicht mehr aufgrund von Spikezahldifferenzen unterscheiden (12 - 25% korrekt bei  $\tau = 1000$  ms, Zufallswert: 12,5%). Auch bei allen anderen Interneuronen, von denen Antworten auf die Reskalierten Gesängen vorlagen, betrug der Anteil korrekt zugeordneter Spiketrains bei einem  $\tau$ -Wert von 1000 ms nur maximal 34% (Abb. 7.9 B). Die mittlere Spikerate lieferte damit deutlich weniger Information zur Unterscheidbarkeit aller acht Gesänge als die genauen Spikezeitpunkte. Der Wertebereich des Parameters  $\tau$ , mit dem eine optimale Unterscheidbarkeit erreicht wurde, unterschied sich allerdings teil-

weise zwischen einzelnen Zelltypen und es deuteten sich auch Unterschiede zwischen den Verarbeitungsebenen an. Die lokalen Interneurone erreichten schon eine hohe korrekte Zuordnung bei sehr niedrigen  $\tau$ -Werten von 1-2 ms. Besonders auffällig war diesbezüglich das SN4. Gleichzeitig nahm die Unterscheidbarkeit der Gesänge anhand der Spiketrains auch schon bei  $\tau$ -Werten von 9 - 12 wieder ab (vgl. Tab. 7.2 B). Das einzige aufsteigende Interneuron, mit einer optimalen Unterscheidbarkeit innerhalb eines ähnlichen Bereichs des zeitlichen Auflösungsparameters  $\tau$  wie die lokalen Interneurone, war das AN12. Bei zwei Vertretern dieses Zelltyps betrug  $\tau_{\min}$  ebenfalls 2 ms, bei einem 5 ms und  $\tau_{\max}$  lag zwischen 9 - 13 ms. Die Abweichung zu den anderen aufsteigenden Interneuronen war nicht sehr groß. Trotzdem kann festgehalten werden, dass mit 3 - 7 ms höhere  $\tau_{\min}$ -Werte gemessen wurden und vor allem mit 14 - 27 ms deutlich höhere  $\tau_{\max}$ -Werte. Damit überschneidet sich der Wertebereich des zeitlichen Auflösungsparameters  $\tau$  bei dem die jeweils höchste korrekte Zuordnung erreicht wurde zwischen lokalen und aufsteigenden Interneuronen, zeigte aber, abgesehen vom AN12, eine leichte Verschiebung zu höheren Werten.

Die Unterscheidbarkeit der Reskalierten Gesänge zeigte bei der Mehrzahl der Zellen eine starke Abnahme, wenn die Antworten auf die letzte Sekunde analysiert wurden (vgl. Abb. 7.8). Die Optimumskurven verliefen hier deutlich flacher (Abb. 7.9 C) - ein optimaler Bereich ließ sich damit für einige Zellen nicht mehr feststellen. Bei den einzigen Zellen, für die auch eine Auswertung der letzten Sekunde der Gesänge eine gleichbleibende korrekte Zuordnung ergab, das TN1 und das AN11, blieben auch die dafür notwendigen  $\tau$ -Werte weitgehend identisch. Ebenso zeigte das SN4, trotz einer deutlichen Abnahme der erreichten Unterscheidbarkeit im Vergleich zur Auswertung der Antworten auf die erste Sekunde, weiterhin eine optimale Unterscheidbarkeit bei sehr niedrigen Werten von  $\tau$  (vgl. Tab. 7.2 C). Bei den anderen Zellen verhielten sich die  $\tau_{\min}$ -Werte uneinheitlich: für einige Zellen zeigte sich eine Zunahme von der ersten zur letzten Sekunde, für andere dagegen eine Abnahme. Übereinstimmend wurden hingegen bei allen höhere  $\tau_{\max}$ -Werte von bis zu 52 ms gemessen. Für die Antworten auf die letzte Sekunde der Gesänge nahm der Anteil korrekt zugeordneter Spiketrains bei einem  $\tau$ -Wert von

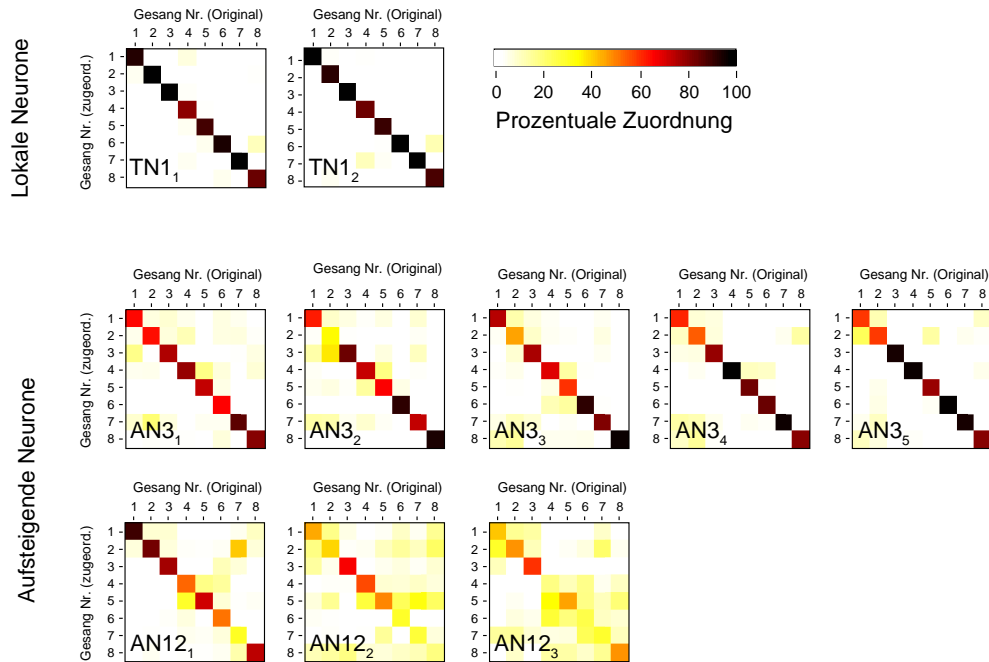


1000 ms weiter ab und betrug nur noch zwischen 12.5% (dem Zufallsniveau) und 26%.

### **Unterscheidbarkeit einzelner Gesänge anhand der Spiketrains**

Nachdem die Unterscheidbarkeit als Mittelwert des Anteils korrekt zugeordneter Spiketrains über alle acht Gesänge betrachtet wurde, stellt sich die Frage wie sich die Zuordnung der Spiketrains zu *einzelnen* Gesängen verhielt. Konkret soll zum einen geklärt werden, welche Gesänge sich aufgrund der neuronalen Antworten besonders gut durch eine hohe korrekte Zuordnung abgrenzen lassen, bzw. zwischen welchen eine Klassifikation Ähnlichkeiten in der neuronalen Repräsentation erkennen lässt. Dabei ist natürlich auch von Interesse, inwieweit sich die Klassifikation zwischen den einzelnen Zelltypen unterscheidet, zumal der mittlere Anteil korrekt zugeordneter Spiketrains häufig sehr ähnlich ausfiel. Diese Fragen wurden anhand der Antworten auf die Reskalierten Gesänge untersucht und zwar nur für Zelltypen, von denen mehrere Vertreter vorlagen: für das lokale Interneuron TN1, sowie die muster-kodierenden aufsteigenden Interneurone AN3 und AN12. In Abbildung 7.10 sind die Klassifikations-Matrizen dieser Zelltypen dargestellt. Die Elemente auf der Hauptdiagonalen geben die jeweiligen Anteile korrekt zugeordneter Spiketrains an, während alle anderen Elemente die Anteile inkorrekt klassifizierter Spiketrains darstellen. Die hohe mittlere korrekte Zuordnung ließ bei den Vertretern des TN1 einen hohen Anteil von korrekt zugeordneten Spiketrains bei fast allen Gesängen erwarten. Tatsächlich ließen sich die Antworten des TN1 für alle Gesänge zu über 80% korrekt zuordnen (Abb. 7.10 A). Für beide Vertreter ergab sich der niedrigste Anteil einer korrekten Zuordnung für die Antworten auf Gesang 4 - für einen Vertreter erfolgte auch eine Zuordnung zu Gesang 1, bei dem anderen eher zu Gesang 7. Übereinstimmend zeigten 11 bzw. 12% der Spiketrains aus Gesang 8 eine große Ähnlichkeit zu den Antworten auf Gesang 6.

Bei dem aufsteigenden Interneuron AN3 ergab sich zwischen den einzelnen Vertretern ein deutlich inhomogeneres Bild (Abb. 7.10 B). Dies betraf sowohl den Bereich, in dem sich die Anteile korrekt zugeordneter Spiketrains



**Abbildung 7.10:** UNTERSCHIEDBARKEIT EINZELNER RESKALIERTER GEÄNGE. Klassifikations-Matrizen des lokalen Interneurons TN1 und der aufsteigenden Interneurone AN3 und AN12. Dargestellt sind die Wahrscheinlichkeiten, mit denen Spiketrains hervorgerufen durch einen Gesang (horizontale Achse) zu einem Template-Spiketrain eines Gesangs (vertikale Achse) zugeordnet wurden. Die Elemente der Hauptdiagonalen geben korrekt klassifizierte Spiketrains an, während alle anderen Elemente inkorrekt klassifizierte Spiketrains darstellen. In die Auswertung ging je nach höherer Spikerate entweder die ersten beantworteten 500ms der Gesänge ein (beim AN3 und AN12) oder die Antworten auf einen Bereich von 500 ms innerhalb der letzten Sekunde der Gesänge (beim TN1). Der Wert des Auflösungsparameter  $\tau$  betrug einheitlich 5 ms.

für die einzelnen Gesängen bewegten (AN3<sub>1</sub>: 64-86% vs. AN3<sub>2</sub>: 34-94%) als auch die jeweiligen Gesänge bei denen die höchsten Werte gemessen wurden. Die Klassifikations-Matrizen des AN3 zeigen aber auch übereinstimmende Muster: der Gesang 2 ließ sich anhand der Antworten stets am schlechtesten unterscheiden. Zu welchen Gesängen die Spiketrains aus Gesang 2 statt dessen zugeordnet wurden, variierte zwischen den Zellen, aber auch innerhalb der Zellen. Auffällig selten fielen diese in die Klassen der Gesänge 4 bis 6. In ähnlicher Weise verhielt sich die Zuordnung der Antworten auf Gesang 1. Dagegen ließen sich die Gesänge 3 bis 8, zwar nicht bei allen Vertretern, aber doch zumeist anhand ihrer Antworten deutlich besser abgrenzen.

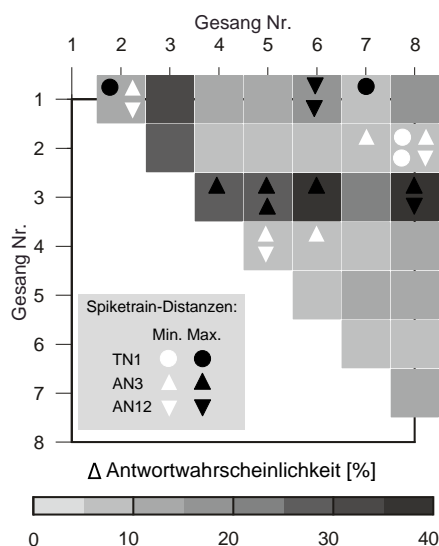
Bei der Betrachtung der Klassifikations-Matrizen des AN12 (Abb. 7.10 C) fällt zunächst der Unterschied der Ergebnisse von AN12<sub>1</sub> gegenüber AN12<sub>2</sub> und AN12<sub>3</sub> auf. Während die Antworten auf Gesang 1 und 2 bei AN12<sub>1</sub> zu über 80% korrekt zugeordnet wurden, erreichten AN12<sub>2</sub> und AN12<sub>3</sub> bei diesen Gesängen nur Anteile korrekt zugeordneter Spiketrains von 40 - 47%. Für letztere fielen Spiketrains des Gesang 1 zu einem Großteil in die Klasse des Gesangs 2 und vice versa, was auf eine Ähnlichkeit in der neuronalen Repräsentation beider Gesänge hindeutet. Der größte Unterschied zu allen anderen Gesängen, in Form einer maximalen korrekten Zuordnung, zeigte sich bei AN12<sub>2</sub> und AN12<sub>3</sub> für die Antworten auf Gesang 3. Auch bei AN12<sub>1</sub> waren die Antworten auf Gesang 3 relativ eindeutig unterscheidbar. Die Antworten auf Gesang 7 erzielten dagegen eine auffällig niedrige korrekte Zuordnung bei allen drei Vertretern - bei einzelnen traf dies auch für die Antworten auf Gesang 6 und 4 bzw. 8 zu. Hier zeigte sich ein wesentlicher Unterschied der Klassifikation der Spiketrains zwischen dem AN12 und dem AN3 : Gerade die Antworten auf diese Gesänge 4, 6, 7 und 8 erreichten beim AN3 eine relativ hohe korrekte Zuordnung, beim AN12 hingegen eine relativ niedrige. Ein gemeinsames Merkmal zwischen beiden Zelltypen bestand in dem relativ hohen Anteil korrekt zugeordneter Spiketrains, die durch Gesang 3 hervorgehoben wurden. Zwar wurde nicht bei allen Vertretern der Zelltypen exakt bei diesem Gesang der Maximalwert gemessen, die Unterscheidbarkeit fiel aber stets relativ hoch aus.

Als nächstes stellt sich die Frage, inwieweit ein Zusammenhang zwischen den Unterschieden in der neuronalen Repräsentation der Gesänge und den Verhaltensreaktionen erkennbar ist. Dabei sei zunächst angemerkt, dass die Verhaltensantworten nur eine Unterscheidbarkeit zwischen zwei Gesängen nahelegen, wenn diese *abweichende* Antwortreaktionen auslösten. Der umgekehrte Fall muß nicht zutreffen: Zwei Gesänge, die in gleicher Weise beantwortet werden, müssen nicht per se als ‚gleich‘wahrgenommen werden. Die neuronale Repräsentation kann auch in diesem Fall sehr unterschiedlich ausfallen, besonders dann, wenn unterschiedliche Merkmale im Resultat eine gleiche Bewertung bedingten (siehe oben).

In Abbildung 7.11 ist die Abstandsmatrix der Verhaltensantworten dargestellt. In diese Matrix wurde eingetragen, zwischen welchen Gesängen die minimalen und die maximalen Spiketrain-Distanzen bei den Vertretern des lokalen Interneurons TN1 und den aufsteigenden Interneuronen AN3 und AN12 auftraten. Betrachten wir zunächst die minimalen Spiketrain-Distanzen, so fällt auf, dass diese stets bei Gesangspaaren gemessen wurden, die in den Verhaltensreaktionen relativ geringe Unterschiede aufwiesen. Korrespondierten auch die maximalen Spiketrain-Distanzen der einzelnen Zelltypen mit großen Unterschieden in den Verhaltensantworten? Für die beiden Vertreter des TN1 traf dies nicht zu, hingegen für alle fünf Vertreter des AN3. Maximale Spiketrain-Distanzen traten hier ausschließlich zwischen Gesängen auf, die auch signifikant abweichende Antwortwahrscheinlichkeiten zeigten (vgl. Abb. 7.3 B). Die Vertreter des AN3 gruppieren sich zwar nicht alle bei demselben Gesangspaar - stets erwies sich aber die Distanz gegenüber den Antworten auf Gesang 3 am größten. Beim AN12 war dies bei einem Vertreter der Fall, während sich bei den beiden anderen die maximalen Distanzen zwischen den Antworten auf Gesang 1 und 6 ergaben. Letztere zeigten in den Verhaltensreaktionen nur geringe Unterschiede.

In den Verhaltensversuche zeigten sich die größte ‚Distanz‘ in der Bewertung der Gesänge zwischen Gesang 3 und Gesang 8. Während ersterer zumeist der unattraktivste Gesang war, erwies sich letzterer für die meisten Weibchen als sehr attraktiv (vgl. Abb. 7.3 A). Nur bei einem AN3 und einem AN12 spiegelt sich auch exakt zwischen den Antworten auf diese Gesänge ein besonders großer Unterschied wieder. Die neuronalen Antworten auf den unattraktiven Gesang 3 erwiesen sich allerdings bei anderen Vertretern dieser Zelltypen als besonders gut unterscheidbar gegenüber den Antworten auf andere Gesänge, die zumeist im Verhalten auch relativ gut beantwortet wurden.

Die Spiketrain-Metrik bestimmt die Distanz zwischen zwei Spiketrains auf der Grundlage des gesamten Spikemusters. Inwieweit bestimmte Merkmale der Antwort in besonderer Weise zur Distanz beitragen bleibt dabei unklar, auch wenn über den Parameter  $\tau$  eine relevante Zeitskala bestimmt wird, in der sich Unterschiede bewegen. Im nächsten Teil werden verschiedene Merkmale des neuronalen Antwortverhaltens untersucht, um der Frage nach neuronalen



**Abbildung 7.11:** MINIMALE UND MAXIMALE SPIKETRAIN-DISTANZEN UND DIFFERENZEN DER ANTWORTWAHRSCHEINLICHKEITEN AUF DIE RESKALIERTEN GESÄNGE. Abstandsmatrix der Verhaltensantworten: Dargestellt wird hier der Median der Differenzen der Antwortwahrscheinlichkeiten zwischen allen getesteten Reskalierten Gesängen. Minimale und maximale mittlere Spiketrain-Distanzen: Die in die Matrix eingetragenen Symbole geben die Gesangspaare an, bei denen die minimalen bzw. die maximalen mittleren Spiketrain-Distanzen bei Vertretern des TN1 bzw. des AN3 und des AN12 gemessen wurden. Die Auswertebereiche und  $\tau$ -Werte entsprechen den Angaben in Abb. 7.10.

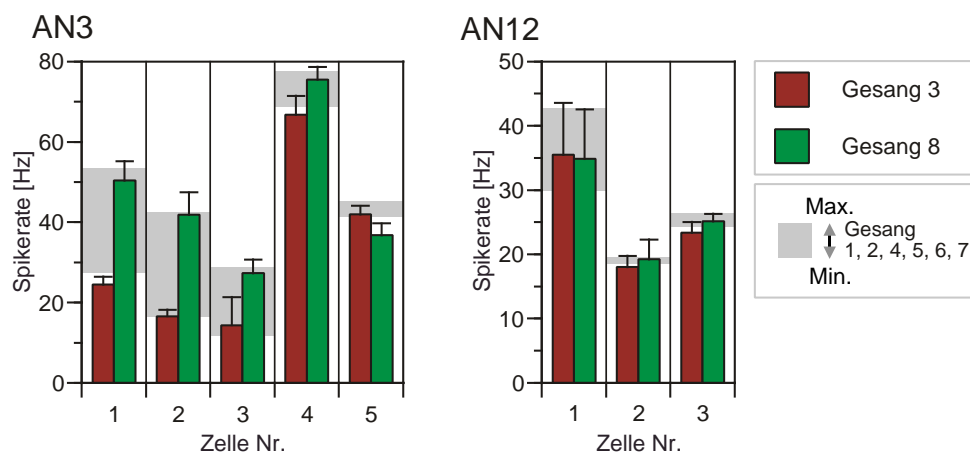
Korrelationen zu der Verhaltensselektivität nachzugehen.

## 7.2.2 Auf der Suche nach neuronalen Korrelaten zu den Verhaltensreaktionen

Verhaltensstudien zeigen, dass die letztendliche ‚Bewertung‘ eines Gesangs erst auf der Ebene des Oberschlundganglions erfolgt (Ronacher et al., 1986; Bauer und Helversen, 1987) - die zugrunde liegende Information sollte allerdings auf allen Ebenen der Hörbahn repräsentiert sein. Schon auf der Ebene der aufsteigenden Interneurone finden sich Zelltypen mit sehr spezifischen Filtereigenschaften (Stumpner et al., 1991). Abgesehen von der wahrscheinlichen Bedeutung des AN4 für die Störpausenerkennung (Stumpner, 1988) und des AN12 bei der Abschätzung des Verhältnisses der Dauern von Silben/Pausen (Creutzig, 2007) ist aber noch weitgehend unklar, welche Zelltypen bei der Musterbewertung von Bedeutung sind, für die offenbar noch deutlich mehr Parameter ausgewertet werden als die beiden genannten. In

der vorliegenden Arbeit kann ein Zusammenhang zwischen der Bewertung der Gesänge und Merkmalen des neuronalen Antwortverhaltens bei *C. bi-guttulus* lediglich für die beiden aufsteigenden Interneurone AN3 und AN12 untersucht werden, von denen mehrere Vertreter vorliegen. Die Analyse bezieht sich auf verschiedene Merkmale des neuronalen Antwortverhaltens auf die Reskalierten Gesänge. Zunächst soll die mittlere Feuerrate der Antworten vergleichend betrachtet werden. Die Spiketrain-Metrik ermöglicht anhand der Zahl der Spikes innerhalb eines großen Zeitfensters eine deutlich geringere Unterscheidbarkeit aller acht Gesänge als bei einer Auswertung des zeitlichen Auftretens der Spikes (vgl. Abb. 7.9). Allerdings wird im Fall einer klar abweichenden Feuerrate nur *eines* (unattraktiven) Gesangs, bei einem  $\tau$ -Wert, der diese als Kriterium der Unterscheidbarkeit aller acht Gesänge festlegt, trotzdem nur eine relativ geringe korrekte Zuordnung erreicht.

In Abbildung 7.12 ist die mittlere Feuerrate der Antworten auf den unattraktiven Gesang 3 und den attraktiven Gesang 8 dargestellt. Der Bereich in dem sich die Mittelwerte dieses Merkmals für alle anderen Gesänge bewegten wurde grau unterlegt. Bei vier der fünf Vertreter des AN3 zeigte sich

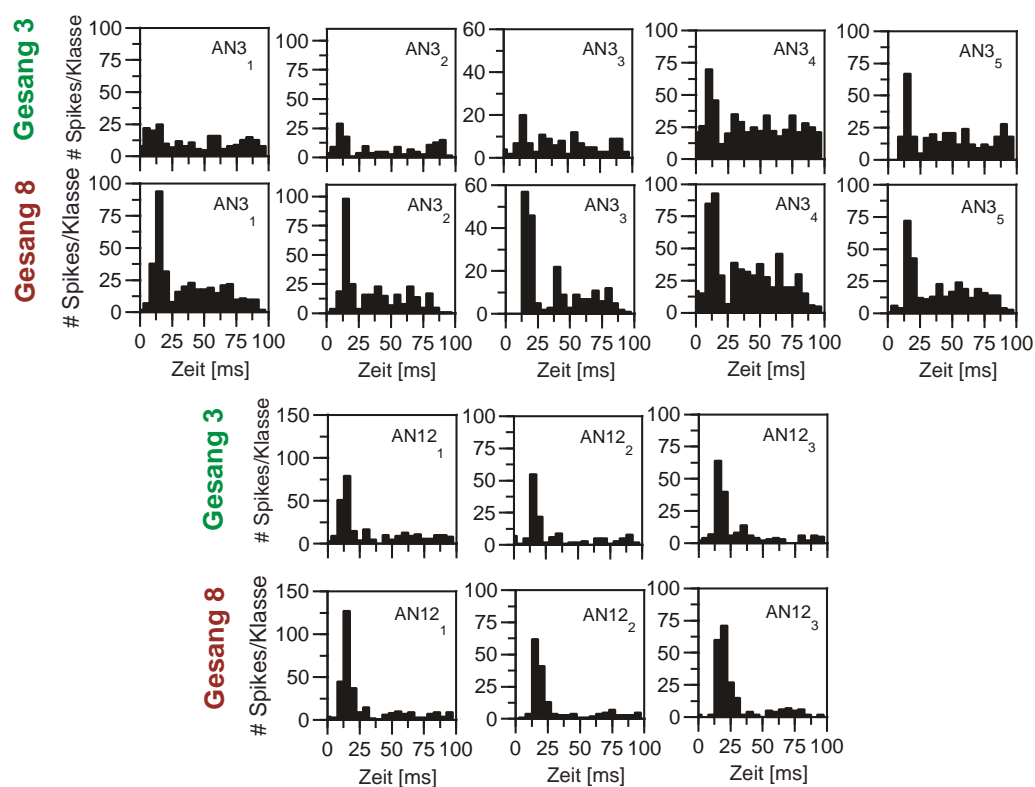


**Abbildung 7.12:** MERKMALE DES NEURONALER ANTWORTVERHALTENS AUF EINEN UNATTRAKTIVEN UND EINEN ATTRAKTIVEN GESANG: MITTLERE SPIKERATE. Mittlere Spikerate der Antworten auf den unattraktiven Gesangs Nr. 3 und den attraktiven Gesangs Nr. 8 gemessen bei Vertretern des AN3 (links) und des AN12 (rechts). Der Bereich, in dem sich die mittleren Spikeraten aller anderen getesteten Gesänge bewegten, wurde grau unterlegt. In die Auswertung ging die erste beantwortete Sekunde aller acht jeweiligen Antworten ein (vgl. 7.2.1 und Material & Methoden).

eine niedrigere Feuerrate für den unattraktiven als für den attraktiveren Gesang, bei einem Vertreter war dies umkehrt. Letztere Zelle reagierte sogar im Vergleich zu allen Gesängen auf den attraktiven Gesang Nr. 8 mit der geringsten Zahl an Spikes im Vergleich zu allen anderen Gesangsantworten. Dagegen lag der Mittelwert für diesen Gesang bei den anderen vier Vertretern im oberen Bereich der Verteilung und wichtiger, der Mittelwert für den Gesang 3 mehrheitlich am unteren Ende der Verteilung. Beim AN12 fallen zunächst die sehr geringen Unterschiede zwischen den mittleren Spikeraten jeweils aller acht Gesänge auf. Bei dem einzigen Vertreter mit insgesamt größeren Abweichungen, zeigten sich für den unattraktiven und der attraktiven Gesang keine Unterschiede. Beide lagen außerdem in der Mitte der Verteilung. Insgesamt scheint die über ein langes Zeitfenster gemittelte Spikerate des AN12 zumindest für die vergleichsweise geringe Attraktivität des Reskalierten Gesangs Nr. 3 wohl kaum ausschlaggebend zu sein. Für das AN3 kann dies nicht ausgeschlossen werden.

Die Umhüllende des Gesangs 3 zeigte ein besonders auffälliges Merkmal: relativ stark ausgeprägte ‚Lücken‘ innerhalb der Silben (vgl. Abb. 7.6). Eingefügte kurze Pausen innerhalb einer Rauschsilbe bedingen eine deutliche Reaktionsänderung, in Form einer starken Unterdrückung der Antwort bei einem anderen aufsteigenden Interneuron, dem AN4. Dieser Zelltyp wurde zwar bei *C. biguttulus* nicht abgeleitet, aber bei *L. migratoria* lassen sich für die gleich benannte Zelle auch vergleichbare Filtereigenschaften beobachten. Beim AN4 ist die Stärke der Reduktion der Spikerate einerseits abhängig von der Dauer der Störpausen, andererseits aber auch von deren Modulationstiefe, wie eine Variation dieser bei SAM-Stimuli zeigte (vgl. Abb. 4.9 E). Die Dauer der Störpausen lag innerhalb des Filterbereichs, kritisch war, ob die Tiefe ausreichte, um eine Reaktionsänderung beim AN4 zu bedingen. In Abbildung 6.25 wurde bereits die mittlere Spikerate der Antworten auf die acht Gesänge, sowie zwei Gesänge einbeinig singender Männchen und ein Weibchen gezeigt. Bei letzteren ließ sich, gegenüber der Reizung mit den Gesängen der acht intakten Männchen, eine drastische Reduktion der Spikerate beobachten. Von den acht Gesängen intakter Männchen, löste der Gesang 3 tatsächlich am wenigsten Spikes aus. Die Spikerate war allerdings immer

noch mehr als doppelt so hoch, wie bei den Antworten auf die einbeinig singenden Männchen. Ein anderer Vertreter des AN4 reagierte ebenfalls auf den unattraktivsten Gesang mit den wenigsten Spikes, wohingegen bei einem dritten AN4 die Spikerate der Antworten auf den Gesang 3 in der Mitte der Verteilung rangierte. An dieser Stelle sei aber nochmals darauf hingewiesen, dass der Gesang 3 nicht völlig von den Weibchen abgelehnt wurde. Der Median der Antwortwahrscheinlichkeit lag immerhin noch bei etwa 50% und zwei der 15 getesteten Weibchen beantworteten diesen Gesang in 80% der Darbietungen (Abb.7.2 B). Inwieweit die mittlere Spikerate des AN4 die Bewertung des Gesangs 3 bestimmte, kann also nicht abschließend beantwortet werden. Die Resultate mit der Spiketrain-Metrik wiesen darauf hin,

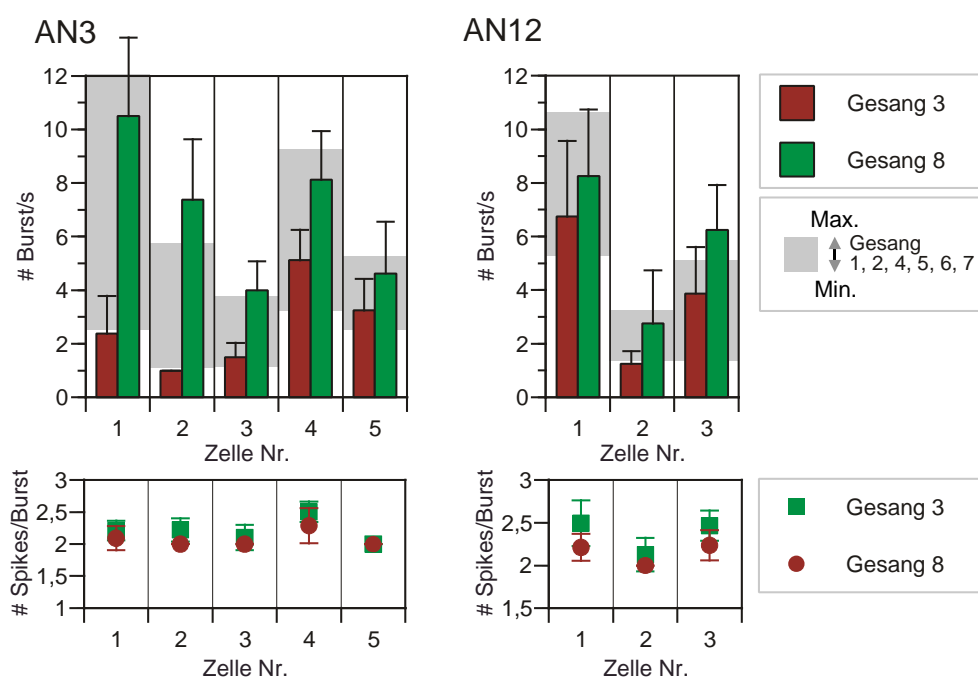


**Abbildung 7.13:** MERKMALE DES NEURONALER ANTWORTVERHALTENS AUF EINEN UNATTRAKTIVEN UND EINEN ATTRAKTIVEN GESANG: DIE ZEITLICHE VERTEILUNG DER SPIKES. Periodenhistogramme der Vertreter des AN3 (oben) und des AN12 (unten) berechnet aus den Antworten auf Gesang 3 und Gesang 8. Die Spikelisten wurden in Zeitfenster der Dauer einer Periode (100 ms: Silbe + Pause) zerlegt und die erstellten PST-Histogramme über alle Silben aufsummiert. Die Klassenbreite betrug 5 ms.



dass die momentanen Spikeraten auf die einzelnen Gesänge stärker abwichen als die über ein lange Zeitfenster gemittelten Spikeraten. Um das zeitliche Auftreten der Spikes zu veranschaulichen, wurden Periodenhistogramme erstellt, d.h. PST-Histogramme für Zeitfenster von 100 ms (eine Silbe und eine Pause) berechnet und aufsummiert (Abb. 7.13). Der unattraktive Gesang 3 löste, besonders beim AN3, deutlich weniger Spikes zu Beginn der Silbe aus, als der attraktive Gesang 8. Diese ‚Onset‘-Reaktion fiel nicht nur absolut betrachtet auf Gesang 3 schwächer aus, sondern auch relativ im Verhältnis zur Reaktion auf den Rest der Silbe. Das Antwortverhalten des AN3 ist durch phasisch-tonische Entladungen gekennzeichnet, das AN12 durch eine sehr ausgeprägte phasische Reaktionen. Für letztere Zelle wurde die Bedeutung von ‚Bursts‘, d.h. schnellen isolierter Spikefolgen, bei der Kodierung des Silben-Pausen Musters gezeigt (Creutzig, 2007). Ein Burst lässt sich als ein einheitliches ‚Event‘ betrachten, dessen zeitliche Feinstruktur kann aber auch zusätzliche Information tragen, wie im Fall des AN12. Bei dieser Zelle hängt die Zahl der Spikes im Burst linear von der vorangehenden Pausendauer des Stimulus ab. Andere verhaltensrelevante Merkmalsparameter des Stimulus, wie etwa der Onset-Level, scheinen ebenfalls einen Einfluss auf das Auftreten und die zeitliche Struktur von Bursts zu haben. Eine Untersuchung des Antwortverhaltens des AN12 mit künstlichen Stimuli, die eine systematische unabhängige Änderung von verschiedenen Merkmalsparametern erlauben, steht noch aus. Ebenso ist die Bedeutung von Bursts in der Informationskodierung anderer auditorischer Interneuronen der Heuschrecken unklar. In Abb. 7.14 wurde dargestellt, wieviele Bursts in den Antworten auf den unattraktiven Gesang 3 und den attraktiven Gesang 8 auftraten (Definition von Burst siehe Legende Abb. 7.14). Gleichzeitig wird wiederum die Verteilung dieses Antwortmerkmals für alle anderen Gesänge gezeigt. Sowohl die Vertreter des AN3 als auch des AN12 reagierten auf den unattraktiven Gesang mit einer geringeren Anzahl an Bursts pro Sekunde als auf den attraktiven Gesang. Angemerkt sei, dass dies auch für Zellen galt, deren mittlere Spikerate (vgl. Abb. 7.12) auf beide Gesängen gleich war (AN12<sub>1</sub>) oder sich sogar umgekehrt verhielt (AN3<sub>5</sub>), auch wenn das Signifikanzniveau bei diesen beiden Zellen nicht erreicht wurde. Bei vier der acht Zellen traten in den Antworten

auf den unattraktiven Gesang 3 am wenigsten Bursts von allen getesteten Gesängen auf. Bei den anderen Zellen lagen die Mittelwerte dieses Gesangs in der Mitte oder im unteren Bereich der Verteilung. Der attraktive Gesang 8 löste bei drei Zellen am meisten Bursts aus, bei den anderen lag der Wert für diesen Gesang in der oberen Hälfte der Verteilung. Zwischen dem AN3 und dem AN12 zeigten sich diesbezüglich keine systematischen Unterschiede. Der Unterschied wird durch die Zahl der Spikes im Burst beim AN3 nicht

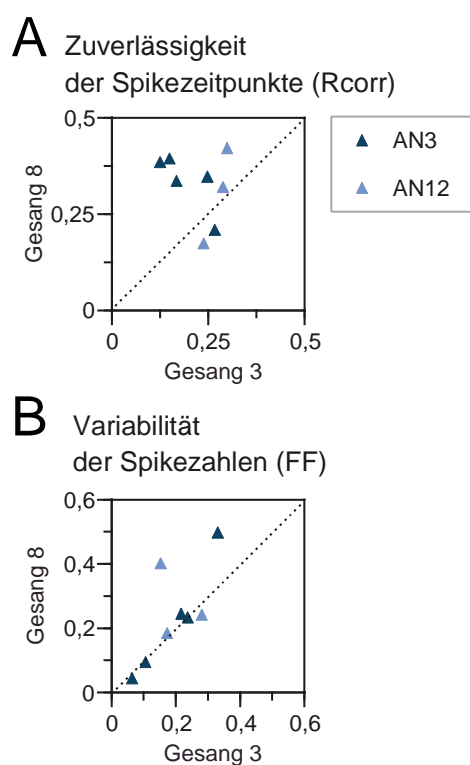


**Abbildung 7.14:** MERKMALE DES NEURONALER ANTWORTVERHALTENS AUF EINEN UNATTRAKTIVEN UND EINEN ATTRAKTIVEN GESANG: BURSTS. Mittlere Zahl der Bursts pro Sekunde (oben) in den Antworten auf Gesang Nr. 3 und Nr. 8. Das grau unterlegte Feld gibt die Verteilung dieses Merkmals bei den anderen Gesängen an. Unten dargestellt ist die mittlere Zahl der Spikes pro Burst der jeweiligen Antworten. Eine Spikefolge wurde als ‚Burst‘ definiert, wenn die Interspike-Intervalle unterhalb eines bestimmten Grenzwertes lagen. Dieser hing von den Interspike-Intervall Verteilungen jeder Zelle ab und ergab sich aus dem ISI-Wert des ersten Peaks der Verteilung + 2 ms. Für alle Vertreter des AN3 resultierte daraus ein ISI-Grenzwert von 5 ms, für das AN12 von 4, 6 bzw. 5 ms. In die Auswertung ging die erste beantwortete Sekunde aller acht jeweiligen Antworten ein (vgl. 7.2.1 und Material & Methoden)

verstärkt, da diese identisch war. Beim AN12 traten beim Gesang 3 im Mittel etwas weniger Spikes pro Burst auf im Vergleich zum Gesang 8, was den

Unterschied bei einer Einbeziehung dieses Merkmals verstärkt.

Abschließend soll das Antwortverhalten der Interneurone unter der Hypothese einer höheren Antwortvariabilität auf einen unattraktiven Gesang gegenüber einem attraktiven, betrachtet werden. Dazu wurde zunächst die Koinzidenz der Spikezeiten zwischen den Antworten bei wiederholter Reizung eines jeweiligen Gesangs mit dem Korrelationsmaß von Schreiber et al. (2003) untersucht (vgl. 6.2.3). Der freie Parameter  $\sigma_c$  betrug bei der Analyse einheitlich 1 ms, so dass die gemessene Zuverlässigkeit ( $R_{\text{corr}}$ ) vor allem negativ durch das Ausmaß des Jitters der Spikezeitpunkte bestimmt wird. Von den acht getesteten Zellen zeigten sechs eine geringere Zuverlässigkeit in den Antworten auf den unattraktiven Gesang 3. Bei zwei Zellen erreichte dieser Gesang ein höheren Wert als Gesang 8.



**Abbildung 7.15:** VERGLEICH DER ANTWORTVARIABILITÄT ZWEIER UNTERSCHIEDLICH BEWERTETER GESÄNGE. **A** Zuverlässigkeit der Spikezeitpunkte: Die Koinzidenz der Spikezeiten ( $R_{\text{corr}}$ ) der Antworten auf den unattraktiven Gesangs 3 gegenüber Gesang 8. Der Parameter  $\sigma_c$  betrug einheitlich 1 ms. **B** Spikezahlvariabilität: Foanofaktor der Antworten auf den unattraktiven Gesangs 3 gegenüber Gesang 8. Der Mittelwert und die Varianz der Spikerate wurden in Zeitfenstern einer Dauer von 100 ms bestimmt und als Mittelwert aufgetragen.

Auch wenn also ein Trend in Form einer geringeren Zuverlässigkeit der Repräsentation des unattraktiven Gesangs zu erkennen ist, konnte dieser sta-

tistisch nicht gesichert werden (Wilcoxon-Paardifferenzen-Test ( $R_{\text{corr}}$  Gesang 3 vs. Gesang 8):  $p = 0.069$ ). Die Änderung der Zuverlässigkeit kovarierte mit der Änderung der mittleren Spikerate ( $\Delta$  Spikerate vs.  $\Delta R_{\text{corr}}$ ,  $r_s = 0.71$ ,  $p < 0.05$ ).

Neben der Koinzidenz der Spikezeiten wurde die Variabilität der Spikezahlen anhand des Fanofaktors untersucht. Für die Mehrzahl der Zellen zeigte sich kein Unterschied zwischen dem Fanofaktor der Antworten auf den unattraktiven gegenüber dem attraktiven Gesang (Abb. 7.15 B). Lediglich zwei Zellen wichen deutlich von der Winkelhalbierenden ab - allerdings in der Weise, dass der Fanofaktor nicht für den unattraktiven Gesang, sondern für den attraktiven Gesang höher ausfiel. Ein Abhängigkeit des Fanofaktors von der mittleren Spikerate ließ sich nicht erkennen.

Damit kann festgehalten werden, dass sich zumindest für die beiden betrachteten Zelltypen kein Zusammenhang zwischen dem Ausmaß der Attraktivität der Gesänge und der Spikezahl-Variabilität der neuronalen Antworten feststellen lässt.

### 7.3 Vergleich der neuronalen Kodierung bei homologen auditorischen Interneuronen

In der vorliegenden Arbeit wurden auditorische Interneurone bei *C. biguttulus* und bei *L. migratoria* untersucht, die aufgrund ihrer hohen Ähnlichkeit in der Morphologie und ihren vergleichbaren physiologischen Eigenschaften homologisiert wurden (Römer et al., 1988; Stumpner, 1988; Stumpner und Ronacher, 1991). Die physiologische Ähnlichkeit mag verwunderlich erscheinen, als die akustische Kommunikation dieser beiden Arten unabhängig voneinander evoluierte und sie auch phylogenetisch nicht eng miteinander verwandt sind (*C. biguttulus* gehört zu den *Gomphocerinea*, *L. migratoria* zu den *Locustinae*). Neben der langen Separation beider Arten sind weitreichende Übereinstimmungen der auditorischen Systeme aber vor allem vor einem anderen Hintergrund erstaunlich - der völlig unterschiedlichen Bedeutung akustischer Signale für beide Arten. Für *C. biguttulus* ist eine spezifische Lauterzeugung

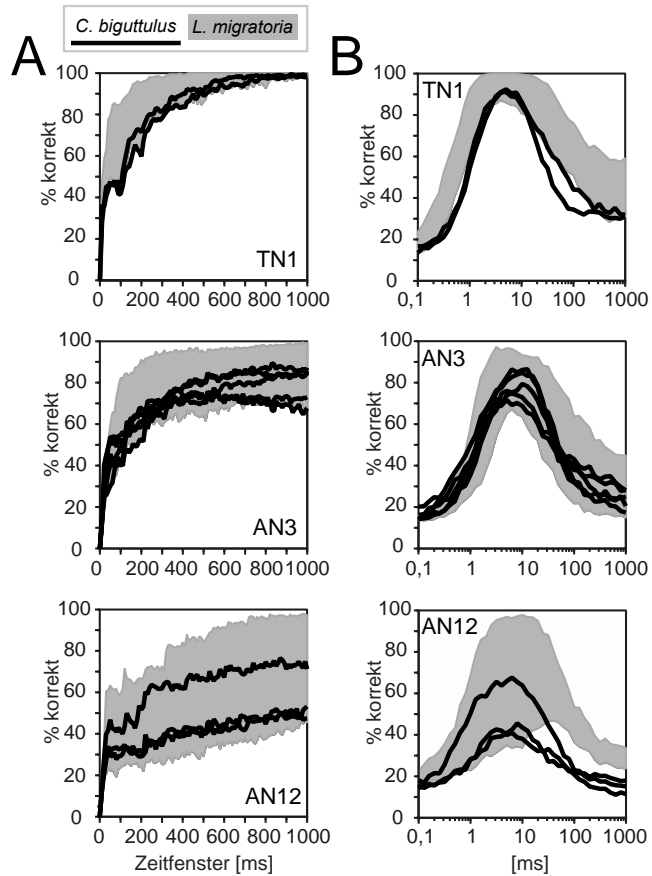
und -erkennung hoch relevant, da sie der Partnerfindung dient und gleichzeitig eine wesentliche Barriere gegen eine Hybridisierung darstellt. Eine korrekte Erkennung und Klassifikation akustischer Signale unterliegt daher bei *C. biguttulus* einem fortwährenden starkem Selektionsdruck - für *L. migratoria* scheint die akustische Kommunikation dagegen weitgehend irrelevant zu sein.

Nach der ‚efficient coding hypothesis‘ von Barlow (1961) sind Anpassungen, an die für jeweils eine Art *relevantesten* Stimuli, bereits in der Peripherie zu erwarten. Der folgende Teil besteht daher in einem Vergleich der Unterscheidbarkeit der Gesänge anhand der Spikeantworten, die für *C. biguttulus* von wesentlicher und für *L. migratoria* von keiner Bedeutung ist. Um Unterschiede zwischen den Arten quantitativ zu erfassen, werden abschließend die intraspezifischen Spiketrain-Distanzen einzelner Vertreter eines Zelltyps und die interspezifischen Spiketrain-Distanzen zwischen mutmaßlich homologen Zelltypen vergleichend betrachtet.

### 7.3.1 Vergleich der Unterscheidbarkeit der Gesänge zwischen *C. biguttulus* und *L. migratoria*

Wesentliche Kenngrößen der Unterscheidbarkeit anhand der Spiketrains bestehen in dem Anteil einer korrekten Zuordnung, wie dieser von der Dauer des ausgewerteten Zeitfensters abhängt und bei welchem Wertebereich des zeitlichen Auflösungsparameters  $\tau$  eine optimale Unterscheidbarkeit erreicht wird. In Abbildung 7.16 wird die Unterscheidbarkeit als Funktion des ausgewerteten Zeitfensters und des zeitlichen Auflösungsparameters  $\tau$  gezeigt. Die Linien geben den Verlauf der Funktionen des TN1, AN3 und AN12 von *C. biguttulus* wieder. Der Bereich, in dem sich diese bei den mutmaßlich homologen Zellen von *L. migratoria* bewegten, wurde grau unterlegt. Für alle drei Zelltypen überlappen die Funktionen der Zellen von *C. biguttulus* mit den jeweiligen Vertretern von *L. migratoria*. Lediglich beim AN12 zeigt sich bei *C. biguttulus* im Bereich hoher  $\tau$ -Werte ein früherer und stärkerer Abfall der Optimumskurven. Beim TN1 fällt auf, dass sowohl der Anteil der korrekten Zuordnung als auch der optimale  $\tau$ -Bereich am unteren Rand der Verteilung

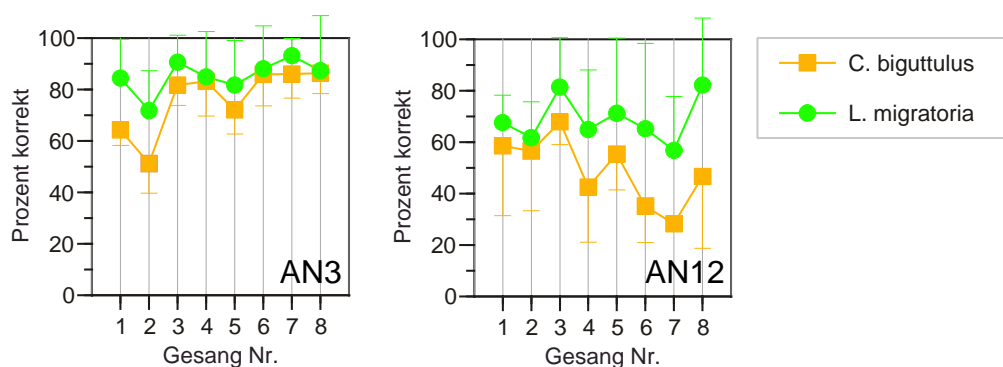
**Abbildung 7.16:** UNTERSCHIEDBARKEIT BEI *C. biguttulus* UND *L. migratoria*. Die Linien geben den Anteil korrekt zugeordneter Spiketrains einzelner Zellen von *C. biguttulus* an. Von oben nach unten: Lokales Interneuron TN1, aufsteigende Interneurone AN3 und AN12. Für die jeweils als homolog erachteten Zelltypen von *L. migratoria* wird die Lage der Funktionen als grauer Bereich dargestellt. **A** Anteil korrekt zugeordneter Spiketrains als Funktion der Länge des ausgewerteten Zeitfensters.  $\tau = 5$  ms. **B** Anteil korrekt zugeordneter Spiketrains als Funktion des zeitlichen Auflösungsparameters  $\tau$ . Zeitfenster = 500 ms. *C. biguttulus*: TN1 (N=2), AN3 (N=5), AN12 (N=3). *L. migratoria*: TN1 (N=12), AN3 (N=5), AN12 (N=5).



der Zellen von *L. migratoria* liegt. Dies dürfte vor allem auf die im Mittel höheren Spikeraten bei *L. migratoria* zurückzuführen sein. Die Gesänge wurden bei beiden Arten mit identischen Intensitäten vorgespielt. *L. migratoria* zeigt aufgrund vergleichsweise größerer Tympana eine höhere Empfindlichkeit, was sich auch auf nachgeschaltete Zellen auswirken dürfte. Auf eine Auswahl homologer Zellen mit im Mittel ähnlichen Spikeraten wurde hier zugunsten eines größeren Datensatzes verzichtet.

Abbildung 7.16 zeigt den mittleren Anteil korrekt zugeordneter Spiketrains über alle acht Gesänge. Weitaus kritischer, vor dem Hintergrund der unterschiedlichen Relevanz der getesteten Stimuli bei den beiden Arten, ist die Klassifikation einzelner Gesänge. Das TN1 erreichte bereits bei einem Zeitfenster von etwa 500 ms eine nahezu perfekte Unterscheidbarkeit aller acht Gesänge (vgl. Abb. 7.10 A). Anders war die Situation beim AN3 und

beim AN12. Der Anteil korrekt zugeordneter Spiketrains variiert zwischen den Gesängen teilweise beträchtlich (vgl. Abb. 7.10 B und C). Die Frage lautet nun, ob dieser für mutmaßlich homologe Zellen beider Arten in gleicher Weise variiert. Um dies zu prüfen, wurde der Anteil korrekt zugeordneter Spiketrains der einzelnen Gesänge vergleichend aufgetragen (Abb. 7.17). Abgesehen von der häufig höheren korrekten Zuordnung der Spiketrains bei



**Abbildung 7.17:** VERGLEICH DER KORREKTEN ZUORDNUNG ZU EINZELNEN GESÄNGEN: *C. biguttulus* vs. *L. migratoria*. Mittlerer Anteil korrekt zugeordneter Spiketrains bei den einzelnen Gesängen beim AN3 (links) und beim AN12 (rechts) für Zellen von *C. biguttulus* und *L. migratoria*.

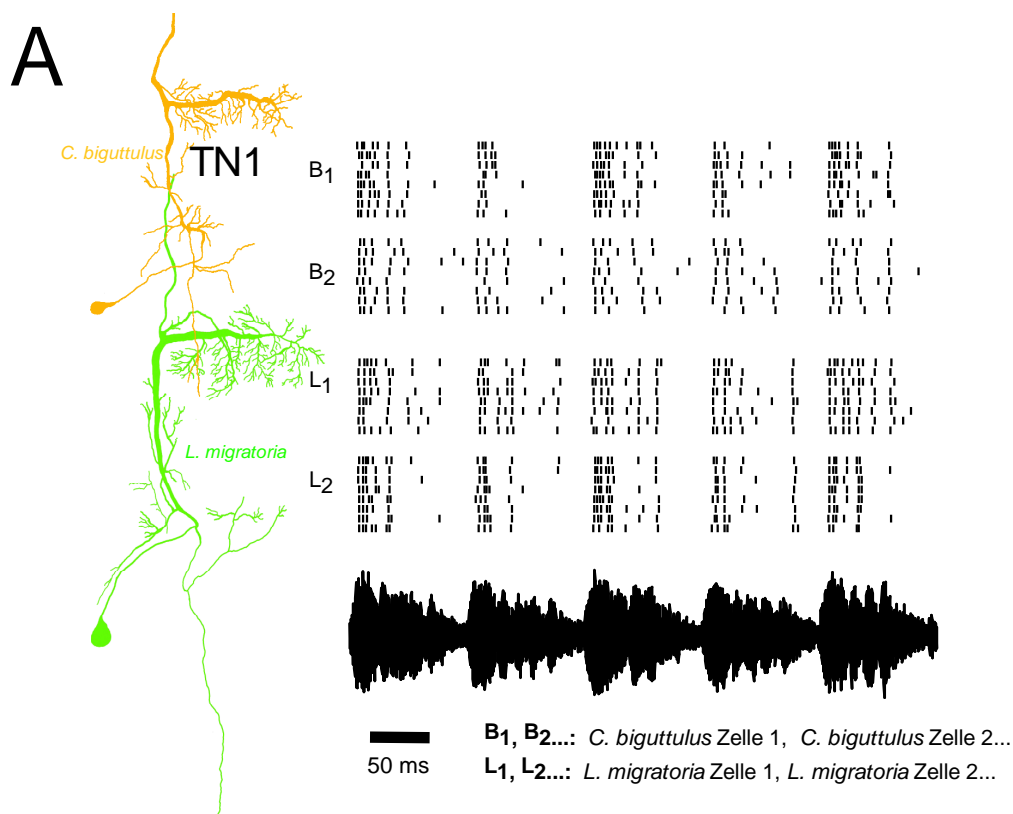
*C. biguttulus*: AN3 (N=5), AN12 (N=3). *L. migratoria*: AN3 (N=5), AN12 (N=5).

*L. migratoria*, welche im wesentlichen aus den höheren Spikeraten resultieren dürfte (siehe oben) zeigt sich eine verblüffende Ähnlichkeit in der Klassifikation einzelner Gesänge bei den homologer Zelltypen den beider Arten: Die Anteile korrekt zugeordneter Spiketrains einzelner Gesänge stimmten weitgehend überein.

### 7.3.2 Intraspezifische und Interspezifische Spiketrain-Distanzen

Der Vergleich der Unterscheidbarkeit der Gesänge anhand der Spiketrain-Distanzen deutet auf eine hohe Übereinstimmung in der neuronalen Kodierung der als homolog erachteten Zelltypen von *C. biguttulus* und *L. migratoria* hin. Qualitativ wird die Ähnlichkeit des Antwortverhaltens auch durch einen einfachen Vergleich der Spikemuster für das TN1, AN3 und das AN12

sichtbar (Abb. 7.18). So ließen sich wesentliche Antwortcharakteristika wie etwa die tonische Reaktion des TN1, die phasisch-tonische des AN3 und die

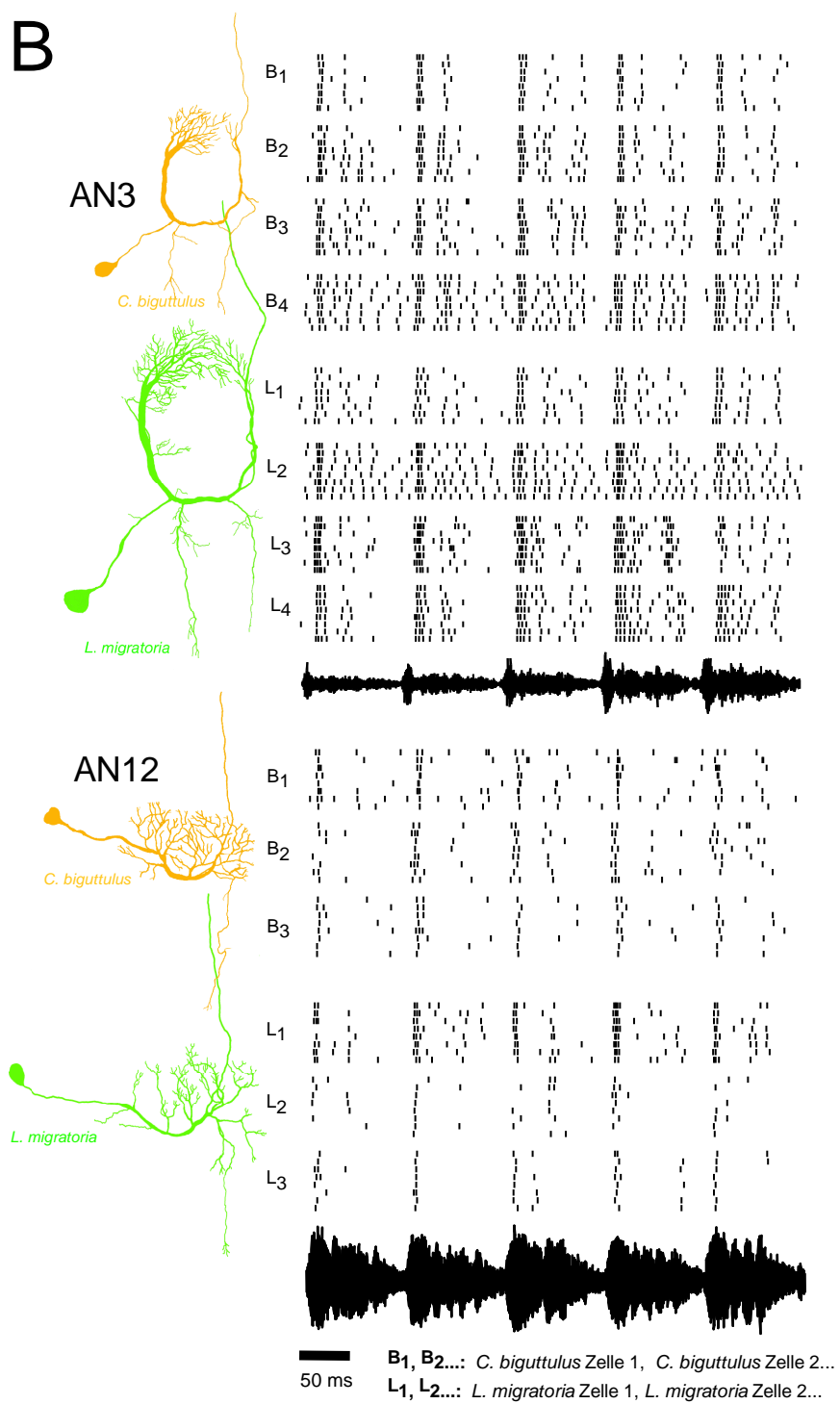


**Abbildung 7.18:** MORPHOLOGIE UND SPIKEANTWORTEN HOMOLOGER NEURONE BEI *C. biguttulus* UND *L. migratoria*. **A** Lokales Interneuron TN1. **B, nächste Seite:** Aufsteigende Interneurone AN3 (oben) und AN12 (unten). Dargestellt sind die Antworten auf wiederholte Präsentation eines der Gesänge (Ausschnitt von 500 ms).

sehr phasische Reaktion des AN12 in den Antworten auf die Gesänge bei beiden Arten erkennen.

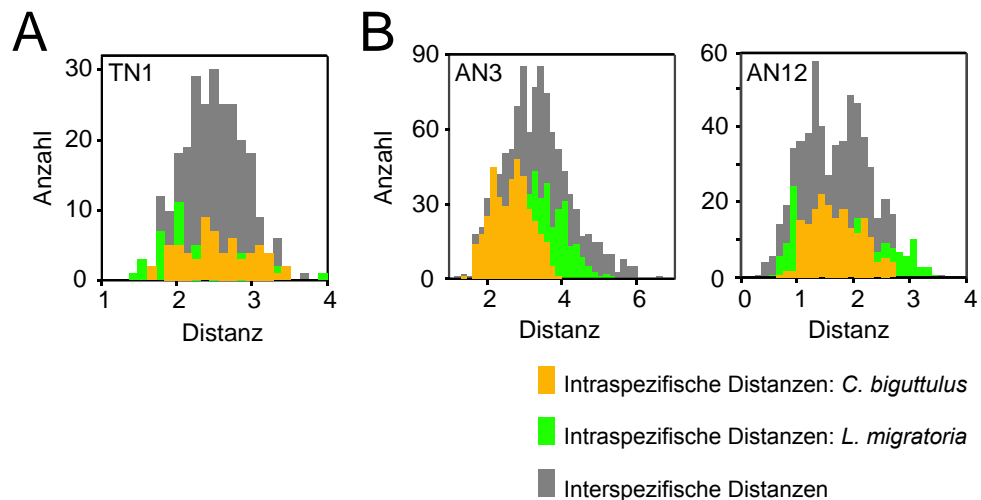
Es stellt sich die Frage, ob innerhalb einer Art gleich große Abweichungen in der neuronalen Kodierung bei Vertretern eines Zelltyps auftreten wie zwischen mutmaßlich homologen Zellen beider Arten. Um dies zu prüfen, wurden die metrischen Distanzen zwischen allen Spiketrain-Distanzen für einen Zelltyp bei *C. biguttulus* und bei *L. migratoria* bestimmt als auch die interspezifischen Spiketrain-Distanzen, also die Unterschiede zwischen den Arten. Der zeitliche Auflösungsparameter  $\tau$  der Analyse betrug





Fortsetzung Abb. 7.18. Legende siehe vorherige Seite.

einheitlich 5 ms - damit werden hier also vor allem Unterschiede im zeitlichen Auftreten der Spikes gewertet. In Abbildung 7.19 sind die beiden intraspezifischen und die interspezifische Distanzverteilung für das TN1, das AN3 und das AN12 dargestellt.



**Abbildung 7.19:** HÄUFIGKEITSVERTEILUNGEN DER INTRASPEZIFISCHEN DISTANZEN ZWISCHEN DEN EINZELNEN ZELLEN BEI *C. biguttulus* BZW. *L. migratoria* UND HÄUFIGKEITSVERTEILUNG DER INTERSPEZIFISCHEN SPIKETRAIN-DISTANZEN. **A** Lokales Interneuron TN1. **B** Aufsteigende Interneurone AN3 und AN12. Die Zahlenwerte in den Histogrammen geben die Mittelwerte  $\pm$  Standardabweichungen der einzelnen Verteilungen an. In die Berechnung der Distanzen gingen die in Abb. 7.18 gezeigten Spiketrains ein. (Zeitfenster = 500 ms;  $\tau = 5$  ms.)

Zwei Ergebnisse werden hier deutlich: Erstens, die intraspezifischen Distanzverteilungen von *C. biguttulus* und *L. migratoria* überlappten stark, was auf eine vergleichbare interindividuelle Variabilität eines Zelltyp bei beiden Arten hindeutet. Zweitens und hier weitaus wichtiger, die Verteilung der interspezifischen Distanzen umfasste die beiden intraspezifischen Verteilungen.

Dies galt für alle drei untersuchten Zelltypen. Damit bestätigte auch diese Auswertung eine hohe Übereinstimmung in der neuronalen Kodierung dieser homologen Zelltypen von *C. biguttulus* und *L. migratoria*.

## Zusammenfassung

Auch bei *C. biguttulus* erreichten die aufsteigenden Interneurone eine signifikant schlechtere Unterscheidbarkeit der Gesänge als die lokalen Interneurone. Die korrekte Zuordnung zu den *einzelnen* Gesängen zeigte trotz einer recht hohen interindividuellen Variabilität zwischen den aufsteigenden Interneuronen AN3 und AN12 spezifische Unterschiede. Übereinstimmend war für beide Zelltypen, dass sich die Antworten auf den im Verhalten am schlechtesten beantworteten Gesang relativ gut abgrenzten. Eine vergleichende Betrachtung der Antworten auf den attraktivsten und den unattraktivsten Gesang ergab die größte Abweichung hinsichtlich des Auftretens von Bursts. So beantworteten sowohl das AN3 als auch das AN12 den unattraktiven Gesang mit weniger Bursts als den attraktiven.

Die Kodierungseigenschaften homologer auditorischer Interneurone von *C. biguttulus* und *L. migratoria* zeigten eine weitreichende Übereinstimmung zwischen den Arten. Sowohl die erzielte Unterscheidbarkeit der Gesänge als auch den optimalen Bereich des zeitlichen Auflösungsparameters  $\tau$  fiel vergleichbar aus. Gleichzeitig deuteten sich auch Ähnlichkeiten in der Klassifikation der einzelnen Gesänge an. Die interspezifischen Spiketrain-Distanzen waren nicht größer als die intraspezifischen (d.h. die Unterschiede zwischen Vertretern eines Neurons innerhalb einer Art). Die homologen Neurone erwiesen sich damit in wesentlichen Antwortmerkmalen als praktisch identisch.



**Teil IV**

**Diskussion**



Das Ziel der vorliegenden Studie bestand darin, ein besseres Verständnis über die neuronale Repräsentation amplitudenmodulierter akustischer Signale entlang der Hörbahn von Feldheuschrecken zu erlangen. Dabei stand die Frage nach der Unterscheidbarkeit der Signale anhand der Spikeantworten - der einzigen dem Nervensystem zur Verfügung stehenden Information - im Mittelpunkt der Betrachtung. Durch den Einsatz natürlicher Stimuli, einer Auswahl von Gesängen von *C. biguttulus*, sollte eine Beurteilung auf der Grundlage von Stimuluseigenschaften durchgeführt werden, die verhaltensrelevant sind.

Indem die korrekte Zuordnung in Abhängigkeit der Dauer des einbezogenen Zeitfensters analysiert wurde, ließ sich untersuchen, wie sich die Dynamik des Erkennungsprozesses für die Neurone der einzelnen Verarbeitungsebenen darstellt.

Die Unterscheidbarkeit der natürlichen Signale wird durch die Fähigkeit begrenzt, schnelle zeitliche Änderungen der Signalamplitude, möglichst auch noch bei geringen Modulationstiefen zuverlässig in der Antwort wiederzugeben. Mit Hilfe künstlicher amplitudenmodulierter Signale sollten die Filtereigenschaften und die Grenzen der Auflösung von Modulationsfrequenzen und -tiefen charakterisiert werden.

Alle durchgeführten Analysen beinhalteten die Frage nach den Zeitskalen, bei denen eine optimale Informationsübertragung gewährleistet wird: nach den in langen Zeitfenster ausgewerteten Spikezahlen bzw. dem präzisen zeitlichen Auftreten der Spikes.

Die Detektion geringer Unterschiede zwischen verschiedenen Stimuli wird durch Rauschen limitiert, welches sich in einer neuronalen Antwortvariabilität äußert. Deshalb wurden ausserdem verschiedener Aspekte der Antwortvariabilität untersucht.

Durch den Einsatz verschiedener Stimulus-Ensembles und Auswertemethoden sollte über eine vergleichenden Betrachtung der Filterraum einzelner Neurone möglichst umfassend getestet werden, um auch spezifische Antwortreaktionen nicht zu verfehlen.

Das akustische Kommunikationssystem der Feldheuschrecken bietet die Mög-

lichkeit auch die Verhaltensselektivität der Tiere experimentell zu testen. Indem für die Verhaltensversuche die gleichen Stimuli getestet wurden wie bereits in den neurophysiologischen Versuchen, sollte eine Verbindung zwischen beiden Ebenen der Betrachtung geschaffen werden.

Die neuronalen Daten wurden an zwei verschiedenen Arten der Feldheuschrecken erhoben: *L. migratoria* und *C. biguttulus*. Erstere Art besitzt kein ausgeprägtes akustisches Kommunikationsverhalten, ist aber ein häufig genutztes Modellsystem für neurophysiologische Studien zur auditorischen Verarbeitung bei Feldheuschrecken, da die Neurone des metathorakalen auditorischen Systems als homolog erachtet werden und ausserdem eine weitgehende physiologische Übereinstimmung zeigen. Ein quantitativer Vergleich der Antwortverhaltens homologer Zellen sollte klären, inwieweit eine Übereinstimmung gegeben ist und zwar auch dann noch, wenn Stimuli verwendet werden, deren Erkennung nur für eine Art relevant ist.



# Kapitel 8

## Unterscheidbarkeit amplitudenmodulierter Signale

Die Fähigkeit, auf unterschiedliche Stimuli in unterschiedlicher Weise zu reagieren, ist von zentraler Bedeutung für alle Lebewesen und äußert sich in adaptiven Verhaltensweisen. Eine Klassifikation verschiedener Stimuli zu gewährleisten, ist die Aufgabe des sensorischen Systems - ein Ansatz dies zu untersuchen besteht darin, die Stimulus-spezifische Information individueller Neurone zu dekodieren. Dabei ist die Kenntnis der Leistungsfähigkeit einzelner Neurone eine wichtige Voraussetzung für das Verständnis jedes neuronalen Kodes, sei es ein Einzelzellkode oder ein Populationskode.

Bevor die Ergebnisse im einzelnen diskutiert werden, soll eine Betrachtung der Methode zur Quantifizierung einer Unterscheidbarkeit folgen. Um letztere zu testen wurde zunächst die (Un)ähnlichkeit, also die Distanz zwischen Spiketrains bestimmt. Dazu bieten sich verschiedene Spiketrain-Metriken an (Victor, 2005; Kreuz et al., 2007). Ihnen gemein ist, dass sie Stimulus induzierte Antwortmerkmale und die ‚unspezifische‘ Antwort-variabilität zusammenfassen und eine nahezu optimale Dekodierung der Stimulus spezifischen Information erlauben. Dieser Ansatz kann als parametrische Version informationstheoretischer Methoden betrachtet werden, welche die ‚mutual information‘ zwischen Stimulus und Spiketrain bestimmen (Victor, 2005; Borst und Theunissen, 1999). Informationstheoretischen Ansätze und Maße, die auf

Spiketrain-Distanzen basieren, können aber durchaus unterschiedliche Resultate liefern (Grewe et al., 2007).

Ein praktischer Vorteil einer auf Spiketrain-Distanzen basierenden Klassifikation liegt darin, dass sie im Gegensatz zu informationstheoretischen Methoden keine Berechnung der Wahrscheinlichkeitsverteilungen bestimmter Spikesequenzen erfordert. Für eine solche Berechnung reichen die hier vorliegenden acht Stimuluswiederholungen nicht aus, wohingegen eine Klassifikation auch schon bei einer geringeren Anzahl einbezogener Wiederholungen zuverlässige Ergebnisse lieferte (Abb. 9.2). Dieser Ansatz macht außerdem keinerlei Annahmen über die statistische Struktur der Spiket trains.

Die am häufigsten genutzte Spiketrain-Metrik ist die von Victor und Purpura (1996): die Distanz zwischen zwei Spiket rains resultiert aus den minimalen ‚Kosten‘, die bei einer schrittweisen Umwandlung eines Spiket rains in den anderen entstehen. In der vorliegenden Arbeit wurde eine Spiketrain-Metrik von van Rossum (2001) genutzt (Machens et al., 2003; Narayan et al., 2005, 2006; Wang et al., 2007; Narayan et al., 2007): im ersten Schritt werden die Spiket rains mit einem linearen Filter (hier einer Alpha-Funktion) gefaltet und anschließend der mittlere quadratische Abstand zwischen beiden Funktionen berechnet, der die Distanz zwischen den Spiket rains beschreibt. Damit ist die Distanz verwandt mit Stimulus-Rekonstruktions-Techniken, bei denen die Faltung des Spiket rains mit dem Spike-Triggered Average zu einer linearen Rekonstruktion des Stimulus führt (Rieke et al., 1997). Die Distanz beschreibt daher näherungsweise den Unterschied zwischen den rekonstruierten Stimuli (van Rossum, 2001). Die Breite der Alpha-Funktion, kann über den freien Parameter  $\tau$  variiert werden, wodurch der Einfluss der zeitlichen Auflösung auf die Unterscheidbarkeit analysiert werden kann (Machens et al., 2003; Narayan et al., 2006). Auch die Metrik von Victor und Purpura enthält einen freien Parameter, der sich in vergleichbarer Weise nutzen lässt und äquivalente Ergebnisse erbrachte (vgl. Machens et al. (2001a) und Machens (2002); Kreuz et al. (2007)).

Der Vorteil der Metrik nach van Rossum mag zum einen darin bestehen, dass diese intuitiver verständlich ist. Indem ein Spike durch eine Alpha-

Funktion ersetzt wird, imitiert die Funktion den zeitlichen Verlauf eines EPSP in einem hypothetischen nachgeschalteten Neuron. Die optimale Filterbreite könnte in direkter Weise physiologisch implementiert sein, auch wenn dies bisher nicht gezeigt wurde. Die Berechnung der Distanz in Form einer Subtraktion der resultierenden Funktionen entspricht außerdem einem einfachen Bild einer neuronaler Verrechnung.

Die Unterscheidbarkeit anhand der Spiketrain-Distanzen lässt sich mit Hilfe einer Reihe verschiedener Klassifikationsalgorithmen bestimmen. Die hier gewählte Methode wurde bereits von Machens et al. (2003) und (Narayan et al., 2006; Wang et al., 2007) angewendet und basiert auf der Wahl eines ‚Template-Spiketrains‘ für jeden Gesang und der anschließenden Zuordnung der verbleibenden Spiketrains zu den Templates, zu denen sie die geringste Distanz aufweisen. Ein unüberwachter Clusteralgorithmus von Slonim et al. (2005) lieferte sehr ähnliche Ergebnisse (vgl. Abb. 5.4 und Abb. 5.2, Abb. 5.3).

In der vorliegenden Studie wurde die Unterscheidbarkeit verschiedener Stimuli getestet. Dabei handelte es sich zum einen um sinusförmig amplitudenmodulierte Stimuli und zum anderen um natürliche Gesänge sowie reskalierte Varianten dieser Gesänge. Die Frage, wie gut sich die Gesänge anhand der Antworten der verschiedenen Neurone der zweiten und dritten Verarbeitungsstufe der Hörbahn noch unterscheiden lassen, stand im Mittelpunkt der Betrachtung, da sie in einem direkten Zusammenhang zu einer Verhaltensselektivität steht. Die Untersuchung wurde an zwei verschiedenen Feldheuschreckenarten, *L. migratoria* und *Chorthippus biguttulus*, durchgeführt. Ein direkter Vergleich der Ergebnisse zwischen beiden Arten folgt an späterer Stelle. Hier sollen diese zunächst zusammenfassend für beide Arten erörtert werden.

## 8.1 Abnahme der Unterscheidbarkeit bei aufsteigenden Interneuronen

Das methatorakale auditorische System der Feldheuschrecken zeichnet sich durch eine hierarchische Struktur und eine relativ geringe Anzahl von Elementen aus: auf jeder der beiden Hemisphären verschalten  $\sim 70$  Rezeptoren auf  $\sim 15$  lokale Interneurone, welche die Information an  $\sim 15$  aufsteigenden Interneurone weitergeben. Letztere stellen einen Flaschenhals im Informationstransfer ins Gehirn dar, wo es zu der letztendlichen Bewertung des Lautmusters kommt (Ronacher et al., 1986; Bauer und Helversen, 1987). Zwischen den Antworten der Rezeptoren und den aufsteigenden Interneuronen liegen nur wenige, zumeist offenbar nur 2 bis 3 synaptische Verarbeitungsschritte (Marquart, 1985b; Stumpner und Ronacher, 1991; Boyan, 1992, 1999; Vogel und Ronacher, 2007). Die Rezeptoren zeichnen sich, wie einleitend erwähnt, durch eine sehr zuverlässige Beantwortung schneller Amplitudenmodulationen aus (Ronacher und Römer, 1985; Machens et al., 2001b; Prinz und Ronacher, 2002; Rokem et al., 2006), wobei diese in einer sich schnell ändernden Spikerate wiedergegeben werden. Machens et al. (2003) konnten zeigen, dass dieses Antwortverhalten eine nahezu perfekte Unterscheidbarkeit natürlicher Gesänge ermöglicht. Obwohl schon eine Reihe von Antworteigenschaften individuell identifizierter Interneurone anhand von künstlichen akustischen Stimuli erfasst werden konnten (Ronacher und Stumpner, 1988; Stumpner et al., 1991; Stumpner und Ronacher, 1994; Franz und Ronacher, 2002; Krahe et al., 2002a; Vogel et al., 2005) ist weitgehend unklar wie natürlicher Stimuli, die verschiedene Eigenschaften zusammenfassen, repräsentiert werden.

In der vorliegenden Studie wurden dieselben acht natürlichen Gesänge (‘Original Gesänge’) getestet wie von Machens et al. (2003) an den Rezeptoren. Die Antworten der einzelnen lokalen Interneurone ließen sich noch nahezu perfekt zu den jeweiligen Gesängen zuordnen. Die aufsteigenden Interneurone zeigten eine breitere Verteilung der erreichten Unterscheidbarkeiten: während bei den richtungskodierenden aufsteigenden Interneurone eine signifikant niedrigere korrekte Zuordnung auftrat, erzielten die musterkodierenden aufsteigenden Interneurone zum Teil ähnlich gute Resultate wie die

lokalen Interneurone und die Rezeptoren (Abb. 6.4 A und Abb. 7.8 A und D).

Diese Ergebnisse müssen vor dem Hintergrund der Unterschiede zwischen den natürlichen Gesängen beurteilt werden. Die Gesängen zeigten zum einen Abweichungen in den Verteilungen der Trägerfrequenzen (Abb. 6.1 und Abb. 7.1 A), welche zu unterschiedlichen Spikeraten führen können. Am stärksten äußerte sich dies beim TN1, was aufgrund seines Antwortverhaltens nicht in die Auswertung der Unterscheidbarkeit der natürlichen Gesänge mit einbezogen werden konnte. Alle Vertreter dieses Zelltyps zeigten keinerlei Spikeantworten auf drei der Gesänge, die nur einen sehr geringen tieffrequenten Anteil aufwiesen (Gesänge 6 bis 8 Abb. 7.1 A). Diese drei Gesänge lösten jedoch sehr wohl Verhaltensantworten bei den Weibchen aus (Abb. 7.2), woraus sich folgern lässt, dass die Reaktion des TN1 bei der Erkennung der zeitlichen Muster dieser Gesänge wohl keine Rolle spielte. Die anderen Interneurone ließen keine vergleichbar starke Abhängigkeit ihrer Antworten von den Trägerfrequenzanteilen der Gesänge erkennen. Es traten aber auch hier Abweichungen in den Spikeraten zwischen den einzelnen Gesängen auf, die sich positiv auf die korrekte Zuordnung der Spiketrains ausgewirkt haben dürften.

Der zweite wesentliche Unterschied zwischen den Gesängen hatte sicherlich noch einen größeren Einfluss auf die erreichte Unterscheidbarkeit: zwischen den natürlichen Gesängen variierten die Silbendauern und die Pausendauern. Aus Verhaltensversuchen ist bekannt, dass beide Größen für *C. biguttulus* von entscheidender Bedeutung für die Arterkennung sind (von Helversen, 1972). Die Stridulationsbewegungen dieser poikilothermen Tiere weisen allerdings eine starke Abhängigkeit von der Umgebungstemperatur auf. Mit steigender Temperatur verkürzen sich sowohl Silben- als auch Pausendauern (von Helversen, 1972, 1979; Bauer und Helversen, 1987). Diese Merkmalsänderung wirft für die Empfängerseite ein Problem auf. Die Tiere lösen dieses, indem sie temperaturunabhängige Parameter der Gesänge, offenbar das Verhältnis der Dauern von Silben und Pausen, bewerten. So beantworten die Weibchen das Silben-Pausen-Muster der Männchen innerhalb eines weiten Temperaturbereichs (von Helversen, 1972). Als neuronales Korrelat dieser Invarianzleistung könnte das Antwortverhalten des AN12 von

entscheidender Bedeutung sein (Stumpner, 1988; Creutzig, 2007). Die in der vorliegenden Studie genutzte Spiketrain-Metrik ist jedoch, wie andere Metriken auch, sehr empfindlich für zeitliche Verschiebungen: selbst wenn zwei Gesänge einfach zeitlich gedehnte Versionen voneinander sind, lassen sich die zugehörigen Spiketrains sehr wohl anhand ihrer Distanz unterscheiden. Um auszuschließen, dass die Unterscheidbarkeit alleine auf solchen zeitlichen Verschiebungen basieren kann, wurde ein zweites Set von Gesängen mit einheitliche Silbendauern und Pausendauern getestet. Diese ‚Reskalierten Gesänge‘ waren außerdem alle mit dem selben Träger gefüllt, so dass auch anhand dieses Merkmals keine Unterscheidbarkeit mehr möglich war.

Die lokalen Interneurone erreichten auch noch eine nahezu perfekte Unterscheidbarkeit der Reskalierten Gesänge (Abb. 6.4 B, Abb. 7.8 B, oben und Abb. 7.8 D): die Spiketrains vom TN1, SN1, SN3 und SN4 konnten mit einem Anteil von über 95% korrekt zugeordnet werden. Das SN2 und das BGN1 erzielte im Mittel etwas niedrigere Werte von etwa 90%. Zwischen den einzelnen Vertretern des BGN1 zeigten sich außerdem die höchsten interindividuelle Unterschiede, was nicht verwunderlich war, da mindestens zwei Kopien dieses Zelltyps in jeder Hemisphäre des Ganglions existieren (Römer und Marquart, 1984), die sich in ihren Antworteigenschaften unterscheiden (Stumpner, 1989).

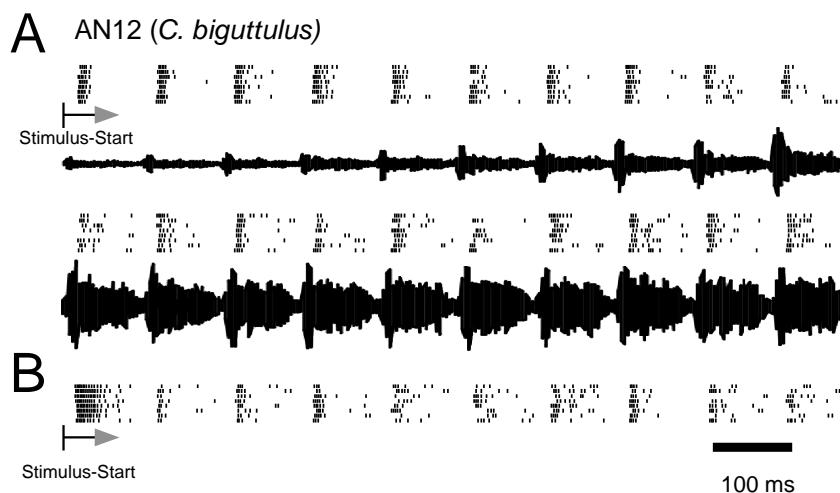
Für die aufsteigenden Interneurone ergab sich hingegen eine Abnahme der Unterscheidbarkeit von den Original zu den Reskalierten Gesängen (Abb. 6.7), wodurch nun gegenüber den lokalen Interneuronen ein signifikanter Unterschied auftrat (Abb. 6.4 B, Abb. 7.8 B, unten und Abb. 7.8 D). Die Verteilung der erreichten Werte waren für diese Verarbeitungsebene sehr breit: es zeigten sich nicht nur größere Unterschiede zwischen den einzelnen Zelltypen, sondern auch die Werte der einzelnen Vertreter eines Zelltyps streuten teilweise beträchtlich. Die beste Unterscheidbarkeit der Reskalierten Gesänge erzielten das AN3, das AN4 und das AN11: zumindest bei einzelnen Vertretern dieser musterkodierenden Zelltypen konnten noch bis zu etwa 90% der Spiketrains korrekt zugeordnet werden, wenn ein Zeitfenster einer Dauer von 1 Sekunde ausgewertet wurde. Beim AN12 ergaben sich etwas niedrigere Werte (besonders bei *C. biguttulus*). Die Vertreter der richtungskodierenden

Interneurone AN1 und besonders des AN2 zeigten zumeist eine noch geringere Unterscheidbarkeit. Kaum über dem Zufallsniveau lag die korrekte Zuordnung des musterkodierenden Interneurons AN14. Letzteres Ergebnis war allerdings zu erwarten, da dass AN14 spontan aktiv ist und von akustischen Reizen gehemmt wird (vgl. Abb. 6.15 und Stumpner (1988); Stumpner et al. (1991)). Die Hemmung adaptierte relativ stark, wodurch die Zelle im zeitlichen Verlauf immer stärker gleichmäßig über die Pausen hinweg feuerte und damit auch schon eine relativ niedrige Unterscheidbarkeit der Original Gesänge zeigte. Dies unterstützt die Annahme von Stumpner (1988), dass die Reaktion dieses Zelltyps wohl kaum wichtig für die Erkennung des Gesangsmusters sein dürfte.

### 8.1.1 Vergleich der Auswertebereiche

Bei beiden Stimulus-Sets wurde die erste beantwortete Sekunde der Gesänge ausgewertet. Innerhalb der ersten 1 bis 1,5 Sekunden nahm die Maximalamplitude der Gesänge langsam zu, allerdings teilweise unterschiedlich schnell (Abb. 6.1). Innerhalb der letzten Sekunde war die mittlere Intensität dagegen nahezu identisch. Die Frage lautete nun, ob auch noch bei einer Auswertung der Antworten auf diesen letzten Teil eine Unterscheidbarkeit möglich ist. Für beide Verarbeitungsebenen nahm die korrekte Zuordnung der Spiketrains bei der Mehrzahl der Zellen gegenüber der ersten ausgewerteten Sekunde deutlich ab (Abb. 6.10, Abb. 6.4 C, Abb. 7.8 C und Abb. 7.8 D). Diese Änderung dürfte weniger auf die geringeren Unterschiede zwischen den Gesängen in diesem Auswertebereich zurückzuführen sein, sondern vielmehr auf eine intensitätsabhängige Abnahme der Spikeraten (Abb. 6.13). Ein Merkmal vieler getesteter Interneurone besteht in einem komplexen Intensitätsverhalten, bei dem häufig in Antwort auf einen Bereich hoher Intensitäten weniger Spikes generiert werden (Stumpner und Ronacher, 1991). Ausserdem könnten auch Adaptationseffekte die Antwortstärke negativ beeinflusst haben (Weschke und Ronacher, 2008). Eine Abnahme der Spikerate kann die mögliche Information über den Amplitudenverlauf der Gesänge reduzieren und sich gleichzeitig negativ auf die Zuverlässigkeit der Spikeantworten aus-

wirken (Abb. 6.12). Die über lange Zeitfenster gemittelten Spikeraten lassen jedoch nicht in jedem Fall einen Rückschluss auf die Zuverlässigkeit der Antwort zu. Abbildung 8.1 A zeigt die Reaktion eines AN12 von *C. biguttulus* auf einen natürlichen Gesang. Von Beginn an wird trotz der leisen Anfangs-



**Abbildung 8.1:** EINFLUSS DER INTENSITÄT UND DER ADAPTATION AUF DAS ANTWORT-VERHALTEN. Dargestellt ist die Reaktion eine AN12 von *C. biguttulus* auf **A** den leisen Anfangsteil eines Gesangs (oben) und die letzte Sekunde des Gesangs (unten), der eine deutlich höhere Intensität aufwies. **B** Unadaptierte Antwort des selben AN12 auf einen Gesangsausschnitt (letzte Sekunde des Gesangs). Die Reizintensität war identisch zu **A**, unten.

intensität der Onset der Silben durch Bursts markiert. Die letzte Sekunde des Gesangs beantwortete die Zelle mit etwa gleich vielen Spikes. Auffällig ist allerdings, dass die zeitliche Struktur der Bursts unpräziser wird und in einem breiteren Bereich der Periode Spikes auftreten. Dieses AN12 wurde ausserdem mit einem einzelnen Gesangsausschnitt der letzten Sekunde gereizt (8.1 B). Auf die erste Silbe zeigt sich eine starke unadaptierte Antwort, gefolgt von einer schwachen Onset-Antwort auf den nächsten Silbenbeginn. Auch hier fällt auf, dass die Zahl der Spikes im Burst geringer ausfällt und diese zeitlich unpräziser sind als in Antwort auf den leisen Anfangsteil des Gesangs.

Insgesamt kann festgehalten werden, dass gerade die Antwort auf den Anfangsteil der Gesänge für eine Unterscheidung besonders geeignet war.



Leise beginnende Gesänge, die graduell in der Intensität zunehmen, finden sich nicht nur bei *C. biguttulus*, sondern sind ein weit verbreitetes Merkmal vieler Feldheuschreckengesänge (Elsner, 1974). Ronacher und Hennig (2004) zeigten in Verhaltensstudien an Männchen von *C. biguttulus*, dass die Erkennung einer Lautattrappe durch ein vorher platziertes Rauschen verbessert wird. Dieser Effekt wurde auf neuronale Adaptationsprozesse zurückgeführt, welche eine bessere Auflösung der Silbenpausen ermöglichen könnten. Der leise Beginn der Gesänge ließe sich damit als Anpassung an die neuronalen Anforderungen des Empfängers verstehen, welche darin liegt, zu starke Onset-Antworten zu unterbinden, da sich diese negativ auf die Mustererkennung auswirken könnten. Im natürlichen Kontext sind allerdings auch die unterschiedlichen Entfernungen zwischen Sender und Empfänger zu beachten. Mit zunehmender Entfernung zum Sender nimmt die wahrgenommene Intensität stark ab (Lang, 2000), wodurch eine Verschiebung des am stärksten beantworteten Teils eines Gesangs auftreten sollte. Möglicherweise stellt die Kombination eines zunächst leisen Teils mit einem lauten Endteil eine besonders geeignete Variante dar, um zum einen unabhängig von der Entfernung möglichst viele Weibchen zu erreichen und gleichzeitig die möglichen Risiken zu minimieren. Interessanterweise haben die direkt vor den Weibchen vorgetragenen ‚Werbewechselgesänge‘ von Beginn an etwa die gleiche Lautstärke, sind aber insgesamt leiser und ausserdem etwas kürzer (von Helversen, 1972). Ein Trade-Off zwischen Intensität und Dauer ließe sich durch Verhaltensexperimente testen.

### 8.1.2 Zeitskalen und Spikezahlen

Viele Studien untersuchen neuronale Leistungen in einem Zeitfenster, welches der Dauer des Stimulus entspricht. Ein Vorteil des hier gewählten Analyseverfahrens liegt darin, dass sie Aussagen über die Dynamik des Erkennungsprozesses ermöglicht. Die korrekte Zuordnung kann als Funktion der Länge des ausgewerteten Zeitfensters beschrieben werden, was verdeutlicht, wie die neuronale Leistung mit der Zeit zunimmt. Für alle untersuchten Neurone waren die Funktionen insofern ähnlich, als die korrekte Zuordnung mit zunehmender

der Dauer des ausgewerteten Zeitfensters zunächst steil und dann langsamer anstieg, um schließlich ein Plateau zu erreichen (Abb. 6.4 und Abb. 7.8). Dieser Verlauf kann auf das repetitive Grundmuster der Gesänge zurückgeführt werden. Nach einer bestimmten Zeit liefern die Antworten auf weitere Silben keinen zusätzlichen Gewinn mehr für die Unterscheidbarkeit. Die Dauer des Auswertzeitfenster, ab dem die korrekte Zuordnung sättigte, unterschied sich jedoch zwischen den untersuchten Neuronen (Abb. 6.4 und Abb. 7.8). Die lokalen Interneurone erzielten nicht nur insgesamt eine höhere maximale korrekte Zuordnung, sondern erreichten diese auch zumeist schneller als die aufsteigenden Interneurone. Bei *C. biguttulus* war dieser Trend nicht klar zu erkennen, indem bei drei der vier getesteten lokalen Interneurone die korrekte Zuordnung ähnlich langsam zunahm wie bei den aufsteigenden Interneuronen. Um diesbezüglich eine Aussage zu treffen, könnte der Datensatz zu klein sein.

Die Dauer des Signals bestimmt wesentlich die Energie, die der Sender aufwenden muss und das Risiko von mithörenden Fressfeinden oder Parasiten erkannt zu werden (z. B. Belwood und Morris (1987); Lakes-Harlan und Heller (1992); Stumpner et al. (2007)).

Die Weibchen beantworten Gesänge erst gut, wenn diese eine Mindestdauer von 1,2 Sekunden aufweisen (von Helversen, 1972). Daraus lässt jedoch nicht ohne weiteres die Mindestdauer des Erkennungsprozesses im Nervensystem ableiten. Die Weibchen könnten den Männchen längere Gesänge abfordern, um durch ein Bluff-resistentes Merkmal ihre Kondition zu testen. Diese Mindestdauer wäre damit im Zusammenhang der sexuellen Selektion zu interpretieren (von Helversen und von Helversen, 1994). Die Selektivität der Weibchen nimmt kurz vor der Eiablage jedoch stark ab, wenn bis dahin noch keine Paarung erfolgte (Kriegbaum und von Helversen, 1992). Inwieweit die Weibchen dann auch Gesänge kürzerer Dauer akzeptieren wurde bisher nicht untersucht.

Hinweise über die Dauer und die Art des Algorithmus des Erkennungsprozesses könnten auch Verhaltensversuche liefern, in denen etwa Lautattrappen, bestehend aus attraktiven Silben und unattraktiven (z.B. inversen Silben),

in Kombination und variabler Dauer zu testen wären.

Die Männchen von *C. biguttulus* erkennen Lautattrappen bereits ab einer Dauer von 160 bis 250 ms als Weibchengesang (Ronacher und Krahe, 1998). Auf der Grundlage von Verhaltensversuchen, in denen eine Lautattrappe durch Rauschen maskiert wurden, ließ sich ein oberes Limit einer zeitlichen Integration von 450 ms feststellen (Ronacher et al., 2000). Diese Zeitskala liegt damit im Bereich des Auswertzeitfensters, welches nötig war, um eine maximale Unterscheidbarkeit der Reskalierten Gesänge bei einzelnen lokalen Interneuronen zu erreichen. Bei den aufsteigenden Interneuronen trat erst ab einem ausgewerteten Zeitfenster von  $\leq 400$  ms eine Sättigung der korrekten Zuordnung auf, einzelne Neurone benötigten noch deutlich längere Zeitfenster. Auf der Grundlage einer solchen Betrachtung ergibt sich also ein noch stärkerer Unterschied zwischen der Leistungsfähigkeit der Neurone beider Verarbeitungsebenen.

Im Vergleich zu den lokalen Interneuronen reagieren die aufsteigenden Interneurone zumeist mit niedrigeren Spikeraten (Vogel et al., 2005). Die Unterschiede zwischen den Verarbeitungsebenen könnten somit alleine auf Spikezahlunterschieden basieren. Betrachtet man jedoch die korrekte Zuordnung in Abhängigkeit der ausgewerteten Zahl der Spikes, so zeigt sich, dass auch auf der Grundlage einer gleichen Anzahl einbezogener Spikes für die lokalen Interneurone insgesamt eine höher korrekte Zuordnung erreicht wird (Abb. 6.5 und Abb. 7.8).

Die neuronalen Mechanismen des Erkennungsprozesses sind bei Feldheuschrecken unbekannt. Es stellt sich die Frage, wie die hier beschriebene Zeitskala zu verstehen ist. Der Prozess beschreibt eine Akkumulation der zur Verfügung stehenden Information. Viemeister und Wakefield (1991) schlugen auf der Grundlage psychophysischer Experimente ein Modell vor, was nicht einer einfachen langen Integration, sondern auf im ‚Gedächtnis‘ abgelegten ‚multiple looks‘ basiert, die anschließend kombiniert werden. Narayan et al. (2006) betrachtete die hier untersuchte Zeitskala im Zusammenhang mit der Integrationszeit der ‚multiple looks‘. Inwieweit eine solche Betrachtung in dem

hier untersuchten System eine Entsprechung findet, kann nicht beantwortet werden. Auch wenn dieses Modell viel diskutiert wird, sind bisher nur wenige Beispiele bekannt, die als physiologische Implementierung verstanden werden könnten (Alder und Rose, 1998; Edwards et al., 2002, 2007).

## 8.2 Kodierung und Unterscheidbarkeit von Amplitudenmodulationen

Die Unterscheidbarkeit der Gesänge von Feldheuschrecken wird durch die Fähigkeit begrenzt, schnelle Schwankungen der Amplitude in der Spikeantwort zu repräsentieren und gleichzeitig zeitliche Änderungen auch noch bei geringen Modulationstiefen zu detektieren. Wegen der hohen Komplexität natürlicher Signale ist eine eindeutige Beziehung zwischen Stimulus und Antwort häufig nur schwer herstellbar. In der vorliegenden Studie wurden deshalb zusätzlich künstliche amplitudenmodulierte Signale verwendet, bei denen die Testgrößen Amplitudenmodulationsfrequenz und Modulationstiefe systematisch variierbar waren.

Ein klassischer Ansatz, die Filtereigenschaften und die Grenzen der zeitlichen Auflösung bei auditorischer Neurone zu charakterisieren, besteht in der Erstellung von Modulationstransferfunktionen. Diese ermöglichen es, der Frage nachzugehen, ob Information über die Amplitudenmodulation in Form von synchronisierter Aktivität oder in Form einer Abstimmung der mittleren Spikerate kodiert wird (Eggermont, 1991; Krishna und Semple, 2000; Lu et al., 2001; Liang et al., 2002; Joris et al., 2004), indem sowohl zeitliche Modulationstransferfunktionen (tMTF) als auch Raten-Modulationstransferfunktionen (rMTF) erstellt werden. Beide Funktionen ließen sich für unterschiedliche Modulationstiefen bestimmen. Zunächst soll jedoch die Abhängigkeit des Antwortverhaltens von der Modulationsfrequenz bei einer einheitlichen Modulationstiefe von 100% diskutiert werden.

### 8.2.1 Zeitliche Ankopplung der Spikes an die Stimulusperiode

Die tMTF beschreibt die zeitliche Ankopplung der Spikes an die Stimulusperiode in Abhängigkeit von der Modulationsfrequenz. Die Güte der Ankopplung wurde anhand der Vektorstärke, einem Maß aus der Kreistatistik, quantifiziert (Zar, 1984).

Die getesteten Zellen der ersten drei Verarbeitungsebenen zeigten entweder eine Tiefpass- oder eine Bandpass-Filtercharakteristik (Abb. 4.2 und Abb. 4.3). Keiner der beiden Filtertypen war nur exklusiv auf einer Verarbeitungsebene zu finden (Abb. 4.4). Auch innerhalb einzelner Zelltypen - den Rezeptoren, dem lokalen Interneuron BGN1 und dem aufsteigenden Interneuron AN3 - ergab sich ein uneinheitliches Bild. Bei den Rezeptoren zeigte sich ein Zusammenhang zwischen der jeweils auftretenden Filtercharakteristik und der Spikerate. Die gewählte Reizintensität lag nicht bei allen Rezeptoren um den gleichen Betrag über der Reaktionsschwelle. Bei einer höheren relativen Reizintensität kann die Reaktionsschwelle bei niedrigen Frequenzen früher überschritten werden, was eine breitere Verteilung der Spikes innerhalb der Periode bedingt und zu einer Abnahme der Vektorstärke führt. Die Folge ist ein Übergang von einer Tiefpass- zu einer Bandpass-Filtercharakteristik. Ein solcher Effekt zeigte sich auch bei einer Messung der tMTF der Rezeptoren von *L. migratoria* bei unterschiedlichen Intensitäten und ebenso bei Neuronen anderer Systeme (Weschke und Ronacher, 2008; Rees und Palmer, 1989; Krishna und Semple, 2000).

Sowohl beim BGN1 als auch beim AN3 sind große interindividuelle Unterschiede im Antwortverhalten bekannt (Stumpner, 1989), die sich in den beiden auftretenden Filtertypen widerspiegeln könnten. Wie bereits erwähnt, ist eine besonders hohe Variabilität beim BGN1 aufgrund der mehrfachen Kopien dieses Zelltyps in jeder Hemisphäre des Ganglions (Römer und Marquart, 1984) nicht verwunderlich. Das AN3 liegt dagegen, wie auch alle anderen aufsteigenden Interneurone, nur einfach vor (Stumpner, 1988). Stumpner (1989) zeigte, dass die beiden Spiegelbildpartner des AN3 deutlich geringere Abweichungen im Antwortverhalten aufweisen als Vertreter verschiedener Individuen, was die Frage nach der Entstehung und Bedeutung dieser Variabilität aufwirft.

Um die Vektorstärke auch dann noch beurteilen zu können, wenn unterschiedlich viele Spikes innerhalb eines Periodenfensters auftreten, wurde Rayleighs  $z$  berechnet, welches die Vektorstärke mit der Spikerate gewichtet (Batschelet, 1965). Alle untersuchten Zellen zeigten, unabhängig vom

jeweiligen Filtertyp, bei niedrigen Modulationsfrequenzen gegenüber einem unmodulierten Reiz noch eine signifikante Ankopplung der Spikes an die Stimulusperiode, auch wenn die Güte der Ankopplung bereits bei niedrigen Modulationsfrequenzen unterschiedlich ausfiel.

Die maximal erreichten Vektorstärken nahmen, insgesamt betrachtet, von den lokalen zu den aufsteigenden Interneuronen ab (Abb. 4.6 A). Dieses Ergebnis ist vor dem Hintergrund des Antwortverhaltens der verschiedenen Zelltypen besonders auffällig. Bei einer identische Güte der Ankopplung ist bei einer phasischen Antwort bei niedrigen Modulationsfrequenzen eine höhere Vektorstärke zu erwarten als bei einer tonischen Antwort, da innerhalb des Periodenhistogramms ein schmalerer Bereich an Klassen besetzt wird. Das lokale Interneurone TN1 antwortet tonisch, wäre also aufgrund dessen gegenüber vielen aufsteigenden Interneurone benachteiligt, die eher phasisch reagieren (Stumpner und Ronacher, 1991). Die Vektorstärke zeigte jedoch einen gegenteiligen Trend. Offenbar trat die phasische Antwort bei den getesteten aufsteigenden Interneuronen nur sehr unzuverlässig auf.

Von den lokalen zu den aufsteigenden Interneuronen nahm außerdem die Modulationsfrequenz, bei der eine maximale Ankopplung gemessen wurde, ab (Abb. 4.6 B). Diese ‚Beste Modulationsfrequenz‘korrelierte bei den lokalen Interneuronen, ebenso wie bei den Rezeptoren, mit der Spikerate (Abb. 4.7 B). Amplitudenmodulationen mit dieser Periode lösten offenbar sehr präzise einen oder zwei Spikes aus, was wiederum auch die die hohen Werte der Vektorstärken bei diesen Zellen erklären dürfte. Ein solcher Zusammenhang zeigte sich für die gleichen Zelltypen auch in der Studie von Weschke und Ronacher (2008). Für die Gruppe der aufsteigenden Interneurone konnte dagegen kein Zusammenhang zwischen diesen beiden Größen festgestellt werden. Die Autoren merkten an, dass die geringe Anzahl untersuchter Zellen mit sehr verschiedene Eigenschaften sich limitierend ausgewirkt haben könnte. Die beste Modulationsfrequenz hing jedoch auch in der vorliegenden Studie bei den aufsteigenden Interneuronen nicht von der Spikerate ab.

Ein Abfall der zeitlichen Ankopplung der Spikes an die Stimulusperiode ist bei hohen Modulationsfrequenzen aufgrund der physiologischen Eigenschaften von Neuronen zwangsläufig. Verhaltensstudien zeigen, dass die Weibchen

von *C. biguttulus* über ein sehr hohes zeitliches Auflösungsvermögen verfügen: selbst Lücken, die eine Dauer von nur 2 bis 3 ms aufweisen, können noch detektiert werden (von Helversen, 1979; von Helversen und von Helversen, 1997). Diese Leistung spiegelt sich in einer weitreichenden Synchronisation der Spikeantworten der Rezeptoren mit der Stimulusperiode wider (Prinz und Ronacher, 2002).

Ein wichtiges Ergebnis der vorliegenden Studie war, dass sich das zeitliche Auflösungsvermögen auf der Grundlage einer Ankopplung an die Stimulusperiode deutlich zwischen einzelnen Zelltypen bzw. Verarbeitungsebenen unterschied (Abb. 4.6 C). Während die lokalen Interneuronen insgesamt noch eine ähnlich hohe Auflösung erzielten wie die Rezeptoren, trat bei den aufsteigenden Interneuronen schon bei deutlich niedrigeren Modulationsfrequenzen die Abnahme der zeitlichen Ankopplung auf. Die Grenzfrequenzen der lokalen Interneurone lagen zwischen 80 und 200 Hz, die der aufsteigenden Interneuronen, abgesehen von einer Ausnahme, im Bereich von 25 bis 80 Hz. Ein hochsignifikante Abnahme wird auch anhand anderer abgeleiteter Kenngrößen, wie der Abbruchfrequenz und der Grenze einer signifikanten Ankopplung der Spikes sichtbar.

Diese Kenngrößen verdeutlichten allerdings auch, dass bereits die lokalen Interneurone bezüglich ihrer Fähigkeit zeitliche Änderungen abzubilden, nicht als homogene Gruppe zu sehen sind. Das lokale Interneuron TN1 erreichte etwa, ebenso wie die Rezeptoren, selbst noch bei einer Modulationsfrequenz von 500 Hz eine signifikante Ankopplung der Spikes an die Stimulusperiode. Beim BGN1 wurde das Signifikanzniveau bereits bei Modulationsfrequenzen von 125 bis 333 Hz unterschritten. Auch zwischen den aufsteigenden Interneuronen fielen Unterschiede auf. Die Verteilungen der Vertreter einzelner Zelltypen waren zumeist jedoch sehr breit und beinhalteten nur wenige Individuen, was eine Beurteilung erschwert. Festgehalten werden kann lediglich, dass vom AN11 das höchste zeitliche Auflösungsvermögen erreicht wurde.

Das zeitliche Auflösungsvermögen kann durch die Spikerate limitiert werden. Inwieweit lassen sich die gemessenen Unterschiede im zeitlichen Auflösungsvermögen auf die Spikeraten der Zellen zurückführen? Als Kenngröße des



zeitlichen Auflösungsvermögens wurde wiederum die Grenzfrequenz betrachtet. Wie bereits für die Rezeptoren beschrieben (Prinz und Ronacher, 2002), konnte auch für die Zellen der nächsten beiden Verarbeitungsebenen kein signifikanter Zusammenhang zwischen der Grenzfrequenz und der mittleren Spikerate festgestellt werden (Abb. 4.7 B). Die Regressionsgeraden der drei Verarbeitungsebenen verliefen weitgehend parallel zueinander - die Unterschiede in den Grenzen der zeitlichen Ankopplung sind also nicht alleine auf die Spikeraten zurückzuführen.

Inwieweit zeigen diese Ergebnisse Parallelen zu andern auditorischen Systemen?

Akustischen Signalen, die in der Natur auftreten, ist gemein, dass sie häufig komplexe zeitliche Strukturen aufweisen, die sowohl langsame als auch schnelle Änderungen der Signalamplitude beinhalten. Eine Vielzahl von Studien an Vertebraten zeigt von der Peripherie zu höheren Verarbeitungsebenen eine Abnahme der Modulationsfrequenzen, bei denen noch eine zeitliche Ankopplung der Antwort auftritt. Dieses Phänomen ließ sich sowohl bei Anuren (Rose und Capranica, 1985) als auch bei Vögeln (Hill et al., 1989; Gleich und Klump, 1995; Keller und Takahashi, 2000; Woolley und Casseday, 2005) und Säugetieren (Rhode und Greenberg, 1994; Frisina et al., 1990; Rees und Møller, 1983; Rees und Palmer, 1989) beschreiben. So zeigen etwa Neurone des Nucleus cochlearis höhere Abbruchfrequenzen der tMTF als Neurone des Colliculus inferior (Joris et al., 2004). Ein noch größerer Unterschied zwischen diesen beiden Verarbeitungsebenen findet sich jedoch hinsichtlich der Abstimmung der Spikerate auf bestimmte Modulationsfrequenzen innerhalb eines großen Zeitfensters, was keinem Bezug zur momentanen Änderung der Amplitudenmodulation aufweist. Während die Neurone des Nucleus cochlearis nicht oder nur kaum mit einer Änderung der Spikerate bei verschiedenen Modulationsfrequenzen reagieren, ist im Colliculus inferior eine starke Abhängigkeit der Spikerate von der getesteten Modulationsfrequenz zu beobachten (Krishna und Semple, 2000).

## 8.2.2 Änderung der Spikerate mit der Modulationsfrequenz

Die Analyse der Abhängigkeit der Spikerate von der Modulationsfrequenz in einem langen Zeitfenster erbrachte drei Ergebnisse, die besonders bemerkenswert sind. Erstens zeigten von den untersuchten Neuronentypen nur die Rezeptoren und das lokale Interneuron TN1 eine gleichbleibende Spikerate. Alle anderen Neuronen ließen entweder Tiefpass- (nur bei einem Neuron eine Bandpass-) oder Bandstopp-Charakteristika erkennen, wobei letzterer Filtertyp ausschließlich auf der Ebene der aufsteigenden Interneurone auftrat (Abb. 4.2, Abb. 4.3 und Abb. 4.4). Zum zweiten fiel die maximale Änderung der Spikerate im getesteten Bereich der Modulationsfrequenzen nur beim AN4 konsistent sehr hoch aus, während alle anderen Neuronentypen schwächere und auch recht variable Filtereigenschaften zeigten. Der dritte und vielleicht für mögliche Schlussfolgerungen wichtigste Punkt betrifft den dynamischen Bereich. Die Änderung der Spikerate vollzog sich bei einer Tiefpass-Filtercharakteristik mehrheitlich in einem sehr breiten Bereich und zeigte für die einzelnen Filtertypen keine systematische Staffelung (Abb. 4.5). Bevor erörtert wird, welche Implikationen sich aus diesen Resultaten für die Informationsverarbeitung ergeben, stellt sich zunächst jedoch die Frage, welche neuronalen Mechanismen für eine Abhängigkeit der Spikerate von der Modulationsfrequenz verantwortlich sein könnten.

### Neuronale Mechanismen

Eine Reihe von neuronalen Eigenschaften, wie etwa Membraneigenschaften, Dauern synaptischer Potenziale oder auch synaptische Plastizität, operieren auf der gleichen Zeitskala, auf der sich Änderungen akustischer Signale bewegen und liefern daher vielfältige Möglichkeiten der Signalverarbeitung. Bei der Frage nach den neuronalen Mechanismen, die spezifische Filtercharakteristika entstehen lassen, müssen zusätzlich die zeitlichen Interaktionen exzitatorischer und inhibitorischer Eingänge einbezogen werden.

Sowohl die Intensitätscharakteristik als auch Reaktionen auf zeitliche Mus-

ter lassen erkennen, dass alle Neurone, die eine Tiefpass oder Bandpass-Filtercharakteristik aufwiesen, sowohl exzitatorische als auch inhibitorische Eingänge erhalten (Stumpner und Ronacher, 1991; Stumpner et al., 1991). Die am stärksten ausgeprägte Filtercharakteristik zeigte das AN4, in Form eines Bandstop-Filters. Diese Reaktion lässt sich auf eine der Exzitation vorlaufende Inhibition zurückführen (Ronacher und Stumpner, 1988; Franz, 2004). Das durch jede Amplitudenmodulation erneut ausgelöste IPSP (vgl. Abb. 6.25) bedingt eine Abnahme der Spikerate mit zunehmender Modulationsfrequenz, da die Dauer der einzelnen Modulationen nicht mehr ausreicht, um die Inhibition zu überwinden. Die Spikerate steigt bei höheren Modulationsfrequenzen wieder an, da die Pausen zu kurz werden, um die Inhibition zuverlässig auszulösen. Die Exzitation setzt sich zunehmend durch. Welche Neurone als präsynaptische Elemente des AN4 agieren ist unklar. Aufgrund der zeitlichen Präzision der Inhibition wird angenommen, dass diese vermutlich nur durch eine Zelle vermittelt wird oder durch zwei, die allerdings extrem synchronisiert reagieren müssten (Stumpner, 1988).

Das AN3 und das AN11 ließen ebenfalls Bandstop-Filter erkennen - möglicherweise sind hierfür ähnliche Mechanismen zuständig wie beim AN4. Zumindest in den Antworten des AN3 zeigten sich auch vorlaufende Inhibitionen, allerdings werden diese offenbar unzuverlässiger und schwächer vermittelt (Stumpner, 1988). Dies könnte der Grund für die sehr viel abgeschwächtere Bandstop-Filtercharakteristik sein. Interessant erscheint, dass nicht alle Vertreter des AN3 in der Art eines Bandstop-Filters reagierten, sondern einige auch einen Tiefpass-Filter aufwiesen. Beide rMTF-Filter traten in einer konsistenten Kombination mit tMTF-Filtern auf (Bandstop/Bandpass und Tiefpass/Tiefpass, vgl. Abb. 4.4).

Im medialen Kern der oberen Olive von Fledermäusen konnte gezeigt werden, dass für die Tiefpass-Eigenschaften der Neurone eine gegenüber der Exzitation verzögert auftretende Inhibition von Bedeutung sein kann (Grothe, 1994; Grothe und Sanes, 1994). Verzögerte Inhibitionen konnten bei den in der vorliegenden Studie untersuchten Neuronen bisher nicht identifiziert werden. Es ist allerdings nicht ausgeschlossen, dass auch eine solche zeitliche Beziehung existiert. Ein Nachweis würde eine Erweiterung der bis-

her angewandten Methoden erfordern. Zum einen wären Strominjektionen notwendig, um intrinsische Eigenschaften von Netzwerkeigenschaften separierbar zu machen. Durch den Einsatz pharmkologischer Substanzen ließen sich inhibitorische Eingänge ausschalten. Ebenso könnten auch Modellrechnungen Hinweise liefern, worauf die Unterschiede des AN3 basieren, zumal potentiell eher wenige Parameter abweichende Werte aufweisen sollten (vgl. Llano und Feng (2000)).

Das AN1, welches ebenfalls Tiefpass-Eigenschaften zeigte, erhält erregende Eingänge vom BGN1 (Marquart, 1985a; Franz, 2004). Da die Filtereigenschaften dieser beiden Zellen zwischen einzelnen Vertretern vergleichbar waren, erscheint es denkbar, dass in diesem Fall Filtereigenschaften einfach weitergereicht werden. Die Frage nach deren Entstehung würde dadurch natürlich nur um eine Verarbeitungsebene verschoben werden. Das AN1 erhält zusätzlich auch erregende Eingänge vom SN2 und vom TN2. Während letztere Zelle in der vorliegenden Studie nicht untersucht wurde, zeigte das SN2 ebenfalls eine Tiefpass-Filtercharakteristik. Angemerkt sei außerdem, dass eine hemmende synaptische Verbindung zwischen dem SN1 und dem AN1 nachgewiesen wurde (Marquart, 1985a). Diese Inhibition dürfte sich allerdings nur wenig ausgewirkt haben, da sie erst bei höheren Reizintensitäten wirksam werden sollte. Dieses Beispiel zeigt, welche vielfältigen Interaktionsmöglichkeiten sich aufgrund der Vernetzung bereits auf dieser Verarbeitungsebene der auditorischen Bahn ergeben können.

Lediglich ein Vertreter des SN1 ließ eine Bandpass-Filter erkennen. Dieses Verhalten war bei einem zweiten untersuchten Vertretern nur sehr schwach ausgeprägt, so dass diese Zelle, auf der Grundlage der gewählten Kriterien, als Allpass-Filter eingestuft wurde. Für das SN1 wurden Mehrlingsneurone beschrieben (Marquart, 1985a). Damit kann nicht ausgeschlossen werden, dass die Abweichungen aus der Betrachtung verschiedener ‚Varianten‘ resultierte.

Für Neurone des Inferior colliculus wurde ein Modell vorgeschlagen, bei dem ein Bandpass der rMTF aus einer Koinzidenzdetektion synchronisierter exzitatorischer Eingänge resultiert (Hewitt und Meddis, 1994). In diesem Modell wird angenommen, dass ein nachgeschaltetes Neuron dann am stärksten antwortet, wenn die Eingänge maximal synchronisiert sind und da-

mit das Maximum der Input-tMTF in ein Maximum der rMTF konvertiert. Die beste Modulationsfrequenz, zumindest einiger getesteter Rezeptoren, korrespondierte mit der besten Modulationsfrequenz der rMTF des SN1, was ein solches Modell auch für das hier untersuchte System möglich erscheinen lässt. Diese Hypothese wird durch die beschriebene starke Synchronisation der Spikeantworten der Rezeptoren bei einer Stimulation mit zeitlich strukturierten Signalen unterstützt (Ronacher und Römer, 1985; Lang, 1996). Studien von Fortune und Rose (1997, 2000) im Torus semicircularis des Elektrischen Fisches *Eigenmannia* zeigen, dass nicht nur Netzwerkeigenschaften sondern auch passive und aktive Membraneigenschaften sowie synaptische Plastizität die Filtereigenschaften von Neuronen entscheidend beeinflussen können. Auch diese Ebene der Betrachtung könnte einen wichtigen Beitrag zum Verständnis der hier beschriebenen Filtereigenschaften liefern.

### **Bedeutung der Ratenfilter für die Informationsverarbeitung**

Zwei Faktoren sind wichtig, wenn man den Beitrag von Ratenfiltern für die Informationsverarbeitung abschätzen will: die Stärke der Änderung der Spikerate und der Frequenzbereich, in dem sie sich vollzieht. Im Fall einer starken Änderung der Spikerate und einem kleinem dynamischem Bereich (Abb. 4.5) kann zwar eine gute Unterscheidbarkeit der Modulationsfrequenzen erreicht werden, jedoch auf Kosten des Gesamtbereichs, der dem System zur Verfügung steht. Der Bereich ließe sich erweitern, wenn die Information mehrerer Neurone einbezogen wird, die gestaffelte Filter aufweisen. Eine solche Vorstellung entspricht einem Filterbankmodell und wurde auf der Grundlage von Untersuchungen an Katzen für den Colliculus inferior vorgeschlagen (Langner, 1992). Neurone dieser Verarbeitungsebene zeigen Bandpass-Eigenschaften, wobei einzelne Neurone eine scharfe Abstimmung auf bestimmte unterschiedliche Modulationsfrequenzbereiche aufweisen (Langner und Schreiner, 1988). Die aufsteigenden Interneurone der Feldheuschrecken vermittelten ein anderes Bild: sie zeigten entweder Tiefpass- oder Bandstop-Filtereigenschaften und die Änderung der Spikerate vollzog sich für die meisten Zelltypen in einem sehr ähnlichen Bereich (Abb. 4.3 und Abb. 4.5). Dieses

Verhalten bedingt, dass ein nachgeschaltetes System bestimmte Modulationsfrequenz nicht eindeutig von einer vermittelten Spikerate ableiten kann, wie es für eine Filterbank der Fall wäre. Angemerkt sei außerdem, dass die Neurone, abgesehen vom AN4, zumeist nur eine sehr schwache Filtercharakteristik aufwiesen. Je flacher eine Filterkennlinie ist, desto längere müsste ein nachgeschaltetes Neuron integrieren, um verschiedene Amplitudenmodulationen anhand der Spikerate unterscheiden zu können. Da sensorische Systeme auf eine möglichst schnelle Erkennung ausgerichtet sein sollten, wirkt sich dies limitierend aus.

Die Unterdrückung der Spikeantwort des AN4 tritt in einem Bereich auf, der weitgehend der Amplitudenmodulation einzelner Pulse einbeinig singender Männchen von *C. biguttulus* entspricht. Dieses bereits durch eine Störpausenvariation beschriebene Verhalten (Stumpner, 1988; Franz, 2004) könnte eine Lückendetektion ermöglichen (vgl. Ronacher und Stumpner (1988)). Es wäre denkbar, dass sich die Bandstop-Filtercharakteristik des AN3 hierbei unterstützend auswirkt, da die minimalen Spikeraten in einem ähnlichen Bereich auftraten wie beim AN4. (Für das AN11 kommt dies aufgrund der abweichenden Intensitätsabhängigkeit der Antwort kaum in Frage (vgl. Stumpner und Ronacher (1991)). Um jedoch eine eindeutige Information über diesen Musterparameter zu liefern, müsste zumindest ein zweites Neuron als Intensitätsreferenz in die Auswertung mit einbezogen werden.

Betrachtet man jedoch natürliche Signale, so stellt sich die Situation komplexer dar, insofern Überlagerungen verschiedener Modulationsfrequenzen auftreten. So enthält etwa der Gesang eines einbeinig singenden Männchens (vgl. Abb. 6.25) nicht nur Modulationsfrequenzen von 70 Hz (durch Lücken innerhalb der Silben) sondern auch Modulationsfrequenzen von etwa 10 Hz (bei einem Silben-Pausen Muster von 80 zu 20 ms). Das AN4 reagierte auf die Gesänge einbeinig singender Männchen trotz der enthaltenen effektiven Modulationsfrequenz von 10 Hz (Abb. 4.3: AN4<sub>5</sub>) mit einer stark abgesenkten Spikerate (Abb. 6.25). Um die Bedeutung der Filter-Eigenschaften der Zellen im natürlichen Kontext zu verstehen, wären demnach weitere Analysen notwendig, wobei nicht nur die Modulationsfrequenzen sondern auch andere Parameter, die offenbar für die Bewertung von entscheidender Bedeutung

sind, wie etwa die Ansteigsteilheit und der Duty-Cycle einbezogen werden müssen (Franz, 2004).

Verhaltensversuche zeigen, dass die Analyse und Bewertung eines Gesangs nicht auf der Frequenzebene sondern auf der Zeitebene erfolgt (von Helversen und von Helversen, 1998; Schmidt et al., 2008). Auch die Ergebnisse der neurophysiologischer Untersuchungen von Schmidt (2007) und Clemens (2007) lassen eine Frequenzanalyse als sehr unwahrscheinlich erscheinen. Im Vergleich zu Vertebraten sind die zur Verfügung stehenden Kapazitäten des auditorischen Systems der Feldheuschrecken sehr begrenzt - dass in diesem System primär die zeitliche Struktur der Muster analysiert wird, überrascht von daher nicht.

### 8.2.3 Unterscheidbarkeit sinusförmig amplitudenmodulierter Stimuli

Modulationstransferfunktionen quantifizieren die Stärke der zeitlichen Ankopplung bzw. die Spikerate in Abhängigkeit von der Modulationsfrequenz - inwieweit einzelne Amplitudenmodulationen auf der Grundlage der Antworten noch unterscheidbar sind, lässt sich hieraus jedoch nur bedingt ableiten. Eine Unterscheidbarkeit wird wesentlich durch die *Zuverlässigkeit* der Antwort limitiert. Dieser Aspekt lässt sich aus den Modulationstransferfunktionen nicht ablesen. Ebenso wenig ist gesichert, dass die Zeitfenster in denen das Auftreten von Spikes für die Erstellung der MTF bewertet wird, die Periodendauern bzw. die komplette Stimulusdauern, tatsächlich von einem nachgeschalteten System genutzt werden (Joris et al., 2004; Malone et al., 2007).

Um der Frage nach einer Unterscheidbarkeit der Amplitudenmodulationen nachzugehen, wurden die Antworten auf die Amplitudenmodulationen unterschiedlicher Frequenz auf der Grundlage metrischer Spiketrain-Distanzen klassifiziert<sup>2</sup>.

---

<sup>2</sup> Dieser Teil basiert auf Wohlgemuth und Ronacher (2007)

Alle untersuchten Neurone zeigten bezüglich der korrekten Zuordnung Tiefpass-Eigenschaften (Abb. 5.5). Die korrekte Zuordnung der Antworten auf niedrige Modulationsfrequenzen korrespondiert damit in vielen Fällen nicht mit den gemessenen Vektorstärken. Ein Vertreter des AN3 zeigte etwa in der tMTF eine Bandpass-Filtercharakteristik und die Vektorstärke lag bei einer Modulationsfrequenz von 10 Hz nur bei 0,05 - trotzdem wurden die Antworten auf diese Modulationsfrequenz zu 100% korrekt zugeordnet. Umgekehrt erreichte hier ein AN1 eine hohe Vektorstärke von 0,7, jedoch nur eine korrekte Zuordnung der Antworten von 70% (vgl. Abb. 4.3).

Die Grenzfrequenzen der korrekten Zuordnung wiesen deutliche Unterschiede zwischen den einzelnen Zelltypen auf. Während sich die Antworten der Rezeptoren und der lokalen Interneurone TN1 und SN1 auf Modulationsfrequenzen von über 150 Hz noch nahezu perfekt zuordnen ließen, war dies bei den aufsteigenden Interneurone nur bis hin zu Modulationsfrequenzen von  $\leq 83$  Hz der Fall. Das lokale Interneuron BGN1 nahm diesbezüglich eine Zwischenstellung ein. In den Grenzfrequenzen der korrekten Zuordnung spiegeln sich bei den meisten Neurone die über die Vektorstärke quantifizierten Grenzen der zeitlichen Ankopplung wieder. Einzelne Neurone ließen jedoch auch hier Abweichungen erkennen (Abb. 5.18), die im Zusammenhang mit Änderungen der Spikeraten und der Zuverlässigkeit der Antworten stehen dürften.

Betrachtet man die über alle Modulationsfrequenzen erreichte korrekte Zuordnung der Spiketrains, so zeigen sich für die aufsteigenden Interneurone nicht nur niedrigere Werte als für die lokalen Interneurone, sondern für diese Leistung werden längere Auswertzeitfenster bzw. mehr Spikes benötigt (Abb. 5.8 und Abb. 5.9). Innerhalb der aufsteigenden Interneurone erzielten die richtungskodierenden Interneurone die geringste Unterscheidbarkeit, was die funktionellen Bedeutung dieser Zellen in einem anderen Kontext als Musterverarbeitung entspricht (Ronacher et al., 1986; Ronacher und Stumpner, 1993; Hennig et al., 2004).

Welche Schlussfolgerungen lassen sich aus diesen Ergebnissen ziehen?



Die Klassifikation der Antworten der aufsteigenden Interneurone vermittelt auf den ersten Blick den Eindruck, dass einem nachgeschalteten System keinerlei Information mehr über das Vorhandensein von Modulationsfrequenzen  $\leq 83$  Hz zur Verfügung steht (Abb. 5.3). Tatsächlich ließen sich die einzelnen hohen Modulationsfrequenzen anhand der Antworten nicht mehr perfekt unterscheiden. Allerdings wurde hier ein anderes Klassifikationsschema sichtbar (vgl. Abb. 5.4): die Antworten des AN4 auf MF von 83 bis 167 Hz wurden zu einer distinkten Klasse zusammengefügt, die sich sowohl gegenüber niedrigeren als auch gegenüber höheren Modulationsfrequenzen abgrenzen ließ. Im Vergleich zur Peripherie vollzieht sich hier also eine sehr viel gröbere Einteilung, die sich natürlich als Informationsverlust werten lässt, den letztendlichen Anforderungen an das System und einer kostengünstigen Übertragung (Laughlin et al., 1998; Schreiber et al., 2002) aber möglicherweise gerechter wird.

### 8.3 Der Einfluß der Modulationstiefe

Eine Reihe von natürlichen Signalen weisen nur relativ kleine Schwankungen der Amplitudenmodulationen auf - sofern diese noch relevante Information tragen, sollte ein auditorisches System eine entsprechende Empfindlichkeit aufweisen. Auch innerhalb der Silben des Gesangs der Männchen von *C. biguttulus* treten im Normalfall nur relativ geringe Modulationstiefen auf. Zwar lassen die Auf- und Abbewegungen der Hinterbeine einzelne Pulse entstehen, deren Pausen werden jedoch durch eine Phasenverschiebung der Stridulationsbewegungen beider Hinterbeine verschmiert. Die ‚Pausen‘ zwischen den Silben sind ebenfalls nicht völlig lautlos sondern mehr oder weniger stark verrauscht, da die Tiere mit einem Hinterbein weiter stridulieren (Elsner, 1974). Beide Merkmale, die Modulationstiefe innerhalb der Silbenpausen und die Modulationstiefe innerhalb der Silben, werden von den Weibchen bewertet (Kriegbaum, 1989; Balakrishnan et al., 2001).

Berücksichtigt werden muss auch, dass die effektiven Modulationstiefen des Signals im natürlichen Habitat durch externe Rauschquellen und degradierende Einflüsse, wie Streuung und Reflexion, mit zunehmender Entfernung

stark reduziert werden (Lang, 2000).

Indem die Modulationstiefe der sinusförmigen Amplitudenmodulationen variiert wurde, konnte die Empfindlichkeit der Neurone gegenüber diesem Signalparameter charakterisiert werden. Als Messgröße wurde die Modulationstiefe bestimmt, bei der erstmals eine signifikante Ankopplung der Spikes an die Stimulusperiode auftrat (Viemeister, 1979).

Die lokalen Interneurone SN1, SN2 und TN1 zeigten mit einer minimalen Modulationsschwelle (MMS) von zum Teil unter -35 dB, was einer Modulation von weniger als 2% entspricht, eine extrem hohe Empfindlichkeit gegenüber Schwankungen der Amplitude (Abb. 4.13). Solche hohen Werte wurden in Verhaltensstudien nur für wenige Systeme, wie etwa die Schleiereule, beschrieben (Dent et al., 2002).

Von diesen lokalen zu den aufsteigenden Interneuronen war eine Abnahme der Empfindlichkeit zu verzeichnen. So lag die MMS bei letzteren mehrheitlich bei -20 dB. Prinz und Ronacher (2002) beschrieben für die Rezeptoren von *L. migratoria* eine vergleichbare Empfindlichkeit für Amplitudenmodulationen, wobei einzelne Rezeptoren jedoch auch Werte zwischen -27 und -32 dB erreichten.

Die Zunahme der MMS von den Rezeptoren zu den lokalen Interneuronen deutete Franz (2004) als Resultat einer konvergenten Verschaltung. Zwischen den nächsten beiden Verarbeitungsebenen ist aufgrund der etwa ähnlichen Anzahl der Elemente von einer weniger stark ausgeprägten Konvergenz auszugehen - die Empfindlichkeit blieb hier jedoch nicht konstant, sondern nahm ab. Ein möglicher Grund könnte darin bestehen, dass alle betrachteten aufsteigenden Interneurone nicht nur exzitatorische sondern auch inhibitorische Eingänge erhalten und komplexere Intensitätsabhängigkeiten der Antworten aufweisen (vgl. Stumpner und Ronacher (1991)).

In der Literatur wurde ein Trade-Off zwischen der minimalen Modulationsschwelle und dem zeitlichen Auflösungsvermögen von Neuronen postuliert. Für die hier untersuchten Neurone ließ sich ein derartiger Zusammenhang nicht feststellen. Die Befunde aus verschiedenen Systemen sind

diesbezüglich allerdings auch nicht einheitlich. Während in einigen Studien ein Zusammenhang zwischen der Empfindlichkeit und dem zeitlichen Auflösungsvermögen der Neurone nachgewiesen wurde (Dooling und Searcy, 1981; Dunia und Narins, 1989; Viemeister, 1979), trat in anderen keine derartige Korrelation auf (Gleich und Klump, 1995; Prinz und Ronacher, 2002; Franz, 2004).

Neben der Abhängigkeit der zeitlichen Ankopplung der Spikes von der Modulationstiefe sollte außerdem der Frage nachgegangen werden, welchen Einfluss diese Testgröße auf die Stärke der Änderung der Spikerate hat. Dazu wurde die rMTF für die verschiedenen Modulationstiefen erstellt. Anhand eines Schwellenkriteriums ließ sich quantifizieren, welche Modulationstiefen notwendig waren, um in dem getesteten Bereich der Modulationsfrequenzen eine Änderung der Spikerate zu bedingen.

Zwei Ergebnisse erscheinen hier besonders bemerkenswert (Abb. 4.12): Erstens, für die Mehrzahl der Zellen traten erst bei Modulationstiefen von über 50% eine signifikante Änderungen der Spikerate auf, und zweitens, ließ sich bezüglich dieser Kenngröße kein systematischer Unterschied zwischen den einzelnen Zelltypen feststellen. Die Mechanismen, die eine Änderung der Spikerate mit der getesteten Modulationsfrequenz bedingen können, werden offenbar erst bei starken Schwankungen der Amplitude wirksam. Betrachtet man diese Filtereigenschaften als Resultat eines sehr präzisen zeitlichen Zusammenspiels von Inhibitionen und Exzitationen, so könnten sich hier bereits die Eigenschaften der Rezeptoren limitierend auswirken. Machens et al. (2001b) zeigten für die Rezeptoren, dass Stimuli mit kleinen Modulationstiefen zu einem geringeren Signal-Rausch-Verhältnis führen als Stimuli, die große Modulationstiefen aufweisen (siehe auch Rokem et al. (2006)). Die Autoren schlussfolgerten, dass die im Verhalten beobachtete Ablehnung der Weibchen gegenüber einbeinig singenden Männchen (Kriegbaum und von Helversen, 1992), nur auf der Grundlage der Auswertung eines im Nahbereich produzierten Gesangs erfolgen kann, da die Lücken mit zunehmender Entfernung zu stark maskiert werden. Unter der Annahme, dass die Lückendetektion durch die Filtereigenschaften des AN4 vermittelt wird (Stumpner,

1988), kann diese Hypothese durch die vorliegenden Ergebnisse gestützt werden. Hinweise könnten diesbezüglich Verhaltensversuche an den Weibchen liefern, bei denen der Einfluss von Rauschen auf die Attraktivität von Gesängen einbeinig singender Männchen untersucht wird.

Inwieweit decken sich die Ergebnisse der Auswertung der tMTF und der rMTF bei unterschiedlichen Modulationstiefen mit einer Analyse der Unterscheidbarkeit bei unterschiedliche Modulationstiefen?

Die bereits erörterten Resultate spiegelten sich auch hier wider (Abb. 6.23). Zwischen den einzelnen Zelltypen wurden deutliche Unterschiede in dem Ausmaß der Abnahme der korrekten Zuordnung mit abnehmender Modulationstiefe sichtbar. Gleichzeitig reduzierte sich die Unterscheidbarkeit auf der Grundlage von Spikezahlunterschieden besonders stark. Neben den Modulationsfrequenz ist die Modulationstiefe eines Stimulus für die hier untersuchten Neurone offenbar von entscheidender Bedeutung für deren Filtereigenschaften.

## 8.4 Optimale zeitliche Auflösung und Variabilität der Spikeantworten

Eine Reihe von Studien widmet sich der Frage, ob das präzise zeitliche Auftreten von Spikes oder die durchschnittliche Spikerate genutzt wird, um Information über einen Stimulus zu übertragen (Softky und Koch, 1993; Rieke et al., 1997; Shadlen und Newsome, 1998). Diese Frage lässt sich häufig nicht eindeutig beantworten, zum Teil wegen möglichen Doppeldeutigkeiten der Ergebnisse, die es erschweren, zwischen beiden Hypothesen zu unterscheiden. Ein nützlicher Ansatz mag darin bestehen, die Zeitskala zu bestimmen, die geeignet ist, um neuronale Signale in Antwort auf verhaltensrelevante Stimuli auszulesen (de Ruyter van Steveninck und Bialek, 1988; Rieke et al., 1997; Chichilnisky und Kalmar, 2003; Narayan et al., 2006). Die Spiketrain-Metrik definiert über den freien Parameter  $\tau$  die zeitliche Auflösung der Auswertung von Spiketrains und erlaubt damit die Unterscheidbarkeit bei unterschiedlichen Werten zu analysieren. Abhängig von  $\tau$  bewegt sich das Distanzmaß zwischen dem Extrem eines Koinzidenzdetektors, für  $\tau \rightarrow 0$  und einer reinen Spikezahlunterscheidung, für  $\tau \rightarrow \infty$  (van Rossum, 2001). Für die Rezeptoren wurde eine für die Unterscheidbarkeit der Gesänge optimale zeitliche Auflösung der Spiketrains von 2-10 ms gemessen (Machens, 2002). Diese Zeitskala ist offenbar lang genug, um Rauschen bedingt durch den Jitter der Spikezeitpunkte herauszumitteln und gleichzeitig kurz genug, um einen signifikanten Verlust der zeitlichen Struktur zu unterbinden. Für einige lokalen Interneurone (TN1, SN1, SN3 und SN4) ergab sich ein sehr ähnlicher optimaler Bereich der zeitlichen Auflösung wie für die Rezeptoren, bei den lokalen Interneuronen SN2 und BGN1 war eine leichte Verschiebung des minimalen  $\tau$  zu höheren Werten zu verzeichnen. Insgesamt kann festgehalten werden, dass die zeitliche Struktur des Spiketrains der lokalen Interneurone offenbar noch eine nahezu optimale Dekodierung des Amplitudenverlaufs des Signals erlaubt. Für die aufsteigenden Interneurone wurden insgesamt betrachtet signifikant höhere minimale  $\tau$ -Werte gemessen ( $\tau_{\min}$  : Abb. 6.6, 7.9 und Tab. 7.2).

Die optimale zeitliche Auflösung kann durch die Präzision des zeitlichen Auftretens der Spikes limitiert werden. Vogel et al. (2005) zeigten, dass die

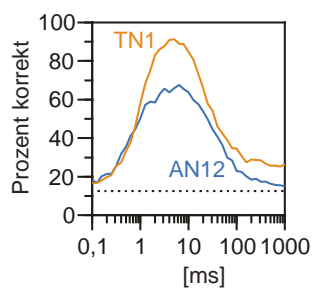
Antwortvariabilität von den lokalen zu den aufsteigenden Interneuronen zunimmt. Diese Beobachtung passt zwar zu der hier beschriebenen Zunahme der optimalen zeitlichen Auflösung, jedoch kann ein direkter Zusammenhang aus zwei Gründen nur bedingt hergestellt werden. Erstens, nutzten Vogel et al. (2005) Stimuli mit konstanter Amplitude. In der Literatur wird oftmals postuliert, dass sich die Art des getesteten Reizes im Sinne seiner Effektivität positiv auf die Zuverlässigkeit der Antwort auswirkt (Rieke et al., 1997). Die Ergebnisse sind diesbezüglich jedoch nicht immer übereinstimmend (vgl. de Ruyter van Steveninck et al. (1997) und Warzecha und Egelhaaf (1999)), zumal selbst ein konstanter Stimulus unterschiedlich präsentiert werden kann. Um den von Vogel et al. (2005) beobachteten Unterschied zwischen den Verarbeitungsebenen auszugleichen, müsste die Effektivität der getesteten Gesänge für die Zellen grundsätzlich gegensätzlich sein, was aufgrund der hierarchischen Informationsverarbeitung sehr unwahrscheinlich ist. Ein zweiter Punkt ist für eine Vergleichbarkeit allerdings durchaus kritisch. Die Unterschiede zwischen den Verarbeitungsebenen bezogen sich vor allem auf die Interspike-Intervall-Variabilität im Verlauf *einer* Reizdarbietung. Für die Analyse der vorliegenden Studie ist jedoch die trial-to-trial Variabilität ausschlaggebend. Vogel et al. (2005) quantifizierten diesbezüglich die Variabilität der Spikezahlen anhand des Fano-Faktors und zeigten, dass die aufsteigenden gegenüber den lokalen Interneuronen eine signifikant höhere Antwortvariabilität aufweisen. Dieser Unterschied basiert allerdings auf einer höheren Spikezahl-Variabilität der richtungskodierenden aufsteigenden Interneurone - die musterkodierenden ließen gegenüber den lokalen Interneuronen keine Abweichungen erkennen.

Eine Analyse der Antworten auf die Gesänge ergab keinerlei signifikante Unterschiede des gemessenen Fano-Faktors, weder zwischen den Verarbeitungsebenen noch zwischen den funktionell separierten Interneuronen (Abb. 6.20). Innerhalb der richtungskodierenden Interneurone zeigte das AN2 zwar eine besonders hohe Antwortvariabilität, die Spikezahl-Variabilität des AN1 war hingegen vergleichbar mit der von musterkodierenden Interneuronen. Der Fano-Faktor lag im Mittel bei einem Wert um 0,2 und damit weit unter der für einen Poisson-Prozess erwarteten Variabilität und gleichzeitig im Bereich

der Ergebnisse von Vogel et al. (2005).

Eine wichtige Frage war, inwieweit sich der Jitter der Spikezeitpunkte zwischen den untersuchten Neuronen unterschied. Die Unterschiede des optimalen zeitlichen Auflösungsparameters lassen dies erwarten, wobei angemerkt sei, dass beide Aspekte nicht exakt das gleiche betrachten (Chichilnisky und Kalmar, 2003). Die lokalen Interneurone SN1, SN3 und TN1 ließen einen extrem niedrigen Jitter der Spikezeitpunkte erkennen. So lag der Peak der Verteilung für das TN1 unter 0,3 ms, was vergleichbar mit den für Rezeptoren beschriebenen Werten ist (Rokem et al., 2006). Vertreter des lokalen Interneurons BGN1 sowie auch aufsteigenden Interneurone zeigten dagegen eine deutlich höheren Jitter der Spikezeitpunkte. Lediglich das AN12 ließ eine vergleichsweise hohe zeitliche Präzision in der Spikeantwort erkennen. Der gemessene Jitter der Spikezeitpunkte korrelierte mit dem minimalen  $\tau$  einer optimalen Unterscheidbarkeit, was auf den starken Einfluß dieser Kenngröße hinweist.

Eine hohe Antwortvariabilität wirkt sich negativ auf eine erreichbare Unterscheidbarkeit aus, da Unterschiede zwischen den Stimuli in der neuronalen Variabilität untergehen können (vgl. künstlich zugefügter Jitter Abb. 5.15). Die Abnahme der erreichten Unterscheidbarkeit bei den aufsteigenden Interneuronen ist jedoch nicht alleine auf deren höhere Antwortvariabilität zurückzuführen. So zeigte etwa das AN12 eine hohe Präzision der Spikezeitpunkte und auch eine geringe Spikezahl-Variabilität. In Abbildung 8.2 ist die korrekte Zuordnung der Spiketrains eines AN12 und eines TN1 als Funktion des zeitlichen Auflösungsparameters  $\tau$  aufgetragen. Obwohl für beide Zellen der



**Abbildung 8.2:** VERGLEICH DES ANTEILS KORREKT ZUGEORDNETER SPIKETRAINS IN ABHÄNGIGKEIT VOM ZEITLICHEN AUFLÖSUNGSPARAMETERS  $\tau$ . Antworten eines lokales Interneuron TN1 und aufsteigendes Interneuron AN12 auf die Reskalierten Gesänge (*C. biguttulus*).

optimale  $\tau$ -Bereich nahezu identisch war, erreichte das AN12 einen deutlich geringeren Anteil korrekt zugeordneter Spiketrains als das TN1. Ausschlaggebend hierfür dürften die unterschiedlichen Kodierungseigenschaften dieser beiden Zellen sein. Während das TN1 den Amplitudenverlauf des Gesangs in einer Modulation der Spikerate abbildet, zeigt das AN12 eine Spezialisierung auf bestimmte zeitliche Aspekte des Reizes. Diese Zelle markiert lediglich den Onset der Silben mit einem Burst, wobei offenbar die Dauer und Tiefe der vorangehenden Stimuluspause sowie die Stärke des Onsets kodiert werden, der Amplitudenverlauf des hinteren Teils einer Silbe hingegen deutlich schlechter in der Antwort repräsentiert ist (vgl. Abb. 6.15 und Stumpner (1988); Creutzig (2007)).

Bei einem Wert des zeitlichen Auflösungsparameters  $\tau$  von 1000 ms basiert die Unterscheidbarkeit ausschließlich auf Spikezahlunterschieden, die Information über Spikezeitpunkte geht hier verloren. Wie bereits erörtert, reagierten das lokale Interneuron BGN1 und aufsteigende Interneurone auf die sinusförmig amplitudenmodulierten Stimuli bei verschiedenen Modulationsfrequenzen mit unterschiedlichen Spikeraten. Dieses Verhalten bedingte, dass je nach Zelltyp auch noch auf der Grundlage von Spikezahlunterschieden eine korrekte Zuordnung der Spiketrains von 20 bis 50% erreicht wurde (Abb. 5.11 und Abb. 5.12).

Inwieweit spiegelte sich dieses Bild in den Antworten auf die Gesänge wider? Es zeigte sich kein Zusammenhang zwischen der erreichten Unterscheidbarkeit der Zellen auf der Grundlage von Spikezahlunterschieden zwischen den getesteten Stimulus-Ensembles (Abb. 6.21). Dies ist aus zwei Gründen nicht verwunderlich: die Ratenfilter wurden zum einen nur in einem bestimmten Frequenzbereich und bei starken Modulationstiefen wirksam. Wichtiger noch, während in dem einen Fall verschiedene Modulationsfrequenzen und auch -tiefen systematisch auf eine Unterscheidbarkeit hin getestet wurden, waren die Unterschiede zwischen den Gesängen bezüglich dieser Reizparameter minimal.

Eine starke Abnahme der Spikerate, wie sie beim AN4 bei bestimmter Mo-



dulationsfrequenzen auftrat, lässt gleichzeitig eine Zunahme der Variabilität der Spikezeitpunkte erwarten. Tatsächlich war auch das optimale  $\tau$  für die Unterscheidbarkeit der sinusförmig amplitudenmodulierten Stimuli deutlich höher als für die der Gesänge. Alle anderen Zellen ließen hingegen eine weitgehende Übereinstimmung dieser  $\tau$ -Werte zwischen den getesteten Stimulus-Ensembles erkennen ( $\tau_{\min}$  : Abb. 6.21 und Abb. 5.16). Darin zeigt sich, dass der Optimalwert dieses zeitlichen Auflösungsparameters nicht direkt vom Stimulus-Ensemble abhängt sondern vielmehr wesentliche Eigenschaften der Zellen reflektiert.



# Kapitel 9

## Von den weiblichen Präferenzen zur neuronalen Klassifikation

Das Ziel der Verhaltensversuche bestand darin, die Verteilung der Attraktivität der Gesänge zu erfassen, um einen Zusammenhang zu der Unterscheidbarkeit auf der Grundlage der neuronalen Antworten herstellen zu können. Beide Versuche wurden vor dem Hintergrund einer sexuellen Selektion anhand von Gesangsmerkmalen konzipiert.

Bevor die Ergebnisse der Verhaltensversuche diskutiert werden, soll zunächst erörtert werden, ob (i) das Antwortverhalten der Weibchen von *C. biguttulus* auf Attrappengesänge grundsätzlich Rückschlüsse auf eine sexuelle Selektion erlaubt und (ii) welche Art von Aussagen sich aus den gewonnenen Verhaltensdaten ableiten lassen und wie diese im Zusammenhang mit den neuronalen Daten zu betrachten sind.

(i) Nach Searcy und Andersson (1986) müssen zwei Kriterien erfüllt werden, um eine sexuelle Selektion von Gesangsmerkmalen durch eine Weibchen-Wahl zeigen zu können: Erstens, dass die Weibchen bestimmte Gesangsmerkmale präferieren und zweitens, der Paarungserfolg der Männchen mit Merkmalen ihrer Gesänge korreliert. Letzteres könne lediglich im Freiland nachgewiesen werden.

Beide Kriterien konnten bei *C. biguttulus* erfüllt werden (von Helversen und

von Helversen, 1994): Die Präferenzmuster der *C. biguttulus*-Weibchen ließen sich mit Hilfe einer Vielzahl von Attrappenexperimenten beschrieben (von Helversen, 1972; von Helversen und von Helversen, 1997; Balakrishnan et al., 2001) Laborexperimente zeigen außerdem einen positiven Zusammenhang zwischen der Zahl der Kopulationen, die ein Männchen erzielte und den in anschließenden Attrappenversuchen bestimmten Attraktivitätswerten seines Gesangs (Klappert und Reinhold, 2003). Der Nachweis einer Korrelation zwischen Merkmalen der Gesänge der Männchen und deren Paarungserfolg gestaltete sich unter Freilandbedingungen nicht nur schwieriger sondern vor allem sehr aufwendig: Kriegbaum (1989) markierte mehr als 1600 Männchen individuell in einer Freilandpopulation. Der Hälfte der Männchen wurde eines der beiden Hinterbeine entfernt. (Unter natürlichen Bedingungen werfen die Tiere häufig ein Bein bei einem Angriff durch Prädatoren ab). Die Folge ist eine Änderung des von ihnen produzierten Gesangsmusters: innerhalb der Silben treten ‚Lücken‘ auf. Die Zahl der beobachteten Kopulationen fiel für die einbeinig singenden Männchen deutlich geringer aus als für die zweibeinigen Männchen.

Zusammenfassend sprechen also eine Reihe von Evidenzen dafür, das Antwortverhalten der Weibchen von *C. biguttulus* vor dem Hintergrund einer sexuellen Selektion zu betrachten, auch wenn diese in der vorliegenden Arbeit nicht explizit getestet werden konnte.

(ii) Als nächstes soll diskutiert werden, welche Schlußfolgerungen, sich aus den in dieser Arbeit durchgeführten Verhaltensversuchen ziehen lassen. Dies ist wichtig, da die Versuche, wie eingangs erwähnt, einem bestimmten Ziel dienten: einen Vergleich zur Unterscheidbarkeit anhand der Spiketrains herzustellen. Attrappen-Experimente liefern eine hervorragende Möglichkeit die Präferenzfunktionen einer Weibchen-Wahl zu erfassen. Dabei werden zwei verschiedene methodischen Ansätzen genutzt: (1) ‚choice‘-Tests, bei denen die Wahl eines von zweien oder mehreren alternativen Stimuli erfasst wird und (2) ‚single-stimulus‘- Tests, bei denen die Antworten der Weibchen auf einen Stimulus gemessen werden. Die Ergebnisse dieser beiden verschiedenen Versuchsansätze sind nicht unbedingt in gleicher Weise zu interpretieren

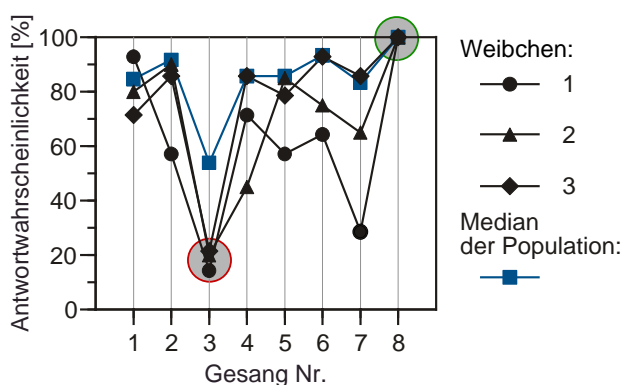
und unter Umständen kritisch beim Ergründen des vorliegenden Selektionstyps (Wagner, 1998; Bush et al., 2002). Bei der Auswahl eines Tests ist eine entscheidende Frage, in welcher Weise die Männchensignale von den Weibchen im natürlichen Habitat erfasst werden (Gerhardt und Huber, 2002): Ein ‚choice‘-Test spiegelt eine simultane Bewertung wider, wie sie etwa bei im Chor rufenden Anuren von Bedeutung sein dürfte, während der in der vorliegenden Arbeit verwendete ‚single-stimulus‘-Test bei einer sequentiellen Bewertung geeigneter erscheint, die für die hier untersuchten Heuschrecken eher anzunehmen ist. Beiden Tests gemein ist, dass eine Interpretation der Ergebnisse schwierig wird, wenn zwischen Teststimuli nicht nur ein Merkmalswert variierte, sondern verschiedene, was auf die hier getesteten Gesänge zutraf (vgl. Abb. 7.1). Die Zahl der Antworten der *C. biguttulus*-Weibchen auf einen vorgespielten Gesang kann als Maß für seine Attraktivität gewertet werden. Weichen die Attraktivitätswerte zwischen zwei Gesängen ab, muss dem eine Unterscheidbarkeit zugrunde liegen. Lieferten zwei Gesänge identische Attraktivitätswerte, so lässt sich daraus allerdings nicht ableiten, dass sie als ‚gleich‘ wahrgenommen wurden. Bei *C. biguttulus* erfolgt die Bewertung eines Gesangs offenbar anhand einer Reihe von Merkmalen (von Helversen, 1979; von Helversen und von Helversen, 1994; von Helversen et al., 2004; Schmidt et al., 2008), wobei suboptimale Werte eines Merkmals, durchaus durch optimale Werte eines anderen aufgewogen werden können, wie etwa bereits bei Grillen und Anuren gezeigt (Doherty, 1985; Gerhardt et al., 1996). Dieser Aspekt wird bei der Diskussion der Ergebnisse an späterer Stelle nochmals aufgegriffen.

## 9.1 Die Attraktivität der Gesänge

In den Verhaltensversuchen zeigten sich Unterschiede in der Beantwortung sowohl einzelner Original Gesänge als auch einzelner Reskaliertes Gesänge. Statistisch sichern ließen sich diese jedoch nur zwischen wenigen Gesängen - ein Gesang erwies sich als sehr unattraktiv gegenüber nahezu allen anderen, ansonsten traten nur zwischen einem weiteren Gesangspaar signifikante Abweichungen in der Bewertung auf (Abb. 7.3). Auf den ersten Blick mag dies

den Eindruck einer insgesamt sehr geringen Unterscheidbarkeit der einzelnen Gesänge vermitteln. Wie jedoch bereits einleitend dargestellt, ist ein derartiger Rückschluss nur bedingt zulässig. Berücksichtigt werden muss auch, dass die Weibchen eine hohe interindividuelle Variabilität in den Präferenzen zeigten, die sich für die Bestimmung von Unterschieden in der Population limitierend auswirkte. Dieser Aspekt wird in Abbildung 9.1 am Beispiel von drei Weibchen verdeutlicht. Der jeweils attraktivste und der unattraktivste Gesang waren übereinstimmend. Bezüglich der relativen Bewertung der anderen Gesänge zeigten sich hingegen deutliche Unterschiede zwischen den Weibchen, die sich auch in den sehr breiten Rangverteilungen widerspiegelten (Abb. 7.3). Gleichzeitig wird deutlich, dass einzelne Weibchen sehr viel größere Abweichungen in den Antwortwahrscheinlichkeiten auf die Gesänge erkennen ließen, als der Median der Population.

**Abbildung 9.1:** INTERINDIVIDUELLE VARIABILITÄT DER VERHALTENSREAKTIONEN DER WEIBCHEN. Dargestellt ist die Antwortwahrscheinlichkeit dreier Weibchen auf die acht Reskalierten Gesänge. Die Kreise markieren den attraktivsten und den unattraktivsten Gesang.



Eine hohe interindividuelle Variabilität in den Präferenzen der Weibchen von *C. biguttulus* wurde auch in anderen Studien beschrieben (Balakrishnan et al., 2001; Reinhold et al., 2002; von Helversen et al., 2004).

Balakrishnan et al. (2001) zeigten, dass die Weibchen sehr unterschiedliche Präferenzen hinsichtlich der relativen Onset-Level und Offset-Level der Silben aufweisen. Die Autoren interpretierten die Unterschiede zwischen den Weibchen als interindividuelle phänotypische Variation, da die Präferenzmuster einzelner Weibchen bei Mehrfachtests konsistent waren und keinen Zusammenhang zu den lokalen Ursprungspopulationen der Tiere erkennen ließen. Daraus lässt sich die Hypothese ableiten, dass auch entsprechende

Variationen in den Antworteigenschaften auditorischer Neurone vorhanden sein könnten (Ronacher et al., 2004). Tatsächlich zeigte sich in der vorliegenden Studie auf der neuronalen Ebene ebenfalls eine hohe interindividuelle Variabilität. Für einen expliziten Test dieser Hypothese müssten jedoch individuelle Tiere sowohl im Verhalten als auch in der Elektrophysiologie untersucht werden.

Eine relativ große Streuung in den Reaktionen individueller Weibchen wurde auch bei einer vergleichenden Betrachtung der Antworten auf die Original Gesänge und die jeweiligen Reskalierten Varianten sichtbar (Abb. 7.2). Ein Paarvergleich der Antwortwahrscheinlichkeiten auf die beiden Gesangsvarianten ergab nur bei einem Gesang eine signifikante Abweichung, was jedoch an der begrenzten Stichprobe liegen mag (Abb. 7.4).

Auffällig war, dass auch die relative Bewertung der Gesänge bei beiden Gesangs-Sets Ähnlichkeiten aufwies. So wurde etwa der unattraktivste Gesang trotz der Angleichung der Trägerfrequenzen, der Silben- und Pausendauern und damit der Änderung der Gesamtdauer weiter abgelehnt. Dies deutet darauf hin, dass die schlechte Bewertung dieses Gesangs wesentlich auf den Amplitudenmodulationen innerhalb der Silben basierte.

Auf der Grundlage einer Analyse von zeitlichen Merkmalen der Gesänge sollte untersucht werden, inwieweit sich ein Zusammenhang zwischen Merkmalswerten und den Verhaltensreaktionen herstellen lässt. Die Attraktivität der Gesänge ließ keine eindeutige Abhängigkeit von dem niederfrequenten Anteil der Trägerfrequenzen, den Gesangsdauern und den Silben- und Pausendauern, sowie dem Verhältnis zwischen letzteren erkennen (Abb. 7.5). Alle diese Merkmale sind innerhalb eines bestimmten Wertebereichs für die Erkennung und Beurteilung eines Gesangs von Bedeutung (von Helversen und von Helversen, 1997; von Helversen, 1972; von Helversen und von Helversen, 1994; Klappert und Reinhold, 2003). Bei den Original Gesängen lagen die Dauern von Silben und Pausen, sowie deren Verhältnis weitgehend in einem Bereich, der von den Weibchen gut beantwortet wird (vgl. 7.1 und von Helversen (1979)). Die Gesamtdauern der getesteten Gesänge wiesen mit 2 bis 4 Sekunden starke Unterschiede auf. (von Helversen, 1972) zeigte jedoch,

dass die Antwortwahrscheinlichkeit auf Lautattrappen ab einer Dauer von 2 Sekunden kaum noch zunimmt. Ein starker Einfluss dieser Größen war von daher auch nicht unbedingt zu erwarten. Hinzu kommt, dass die Anzahl der hier getesteten Gesänge und auch der Tiere sehr gering war, wodurch klare Abhängigkeiten nur schwerlich feststellbar sein dürften.

Balakrishnan et al. (2001) beschrieben, dass die Weibchen einen starken Onset-Level am Silbenbeginn präferieren. Die Antwortwahrscheinlichkeit korrelierte hingegen bei keinem der hier getesteten Weibchen mit dem mittleren Onset-Level der Gesänge. Ausschlaggebend dürfte die, im Vergleich zur Studie von Balakrishnan et al. (2001), sehr viel schmalere Verteilung der Onset-Level sein und wichtiger noch, dass die Weibchen diesbezüglich eine gerichtete Selektion auf ‚supernormale Stimulusmerkmale‘ zeigen. Erst ein Onset-Level von über 12 dB führt zu einer starken Zunahme der Antwortwahrscheinlichkeit der Weibchen - eine Analyse von Männchengesängen ergab einen Maximalwert von nur etwa 11 dB (von Helversen et al., 2004). Der Maximalwert des Onsets lag in der vorliegenden Studie nur bei 7 dB. Das Bewertungssystem der Weibchen ist allerdings weitaus komplexer als es diese isolierte Betrachtung eines Parameters suggeriert. So bewerten einige Weibchen den Offset-Level der Silben abhängig von deren Onset-Level (Balakrishnan et al., 2001). Überraschenderweise präferieren eine Reihe von Weibchen Lautattrappen, die einen geringen Offset-Level aufweisen, indem die Pausen verrauscht sind. In der vorliegenden Studie zeigten sich bei zwei Weibchen eine signifikante negative Korrelation zwischen der Antwortwahrscheinlichkeit und dem Offset-Level und auch insgesamt war ein negativer Trend zu erkennen. Angemerkt sei jedoch, dass etwa der unattraktivste Gesang einen starken Offset-Level weniger wegen einer besonders ‚unverrauschten‘ Silbenpause aufwies, sondern vielmehr aufgrund einer hohen Amplitude am Silbenende (vgl. Abb. 7.6, Gesang 3). Lautattrappen, deren Silben mit einer überhöhten Amplitude enden, werden schlecht beantwortet von Helversen (1979). Das Silbenende dieses Gesangs war allerdings nicht deutlich gegenüber dem Onset-Level überhöht, weshalb es eher unwahrscheinlich ist, dass die geringe Attraktivität *alleine* hieraus resultierte (vgl. Schmidt et al. (2008)). Mög-



licherweise war eine Akkumulation verschiedener ‚negativer‘ Merkmalswerte für die geringere Beantwortung dieses Gesangs verantwortlich. Eine Frequenzanalyse der Umhüllenden ergab, im Vergleich zu allen anderen Gesängen, die stärkste Amplitude für ein Frequenzband von etwa 70 Hz. Dieses resultiert aus Lücken innerhalb der Silben - ein Muster, was bei einbeinig singenden Männchen besonders ausgeprägt auftritt. Die Weibchen lehnen einbeinig singende Männchen ab (Kriegbaum, 1989). Inwieweit die Modulationstiefe der Lücken dieses Gesangs stark genug war, um die Attraktivität wesentlich negativ zu beeinflussen, könnte getestet werden, indem die Lücken künstlich aufgefüllt werden.

Neben den Lücken waren die insgesamt sehr variablen Amplitudenmodulationen ein weiteres auffälliges Merkmal dieses Gesangs. Abweichungen im Muster der Amplitudenmodulationen können auf einer inadäquaten Koordination zwischen den beiden hemisegmentalen zentralen Mustergeneratoren resultieren, welche die Stridulationsbewegungen koordinieren (Ronacher, 1989; Hedwig, 1986). In einem gesunden Tier können beide Hinterbeine die Führungsrolle übernehmen, um die Phasenverschiebung zu erreichen (Helversen und Elsner, 1977). Folglich sollten die beiden Mustergeneratoren eine hohe Symmetrie aufweisen. Eine Beurteilung der Abweichungen des Musters der Amplitudenmodulationen könnte den Weibchen somit Hinweise auf die Symmetrie des Nervensystems, der Muskeln und der Flügel liefern - Qualitätsmerkmale, die über das akustische Signal vermittelt werden. Inwieweit die Variabilität innerhalb eines Gesangs für seine Bewertung durch die Weibchen eine Rolle spielt, wurde bisher nur anhand der Periodendauern untersucht. (Klappert und Reinhold, 2003). Diese ist in Kombination mit der Dauer der Lücken kritisch für die Weibchenwahl. Eine Möglichkeit, dieser Hypothese weiter nachzugehen, bestünde darin, Lautattrappen aus einer Kombination von zwei verschiedenen Silben zusammensetzen und diese gegenüber den beiden einheitlichen Varianten zu testen. Eine Annahme wäre, dass das Kombinationsmuster eine geringere Attraktivität aufweist, als die beiden einheitlichen Attrappen. Ebenso ließen sich auch Verhaltensreaktionen auf Folgen von Silben untersuchen, die bezüglich zeitlicher Merkmale (zum Beispiel Onset-Level, Tiefe der Lücken oder auch Phasen) den gleichen Mittelwert aber eine

unterschiedliche Varianz haben. Derartige Versuche könnten gleichzeitig Hinweise auf die Mechanismen der zugrundeliegenden neuronalen Verarbeitung der akustischen Signale liefern.

## 9.2 Klassifikation auf der Grundlage der neuronalen Antworten

Die bisherige Diskussion der Unterscheidbarkeit der Gesänge anhand der Spiketrains konzentrierte sich auf die durchschnittliche erzielte Leistung in Form einer korrekten Zuordnung der Antworten auf alle Gesänge. Dabei wurde nicht differenziert, ob für einzelne Gesänge eine höhere Unterscheidbarkeit erreicht wird und andere auf der Grundlage der neuronalen Antworten als sehr ähnlich eingestuft werden. Diese Frage mag allerdings entscheidend sein, um das Kodierungsschema des Systems zu verstehen. Die letztendliche ‚Bewertung‘ eines Gesangs erfolgt erst im Oberschlundganglion (Ronacher et al., 1986; Bauer und Helversen, 1987), jedoch zeigen schon die aufsteigenden Interneurone ausgeprägte Filtereigenschaften, die auch in der vorliegenden Arbeit zutage traten. So reagierte etwa das AN4 auf die Gesänge einbeinig singender Männchen und auf einen Weibchengesang mit einer deutlich abgesenkten Spikerate (Abb. 6.25), was einen Zusammenhang zu entsprechenden Verhaltensreaktion der Weibchen nahelegt (Ronacher und Stumpner, 1988). Die Frage, ob sich Merkmale der Verhaltensselektivität gegenüber den Gesängen der ‚intakten‘ Männchen auch in den neuronalen Antworten widerspiegeln, wurde für das AN3 und das AN12 untersucht.

Inwieweit sind gerade diese beiden Zelltypen für die Extraktion verhaltensrelevanter Merkmale besonders geeignet und könnten sie damit für die Gesangsbewertung von Bedeutung sein? Für beide Zellen wurde eine nahezu perfekte Unterscheidbarkeit der Original-Gesänge erreicht. Dies ist aufgrund der unterschiedlichen Periodendauern dieser Gesänge, wodurch die Antworten zeitlich gegeneinander verschoben werden, zunächst nicht verwunderlich. Betrachtet man jedoch die Leistung des AN12, so fällt auf, dass die korrekte Zuordnung der Antworten des AN12 deutlich schneller und auch effizienter

ist als für die Rezeptoren: für einen Wert von 80% korrekt muss nur ein halb so großes Zeitfenster ausgewertet werden und erstaunlicherweise, nur etwa ein Fünftel so viele Spikes einbezogen werden (vgl. Abb. 7.8 und Machens et al. (2003)).

Das AN12 zeigt ein sehr phasisches Antwortverhalten und reagiert auf den Silben-Onset häufig mit einem Burst. Stumpner (1988) zeigte anhand von künstlichen Silben-Pausenmustern, dass die Zahl der Spikes im Burst linear von der Dauer der vorangehenden Pause abhängt. Ein derartiger Zusammenhang konnte auch für die in der vorliegenden Arbeit getesteten Original Gesänge beschrieben werden (Creutzig, 2007). Dieses Antwortverhalten bedingt, dass eine Unterscheidbarkeit der Original Gesänge auch dann noch möglich ist, wenn die zeitliche Struktur der Antwort vernachlässigt wird (vgl. Creutzig (2007): 90% korrekte Zuordnung nach  $\sim 1s$ ).

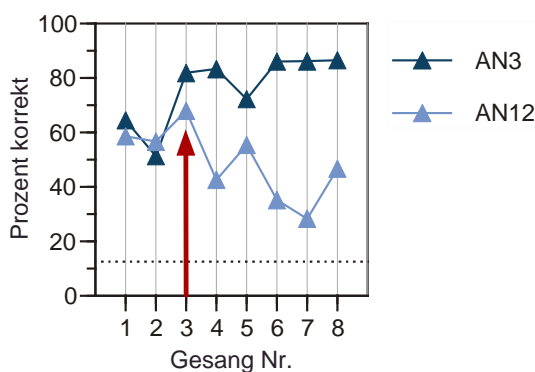
Die Weibchen von *C. biguttulus* erkennen die Männchensignale unabhängig von der Umgebungstemperatur des Senders, indem sie mit dem Verhältnis der Dauern von Silben/Pausen einen temperatur-invarianten Parameter des Signals messen (von Helversen, 1979). Creutzig (2007) schlug auf der Grundlage des Antwortverhaltens des AN12 ein Modell für eine solche Zeitskalen-invariante Erkennung vor: die über ein langes Zeitfenster integrierte Zahl der Spikes im Burst könnte ein Silben/Pausen Verhältnis kodieren, da bei einer zeitlichen Dehnung des Signals, die Zahl der Spikes um den Dehnungsfaktor zunimmt. In einem festen Zeitfenster bleibt damit die Gesamtzahl der Spikes konstant.

Die Reskalierten Gesänge wiesen ein einheitliches Verhältnis der Dauern von Silben/Pausen auf. Aufgrund der Antworteigenschaften des AN12 ist von daher eine starke Abnahme der Unterscheidbarkeit zu erwarten. Tatsächlich betrug die korrekte Zuordnung für dieses Gesangs-Set aber immerhin noch 50 bis 77%. Zwei Gründe dürften hierfür ausschlaggebend sein: erstens, wird bei der Distanz-Metrik das *zeitliche* Auftreten der Spikes einbezogen - Unterschiede im zeitliche Auftreten der Bursts und außerdem auch aller einzelnen Spikes liefern offenbar zum Teil immer noch eine gesangsspezifische Information. Zum zweiten zeigte Creutzig (2007), dass die Spikezahl im Burst nicht alleine von der vorangehenden Pausendauer abhängt, sondern auch von der

Tiefe der Pause und von der Höhe des Silben-Onsets. Die Korrelation war zwar für diese beiden Parameter schwächer, ein Einfluß dieser Zusammenhänge kann aber trotzdem angenommen werden. Wie bereits beschrieben, bewerten die Weibchen den Onset- und Offset-Level der Silben, was die Frage aufwirft, inwieweit eine invariante Kodierung der Pausendauer vor dem Hintergrund der Ergebnisse von Balakrishnan et al. (2001) gewährleistet werden kann. Hier wären sicherlich weitere Untersuchungen notwendig, die zum einen neurophysiologische Versuche am AN12 (im Optimalfall an Tieren, die im Verhalten getestet wurden) aber auch Modellrechnungen beinhalten sollten.

Das AN3 erreichte, im Vergleich zum AN12, mit 74 bis 90% korrekt zugeordneter Spiketrains eine relativ gute Unterscheidbarkeit der Reskalierten Gesänge. Bleibt die Frage, wie sich die Zuordnung zu einzelnen Gesängen bei diesen beiden Neuronentypen verhielt. Die Klassifikations-Matrizen ließen bei beiden Neuronen eine relativ hohe interindividuelle Variabilität erkennen, trotzdem werden aber auch konsistente Muster sichtbar. In Abbildung 9.2 ist der mittlere Anteil korrekt zugeordneter Spiketrains für das AN3 und das AN12 dargestellt. Zwischen den beiden Neuronentypen zeigten sich deutliche relative Unterschiede für die einzelnen Gesänge. Vor dem Verhaltenshintergrund ist jedoch auffällig, dass bei beiden der Gesang 3 eine relativ hohe korrekte Zuordnung erzielte. Dieser Gesang ließ im Verhalten die größten Unterschiede in der Bewertung im Vergleich zu anderen Gesängen erkennen, indem er am schlechtesten beantwortet wurde. Auch anhand der

**Abbildung 9.2:** KORREKTE ZUORDNUNG ZU DEN EINZELNEN RESKALIERTEN GESÄNGEN: AN3 UND AN12. Dargestellt sind Mittelwertskurven für das AN3 und das AN12 von *C. biguttulus*.  $N = 5$  und  $N = 3$ . Die gestrichelte Linie gibt das Niveau einer zufälligen Zuordnung an. Der rote Pfeil markiert den Gesang, der im Verhalten am unattraktivsten war.



zugrunde liegenden Spiketrain-Distanzen wurde eine besonders gute Abgrenzung sichtbar. So traten etwa bei allen fünf Vertretern des AN3 die größten Spiketrain-Distanzen zwischen dem Gesang 3 und Gesängen auf, die im Verhalten signifikant häufiger beantwortet wurden (Abb. 7.11). Eine vergleichende Analyse verschiedener Antwortmerkmale auf den unattraktivsten und dem attraktivsten Gesang erbrachte sowohl beim AN3 als auch beim AN12 die größte Abweichung hinsichtlich des Auftretens von Bursts. Bursts sind für die sensorische Informationsübertragung aus zwei Gründen besonders geeignet sind: Erstens, können präsynaptische Bursts die Zuverlässigkeit der Informationsübertragung über eine unzuverlässige Synapse verbessern, und zweitens, können Bursts in spezifischen Situationen die Übertragung sensorischer Information *in vivo* steigern (Krahe und Gabbiani, 2004). Inwieweit diese Unterschiede im Antwortmuster für die Bewertung der Gesänge von Bedeutung waren, kann jedoch nicht beantwortet werden. Weitere Untersuchungen, bei denen nicht alle Aspekte der Antwort gleichgewichtig behandelt, sondern diese separat betrachtet werden, könnten gerade vor dem Hintergrund der sehr komplexen Antworteigenschaften der aufsteigenden Interneurone zur Klärung dieser Frage beitragen.



# Kapitel 10

## Vergleich der Kodierungseigenschaften homologer Neurone

Ein Ziel der vorliegenden Studie bestand in einem quantitativen Vergleich des Antwortverhaltens auditorischer Interneurone von *C. biguttulus* und *L. migratoria*, die aufgrund ihrer hohen morphologischen Ähnlichkeit und ihrer vergleichbaren physiologischen Eigenschaften homologisiert wurden (Römer et al., 1988; Stumpner, 1988; Stumpner und Ronacher, 1991). Dabei sind zwei Ergebnisse besonders bemerkenswert:

Erstens, die interspezifischen Spiketrain-Distanzen waren nicht größer als die intraspezifischen (d.h. die Unterschiede zwischen Vertretern eines Neurons innerhalb einer Art). Die homologen Neurone erwiesen sich damit in ihren Kodierungseigenschaften als praktisch identisch. Zum zweiten, stimmte die erreichte Unterscheidbarkeit der verschiedenen Gesänge zwischen homologen Neuronen weitgehend überein. Vergleichbar war ebenso der Wertebereich des zeitlichen Auslösungsparameters  $\tau$ , für den eine optimale Unterscheidbarkeit der Gesänge erreicht wurde. Noch bemerkenswerter war, dass auch die korrekte Zuordnung der Spiketrains *einzelner* Gesängen eine weitreichende Ähnlichkeit zwischen den beiden Arten aufwies. Diese Ergebnisse sind besonders erstaunlich, da die Separation dieser beiden Arten etwa 50 Millionen

Jahre zurückliegt (Flook und Rowell, 1997) und wichtiger noch, die akustische Kommunikation bei beiden offenbar unabhängig voneinander evoluierte (Elsner, 1983; Stumpner und von Helversen, 2001). Während die Erkennung und Bewertung der getesteten Gesänge für *C. biguttulus* von entscheidender Bedeutung ist, dürfte diese für *L. migratoria* irrelevant sein. Die Tiere produzieren, wenn überhaupt, ‚Schnarrlaute‘, die vornehmlich eine Abwehrfunktion haben (Jacobs (1953); Pflüger und Field (1999)).

Kann auf der Grundlage dieser Ergebnisse tatsächlich von einer weitreichenden Übereinstimmung des metathorakalen auditorischen Systems der beiden Arten ausgegangen werden ?

Die möglicher Einwand wäre, dass zwar die hier untersuchten Zelltypen in ihren Kodierungseigenschaften übereinstimmen, sich aber eine Artspezifität der auditorischen Verarbeitung bei *C. biguttulus* bereits im Metathorakalganglion auf hier nicht betrachteten Interneurone bezieht. In der Tat konnte in der vorliegenden Arbeit nur für drei Zelltypen ein quantitativer Vergleich der neuronalen Antworten vorgenommen werden - eine weitreichende Übereinstimmung in den Kodierungseigenschaften lässt sich aber auch auf andere Zelltypen ausdehnen (Neuhofer et al., 2007; Stumpner und Ronacher, 1991). Wichtiger noch erscheint in diesem Zusammenhang, dass gerade Zelltypen, deren Antwortverhalten eine hohe Verhaltensrelevanz bei *C. biguttulus* zugemessen wird, wie etwa dem AN12 und dem AN4, sich mit übereinstimmenden Kodierungseigenschaften auch bei *L. migratoria* finden lassen (Creutzig, 2007; Ronacher und Stumpner, 1988). Für eine ausführliche Diskussion des Homologieproblems siehe Neuhofer et al. (2007).

Die weitreichende Übereinstimmung in den Kodierungseigenschaften zwischen den homologen Zellen wirft die Frage nach dem Grund dieser Konservierung bzw. nach dem Fehlen einer Anpassung an die spezifischen Anforderungen der akustischen Kommunikation auf. Offenbar wirkt hier eine stabilisierende Selektion, welche Adaptation an spezifische Anforderungen unterbindet. Die Ohren der Feldheuschrecken evoluierten offenbar ursprünglich



im Kontext der Feinderkennung (Stumpner und von Helversen, 2001) - die akustische Kommunikation entstand deutlich später und nutzte das bereits existierende auditorische System. Daraus und aus der starken Ähnlichkeit des Antwortverhaltens homologer Neurone beider Arten ergibt sich die Schlussfolgerung, dass sich die Kommunikationssignale der *Gomphocerine* an die Verarbeitungskapazitäten der peripheren auditorischen Bahn angepasst haben und nicht umgekehrt (siehe Machens et al. (2005)).



# Kapitel 11

## Resume und Ausblick

Die wohl auffälligste Erkenntnis dieser Studie war eine deutliche Abnahme der Unterscheidbarkeit der Stimuli von den lokalen zu den aufsteigenden Interneuronen. Auf den ersten Blick stellt sich dies als ein verheerendes Ergebnis dar: die aufsteigenden Interneurone bilden einen Flaschenhals im Informationstransfer zum Gehirn, wo es zu einer entgeltigen Bewertung der Signale kommt. Das überrascht schon allein deshalb, weil bereits einzelne Rezeptoren eine bessere Unterscheidbarkeit erzielen als die meisten aufsteigenden Interneurone. Die Aufgabe des betrachteten Sinnessystems sollte allerdings weniger darin bestehen, eine gute Unterscheidbarkeit individuellen Gesänge vorzunehmen sondern vielmehr eine möglichst robuste Klassenbildung zu erreichen.

Barlow (1961) schlug vor, dass die Redundanz der Stimulusrepräsentation im Laufe einer sukzessiven Verarbeitung abnimmt. In der Folge könnten Neurone höherer Verarbeitungsstufen zunehmend unabhängiger werden, um ein einfacheres Auslesen und eine effiziente Nutzung der Kodierungsressourcen zu gewährleisten. Diese Idee reflektiert eine zunehmende Extraktion verhaltensrelevanter Information der Signale und spiegelt sich in ihren Grundzügen auch in dem hier untersuchten System wider:

Die Rezeptoren, aber auch noch einzelne lokalen Zelltypen zeigen eine weitaus größere Übereinstimmung in ihren Antwortmerkmalen als dies für aufsteigenden Interneurone der Fall ist. Neben der Separierung in parallele Kanäle für

die Richtungs- und Musterinformation kommt es offenbar bereits auf dieser Verarbeitungsebene zu einer weitreichenden Spezialisierung auf bestimmte zeitliche Aspekte des Stimulus. Während für einzelne Neurone, wie das AN4 und das AN12, Filtereigenschaften beschrieben werden konnten, die einen Zusammenhang zur Extraktion verhaltensrelevanter Merkmale nahelegen, ist die Bedeutung des Antwortverhaltens anderer Neurone noch weitgehend unklar. Hier müssen weitere Untersuchungen anschließen, wobei zum einen Stimuli mit verhaltensrelevanten Merkmalen und zum anderen auch mit zufälligen Amplitudenmodulationen getestet werden könnten, um auch etwaige Nichtlinearitäten der Antworten zu erfassen. Es ist durchaus denkbar, dass in dem hier untersuchten System einzelne Neurone mehrere Informationskanäle enthalten, die unterschiedliche Aspekte des Stimulus kodieren. Für das AN12 ist diese Möglichkeit im Prinzip schon gezeigt, indem die Burst-Zeitpunkte den Silbenbeginn markieren und damit Information über die Periodendauer liefern und gleichzeitig über die Zahl der Spikes im Burst die vorangehende Pausendauer kodiert werden könnte. Um die Kodierung anderer verhaltensrelevanter Merkmale, wie etwa dem Onset- und Offset-Level der Silben zu verstehen, könnte eine Kombination mit Verhaltensexperimenten aufschlussreich sein. Sicherlich sehr interessante (wenn auch schwer zu gewinnende) Ergebnisse sind im Oberschlundganglion zu erwarten.

Indem dieses relativ einfache System eine enge Verknüpfung von Neurobiologie, Verhalten und den Vergleich verschiedener nah verwandter Arten erlaubt, ist es hervorragend geeignet, um die selten verstandenen Mechanismen einer letztendlichen Erkennung und Klassifikation relevanter Signale zu ergründen.

# Anhang



# Abkürzungen

Abkürzung	Erklärung
AM	Amplitudenmodulation
AN	Aufsteigende Interneurone
BMF	Beste Modulationsfrequenz
BTA	Burst-Triggered Average
CV	Variationskoeffizient
FF	Fanofaktor
ISI	Interspike-Intervall
LN	Lokale Interneurone
MF	Modulationsfrequenz
MIT	Minimale Integrationszeit
MMS	Minimale Modulationsschwelle
MT	Modulationstiefe
MTF	Modulationstransferfunktion
PSTH	Peri-Stimulus-Zeit-Histogramm
REZ	Rezeptoren
rMTF	Raten-Modulationstransferfunktion
SAM	Sinus-Amplitudenmodulation
STA	Spike-Triggered Average
tMTF	Zeitliche Modulationstransferfunktion
VS	Vektorstärke
WMF	Schlechteste Modulationsfrequenz





# Danksagung

Mein erster Dank gilt von Herzen Herrn Prof. Dr. Bernhard Ronacher, der sich als Betreuer bei der Entstehung dieser Arbeit in ganz besonderer Weise engagiert hat. Seine Diskussionsbereitschaft, seine vielen guten Ratschläge und seine schnelle und konstruktive Kritik waren mir eine wertvolle Hilfe, die nicht nur zur Fertigstellung dieser Arbeit beitrugen, sondern mir auch viele Denkanstöße gaben.

Prof. Dr. Andreas Herz und seiner Arbeitsgruppe danke ich für die Kooperation und die vielen Möglichkeiten, Einblicke in die ‚Theoretische Neurobiologie‘ zu gewinnen. Besonderer Dank gilt Christian Machens, der mir bereitwillig das ‚Metrik‘-Programm überließ und stets ein offenes Ohr für Fragen hatte. Martin Stemmler danke ich für das ‚Reskalieren‘. Tim Gollisch, Felix Creutzig, Jan Benda und Susanne Schreiber waren wertvolle und hilfreiche Diskussionspartner - auch ihnen sei gedankt.

Prof. Dr. Ralf Heinrich und Prof. Dr. Norbert Elsner verdanke ich viele agile Göttinger Grasshüpfer und eine Einführung in die Gehirn-Präparation.

Der gesamten Abteilung Verhaltensphysiologie danke für die Unterstützung und für eine wunderbare Arbeitsatmosphäre.

Ein ganz besonders herzlicher Dank gilt Daniela, Jan, Jannis und Olaf (spätestens an dieser Stelle würde bei einer handschriftlichen Arbeit die Tinte hoffnungslos zerlaufen...). Eure finalen Korrekturen und die vielen guten Ratschläge, genauso wie die freundschaftliche Reaktion auf die kleinen und großen Krisen beim Verfassen dieser Arbeit waren mir eine unermessliche

Hilfe. Daniela möchte ich besonders für die Diskussionen rund um die Heuschrecken danken und für ihr aufmunterndes Lächeln. Olaf, ich danke dir für deine Anteilnahme, (natürlich auch für deine fachlichen Ratschläge) und ...jetzt, jetzt werden wir tanzen gehen! Jan sei gedankt für die ‚Schreiber-sche‘ Auswertung und das wunderbar geduldige Ertragen einer Vielzahl theoretischer Fragen, deren Antworten mir sehr weitergeholfen haben. Jannis, bei dir möchte ich mich von Herzen für deine unglaublich schnelle Hilfe an allen Fronten bedanken und nicht zuletzt für eine vorzügliche Zimmergemeinschaft.

Dank gilt außerdem: Doreen Heß, für die zuverlässige Betreuung der Heuschrecken, Johannes Zander, ohne den der Rechner mit der Linux Partition eventuell nicht im 4. Stock geblieben wäre und Astrid Vogel, für ihre Beantwortung technischer Fragen. Matthias Hennig danke ich für die Einführung in die Elektrophysiologie und die bereitwillige Überlassung des ‚Horch‘.

Anke und Erni sei gedankt für ihre große Anteilnahme, die aufmunternden Worte um 8.15, die kulinarische Versorgung um 18.30 und das Glas Wein auch noch um 23.30.

Meinen Eltern und meinem Bruder danke ich für die Unterstützung und den Rückhalt, den sie mir während all der Jahre gaben. Ein besonders herzlicher Dank gilt meiner Mutter für ihr tatkräftiges Berliner Engagement.

Leni und Manuel, ihr musstet besonders in der finalen Zeit häufig auf meine Anwesenheit verzichten - ich danke euch, dass ihr diesem ‚Buch‘ bereitwillig soviel Platz eingeräumt habt. Manuel, dir danke ich von Herzen für deine Rücksichtnahme, deine Ruhe und deine Liebe mit der du diese Zeit mit mir durchgestanden hast.

# Selbständigkeitserklärung

Hiermit erkläre ich, dass ich die vorliegende Dissertation selbstständig verfasst und keine anderen als die angegebenen Quellen und Hilfsmittel benutzt habe.

Berlin, den 10. Februar 2008



# Literaturverzeichnis

Adam, L.J.: Neurophysiologie des Hörens und Bioakustik einer Feldheuschrecke (*Locusta migratoria*). In: *Journal of Comparative Physiology A: Neuroethology, Sensory, Neural, and Behavioral Physiology*, Band 63(3):S. 227–289, 1969. URL <http://dx.doi.org/10.1007/BF00298163>.

Alder, TB und Rose, GJ: Long-term temporal integration in the anuran auditory system. In: *Nat Neurosci*, Band 1(6):S. 519–23, 1998. ISSN 1097-6256.

Alder, TB und Rose, GJ: Integration and recovery processes contribute to the temporal selectivity of neurons in the midbrain of the northern leopard frog, *rana pipiens*. In: *Journal of Comparative Physiology A: Neuroethology, Sensory, Neural, and Behavioral Physiology*, Band 186(10):S. 923–37, 2000. ISSN 0340-7594.

Andersson, M.: *Sexual Selection*. Princeton University Press, 1994.

Balakrishnan, R. und von Helversen, D.: Acoustic communication in a duetting grasshopper: receiver response variability, male strategies and signal design. In: *Animal behaviour*, Band 68:S. 131–144, 2004.

Balakrishnan, R., von Helversen, D. und von Helversen, O.: Song pattern recognition in the grasshopper *chorthippus biguttulus*: the mechanism of syllable onset and offset detection. In: *Journal of Comparative Physiology A: Neuroethology, Sensory, Neural, and Behavioral Physiology*, Band 187(4):S. 255–264, 2001. URL

[http://www.ncbi.nlm.nih.gov/entrez/query.fcgi?cmd=Retrieve&db=pubmed&dopt=Abstract&list\\_uids=11467498](http://www.ncbi.nlm.nih.gov/entrez/query.fcgi?cmd=Retrieve&db=pubmed&dopt=Abstract&list_uids=11467498).

Barlow, H. B.: Sensory communication. In: Rosenblith, W. A. (Hg.) *Sensory Communication*, Cambridge, MA: MIT Press, Kapitel Possible principles underlying the transformations of sensory messages. 1961.

Batschelet, E.: *Statistical methods for the Analysis of Problems in Animal Orientation and Certain Biological Rhythms*. American Institute for Biological Sciences, Washington DC, 1965.

Bauer, Maria und Helversen, Otto: Separate localization of sound recognizing and sound producing neural mechanisms in a grasshopper. In: *Journal of Comparative Physiology A: Neuroethology, Sensory, Neural, and Behavioral Physiology*, Band 161(1):S. 95–101, 1987. URL <http://dx.doi.org/10.1007/BF00609458>.

Belwood, J. J. und Morris, G. K.: Bat predation and its influence on calling behavior in neotropical katydids. In: *Science*, Band 238(4823):S. 64–67, 1987. URL <http://www.sciencemag.org/cgi/content/abstract/238/4823/64>.

Borst, Alexander und Theunissen, Frederic: Information theory and neural coding. In: *Nat Neurosci*, Band 2(11):S. 947–957, 1999.

Boyan, G: Common synaptic drive to segmentally homologous interneurons in the locust. In: *J Comp Neurol*, Band 321(4):S. 544–554, 1992. URL <http://dx.doi.org/10.1002/cne.903210404>.

Boyan, G. S.: Presynaptic contributions to response shape in an auditory neuron of the grasshopper. In: *Journal of Comparative Physiology A: Neuroethology, Sensory, Neural, and Behavioral Physiology*, Band 184(3):S. 279–294, 1999. URL <http://dx.doi.org/10.1007/s003590050326>.

Bradbury, JW und Vehrenkamp, SL: *Principles of animal communication*. Sinauer Associates , Sunderland Massachusetts, 1998.

- Bush, Sarah L., Gerhardt, H. Carl und Schul, Johannes: Pattern recognition and call preferences in treefrogs (anura: Hylidae): a quantitative analysis using a no-choice paradigm. In: *Animal Behaviour*, Band 63(1):S. 7–14, 2002. URL <http://www.sciencedirect.com/science/article/B6W9W-457CFJ1-2/2/b8857e7e595ff2eaf1a89b468af34e46>.
- Chi, T, Gao, Y, Guyton, MC, Ru, P und Shamma, S: Spectro-temporal modulation transfer functions and speech intelligibility. In: *J Acoust Soc Am*, Band 106(5):S. 2719–32, 1999. ISSN 0001-4966.
- Chichilnisky, EJ und Kalmar, RS: Temporal resolution of ensemble visual motion signals in primate retina. In: *J Neurosci*, Band 23(17):S. 6681–9, 2003. ISSN 1529-2401.
- Clemens, Jan: *Song recognition in a grasshopper: evaluation and processing of stimulus fine structure*. Diplomarbeit, Humboldt-Universität zu Berlin, 2007.
- Creutzig, F: *Sufficient Encoding of Dynamical Systems: From the grasshopper auditory system to general principles*. Dissertation, Humboldt-Universität zu Berlin, 2007.
- Dayan, Peter und Abbott, LF: *Theoretical Neuroscience: Computational and Mathematical Modeling of Neural Systems*. The MIT Press, 2001. URL <http://www.amazon.ca/exec/obidos/redirect?tag=citeulike04-20%&#38;path=ASIN/0262041995>.
- De Boer, E. und Kuyper, P.: Triggered correlation. In: *IEEE Trans. Biomed. Eng.*, Band 15:S. 169–179, 1968.
- de Ruyter van Steveninck, R.R. und Bialek, W.: Real-time performance of a movement-sensitive neuron in the blowfly visual system: coding and information transfer in short spike sequences. In: *Proc R Soc Lond B Biol Sci*, Band 234:S. 379–414, 1988.

- de Ruyter van Steveninck, RR, Lewen, GD, Strong, SP, Koberle, R und Bialek, W: Reproducibility and variability in neural spike trains. In: *Science*, Band 275(5307):S. 1805–8, 1997. ISSN 0036-8075.
- Dent, Micheal L., Klump, Georg M. und Schwenzfeier, Christian: Temporal modulation transfer functions in the barn owl (*tyto alba*). In: *Journal of Comparative Physiology A: Neuroethology, Sensory, Neural, and Behavioral Physiology*, Band V187(12):S. 937–943, 2002. URL <http://dx.doi.org/10.1007/s00359-001-0259-5>.
- Doherty, John A.: Trade-off phenomena in calling song recognition and phonotaxis in the cricket, *gryllus bimaculatus* (orthoptera, gryllidae). In: *Journal of Comparative Physiology A: Neuroethology, Sensory, Neural, and Behavioral Physiology*, Band 156(6):S. 787–801, 1985.
- Dooling, Robert J. und Searcy, Margaret H.: Amplitude modulation thresholds for the parakeet (*melopsittacus undulatus*). In: *Journal of Comparative Physiology A: Neuroethology, Sensory, Neural, and Behavioral Physiology*, Band V143(3):S. 383–388, 1981. URL <http://dx.doi.org/10.1007/BF00611177>.
- Dunia, R und Narins, PM: Temporal resolution in frog auditory-nerve fibers. In: *J Acoust Soc Am*, Band 85(4):S. 1630–8, 1989. ISSN 0001-4966.
- Edwards, Christofer J., Leary, Christopher J. und Rose, Gary J.: Counting on inhibition and rate-dependent excitation in the auditory system. In: *Journal of Neuroscience*, Band 27(49):S. 13384–13392, 2007. URL <http://www.jneurosci.org/cgi/content/abstract/27/49/13384>.
- Edwards, CJ, Alder, TB und Rose, GJ: Auditory midbrain neurons that count. In: *Nat Neurosci*, Band 5(10):S. 934–6, 2002. ISSN 1097-6256.
- Eggermont, Jos: Rate and synchronization measures of periodicity coding in cat primary auditory cortex. In: *Hear Res*, Band 56:S. 153–167, 1991.
- Elsner, N.: A neuroethological approach to the phylogeny of leg stridulation in gomphocerine grasshoppers. In: Huber, F. und Markl, H. (Hg.)



*Neuroethology and behavioural physiology*, Berlin, Heidelberg New York: Springer, S. 54–68. 1983.

Elsner, Norbert: Neuroethology of sound production in gomphocerine grasshoppers (orthoptera: Acrididae). In: *Journal of Comparative Physiology A: Neuroethology, Sensory, Neural, and Behavioral Physiology*, Band 88(1):S. 67–102, 1974. URL <http://dx.doi.org/10.1007/BF00695923>.

Faber, A.: *Laut- und Gebärdesprache bei Insekten, Orthoptera I. Vergleichende Darstellung von Ausdruckformen als Zeitgestalten und ihre Funktion*. Ges. d. Freunde d. Staatl. Museums f. Naturkunde, Stuttgart, 1953.

Fano, U.: Ionization yield of radiations. ii. the fluctuations of the number of ions. In: *Phys. Rev.*, Band 72(1):S. 26–29, 1947. doi:10.1103/PhysRev.72.26.

Flook, PK und Rowell, CH: The phylogeny of the caelifera (insecta, orthoptera) as deduced from mtrrna gene sequences. In: *Mol Phylogenet Evol*, Band 8(1):S. 89–103, 1997. ISSN 1055-7903.

Fortune, Eric S. und Rose, Gary J.: Passive and active membrane properties contribute to the temporal filtering properties of midbrain neurons in vivo. In: *Journal of Neuroscience*, Band 17(10):S. 3815–3825, 1997. URL <http://www.jneurosci.org/cgi/content/abstract/17/10/3815>.

Fortune, Eric S. und Rose, Gary J.: Short-term synaptic plasticity contributes to the temporal filtering of electrosensory information. In: *Journal of Neuroscience*, Band 20(18):S. 7122–7130, 2000. URL <http://www.jneurosci.org/cgi/content/abstract/20/18/7122>.

Franz, A und Ronacher, B: Temperature dependence of temporal resolution in an insect nervous system. In: *J Comp Physiol A Neuroethol Sens Neural Behav Physiol*, Band 188(4):S. 261–71, 2002. ISSN 0340-7594.

- Franz, Astrid: *Neuronale Variabilität und Korrelationen als begrenzende Faktoren für die Verarbeitung und Kodierung zeitlich strukturierter akustischer Signale*. Dissertation, Humboldt-Universität zu Berlin, 2004.
- Frisina, Robert D., Smith, Robert L. und Chamberlain, Steven C.: Encoding of amplitude modulation in the gerbil cochlear nucleus: I. a hierarchy of enhancement. In: *Hearing Research*, Band 44(2-3):S. 99–122, 1990. URL <http://www.sciencedirect.com/science/article/B6T73-4864N6J-BW/2/f88faf7d651a4655eda643844cf48b86>.
- Gerhardt, H. Carl, Dyson, Miranda L. und Tanner, Steven D.: Dynamic properties of the advertisement calls of gray tree frogs: patterns of variability and female choice. In: *Behavioral Ecology*, Band 7(1):S. 7–18, 1996. URL <http://beheco.oxfordjournals.org/cgi/content/abstract/7/1/7>.
- Gerhardt, H. Carl und Huber, F.: *Acoustic Communication in Insects and Anurans*. Chicago, IL: Chicago Univ. Press, 2002.
- Gleich, O. und Klump, G. M.: Temporal modulation transfer functions in the european starling (*sturnus vulgaris*): II. responses of auditory-nerve fibres. In: *Hearing Research*, Band 82(1):S. 81–92, 1995. URL <http://www.sciencedirect.com/science/article/B6T73-4031S0C-S/2/e854ca16b6a1d68c09e4fce018eff153>.
- Gottsberger, Brigitte und Mayer, Frieder: Behavioral sterility of hybrid males in acoustically communicating grasshoppers (acrididae, gomphocerinae). In: *Journal of Comparative Physiology A: Neuroethology, Sensory, Neural, and Behavioral Physiology*, Band 193(7):S. 703–714, 2007. URL <http://dx.doi.org/10.1007/s00359-007-0225-y>.
- Gray, E. G.: The fine structure of the insect ear. In: *Philos Trans R Soc London [B]*, Band 243:S. 75–94, 1960.
- Grewe, Jan, Weckström, Matti, Egelhaaf, Martin und Warzecha, Anne-Kathrin: Information and discriminability as measures of reliability of sensory coding. In: *PLoS ONE*, Band 2(12):S. 1328, 2007. URL <http://dx.doi.org/10.1371/journal.pone.0001328>.

- Grothe, B: Interaction of excitation and inhibition in processing of pure tone and amplitude-modulated stimuli in the medial superior olive of the mustached bat. In: *J Neurophysiol*, Band 71(2):S. 706–21, 1994. ISSN 0022-3077.
- Grothe, B und Sanes, DH: Synaptic inhibition influences the temporal coding properties of medial superior olivary neurons: an in vitro study. In: *J Neurosci*, Band 14(3 Pt 2):S. 1701–9, 1994. ISSN 0270-6474.
- Hedwig, B.: On the role in stridulation of plurisegmental interneurons of the acridid grasshopper *moceustus viridulus* l. In: *Journal of Comparative Physiology A: Neuroethology, Sensory, Neural, and Behavioral Physiology*, Band 158(3):S. 429–444, 1986. URL <http://dx.doi.org/10.1007/BF00603626>.
- Helversen, D. von: Parallel processing in auditory pattern recognition and directional analysis by the grasshopper *chorthippus biguttulus* l. (acrididae). In: *Journal of Comparative Physiology A: Neuroethology, Sensory, Neural, and Behavioral Physiology*, Band 154(6):S. 837–846, 1984. URL <http://dx.doi.org/10.1007/BF00610684>.
- Helversen, Otto und Elsner, Norbert: The stridulatory movements of acridid grasshoppers recorded with an opto-electronic device. In: *Journal of Comparative Physiology A: Neuroethology, Sensory, Neural, and Behavioral Physiology*, Band 122(1):S. 53–64, 1977. URL <http://dx.doi.org/10.1007/BF00611248>.
- Hennig, Matthias, Franz, Astrid und Stumpner, Andreas: Processing of auditory information in insects. In: *Microsc Res Tec*, Band 63:S. 351–374, 2004.
- Hewitt, Michael J. und Meddis, Ray: A computer model of amplitude-modulation sensitivity of single units in the inferior colliculus. In: *The Journal of the Acoustical Society of America*, Band 95(4):S. 2145–2159, 1994. URL <http://link.aip.org/link/?JAS/95/2145/1>.

- Hill, KG, Stange, G und Mo, J: Temporal synchronization in the primary auditory response in the pigeon. In: *Hear Res*, Band 39(1-2):S. 63–73, 1989. ISSN 0378-5955.
- Jacobs, K., Otte, B. und Lakes-Harlan, R.: Tympanal receptor cells of *schistocerca gregaria*: Correlation of soma positions and dendrite attachment sites, central projections and physiologies. In: *Journal of Experimental Zoology*, Band 283(3):S. 270–285, 1999.
- Jacobs, W.: Verhaltensbiologische Studien an Feldheuschrecken. In: *Z. Tierpsychol.*, Band Beiheft 1., 1953.
- Joris, PX, Schreiner, CE und Rees, A: Neural processing of amplitude-modulated sounds. In: *Physiol Rev*, Band 84(2):S. 541–77, 2004. ISSN 0031-9333.
- Keller, Clifford H. und Takahashi, Terry T.: Representation of temporal features of complex sounds by the discharge patterns of neurons in the owl's inferior colliculus. In: *Journal of Neurophysiology*, Band 84(5):S. 2638–2650, 2000. URL <http://jn.physiology.org/cgi/content/abstract/84/5/2638>.
- Klappert, Kirsten und Reinhold, Klaus: Acoustic preference functions and sexual selection on the male calling song in the grasshopper *chorthippus biguttulus*. In: *Animal Behaviour*, Band 65(1):S. 225–233, 2003. URL <http://dx.doi.org/10.1006/anbe.2002.2034>.
- Krahe, R, Budinger, E und Ronacher, B: Coding of a sexually dimorphic song feature by auditory interneurons of grasshoppers: the role of leading inhibition. In: *J Comp Physiol A Neuroethol Sens Neural Behav Physiol*, Band 187(12):S. 977–85, 2002a. ISSN 0340-7594.
- Krahe, R und Gabbiani, F: Burst firing in sensory systems. In: *Nat Rev Neurosci*, Band 5(1):S. 13–23, 2004. ISSN 1471-003X.
- Krahe, Rüdiger, Budinger, Eike und Ronacher, Bernhard: Coding of a sexually dimorphic song feature by auditory interneurons of grasshop-

- pers: the role of leading inhibition. In: *Journal of Comparative Physiology A: Neuroethology, Sensory, Neural, and Behavioral Physiology*, Band 187(12):S. 977–985, 2002b. URL <http://dx.doi.org/10.1007/s00359-001-0268-4>.
- Kreuz, Thomas, Haas, Julie S., Morelli, Alice, Abarbanel, Henry D. I. und Politi, Antonio: Measuring spike train synchrony. In: *Journal of Neuroscience Methods*, Band 165(1):S. 151–161, 2007. URL <http://www.sciencedirect.com/science/article/B6T04-4NWCGRX-1/2/c5e32a77f3c3be672a3ee46ec5dc1b1a>.
- Kriegbaum, H.: Female choice in the grasshopper *chorthippus biguttulus*. In: *Naturwissenschaften*, Band 76(2):S. 81–82, 1989. URL <http://dx.doi.org/10.1007/BF00396715>.
- Kriegbaum, H. und von Helversen, O.: Influence of male songs on female mating behaviour in the grasshopper *chorthippus biguttulus*. In: *Ethology*, Band 91:S. 248–254, 1992.
- Krishna, BS und Semple, MN: Auditory temporal processing: responses to sinusoidally amplitude-modulated tones in the inferior colliculus. In: *J Neurophysiol*, Band 84(1):S. 255–73, 2000. ISSN 0022-3077.
- Kroodsma, D.E. und Miller, E.H.: *Ecology and Evolution of Acoustic Communication in Birds*. Ithaca, NY: Cornell Univ. Press, 1996.
- Lakes-Harlan, R. und Heller, K. G.: Ultrasound-sensitive ears in a parasitoid fly. In: *Naturwissenschaften*, Band 79(5):S. 224–226, 1992. URL <http://dx.doi.org/10.1007/BF01227133>.
- Lang, F: Noise filtering in the auditory system of *locusta migratoria* l. In: *Journal of Comparative Physiology A: Neuroethology, Sensory, Neural, and Behavioral Physiology*, Band 179(4):S. 575–585, 1996. URL <http://dx.doi.org/10.1007/BF00192323>.
- Lang, F: Acoustic communication distances of gomphocerine grasshoppers. In: *Bioacoustics*, Band 10:S. 233–258, 2000.

- Langner, G: Periodicity coding in the auditory system. In: *Hear Res*, Band 60(2):S. 115–42, 1992. ISSN 0378-5955.
- Langner, G und Schreiner, CE: Periodicity coding in the inferior colliculus of the cat. i. neuronal mechanisms. In: *J Neurophysiol*, Band 60(6):S. 1799–822, 1988. ISSN 0022-3077.
- Laughlin, Simon B., de Ruyter van Steveninck, Rob R. und Anderson, John C.: The metabolic cost of neural information. In: *Nat Neurosci*, Band 1(1):S. 36–41, 1998. URL <http://dx.doi.org/10.1038/236>.
- Liang, Li, Lu, Thomas und Wang, Xiaoqin: Neural representations of sinusoidal amplitude and frequency modulations in the primary auditory cortex of awake primates. In: *Journal of Neurophysiology*, Band 87(5):S. 2237–2261, 2002. URL <http://jn.physiology.org/cgi/content/abstract/87/5/2237>.
- Llano, Daniel A. und Feng, Albert S.: Computational models of temporal processing in the auditory thalamus. In: *Biological Cybernetics*, Band 83(5):S. 419–433, 2000. URL <http://dx.doi.org/10.1007/s004220000174>.
- Lu, Thomas, Liang, Li und Wang, Xiaoqin: Temporal and rate representations of time-varying signals in the auditory cortex of awake primates. In: *Nat Neurosci*, Band 4(11):S. 1131–1138, 2001. URL <http://dx.doi.org/10.1038/nn737>.
- Machens, C. K., Prinz, P., Stemmler, M. B., Ronacher, B. und Herz, A. V. M.: Discrimination of behaviorally relevant signals by auditory receptor neurons. In: *Neurocomputing*, Band 38-40:S. 263–268, 2001a. URL <http://www.sciencedirect.com/science/article/B6V10-435KK2K-18/2/dc00737bd14f03b655d091e48d91f5e8>.
- Machens, CK: *Sensory Coding in Natural Enviroments*. Dissertation, Humboldt-Universität zu Berlin, 2002.

- Machens, CK, Gollisch, T, Kolesnikova, O und Herz, AV: Testing the efficiency of sensory coding with optimal stimulus ensembles. In: *Neuron*, Band 47(3):S. 447–56, 2005. ISSN 0896-6273.
- Machens, CK, Schütze, H, Franz, A, Kolesnikova, O, Stemmler, MB, Ronacher, B und Herz, AV: Single auditory neurons rapidly discriminate conspecific communication signals. In: *Nat Neurosci*, Band 6(4):S. 341–2, 2003. ISSN 1097-6256.
- Machens, CK, Stemmler, MB, Prinz, P, Krahe, R, Ronacher, B und Herz, AV: Representation of acoustic communication signals by insect auditory receptor neurons. In: *J Neurosci*, Band 21(9):S. 3215–27, 2001b. ISSN 1529-2401.
- Malone, Brian J., Scott, Brian H. und Semple, Malcolm N.: Dynamic amplitude coding in the auditory cortex of awake rhesus macaques. In: *Journal of Neurophysiology*, Band 98(3):S. 1451–1474, 2007. URL <http://jn.physiology.org/cgi/content/abstract/98/3/1451>.
- Marquart, V: *Auditorische Interneurone in thorakalen Nervensystemen von Heuschrecken. Morphologie, Physiologie und synaptische Verbindungen*. Dissertation, Ruhr-Universität, 1985a.
- Marquart, V: Local interneurons mediating excitation and inhibition onto ascending neurons in the auditory pathway of grasshoppers. In: *Naturwissenschaften*, Band 72:S. 42–44, 1985b.
- Narayan, R, Ergün, A und Sen, K: Delayed inhibition in cortical receptive fields and the discrimination of complex stimuli. In: *J Neurophysiol*, Band 94(4):S. 2970–5, 2005. ISSN 0022-3077.
- Narayan, R, Graña, G und Sen, K: Distinct time scales in cortical discrimination of natural sounds in songbirds. In: *J Neurophysiol*, Band 96(1):S. 252–8, 2006. ISSN 0022-3077.
- Narayan, Rajiv, Best, Virginia, Ozmeral, Erol, McClaine, Elizabeth, Dent, Micheal, Shinn-Cunningham, Barbara und Sen, Kamal: Cortical in-

- terference effects in the cocktail party problem. In: *Nat Neurosci*, Band 10(12):S. 1601–1607, 2007. URL <http://dx.doi.org/10.1038/mn2009>.
- Neuhöfer, D., Wohlgemuth, S., Stumpner, A und Ronacher, B: Evolutionarily conserved coding properties of auditory neurons across grasshopper species. In: *Proceedings of the Royal Society B*, Band submitted(-):S. –, 2007.
- Pearson, KG und Robertson, RM: Interneurons co-activating hindleg flexor and extensor moto-neurons in the locust. In: *J Comp Physiol*, Band 144:S. 391–400, 1981.
- Pflüger, H.J. und Field, L.H.: A locust chordotonal organ coding for proprioceptive and acoustic stimuli. In: *Journal of Comparative Physiology A: Neuroethology, Sensory, Neural, and Behavioral Physiology*, Band 184(2):S. 169–183, 1999. URL <http://dx.doi.org/10.1007/s003590050316>.
- Pollack, G. S.: Neural processing of acoustic signals. In: Hoy, R. R., Popper, A. N. und Fay, R. R. editors (Hg.) *Comparative hearing: insects*, Springer-Verlag Berlin Heidelberg New York Tokio, S. 139–196. 1998.
- Prinz, P. und Ronacher, B.: Temporal modulation transfer functions in auditory receptor fibres of the locust (*locusta migratoria* l.). In: *Journal of Comparative Physiology A: Neuroethology, Sensory, Neural, and Behavioral Physiology*, Band 188(7):S. 577–587, 2002. URL <http://dx.doi.org/10.1007/s00359-002-0333-7>.
- Rees, A und Møller, AR: Responses of neurons in the inferior colliculus of the rat to am and fm tones. In: *Hear Res*, Band 10(3):S. 301–30, 1983. ISSN 0378-5955.
- Rees, A und Palmer, AR: Neuronal responses to amplitude-modulated and pure-tone stimuli in the guinea pig inferior colliculus, and their modification by broadband noise. In: *J Acoust Soc Am*, Band 85(5):S. 1978–94, 1989. ISSN 0001-4966.



- Reinhold, Klaus, Reinhold, Karin und Jacoby, Kristina J.: Dissecting the repeatability of female choice in the grasshopper *Chorthippus biguttulus*. In: *Animal Behaviour*, Band 64(2):S. 245–250, 2002. URL <http://www.sciencedirect.com/science/article/B6W9W-46T3S6B-C/2/cffb8d62a0ce638fa6fde2b23588832d>.
- Rhode, WS und Greenberg, S: Encoding of amplitude modulation in the cochlear nucleus of the cat. In: *J Neurophysiol*, Band 71(5):S. 1797–825, 1994. ISSN 0022-3077.
- Rieke, F., Warland, D., de Ruyter van Steveninck R.R. und Bialek, W.: *Spikes: Exploring the Neural Code*. The MIT Press, 1997. URL <http://www.amazon.ca/exec/obidos/redirect?tag=citeulike04-20%&#38;path=ASIN/0262681080>.
- Rokem, A, Watzl, S, Gollisch, T, Stemmler, M, Herz, AV und Samengo, I: Spike-timing precision underlies the coding efficiency of auditory receptor neurons. In: *J Neurophysiol*, Band 95(4):S. 2541–52, 2006. ISSN 0022-3077.
- Römer, H.: The sensory ecology of acoustic communication in insects. In: Hoy, R. R., Popper, A. N. und Fay, R. R. editors (Hg.) *Comparative hearing: insects*, Springer-Verlag Berlin Heidelberg New York Tokio, S. 63–97. 1998.
- Römer, H. und Lewald, J.: High-frequency sound transmission in natural habitats: implications for the evolution of insect acoustic communication. In: *Behavioral Ecology and Sociobiology*, Band 29:S. 437–444, 1992.
- Römer, H und Marquart, V: Morphology and physiology of auditory interneurons in the metathoracic ganglion of the locust. In: *J Comp Physiol A Neuroethol Sens Neural Behav Physiol*, Band 155:S. 249–262, 1984.
- Römer, Heiner: Die informationsverarbeitung tympanaler rezeptorelemente von *Locusta migratoria* (Acrididae, Orthoptera). In: *Journal of Comparative Physiology A: Neuroethology, Sensory, Neural, and Behavioral Physiology*, Band 109(1):S. 101–122, 1976. URL <http://dx.doi.org/10.1007/BF00663438>.

- Römer, Heiner, Marquart, Volker und Hardt, Martin: Organization of a sensory neuropile in the auditory pathway of two groups of orthoptera. In: *The Journal of Comparative Neurology*, Band 275(2):S. 201–215, 1988. doi:10.1002/cne.902750204. URL <http://dx.doi.org/10.1002/cne.902750204>.
- Römer, Heiner und Seikowski, Ulrich: Responses to model songs of auditory neurons in the thoracic ganglia and brain of the locust. In: *Journal of Comparative Physiology A: Neuroethology, Sensory, Neural, and Behavioral Physiology*, Band V156(6):S. 845–860, 1985. URL <http://dx.doi.org/10.1007/BF00610836>.
- Ronacher, B, Franz, A, Wohlgemuth, S und Hennig, RM: Variability of spike trains and the processing of temporal patterns of acoustic signals-problems, constraints, and solutions. In: *J Comp Physiol A Neuroethol Sens Neural Behav Physiol*, Band 190(4):S. 257–77, 2004. ISSN 0340-7594.
- Ronacher, B und Hennig, RM: Neuronal adaptation improves the recognition of temporal patterns in a grasshopper. In: *J Comp Physiol A Neuroethol Sens Neural Behav Physiol*, Band 190(4):S. 311–9, 2004. ISSN 0340-7594.
- Ronacher, B und Krahe, R: Song recognition in the grasshopper *Chorthippus biguttulus* is not impaired by shortening song signals: implications for neuronal encoding. In: *J Comp Physiol A Neuroethol Sens Neural Behav Physiol*, Band 183:S. 729–735, 1998.
- Ronacher, B, Krahe, R und Hennig, RM: Effects of signal duration on the recognition of masked communication signals by the grasshopper *Chorthippus biguttulus*. In: *J Comp Physiol [A]*, Band 186(11):S. 1065–72, 2000. ISSN 0340-7594.
- Ronacher, B und Römer, H: Spike synchronization of tympanic receptor fibres in a grasshopper (*Chorthippus biguttulus* l., acrididae). In: *J Comp Physiol A Neuroethol Sens Neural Behav Physiol*, Band 157:S. 631–642, 1985.
- Ronacher, B und Stumpner, A: Sensory systems of arthropods. In: Wiese, K, Gribakin, FG, Popov, AV und Renninger, G (Hg.) *Sensory Systems*

of *Arthropods*, Birkenhäuser Verlag, Basel, Switzerland, Kapitel Parallel processing of song pattern and sound direction by ascending auditory interneurons in the grasshopper *Chorthippus biguttulus*. 1993.

Ronacher, Bernhard: Stridulation of acridid grasshoppers after hemisection of thoracic ganglia: evidence for hemiganglionic oscillators. In: *Journal of Comparative Physiology A: Neuroethology, Sensory, Neural, and Behavioral Physiology*, Band 164(6):S. 723–736, 1989. URL <http://dx.doi.org/10.1007/BF00616745>.

Ronacher, Bernhard, Helversen, Dagmar v. und Helversen, Otto v.: Routes and stations in the processing of auditory directional information in the CNS of a grasshopper, as revealed by surgical experiments. In: *Journal of Comparative Physiology A: Neuroethology, Sensory, Neural, and Behavioral Physiology*, Band 158(3):S. 363–374, 1986. URL <http://dx.doi.org/10.1007/BF00603620>.

Ronacher, Bernhard und Stumpner, Andreas: Filtering of behaviourally relevant temporal parameters of a grasshopper's song by an auditory interneuron. In: *Journal of Comparative Physiology A: Neuroethology, Sensory, Neural, and Behavioral Physiology*, Band 163(4):S. 517–523, 1988. URL <http://dx.doi.org/10.1007/BF00604905>.

Rose, G. J. und Capranica, R. R.: Sensitivity to amplitude modulated sounds in the anuran auditory nervous system. In: *Journal of Neurophysiology*, Band 53(2):S. 446–465, 1985. URL <http://jn.physiology.org/cgi/content/abstract/53/2/446>.

Rosen, S.: Temporal information in speech: Acoustic, auditory and linguistic aspects. In: *Philosophical Transactions: Biological Sciences*, Band 336(1278):S. 367–373, 1992.

Sachs, Lothar: *Angewandte Statistik, Elfte Auflage*. Springer-Verlag Berlin Heidelberg New York Tokio, 2004.

Schmidt, A., Ronacher, B. und Hennig, R.: The role of frequency, phase and time for processing of amplitude modulated signals by grasshoppers.

In: *Journal of Comparative Physiology A: Neuroethology, Sensory, Neural, and Behavioral Physiology*, Band in press, 2008. URL <http://dx.doi.org/10.1007/s00359-007-0295-x>.

Schmidt, Arne: *Auditorische Signalverarbeitung bei der Feldheuschrecke Chorthippus biguttulus - Bewertung der Umhüllenden in der Frequenz- oder Zeitebene*. Diplomarbeit, Humboldt-Universität zu Berlin, 2007.

Schreiber, S., Fellous, J. M., Whitmer, D., Tiesinga, P. und Sejnowski, T. J.: A new correlation-based measure of spike timing reliability. In: *Neurocomputing*, Band 52-54:S. 925–931, 2003. URL <http://www.sciencedirect.com/science/article/B6V10-47S6TKF-9/2/689f7e45e503df9ed1a066065ff21daa>.

Schreiber, S, Machens, CK, Herz, AV und Laughlin, SB: Energy-efficient coding with discrete stochastic events. In: *Neural Comput*, Band 14(6):S. 1323–46, 2002. ISSN 0899-7667.

Searcy, W.A. und Andersson, M.: Sexual selection and the evolution of song. In: *Ann. Rev. Ecol. Syst.*, Band 17:S. 507–533, 1986.

Shadlen, Michael N. und Newsome, William T.: The variable discharge of cortical neurons: Implications for connectivity, computation, and information coding. In: *Journal of Neuroscience*, Band 18(10):S. 3870–3896, 1998. URL <http://www.jneurosci.org/cgi/content/abstract/18/10/3870>.

Shannon, CE: A mathematical theory of communication. In: *The Bell System Technical Journal*, Band 24:S. 379–423, 1948.

Shannon, RV, Zeng, FG, Kamath, V, Wygonski, J und Ekelid, M: Speech recognition with primarily temporal cues. In: *Science*, Band 270(5234):S. 303–4, 1995. ISSN 0036-8075.

Singh, NC und Theunissen, FE: Modulation spectra of natural sounds and ethological theories of auditory processing. In: *J Acoust Soc Am*, Band 114(6 Pt 1):S. 3394–411, 2003. ISSN 0001-4966.

- Slonim, N, Atwal, GS, Tkacik, G und Bialek, W: Information-based clustering. In: *Proc Natl Acad Sci U S A*, Band 102(51):S. 18297–302, 2005. ISSN 0027-8424.
- Smith, ZM, Delgutte, B und Oxenham, AJ: Chimaeric sounds reveal dichotomies in auditory perception. In: *Nature*, Band 416(6876):S. 87–90, 2002. ISSN 0028-0836.
- Softky, WR und Koch, C: The highly irregular firing of cortical cells is inconsistent with temporal integration of random epsps. In: *Journal of Neuroscience*, Band 13(1):S. 334–350, 1993. URL <http://www.jneurosci.org/cgi/content/abstract/13/1/334>.
- Stumpner, A: *Auditorische thorakale Interneurone von Chorthippus biguttulus L.: Morphologische und physiologische Charakterisierung und Darstellung ihrer Filtereigenschaften für verhaltensrelevante Lautappen*. Dissertation, Friedrich-Alexander-Universität Erlangen, 1988.
- Stumpner, A: Physiological variability of auditory neurons in a grasshopper. In: *Naturwissenschaften*, Band 76:S. 427–429, 1989.
- Stumpner, A und Ronacher, B: Auditory interneurons in the metathoric ganglion of the grasshopper chorthippus biguttulus: I. morphological and physiological characterization. In: *J Exp Biol*, Band 158:S. 391–410, 1991.
- Stumpner, A. und Ronacher, B.: Neurophysiological aspects of song pattern recognition and sound localization in grasshoppers. In: *American Zoologist*, Band 34(6):S. 696–705, 1994. URL <http://icb.oxfordjournals.org/cgi/content/abstract/34/6/696>.
- Stumpner, A und von Helversen, D: Evolution and function of auditory systems in insects. In: *Naturwissenschaften*, Band 88(4):S. 159–170, 2001. URL [http://www.ncbi.nlm.nih.gov/entrez/query.fcgi?cmd=Retrieve&#38;db=pubmed&#38;dopt=Abstract&#38;list\\_uids=11480703](http://www.ncbi.nlm.nih.gov/entrez/query.fcgi?cmd=Retrieve&#38;db=pubmed&#38;dopt=Abstract&#38;list_uids=11480703).

- Stumpner, Andreas, Allen, Geoff und Lakes-Harlan, Reinhard: Hearing and frequency dependence of auditory interneurons in the parasitoid fly *homotrixa alleni* (tachinidae: Ormiini). In: *Journal of Comparative Physiology A: Neuroethology, Sensory, Neural, and Behavioral Physiology*, Band 193(1):S. 113–125, 2007. URL <http://dx.doi.org/10.1007/s00359-006-0174-x>.
- Stumpner, Andreas, Ronacher, Bernhard und Helversen, Otto: Auditory interneurons in the metathoracic ganglion of the grasshopper *chorthippus biguttulus*: II. processing of temporal patterns of the song of the male. In: *J Exp Biol*, Band 158(1):S. 411–430, 1991. URL <http://jeb.biologists.org/cgi/content/abstract/158/1/411>.
- van Rossum, MC: A novel spike distance. In: *Neural Comput*, Band 13(4):S. 751–63, 2001. ISSN 0899-7667.
- Vedenina, V.Y. und von Helversen, O.: Complex courtship in a bimodal grasshopper hybrid zone. In: *Behavioral Ecology and Sociobiology*, Band 54(1):S. 44–54, 2003. URL <http://dx.doi.org/10.1007/s00265-003-0595-2>.
- Victor, JD: Spike train metrics. In: *Curr Opin Neurobiol*, Band 15(5):S. 585–92, 2005. ISSN 0959-4388.
- Victor, JD und Purpura, KP: Nature and precision of temporal coding in visual cortex: a metric-space analysis. In: *J Neurophysiol*, Band 76(2):S. 1310–26, 1996. ISSN 0022-3077.
- Viemeister, NF: Temporal modulation transfer functions based upon modulation thresholds. In: *J Acoust Soc Am*, Band 66(5):S. 1364–80, 1979. ISSN 0001-4966.
- Viemeister, NF und Wakefield, GH: Temporal integration and multiple looks. In: *J Acoust Soc Am*, Band 90(2 Pt 1):S. 858–65, 1991. ISSN 0001-4966.
- Vogel, A, Hennig, RM und Ronacher, B: Increase of neuronal response variability at higher processing levels as revealed by simultaneous recordings. In: *J Neurophysiol*, Band 93(6):S. 3548–59, 2005. ISSN 0022-3077.

- Vogel, A. und Ronacher, B.: Neural correlations increase between consecutive processing levels in the auditory system of locusts. In: *Journal of Neurophysiology*, Band 97(5):S. 3376–3385, 2007. URL <http://jn.physiology.org/cgi/content/abstract/97/5/3376>.
- von Helversen, D. und von Helversen, O.: Verhaltensgenetische untersuchungen am akustischen kommunikationssystem der feldheuschrecken (orthoptera, acrididae). In: *Journal of Comparative Physiology A: Neuroethology, Sensory, Neural, and Behavioral Physiology*, Band 104(3):S. 301–323, 1975. URL <http://dx.doi.org/10.1007/BF01379054>.
- von Helversen, Dagmar: Gesang des männchens und lautschema des weibchens bei der feldheuschrecke chorthippus biguttulus (orthoptera, acrididae). In: *Journal of Comparative Physiology A: Neuroethology, Sensory, Neural, and Behavioral Physiology*, Band 81(4):S. 381–422, 1972. doi: 10.1007/BF00697757. URL <http://dx.doi.org/10.1007/BF00697757>.
- von Helversen, Dagmar, Balakrishnan, Rohini und von Helversen, Otto: Acoustic communication in a duetting grasshopper: receiver response variability, male strategies and signal design. In: *Animal Behaviour*, Band 68(1):S. 131–144, 2004. URL <http://www.sciencedirect.com/science/article/B6W9W-4CF5C0J-1/2/cc752628e581d8aaec23f65159977b09>.
- von Helversen, Dagmar und von Helversen, Otto: Forces driving coevolution of song and song recognition in grasshoppers. In: Schildberger, N, K und Elsner (Hg.) *Neural Basis of Behavioural Adaptations*, Fortschritte der Zoologie, Gustav Fischer Verlag, Band 39, Kapitel Forces driving coevolution of song and song recognition in grasshoppers. 1994.
- von Helversen, Dagmar und von Helversen, Otto: Recognition of sex in the acoustic communication of the grasshopper chorthippus biguttulus (orthoptera, acrididae). In: *Journal of Comparative Physiology A: Neuroethology, Sensory, Neural, and Behavioral Physiology*, Band 180(4):S. 373–386, 1997. URL <http://dx.doi.org/10.1007/s003590050056>.

- von Helversen, Dagmar und von Helversen, Otto: Acoustic pattern recognition in a grasshopper: processing in the time or frequency domain? In: *Biological Cybernetics*, Band 79(6):S. 467–476, 1998. URL <http://dx.doi.org/10.1007/s004220050496>.
- von Helversen, Otto: Angeborenes erkennen akustischer schlüsselreize. In: *Verh.Dtsch.Zool.Ges.*, Band -(-):S. 42–59, 1979.
- Wagner, William E.: Measuring female mating preferences. In: *Animal Behaviour*, Band 55(4):S. 1029–1042, 1998. URL <http://www.sciencedirect.com/science/article/B6W9W-45KKVDP-45/2/88022a62506cb545e66ca216e3516fcb>.
- Wang, Le, Narayan, Rajiv, Grana, Gilberto, Shamir, Maoz und Sen, Kamil: Cortical discrimination of complex natural stimuli: Can single neurons match behavior? In: *J. Neurosci.*, Band 27(3):S. 582–589, 2007. URL <http://dx.doi.org/10.1523/JNEUROSCI.3699>.
- Warzecha, AK und Egelhaaf, M: Variability in spike trains during constant and dynamic stimulation. In: *Science*, Band 283(5409):S. 1927–30, 1999. ISSN 0036-8075.
- Weschke, Gerroth und Ronacher, Bernhard: Influence of sound pressure level on the processing of amplitude modulations by auditory neurons of the locust. In: *Journal of Comparative Physiology A: Neuroethology, Sensory, Neural, and Behavioral Physiology*, Band in press, 2008. URL <http://dx.doi.org/10.1007/s00359-007-0303-1>.
- Wohlgemuth, Sandra und Ronacher, Bernhard: Auditory discrimination of amplitude modulations based on metric distances of spike trains. In: *Journal of Neurophysiology*, Band 97(4):S. 3082–3092, 2007. URL <http://jn.physiology.org/cgi/content/abstract/97/4/3082>.
- Woolley, Sarah M. N. und Casseday, John H.: Processing of modulated sounds in the zebra finch auditory midbrain: Responses to noise, frequency sweeps, and sinusoidal amplitude modulations. In: *Journal of Neurophysiology*,



Band 94(2):S. 1143–1157, 2005. URL <http://jn.physiology.org/cgi/content/abstract/94/2/1143>.

Woolley, SM, Fremouw, TE, Hsu, A und Theunissen, FE: Tuning for spectrotemporal modulations as a mechanism for auditory discrimination of natural sounds. In: *Nat Neurosci*, Band 8(10):S. 1371–9, 2005. ISSN 1097-6256.

Woolley, SM, Gill, PR und Theunissen, FE: Stimulus-dependent auditory tuning results in synchronous population coding of vocalizations in the songbird midbrain. In: *J Neurosci*, Band 26(9):S. 2499–512, 2006. ISSN 1529-2401.

Zar, Jerrold H.: *Biostatistical Analysis*. Prentice Hal, 1984.



# Abbildungsverzeichnis

1.1	Muster der Beinbewegungen und des erzeugten Gesangs eines Männchens von <i>C. biguttulus</i> . . . . .	5
2.1	SAM-Stimuli . . . . .	18
2.2	Abgeleitete Kenngrößen der MTF . . . . .	22
2.3	Spiketrain-Metrik nach van Rossum . . . . .	25
2.4	Abgeleitete Parameter der Unterscheidbarkeit . . . . .	26
2.5	Unterscheidbarkeit bei einer Einbeziehung von 8 bzw. 4 Antworten auf wiederholte Stimuluspräsentationen . . . . .	28
4.1	Antworten eines lokalen Neurons und eines aufsteigenden Neurons auf Stimuli unterschiedlicher Modulationsfrequenz und berechnete rMTF und tMTF . . . . .	46
4.2	Raten (rMTF) und zeitliche (tMTF) Modulationstransferfunktionen bei Rezeptoren und lokalen Interneuronen . . . . .	48
4.3	Raten (rMTF) und zeitliche (tMTF) Modulationstransferfunktionen bei aufsteigenden Interneuronen . . . . .	49
4.4	Schematische Darstellung der Filtertypen von rMTF und tMTF der untersuchten Zellen . . . . .	53
4.5	Kenngrößen der rMTF . . . . .	55
4.6	Kenngrößen der tMTF . . . . .	58
4.7	Zusammenhang zwischen der BMF bzw. der Grenzfrequenz der tMTF und der Spikerate . . . . .	59
4.8	Zusammenhang zwischen Kenngrößen der rMTF und der tMTF	60

4.9	rMTF und tMTF gemessen bei unterschiedlichen Modulationstiefen . . . . .	64
4.10	Abhängigkeit der minimalen Modulationsschwelle von der Modulationsfrequenz . . . . .	65
4.11	Änderung der Spikerate bei unterschiedlichen Modulationstiefen	67
4.12	Modulationsschwelle einer Spikeratenänderung von mindestens 40% . . . . .	68
4.13	Minimale Modulationsschwellen der tMTF . . . . .	69
4.14	Zusammenhang zwischen der MMS der tMTF und der Spikerate	69
4.15	Zusammenhang zwischen der MMS und der MIT . . . . .	70
4.16	Zusammenhang zwischen der MMS der tMTF und der rMTF .	71
5.1	Spike-Antworten und Distanzmatrizen der Spiketrains von drei verschiedenen Zellen der untersuchten Verarbeitungsebenen . .	76
5.2	Klassifikations-Matrizen der Rezeptoren und lokalen Interneurone . . . . .	79
5.3	Klassifikations-Matrizen der aufsteigenden Interneurone . . . .	80
5.4	Klassifikation basierend auf einem <i>unüberwachten</i> Clusteralgorithmus . . . . .	82
5.5	Anteil der korrekt zugeordneten Spiketrains gegenüber den getesteten Modulationsfrequenzen der Stimuli . . . . .	85
5.6	Zusammenhang zwischen den Grenzfrequenzen der korrekten Zuordnung von Spiketrains und der maximalen Spikerate . . .	86
5.7	Zusammenhang zwischen der Unterscheidungsfähigkeit und dem betrachteten Zeitfenster bzw. der Zahl der Spikes . . . . .	87
5.8	Erreichte Unterscheidbarkeit und benötigte Zeitfenster . . . .	89
5.9	Zusammenhang zwischen der mittleren maximalen Spikerate, dem minimalen Interspike-Intervall und der Unterscheidbarkeit	91
5.10	Klassifikation in Abhängigkeit vom zeitlichen Auflösungsparameter $\tau$ . . . . .	94
5.11	Optimales $\tau$ für die Unterscheidbarkeit der Reizmuster . . . .	96
5.12	Jeweiliger Beitrag von Spikezeitpunkt- und Spikezahlunterschieden zur Unterscheidbarkeit der Stimuli. . . . .	97

5.13	Darstellung der Antwort eines Rezeptors sowie auf der Grundlage generierte Spiketrains mit shuffled Interspike-Intervallen und Poisson-Spiketrains mit entsprechenden Spikezahlen . . .	99
5.14	Vergleich der korrekten Zuordnung von Original-Spiketrains, Spiketrains mit shuffled Interspike-Intervallen und Poisson-Spiketrains . . . . .	100
5.15	Einfluss von Jitter auf die Unterscheidbarkeit und die optimale zeitliche Auflösung $\tau$ . . . . .	102
5.16	Einfluss des Stimulus Ensembles auf den für die Unterscheidbarkeit optimalen Bereich von $\tau$ . . . . .	105
5.17	Zusammenhang zwischen den MTF und der Unterscheidbarkeit anhand metrischer Spiketrain-Distanzen . . . . .	109
5.18	Zusammenhang zwischen Kenngrößen der rMTF bzw. der tMTF und der Grenzfrequenz der Unterscheidbarkeit. . . . .	111
5.19	Zusammenhang zwischen dem optimalen $\tau$ der Unterscheidbarkeit bzw. der korrekten Zuordnung bei $\tau = 1000$ ms und der Änderung der Spikerate die sich aus der rMTF ergibt. . .	112
5.20	Zusammenhang zwischen dem optimalen $\tau$ der Unterscheidbarkeit sowie dem Gewinn, der durch Einbeziehung der Spikezeitpunkte erreicht wurde und der Grenzfrequenz der tMTF. . . . .	113
6.1	Merkmale der verwendeten Gesänge . . . . .	118
6.2	Lokale Interneurone: Spikeantworten auf die Gesänge und resultierende Unterscheidbarkeit . . . . .	120
6.3	Aufsteigende Interneurone: Spikeantworten auf die Gesänge und resultierende Unterscheidbarkeit . . . . .	121
6.4	Unterscheidbarkeit der Gesänge als Funktion der Länge des ausgewerteten Zeitfensters . . . . .	123
6.5	Unterscheidbarkeit der Gesänge als Funktion der einbezogenen Spikes . . . . .	125
6.6	Unterscheidbarkeit der Gesänge als Funktion des zeitlichen Auflösungsparameters $\tau$ . . . . .	128

6.7	Einfluss der Reskalierung auf die Unterscheidbarkeit . . . . .	130
6.8	Einfluss der Reskalierung auf die für die Unterscheidbarkeit benötigten Zeitfenster und Spikezahlen . . . . .	131
6.9	Vergleich zwischen Original und Reskalierten Gesängen: Der optimale $\tau$ -Bereich . . . . .	132
6.10	Einfluss des Auswertebereichs auf die Unterscheidbarkeit . . .	133
6.11	Differenz der die für die Unterscheidbarkeit benötigten Zeit- fenster und Spikezahlen zwischen den beiden Auswertebereichen	134
6.12	Antworten auf Silben unterschiedlicher Amplitude . . . . .	134
6.13	Änderung der Unterscheidbarkeit gegenüber der Änderung der mittleren Spikerate zwischen verschiedenen Auswertefenstern der Reskalierten Gesänge. . . . .	136
6.14	Vergleich zwischen verschiedenen Auswertefenstern: Der opti- male $\tau$ -Bereich . . . . .	136
6.15	Spikeantworten und STA. . . . .	140
6.16	Burst-Triggered Average und Isolated-Spike Triggered Average der Gesangsumhüllenden . . . . .	143
6.17	Jitter der Spikezeitpunkte bei den untersuchten Neuronen . . .	145
6.18	Abhängigkeit der Unterscheidbarkeit von dem gemessenen Jit- ter der Spikezeitpunkte . . . . .	147
6.19	Zuverlässigkeit der Spikezeitpunkte bei den untersuchten Neu- ronen . . . . .	148
6.20	Spikezahl-Variabilität bei den untersuchten Neuronen. . . . .	150
6.21	Vergleich der Unterscheidbarkeit von Gesängen und SAM-Stimuli . . . . .	154
6.22	Einfluss der enthaltenen Modulationsfrequenzen der Stimuli auf die Unterscheidbarkeit . . . . .	156
6.23	Einfluss der Modulationstiefe auf die Unterscheidbarkeit der SAM-Stimuli . . . . .	159
6.24	Gewinn der Unterscheidbarkeit, der durch Einbeziehung der Spikezeitpunkte erreicht wird bei unterschiedlichen Modulati- onstiefen . . . . .	161
6.25	Antworten eines AN4 auf Weibchen - und Männchengesänge .	162

6.26 Vergleich bei den einzelnen Zelltypen: Unterscheidbarkeit und der optimalen zeitlichen Auflösung bei Gesängen und SAM-Stimuli . . . . .	164
7.1 Merkmale der Gesänge . . . . .	170
7.2 Attraktivität der Gesänge . . . . .	174
7.3 Rangordnung und Rangdifferenz der Attraktivität der Gesänge	176
7.4 Attraktivität der Original vs. der Reskalierten Gesänge. . . . .	179
7.5 Zusammenhang zwischen den Verteilungen der Merkmale der Gesänge und deren Attraktivität . . . . .	182
7.6 Superposition der Umhüllenden dreier Silben der 8 Gesänge. . . . .	184
7.7 Abstandsmatrix . . . . .	185
7.8 Unterscheidbarkeit als Funktion der Dauer des ausgewerteten Zeitfensters bzw. der Zahl der einbezogenen Spikes. . . . .	190
7.9 Unterscheidbarkeit als Funktion des zeitlichen Auflösungsparameters $\tau$ . . . . .	192
7.10 Unterscheidbarkeit einzelner Reskalierter Gesänge. . . . .	196
7.11 Minimale und Maximale Spiketrain-Distanzen und Differenzen der Antwortwahrscheinlichkeiten auf die Reskalierten Gesänge. . . . .	199
7.12 Merkmale des neuronaler Antwortverhaltens auf einen unattraktiven und einen attraktiven Gesang: Mittlere Spikerate . . . . .	200
7.13 Merkmale des neuronaler Antwortverhaltens auf einen unattraktiven und einen attraktiven Gesang: Verteilung der Spikes . . . . .	202
7.14 Merkmale des neuronaler Antwortverhaltens auf einen unattraktiven und einen attraktiven Gesang: Bursts . . . . .	204
7.15 Vergleich der Antwortvariabilität eines attraktiven und eines unattraktiven Gesangs . . . . .	205
7.16 Unterscheidbarkeit bei <i>C. biguttulus</i> und <i>L. migratoria</i> . . . . .	208
7.17 Vergleich der korrekten Zuordnung zu einzelnen Gesängen: <i>C. biguttulus</i> vs. <i>L. migratoria</i> . . . . .	209
7.18 Morphologie und Spikeantworten homologer Neurone bei <i>C. biguttulus</i> und <i>L. migratoria</i> . . . . .	210

7.19	Häufigkeitsverteilungen der Intraspezifischen Distanzen und der Interspezifischen Spiketrain-Distanzen. . . . .	212
8.1	Einfluss der Intensität und der Adaptation auf das Antwortverhalten. . . . .	226
8.2	Vergleich des Anteils korrekt zugeordneter Spiketrains in Abhängigkeit vom zeitlichen Auflösungsparameters $\tau$ . . . . .	249
9.1	Interindividuelle Variabilität der Verhaltensreaktionen der Weibchen . . . . .	256
9.2	Korrekte Zuordnung zu den einzelnen Reskalierten Gesängen: AN3 und AN12 . . . . .	262



# Tabellenverzeichnis

7.1	Korrelationskoeffizienten der Antwortwahrscheinlichkeiten der Original gegenüber den Reskalierten Gesängen bei den einzelnen Weibchen. . . . .	180
7.2	Optimale Bereich des zeitlichen Auflösungsparameters $\tau$ für die Unterscheidbarkeit. . . . .	193



# Selbständigkeitserklärung

Hiermit erkläre ich, dass ich die vorliegende Dissertation selbstständig verfasst und keine anderen als die angegebenen Quellen und Hilfsmittel benutzt habe.

Berlin, den 10. Februar 2008